



**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2020.04.07**

**(21)** Номер заявки  
**201692274**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2015.05.12**

**(51)** Int. Cl. **C12N 15/113** (2010.01)

**(54) ОЛИГОМЕРЫ И ОЛИГОМЕРНЫЕ КОНЬЮГАТЫ**

**(31)** **1408623.5**

**(32)** **2014.05.15**

**(33)** **GB**

**(43)** **2017.06.30**

**(86)** **PCT/EP2015/060402**

**(87)** **WO 2015/173208 2015.11.19**

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**Ф. ХОФМАНН-ЛЯ РОШ АГ (CH)**

**(72)** Изобретатель:  
**Яванбакхт Хассан (CH), Линдов  
Мортен, Отгосен Сёрен (DK)**

**(74)** Представитель:  
**Хмара М.В., Новоселова С.В.,  
Дошечкина В.В., Липатова И.И.,  
Осипов К.В., Ильмер Е.Г., Пантелеев  
А.С. (RU)**

**(56)** YING ET AL.: "Hepatitis B virus is inhibited by RNA interference in cell culture and in mice", ANTIVIRAL RESEARCH, ELSEVIER BV, NL, vol. 73, no. 1, 14 January 2007 (2007-01-14), pages 24-30, XP022575657, ISSN: 0166-3542, DOI: 10.1016/J.ANTIVIRAL.2006.05.022, the whole document

C. KLEIN ET AL.: "Inhibition of hepatitis B virus replication in vivo by nucleoside analogues and siRNA", GASTROENTEROLOGY, 1 July 2003 (2003-07-01), pages 9-18, XP055204617, the whole document

YONG CHEN ET AL.: "RNAi for Treating Hepatitis B Viral Infection", PHARMACEUTICAL RESEARCH, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS-PLENUM PUBLISHERS, NL, vol. 25, no. 1, 12 December 2007 (2007-12-12), pages 72-86, XP019579496, ISSN: 1573-904X, the whole document

BALKRISHEN BHAT ET AL.: "RG-101, a GalNAc-conjugated anti-miR Employing Unique Mechanism of Action by Targeting Host Factor MicroRNA-122 (miR-122), Demonstrates Potent Activity and Reduction of HCV in Preclinical Studies", HEPATOLOGY; 64TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN-ASSOCIATION-FOR-THE-STUDY-OF-LIVE R-DISEASES; WASHINGTON, DC, USA; NOVEMBER 01-05, 2013, JOHN WILEY & SONS, INC, USA, vol. 58, no. 6, suppl, 1 December 2013 (2013-12-01), page 1393A, XP002723153, ISSN: 0270-9139 [retrieved on 2013-11-06], the whole document

BALKRISHEN BHAT ET AL.: "RG-101, a GalNAc-conjugated anti-miR Employing Unique Mechanism of Action by Targeting Host Factor MicroRNA-122 (miR-122), Demonstrates Potent Activity and Reduction of HCV in Preclinical Studies", 4 November 2013 (2013-11-04), XP55113633, Retrieved from the Internet: URL: [http://www.regulusrx.com/wp-content/uploads/2013/11/RT13-002-Neben AASLD-LFP\\_final.pdf](http://www.regulusrx.com/wp-content/uploads/2013/11/RT13-002-Neben AASLD-LFP_final.pdf) [retrieved on 2014-04-11], the whole document

WO-A1-02081494

WO-A2-0116312

US-A1-2004054156

JP-A-2004532022

JP-A-2004512810

WO-A1-2011047312

JESPER B. BRAMSEN ET AL.: "Development of Therapeutic-Grade Small Interfering RNAs by Chemical Engineering", FRONTIERS IN GENETICS, vol. 3, 1 January 2012 (2012-01-01), XP55134928, ISSN: 1664-8021, DOI: 10.3389/fgene.2012.00154, the whole document

US-B2-8642752

WO-A2-2005021800

**(57)** Изобретение относится к олигомерному конъюгату для применения при лечении вирусного заболевания. Олигомерный конъюгат содержит а) олигомер, способный модулировать последовательность-мишень в HBx и/или HBsAg вируса гепатита В (HBV) для лечения упомянутого вирусного заболевания; и б) компонент-носитель, способный доставлять олигомер в печень, который связан, предпочтительно конъюгирован, с олигомером.

### Область техники

Изобретение относится к области олигомерных лекарственных средств, в частности к олигомерам и олигомерным конъюгатам, нацеленным на вирус гепатита В (HBV). В частности, изобретение относится к области терапевтических олигомерных конъюгатов, где антисмысловые олигонуклеотиды прикреплены к компоненту-носителю. В определенных аспектах изобретение относится к области терапевтических олигомерных конъюгатов, где антисмысловые олигонуклеотиды ковалентно прикреплены к компоненту-носителю за счет физиологически лабильных линкеров.

В частности, настоящее изобретение относится к олигомерам, в частности к терапевтическим олигомерным конъюгатам, например настоящее изобретение относится к олигомерам, в частности терапевтическим олигомерным конъюгатам, нацеленным на мРНК HBV в клетке, что приводит к лечению вирусных заболеваний.

### Предшествующий уровень техники

Разрабатываются молекулярные стратегии для модулирования нежелательной генной экспрессии, которая или напрямую вызывает, участвует в, или ухудшает состояние заболевания. Одна такая стратегия предусматривает ингибирование генной экспрессии при помощи олигонуклеотидов, последовательность которых комплементарна матричной РНК вредного целевого гена. Цепь матричной РНК представляет собой копию кодирующей цепи ДНК и поэтому, как и цепь ДНК, называется смысловой цепью. Олигонуклеотиды, которые гибридизуются со смысловой цепью, называют антисмысловыми олигонуклеотидами. Связывание данных цепей с мРНК интерферирует процесс трансляции и, следовательно, генную экспрессию.

Определенные соединения на основе нуклеотидов используют в различных терапевтических применениях. В частности, исследуют различные олигонуклеотиды, включая одноцепочечные и двухцепочечные олигонуклеотиды и аналоги. Для того чтобы быть полезными в применениях *in vivo*, олигонуклеотиды должны обладать множеством свойств, включая способность проникать через мембрану, обладать хорошей устойчивостью к вне- и внутриклеточным нуклеазам, высокой аффинностью и специфичностью к мишени и предпочтительно обладать способностью рекрутировать (привлекать) эндогенные ферменты, такие как РНК Н, РНК III, РНК L и т.д.

Фундаментальным свойством олигонуклеотидов, которое лежит в основе многих их терапевтических применений, является их способность распознавать и специфично гибридизоваться с комплементарными одноцепочечными нуклеиновыми кислотами за счет или водородного связывания по Уотсону-Крику (А-Т и G-С) или других схем водородного связывания, таких как Хугстинское/обратное Хугстинское связывание. Аффинность и специфичность представляют собой свойства, обычно служащие для характеристики гибридизационных характеристик конкретного олигонуклеотида. Аффинность представляет собой меру силы связывания олигонуклеотида с его комплементарной мишенью (выражается как термостабильность дуплета ( $T_m$ )). Каждое нуклеиновое основание в дуплете увеличивает термостабильность и таким образом увеличивает аффинность с увеличением размера (числа нуклеотидов) олигонуклеотида. Специфичность представляет собой меру способности олигонуклеотида к распознаванию между полностью комплементарной и несовпадающей (не полностью комплементарной) последовательностью-мишенью.

Известно применение модифицированных нуклеиновых кислот для улучшения, например, стабилизации олигонуклеотидов, в частности химерных олигонуклеотидов, таких как в случае, когда один или более модифицированных нуклеотидов присутствуют в любом или обоих участках крыла. Примеры модификаций включают звенья 2'-О-алкил-РНК, звенья 2'-амино-ДНК, звенья 2'-фтор-ДНК, звенья LNA (Locked nucleic acid, закрытая нуклеиновая кислота), звенья арабинонуклеиновой кислоты (ANA), звенья 2'-фтор-ANA, звенья HNA, звенья INA (интеркалирующая нуклеиновая кислота - Christensen, 2002. Nucl. Acids. Res. 2002, 30:4918-4925, включенная в данный документ посредством ссылки), звенья 2'-MOE, ENA (этиленнуклеиновая кислота), UNA (незакрытая нуклеиновая кислота, Fluitertal., Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039), трицикло-ДНК (R. Steffens & C.J. Leumann, J. Am. Chem. Soc., 1997, 119, 11548-49), cET-LNA (приведена в данном документе) и LNA. Фиг. 4 представляет изображения некоторых данных аналогов.

Конкретная эффективная модифицированная нуклеиновая кислота представляет собой закрытую нуклеиновую кислоту (LNA). LNA описаны в области техники, например, см. международную заявку на патент WO 99/14226; P. Nielsen et al., J. Chem. Soc., PerkinTrans. 1, 1997, 3423; P. Nielsen et al., Chem. Commun., 1997, 9, 825; N.K. Christensen et al., J. Am. Chem. Soc., 1998, 120, 5458; A.A. Koshkin et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 2778; A.A. Koshkin et al. J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 13252-53; Kumar et al. Bioorg. & Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222 и S. Obika et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1999, 515. Интересно, включение звеньев LNA, содержащих 2'-О,4'-С-метиленовый мостик в последовательность олигонуклеотида приводит к беспрецедентному улучшению стабильности гибридизации модифицированного нуклеотида (см. выше и, например, S.K. Singhetal., Chem. Commun, 1998, 455). Олигонуклеотиды, содержащие звенья (LNA) с 2'-О,4'-С-метиленовым мостиком (и также соответствующим 2'-тио-LNA (тио-LNA), 2'-HN-LNA (амино-LNA) и 2'-N(R)-LNA (амино-R-LNA) аналог, формируют дуплеты с комплементарными ДНК и РНК с термостабильностями, ранее не описанными для олигонуклеотидов с модифициро-

ванными би- и трициклическими нуклеозидами. Повышение в  $T_m$  на модификацию варьирует от 3 до 11°C, и, более того, селективность также улучшена. Ни один другой аналог ДНК не показывает воспроизводимо такую высокую аффинность в отношении нуклеиновых кислот.

В конкретном аспекте настоящее изобретение относится к терапии вируса гепатита В (HBV). Гепатит В представляет собой вирусное заболевание, вызванное вирусом гепатита В. Оно передается парентерально через контаминированный материал, такой как кровь или продукты с кровью, контаминированные иглы, половым путем или вертикально от инфицированных или матерей-носителей к их плоду. В таких регионах мира, где распространена вертикальная передача заболевания в раннем возрасте, это приводит к высокому проценту инфицированных индивидуумов, становящихся хроническими носителями гепатита В. По оценкам Всемирной организации здравоохранения более 2 млрд людей инфицировано во всем мире, приблизительно 4 млн острых случаев в год, 1 млн смертельных случаев в год и 350-400 млн хронических носителей. Приблизительно 25% носителей умирает от хронического гепатита, цирроза или рака печени и приблизительно 75% хронических носителей является азиатами. Вирус гепатита В является вторым по значимости канцерогеном после табака, вызывая 60-80% всех первичных раков печени. HBV является в 100 раз более контагиозным, чем HIV.

Вирус гепатита В (HBV) представляет собой оболочечный, двухцепочечный ДНК вирус. Компактный 3,2 т.п.н. геном HBV состоит из четырех перекрывающихся открытых рамок считывания (ORF), которые кодируют кор, полимеразу (Pol), оболочку и X-белки. ORF Pol является наиболее длинной, и ORF оболочки локализована внутри нее, в то же время ORF X и кора перекрываются с ORF Pol.

Жизненный цикл HBV включает два важных события: 1) образование закрытой кольцевой ДНК (cccDNA) из релаксированной кольцевой ДНК (гсДНК) и 2) обратная транскрипция прегеномной РНК (pgRNA) для получения гсДНК. Перед инфицированием хозяйских клеток геном HBV существует внутри вириона в виде гсДНК. Определено, что вирионы HBV способны проникать в хозяйские клетки посредством неспецифического связывания с негативно заряженными протеогликанами, присутствующими на поверхности человеческих гепатоцитов, и через специфическое связывание HBV поверхностных антигенов (HBVsAg). Когда вирион проникает в клетку, вирусные коры и инкапсулированная гсДНК транспортируются хозяйскими факторами, при помощи сигнала ядерной локализации в ядро через рецепторы ядерного транспорта  $Importin\beta/Importin\alpha$ . Внутри ядра хозяйские ферменты репарации ДНК переводят гсДНК в cccДНК. cccДНК действует в качестве матрицы для всех вирусных мРНК и соответственно ответственна за персистенцию HBV у инфицированных индивидуумов. Транскрипты, получаемые с cccДНК группируются на две категории; pgРНК и субгеномную РНК. Субгеномные транскрипты кодируют три белка оболочки (L, M и S) и X белок, и pgРНК кодирует белки преко́ра, кора и Pol. Ингибирование генной экспрессии HBV или РНК синтез HBV приводит к ингибированию вирусной репликации HBV и продукции антигенов. Например, IFN- $\alpha$  показал ингибирование репликации HBV и продукции вирусной HBsAg за счет снижения транскрипции прегеномной РНК (pgРНК) и субгеномной РНК с циклической ковалентно замкнутой ДНК (cccДНК) микрохромосомы HBV. Все вирусные мРНК HBV копируются и полиаденилируются, а затем экспортируются в цитоплазму для трансляции. В цитоплазме иницируется сборка новых вирионов и образующаяся pgРНК упаковывается при помощи вирусной Pol, так что может начаться обратная транскрипция pgРНК, через промежуточное соединение одноцепочечную ДНК, в гсДНК. Зрелые нуклеокапсиды, содержащие гсДНК покрываются клеточными липидами и вирусными белками L, M и S, и затем инфекционные частицы HBV высвобождаются посредством отпочковывания от внутриклеточной мембраны. Интересно, что неинфекционные частицы также продуцируются в более превосходящем числе, чем инфекционные вирионы. Данные пустые покрытые частицы (L, M и S) рассматривают в качестве субвирусных частиц. Важно, поскольку субвирусные частицы обладают такими же белками оболочки, как и инфекционные частицы, можно предположить, что они служат ложной целью для иммунной системы хозяина и их применяют в качестве вакцины против HBV. Белки оболочки S, M и L экспрессируются с одной ORF, которая содержит три различных стартовых кодона. Все три белка имеют 226 а/к последовательность, S-домен на их С-терминальном конце. M и L имеют дополнительные пре-S-домены, Pre-S2 и Pre-S1 соответственно. Однако существует S-домен, который имеет эпитоп HBsAg.

Вирусные инфекции гепатита В являются постоянной медицинской проблемой, так как подобно любому быстро реплицирующемуся инфекционному агенту возникают постоянные мутации, которые помогают субпопуляциям HBV становится резистентными к существующим лекарственным средствам. В настоящее время терапии для хронической инфекции HBV, рекомендуемые Американской ассоциацией по изучению заболеваний печени (AASLD) и Европейской ассоциацией по изучению заболеваний печени (EASL), включают интерферон альфа (INF- $\alpha$ ), пегилированный интерферон альфа-2а (Peg-INF2a), энтекавир и тенофовир. Однако обычная терапия интерфероном составляет 48-недель и приводит к серьезным неприятным побочным эффектам, и спустя 24 недели после прекращения лечения сероконверсия HBeAg составляет от 27 до 36%. Сероконверсия HBsAg является даже меньшей: только у 3%, наблюдаемых непосредственно после прекращения лечения, повышается до 12% спустя 5 лет.

Секреция противовирусных цитокинов гепатоцитами и/или внутрипеченочными иммунными клетками в ответ на инфекцию играет центральную роль в очистке инфицированной печени от вируса. Однако хронически инфицированные пациенты проявляют лишь слабый иммунный ответ из-за различных стратегий избегания, адаптированных вирусом для противодействия системам распознавания хозяйских клеток и последующим противовирусным ответам.

Многие наблюдения показывают, что некоторые вирусные белки HBV могут противодействовать первичному ответу хозяйских клеток посредством интерференции сигнальных систем распознавания вируса и последующей интерферонной (IFN) противовирусной активности. Наряду с этим, избыточная секреция пустых субвирусных частиц HBV (SVP, HBsAg) может участвовать в поддержании иммунологически толерантного состояния, наблюдаемого у хронически инфицированных пациентов (CHB). В частности, SVP могут усиливать отсутствие антигенной презентации дендритными клетками вместе с утратой HBV-специфической иммунной активации Т-клеток, позволяя вирусу персистировать. Количественная оценка HBsAg является важным биологическим маркером для предсказания исхода инфекции; однако достижение сероконверсии HBsAg редко наблюдается у хронически инфицированных пациентов. Снижение SVP и HBsAg нагрузки предполагается как путь восстановления противовирусной иммунной функции, и таким образом сероконверсия в HBsAg-негативный после противовирусной терапии может служить в качестве показателя восстановления функции и остается конечной цели терапии. Поэтому таргетирование генной экспрессии HBV, приводящее к снижению HBsAg вместе с уровнем ДНК HBV у CHB-пациентов, может существенно улучшить иммунную реактивацию и ремиссию CHB-пациентов.

Нуклеозидные и нуклеотидные терапии энтекавиром и тенофовиром успешны при снижении вирусной нагрузки, но скорости потери сероконверсии HBeAg и HBsAg являются еще меньшими, чем таковые полученные при помощи терапии IFN- $\alpha$ . Также применяют другие аналогичные терапии, включающие ламивудин (3TC), телбивудин (LdT) и адефовир, но для нуклеозид/нуклеотидных терапий в целом возникновение резистентности ограничивает эффективность терапии.

US 8598334 и WO 2012/145697 упоминают применение антисмысловых нуклеотидов для нацеливания на HBV.

Контроль вирусной инфекции требует строгого надзора со стороны врожденной иммунной системы хозяина, которая может реагировать в течение минут-часов после инфекции, влияя на начальный рост вируса и ограничивая развитие хронической и персистирующей инфекции. Несмотря на доступные существующие лекарственные препараты на основе IFN и нуклеотидных/нуклеозидных аналогах, инфекция вируса гепатита В (HBV) остается основной проблемой здравоохранения во всем мире, насчитывая 350 млн хронических носителей, которые имеют более высокий риск цирроза печени и гепатоклеточной карциномы.

Существует необходимость в новых противовирусных терапиях, в частности против-HBV терапиях. Также существует необходимость терапевтической стратегии, нацеленной на различные генотипы HBV.

### **Краткое описание изобретения**

Настоящее изобретение относится к олигомерным конъюгатам, их применениям, способам их получения, приемлемым для медицинского применения, такое как лечение вирусных заболеваний.

В частности, настоящее изобретение предлагает олигомер или олигомерный конъюгат, который приемлем для лечения вирусных заболеваний, где упомянутый олигомер или упомянутый олигомерный конъюгат способен модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV. В конкретных воплощениях компонент-носитель конъюгирован с олигомером.

Изобретение предлагает олигомер и олигомерный конъюгат, как описано в данном документе, где олигомер и олигомерный компонент конъюгата содержит по меньшей мере 6, предпочтительно по меньшей мере 7, предпочтительно по меньшей мере 8, предпочтительно по меньшей мере 9, предпочтительно по меньшей мере 10 звеньев, предпочтительно по меньшей мере 11 звеньев, предпочтительно по меньшей мере 12 звеньев, предпочтительно по меньшей мере 13 звеньев, предпочтительно по меньшей мере 14 звеньев, предпочтительно по меньшей мере 15 звеньев, предпочтительно по меньшей мере 16 звеньев, которые по меньшей мере на 80% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 85% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 91% идентичны, по меньшей мере на 92% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 93% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 94% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 95% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 96% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 97% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 98% идентичны, предпочтительно по меньшей мере на 99% идентичны, предпочтительно идентичны участку, соответствующему гену HBx или гену HBsAg HBV или обратному компоненту участка нуклеиновой кислоты, являющегося мишенью кодирующему HBx HBV или HBsAg HBV.

Изобретение предлагает олигомер или олигомерный конъюгат, как описано в данном документе, где олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит по меньшей мере 6, предпочтительно по меньшей мере 7, предпочтительно по меньшей мере 8, предпочтительно по меньшей мере

ре 9, предпочтительно по меньшей мере 10 звеньев, идентичных участку, соответствующему гену HBx HBV или гену HBsAg или обратному комплементу участка нуклеиновой кислоты, являющегося мишенью, кодирующему HBx HBV или HBsAg HBV.

В случае конкретных воплощений изобретение предлагает олигомер или олигомерный конъюгат, как описано в данном документе, где олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит менее 20 звеньев, например менее 19 звеньев, например менее 18 звеньев, например менее 17 звеньев, например 16 или менее звеньев.

В случае конкретных воплощений изобретение предлагает олигомер или олигомерный конъюгат, как описано в данном документе, где олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит 15 или 16 звеньев.

Изобретение предлагает конъюгат, содержащий олигомер по изобретению и по меньшей мере один не нуклеотид или не полинуклеотидную группу, ковалентно прикрепленную к упомянутому олигомеру.

Изобретение предлагает фармацевтическую композицию, содержащую олигомер или конъюгат по изобретению и фармацевтически приемлемый разбавитель (такой как вода или солевой раствор), носитель, соль или адъювант.

Изобретение предлагает олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению для применения в качестве лекарственного препарата, например лекарственного препарата для лечения вирусного заболевания.

Изобретение предлагает применение олигомера или конъюгата по изобретению для производства лекарственного препарата для лечения вирусного заболевания.

Изобретение предлагает способ лечения вирусного заболевания, упомянутый способ, содержащий введение эффективного количества олигомера, олигомерного конъюгата или фармацевтической композиции по изобретению, животному, страдающему от или вероятно страдающему от вирусного заболевания (такому как животное, страдающее от или чувствительное к заболеванию или расстройству).

Изобретение предлагает способ лечения вирусного заболевания, упомянутый способ, содержащий введение эффективного количества олигомера, олигомерного конъюгата или фармацевтической композиции по изобретению животному, не являющемуся человеком, страдающему или вероятно страдающему от вирусного заболевания (такому как животное, не являющееся человеком, страдающее от или чувствительное к заболеванию или расстройству).

Изобретение предлагает способ лечения вирусного заболевания, упомянутый способ, содержащий введение эффективного количества олигомера, олигомерного конъюгата или фармацевтической композиции по изобретению пациенту-человеку, страдающему или вероятно страдающему от вирусного заболевания (такому как пациенту-человеку, страдающему от или чувствительному к заболеванию или расстройству).

Также изобретение представляет собой способы лечения животного (животного, не являющегося человеком или человека), предположительно имеющего или чувствительного к заболеванию или состоянию, ассоциированному с экспрессией или повышенной экспрессией HBx или HBsAg, за счет введения животному, не являющемуся человеком, или человеку терапевтически или профилактически эффективного количества одного или более олигомеров, конъюгатов или фармацевтических композиций по изобретению. Кроме того, предложены способы применения олигомеров для ингибирования экспрессии HBx или HBsAg и лечения заболеваний, ассоциированных с активностью HBx или HBsAg.

В дальнейшем изобретение предлагает фармацевтическую систему, содержащую фармацевтическую композицию по настоящему изобретению и дополнительный фармацевтический препарат и/или терапевтический препарат. Дополнительный фармацевтический препарат может представлять собой олигомер или олигомерный конъюгат по настоящему изобретению. Дополнительный фармацевтический препарат может представлять собой олигомер или олигомерный конъюгат, способный модулировать последовательность-мишень HBV, которая находится вне HBx или HBsAg. Например, по меньшей мере один олигомер или олигомерный конъюгат может быть способен модулировать последовательность-мишень внутри гена или мРНК HBsAg, HBeAg или ДНК-полимеразы HBV.

В одном воплощении множество олигомеров и олигомерных конъюгатов по изобретению вводят субъекту, нуждающемуся в лечении. Олигомеры или конъюгаты могут быть введены с дополнительными фармацевтическими/терапевтическими агентами.

В одном воплощении заболевание или расстройство или состояние ассоциировано с повышенной экспрессией HBx или HBsAg.

Изобретение предлагает способы модулирования экспрессии HBx или HBsAg в клетке или ткани, способ, содержащий этап контактирования клетки или ткани *in vitro* или *in vivo* с эффективным количеством одного или более олигомеров, конъюгатов или их фармацевтических композиций, для эффективного модулирования экспрессии HBx или HBsAg.

Изобретение предлагает способы ингибирования (например, подавления) экспрессии HBx в клетке или ткани, способ, содержащий этап контактирования клетки или ткани *in vitro* или *in vivo* с эффективным количеством одного или более олигомеров, конъюгатов или их фармацевтических композиций для эффективного подавления экспрессии HBx или HBsAg.

Изобретение предлагает способ ингибирования HBx или HBsAg в клетке, экспрессирующей HBx или HBsAg, упомянутый способ, содержащий введение в клетку олигомера или конъюгата по изобретению, для ингибирования HBx или HBsAg в упомянутой клетке.

В дальнейшем предложены способы подавления экспрессии HBx или HBsAg в клетках или тканях, содержащие контактирование упомянутых клеток или тканей *in vitro* или *in vivo*, с эффективным количеством одного или более олигомеров, олигомерных конъюгатов или композиций по изобретению.

Аспекты настоящего изобретения предложены в настоящее время.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат для применения при лечении вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания;

б) компонент-носитель, предпочтительно для доставки упомянутого первого олигомера в печень.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат, приемлемый для лечения вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания;

б) компонент-носитель, предпочтительно для доставки упомянутого первого олигомера в печень.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает композицию, приемлемую для лечения вирусного заболевания, где упомянутая композиция содержит олигомерный конъюгат и по меньшей мере один дополнительный другой олигонуклеотид; где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания;

б) компонент-носитель, предпочтительно для доставки упомянутого первого олигомера в печень.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата, который гибридизуется с последовательностью-мишенью, выбранной из группы, состоящей из любой одной или более позиций: 1530-1598; 1264-1278 и 670-706 SEQ ID NO: 3.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомер на основе корового мотива, выбранного из группы, состоящей из любой одной или более:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);

GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);

AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);

AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);

AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);

CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);

GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);

CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);

CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);

CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8)

CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9)

CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);

CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);

AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);

GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15)

GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);

GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);

CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);

AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и

TAGTAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834),

способной модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV для лечения вирусного заболевания.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает композицию, приемлемую для лечения вирусного заболевания, где упомянутая композиция содержит олигомер и по меньшей мере один дополнительный другой олигонуклеотид; где упомянутый олигомер содержит по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает способ лечения вирусного заболевания, упомянутый способ, содержащий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, эффективного количества олигомерного конъюгата по изобретению.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает способ лечения вирусного заболевания, упомянутый способ, содержащий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, эффективного количества композиции по изобретению.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает способ лечения вирусного заболевания, упомянутый способ, содержащий введение субъекту, нуждающемуся в лечении эффективного количества олигомера по изобретению.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает фармацевтическую композицию, содержащую олигомерный конъюгат по изобретению; и один или более фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель, соль или адъювант.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает фармацевтическую композицию, содержащую композицию по изобретению; и один или более фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель, соль или адъювант.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает фармацевтическую композицию, содержащую олигомер по изобретению; и один или более фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель, соль или адъювант.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает фармацевтическую систему, содержащую фармацевтическую композицию по изобретению и дополнительный фармацевтический препарат.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает мотив, выбранный из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);

для получения олигомерного конъюгата по изобретению.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает мотив, выбранный из группы, состоящей из любой одной или более из GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO: 13), GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO: 11) и CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO: 12) для получения композиции по изобретению.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает мотив, выбранный из группы, состоящей из любой одной или более из AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO: 20); AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO: 26); AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO: 18); GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16); GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO: 17); CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19) и AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27) для получения олигомера по изобретению.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает способ производства олигомерного конъюгата по изобретению, содержащий конъюгирование одного или более олигомеров по изобретению с компонентом-носителем по изобретению.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает способ производства композиции по изобретению, содержащий смешивание олигомерного конъюгата по изобретению с фармацевтически приемлемыми разбавителями, носителями, солями или адъювантами.

#### **Краткое описание графических материалов**

Фиг. 1: представляет схему этапа конъюгирования LNA олигомера GalNAc.

Фиг. 2: представляет примеры холестерол или моно-GalNAc компонентов-носителей, включающих C6-линкерную группу (участок E), которую применяют для связи компонента-носителя с олигомером (участок A или с физиологически лабильным линкерным участком PL, таким как линкер PO). Волнистая линия представляет ковалентную связь с олигомером или участком PL.

Фиг. 3: представляет примеры три-GalNAc компонентов-носителей. Конъюгаты 1-4 иллюстрируют 4 приемлемых GalNAc компонента-носителя и конъюгаты 1a-4a относятся к таким же компонентам-носителям с дополнительной C6-линкерной группой (участок E), которую применяют для связи компонента-носителя с олигомером (участок A или физиологически лабильный линкер, участок PL, такой как линкер PO). Волнистая линия представляет ковалентную связь с олигомером или участком PL.

Фиг. 4: представляет примеры олигомерных конъюгатов с трехвалентными компонентами-носителями GalNAc.

Фиг. 5: представляет структуры для серии нуклеозидных аналогов.

Фиг. 6: представляет структуру SEQ ID NO: 808.

Фиг. 7: представляет структуру SEQ ID NO: 814.

Фиг. 8: представляет структуру SEQ ID NO: 815.

Фиг. 9: представляет структуру SEQ ID NO: 825.

Фиг. 10: представляет структуру SEQ ID NO: 826.

Фиг. 11: снижение SEQ ID NO: 807 HBsAG в дозе 0,28 мг/кг (■), 1,4 мг/кг (▲) и 7,1 мг/кг (▼); SEQ ID NO: 808 в дозе 7,1 мг/кг (■), 1,42 мг/кг (▲) и 0,29 мг/кг (▼); SEQ ID NO: 814 в дозе 0,252 мг/кг (▲) и 1,26 мг/кг (▼) и 6,15 мг/кг (◆); SEQ ID NO: 815 в дозе 0,3 мг/кг (■), 1,5 мг/кг (▲) и 7,5 мг/кг (▼); SEQ ID NO: 825 в дозе 0,3 мг/кг (▲), 1,5 мг/кг (▼) и 7,5 мг/кг (◆); SEQ ID NO: 826 в дозе 7,1 мг/кг (■), 1,42 мг/кг (▲) и 0,29 мг/кг (▼).

Фиг. 12: снижение SEQ ID NO: 807 HBeAG в дозе 0,28 мг/кг (■), 1,4 мг/кг (▲) и 7,1 мг/кг (▼); SEQ ID NO: 808 в дозе 7,1 мг/кг (■), 1,42 мг/кг (▲) и 0,29 мг/кг (▼); SEQ ID NO: 814 в дозе 0,252 мг/кг (▲) и 1,26 мг/кг (▼), 6,15 мг/кг (◆); SEQ ID NO: 815 в дозе 0,3 мг/кг (■), 1,5 мг/кг (▲) и 7,5 мг/кг (▼); SEQ ID NO: 825 в дозе 0,3 мг/кг (▼), 1,5 мг/кг (▼) и 7,5 мг/кг (◆); SEQ ID NO: 826 в дозе 7,1 мг/кг (◆), 1,42 мг/кг (▲) и 0,29 мг/кг (▼);

Фиг. 13: снижение ДНК SEQ ID NO: 807 HBV в дозе 0,28 мг/кг (■), 1,4 мг/кг (▲) и 7,1 мг/кг (▼); SEQ ID NO: 808 в дозе 7,1 мг/кг (■), 1,42 мг/кг (▲) и 0,29 мг/кг (▼); SEQ ID NO: 814 в дозе 0,252 мг/кг (▲) и 1,26 мг/кг (▼), 6,15 мг/кг (◆); SEQ ID NO: 815 в дозе 0,3 мг/кг (■), 1,5 мг/кг (▲) и 7,5 мг/кг (▼); SEQ ID NO: 825 в дозе 0,3 мг/кг (▲), 1,5 мг/кг (▼) и 7,5 мг/кг (◆); SEQ ID NO: 826 в дозе 7,1 мг/кг (◆), 1,42 мг/кг (▲) и 0,29 мг/кг (▼).

Фиг. 14: представляет результаты подкожного (ПК) и внутривенного (ВВ) путей введения SEQ ID NO: 807 в дозе 0,2, 1,0 и 5,0 мг/кг. А) представляет снижение HBsAG. В) представляет снижение HBeAG. С) представляет снижение ДНК.

Фиг. 15: представляет результаты неконъюгированных олигомеров (■)(SEQ ID NO: 308 и 303) и конъюгированных олигомеров (▼) (SEQ ID NO: 807 и 815), протестированных в эквимольных дозах олигомеров. А) представляет снижение HBsAG. В) представляет снижение HBeAG. С) представляет снижение ДНК.

#### Определения/элементы изобретения

Дальнейшее представляет собой определения терминов, которые применяют для всех аспектов настоящего изобретения. Данные определения не являются взаимоисключающими. Данные определения также предлагают дополнительные воплощения в отношении всех аспектов настоящего изобретения.

Олигомер/олигонуклеотид.

В контексте настоящего изобретения ссылки на "олигомер" и "олигонуклеотид", как употреблено в данном документе, также применяют к первому олигомерному участку и/или второму олигомерному участку, например, когда первый олигомерный участок представляет собой олигомерный конъюгат или когда он в несвободной форме (т.е. когда не в олигомерной конъюгате).

Термин "олигомер" относится к молекуле, формируемой ковалентной связью двух или более нуклеотидов (т.е. олигонуклеотид). Поэтому, как употреблено в данном документе, термины "олигомер" и "олигонуклеотид" взаимозаменяемы и имеют идентичное значение. В данном документе единичный нуклеотид (звено) также может быть рассмотрен в качестве мономера или звена. В некоторых воплощениях термины "нуклеозид", "нуклеотид", "звено" и "мономер" применяют взаимозаменяемо. Это следует учитывать при ссылке на последовательность нуклеотидов или звеньев, которая представляет собой последовательность оснований, таких как А, Т, Г, С или U.

Как употреблено в данном документе, термины "олигомер" и "олигонуклеотид" включают линейные и кольцевые олигомеры натуральных и/или модифицированных звеньев или связей, включая дезоксирибонуклеозиды, рибонуклеозиды, их замещенные и альфа-аномерные формы, пептидные нуклеиновые кислоты (PNA) и т.п., способные специфично связываться с полинуклеотидом-мишенью посредством закономерных взаимодействий звено-звено, таких как спаривание оснований по Уотсону-Крику, Хугстеновское или обратно Хугстеновское спаривание оснований и т.п.

Олигонуклеотид может состоять из единственного участка или может состоять из нескольких участков. Олигонуклеотид может быть "химерным", т.е. состоящим из различных участков. В контексте данного изобретения "химерные" антисмысловые соединения являются антисмысловыми соединениями, в частности олигонуклеотидами, которые содержат два или более химических участка, например участок(ки) ДНК, участок(ки) РНК, участок(ки) PNA и т.д. Каждый химический участок состоит по меньшей мере из одного звена, т.е. нуклеотида в случае олигонуклеотидного соединения. Данные олигонуклеотиды обычно содержат по меньшей мере один участок, где олигонуклеотид модифицирован с целью проявления одного или более искоемых свойств. Искомые свойства олигонуклеотида могут представлять собой повышение устойчивости к деградации нуклеазами, усиленный захват клетками и/или повышенную аффинность связывания с нуклеиновой кислотой-мишенью. Различные участки олигонуклеотида таким образом могут обладать различными свойствами. Один или более участок олигонуклеотида может служить субстратом для ферментов, способных расщеплять РНК:ДНК или РНК:РНК гибриды. Существует несколько ферментов с подобным каталитическим эффектом. Способ расщепления РНК в конкретном сайте при помощи антисмыслового олигонуклеотида и РНКазы H продемонстрирован Minshall et al. (Nucleic Acids Research, 14:6433-6451 (1986)).



РНКаза Н представляет собой клеточный фермент, который расщепляет цепь РНК дуплета РНК:ДНК. Поэтому активация РНКазы Н приводит к расщеплению РНК-мишени. Поэтому эффективность олигонуклеотидного ингибирования генной экспрессии может быть повышена. Другие ферменты, способные к расщеплению представляют собой РНКазу L и РНКазу Р.

Нуклеососнование.

Термин "нуклеососнование" относится к группе основания нуклеотида и охватывает оба варианта как естественного так и неестественного происхождения.

Таким образом, "нуклеососнование" охватывает не только известные пуриновые и пиримидиновые гетероциклы, но также гетероциклические аналоги и их таутомеры.

Примеры нуклеососнований включают, но не ограничены, аденин, гуанин, цитозин, тимидин, урацил, ксантин, гипоксантин, 5-метилцитозин, изоцитозин, псевдоцитозин, 5-бромурацил, 5-пропинилурацил, 6-аминопурин, 2-аминопурин, инозин, диаминопурин и 2-хлор-6-аминопурин.

В некоторых воплощениях по меньшей мере одно нуклеососнование, присутствующее в олигомере, является модифицированным нуклеососнованием, выбранным из группы, состоящей из 5-метилцитозина, изоцитозина, псевдоизоцитозина, 5-бромурацила, 5-пропинилурацила, 6-аминопурина, 2-аминопурина, инозина, диаминопурина и 2-хлор-6-аминопурина.

Звенья.

Как употреблено в данном документе, термин "звенья" или "мономеры" обычно означают нуклеозидные звенья, связанные фосфодисложноэфирными связями или их аналогами для образования олигонуклеотидов, варьирующих по размеру от нескольких мономерных звеньев, например от приблизительно 3-4 до приблизительно нескольких сотен мономерных звеньев. Аналоги фосфодисложноэфирных связей включают фосфотриат, фосфодитриат, метилфосфонаты, фосфорселеноат, фосфорамидат и т.п.

Нуклеозиды и нуклеозидные аналоги.

В некоторых воплощениях термины "нуклеозидный аналог" и "нуклеотидный аналог" применяют взаимозаменяемо.

Термин "нуклеотид", как употреблено в данном документе, относится к гликозиду, содержащему сахарную группу, группу основания и ковалентно связанную группу (связующая группа), такую как фосфатная или фосфотриатная межнуклеотидная связующая группа, и охватывает нуклеотиды, как естественного происхождения, такие как ДНК или РНК, так и неестественного происхождения, содержащие модифицированную сахарную группу и/или группу основания, которые также рассматриваются в качестве "нуклеотидных аналогов" в данном документе. В данном документе единичный нуклеотид (звено) также может быть рассмотрен в качестве мономера или нуклеиново-кислотного звена.

В области биохимии термин "нуклеозид" применяют относительно гликозида, содержащего сахарную группу и основную группу, и поэтому он может быть применен в отношении нуклеотидных звеньев, которые ковалентно связаны межмолекулярными связями между нуклеотидами олигомера.

В области биотехнологии термин "нуклеотид" часто применяют в отношении мономера или звена нуклеиновой кислоты, и, например, в контексте олигонуклеотида он относится к основанию, такому как "нуклеотидная последовательность" и обычно может относиться к нуклеососновной последовательности (т.е. подразумеваются присутствие сахарного остова и межнуклеозидные связи).

Аналогично, особенно в случае олигонуклеотидов, где одна или более межнуклеозидные связующие группы модифицированы, термин "нуклеотид" может относиться к "нуклеозиду", например термин "нуклеотид" может быть применен даже в случае специфичности присутствия или природы связей между нуклеозидами.

Специалисты в области техники поймут, что 5'-терминальный нуклеотид олигонуклеотида не содержит 5'-межнуклеотидную связующую группу, хотя может содержать или не содержать 5'-терминальную группу.

Нуклеотиды не естественного происхождения включают нуклеотиды, которые имеют модифицированные сахарные группы, такие как бициклические нуклеотиды или 2'-модифицированные нуклеотиды, такие как 2'-замещенные нуклеотиды.

"Нуклеотидные аналоги" представляют собой варианты натуральных нуклеотидов, таких как нуклеотиды ДНК или РНК, посредством модификаций в группах сахаров и/или оснований. Аналоги в принципе могут быть лишь "молчащими" или "эквивалентными" естественным нуклеотидам в контексте олигонуклеотида, т.е. не оказывать функционального влияния на то, как нуклеотид работает в отношении ингибирования экспрессии целевого гена. Такие "эквивалентные" аналоги, тем не менее, могут быть полезны в случае, когда, например, более легкие или дешевые для производства, или более стабильны при хранении или условиях производства, или имеют тег или метку. Однако предпочтительно аналоги оказывают функциональный эффект на тот путь, через который олигомер ингибирует экспрессию; например, посредством достижения повышенной аффинности связывания к мишени и/или повышенной устойчивости к внутриклеточным нуклеазам и/или повышенной простоты транспорта в клетку. Конкретные примеры нуклеозидных аналогов описаны Freier & Altmann; Nucl. Acid Res., 1997, 25, 4429-4443 and Uhlmann; Curr. Opin. Drug Development, 2000, 3(2), 293-213, и на схеме 1, представленной на фиг. 4.

Линкер/линкерная группа и т.д.

Термины "линкерная группа", "связующая группа", "линкер", "линкерная молекула" или "межнуклеотидная связь" предназначены для обозначения группы, способной ковалентно связывать вместе два вещества, таких как нуклеотиды. Конкретные примеры включают фосфатные группы и фосфоротиоатные группы. Такие линкеры могут содержать спейсерную молекулу, ковалентно прикрепленную к одной или более активированной группе или функциональной группе. Возможно, функциональная группа линкерной молекулы может быть обработана связующим агентом для образования активированной группы. Такие линкеры также включают связывающие молекулы, как описано в данном документе.

Термин "ветвящийся участок" предназначен для обозначения группы или участка, способных ковалентно соединять вместе два или более вещества, таких как нуклеотиды, или для образования кластеров компонента-носителя, таких как галактозные кластеры.

Альтернативно, "линкерные группы" и "ветвящиеся участки", как описано в данном документе, могут быть применены для ковалентного соединения нуклеотидных участков и не нуклеотидных участков, такую линкерную группу называют L. Например, линкерная группа может быть применена для конъюгирования олигомера по изобретению с компонентом-носителем, описанным в данном документе. Например, ветвящийся участок может быть применен для конъюгирования олигомера по изобретению с одним или более компонентом-носителем, описанным в данном документе. Например, ветвящийся участок может быть применен для конъюгирования одного или более олигомера по изобретению с компонентом-носителем, описанным в данном документе. Например, ветвящийся участок может быть применен для конъюгирования одного или более олигомеров по изобретению с компонентами-носителями, описанными в данном документе.

Олигомерный конъюгат.

Термин "олигомерный конъюгат" предназначен для обозначения гетерогенной молекулы, сформированной посредством связывания ("конъюгации"), такого как ковалентное связывание, олигомера, как описано в данном документе, с компонентом-носителем.

Связывание, такое как ковалентная конъюгация, может быть химическим по своей природе, например через линкерную группу, или генетическим, например посредством рекомбинантных генетических технологий, таких как слияние белков с, например, репортерной молекулой (например, зеленый флуоресцентный белок,  $\beta$ -галактозидаза, Histag и т.д.). Альтернативно, олигомер может быть конъюгирован с компонентом-носителем напрямую без необходимости в какой-либо связывающей молекуле или линкерной группе.

Компонент-носитель.

Как употреблено в данном документе, термин "компонент-носитель" относится к молекулярному носителю, который предназначен для переноски или передачи олигомеров по изобретению к их месту локализации, такому как желаемая анатомическая локализация.

Компоненты-носители по настоящему изобретению могут быть применены для усиления активности, клеточного распределения и/или клеточного захвата олигомеров.

Может быть применен любой приемлемый компонент-носитель.

Компонент-носитель может представлять собой полинуклеотид. Однако обычно компонент-носитель представляет собой не нуклеотидную группу или не полинуклеотидную группу.

Примеры не нуклеотидных или не полинуклеотидных групп включают макромолекулярные агенты, выбранные из группы, состоящей из углеводов, лигандов рецепторов клеточной поверхности, лекарственных веществ, гормонов, липофильных веществ, полимеров, белков, пептидов, токсинов (например, бактериальных токсинов), витаминов, вирусных белков или их комбинаций. Обычные полимеры могут представлять собой полиэтиленгликоль и/или полипропиленгликоль (PPG).

В некоторых воплощениях компонент-носитель может представлять собой аминокислоту, белок, пептид или полипептид. Обычно белки могут представлять собой ферменты, сывороточные белки (например, сывороточный альбумин человека (HSA), трансферрин или гликопротеины), рецепторы, антитела или производные антител, подобные одноцепочечным вариабельным фрагментам, биспецифическим антителам, триотелам и т.д., разработанным для связывания с желаемым целевым антигеном.

Примеры пептидных компонентов-носителей представляют собой поли(L-лизин), который существенно повышает клеточную проницаемость и транспортный пептид Antennapedia. Такие конъюгаты описаны Lemaitre et al., "Specific antiviral activity of a poly(L-lysine)-conjugated oligodeoxyribonucleotide sequence complementary to vesicular stomatitis virus N protein mRNA initiation site", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84:648-652, 1987; US Patent No.: 6166089 и 6086900. Способ в вышеупомянутых публикациях требует, чтобы 3'-терминальный нуклеотид представлял собой рибонуклеотид. Полученные альдегидные группы затем случайно соединяют с эпсилон-амино группами остатков лизина поли(L-лизина) за счет образования шиффового основания и затем восстанавливают при помощи цианоборгидрида натрия. Данная процедура переводит 3'-терминальное рибозное кольцо вантисмысловые олигомеры морфолиновой структуры. Пептидный сегмент также может быть синтезирован за счет стратегий, которые совместимы с синтезом ДНК/РНК, например Mmt/Fmoc стратегии. В данном случае пептид может быть синтезирован непосредственно перед или после олигонуклеотидного сегмента. Также существуют способы получения

пептидного олигонуклеотидного конъюгата после синтеза, например, за счет образования дисульфидного мостика.

В некоторых воплощениях конъюгирующая группа может представлять собой или содержать липофильную конъюгирующую группу. Липофильные конъюгирующие группы могут быть выбраны из группы, состоящей из стеролов, станолов, стероидов, полициклических ароматических групп алифатических групп, липидов, фосфолипидов, липофильных спиртов, жирных кислот и сложных эфиров жирных кислот. В некоторых воплощениях конъюгирующая группа может содержать холестерол.

Компонент-носитель может представлять собой или содержать фармакокинетический модулятор, такой как липофильные или гидрофобные группы. Такие группы раскрыты в WO2012/082046 в контексте миРНК конъюгатов. Гидрофобная группа может содержать  $C_8$ - $C_{36}$  жирную кислоту, которая может быть насыщенной или ненасыщенной. В некоторых воплощениях могут быть применены  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ,  $C_{20}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{24}$ ,  $C_{26}$ ,  $C_{28}$ ,  $C_{30}$ ,  $C_{32}$  и  $C_{34}$  жирные кислоты. Гидрофобная группа может иметь 16 или более атомов углерода. Типичные приемлемые гидрофобные группы могут быть выбраны из группы, содержащей стерол, холестерол, пальмитоил, гексадек-8-еноил, олеил, (9E,12E)-октадека-9,12-диеноил, диоктаноил и  $C_{16}$ - $C_{20}$  ацил. Согласно WO 2012/082046 гидрофобные группы, имеющие менее чем 16 атомов углерода являются менее эффективными в отношении повышения полинуклеотидного таргетинга, но они могут быть применены во множестве копий (например,  $2\times$ , таких как  $2\times C_8$  или  $C_{10}$ ,  $C_{12}$  или  $C_{14}$ ) для повышения эффективности. Фармакокинетические модуляторы, полезные в качестве полинуклеотидных нацеленных групп могут быть выбраны из группы, состоящей из холестерола, алкильной группы, алкенильной группы, алкинильной группы, арильной группы, аралкильной группы, аралкенильной группы и аралкинильной группы, каждая из которых может быть линейной, разветвленной или циклической. Фармакокинетические модуляторы предпочтительно представляют собой углеводороды, содержащие только атомы углерода и водорода. Однако допускаются заместители или гетероатомы, которые поддерживают гидрофобность.

WO 2007/031091 предлагает примеры других приемлемых лигандов и компонентов-носителей, которые таким образом включены посредством ссылки.

В некоторых воплощениях, компонент-носитель представляет собой или содержит карбогидратную группу. Карбогидратные конъюгирующие группы включают, но не ограничены, галактозу, лактозу, N-ацетилгалактозамин, маннозу и маннозо-6-фосфат. Карбогидратные конъюгаты могут быть применены для усиления доставки или активности в ряде тканей, таких как печень и/или мышцы. См. например, EP 1495769, WO 99/65925, Yang et al., *Bioconjug Chem.* (2009), 20(2):213-21. Zatselin&Oretskaya *Chem. Biodivers.*(2004) 1(10): 1401-17.

Кроме того, олигомер может дополнительно содержать одну или более дополнительные конъюгирующие группы, из которых особо интересны липофильные и гидрофобные группы. Они могут, например, действовать в качестве фармакокинетических модуляторов и могут быть ковалентно связаны или с карбогидратным конъюгатом, линкерное связывание карбогидратного конъюгата с олигомером или линкерное связывание множества карбогидратных конъюгатов (мультивалентных), или с олигомером, возможно через линкер, такой как физиологически лабильный линкер.

В некоторых воплощениях, компонент-носитель содержит группу, нацеленную на асиалогликопротеиновый рецептор (ASGP-R), с аффинностью эквивалентной или превосходящей таковую галактозы. Нацеленная на ASPG-R, группа может быть выбрана из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, и N-изобутаноилгалактозамина. В некоторых воплощениях группа, нацеленная на асиалогликопротеиновый рецептор, является моновалентной. В других воплощениях компонент-носитель содержит галактозный кластер, такой как дивалентная, трехвалентная или четырехвалентная конъюгирующая группа, нацеленная на асиалогликопротеиновый рецептор (т.е. содержащую 1, 2, 3 или 4 терминальные карбогидратные группы, способные к связыванию с асиагликопротеиновым рецептором). В некоторых воплощениях компонент-носитель содержит GalNAc (N-ацетилгалактозамин), такой как моновалентный, двухвалентный, трехвалентный или четырехвалентный GalNAc. GalNAc конъюгаты могут быть применены для нацеливания соединения на печень. Предпочтительный компонент-носитель представляет собой N-ацетилглюкозаминовый тример. GalNAc конъюгаты применяют с метилфосфонатными и PNA антиСмысловыми олигонуклеотидами (например, US 5,994,517 и Hangland et al., *Bioconjug Chem.* 1995 Nov-Dec; 6(6):695-701) и миРНК (например, WO 2009/126933, WO 2012/089352 и WO 2012/083046) и с LNA и 2'-МОЕ модифицированными нуклеозидами WO 2014/076196, WO 2014/207232, WO 2014/179620 и WO 2014/179627. GalNAc ссылки и специфичные конъюгаты, применяемые в данном документе? таким образом включены в данный документ посредством ссылки. WO 2012/083046 раскрывает миРНК с GalNAc конъюгирующими группами, которые содержат расщепляемые фармакокинетические модуляторы, приемлемые для применения по настоящему изобретению, предпочтительные фармакокинетические модуляторы представляют собой  $C_{16}$ -гидрофобные группы, такие как пальмитоил, гексадек-8-еноил, олеил, (9E,12E)-октадека-9,12-диеноил, диоктаноил, и  $C_{16}$ - $C_{20}$ -ацил. WO 2012/083046 расщепляемые фармакокинетические модуляторы также могут представлять собой холестерол.

Компонент-носитель может быть выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина, N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноил-галактозамина, галактозного кластера и N-ацетилгалактозаминового тримера и могут иметь фармакокинетический модулятор, выбранный из группы, состоящей из гидрофобной группы, имеющей 16 или более атомов углерода, гидрофобной группы, имеющей 16-20 атомов углерода, пальмитоила, гексадек-8-еноила, олеила, (9E,12E)-октадека-9,12-дианоила, диоктаноила и C<sub>16</sub>-C<sub>20</sub>-ацила и холестерина. Конкретные кластеры GalNac, раскрытые в '046 включают (E)-гексадек-8-еноил (C<sub>16</sub>), олеил (C<sub>18</sub>), (9E,12E)-октадека-9,12-диеноил (C<sub>18</sub>), октаноил (C<sub>8</sub>), додеканоил (C<sub>12</sub>), C<sub>20</sub>-ацил, C<sub>24</sub>-ацил, диоктаноил (2×C<sub>8</sub>). Компонент-носитель - фармакокинетический регулятор могут быть связаны с полинуклеотидом через физиологически лабильную связь или, например, дисульфидную связь (PO-линкер), или ПЭГ линкер. Изобретение также относится к применению сложных фосфодиэфирных линкеров между олигомером и компонентом-носителем (соответственно расположенных между олигомером и карбогидратной конъюгирующей группой).

В некоторых воплощениях настоящего изобретения олигомер связан, предпочтительно конъюгирован с компонентом-носителем, который может быть применен для доставки олигомеров в печень субъекта, например, за счет повышения клеточного захвата олигомеров.

В конкретном воплощении компонент-носитель может представлять собой GalNac или кластер GalNac. Фиг. 2 и 3 представляет некоторые компоненты-носители.

Для нацеливания на гепатоциты в печени предпочтительным нацеленным лигандом является галактозный кластер.

Галактозный кластер содержит молекулу, имеющую, например, 2-4 галактозных производных. Как употреблено в данном документе, термин "галактозное производное" включает как галактозу, так и производные галактозы, имеющие аффинность к ASGP-R эквивалентную или превышающую таковую галактозы. Терминальное галактозное производное прикреплено к молекуле через ее C-1 углерод. ASGP-R уникален для гепатоцитов и связывает разветвленные галактозо-терминальные гликопротеины. Предпочтительный галактозный кластер имеет три терминальных галактозамина или производных галактозамина, каждый имеющий аффинность к асиалогликопротеиновому рецептору. Более предпочтительный галактозный кластер имеет три терминальных N-ацетил-галактозамина. Другие термины, распространенные в области техники, включают трехантенную галактозу, трехвалентную галактозу и галактозный тример. Известно, что кластеры производного трехантенной галактозы связаны с ASGP-R с большей аффинностью, чем структуры производных биантенной и моноантенной галактозы (Baenziger and Fiete, 1980, Cell, 22, 611-620; Connolly et al., 1982, l. Biol. Chem., 257,939-945). Мультивалентность необходима для достижения нМ аффинности.

Предпочтительное производное галактозы представляет собой N-ацетил-галактозамин (GalNac). Другие сахараиды, обладающие высокой аффинностью к асиалогликопротеиновому рецептору могут быть выбраны из списка, содержащего: галактозамин, N-н-бутаноилгалактозамин и N-изобутаноилгалактозамин. Аффинности различных производных галактозы к асиалогликопротеиновому рецептору изучены (см., например, Jobst, S.T. and Drickamer, K.J.B.C. 1996, 271, 6686) или легко определяются при помощи способов обычных в области техники.

Галактозный кластер может содержать два или предпочтительно три производных галактозы, каждое связанное с центральной точкой ветвления. Производные галактозы прикреплены к центральной точке ветвления через C-1 углероды сахаридов. Производное галактозы предпочтительно связано с точкой ветвления через линкеры или спейсеры. Предпочтительный спейсер представляет собой гибкий гидрофильный спейсер (U.S. Patent 5885968; Biessen et al. J. Med. Chem. 1995, Vol. 39, p. 1538-1546). Предпочтительный гибкий гидрофильный спейсер представляет собой ПЭГ спейсер. Предпочтительный ПЭГ спейсер представляет собой ПЭГ3 спейсер (три этиленовых звена). Точка ветвления может представлять собой любую небольшую молекулу, которая делает возможным прикрепление трех производных галактозы и в дальнейшем делает возможным прикрепление точки ветвления к олигомеру. Каждое производное галактозы (карбогидратная группа) в GalNac кластере (например, GalNac) может быть соединено с олигомером через спейсер, такой как (поли)этиленгликолевый линкер (ПЭГ), такой как ди-, три-, тетра-, пента-, гексаэтиленгликолевый линкер. ПЭГ группа может формировать спейсер между сахарной группой производного галактозы и пептидным (дилизин показан) линкером. Примером группы точки ветвления является дилизин. Молекула дилизина содержит триаминогруппы, через которые три производных галактозы могут быть прикреплены, и карбоксильную реактивную группу, через которую дилизин может быть прикреплен к олигомеру (см., например, фиг. 4).

Карбогидратный конъюгат (например, GalNac), или карбогидрат-линкерная группа (например, карбогидрат-ПЭГ группа) могут быть ковалентно соединены (связаны) с олигомером через группу точки ветвления, такую как аминокислота или пептид, которые соответственно содержат две или более аминокислотные группы (такие как 3, 4 или 5), такую как лизин, дилизин или трилизин или тетрализин. Молекула трилизина содержит четыре аминокислотные группы, через которые три карбогидратные конъюгирующие группы, такие как галактоза и производные (например, GalNac) и в дальнейшем конъюгат, такой как гидрофобная и/или липофильная группа, могут быть прикреплены и карбоксильную реактивную группу, через кото-

рую трилизин может быть прикреплен к олигомеру. В дальнейшем конъюгат, такой как липофильная/гидрофобная группа может быть прикреплен к остатку лизина, который прикреплен к олигомеру.

В некоторых воплощениях GalNac кластер содержит пептидный линкер, например, Tug-Asp(Asp) трипептид или Asp(Asp) дипептид, который прикреплен к олигомеру через бирадикальный линкер, например, кластер GalNac может содержать бирадикальные линкеры, такие как таковые, показанные в качестве Conj 3, 3a, 4 и 4a на фиг. 3.

Альтернативные ветвящиеся молекулы могут быть выбраны из группы, состоящей из 1,3-бис-[5-(4,4'-диметокситритилокси)пентиламидо]пропил-2-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфорамидита (Glen Research Catalogue Number: 10-1920-xx), трис-2,2,2-[3-(4,4'-диметокситритилокси)-пропилоксиметил]этил-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]-фосфорамидита (Glen Research Catalogue Number: 10-1922-xx), трис-2,2,2-[3-(4,4'-диметокситритилокси)пропилоксиметил]метиленоксипропил-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]-фосфорамидита и 1-[5-(4,4'-диметокси-тритилокси)пентиламидо]-3-[5-флуоренометокси-каронил-окси-пентиламидо]-пропил-2-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]-фосфорамидита (Glen Research Catalogue Number: 10-1925-xx). WO 2014/179620 и европейская заявка на патент No. 14188444.5 описывает получение различных GalNac конъюгирующих групп (таким образом, включенных посредством ссылки). Прикрепление точки ветвления к олигомеру может происходить через линкер или спейсер. Предпочтительный спейсер представляет собой гибкий гидрофильный спейсер. Предпочтительный гибкий гидрофильный спейсер представляет собой ПЭГ спейсер или Сб-линкер. Предпочтительный ПЭГ спейсер представляет собой ПЭГ3 спейсер (три этиленовых звена). В предпочтительном воплощении линкер представляет собой физиологически лабильный линкер. Галактозный кластер может быть прикреплен к 3' или 5'-концу олигомера при помощи способов, известных в области техники. В предпочтительных воплощениях конъюгирующая группа, нацеленная на асиалогликопротеиновый рецептор, связана с 5'-концом олигонуклеотида.

Предпочтительный галактозный кластер содержит три терминальных GalNac группы, связанных через ПЭГ спейсер с дилизиновой ветвящейся молекулой (GalNac кластер). Предпочтительно ПЭГ спейсер представляет собой 3ПЭГ спейсер. Предпочтительные кластеры GalNac представляют собой Conj 1, 1a, 2 и 2a. Наиболее предпочтительным является Conj2a (также называемый GalNac2).

Галактозные кластеры представлены на фиг. 3.

Линкер компонента-носителя.

Компонент-носитель может быть связан с первым олигомерным участком и/или вторым олигомерным участком посредством линкера (L). Может быть применен любой приемлемый линкер.

Карбогидратный конъюгат (например, GalNac) может быть связан с олигомером через биорасщепляемый линкер, также называемый физиологически лабильным линкером.

Как употреблено в данном документе, физиологически лабильная связь представляет собой лабильную связь, которая расщепляется при условиях, которые обычно встречаются или аналогичны таковым в теле млекопитающего (также рассматривается в качестве физиологически лабильного линкера). Физиологически лабильные связующие группы выбраны так, что они подвергаются химической трансформации (например, расщеплению) при определенных физиологических условиях. Внутриклеточные условия млекопитающих включают химические условия, такие как pH, температура, окислительные или восстановительные условия или агенты, и концентрацию солей, обнаруживаемые в или аналогичные таковым в клетках млекопитающих. Внутриклеточные условия млекопитающих также включают присутствие ферментативной активности, обычно присутствующей в клетке млекопитающих, такой как активность протеолитических и гидролитических ферментов.

Химическая трансформация (расщепление или лабильная связь) может возникать спонтанно, в случае молекулы, содержащей лабильную связь, достигать соответствующих внутри- и/или внеклеточных условий среды. Например, pH лабильная связь может быть расщеплена в случае, когда молекула попадает в закисленную эндосому. Таким образом, pH лабильная связь может быть рассмотрена как эндосомально расщепляемая связь. Ферментативно расщепляемые связи могут быть расщеплены под действием ферментов, таких как таковые, присутствующие в эндосоме или лизосоме или в цитоплазме. Дисульфидная связь может быть расщеплена в случае, когда молекула попадает в восстановительные условия в клеточной цитоплазме. Таким образом, дисульфидная связь может быть рассмотрена как цитоплазматически расщепляемая связь. Как употреблено в данном документе, pH-лабильная связь является лабильной связью, которая селективно разрушается при кислых условиях ( $\text{pH} < 7$ ). Такие связи также могут быть названы эндосомально лабильными связями, поскольку клеточные эндосомы и лизосомы обладают pH менее 7. Примером другого физиологически лабильного линкера является дилизин, как употреблено в данном документе, в кластерах GalNac на фиг. 3.

В некоторых воплощениях олигомерный конъюгат по изобретению содержит физиологически лабильный линкер (участок PL, также рассматриваемый как биорасщепляемый линкер или нуклеазочувствительный линкер), который соединяет олигомер (участок A) по изобретению с компонентом-носителем (или участком C).

Для физиологически лабильных линкеров, ассоциированных с компонентом-носителем для целевой доставки, предпочтительно, чтобы скорость расщепления, наблюдаемая в целевой ткани (например,

мышцы, печень, почки или опухоль), была выше, чем таковая в сыворотке крови. Приемлемые способы для определения уровня (%) расщепления в целевой ткани по сравнению с сывороткой крови описаны в разделе "In vitro анализ тканеспецифичного расщепления линкера".

В некоторых воплощениях физиологически лабильный линкер (также рассматриваемый как биорасщепляемый линкер или нуклеазочувствительный линкер) в соединении по изобретению является по меньшей мере на 20% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 30% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 40% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 50% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 60% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 70% расщепляемым, например приблизительно на 75% расщепляемым "In vitro анализе тканеспецифичного расщепления линкера" в разделе "Материалы и методы". В некоторых воплощениях расщепление (%) в сыворотке, как употреблено в "In vitro анализе тканеспецифичного расщепления линкера", составляет менее чем приблизительно 20%, например менее чем приблизительно 10%, например менее чем приблизительно 5%, например менее чем приблизительно 1%.

В некоторых воплощениях олигомерный конъюгат по изобретению содержит три участка: i) первый участок (участок А), содержащий 10-18 последовательных нуклеотидов; ii) второй участок (участок PL), содержащий физиологически лабильный линкер; и iii) третий участок (С), содержащий компонент-носитель, где третий участок ковалентно связан со вторым участком, который ковалентно связан с первым участком.

В некоторых воплощениях участок А и участок PL ковалентно связаны через фосфатнуклеозидную связь (например, фосфодисложноэфирную, фосфоротиоатную, фосфодитиоатную, боранофосфатную или метилфосфонатную) или триазольную группу. В некоторых воплощениях участок PL и участок С ковалентно связаны через фосфатнуклеозидную связь (например, фосфодисложноэфирную, фосфоротиоатную, фосфодитиоатную, боранофосфатную или метилфосфонатную) или триазольную группу. В некоторых воплощениях участок PL и участок С ковалентно связаны через второй линкер, такой как линкерные участки Е, описанные ниже.

В некоторых воплощениях физиологически лабильный линкер может быть расположен на 5'-конце и/или на 3'-конце олигомера (участок А). В предпочтительном воплощении физиологически лабильный линкер расположен на 5'-конце.

В некоторых воплощениях физиологически лабильный линкер прикреплен своим 3'-концом к 5'-концу участка А, и компонент-носитель (участок С) прикреплен к 5'-концу или физиологически лабильному линкеру (например, РО-линкер), возможно через дополнительный линкерный участок Е.

Нуклеазочувствительный линкер - фосфодисложноэфирный линкер (РО-линкер).

В некоторых воплощениях физиологически лабильный линкер чувствителен к нуклеазе(ам), которые могут, например, экспрессироваться в целевой клетке, и как таковой, как подробно описано в данном документе, линкер может представлять собой короткий участок (например, 1-10) фосфодисложноэфирно связанных нуклеозидов, таких как нуклеозиды ДНК.

В некоторых воплощениях, которые могут быть одинаковыми или различными, физиологически лабильный линкер (участок PL) чувствителен к расщеплению нуклеазой S1. Чувствительность к расщеплению S1 может быть оценена при помощи S1 нуклеазного исследования, описанного в разделе "Тест на расщепление нуклеазой S1".

В некоторых воплощениях физиологически лабильный линкер (также рассматриваемый как физиологически лабильный линкер или нуклеазочувствительный линкер), такой как участок PL, в соединении по изобретению является по меньшей мере приблизительно на 30% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 40% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 50% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 60% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 70% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 80% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 90% расщепляемым, например по меньшей мере приблизительно на 95% расщепляемым после 120 мин инкубации с нуклеазой S1, как описано в разделе "Тест на расщепление нуклеазой S1".

В некоторых воплощениях физиологически лабильный линкер (участок PL) представляет собой нуклеазочувствительный линкер, который содержит 1-10 нуклеозидов, например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеозидов, более предпочтительно 2-6 нуклеозидов и наиболее предпочтительно 2-4 связанных нуклеозидов. В некоторых воплощениях нуклеазочувствительный линкер является фосфодисложноэфирным нуклеотидным линкером, таким как линкер, также называемый РО-линкер. В предпочтительных воплощениях нуклеазочувствительный линкер (РО-линкер) содержит по меньшей мере один фосфодисложноэфирно-связанный нуклеозид. Предпочтительно, нуклеазочувствительный РО-линкер содержит по меньшей мере две последовательные фосфодисложноэфирные связи, например по меньшей мере 3, или 4, или 5 последовательных фосфодисложноэфирных связей.

В некоторых воплощениях нуклеозиды в РО-линкере (возможно независимо) выбраны из группы, состоящей из ДНК или РНК или их модификаций, которые не интерферируют с нуклеазным расщеплением. Модификации нуклеозидов ДНК и РНК, которые не интерферируют с нуклеазным расщеплением,

могут представлять собой нуклеос основания неприродного происхождения. Определенные нуклеозиды, модифицированные по сахарам, также делают возможным нуклеазное расщепление, такое как альфа-L-окси-LNA. В некоторых воплощениях все нуклеозиды РО-линкера содержат (возможно независимо) или 2'-ОН рибозу (РНК), или 2'-Н сахар, т.е. РНК или ДНК. В некоторых воплощениях нуклеозиды РО-линкера представляют собой нуклеозиды ДНК. В некоторых воплощениях по меньшей мере два последовательных нуклеозида РО-линкера представляют собой нуклеозиды ДНК или РНК (например, по меньшей мере 3, или 4, или 5 последовательных нуклеозида ДНК или РНК). Предпочтительно РО-линкер состоит из 1-5 или 1-4, например 2, 3, 4, последовательных фосфодисложноэфирно-связанных нуклеозидов ДНК. В предпочтительных воплощениях РО-линкер является настолько коротким, что не рекрутирует (не привлекает) РНКазу Н. В некоторых воплощениях РО-линкер содержит не более чем 3 или не более чем 4 последовательных фосфодисложноэфирно-связанных ДНК и/или РНК нуклеозидов (таких как нуклеозиды ДНК).

В некоторых воплощениях РО-линкер не комплементарен нуклеиново-кислотной последовательности-мишени или олигомеру в участке А.

В некоторых воплощениях РО-линкер комплементарен нуклеиново-кислотной последовательности-мишени. В данном отношении участок А и РО-линкер вместе могут формировать единую непрерывную последовательность, которая комплементарна последовательности-мишени.

В некоторых воплощениях участок А и РО-линкер формируют единую непрерывную нуклеиново-кислотную последовательность 10-22, например, 12-20 нуклеотидов в длину. В данном контексте участок А может быть дифференцирован от РО-линкера тем, что он начинается по меньшей мере с одного, предпочтительно по меньшей мере двух модифицированных нуклеозидов с повышенной аффинностью связывания с целевой нуклеиновой кислотой (например, LNA или нуклеозидами с 2' замещенной сахарной группой) и участок А сам по себе способен модулировать экспрессию целевой нуклеиновой кислоты в соответствующей клеточной линии. Более того, если участок А содержит нуклеозиды ДНК или РНК, они связаны устойчивой к нуклеазе межнуклеозидной связью, такой как фосфоротиоат или боранофосфат.

В некоторых аспектах межнуклеозидная связь между первым (участок А) или вторым участком (РО-линкер) может быть рассмотрена как часть второго участка.

В некоторых воплощениях последовательность оснований в РО-линкере выбрана для обеспечения оптимального сайта расщепления эндонуклеазой, на основании преобладающих эндонуклеаз, присутствующих в целевой ткани, или клетке, или субклеточном компартменте. В данном отношении посредством выделения клеточных экстрактов из целевых тканей и нецелевых тканей последовательности эндонуклеаз для применения в РО-линкере могут быть выбраны на основании предпочтительной расщепляющей активности в желаемой целевой клетке (например, печени/гепатоцитах) по сравнению с нецелевой клеткой (например, почки). В этом отношении эффективность соединения для нацеленного подавления может быть оптимизирована для желаемой ткани/клетки.

В некоторых воплощениях РО-линкер содержит динуклеотид последовательности AA, AT, AC, AG, TA, TT, TC, TG, CA, CT, CC, CG, GA, GT, GC или GG, где С может представлять собой 5-метилцитозин и/или Т может быть замещен U. Предпочтительно межнуклеозидная связь представляет собой фосфодисложноэфирную связь. В предпочтительном воплощении РО-линкер представляет собой динуклеотид СА по меньшей мере с двумя фосфодисложноэфирными связями (одна относится к участку А). В некоторых воплощениях РО-линкер содержит тринуклеотид последовательности AAA, AAT, AAC, AAG, ATA, ATT, ATC, ATG, ACA, ACT, ACC, ACG, AGA, AGT, AGC, AGG, TAA, TAT, TAC, TAG, TTA, TTT, TTC, TAG, TCA, TCT, TCC, TCG, TGA, TGT, TGC, TGG, CAA, CAT, CAC, CAG, CTA, CTG, CTC, CTT, CCA, CCT, CCC, CCG, CGA, CGT, CGC, CGG, GAA, GAT, GAC, CAG, GTA, GTT, GTC, GTG, GCA, GCT, GCC, GCG, GGA, GGT, GGC и GGG, где С может представлять собой 5-метилцитозин и/или Т может быть замещен U. Предпочтительно межнуклеозидные связи представляют собой фосфодисложноэфирные связи. В некоторых воплощениях РО-линкер содержит тетрануклеотид последовательности AAAX, AATX, AACX, AAGX, ATAX, ATTX, ATCX, ATGX, ACAX, ACTX, ACCX, ACGX, AGAX, AGTX, AGCX, AGGX, TAAX, TATX, TACX, TAGX, TTA, TTTX, TTCX, TAGX, TCAX, TCTX, TCCX, TCGX, TGAX, TGTX, TGCX, TGGX, CAAX, CATX, CACX, CAGX, CTAX, CTGX, CTCX, CTTX, CCA, CCTX, CCCX, CCGX, CGAX, CGTX, CGCX, CGGX, GAAX, GATX, GACX, CAGX, GTAX, GTTX, GTCX, GTGX, GCAX, GCTX, GCCX, GCGX, GGAX, GGTX, GGCX и GGGX, где X может быть выбран из группы, состоящей из А, Т, U, G, С и их аналогов, где С может представлять собой 5-метилцитозин и/или Т может быть замещен U. Предпочтительно межнуклеозидные связи представляют собой фосфодисложноэфирные связи. Следует учитывать, что относительно (естественного происхождения) нуклеос оснований А, Т, U, G, С они могут быть замещены нуклеотидными аналогами, которые функционируют в качестве эквивалентов естественных нуклеос оснований (например, пара оснований с комплементарным нуклеозидом).

В некоторых воплощениях участок PL представляет собой фосфодисложноэфирный нуклеотидный линкер (РО-линкер), ковалентно прикрепленный к липофильной конъюгирующей группе, такой как липид, жирная кислота, стерол, такой как холестерол или токоферол. В некоторых воплощениях, участок PL представляет собой фосфодисложноэфирный нуклеотидный линкер (РО-линкер) ковалентно прикре-

пленный к группе, нацеленной на асиалогликопротеиновый рецептор, такой как GalNAc компонент-носитель.

Концепция встройки физиологически лабильного линкера между олигомером и компонентом-носителем описана подробно в WO 2014/076195 (таким образом, включена посредством ссылки, в частности фиг. 3 и 4 включены посредством ссылки).

Альтернативные линкеры (участок E).

В некоторых случаях линкеры необязательно являются физиологически лабильными, но главным образом служат для ковалентного присоединения третьего участка, например компонента-носителя (участок C), к олигомеру (участок A). В данном документе эти линкеры также названы как участок E. Олигомерные конъюгаты по настоящему изобретению могут быть сконструированы из следующих элементов участка: A-C/C-A, A-PL-C/C-PL-A, A-PL-E-C/C-E-PL-A, A-E-PL-C/C-PL-E-A или A-E-C/C-E-A.

В некоторых воплощениях линкер E содержит цепочечную структуру или олигомер из повторяющихся звеньев, таких как этиленгликоль, аминокислотные звенья или аминокислотные группы. Линкер E может обладать по меньшей мере двумя функциональными группами, одной для прикрепления к олигомеру (возможно при помощи физиологически лабильного линкера) и другой для прикрепления к компоненту-носителю. Примеры линкерных функциональных групп могут быть электрофильными для реакции с нуклеофильными группами на олигомере или компоненте-носителе или нуклеофильными для реакции с электрофильными группами. В некоторых воплощениях линкерные функциональные группы включают amino, гидроксил, карбоновую кислоту, тиол, фосфорамидат, фосфоротиоат, фосфат, фосфит, ненасыщенности (например, двойные или тройные связи) и т.п. Например, карбогидратный компонент-носитель (например, GalNAc) может быть связан с олигомером через линкер, такой как (поли)этиленгликолевый линкер (ПЭГ), такой как ди, три, тетра, пента, гексаэтиленгликолевый линкер.

В некоторых воплощениях линкер (участок E) представляет собой аминокислотную группу, такую как C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>аминокислотная группа, включая, например, C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub>аминокислотные группы. В предпочтительном воплощении линкер (участок E) представляет собой C<sub>6</sub>аминокислотную группу. Аминокислотная группа может быть добавлена к олигомеру (участок A или участок A-L/L-A) как часть стандартного синтеза олигомера, например, при помощи (например, защищенные) аминокислотфосфорамидита. Связующая группа между аминокислотой и олигомером может представлять собой, например, фосфоротиоат или фосфодисложный эфир или одну из других нуклеозидных связующих групп, упомянутых в данном документе. Аминокислотная группа ковалентно связана с 5'- или 3'-концом олигомера. Коммерчески доступные аминокислотные линкеры представляют собой, например, 3'-аминомодифицирующий реагент для связи с 3'-концом олигомера и для связи с 5'-концом олигомера, 5'-аминомодификатор C<sub>6</sub> является доступным. Данные реагенты доступны от Glen Research Corporation (Sterling, Va.). Данные соединения или аналоги были применены Krieg et al., Antisense Research and Development 1991, 1, 161 для присоединения флуоресцеина к 5'-терминальному концу олигомера. Широкий спектр дополнительных линкерных групп известен в области техники и может быть полезен при прикреплении компонентов-носителей к олигомерам. Обзор многих полезных линкерных групп может быть найден, например, в Antisense Research and Applications, S.T. Crooke and B. Lebleu, Eds., CRC Press, Boca Raton, Fla., 1993, p. 303-350. Другие соединения, такие как акридин, прикреплены 3'-терминальной фосфатной группе олигомера через полиметиленовую связь (Asseline et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1984, 81, 3297). Любая из вышеупомянутых групп может быть применена в качестве линкера (участок E) или комбинации с одним или более дополнительными линкерами (участок E-E' или участок E-L или L-E).

Линкеры и их применение при получении олигомерных конъюгатов предложены в области техники, например WO 96/11205 и WO 98/52614 и U.S. Pat. No. 4948882; 5525465; 5541313; 5545730; 5552538; 5580731; 5486603; 5608046; 4587044; 4667025; 5254469; 5245022; 5112963; 5391723; 5510475; 5512667; 5574142; 5684142; 5770716; 6096875; 6335432; и 6335437, WO 2012/083046, каждый из которых включен во всей полноте посредством ссылки. Фиг. 3 представляет пример кластеров GalNAc, Conj 1, 2, 3, 4 и Conj 1a, 2a, 3a и 4a, обладающих дополнительным C6 линкером, который присоединяет кластер GalNAc к олигомеру.

Группа, нацеленная на асиалогликопротеиновый рецептор (ASGP-R).

Как употреблено в данном документе, термин "группа, нацеленная на асиалогликопротеиновый рецептор (ASGP-R)" относится к группе, которая взаимодействует с ASGP-R и таким образом приводит олигомер в контакт с или в близость с клеткой, экспрессирующей поверхностный ASGP-R.

Конъюгирующая группа.

В некоторых воплощениях компонент-носитель представляет собой конъюгирующую группу.

Кроме того, одна или более конъюгирующие группы могут быть прикреплены к олигомеру или олигомерному конъюгату в дополнение к компоненту-носителю.

В некоторых воплощениях одна или более конъюгирующая группа может быть прикреплена к олигомеру по настоящему изобретению.

Конъюгирующая группа может быть ненуклеотидной группой или непонуклеотидной группой.

Конъюгирующая группа может повышать активность, клеточное распределение или клеточный захват олигомера по изобретению. Такие группы включают, но не ограничены, антитела, полипептиды,



липидные группы, такие как холестериновая группа, холевая кислота, тиоэфир, например, гексил-*s*-тримитилтиол, тиохолестерол, алифатическую цепь, например додекандиол или ундециловые остатки, фосфолипиды, например ди-гексадецил-рац-глицерол или триэтиламмоний 1,2-ди-орто-гексадецил-рац-глицеро-3-Н-фосфонат, полиамин или полиэтиленгликолевую цепь, адамантин уксусную кислоту, пальмитиловую группу, октадециламин или гексиламино-карбонил-оксихолестериновую группу.

Олигомеры по изобретению также могут быть конъюгированы с активными лекарственными веществами, например, аспирином, ибупрофеном, лекарственными сульфамидными препаратами, антидиабетическими веществами, антибактериальными или антибиотическими веществами.

В конкретных воплощениях конъюгирующая группа представляет собой стерол, такой как холестерол.

В различных воплощениях конъюгирующая группа содержит или состоит из положительно заряженного полимера, такого как положительно заряженные пептиды, например, 1-50, например, 2-20, например, 3-10 аминокислотных остатков в длину и/или полиалкиленовый оксид, такой как полиэтиленгликоль (ПЭГ) или полипропиленгликоль - см. WO 2008/034123, таким образом, включенный посредством ссылки. Приемлемый положительно заряженный полимер, такой как полиалкиленоксид, может быть прикреплен к олигомеру по изобретению через линкер, такой как высвобождаемый линкер, описанный в WO 2008/034123.

Олигомеры и олигомерные конъюгаты по настоящему изобретению могут включать в качестве конъюгирующей группы соответствующую лиганд-связывающую молекулу. Например, олигонуклеотиды могут быть конъюгированы для терапевтического введения лиганд-связывающих молекул, которые распознают молекулы клеточной поверхности, такие как согласно международной заявке на патент WO 91/04753. Лигандсвязывающая молекула может содержать, например, антитело к антигену клеточной поверхности, антитело к рецептору клеточной поверхности, фактор роста, имеющий соответствующий рецептор клеточной поверхности, антитело к такому фактору роста, или антитело, которое распознает комплекс фактора роста и его рецептора. Способы конъюгирования лиганд-связывающих молекул с олигонуклеотидами описаны подробно в WO 91/04753. Более того способы конъюгирования и способы улучшения клеточного захвата, которые могут быть применены, описаны в следующих международных заявках на патент WO 96/40961, WO 99/64449, WO 99/02673, WO 98/03533, WO 00/15265 и патентах США 5856438 и 5138045.

Посредством дальнейшего примера конъюгирующая группа может представлять собой ростовой фактор, такой как трансферрин или фолат. Комплексы трансферрин-полилизин-олигонуклеотид или комплексы фолат-полилизин-олигонуклеотид могут быть получены для захвата клетками, экспрессирующими высокие уровни рецептора трансферрина или фолата. Получение трансферриновых комплексов в качестве компонентов-носителей, усиливающих захват олигонуклеотидов клетками описано Wagner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 3410-3414 (1990). Клеточная доставка фолат-макромолекулярных конъюгатов посредством эндоцитоза, опосредованного фолатным рецептором, включая доставку анти-смыслового олигонуклеотида, описана Low et al., патент США 5108921. Также см. Leamon et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 88, 5572 (1991).

Целевая нуклеиновая кислота/ последовательность-мишень.

В предпочтительных аспектах термины "целевая нуклеиновая кислота" и "последовательность-мишень", как употреблено в данном документе, относятся к ДНК или РНК, кодирующим полипептид HBx или HBsAg, такой как последовательность, содержащаяся внутри любой из SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2. Термины "целевая нуклеиновая кислота" и "последовательность-мишень", таким образом, включают HBx- или HBsAg-кодирующие нуклеиновые кислоты или их варианты естественного происхождения и РНК нуклеиновые кислоты, полученные из них, предпочтительно мРНК, такую как премРНК, хотя предпочтительно зрелую мРНК. В некоторых воплощениях, например, при применении в исследовании или диагностике "целевая нуклеиновая кислота" или "последовательность-мишень" может представлять собой кДНК или синтетический олигонуклеотид, полученный из вышеупомянутых ДНК или РНК нуклеиново-кислотных мишеней. Олигомер по изобретению предпочтительно способен гибридизоваться с целевой нуклеиновой кислотой.

Идентичность/гомология.

Как употреблено в данном документе, термины "гомологичный" и "гомология" являются взаимозаменяемыми с терминами "идентичный" и "идентичность".

Соответствующий/соответствовать.

Термины "соответствующий" и "соответствовать" относятся к сравнению между нуклеотидной последовательностью олигомера (т.е. нуклеооснованию или последовательности нуклеооснований) или его непрерывной нуклеотидной последовательности и эквивалентной нуклеотидной последовательности, дополнительной последовательности, выбранной из или i) субпоследовательности, обратного комплекта нуклеиново-кислотной мишени, такой как мРНК, кодирующей последовательность целевого белка, такую как любая последовательность мРНК внутри SEQ ID NO: 1, или SEQ ID NO: 2, или SEQ ID NO: 3; и/или ii) последовательности любой специфичной нуклеотидной последовательности, предложенной в данном документе, или ее субпоследовательности. Нуклеотидные аналоги сравнивают

непосредственно с их эквивалентом или соответствующими нуклеотидами. Последовательность, которая соответствует дальнейшей последовательности i) или ii), обычно идентична сверх длины первой последовательности (такой как непрерывная нуклеотидная последовательность) или, как описано в данном документе, может в некоторых воплощениях быть по меньшей мере на 80% гомологичной соответствующей последовательности, например по меньшей мере на 85% гомологичной, по меньшей мере на 90% гомологичной, по меньшей мере на 91% гомологичной, по меньшей мере на 92% гомологичной, по меньшей мере на 93% гомологичной, по меньшей мере на 94% гомологичной, по меньшей мере на 95% гомологичной, по меньшей мере на 96% гомологичной, например по меньшей мере на 100% гомологичной (идентичной). Процент идентичности последовательности может быть вычислен за счет подсчета числа выравненных нуклеотидов, которые идентичны между двумя последовательностями, разделенного на общее число звеньев олигомера и умноженное на 100.

Термины "соответствующий нуклеотидный аналог" и "соответствующий нуклеотид" предназначены для обозначения того, что нуклеотид в последовательности нуклеотидного аналога и нуклеотид естественного происхождения идентичны. Например, в случае, когда 2-дезоксирибозное звено нуклеотида связано с аденином, "соответствующий нуклеотидный аналог" содержит пентозное звено (отличное от 2-дезоксирибозы), связанное с аденином.

Комплементарность.

Термин "комплементарность" означает, что две последовательности комплементарны в случае, когда последовательность один связывается антипараллельно с другой последовательностью, где 3'-конец каждой последовательности связывается с 5'-концом другой последовательности, и каждый A, T(U), G и C одной последовательности затем выравнен с T(U), A, C и G, соответственно другой последовательности. Обычно комплементарная последовательность олигонуклеотида по меньшей мере на 90%, предпочтительно по меньшей мере на 95%, наиболее предпочтительно на 100% комплементарна определенной последовательности.

При определении степени "комплементарности" между олигомерами по изобретению (или их участками) и последовательностью-мишенью, такой как последовательность-мишень HBx или HBsAg, степень "комплементарности" (также "гомологичности" или "идентичности") выражают в процентах идентичности (или процентах гомологичности) между последовательностью олигомера (или ее участком) и последовательностью целевого участка (или обратного комплемента целевого участка), которая наилучшим образом выравнена с ней. Процент вычисляют на основании подсчета числа выравненных оснований, которые идентичны между двумя последовательностями, разделив на общее число непрерывных звеньев олигомера и умножив на 100. При таком сравнении, если существуют гэпы, предпочтительно чтобы скорее такие гэпы не совпадали, чем области, где число звеньев внутри гэпа отличается между олигомером по изобретению и целевым участком.

В частности, термин "комплементарность" означает способность к спариванию нуклеотидов между первой нуклеиновой кислотой и второй нуклеиновой кислотой. Две последовательности комплементарны в случае, когда одна может антипараллельно связываться с другой последовательностью, где 3'-конец каждой последовательности связывается с 5'-концом другой последовательности, и каждое нуклеосоединение A, T(U), G и C одной последовательности затем выравнивают с T(U), A, C и G соответственно другой последовательности. При определении степени комплементарности между олигомерами по изобретению (или их участками) и последовательностью-мишенью, такой как последовательность-мишень HBx или HBsAg, степень комплементарности выражают в виде процента комплементарности между последовательностью олигомера (или ее участком) и последовательностью целевого участка, которая наилучшим образом выравнена с ней. Процент вычисляют на основании подсчета числа выравненных оснований, которые формируют пары между двумя последовательностями, разделив на общее число непрерывных звеньев олигомера и умножив на 100. При таком сравнении нуклеосоединение/нуклеотид, который не выравнен, называют несовпадением. Обычно комплементарная последовательность олигонуклеотида по настоящему изобретению по меньшей мере на 80%, предпочтительно по меньшей мере на 85%, предпочтительно по меньшей мере на 90%, более предпочтительно по меньшей мере на 95%, более предпочтительно 95%, наиболее предпочтительно 100%, комплементарна определенной последовательности.

Термин "комплементарная последовательность" в отношении полинуклеотидной последовательности относится к нуклеотидной последовательности в другой молекуле нуклеиновой кислоты на основании правила спаривания оснований. В частности, термин или подобные термины относятся к гибридизации или спариванию нуклеотидов между нуклеотидами или нуклеиновыми кислотами, такими как, например, между двумя цепями молекулы двухцепочечной ДНК или между олигонуклеотидным праймером и сайтом связывания праймера на одноцепочечной нуклеиновой кислоте, подлежащей секвенированию или амплификации. Комплементарные нуклеотиды обычно представляют собой A и T (или A и U) или C и G. Две одноцепочечные молекулы РНК или ДНК являются, по существу, комплементарными в случае, когда нуклеотиды одной цепи, оптимально выравненные и сравненные и с соответствующими нуклеотидными вставками или делециями, парны по меньшей мере приблизительно на 95% нуклеотидам другой цепи, обычно по меньшей мере приблизительно на 98% и более предпочтительно от приблизительно 99 до приблизительно 100%. Комплементарность полинуклеотидных последовательностей мо-

жет быть идентифицирована посредством различных способов, включая применение хорошо известных компьютерных алгоритмов и программного обеспечения, например программы BLAST.

Обратно комплементарный/обратный комплемент/обратная комплементарность.

Термины "обратный комплемент" и "обратная комплементарность" употребляют в данном документе взаимозаменяемо с терминами "комплементарный" и "комплементарность".

Несовпадение.

Термин "несовпадение", который иногда относится к не комплементарному нуклеосовпадению, относится к нуклеосовпадению или нуклеотиду в данной позиции в первой нуклеиновой кислоте, который не может быть спарен по Уотсону-Крику с соответствующим нуклеосовпадением или нуклеотидом во второй нуклеиновой кислоте, в случае, когда первая нуклеиновая кислота выравнена со второй нуклеиновой кислотой. Первая нуклеиновая кислота может, например, представлять собой олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению и вторая нуклеиновая кислота может представлять собой, например, последовательность-мишень. В олигомере или олигомерном конъюгате, содержащем множественные несовпадения, несовпадения могут или быть прилегающими друг к другу, или быть разбросанными.

Варианты естественного происхождения.

Термин "варианты их естественного происхождения" относится к вариантам последовательности-мишени, которая существует в природе внутри определенной таксономической группы, такой как гено-типы A-HHBV. Обычно в случае, когда рассматриваются "варианты естественного происхождения" полинуклеотида термин также может охватывать любой аллельный вариант последовательности-мишени, кодирующей геномную ДНК, которая обнаруживается посредством хромосомных транслокаций или дупликаций и РНК, такую как мРНК, полученную из нее. "Варианты естественного происхождения" могут также включать варианты, полученные в результате альтернативного сплайсинга последовательности-мишени мРНК. В случае ссылки на специфичную полипептидную последовательность, например, термин также включает формы белка естественного происхождения, которые в следствии этого могут быть процессированы, например посредством ко-или посттрансляционных модификаций, таких как расщепление сигнального пептида, протеолитическое расщепление, гликозилирование и т.д.

Расположенный ниже.

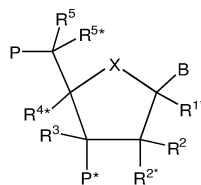
Как употреблено в данном документе, термин "расположенный ниже" при употреблении со ссылкой на направление вдоль нуклеотидной последовательности означает в направлении от 5'-к 3'-концу. Аналогично, термин "расположенный выше" означает направление от 3'-к 5'-концу.

LNA.

Термин "LNA" относится к бициклическому нуклеозидному аналогу, известному как "закрытая нуклеиновая кислота". Он может относиться к звену LNA или в случае применения в контексте "нуклеотида LNA", LNA относится к олигонуклеотиду, содержащему один или более бициклический нуклеотидный аналог. Нуклеотиды LNA характеризуются присутствием линкерной группы (такой как мостик) между C2' и C4' кольца рибозы, например, как показано в качестве бирадикалов R<sup>4\*</sup>-R<sup>2\*</sup>, как описано ниже.

Как употреблено в данном документе, термины "LNA олигонуклеотид" и "LNA-модифицированный олигонуклеотид" включают любой олигонуклеотид или полностью, или частично модифицированный при помощи звеньев LNA. Таким образом, LNA-модифицированный олигонуклеотид может полностью состоять из звеньев LNA или LNA-модифицированный олигонуклеотид может содержать одно звено LNA.

LNA, примененная в соединениях олигонуклеотида по изобретению, предпочтительно обладают структурой формулы I



Формула 1

где для всех хиральных центров асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации;

X выбран из -O-, -S-, -N(R<sup>N\*</sup>)-, -C(R<sup>6</sup>R<sup>6\*</sup>)-, такой как в некоторых воплощениях -O-;

B выбран из водорода, возможно замещенного C<sub>1-4</sub>-алкокси, возможно замещенного C<sub>1-4</sub>-алкила, возможно замещенного C<sub>1-4</sub>-ацилокси, нуклеосовпадений, включая естественного происхождения и аналогов нуклеосовпадений, ДНК интеркаляторов, фотохимически активных групп, термохимически активных групп, хелатных группы, репортерных групп, и лигандов; предпочтительно B является нуклеосовпадением или аналогом нуклеосовпадений;

P означает межинуклеотидную связь с прилегающим звеном, или 5'-терминальную группу, такую как межинуклеотидная связь, или 5'-терминальную группу, включающую заместитель R<sup>5</sup> или эквивалентно применяемый заместитель R<sup>5\*</sup>;

P\* обозначает межинуклеотидную связь с прилегающим звеном, или 3'-терминальную группу;

$R^{4*}$  и  $R^{2*}$  вместе обозначают бивалентную линкерную группу, состоящую из 1-4 групп/атомов, выбранных из  $-C(R^aR^b)-$ ,  $-C(R^a)=C(R^b)-$ ,  $-C(R^a)=N-$ ,  $-O-$ ,  $-Si(R^a)_2-$ ,  $-S-$ ,  $-SO_2-$ ,  $-N(R^a)-$  и  $>C=Z$ , где  $Z$  выбран из  $-O-$ ,  $-S-$  и  $-N(R^a)-$  и  $R^a$  и  $R^b$ , каждый независимо, выбраны из водорода, возможно замещенного  $C_{1-12}$ алкила, возможно замещенного  $C_{2-12}$ алкенила, возможно замещенного  $C_{2-12}$ алкинила, гидроксиль, возможно замещенного  $C_{1-12}$ алкокси,  $C_{2-12}$ алкоксиалкила,  $C_{2-12}$ алкенилокси, карбокси,  $C_{1-12}$ алкоксикарбонила,  $C_{1-12}$ алкилкарбонила, формила, арила, арилоксикарбонила, арилокси, арилкарбонила, гетероарила, гетероарилоксикарбонила, гетероарилокси, гетероарилкарбонила, amino, моно- и ди( $C_{1-6}$ алкил)амино, карбамоила, моно- и ди( $C_{1-6}$ алкил)аминокарбонила, amino- $C_{1-6}$ алкил-минокарбонила, моно- и ди( $C_{1-6}$ алкил)амино- $C_{1-6}$ алкиламинокарбонила,  $C_{1-6}$ алкилкарбониламино, карбамидо,  $C_{1-6}$ алканоилокси, сульфоно,  $C_{1-6}$ алкилсульфонилокси, нитро, азидо, сульфанила,  $C_{1-6}$ алкилтио, галогена, ДНК интеркаляторов, фотохимически активных групп, термохимически активных групп, хелатных групп, репортерных групп и лигандов, где арил и гетероарил могут быть возможно замещены и где два геминальных заместителя  $R^a$  и  $R^b$  вместе могут означать возможно замещенный метилен ( $=CH_2$ ), где для всех хиральных центров, асимметричные группы могут быть обнаружены или в R-, или в S-ориентации; и

каждый из заместителей  $R^{1*}$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^5$ ,  $R^{5*}$ ,  $R^6$  и  $R^{6*}$ , который присутствует, независимо выбран из водорода, возможно замещенного  $C_{1-12}$ алкила, возможно замещенного  $C_{2-12}$ алкенила, возможно замещенного  $C_{2-12}$ алкинила, гидроксиль,  $C_{1-12}$ алкокси,  $C_{2-12}$ алкоксиалкила,  $C_{2-12}$ алкенилокси, карбокси,  $C_{1-12}$ алкоксикарбонила,  $C_{1-12}$ алкилкарбонила, формила, арила, арилокси-карбонила, арилокси, арилкарбонила, гетероарила, гетероарилокси-карбонила, гетероарилокси, гетероарилкарбонила, amino, моно- и ди( $C_{1-6}$ алкил)амино, карбамоила, моно- и ди( $C_{1-6}$ алкил)аминокарбонила, amino- $C_{1-6}$ алкиламинокарбонила, моно- и ди( $C_{1-6}$ алкил)амино- $C_{1-6}$ алкиламинокарбонила,  $C_{1-6}$ алкилкарбониламино, карбамидо,  $C_{1-6}$ алканоилокси, сульфоно,  $C_{1-6}$ алкилсульфонилокси, нитро, азидо, сульфанила,  $C_{1-6}$ алкилтио, галогена, ДНК интеркаляторов, фотохимически активных групп, термохимически активных групп, хелатных групп, репортерных групп и лигандов, где арил и гетероарил могут быть возможно замещены и где два геминальных заместителя вместе могут означать оксо, тиоксо, имино или возможно замещенный метилен; где  $R^N$  выбран из водорода и  $C_{1-4}$ алкила, и где два прилегающих (не геминальных) заместителя могут обозначать дополнительную связь, приводящую к двойной связи; и  $R^{N*}$ , в случае когда присутствует и не вовлечен в бирадикал, выбран из водорода и  $C_{1-4}$ алкила;

и его основных солей или солей добавления кислоты.

Для всех хиральных центров, асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации.

В некоторых воплощениях  $R^{4*}$  и  $R^{2*}$  вместе означают бирадикал, состоящий из функциональных групп, выбранных из группы, состоящей из  $C(R^aR^b)-C(R^aR^b)-$ ,  $C(R^aR^b)-O-$ ,  $C(R^aR^b)-NR^a-$ ,  $C(R^aR^b)-S-$  и  $C(R^aR^b)-C(R^aR^b)-O-$ , где каждый  $R^a$  и  $R^b$  может быть выбран независимо.

В некоторых воплощениях  $R^a$  и  $R^b$  может быть независимо выбран из группы, состоящей из водорода и  $C_{1-6}$ алкила, такого как метил, например водорода.

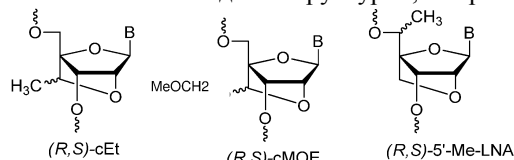
В некоторых воплощениях  $R^{4*}$  и  $R^{2*}$  вместе означают бирадикал  $-O-CH(CH_2OCH_3)-(2'O-метоксиэтил)бициклическую нуклеиновую кислоту$  (Seth et al., 2010, J. Org. Chem.) или в R- или в S-конфигурации.

В некоторых воплощениях  $R^{4*}$  и  $R^{2*}$  вместе означают бирадикал  $-O-CH(CH_2CH_3)-(2'O-этил)бициклическую нуклеиновую кислоту$  (Seth et al., 2010, J. Org. Chem.) - или в R-, или в S-конфигурации.

В некоторых воплощениях  $R^{4*}$  и  $R^{2*}$  вместе означают бирадикал  $-O-CH(CH_3)-$  - или в R-, или в S-конфигурации. В некоторых воплощениях  $R^{4*}$  и  $R^{2*}$  вместе означают бирадикал  $-O-CH_2-O-CH_2-$  (Seth et al., 2010, J. Org. Chem.).

В некоторых воплощениях  $R^{4*}$  и  $R^{2*}$  вместе означают бирадикал  $-O-NR-CH_3-$  (Seth et al., 2010, J. Org. Chem.).

В некоторых воплощениях звенья LNA обладают структурой, выбранной из следующей группы:



В некоторых воплощениях  $R^{1*}$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^5$ ,  $R^{5*}$  независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена,  $C_{1-6}$ алкила, замещенного  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила, замещенного  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила или замещенного  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкоксила, замещенного  $C_{1-6}$ алкоксила, ацила, замещенного ацила,  $C_{1-6}$ аминоалкила или замещенного  $C_{1-6}$ аминоалкила. Для всех хиральных заместителей асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации.

В некоторых воплощениях  $R^{1*}$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^5$ ,  $R^{5*}$  представляют собой водород.

В некоторых воплощениях  $R^{1*}$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена,  $C_{1-6}$ алкила, замещенного  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$  алкенила, замещенного  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила или замещенного  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкоксила, замещенного  $C_{1-6}$ алкоксила, ацила, замещенного ацила,

С<sub>1-6</sub>аминоалкила или замещенного С<sub>1-6</sub>аминоалкила. Для всех хиральных центров асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации.

В некоторых воплощениях R<sup>1\*</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> представляют собой водород.

В некоторых воплощениях R<sup>5</sup> и R<sup>5\*</sup> каждый независимо выбраны из группы, состоящей из H, -CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub> и -CH=CH<sub>2</sub>. Соответственно в некоторых воплощениях или R<sup>5</sup>, или R<sup>5\*</sup> представляют собой водород, где другая группа (R<sup>5</sup> или R<sup>5\*</sup> соответственно) выбрана из группы, состоящей из С<sub>1-5</sub>-алкила, С<sub>2-6</sub>алкенила, С<sub>2-6</sub>алкинила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкенила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкинила или замещенного ацила (-C(=O)-); где каждая замещенная группа является моно- или полизамещенной при помощи заместителей, выбранных из галогена, С<sub>1-6</sub>алкила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкила, С<sub>2-6</sub>алкенила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкенила, С<sub>2-6</sub>алкинила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкинила, OJ<sub>1</sub>, SJ<sub>1</sub>, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, COOJ<sub>1</sub>, CN, O-C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N(H)C(=NH)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub> или N(H)C(=X)N(H)J<sub>2</sub>, где X представляет собой O или S; и каждый J<sub>1</sub> и J<sub>2</sub> представляет собой независимо H, С<sub>1-6</sub>алкил, замещенный С<sub>1-6</sub>алкил, С<sub>2-6</sub>алкенил, замещенный С<sub>2-6</sub>алкенил, С<sub>2-6</sub>алкинил, замещенный С<sub>2-6</sub>алкинил, С<sub>1-6</sub>аминоалкил, замещенный С<sub>1-6</sub>аминоалкил или защитную группу. В некоторых воплощениях или R<sup>5</sup>, или R<sup>5\*</sup> замещены С<sub>1-6</sub>алкилом. В некоторых воплощениях или R<sup>5</sup>, или R<sup>5\*</sup> замещен метиленом, где группа предпочтительных заместителей включает одну или более группу, независимо выбранную из F, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, CN, OJ<sub>1</sub>, SJ<sub>1</sub>, O-C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N(H)C(=NH)NJ, J<sub>2</sub> или N(H)C(O)N(H)J<sub>2</sub>. В некоторых воплощениях каждый J<sub>1</sub> и J<sub>2</sub> независимо представляют собой H или С<sub>1-6</sub>алкил. В некоторых воплощениях или R<sup>5</sup> или R<sup>5\*</sup> представляет собой метил, этил или метоксиметил. В некоторых воплощениях или R<sup>5</sup>, или R<sup>5\*</sup> представляют собой метил. В дальнейшем воплощении или R<sup>5</sup>, или R<sup>5\*</sup> представляет собой этиленил. В некоторых воплощениях или R<sup>5</sup>, или R<sup>5\*</sup> представляет собой замещенный ацил. В некоторых воплощениях или R<sup>5</sup>, или R<sup>5\*</sup> представляет собой C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>. Для всех хиральных центров асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации. Такие 5' модифицированные бициклические нуклеотиды раскрыты в WO 2007/134181, который таким образом включен во всей полноте посредством ссылки.

В некоторых воплощениях В представляет собой нуклеосахарид, включая аналоги нуклеосахаридов и нуклеосахариды естественного происхождения, такие как пуридин и пиримидин или замещенный пуридин и замещенный пиримидин, такие как нуклеосахарид, упомянутое в настоящем документе, выбранное из группы, состоящей из аденина, цитозина, тимина, аденина, урацила и/или модифицированного или замещенного нуклеосахариды, такого как 5-тиазоло-урацил, 2-тио-урацил, 5-пропинил-урацил, 2'-тио-тимин, 5-метилцитозин, 5-тиазоло-цитозин, 5-пропинил-цитозин и 2,6-диаминопуридин.

В некоторых воплощениях R<sup>4\*</sup> и R<sup>2\*</sup> вместе означают бирадикал, выбранный из C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-O-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-O-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-C(R<sup>e</sup>R<sup>f</sup>)-O-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-O-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-O-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-O-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-C(R<sup>e</sup>R<sup>f</sup>)-, C(R<sup>a</sup>)=C(R<sup>b</sup>)-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-N(R<sup>c</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-N(R<sup>e</sup>)-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-N(R<sup>c</sup>)-O- и -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-S-, -C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-S-, где R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup>, R<sup>c</sup>, R<sup>d</sup>, R<sup>e</sup> и R<sup>f</sup>, каждый независимо, выбраны из водорода, возможно замещенного С<sub>1-12</sub>алкила, возможно замещенного С<sub>2-12</sub>алкенила, возможно замещенного С<sub>2-12</sub>алкинила, гидроксид, С<sub>1-12</sub>алкокси, С<sub>2-12</sub>алкоксиалкила, С<sub>2-12</sub>алкенилокси, карбоксы, С<sub>1-12</sub>алкоксикарбонила, С<sub>1-1</sub>-алкилкарбонила, формила, арила, арилоксикарбонила, арилокси, арилкарбонила, гетероарила, гетероарилокси-карбонила, гетероарилокси, гетероарилокси-карбонила, амина, моно- и ди(С<sub>1-6</sub>алкил)амино, карбамоила, моно- и ди(С<sub>1-6</sub>алкиламинокарбонила, амина-С<sub>1-6</sub>алкиламинокарбонила, моно- и ди(С<sub>1-6</sub>алкил)амино-С<sub>1-6</sub>алкиламинокарбонила, С<sub>1-6</sub>алкилкарбониламино, карбамидо, С<sub>1-6</sub>алканоилокси, сульфоно, С<sub>1-6</sub>алкилсульфилокси, нитро, ази-до, сульфанила, С<sub>1-6</sub>алкилтио, галогена, ДНК интеркаляторов, фотохимически активных групп, термохимически активных групп, хелатных групп, репортерных групп и лигандов, где арил и гетероарил могут быть возможно замещены и где два геминальных заместителя R<sup>a</sup> и R<sup>b</sup> вместе могут означать возможно замещенный метилен (=CH<sub>2</sub>). Для всех хиральных центров асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации.

В дальнейшем воплощении R<sup>4\*</sup> и R<sup>2\*</sup> вместе означают бирадикал (бивалентную группу), выбранный из -CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>-NH-, -CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-, -CH=CH-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-O-, -CH<sub>2</sub>-NH-O-, -CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-O-, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)-O- и -CH(CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>)-O- и/или -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- и -CH=CH-. Для всех хиральных центров асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации.

В некоторых воплощениях R<sup>4\*</sup> и R<sup>2\*</sup> вместе означают бирадикал C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-N(R<sup>c</sup>)-O-, где R<sup>a</sup> и R<sup>b</sup> независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, С<sub>1-6</sub>алкила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкила, С<sub>2-6</sub>алкенила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкенила, С<sub>2-6</sub>алкинила или замещенного С<sub>2-6</sub>алкинила, С<sub>1-6</sub>алкоксила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкоксила, ацила, замещенного ацила, С<sub>1-6</sub>аминоалкила или замещенного С<sub>1-6</sub>аминоалкила, такого как водород, и где R<sup>c</sup> выбран из группы, состоящей из водорода, галогена, С<sub>1-6</sub>алкила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкила, С<sub>2-6</sub>алкенила, алкенила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкенила, С<sub>2-6</sub>алкинила или замещенного С<sub>2-6</sub>алкинила, С<sub>1-6</sub>алкоксила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкоксила, ацила, замещенного ацила, С<sub>1-6</sub>аминоалкила или замещенного С<sub>1-6</sub>аминоалкила, такого как водород.

В некоторых воплощениях R<sup>4\*</sup> и R<sup>2\*</sup> вместе означают бирадикал C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-O-C(R<sup>c</sup>R<sup>d</sup>)-O-, где R<sup>a</sup>, R<sup>b</sup>, R<sup>c</sup> и R<sup>d</sup> независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, С<sub>1-6</sub>алкила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкила, С<sub>2-6</sub>алкенила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкенила, С<sub>2-6</sub>алкинила или замещенного С<sub>2-6</sub>алкинила,

С<sub>1-6</sub>алкоксила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкоксила, ацила, замещенного ацила, С<sub>1-6</sub>аминоалкила или замещенного С<sub>1-6</sub>аминоалкила, например водорода.

В некоторых воплощениях R<sup>4</sup> и R<sup>2</sup> формируют бирадикал -CH(Z)-O-, где Z выбран из группы, состоящей из С<sub>1-6</sub>алкила, С<sub>2-6</sub>алкенила, С<sub>2-6</sub>алкинила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкенила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкинила, ацила, замещенного ацила, замещенного амида, тиола или замещенного тио; и где каждая из замещенных групп независимо является моно или полизамещенной возможно защитными замещающими группами, независимо выбранными из галогена, оксо, гидроксид, ОJ<sub>1</sub>, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, SJ<sub>1</sub>, N<sub>3</sub>, ОС(=X)J<sub>1</sub>, ОС(=X)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, NJ<sub>3</sub>C(=X)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub> и CN, где каждый J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub> и J<sub>3</sub> независимо представляет собой H или С<sub>1-6</sub>алкил и X представляет собой O, S или NJ<sub>1</sub>. В некоторых воплощениях Z представляет собой С<sub>1-6</sub>алкил или замещенный С<sub>1-6</sub>алкил. В некоторых воплощениях Z представляет собой метил. В некоторых воплощениях Z замещен С<sub>1-6</sub>алкилом. В некоторых воплощениях упомянутая замещающая группа представляет собой С<sub>1-6</sub>алкокси. В некоторых воплощениях Z представляет собой CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>-. Для всех хиральных центров асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации. Такие бициклические нуклеотиды раскрыты в US 7399845, который, таким образом, включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. В некоторых воплощениях R<sup>1\*</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>5\*</sup> представляют собой водород. В некоторых воплощениях R<sup>1\*</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3\*</sup> представляют собой водород и один или оба из R<sup>5</sup>, R<sup>5\*</sup> могут представлять собой иное, чем водород, как описано выше и в WO 2007/134181.

В некоторых воплощениях R<sup>4\*</sup> и R<sup>5\*</sup> вместе означают бирадикал, который содержит замещенную аминокгруппу в мостике, например состоит из или содержит бирадикал -CH<sub>2</sub>-N(R<sup>c</sup>)-, где R<sup>c</sup> представляет собой С<sub>1-12</sub>алкилокси. В некоторых воплощениях R<sup>4\*</sup> и R<sup>2\*</sup> вместе означают бирадикал -Cq<sub>3</sub>q<sub>4</sub>-NOR-, где q<sub>3</sub> и q<sub>4</sub> независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, С<sub>1-6</sub>алкила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкила, С<sub>2-6</sub>алкенила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкенила, С<sub>2-6</sub>алкинила или замещенного С<sub>2-6</sub>алкинила, С<sub>1-6</sub>алкоксила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкоксила, ацила, замещенного ацила, С<sub>1-6</sub>аминоалкила или замещенного С<sub>1-6</sub>аминоалкила; где каждая замещенная группа является независимо моно или поли замещенной замещающими группами, независимо выбранными из галогена, ОJ<sub>1</sub>, SJ<sub>1</sub>, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, COOJ<sub>1</sub>, CN, O-C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N(H)C(=NH)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub> или N(H)C(=X=N(H)J<sub>2</sub>), где X представляет собой O или S и каждый из J<sub>1</sub> и J<sub>2</sub> независимо представляет собой, H, С<sub>1-6</sub>алкил, С<sub>2-6</sub>алкенил, С<sub>2-6</sub>алкинил, С<sub>1-6</sub>аминоалкил или защитную группу. Для всех хиральных центров асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации. Такие бициклические нуклеотиды раскрыты в WO 2008/150729, который включен в данный документ во всей своей полноте посредством ссылки.

В некоторых воплощениях R<sup>1\*</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>5\*</sup> независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, галогена, С<sub>1-6</sub>алкила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкила, С<sub>2-6</sub>алкенила, замещенного С<sub>2-6</sub>алкенила, С<sub>2-6</sub>алкинила или замещенного С<sub>2-6</sub>алкинила, С<sub>1-6</sub>алкоксила, замещенного С<sub>1-6</sub>алкоксила, ацила, замещенного ацила, С<sub>1-6</sub>аминоалкила или замещенного С<sub>1-6</sub>аминоалкила. В некоторых воплощениях R<sup>1\*</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>5\*</sup> представляют собой водород. В некоторых воплощениях R<sup>1\*</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> представляют собой водород и один или более R<sup>5</sup>, R<sup>5\*</sup> могут представлять собой иное, чем водород, как описано выше и в WO 2007/134181. В некоторых воплощениях R<sup>4\*</sup> и R<sup>2\*</sup> вместе означают бирадикал (бивалентную группу) C(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>)-O-, где R<sup>a</sup> и R<sup>b</sup> каждый независимо представляют собой галоген, С<sub>1-12</sub>-алкил, замещенный С<sub>1-12</sub>-алкил, С<sub>2-12</sub>-алкенил, замещенный С<sub>2-12</sub>-алкенил, С<sub>2-12</sub>-алкинил, замещенный С<sub>2-12</sub>-алкинил, С<sub>1-12</sub>-алкокси, замещенный С<sub>1-12</sub>-алкокси, ОJ<sub>1</sub>SJ<sub>1</sub>, SOJ<sub>1</sub>, SO<sub>2</sub>J<sub>1</sub>, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, CN, C(=O)OJ<sub>1</sub>, C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, C(=O)J<sub>1</sub>, O-C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N(H)C(=NH)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N(H)C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub> или N(H)C(=S)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub> или R<sup>a</sup> и R<sup>b</sup> вместе представляют собой =C(q<sub>3</sub>)(q<sub>4</sub>); q<sub>3</sub> и q<sub>4</sub>, каждый независимо, представляют собой H, галоген, С<sub>1-12</sub>-алкил или замещенный С<sub>1-12</sub>-алкил; каждая замещенная группа независимо является моно или полизамещенной замещающей группой, независимо выбранной из галогена, С<sub>1-6</sub>-алкила, замещенного С<sub>1-6</sub>-алкила, С<sub>2-6</sub>-алкенила, замещенного С<sub>2-6</sub>-алкенила, С<sub>2-6</sub>-алкинила, замещенного С<sub>2-6</sub>-алкинила, ОJ<sub>1</sub>, SJ<sub>1</sub>, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, CN, C(=O)OJ<sub>1</sub>, C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, C(=O)J<sub>1</sub>, O-C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N(H)C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub> или N(H)C(=S)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub> и каждый J<sub>1</sub> и J<sub>2</sub> независимо представляет собой H, С<sub>1-6</sub>-алкил, замещенный С<sub>1-6</sub>-алкил, С<sub>2-6</sub>-алкенил, замещенный С<sub>2-6</sub>-алкенил, С<sub>2-6</sub>-алкинил, замещенный С<sub>2-6</sub>-алкинил, С<sub>1-6</sub>-аминоалкил, замещенный С<sub>1-6</sub>-аминоалкил или защитную группу. Такие соединения раскрыты в WO 2009/006478A, включенный в данный документ во всей полноте посредством ссылки.

В некоторых воплощениях R<sup>4\*</sup> и R<sup>2\*</sup> формируют бирадикал -Q-, где Q представляет собой C(q<sub>1</sub>)(q<sub>2</sub>)C(q<sub>3</sub>)(q<sub>4</sub>), C(q<sub>1</sub>)=C(q<sub>3</sub>), C[=C(q<sub>1</sub>)(q<sub>2</sub>)]-C(q<sub>3</sub>)(q<sub>4</sub>) или C(q<sub>1</sub>)(q<sub>2</sub>)-C[=C(q<sub>3</sub>)(q<sub>4</sub>)]]; q<sub>1</sub>, q<sub>2</sub>, q<sub>3</sub>, q<sub>4</sub>, каждый независимо, представляют собой H, галоген, С<sub>1-12</sub>алкил, замещенный С<sub>1-12</sub>алкил, С<sub>2-12</sub>алкенил, замещенный С<sub>1-12</sub>алкокси, ОJ<sub>1</sub>, SJ<sub>1</sub>, SOJ<sub>1</sub>, SO<sub>2</sub>J<sub>1</sub>, NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, CN, C(=O)OJ<sub>1</sub>, C(=O)-NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, C(=O)J<sub>1</sub>, C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N(H)C(=NH)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>, N(H)C(=O)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub> или N(H)C(=S)NJ<sub>1</sub>J<sub>2</sub>; каждый J<sub>1</sub> и J<sub>2</sub> независимо представляют собой H, С<sub>1-6</sub>алкил, С<sub>2-6</sub>алкенил, С<sub>2-6</sub>алкинил, С<sub>1-6</sub>аминоалкил или защитную группу; и возможно, где в случае, когда Q представляет собой C(q<sub>1</sub>)(q<sub>2</sub>)(q<sub>3</sub>)(q<sub>4</sub>) и один из q<sub>3</sub> или q<sub>4</sub> представляет собой CH<sub>3</sub>, по меньшей мере один из других q<sub>3</sub> или q<sub>4</sub> или один из q<sub>1</sub> и q<sub>2</sub> представляют собой иное, чем H.

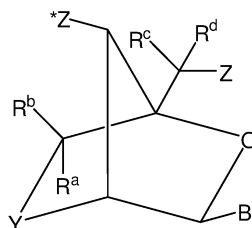
В некоторых воплощениях R<sup>1\*</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>5\*</sup> представляют собой водород. Для всех хиральных центров асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации. Такие бициклические нуклеотиды раскрыты в WO 2008/154401, который включен в данный документ во всей своей полноте посредством ссылки. В некоторых воплощениях R<sup>1\*</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>5\*</sup> независимо выбраны из группы, состоящей

из водорода, галогена,  $C_{1-6}$ алкила, замещенного  $C_{1-6}$ алкила,  $C_{2-6}$ алкенила, замещенного  $C_{2-6}$ алкенила,  $C_{2-6}$ алкинила или замещенного  $C_{2-6}$ алкинила,  $C_{1-6}$ алкоксила, замещенного  $C_{1-6}$ алкоксила, ацила, замещенного ацила,  $C_{1-6}$ аминоалкила или замещенного  $C_{1-6}$ аминоалкила. В некоторых воплощениях  $R^{1*}$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^5$ ,  $R^{5*}$  представляют собой водород. В некоторых воплощениях  $R^{1*}$ ,  $R^2$ ,  $R^3$  представляют собой водород и один или оба  $R^5$ ,  $R^{5*}$  могут представлять собой иное, чем водород, как описано выше и в WO 2007/134181 или WO 2009/067647 (аналоги альфа-L-бициклических нуклеиновых кислот).

Дополнительные бициклические нуклеозидные аналоги и их применение в антисмысловых олигонуклеотидах раскрыты в WO2011/115818, WO 2011/085102, WO 2011/017521, WO 09/100320, WO 10/036698, WO 09/124295 и WO 09/006478.

Такие нуклеозидные аналоги могут в некоторых аспектах быть полезны в соединениях по настоящему изобретению.

В некоторых воплощениях LNA, примененная в олигонуклеотидных соединениях по изобретению, предпочтительно обладает структурой общей формулы II



Формула II

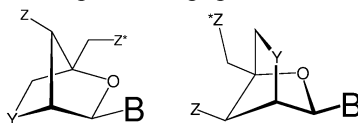
где Y выбран из группы, состоящей из -O-, -CH<sub>2</sub>O-, -S-, -NH-, N(R<sup>c</sup>) и/или -CH<sub>2</sub>-;

Z и Z\* независимо выбраны из межнуклеотидной связи, R<sup>H</sup>, терминальной группы или защитной группы;

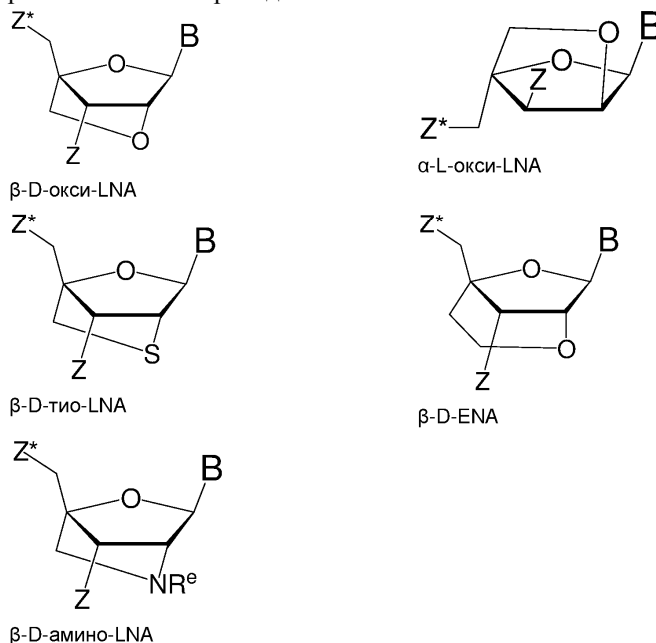
В представляет собой нуклеотидную группу естественного или неестественного происхождения (нуклеооснование) и R<sup>H</sup> выбран из водорода и  $C_{1-4}$ -алкила;

$R^a$ ,  $R^b$ ,  $R^c$ ,  $R^d$  и  $R^e$  возможно независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, возможно замещенного  $C_{1-12}$ алкила, возможно замещенного  $C_{2-12}$ алкенила, возможно замещенного  $C_{2-12}$ алкинила, гидрокси,  $C_{1-12}$ алкокси,  $C_{2-12}$ алкоксиалкила,  $C_{2-12}$ алкенилокси, карбокси,  $C_{1-12}$ алкоксикарбонила,  $C_{1-12}$ алкилкарбонила, формила, арила, арилокси-карбонила, арилокси, арилкарбонила, гетероарила, гетероарилокси-карбонила, гетероарилокси, гетероарилкарбонила, amino, моно- и ди( $C_{1-6}$ алкил)амино, карбамоила, моно- и ди( $C_{1-6}$ алкил)аминокарбонила, amino- $C_{1-6}$ алкиламинокарбонила, моно- и ди( $C_{1-6}$ алкил)амино- $C_{1-6}$ алкил-аминокарбонила,  $C_{1-6}$ алкил-карбониламино, карбамидо,  $C_{1-6}$ алканоилокси, сульфоно,  $C_{1-6}$ алкилсульфилокси, нитро, азидо, сульфанила,  $C_{1-6}$ алкилтио, галогена, ДНК интеркаляторов, фотохимически активных групп, термохимически активных групп, хелатных групп и лигандов, где арил и гетероарил возможно могут быть замещены и где два геминальных заместителя  $R^a$  и  $R^b$  вместе могут означать возможно замещенный метилен (=CH<sub>2</sub>); и R<sup>H</sup> выбран из водорода и  $C_{1-4}$ -алкила.

В некоторых воплощениях  $R^a$ ,  $R^b$ ,  $R^c$ ,  $R^d$  и  $R^e$  возможно независимо выбраны из группы, состоящей из водорода и  $C_{1-6}$ алкила, такого как метил. Для всех хиральных центров асимметричные группы могут быть или в R-, или в S-ориентации, например два примера стереохимических изомеров включают бета-D и альфа-L изоформы, которые могут быть проиллюстрированы следующим образом:



Конкретные примеры звеньев LNA приведены ниже:



Термин "тио-LNA" подразумевает закрытый нуклеотид, в котором Y в общей формуле, упомянутой выше, выбран из S или -CH<sub>2</sub>-S-. Тио-LNA может быть как в бета-D, так и в альфа-L-конфигурации.

Термин "амино-LNA" подразумевает закрытый нуклеотид, в котором Y в общей формуле, упомянутой выше, выбран из -N(H)-, N(R)-, CH<sub>2</sub>-N(H)- и -CH<sub>2</sub>-N(R)-, где R выбран из водорода и C<sub>1-4</sub>алкила. Амино-LNA может быть как в бета-D, так и в альфа-L-конфигурации.

Термин "окси-LNA" подразумевает закрытый нуклеотид, в котором Y в общей формуле, упомянутой выше, представляет собой -O-. Окси-LNA может быть как в бета-D, так и в альфа-L-конфигурации.

Термин "ENA" подразумевает закрытый нуклеотид, в котором Y в общей формуле, упомянутой выше, представляет собой -CH<sub>2</sub>-O- (где атом кислорода -CH<sub>2</sub>-O- прикреплен к 2'-позиции относительно основания B). R<sup>e</sup> представляет собой водород или метил.

В некоторых примерах воплощений LNA выбрана из бета-D-окси-LNA, альфа-L-окси-LNA, бета-D-амино-LNA и бета-D-тио-LNA, в частности бета-D-окси-LNA.

LNA-модифицированные антисмысловые олигонуклеотиды могут быть применены в комбинациях. Например, смесь различных LNA-модифицированных олигонуклеотидов, направленных против различных участков одного и того же гена, может быть введена одновременно или раздельно.

"Хэдмер" (англ. - headmer).

"Хэдмер" определен как олигомер, содержащий участок X' и участок Y', который прилегает к нему, с 5'-звена участка Y', связанного с 3'-звеном участка X'. Участок X' содержит непрерывный участок нуклеозидных аналогов, не привлекающих РНКазу, и участок Y' содержит непрерывный участок (такой как имеющий по меньшей мере семь непрерывных звеньев) звеньев ДНК или звеньев нуклеозидного аналога, распознаваемых и расщепляемых РНКазой.

"Тэйлмер" (англ. - tailmer).

"Тэйлмер" определен как олигомер, содержащий участок X" и участок Y", который прилегает к нему, с 5'-звена участка Y", связанного с 3'-звеном участка X". Участок X" содержит непрерывный участок (такой как имеющий по меньшей мере семь непрерывных звеньев) звеньев ДНК и звеньев нуклеозидного аналога, распознаваемых или расщепляемых РНКазой и участок X" содержит непрерывный участок нуклеозидных аналогов, не привлекающих РНКазу.

Химерные олигомеры/миксмеры.

"Химерные" олигомеры, называемые "миксмеры" состоят из альтернативной композиции (i) звеньев ДНК или звеньев нуклеозидного аналога, распознаваемых или расщепляемых РНКазой, и (ii) звеньев нуклеозидного аналога, не привлекающего РНКазу.

Фотохимически активные группы.

В настоящем контексте термин "фотохимически активные группы" относится к соединениям, которые способны подвергаться химическим реакциям под действием облучения светом. Иллюстративные примеры функциональных групп в данном документе представляют собой хиноны, в частности 6-метил-1,4-нафтохинон, антрахинон, нафтохинон и 1,4-диметил-антрахинон, диазириин, ароматические азиды, бензофеноны, псоралены, диазо соединения и диазирино соединения.

Как употреблено в данном документе, "основанный на" означает, что олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит по меньшей мере 80%, предпочтительно 85%, предпочтительно 90%, предпочтительно 95%, предпочтительно все нуклеотиды корового мотива или последовательности и



возможно, где один или более нуклеотидов могут представлять собой модифицированный нуклеотид.

Соответственно, в определенных воплощениях термин "основанный на" означает, что олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит все нуклеотиды корового мотива или последовательности, и возможно где один или более нуклеотидов могут представлять собой модифицированный нуклеотид.

Для конкретных воплощений термин "основанный на" означает, что олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит все нуклеотиды корового мотива или последовательности, и где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид.

Для конкретных воплощений термин "основанный на" означает, что олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит по меньшей мере 80%, предпочтительно по меньшей мере 85%, предпочтительно по меньшей мере 90%, предпочтительно по меньшей мере 95%, предпочтительно все нуклеотиды корового мотива или последовательности, и где один или более нуклеотидов могут представлять собой модифицированный нуклеотид; и где упомянутый олигомер представляет собой гэммер мотива X-Y-Z, где каждый из X и Z независимо представляет собой крыло, содержащее по меньшей мере один модифицированный нуклеотид и Y представляет собой центральный участок нуклеотидов.

Соответственно, для определенных воплощений, термин "основанный на" означает, что олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит все нуклеотиды корового мотива или последовательности, и где один или более нуклеотидов может представлять собой модифицированный нуклеотид; и где упомянутый олигомер является гэммером мотива X-Y-Z, где каждый X и Z независимо представляет собой крыло, содержащее по меньшей мере один модифицированный нуклеотид, и Y представляет собой центральный участок нуклеотидов.

#### Стабильность

Термин "стабильность" в отношении образования дуплета или триплета обычно указывает на то, насколько сильно антисмысловой олигонуклеотид связывается со своей предполагаемой последовательностью-мишенью; в частности, "стабильность" означает свободную энергию образования дуплета или триплета при физиологических условиях. Температура плавления при стандартных условиях, например, как описано ниже, является удобной мерой стабильности дуплета и/или триплета. Предпочтительно антисмысловые олигонуклеотиды по изобретению выбраны так, что имеют температуры плавления по меньшей мере 45°C, в случае измерения в 100 mM NaCl, 0,1 mM ЭДТА и 10 mM водном растворе фосфатного буфера, pH 7,0 при концентрации цепей как антисмыслового олигонуклеотида, так и целевой нуклеиновой кислоты 1,5 мкМ. Таким образом, при применении при физиологических условиях образованию дуплета или триплета будет благоприятствовать состояние, при котором антисмысловой олигонуклеотид и мишень диссоциированы. Следует понимать, что стабильный дуплет или триплет может в некоторых воплощениях включать несовпадения между парами оснований и/или триплетными основаниями в случае триплетов. Предпочтительно LNA модифицированные антисмысловые олигонуклеотиды по изобретению формируют абсолютно совпадающие дуплеты и/или триплеты с их целевыми нуклеиновыми кислотами.

#### Сильный ингибитор.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат представляет собой сильный ингибитор, в частности HBx или HBsAg.

Как употреблено в данном документе, фраза "сильный ингибитор" относится к олигомеру с IC<sub>50</sub> менее чем 5 нМ, как определено посредством трансфекционного анализа с применением липофектамина. В некоторых воплощениях IC<sub>50</sub> составляет менее 4 нМ, например менее 2 нМ.

"Сильный ингибитор", как употреблено в данном документе, посредством "гимнозис", где гимнозис описывает доставку олигомера в культивированные клетки без применения трансфекционного агента, относится к IC<sub>50</sub> менее чем 5 мкМ в анализе гимнозиса или в in vivo AAV/HBV мышинной модели. В некоторых воплощениях IC<sub>50</sub> составляет менее чем 2 мкМ, например менее 1 мкМ.

#### Лечить/лечение.

Термины "лечить/лечение" и т.д. включают одно или более из устранения, облегчения, предупреждения или детекции. В определенных воплощениях термины "лечить/лечение" и т.д. означают устранение или облегчение.

Термин "облегчение" включает облегчение симптомов и/или состояний, сопутствующих или ассоциированных с вирусным заболеванием.

Таким образом, в некоторых аспектах настоящее изобретение относится к олигомерам или олигомерным конъюгатам, приемлемым для их применения и способам их применения для устранения, облегчения, предупреждения или детекции вирусного заболевания.

Соответственно в определенных аспектах настоящее изобретение относится к олигомерам или олигомерным конъюгатам, приемлемым для и их применениям и способам их применения для устранения или облегчения вирусного заболевания.

В некоторых воплощениях термин "лечение", как употреблено в данном документе, относится или к лечению существующего заболевания (например, заболевания или расстройства, как употреблено в данном документе), или предупреждению заболевания, т.е. профилактики. Поэтому следует понимать, что лечение, как рассмотрено в данном документе, может в некоторых воплощениях быть профилактиче-

ским.

"Лечение" заболевания или состояния у субъекта или "лечение" субъекта, имеющего заболевание или состояние, относящееся к подверганию индивидуума фармацевтическому лечению, например введению лекарственного средства, такому что по меньшей мере один симптом или состояние ослаблены или стабилизированы.

Пациент, нуждающийся в лечении, представляет собой пациента, страдающего или вероятно страдающего от заболевания.

Посредством "профилактическое лечение" заболевания или состояния у субъекта подразумевают снижение или элиминацию риска развития (т.е. инцидент) или снижение тяжести заболевания или состояния перед проявлением по меньшей мере одного симптома заболевания.

Агент.

Термин "агент" означает любое соединение, например антитело или терапевтический агент, детектируемую метку (например, маркер, метка или визуализирующее соединение).

Терапевтический агент.

Термин "терапевтический агент" означает любое соединение, обладающее биологической активностью. Терапевтические агенты могут быть полезны для лечения состояний или заболеваний. Конкретные агенты по изобретению могут представлять собой олигомеры. Конкретные терапевтические агенты могут представлять собой олигомеры или олигомерные конъюгаты по настоящему изобретению.

Доставка упомянутого олигомера в печень.

Как употреблено в данном документе, термин "доставка упомянутого олигомера в печень" относится к способу, посредством которого олигомер приводят в контакт или в близость с клетками или тканями печени. Это включает доставку олигомера в кровеносную сеть внутри или вокруг печени. Олигомер может быть доставлен или перенесен из участка попадания в тело к печени или тканям вокруг печени.

Доставка упомянутого олигомера к гепатоцитам.

Как употреблено в данном документе, термин "доставка упомянутого олигомера к гепатоцитам" относится к способу, которым олигомер приводят в контакт или в близость с гепатоцитом печени. Это включает доставку олигомера в кровяную сеть внутри или вокруг гепатоцита. Олигомер может быть доставлен или перенесен из участка попадания в тело к гепатоциту.

Вирусное заболевание.

Термин "вирусное заболевание" в контексте настоящего изобретения относится к любому расстройству или заболеванию, которое ассоциировано с вирусной инфекцией.

Фармацевтические носители/фармацевтически приемлемые носители.

"Фармацевтические носители" или "фармацевтически приемлемые носители" следует отличать от "компонент-носитель" по изобретению, как описано выше. "Фармацевтический носитель" и "компонент-носитель" являются взаимоисключающими терминами в контексте настоящего изобретения.

Введение.

Термин "введение" предназначен для обозначения способа доставки, включая, но не ограничено, интраартериальное, интраназальное, интраперитонеальное, внутривенное, внутримышечное, подкожное, чрескожное или пероральное. Ежедневная доза может быть разделена на одну, две и более дозы в приемлемой форме, подлежащей введению один, два или более раз в течение периода времени.

### **Подробное описание изобретения**

Введение.

Настоящее изобретение относится к олигомерам (также рассматриваемым в качестве олигомерных молекул) и/или олигомерным конъюгатам.

Олигомеры и олигомерные конъюгаты полезны для лечения вирусного заболевания.

В конкретных воплощениях олигомеры и олигомерные конъюгаты по изобретению способны модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV.

Олигомеры по изобретению могут быть конъюгированы с компонентом-носителем.

Предпочтительно компонент-носитель может быть способен к доставке олигомера к печени субъекта, подлежащего лечению.

Настоящее изобретение, таким образом, использует олигомеры и олигомерные конъюгаты для применения при модулировании функции нуклеиново-кислотных молекул, кодирующих HBx или HBsAg HBV, таких как HBV нуклеиново-кислотной молекулы, представленной в виде SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2, и вариантов таких нуклеомолекул естественного происхождения, кодирующих HBV HBx или HBV HBsAg.

Свойства олигомеров.

Олигомер или олигомер олигомерного конъюгата могут состоять из или содержать непрерывную нуклеотидную последовательность длиной 8-50, 8-30, 8-25, 8-20, 8-18, 8-17, 8-16, 8-15, 8-14, 8-13 или 8-12 нуклеотидов, предпочтительно 8-16 нуклеотидов в длину, более предпочтительно длиной 10-20 нуклеотидов.

Для некоторых воплощений олигомер или олигомер олигомерного конъюгата могут содержать или состоять из непрерывной нуклеотидной последовательности длиной 10-50, например 10-30, 10-20, 10-18,

10-17, 10-16, 10-15, 10-14, 10-13 или 10-12 нуклеотидов ну, предпочтительно длиной 10-20 нуклеотидов, более предпочтительно длиной 10-18 нуклеотидов, наиболее предпочтительно длиной 10-16 нуклеотидов.

Для некоторых воплощений олигомер или олигомер олигомерного конъюгата может содержать или состоять из непрерывной нуклеотидной последовательности длиной 12-50, например длиной 12-30, 12-20, 12-18, 12-17, 12-16, 12-15, 12-14 или 12-13 нуклеотидов, предпочтительно длиной 12-16 нуклеотидов.

Для некоторых воплощений олигомер или олигомер олигомерного конъюгата могут содержать или состоять из непрерывной нуклеотидной последовательности длиной 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нуклеотидов.

Для некоторых воплощений олигомер или олигомерный компонент олигомерных конъюгатов по настоящему изобретению может содержать или состоять из непрерывной нуклеотидной последовательности всего длиной 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 непрерывных нуклеотидов.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит или состоит из непрерывной нуклеотидной последовательности длиной всего 8-22, например 8-20, например 8-18, например, 8-17 или 8-16, непрерывных нуклеотидов.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит или состоит из непрерывной нуклеотидной последовательности длиной всего 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 непрерывных нуклеотидов.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит или состоит из непрерывной нуклеотидной последовательности длиной всего 15 или 16 непрерывных нуклеотидов.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата по изобретению состоит из не более чем 22 нуклеотидов, например не более чем 20 нуклеотидов, например не более чем 18 нуклеотидов, например 15, 16 или 17 нуклеотидов.

В некоторых воплощениях, предпочтительно олигомер или олигомер олигомерного конъюгата по изобретению содержит менее 20 нуклеотидов.

Следует понимать, что в случае, когда диапазон приведен для длины олигомера или непрерывной нуклеотидной последовательности, он включает меньшую и большую длину, приведенную в диапазоне, например, (или между) 10-30, включают как 10, так и 30.

Длина олигонуклеотидных групп достаточна большая для уверенности в том, что специфичное связывание имеет место только с желаемым целевым полинуклеотидом, а не с другими случайными сайтами, как пояснено во многих ссылках, Rosenberg et.al., Международная заявка на патент PCT/US92/05305 или Szostak et al., Meth. Enzymol, 68:419-429 (1979). Верхний предел длины определен несколькими факторами, включая сложности и дороговизну синтеза и очистки олигомеров свыше 30-40 нуклеотидов в длину, большей толерантностью более длинных олигонуклеотидов к несовпадениям, чем более коротких, или из-за присутствия модификаций для усиления связывания или специфичности, или при желании связывания дуплета или триплета и т.п.

Олигомер или олигомер олигомерного конъюгата может содержать или состоять из простой последовательности нуклеотидов естественного происхождения, предпочтительно 2'-дезоксинуклеотидов (в данном документе обычно упоминаемы как "ДНК"), а также возможно рибонуклеотидов (обычно упоминаемых в данном документе как "РНК") или комбинации таких нуклеотидов естественного происхождения и одного или более нуклеотидов не естественного происхождения, т.е. нуклеотидных аналогов. Такие нуклеотидные аналоги могут соответственно повышать аффинность олигомера к последовательности-мишени.

Примеры приемлемых и предпочтительных нуклеотидных предложены в WO 2007/031091 или упомянуты в данном документе.

Примеры нуклеотидных аналогов включают нуклеотиды, которые могут быть модифицированы. Примеры таких модификаций включают модификации сахарной группы для получения 2'-замещающей группы или для получения соединенной мостиковой связью (закрытая нуклеиновая кислота) структуры, которая повышает аффинность связывания и также может обеспечить повышенную устойчивость к нуклеазам. Данные модифицированные нуклеотидные аналоги могут, таким образом, быть усиливающими аффинность нуклеотидными аналогами.

Включение усиливающих аффинность нуклеотидных аналогов в олигомер или олигомер олигомерного конъюгата, такого как LNA или 2'-замещенные сахара, позволяет уменьшить размер специфично связывающегося олигомера, а также могут уменьшать верхний предел размера олигомера до того, как будет иметь место его неспецифичное или ошибочное связывание.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит по меньшей мере один нуклеотидный аналог. В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит по меньшей мере 2 нуклеотидных аналога. В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит 2-8 нуклеотидных аналога, например 6 или 7 нуклеотидных аналогов. В самых предпочтительных воплощениях по меньшей мере один из упомянутых нуклеотидных аналогов представляет собой закрытую нуклеиновую кислоту (LNA); например, по меньшей мере

ре 2, 3 или по меньшей мере 4, или по меньшей мере 5, или по меньшей мере 6, или по меньшей мере 7, или 8 нуклеотидных аналогов могут представлять собой LNA. В некоторых воплощениях все нуклеотидные аналоги могут представлять собой LNA.

Следует учитывать, что при ссылке на предпочтительный мотив нуклеотидной последовательности или нуклеотидную последовательность, которая состоит только из нуклеотидов олигомеры или олигомерные конъюгаты по изобретению, которые определены посредством этой последовательности, могут содержать соответствующий нуклеотидный аналог вместо одного или более нуклеотидов, присутствующих в упомянутой последовательности, такой как звенья

LNA или другие нуклеотидные аналоги, повышающие стабильность дуплета/ $T_m$  олигомера/дуплета-мишени (т.е. усиливающие аффинность нуклеотидные аналоги).

Предпочтительный нуклеотидный аналог представляет собой LNA, такую как окси-LNA (такую как бета-D-окси-LNA, и альфа-L-окси-LNA), и/или аминокс-LNA (такую как бета-D-аминокс-LNA и альфа-L-аминокс-LNA), и/или тимо-LNA (такую как бета-D-тимо-LNA и альфа-L-тимо-LNA), и/или ENA (такую как бета-D-ENA и альфа-L-ENA). Наиболее предпочтительна бета-D-окси-LNA.

В некоторых воплощениях нуклеотидные аналоги, присутствующие в олигомере или олигомере олигомерного конъюгата по изобретению (таком как участок W и участок Y гэнмеров, как упомянуто в данном документе), независимо выбраны, например, из звеньев 2'-О-алкил-РНК, звеньев 2'-амино-ДНК, звеньев 2'-фтор-ДНК, звеньев LNA, арабинонуклеиновой кислоты (АНК), звеньев 2'-фтор-АНК, звеньев HNA, звеньев ИНК (интеркалирующей нуклеиновой кислоты - Christensen, 2002. Nucl. Acids. Res. 2002, 30:4918-4925, включенной в данный документ посредством ссылки) и звеньев 2'-МОЕ. В некоторых воплощениях существует только один из вышеупомянутых типов нуклеотидных аналогов, присутствующих в олигомере по изобретению или его непрерывной нуклеотидной последовательности.

В некоторых воплощениях нуклеотидные аналоги представляют собой 2'-О-метоксиэтил-РНК (2'-МОЕ), звенья 2'-фтор-ДНК или нуклеотидные аналоги LNA, и, например, олигонуклеотид по изобретению может содержать нуклеотидные аналоги, которые независимо выбраны из данных трех типов аналогов или могут содержать только один тип аналога, выбранного из трех типов. В некоторых воплощениях по меньшей мере один из упомянутых нуклеотидных аналогов представляет собой 2'-МОЕ-RNA, такой как 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 2'-МОЕ-РНК нуклеотидные звенья. В некоторых воплощениях по меньшей мере один из упомянутых нуклеотидных аналогов представляет собой 2'-фтор-ДНК, такую как 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 2'-фтор-ДНК нуклеотидных звена.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата по изобретению содержит по меньшей мере одно звено закрытой нуклеиновой кислоты (LNA), например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 звеньев LNA, например, 3-7 или 4-8 звеньев LNA или 3, 4, 5, 6 или 7 звеньев LNA. В некоторых воплощениях все нуклеотидные аналоги представляют собой LNA.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата могут содержать как бета-D-окси-LNA, так и одно или более из следующих звеньев LNA: тимо-LNA, аминокс-LNA, окси-LNA и/или ENA или в бета-D или альфа-L конфигурации или их комбинации. В некоторых воплощениях все цитозинового звенья LNA представляют собой 5'-метил-цитозин.

В некоторых воплощениях изобретения олигомер или олигомер олигомерного конъюгата может содержать как звенья LNA, так и звенья ДНК. Предпочтительно общее число звеньев LNA и ДНК составляет 10-25, например 10-24, предпочтительно 10-20, предпочтительно 10-18, даже более предпочтительно 12-16. В некоторых воплощениях изобретения нуклеотидная последовательность олигомера, такая как непрерывная нуклеотидная последовательность, состоит по меньшей мере из одной LNA, и оставшиеся нуклеотидные звенья представляют собой звенья ДНК.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата содержит только LNA нуклеотидные аналоги и нуклеотиды естественного происхождения (такие как РНК или ДНК, наиболее предпочтительно ДНК нуклеотиды), возможно с модифицированными межнуклеотидными связями, такими как фосфороат.

В некоторых воплощениях любые несовпадения между нуклеотидной последовательностью олигомера и последовательностью-мишенью предпочтительно обнаруживают в участках вне усиливающих аффинность нуклеотидных аналогов. Примеры таких участков вне усиливающих аффинность нуклеотидных аналогов в гэнмерах включают участок X, как упомянуто в данном документе, и/или участок V, как упомянуто в данном документе, и/или участок Z, как упомянуто в данном документе, и/или в участке не модифицированных нуклеотидов в олигонуклеотиде, и/или в участках, которые являются 5' или 3' в отношении непрерывной нуклеотидной последовательности.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата по изобретению не содержит РНК (звеньев). Предпочтительно олигомер или олигомер олигомерного конъюгата по изобретению представляет собой линейную молекулу или синтезирован в качестве линейной молекулы. Предпочтительно олигомер или олигомер олигомерного конъюгата представляет собой одноцепочечную молекулу и предпочтительно не содержит коротких участков, например, по меньшей мере из 3, 4 или 5 непрерывных нуклеотидов, которые комплементарны эквивалентным участкам внутри того же олигомера (т.е. дуплетам). В данном отношении олигомер или олигомер олигомерного конъюгата не является (по суще-

ству) двухцепочечным. В некоторых воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата, по существу, является одноцепочечным. В различных воплощениях олигомер или олигомер олигомерного конъюгата по изобретению может полностью состоять из непрерывного нуклеотидного участка. Таким образом, олигомер или олигомер олигомерного конъюгата, по существу, не является самокомплементарным.

Следовательно, в определенных аспектах изобретение предлагает олигомер или олигомер олигомерного конъюгата, обладающий олигомерным компонентом длиной 5-50, например, 5-30, или, например, 5-20, например, 8-30, например, 8-20, например, 8-18, например, 8-16, например, 10-16, например, 10-15, например, 12-16, например, 12-15 нуклеотидов, который содержит непрерывную нуклеотидную последовательность (первый участок) из всего по меньшей мере 5, например, по меньшей мере 8 нуклеотидов, где упомянутая непрерывная последовательность (первый участок) по меньшей мере на 80% (например, 85, 90, 95, 98 или 99%) гомологична участку, соответствующему обратному комплементарной последовательности гена HBx HBV или гена HBsAg HBV или мРНК, как любая последовательность внутри любой SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3 естественного происхождения. Таким образом, например, олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата гибридизуется с одноцепочечной молекулой нуклеиновой кислоты, имеющей последовательность части любой из SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 и SEQ ID NO: 3, предпочтительно внутри любой SEQ ID NO: 1 и SEQ ID NO: 2. Олигомер или олигомерный компонент может гибридизоваться с одноцепочечной молекулой нуклеиновой кислоты, имеющей последовательность части последовательности, показанной в позиции с 200 по 1900 SEQ ID NO: 3). Олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может гибридизоваться с одноцепочечной молекулой нуклеиновой кислоты, имеющей последовательность, показанную в позиции с 1264 по 1598 или с 691 по 706 SEQ ID NO: 3. Олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может гибридизоваться с одноцепочечной молекулой нуклеиновой кислоты с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из следующих позиций в SEQ ID NO: 3: позиции 1-1944, позиции 157-1840, позиции 1196-1941, позиции 1376-1840 и позиции 3158-3182. Предпочтительно олигомерный конъюгат гибридизуется с молекулой одноцепочечной нуклеиновой кислоты с последовательностью, выбранной внутри позиции 1530-1598 SEQ ID NO: 3, в частности внутри позиции 1577-1598 SEQ ID NO: 3 и наиболее предпочтительно внутри позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3. Олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может гибридизоваться с молекулой одноцепочечной нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из позиций: 1264-1278; 1265-1277; 1530-1543; 1530-1544; 1531-1543; 1551-1565; 1551-1566; 1577-1589; 1577-1591; 1577-1592; 1578-1590; 1578-1592; 1583-1598; 1584-1598 и 1585-1598 или 670-706, 691-705; 691-706; 692-706; 693-706 и 694-706 SEQ ID NO: 3.

Предпочтительно олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может гибридизоваться с молекулой одноцепочечной нуклеиновой кислоты внутри позиции 1530-1598 SEQ ID NO: 3, более предпочтительно внутри позиций 1530-1543 или позиций 1577-1598 SEQ ID NO: 3.

Для конкретных воплощений изобретение предлагает олигомер или олигомерный конъюгат, имеющий олигомер на основе корового мотива, выбранного из группы, состоящей из любой одной или более:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8);  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9);  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15);  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834),

которые способны модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV для лечения

вирусного заболевания.

Олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может быть основан на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой одной или более:

GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO 303);  
 GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO 301);  
 GCGtaaagagAGG (SEQ ID NO 618);  
 AGCgaagtgcacACG (SEQ ID NO 310);  
 AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO 668);  
 AGCgaagtgcacaCGG (SEQ ID NO 308);  
 CGAaccactgaACA (SEQ ID NO 297);  
 CGCagtatggaTC (SEQ ID NO 300);  
 AGGtgaagcgaagTGC (SEQ ID NO 315);  
 AGGtgaagcgaagGTG (SEQ ID NO 316);  
 GAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 294);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 295);  
 CGAaccactgaaCAA (SEQ ID NO 296);  
 CGAaccactgaAC (SEQ ID NO 298);  
 CCGcagtatggaTCG (SEQ ID NO 299);  
 CGCgtaaagagaGGT (SEQ ID NO 302);  
 AGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 304);  
 GAGaaggcacagaCGG (SEQ ID NO 305);  
 GAAgtgcacacGG (SEQ ID NO 306);  
 GCGaagtgcacaCGG (SEQ ID NO 307);  
 CGAagtgcacaCG (SEQ ID NO 309);  
 GAaccactgaaCAAA (SEQ ID NO 585);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 588);  
 GAAgtgcacaCGG (SEQ ID NO 628);  
 TAGtaactgagCCA (SEQ ID NO 678);  
 CGAaccactgAAC (SEQ ID NO 600);  
 AGGtgaagcgaAGT (SEQ ID NO 317); и  
 CGAaccactgAACA (SEQ ID NO 597),

где прописные буквы означают звенья LNA и строчные буквы означают звенья ДНК.

В конкретных воплощениях олигомер или дополнительный олигомер или олигомерный компонент дополнительного олигомерного конъюгата может содержать последовательность, основанную на последовательности, выбранной из списка:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15);  
 AGCGAAGTGACACGG (SEQ ID NO 18);  
 GAAGTGACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGACACGG (SEQ ID NO 17);  
 AGCGAAGTGACACG (SEQ ID NO 20);  
 CGAAGTGACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26) и  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27).

В другом воплощении последовательность мотива выбрана из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26); и  
 AGCGAAGTGACACGG (SEQ ID NO 18)

В другом воплощении последовательность мотива выбрана из GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO: 13) GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO: 11) и CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO: 12).

В другом воплощении последовательность мотива выбрана из AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO: 20); AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO: 26); AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO: 18); GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO: 16); GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO: 17); CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO: 19) и AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO: 27).

В другом воплощении последовательность мотива выбрана из CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO: 7); GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO: 4); CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO: 5); CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO: 6); CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO: 8) и TAGTAAACTGAGCCA (SEQ ID NO: 834).

В другом воплощении последовательность мотива выбрана из CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO: 9) и CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO: 10).

В другом воплощении последовательность мотива выбрана из AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO: 14) и GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO: 15).

В конкретных воплощениях олигомер или дополнительный олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать или состоять из последовательности, выбранной из группы, представленной ниже:

GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO 303);  
 GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO 301);  
 GCGtaaagagAGG (SEQ ID NO 618);  
 AGCgaagtgcacACG (SEQ ID NO 310)  
 AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO 668);  
 AGCgaagtgcacaCGG (SEQ ID NO 308);  
 CGAaccactgaACA (SEQ ID NO 297);  
 CGCagtatggaTC (SEQ ID NO 300);  
 AGGtgaagcgaagTGC (SEQ ID NO 315);  
 AGGtgaagcgaaGTG (SEQ ID NO 316);  
 GAAccactgaacAAA (SEQ ID NO 294);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 295);  
 CGAaccactgaacCAA (SEQ ID NO 296);  
 CGAaccactgaAC (SEQ ID NO 298);  
 CCGcagtatggaTCG (SEQ ID NO 299);  
 GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO 302);  
 AGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 304);  
 GAGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 305);  
 GAAgtgcacacGG (SEQ ID NO 306);  
 GCGaagtgcacaCGG (SEQ ID NO 307);  
 CGAagtgcacaCG (SEQ ID NO 309);  
 GAAccactgaacAAA (SEQ ID NO 585);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 588)  
 GAAgtgcacaCGG (SEQ ID NO 628);  
 TAGtaaactgagCCA (SEQ ID NO 678);  
 CGAaccactgAAC (SEQ ID NO 600);  
 AGGtgaagcgaAGT (SEQ ID NO 317); и  
 CGAaccactgAACA (SEQ ID NO 597).

где прописные буквы означают нуклеотидные аналоги усиливающие аффинность и строчные буквы означают звенья ДНК.

В другом воплощении последовательность выбрана из:

GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO 303);  
 GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO 301);  
 GCGtaaagagAGG (SEQ ID NO 618);  
 CCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO 302);  
 AGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 304);  
 GAGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 305);  
 GAAgtgcacacGG (SEQ ID NO 306);  
 GCGaagtgcacaCGG (SEQ ID NO 307);

GAAgtgcacaCGG (SEQ ID NO 628);  
 AGCgaagtgcacaCGG (SEQ ID NO 308);  
 CGAagtgcacaCG (SEQ ID NO 309);  
 AGCgaagtgcacACG (SEQ ID NO 310)  
 AGGtgaagcgaagTGC (SEQ ID NO 315);  
 AGGtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO 316);  
 AGGtgaagcgaAGT (SEQ ID NO 317); и  
 AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO 668).

В одном воплощении последовательность выбрана из:

GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO 303);  
 GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO 301);  
 GCGtaaagagAGG (SEQ ID NO 618);  
 AGCgaagtgcacACG (SEQ ID NO 310)  
 AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO 668); и  
 AGCgaagtgcacaCGG (SEQ ID NO 308).

В одном воплощении последовательность выбрана из GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO: 303); GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO: 301); GCGtaaagagAGG (SEQ ID NO: 618) и CGCgtaaagagaGGT (SEQ ID NO: 302).

В другом воплощении последовательность выбрана из AGCgaagtgcacACG (SEQ ID NO: 310); AGGtgaagcgaagTGC (SEQ ID NO: 315); AGGtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO: 316); GAAgtgcacaCGG (SEQ ID NO: 628); AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO: 668); AGCgaagtgcacaCGG (SEQ ID NO: 308); GAAgtgcacacGG (SEQ ID NO: 306); GCGaagtgcacaCGG (SEQ ID NO: 307); CGAagtgcacaCG (SEQ ID NO: 309) и AGGtgaagcgaAGT (SEQ ID NO: 317).

В другом воплощении последовательность выбрана из CGAaccactgaACA (SEQ ID NO: 297); GAAaccactgaacAAA (SEQ ID NO: 294); CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO: 295); CGAaccactgaCAA (SEQ ID NO: 296); CGAaccactgaAC (SEQ ID NO: 298); CGAaccactgAACA (SEQ ID NO: 597) и TAGtaaactgagCCA (SEQ ID NO: 678).

В другом воплощении последовательность выбрана из CCGcagtatggaTCG (SEQ ID NO: 299) и CGCagtatggaTC (SEQ ID NO: 300).

В другом воплощении последовательность выбрана из AGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO: 304) и GAGaaggcacagaCGG (SEQ ID NO: 305).



Олигомерный конъюгат может быть основан на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой одной или более:

|                                                                                                                                                                                                                                                                              |                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                           | (SEQ ID NO 815) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                                            | (SEQ ID NO 814) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                            | (SEQ ID NO 825) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'                | (SEQ ID NO 808) |
| 5'-GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G-3'                              | (SEQ ID NO 826) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3' | (SEQ ID NO 807) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'                                                         | (SEQ ID NO 799) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'                            | (SEQ ID NO 800) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'               | (SEQ ID NO 801) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> T <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'                 | (SEQ ID NO 802) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                              | (SEQ ID NO 803) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'              | (SEQ ID NO 804) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'              | (SEQ ID NO 805) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                | (SEQ ID NO 806) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C-3' | (SEQ ID NO 809) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G-3'                             | (SEQ ID NO 810) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A-3'                              | (SEQ ID NO 811) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C-3'                                             | (SEQ ID NO 812) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> T <sub>S</sub> <sup>m</sup> C-3'                                               | (SEQ ID NO 813) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                           | (SEQ ID NO 816) |
| 5'-GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'                                              | (SEQ ID NO 817) |
| 5'-GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                                             | (SEQ ID NO 818) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'                              | (SEQ ID NO 819) |
| 5'-GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'                             | (SEQ ID NO 820) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                            | (SEQ ID NO 821) |
| 5'-GN2-C6 caT <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> 3'    | (SEQ ID NO 822) |
| 5'-GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C-3'                                              | (SEQ ID NO 823) |
| 5'-GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A-3'                               | (SEQ ID NO 824) |

где прописные буквы означают звенья бета-D-окси-LNA; строчные буквы означают звенья ДНК; нижний индекс "s" означает фосфотиоатную связь; верхний индекс "m" означает звено ДНК или бета-D-окси-LNA, содержащее 5-метилцитозинное основание; GN2-C6 означает GalNAc2 компонент-носитель с C6 линкером. В другом воплощении олигомерный конъюгат выбран из:

|                                                                                                                                                                                                                                                                              |                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                                          | (SEQ ID NO 815) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                                                           | (SEQ ID NO 814) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                                           | (SEQ ID NO 825) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                              | (SEQ ID NO 803) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                             | (SEQ ID NO 804) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'              | (SEQ ID NO 805) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                           | (SEQ ID NO 816) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                | (SEQ ID NO 806) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                            | (SEQ ID NO 821) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3' | (SEQ ID NO 807) |
| 5'-GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'                                              | (SEQ ID NO 817) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'                | (SEQ ID NO 808) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C-3'                | (SEQ ID NO 809) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G-3'                             | (SEQ ID NO 810) |
| 5'-GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                                             | (SEQ ID NO 818) |
| 5'-GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G-3'                              | (SEQ ID NO 826) |

В другом воплощении олигомерный конъюгат выбран из:

|                                                                                                                                                                                                                                                                              |                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                                          | (SEQ ID NO 815) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                                                           | (SEQ ID NO 814) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                                           | (SEQ ID NO 825) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'                | (SEQ ID NO 808) |
| 5'-GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G-3'                              | (SEQ ID NO 826) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3' | (SEQ ID NO 807) |

В другом воплощении олигомерный конъюгат выбран из:

|                                                                                                                                                                                                                                                 |                 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                             | (SEQ ID NO 815) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                              | (SEQ ID NO 814) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                              | (SEQ ID NO 825) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3' | (SEQ ID NO 803) |

В другом воплощении олигомерный конъюгат выбран из:

- 5'- GN2-C6 caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 808)
- 5'- GN2-C6 caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>c<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>T<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C-3' (SEQ ID NO 809)
- 5'- GN2-C6 caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>c<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>T<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 810)
- 5'-GN2-C6 caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>c<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>T-3' (SEQ ID NO 818)
- 5'-GN2-C6 caG<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 821)
- 5'-GN2-C6 caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>c<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>T<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 826)
- 5'- GN2-C6 caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 807)
- 5'-GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 817)
- 5'- GN2-C6 caG<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 806)
- 5'- GN2-C6 caG<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>c<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 816)

В другом воплощении олигомерный конъюгат выбран из:

- 5'- GN2-C6 caG<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>-3' (SEQ ID NO 799)
- 5'- GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>-3' (SEQ ID NO 800)
- 5'- GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>-3' (SEQ ID NO 801)
- 5'- GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A-3' (SEQ ID NO 811)
- 5'- GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C-3' (SEQ ID NO 812)
- 5'-GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A-3' (SEQ ID NO 824)
- 5'-GN2-C6 caT<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>-3' (SEQ ID NO 822)

В другом воплощении олигомерный конъюгат выбран из:

- 5'- GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>T<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 802)
- 5'- GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>T<sub>S</sub><sup>m</sup>C-3' (SEQ ID NO 813)

В другом воплощении олигомерный конъюгат выбран из:

- 5'- GN2-C6 caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>g<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 804)
- 5'- GN2-C6 caG<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>g<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 805)

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на мотиве последовательности GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO: 13) или ее субпоследовательности.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на мотиве последовательности AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO: 20) или ее субпоследовательности.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на мотиве последовательности GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO: 11) или ее субпоследовательности.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на мотиве последовательности AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO: 26) или ее субпоследовательности.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на мотиве последовательности AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO: 18) или ее субпоследовательности.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на мотиве последовательности CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO: 7) или ее субпоследовательности.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на мотиве последовательности CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO: 9) или ее субпоследовательности.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO: 303).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO: 301).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на GCGtaaagagAGG (SEQ ID NO: 618).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на AGCgaagtgcacACG (SEQ ID NO: 310).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO: 668).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на AGCgaagtgcacaCGG (SEQ ID NO: 308).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на CGAaccactgaACA (SEQ ID NO: 297).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из, или содержит, или основан на CCGcagtatggaTCG (SEQ ID NO: 299).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из или содержит

5'- GN2-C6

caG<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 815).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из или содержит

5'- GN2-C6

caG<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G<sub>S</sub>T-3' (SEQ ID NO 814).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из или содержит

5'-GN2-C6 caG<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G-

3' (SEQ ID NO 825).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из или содержит

5'- GN2-C6

caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 808).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из или содержит

5'-GN2-C6

caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub>a<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>T<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 826).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из или содержит

5'- GN2-C6

caA<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 807).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из или содержит

5'- GN2-C6

ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>c<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A-3' (SEQ ID NO 811).

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению состоит из или содержит

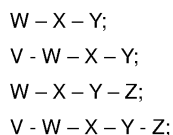
5'- GN2-C6

ca<sup>m</sup>C<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>c<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>T<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G-3' (SEQ ID NO 802).

Гэпмер.

Предпочтительно олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата по изобретению представляет собой гэпмер (иногда упоминаемый как гэпмерный олигомер). Предпочтительно олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэп, фланкированный с каждой стороны крылом, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA.

Обычно, гэпмерный олигомер по настоящему изобретению или гэпмерный олигомерный компонент олигомерного конъюгата по изобретению может быть представлен любой одной из следующих формул:



где для каждой формулы:

W представляет собой участок одного или более усиливающих аффинность нуклеотидных аналога (участок W);

X представляет собой участок, содержащий участок из нуклеотидов, способных привлекать РНКазу (участок X);

Y представляет собой участок одного или более усиливающих аффинность нуклеотидных аналогов (участок Y);

V представляет собой участок одного или более нуклеотидных звеньев (участок V);

Z представляет собой участок одного или более нуклеотидных звеньев (участок Z).

Любой из участков V, W, X, Y или Z может содержать дополнительные нуклеотиды или усиливающие аффинность нуклеотидные аналоги.

Обычно поэтому гэмперный олигомер представляет собой олигомер, который содержит непрерывный участок нуклеотидов, который способен привлекать РНКазу, такую как РНКазы H, такой как участок по меньшей мере из 6 или 7 нуклеотидов ДНК, которые представляют собой участок X; где участок X фланкирован как 5', так и 3' участками усиливающих аффинность нуклеотидных аналогов, например 5' и 3' непрерывными участками нуклеотидов из 1-6 нуклеотидных аналогов, которые способны привлекать РНКазу - данные участки представляют собой участок W и участок Y соответственно.

В некоторых воплощениях звенья, которые способны привлекать РНКазу, выбраны из группы, состоящей из звеньев ДНК, звеньев альфа-L-LNA, C4' алкилированных звеньев ДНК (см. PCT/EP2009/050349 и Vester et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008), 2296-2300, включенные в данный документ посредством ссылки), и нуклеотидов UNA (несвязанная нуклеиновая кислота) (см. Fluiterefa/., Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039, включенный в данный документ посредством ссылки). UNA представляет собой незакрытую нуклеиновую кислоту, обычно где C2-C3 C-C связь рибозы удалена, формируя незакрытый "сахарный" остаток. Предпочтительно гэмпер содержит (поли)нуклеотидную последовательность формулы (5'-3'), W-X-Y, или возможно W-X-Y-Z или V-W-X-Y, где участок W (W) (5' участок) состоит из или содержит по меньшей мере один нуклеотидный аналог, такой как по меньшей мере одно звено LNA, например 1-6 нуклеотидных аналогов, таких как звенья LNA и участок X (X) состоит из или содержит по меньшей мере пять последовательных нуклеотидов, которые способны привлекать РНКазу (в случае формирования дуплета с комплементарной молекулой РНК, такой как мРНК мишень), такой как нуклеотиды ДНК, и участок Y (Y) (3' участок) состоит из или содержит по меньшей мере один нуклеотидный аналог, такой как по меньшей мере одно звено LNA, такой как 1-6 нуклеотидных аналогов, такой как звенья LNA, и участок V (V) и/или Z (Z), когда присутствует, состоит из или содержит 1, 2 или 3 нуклеотидных звена, таких как нуклеотиды ДНК.

В некоторых воплощениях участок W состоит из 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидных аналогов, таких как звенья LNA, например 2-5 нуклеотидных аналогов, таких как 2-5 звена LNA, например 3 или 4 нуклеотидных аналога, таких как 2, 3 или 4 звена LNA.

В некоторых воплощениях участок Y состоит из 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидных аналогов, таких как звенья LNA, например 2-5 нуклеотидных аналогов, таких как 2-5 звеньев LNA, например 2, 3 или 4 нуклеотидных аналогов, таких как 3 или 4 звена LNA.

В некоторых воплощениях участок X состоит из или содержит 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 последовательных нуклеотидов, которые способны привлекать РНКазу, или 6-10 или 7-9, например 8, последовательных нуклеотидов, которые способны привлекать РНКазу.

В некоторых воплощениях участок X состоит из или содержит по меньшей мере одно нуклеотидное звено ДНК, например 1-12 звена ДНК, предпочтительно 4-12 звеньев ДНК, более предпочтительно 6-10 звеньев ДНК, например 7-10 звеньев ДНК, наиболее предпочтительно 8, 9 или 10 звеньев ДНК.

В некоторых воплощениях участок W состоит из 2, 3 или 4 нуклеотидных аналогов, таких как LNA, участок X состоит из 7, 8, 9 или 10 звеньев ДНК, и участок Y состоит из 2, 3 или 4 нуклеотидных аналогов, таких как LNA. Такой дизайн включает (W-X-Y) 3-10-3, 3-10-4, 4-10-3, 3-9-3, 3-9-4, 4-9-3, 3-8-3, 3-8-4, 4-8-3, 3-7-3, 3-7-4, 4-7-3, 3-10-2, 3-9-2, 3-8-2, 3-7-2, 4-10-2, 4-9-2, 4-8-2, 4-7-2 и может дополнительно включать участок V, который может иметь 1, 2 или 3 нуклеотидных звена, таких как звенья ДНК, и/или участок Z, который может иметь 1, 2 или 3 нуклеотидных звена, таких как звенья ДНК.

Дальнейшие дизайны гэмперов раскрыты в WO 2004/046160, который включен в данный документ посредством ссылки. WO 2008/113832, который заявляет приоритет перед предварительной заявкой на патент США 60/977,409, включенный в данный документ посредством ссылки, относится к "шортмер" (англ. - shortmer) гэмперным олигомерам. В некоторых воплощениях олигомеры, представленные в данном документе, могут представлять собой такие "шортмер" гэмперы.

В некоторых воплощениях олигомер состоит из непрерывной нуклеотидной последовательности всего из 10, 11, 12, 13 или 14 нуклеотидных звеньев, где непрерывная нуклеотидная последовательность представляет собой формулу (5'-3'), W-X-Y или возможно W-X-Y-Z или V-W-X-Y, где W состоит из 1, 2 или 3 звеньев нуклеотидных аналогов, таких как звенья LNA; X состоит из 7, 8 или 9 непрерывных нуклеотидных звеньев, которые способны привлекать РНКазу, в случае формирования дуплета с комплементарной молекулой РНК (такой как мРНК мишень); и Y состоит из 1, 2 или 3 звеньев нуклеотидных аналогов, таких как звенья LNA. В случае, когда присутствует, V состоит из 1 или 2 звеньев ДНК. В случае, когда присутствует, Z состоит из 1 или 2 звеньев ДНК.

В некоторых воплощениях W состоит из 1 звена LNA. В некоторых воплощениях W состоит из 2 звеньев LNA. В некоторых воплощениях W состоит из 3 звеньев LNA.

В некоторых воплощениях Y состоит из 1 звена LNA. В некоторых воплощениях Y состоит из 2 звеньев LNA. В некоторых воплощениях Y состоит из 3 звеньев LNA.

В некоторых воплощениях X состоит из 7 нуклеотидных звеньев. В некоторых воплощениях X состоит из 8 нуклеотидных звеньев. В некоторых воплощениях X состоит из 9 нуклеотидных звеньев. В некоторых воплощениях участок X состоит из 10 нуклеотидных звеньев. В некоторых воплощениях участок X содержит 1-10 звеньев ДНК. В некоторых воплощениях X содержит 1 - 9 звеньев ДНК, таких как 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 звеньев ДНК. В некоторых воплощениях X состоит из звеньев ДНК. В некоторых воплощениях X содержит по меньшей мере одно звено LNA, которое присутствует в альфа-L конфигурации, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 звеньев LNA в альфа-L-конфигурации. В некоторых воплощениях X содержит по меньшей мере одно альфа-L-окси звено LNA, или где все звенья LNA в альфа-L-конфигурации представляют собой альфа-L-окси звенья LNA.

В некоторых воплощениях число нуклеотидов, присутствующих в W-X-Y выбрано из группы, состоящей из (звенья нуклеотидных аналогов - участок X-звенья нуклеотидных аналогов): 1-8-1, 1-8-2, 2-8-1, 2-8-2, 3-8-3, 2-8-3, 3-8-2, 4-8-1, 4-8-2, 1-8-4, 2-8-4, или 1-9-1, 1-9-2, 2-9-1, 2-9-2, 2-9-3, 3-9-2, 1-9-3, 3-9-1, 4-9-1, 1-9-4, или 1-10-1, 1-10-2, 2-10-1, 2-10-2, 1-10-3, 3-10-1, 3-10-2, 2-10-3, 3-10-3.

В некоторых воплощениях число нуклеотидов в W-X-Y выбрано из группы, состоящей из 2-7-1, 1-7-2, 2-7-2, 3-7-3, 2-7-3, 3-7-2, 3-7-4 и 4-7-3; в некоторых воплощениях предпочтительные мотивы представляют собой 3-10-3, 3-9-3, 3-8-3, 3-8-2.

В некоторых воплощениях каждый из участков W и Y состоит из 2 или 3 звеньев LNA и участок X состоит из 8 или 9 или 10 нуклеотидных звеньев, предпочтительно звеньев ДНК.

В некоторых воплощениях как W, так и Y состоят из 2 или 3 звеньев LNA каждый и X состоит из 8 или 9 нуклеотидных звеньев, предпочтительно звеньев ДНК.

В различных воплощениях другие дизайны гзпмеров включают таковые, где участки W и/или Y состоят из 3, 4, 5 или 6 нуклеотидных аналогов, таких как звенья, содержащие сахар 2'-О-метоксиэтилрибозу (2'-МОЕ) или звенья, содержащие сахар 2'-фтор-дезоксирибозу, и участок X состоит из 8, 9, 10, 11 или 12 нуклеотидов, таких как звенья ДНК, где участки W-X-Y имеют 3-9-3, 3-10-3, 5-10-5 или 4-12-4 звена.

Дальнейшие дизайны гзпмеров раскрыты в WO 2007/146511A2, включенный в данный документ посредством ссылки.

Соответственно, олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать по меньшей мере 1, по меньшей мере 2 или по меньшей мере 3 модифицированных нуклеотида на 5'-конце вышеупомянутых последовательностей. Например, один или более предпочтительно всех модифицированных нуклеотидов могут представлять собой звенья LNA.

Олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать по меньшей мере 1, по меньшей мере 2 или по меньшей мере 3 модифицированных нуклеотида на 3'-конце вышеупомянутых последовательностей. Например, один или более предпочтительно все модифицированные нуклеотиды могут представлять собой звенья LNA.

Олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать по меньшей мере 1, по меньшей мере 2 или по меньшей мере 3 модифицированных нуклеотида на 5'- и/или 3'-конце последовательностей, раскрытых в данном документе. Например, один или более предпочтительно все модифицированные нуклеотиды могут представлять собой звенья LNA.

В конкретных воплощениях олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать по меньшей мере 2 или по меньшей мере 3 модифицированных нуклеотида на 5'- и/или 3'-конце последовательностей, раскрытых в данном документе. Например, два или более, предпочтительно все, нуклеотида могут представлять собой звенья LNA.

В конкретных воплощениях олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать по меньшей мере 3 модифицированных нуклеотида на 5'- и/или 3'-конце последовательностей, раскрытых в данном документе. Например, три или более, предпочтительно все, модифицированные нуклеотиды могут представлять собой звенья LNA.

Для конкретных воплощений олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать 2 модифицированных нуклеотида на 5'- и/или 3'-конце последовательности, раскрытой в данном документе. Например, модифицированные нуклеотиды могут представлять собой звенья LNA.

Для конкретных воплощений олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать 3 модифицированных нуклеотида на 5'- и на 3'-конце последовательности, раскрытой в данном документе. Например, один или более, предпочтительно все, модифицированный нуклеотид могут представлять собой звенья LNA.

Для некоторых воплощений олигомер может содержать дополнительный динуклеотидный мотив CA.

В конкретных аспектах предпочтительно олигомер не является GAGGCATAGCAGCAGG (SEQ ID NO: 102).

Для конкретных воплощений изобретения олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит любой из мотивов: 2-8-2, 3-8-3, 2-8-3, 3-8-2, 2-9-2, 3-9-3, 2-9-3, 3-9-2, 2-10-2, 3-10-3, 3-10-2, 2-10-3, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла LNA, второе число представляет собой число нуклеотидов в гзп участке и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла LNA.

Для конкретных воплощений изобретения олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать любой из мотивов: 3-8-3, 3-8-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-10-3, 3-10-2, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла LNA, второе число представляет собой число нуклеотидов в гзп участке и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла LNA.

Для конкретных воплощений изобретения предлагает олигомер или олигомерный конъюгат, как определено в данном документе, где олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата является гзпмером, и где вся последовательность содержит по меньшей мере 6, предпочтительно по меньшей мере 7, предпочтительно по меньшей мере 8, предпочтительно по меньшей мере 9, предпочтительно по меньшей мере 10 звеньев, предпочтительно по меньшей мере 11 звеньев, предпочтительно по меньшей мере 12 звеньев, которые являются по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентичными участку, соответствующему части гена HBx HBV, такому как часть SEQ ID NO: 1, или части гена HBsAg, такой как SEQ ID NO: 2, или обратно комплементарны целевому участку нуклеиновой кислоты, который кодирует HBx HBV или HBsAg HBV.

Для конкретных воплощений изобретения предлагает олигомер или олигомерный конъюгат, как определено в данном документе, где олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата представляет собой гзпмер и где последовательность центрального участка содержит по меньшей мере 6, предпочтительно по меньшей мере 7, предпочтительно по меньшей мере 8, предпочтительно по меньшей мере 9, предпочтительно по меньшей мере 10 звеньев, которые по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентичны участку, соответствующему части гена HBx HBV, такой как часть SEQ ID NO: 1, или части гена HBsAg, такой как SEQ ID NO: 2, или обратно комплементарной последовательности целевого участка нуклеиновой кислоты, который кодирует HBx HBV или HBsAg HBV.

Для конкретных воплощений изобретения олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может быть основан на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8);  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9);  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15);  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834),

где 1, 2, 3 или 4 из трех-четырех 5' терминальных нуклеотидов являются модифицированными нуклеотидами, например, звеньями LNA; и 1, 2, 3 или 4 из трех-четырех 3' терминальных нуклеотидов являются модифицированными нуклеотидами, например, звеньями LNA.

Для конкретных воплощений изобретения олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может быть основан на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8)  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9)  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15)  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834),

где 2 или 3 из трех 5' терминальных нуклеотидов, например звеньев LNA;

2 или 3 из трех 3' терминальных нуклеотидов являются модифицированными нуклеотидами, например звеньями LNA.

Для конкретных воплощений изобретения олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может быть основан на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8)  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9)  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15)  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834),

где три 5' терминальных нуклеотида являются модифицированными нуклеотидами, например звеньями LNA;

2 или 3 из трех 3' терминальных нуклеотидов являются модифицированными нуклеотидами, например, звеньями LNA.

Для конкретных воплощений изобретения олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может быть основан последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой одной



или более:

GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO 303);  
 GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO 301);  
 GCGtaaagagAGG (SEQ ID NO 618);  
 AGCgaagtgacACG (SEQ ID NO 310)  
 AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO 668);  
 AGCgaagtcacaCGG (SEQ ID NO 308);  
 CGAaccactgaACA (SEQ ID NO 297);  
 CGCagtatggaTC (SEQ ID NO 300);  
 AGGtgaagcgaagTGC (SEQ ID NO 315)  
 AGGtgaagcgaaGTG (SEQ ID NO 316);  
 GAAccactgaacAAA (SEQ ID NO 294);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 295);  
 CGAaccactgaaCAA (SEQ ID NO 296);  
 CGAaccactgaAC (SEQ ID NO 298);  
 CCGcagtatggaTCG (SEQ ID NO 299);  
 CGCgtaaagagaGGT (SEQ ID NO 302);  
 AGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 304);  
 GAGaaggcacagaCGG (SEQ ID NO 305);  
 GAAgtgcacacGG (SEQ ID NO 306);  
 GCGaagtcacaCGG (SEQ ID NO 307);  
 CGAagtcacaCG (SEQ ID NO 309);  
 GAAccactgaaCAAA (SEQ ID NO 585);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 588)  
 GAAgtgcacaCGG (SEQ ID NO 628);  
 TAGtaactgagCCA (SEQ ID NO 678);  
 CGAaccactgAAC (SEQ ID NO 600);  
 AGGtgaagcgaAGT (SEQ ID NO 317); и  
 CGAaccactgAACA (SEQ ID NO 597),

где прописные буквы означают нуклеотиды, которые могут быть модифицированными нуклеотидами, например, звеньями LNA.

Для конкретных воплощений изобретения олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может быть основан на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой одной или более:

|                                                                                                                                                                                                                                                                             |                 |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 5'- AM-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                           | (SEQ ID NO 303) |
| 5'- AM-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                                            | (SEQ ID NO 301) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                            | (SEQ ID NO 618) |
| 5'- AM-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'                | (SEQ ID NO 310) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G-3'                              | (SEQ ID NO 668) |
| 5'- AM-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3' | (SEQ ID NO 308) |
| 5'- AM-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'                                          | (SEQ ID NO 294) |
| 5'- AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'             | (SEQ ID NO 295) |

|                                                                                                                                                                                                                                                                           |                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> a <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A-3'                             | (SEQ ID NO 296) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> t <sub>s</sub> a <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> T <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G-3' | (SEQ ID NO 299) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> g <sub>s</sub> t <sub>s</sub> a <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T-3'                             | (SEQ ID NO 302) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> g <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                            | (SEQ ID NO 304) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> g <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                            | (SEQ ID NO 305) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                              | (SEQ ID NO 307) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> <sup>m</sup> c <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C-3'               | (SEQ ID NO 315) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> <sup>m</sup> c <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> a <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G-3'                                           | (SEQ ID NO 316) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A-3'                             | (SEQ ID NO 297) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C-3'                                            | (SEQ ID NO 298) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> t <sub>s</sub> a <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> T <sub>s</sub> <sup>m</sup> C-3'                               | (SEQ ID NO 300) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> g <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> <sup>m</sup> c <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                                                          | (SEQ ID NO 306) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G-3'                                            | (SEQ ID NO 309) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> <sup>m</sup> c <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T-3'                                                          | (SEQ ID NO 317) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> c <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> a <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A-3'                            | (SEQ ID NO 585) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> c <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A-3'                           | (SEQ ID NO 588) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> g <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                                                          | (SEQ ID NO 628) |
| 5'-AM-C6 caT <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> t <sub>s</sub> a <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> a <sub>s</sub> g <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> 3'                 | (SEQ ID NO 678) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C-3'                                                           | (SEQ ID NO 600) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> c <sub>s</sub> a <sub>s</sub> c <sub>s</sub> t <sub>s</sub> g <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A-3'                             | (SEQ ID NO 597) |

где прописные буквы означают звенья бета-D-окси-LNA;

строчные буквы означают звенья ДНК;

нижний индекс "s" означает фосфоротиоатную связь;

верхний индекс "m" означает звено ДНК или бета-D-окси-LNA, содержащее 5-метилцитозинное основание;

AM-C6 представляет собой amino-C6 линкер; где 5' терминальная группа "AM-C6 ca" является дополнительной.

AM-C6 представляет собой amino-C6 линкер: 6-аминогексанол в 5'-конце олигонуклеотида, связанного через фосфодисложный эфир или фосфоротиоат Соответственно, для конкретных воплощений изобретения, олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может быть основан на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой одной или более:

<sup>m</sup>G<sup>m</sup>CGtaaagagaGG (SEQ ID NO 303);  
<sup>m</sup>G<sup>m</sup>CGtaaagagaGGT (SEQ ID NO 301);  
<sup>m</sup>G<sup>m</sup>CGtaaagagAGG (SEQ ID NO 618);  
<sup>m</sup>AG<sup>m</sup>CgaagtgcacA<sup>m</sup>CG (SEQ ID NO 310)  
<sup>m</sup>AGgtgaag<sup>m</sup>cgaAGTG (SEQ ID NO 668);  
<sup>m</sup>AG<sup>m</sup>Cgaagtgcaca<sup>m</sup>CGG (SEQ ID NO 308);  
<sup>m</sup>CGAaccactgaA<sup>m</sup>CA (SEQ ID NO 297);  
<sup>m</sup>CG<sup>m</sup>CagtatggaT<sup>m</sup>C (SEQ ID NO 300);  
<sup>m</sup>AGGtgaagcgaagTGC (SEQ ID NO 315);  
<sup>m</sup>AGGtgaag<sup>m</sup>cgaagGTG (SEQ ID NO 316);  
<sup>m</sup>GAAccactgaacAAA (SEQ ID NO 294);  
<sup>m</sup>CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 295);  
<sup>m</sup>CGAaccactgaa<sup>m</sup>CAA (SEQ ID NO 296);  
<sup>m</sup>CGAaccactgaA<sup>m</sup>C (SEQ ID NO 298);  
<sup>m</sup>C<sup>m</sup>CGcagtatggaT<sup>m</sup>CG (SEQ ID NO 299);  
<sup>m</sup>CG<sup>m</sup>CgtaaagagaGGT (SEQ ID NO 302);  
<sup>m</sup>AGAaggcacaga<sup>m</sup>CGG (SEQ ID NO 304);  
<sup>m</sup>GAGaaggcacaga<sup>m</sup>CGG (SEQ ID NO 305);  
<sup>m</sup>GAAgtgcaca<sup>m</sup>cGG (SEQ ID NO 306);  
<sup>m</sup>G<sup>m</sup>Cgaagtgcaca<sup>m</sup>CGG (SEQ ID NO 307);  
<sup>m</sup>CGAagtgcaca<sup>m</sup>CG (SEQ ID NO 309);  
<sup>m</sup>GAAccactgaa<sup>m</sup>CAAA (SEQ ID NO 585);  
<sup>m</sup>CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 588)  
<sup>m</sup>GAAgtgcaca<sup>m</sup>CGG (SEQ ID NO 628);  
<sup>m</sup>TAGtaaactgag<sup>m</sup>C<sup>m</sup>CA (SEQ ID NO 678);  
<sup>m</sup>CGAaccactgAA<sup>m</sup>C (SEQ ID NO 600);  
<sup>m</sup>AGGtgaag<sup>m</sup>cgaAGT (SEQ ID NO 317); и  
<sup>m</sup>CGAaccactgAA<sup>m</sup>CA (SEQ ID NO 597),

где прописные буквы обозначают звенья бета-D-окси-LNA;  
 строчные буквы обозначают звенья ДНК;  
 все межнуклеозидные связи представляют собой фосфоротиоатные связи;  
 верхний индекс " m" обозначает звено ДНК или бета-D-окси-LNA, содержащей 5-метилцитозинное основание.

В конкретных предпочтительных аспектах олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит любой один из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число модифицированных нуклеотидов в участке крыла, предпочтительно по меньшей мере один, являющийся звеном LNA, предпочтительно все, являющиеся звеном LNA, второе число представляет собой число нуклеотидов в гзп участке, и третье число представляет собой число модифицированных нуклеотидов в участке крыла, предпочтительно по меньшей мере один, являющийся звеном LNA, предпочтительно по меньшей мере все, являющиеся звеном LNA.

Как указано, олигомер по изобретению может содержать или может представлять собой гзпмер. Альтернативно, гзпмерный олигомер представляет собой олигомер, содержащий непрерывный участок нуклеотидов, способных привлекать РНКазу, такую как РНКазу H, например участок по меньшей мере 6 или 7 нуклеотидов ДНК, именуемый в данном документе участок GH (GH), где участок GH как с 5', так и с 3' фланкирован участками усиливающих аффинность нуклеотидных аналогов, такими как 1-6 нуклеотидных аналога 5' и 3' к непрерывному участку нуклеотидов, которые способны привлекать РНКазу - данные участки, рассматриваемые как участки GX' (GX') и GZ' (GZ').

Участки GX, GH и GZ соответствуют участкам W, X и Y соответственно.

В некоторых воплощениях звенья, которые способны привлекать РНКазу, выбраны из группы, состоящей из звеньев ДНК, звеньев альфа-L-LNA, C4' алкилированных звеньев ДНК (см. PCT/EP2009/050349 и Vester et al., Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008), 2296-2300, включенный в данный документ посредством ссылки), и нуклеотидов UNA (несвязанной нуклеиновой кислоты) (см. Fluiter et al., Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039, включенный в данный документ посредством ссылки). UNA представляет собой незакрытую нуклеиновую кислоту, обычно где C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> C-C связь рибозы удалена, формируя незакрытый "сахарный" остаток. Предпочтительно гзпмер содержит (поли)нуклеотидную последовательность формулы (5'-3'), GX'-GH-GZ', где участок GX' (GX') (5' участок) состоит из или содержит по меньшей мере один нуклеотидный аналог, такой как по меньшей мере одно звено BNA (например, LNA), на-

пример, 1-6 нуклеотидных аналогов, таких как звенья BNA (например, LNA), и участок GH (H) состоит из или содержит по меньшей мере пять последовательных нуклеотидов, способных привлекать РНКазу (в случае формирования дуплета с комплементарной молекулой РНК, такой как мРНК мишень), таких как нуклеотиды ДНК, и участок GZ' (GZ') (3' участок) состоит из или содержит по меньшей мере один нуклеотидный аналог, такой как по меньшей мере одно звено BNA (например звено LNA), например, 1-6 нуклеотидных аналога, таких как звенья BNA (например, LNA).

В некоторых воплощениях участок GX' состоит из 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидных аналогов, таких как звеньев BNA (например, LNA), например 2-5 нуклеотидных аналога, таких как 2-5 звена LNA, например 3 или 4 нуклеотидных аналога, таких как 3 или 4 звена LNA; и/или участок GZ' состоит из 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидных аналогов, таких как звенья BNA (например, LNA), например 2-5 нуклеотидных аналогов, таких как 2-5 BNA (например, звеньев LNA), например 3 или 4 нуклеотидных аналогов, таких как 3 или 4 звена BNA (например, LNA).

В некоторых воплощениях GH состоит из или содержит 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 последовательных нуклеотидов, способных привлекать РНКазу или 6-10, или 7-9, например 8, последовательных нуклеотидов, способных привлекать РНКазу. В некоторых воплощениях участок GH состоит из или содержит по меньшей мере одно нуклеотидное звено ДНК, например 1-12 звеньев ДНК, предпочтительно 4-12 звеньев ДНК, более предпочтительно 6-10 звеньев ДНК, например 7-10 звеньев ДНК, наиболее предпочтительно 8, 9 или 10 звеньев ДНК.

В некоторых воплощениях участок GX' состоит из 3 или 4 нуклеотидных аналогов, таких как BNA (например, LNA), участок X' состоит из 7, 8, 9 или 10 звеньев ДНК и участок Z' состоит из 3 или 4 нуклеотидных аналогов, таких как BNA (например, LNA). Такие дизайны включают (GX'-GH-GZ') 3-10-3, 3-10-4, 4-10-3, 3-9-3, 3-9-4, 4-9-3, 3-8-3, 3-8-4, 4-8-3, 3-7-3, 3-7-4, 4-7-3.

В некоторых воплощениях олигомер, например, участок GX', состоит из непрерывной последовательности нуклеотидов всего из 10, 11, 12, 13 или 14 нуклеотидных звеньев, где непрерывная нуклеотидная последовательность содержит или представляет собой формулу (5'-3'), GX'-GH-GZ', где GX' состоит из 1, 2 или 3 звеньев нуклеотидных аналогов, таких как BNA (например, LNA); GH состоит из 7, 8 или 9 непрерывных нуклеотидных звеньев, способных привлекать РНКазу, в случае формирования дуплета с комплементарной молекулой РНК (такой как мишень мРНК); и GZ' состоит из 1, 2 или 3 звеньев нуклеотидных аналогов, таких как звеньев BNA (например, LNA).

В некоторых воплощениях GX' состоит из 1 звена BNA (например, LNA). В некоторых воплощениях GX' состоит из 2 звеньев BNA (например, LNA). В некоторых воплощениях GX' состоит из 3 звеньев BNA (например, LNA). В некоторых воплощениях GZ' состоит из 1 звена BNA (например, LNA). В некоторых воплощениях GZ' состоит из 2 звеньев BNA (например, LNA). В некоторых воплощениях GZ' состоит из 3 звеньев BNA (например, LNA). В некоторых воплощениях GH состоит из 7 нуклеотидных звеньев. В некоторых воплощениях GH состоит из 8 нуклеотидных звеньев. В некоторых воплощениях GH состоит из 9 нуклеотидных звеньев. В некоторых воплощениях участок GH состоит из или содержит 1-10 звеньев ДНК. В некоторых воплощениях GH содержит 1-9 звеньев ДНК, например 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 звеньев ДНК. В некоторых воплощениях GH состоит из звеньев ДНК. В некоторых воплощениях GH содержит по меньшей мере одно звено BNA, которое может быть в альфа-L-конфигурации, например 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 звеньев LNA в альфа-L-конфигурации. В некоторых воплощениях GH содержит по меньшей мере одно звено альфа-L-окси BNA/LNA или все звенья LNA в альфа-L-конфигурации представляют собой звенья альфа-L-окси LNA. В некоторых воплощениях число нуклеотидов, присутствующих в GX'-GH-GZ', выбрано из группы, состоящей из (звенья нуклеотидных аналогов - участок GH - звенья нуклеотидных аналогов): 1-8-1, 1-8-2, 2-8-1, 2-8-2, 3-8-3, 2-8-3, 3-8-2, 4-8-1, 4-8-2, 1-8-4, 2-8-4, или 1-9-1, 1-9-2, 2-9-1, 2-9-2, 2-9-3, 3-9-2, 1-9-3, 3-9-1, 4-9-1, 1-9-4, или 1-10-1, 1-10-2, 2-10-1, 2-10-2, 1-10-3, 3-10-1. В некоторых воплощениях число нуклеотидов в GX'-GH-GZ' выбрано из группы, состоящей из 2-7-1, 1-7-2, 2-7-2, 3-7-3, 2-7-3, 3-7-2, 3-7-4 и 4-7-3. В конкретных воплощениях каждый из участков GX' и GH состоит из трех звеньев BNA (например, LNA) и участок GH состоит из 8, или 9, или 10 нуклеозидных звеньев, предпочтительно звеньев ДНК. В некоторых воплощениях как GX', так и GZ' состоит из двух звеньев BNA (например, LNA) каждое и GH состоит из 8 или 9 нуклеотидных звеньев, предпочтительно звеньев ДНК. В различных воплощениях другие дизайны гэтмеров включают таковые, где участок GX' и/или GZ состоит из 3, 4, 5 или 6 нуклеозидных аналогов, таких как звенья, содержащие 2'-О-метоксиэтил-рибозу (2'-МОЕ) или звенья, содержащие 2'-фтор-дезоксирибозу и участок H состоит из 8, 9, 10, 11 или 12 нуклеозидов, таких как звенья ДНК, где участки GX'-GH-GZ' имеют 3-9-3, 3-10-3, 5-10-5 или 4-12-4 звеньев.

BNA и LNA гэтмеры.

Термины BNA и LNA взаимозаменяемы. Гэтмер BNA представляет собой гэтмерный олигомер (участок GA), содержащий по меньшей мере один нуклеотид BNA. LNA гэтмер представляет собой гэтмерный олигомер (участок GA), содержащий по меньшей мере один нуклеотид LNA.

Межнуклеотидные связи.

Звенья олигомеров и олигомерных конъюгатов, описанных в данном документе, соединены вместе через связующие группы. Приемлемо, каждое звено связано с 3' прилегающего звена через связующую

группу.

Специалистам в области техники будет понятно, что в контексте настоящего изобретения 5' звено на конце олигомера не содержит 5' связующую группу, хотя оно может содержать или не содержать 5' терминальную группу.

Нуклеотиды олигомера по изобретению или его непрерывная нуклеотидная последовательность соединены вместе через связующие группы. Соответственно каждый нуклеотид связан с 3' прилегающим нуклеотидом через связующую группу.

Возможно, олигонуклеотид по изобретению или олигонуклеотидный конъюгат по изобретению может содержать одну или более линкерную группу и/или один или более ветвящийся участок. В различных воплощениях линкерные группы представляют собой межнуклеозидные или межнуклеотидные связи.

Приемлемые межнуклеотидные связи включают таковые, приведенные в WO 2007/031091, например межнуклеотидные связи, приведенные в первом абзаце с. 34 WO 2007/031091 (включенного в данный документ посредством ссылки).

Для некоторых воплощений предпочтительно модифицировать межнуклеотидную связь из нормальной фосфодисложноэфирной до таковой более устойчивой к воздействию нуклеазы, такой как фосфоротиаатная или боранофосфатная - эти две связи, расщепляемые РНКазой H, также делают возможным антисмысловое ингибирование при снижении экспрессии целевого гена.

Приемлемые предложенные в данном документе серосодержащие (S) межнуклеотидные связи могут быть предпочтительны. Фосфоротиаатные межнуклеотидные связи также предпочтительны, в частности, для гэл участка (X) гэлмеров. Фосфоротиаатные связи могут также быть применены для фланкирующих участков (W и Y, и для связи W или Y с V или Z, и внутри участка V или участка Z, при необходимости).

Участки W, X и Y могут, однако, содержать межнуклеотидные связи другие, чем фосфоротиаат, такие как фосфодисложноэфирные связи, в частности, например, в случае применения нуклеотидных аналогов, защищающих межнуклеотидные связи внутри участков W и Y от эндонуклеазной деградации, такой как в случае с участками W и Y, содержат нуклеотиды LNA.

Межнуклеотидные связи в олигомере могут представлять собой фосфодисложный эфир, фосфоротиаат или боранофосфат, так что делает возможным расщепление целевой РНК РНКазой H. Фосфоротиаат предпочтителен для улучшенной нуклеазной устойчивости и по другим причинам, таким как легкость производства.

В одном аспекте олигомера по изобретению нуклеотиды и/или нуклеотидные аналоги связаны друг с другом посредством фосфоротиаатных групп.

Следует понимать, что включение фосфодисложноэфирных связей, например одной или двух связей, в другой фосфоротиаатный олигомер, особенно между или прилекая к звеньям нуклеотидных аналогов (обычно в участке W и/или Y) может модифицировать биодоступность и/или биораспределение олигомера - см. WO 2008/113832, включенного в данный документ посредством ссылки.

В некоторых воплощениях, упомянутых выше, где соответственно и не специфично указано, все оставшиеся связующие группы являются или фосфодисложноэфирными, или фосфоротиаатными, или их смесью.

В некоторых воплощениях все межнуклеотидные связующие группы являются фосфоротиаатом.

В случае ссылки на специфичные гэлмерные олигонуклеотидные последовательности, как любые из таковых специфичных последовательностей, предложенных в данном документе, следует понимать, что в различных воплощениях в случае, когда связи являются фосфоротиаатными связями, альтернативные связи, такие как таковые, раскрытые в данном документе, могут быть применены, например фосфатные (фосфодисложноэфирные) связи могут быть применены, в частности связи между нуклеотидными аналогами, такими как звенья LNA. Аналогично, в случае ссылки на специфичные гэлмерные олигонуклеотидные последовательности, такие как любые из таковых специфичных последовательностей, предложенных в данном документе, в случае когда остатки C аннотированы как 5' метил-модифицированный цитозин, в различных воплощениях, один или более C, присутствующих в олигомере, может представлять собой немодифицированные остатки C.

WO 09/124238 относится к олигомерным соединениям, обладающим по меньшей мере одним бициклическим нуклеозидом, прикрепленным к 3' или 5' терминальному концу за счет нейтральной межнуклеозидной связи. Олигомеры по изобретению могут, таким образом, иметь по меньшей мере один бициклический нуклеозид, прикрепленный к 3' или 5' терминальному концу за счет нейтральной межнуклеозидной связи, такой как один или более фосфодисложный эфир, метилфосфонат, MMI, амид-3, формацеталь или тиоформацеталь. Оставшиеся связи могут представлять собой фосфоротиаат.

Носитель.

В некоторых воплощениях олигомер по настоящему изобретению связан с одним или более компонентом-носителем, который может быть одним и тем же или различным.

В некоторых воплощениях олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

Компонент-носитель - L-первый олигомерный участок,

где L представляет собой дополнительный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу. Предпочтительно L выбран из физиологически лабильного линкера (участок PL), или альтернативного линкера (участок E), или комбинации обоих.

Первый олигомерный участок может быть связан с линкером или носителем через 5'-конец следующим образом:

Компонент-носитель - L1 - первый олигомерный участок,

где L1 представляет собой дополнительный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу; или

Альтернативно первый олигомерный участок может быть связан с линкером или носителем через 3'-конец, следующим образом:

Первый олигомерный участок - L2 - компонент-носитель,

где L2 представляет собой дополнительный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу.

Для конкретных воплощений предпочтительно олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

Компонент-носитель - L1 - первый олигомерный участок,

где L1 представляет собой дополнительный линкер.

Для конкретных воплощений предпочтительно присутствует линкер 1.

Для конкретных воплощений предпочтительно упомянутый компонент-носитель связан, предпочтительно конъюгирован с упомянутым олигомерным участком.

Для конкретных воплощений предпочтительно упомянутый компонент-носитель связан, предпочтительно конъюгирован с 5'-концом упомянутого олигомера.

Для конкретных воплощений предпочтительно упомянутый компонент-носитель связан, предпочтительно конъюгирован с 5'-концом упомянутого олигомера посредством линкерной группы или ветвящего участка или связывающей молекулы или мостиковой группы.

Для конкретных воплощений предпочтительно линкерная группа или ветвящийся участок представляют собой физиологически лабильную линкерную группу или физиологически лабильный ветвящийся участок или физиологически лабильную связывающую молекулу или физиологически лабильную мостиковую группу.

Для конкретных воплощений предпочтительно физиологически лабильная линкерная группа представляет собой линкер, чувствительный к нуклеазе, предпочтительно фосфодисложноэфирный линкер.

Для конкретных воплощений предпочтительный L1 линкер состоит из физиологически лабильного линкера и C<sub>2</sub>-C<sub>36</sub> аминоалкильной группы, включая, например, C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> аминоалкильные группы. В предпочтительном воплощении линкер L1 состоит из линкера PO и C<sub>6</sub> амиолинкера.

В некоторых воплощениях компонент-носитель выбран из карбогидратного конъюгата или липофильного конъюгата или компонент-носитель содержит как карбогидратный, так и липофильный конъюгаты.

Карбогидратная конъюгирующая группа может быть выбрана, например, из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина, N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина и N-изобутаноилгалактозамина. Предпочтительно карбогидратная конъюгирующая группа представляет собой конъюгирующую группу, нацеленную на асиалогликопротеиновый рецептор. Липофильный конъюгат может представлять собой гидрофобную группу, такую как C<sub>16</sub>-20 гидрофобную группу, стерол, холестерол. Другие карбогидратные и липофильные группы, которые могут быть применены, представляют собой, например, раскрытое в данном документе.

Для некоторых воплощений олигомер может содержать дополнительный динуклеотидный мотив SA. Предпочтительно в контексте олигомерного конъюгата, мотив SA расположен между компонентом-носителем и олигомером. Мотив SA предпочтительно содержит фосфодисложноэфирную связь и служит в качестве PO линкера между олигомером и компонентом-носителем.

Вирус гепатита В (HBV).

Предполагается, что все олигомеры и олигомерные конъюгаты, описанные в данном документе, могут быть применены для лечения вирусного заболевания, в частности заболевания, ассоциированного с HBV. Такие применения формируют часть настоящего изобретения.

Предполагается, что все олигомеры и олигомерные конъюгаты, описанные в данном документе, могут быть применены при производстве лекарственного препарата для лечения вирусного заболевания, в частности заболевания, ассоциированного с HBV. Такие применения формируют часть настоящего изобретения.

Предполагается, что все олигомеры и олигомерные конъюгаты, описанные в данном документе, могут быть введены субъекту как часть способа для облегчения, устранения или лечения вирусного заболевания, в частности заболевания, ассоциированного с HBV. Такие способы формируют часть настоящего изобретения.

Предполагается, что все олигомеры или олигомерные конъюгаты, описанные в данном документе, могут составлять часть фармацевтической композиции для лечения вирусного заболевания, в частности

заболевания, ассоциированного с HBV. Такие фармацевтические композиции формируют часть настоящего изобретения.

Вирус гепатита В (HBV) является видом рода *Orthohepadnavirus*, который является частью семейства *Нераднаviridae*. Вирус вызывает заболевание гепатитом В. Помимо гепатита, инфицирование HBV может приводить к циррозу и гепатоклеточной карциноме. Также показано, что оно может повышать риск рака печени.

Вирус делят на четыре основных серотипа (adr, adw, ayw, ayw) на основании антигенных эпитопов, представленных на его белках оболочки, или на восемь генотипов (A-H) согласно всем вариациям нуклеотидной последовательности генома. Генотипы имеют различное географическое распределение, и различия между генотипами влияют на сложность заболевания, направление и вероятность осложнений, и ответ на лечение и возможно вакцинацию. Генотипы различаются по меньшей мере на 8%. Тип F, который отличается от других геномов на 14%, является наиболее дивергентным типом из известных. Тип A преобладает в Европе, африке и Юго-Восточной Азии, включая Филиппины. Типы В и С преобладают в Азии; тип D наиболее распространен в районе Средиземноморья, среднем Востоке и Индии; тип Е локализован в странах Африки к югу от Сахары; тип Е (илиН) ограничен Центральной и Южной Америкой. Тип G обнаруживают во Франции и Германии. Генотипы А, D и F преобладают в Бразилии, и все генотипы встречаются в Соединенных штатах с частотами в зависимости от этнической принадлежности.

HBV обладает геномом из кольцевой ДНК, однако ДНК не является полностью двухцепочечной, поскольку на одном конце полноразмерной цепи связана с вирусной ДНК полимеразой. Геном имеет в длину 3020-3320 нуклеотидов (для полноразмерной цепи) и 1700-2800 нуклеотидов (для короткой цепи).

Существуют четыре известных гена, кодируемых геномом HBV (С, Р, S и Х). Ген С кодирует белок кора (HBsAg), и его старт-кодону предшествует расположенный выше AUG старт-кодон, с которого образуется пре-белок кора. HBsAg образуется посредством протеолиза пре-белка кора. Ген Р кодирует ДНК полимеразу.

HBx.

Полипептид HBx представляет собой белок из 154 остатков, который влияет на транскрипцию, сигнальную трансдукцию, прогресс клеточного цикла, белковую деградацию, апоптоз и хромосомную стабильность у хозяина. Он формирует гетеродимерный комплекс со своим клеточным целевым белком (HBX взаимодействующий белок: HBXIP), и данное взаимодействие нарушает динамику centrosомы и образование митотического веретена. Он взаимодействует с DDB1 (белок 1, связывающийся с поврежденной ДНК), перенаправляя активность убихитин-лигазы комплексов CUL4-DDB1 E3, которые тесно вовлечены во внутриклеточную регуляцию репликации и репарации ДНК, транскрипцию и сигнальную трансдукцию.

Хотя полипептид утратил существенную идентичность последовательности с каким-либо известным белком позвоночных, он, вероятно, должен был развиваться из ДНК гликозилазы. У трансгенных мышей, экспрессирующих Х белок в печени, с большей вероятностью, чем у дикого типа, развивается гепатоклеточная карцинома. Поскольку белок Х обеспечивает развитие клеточного цикла, несмотря на связывание с и ингибирование функции белка опухолевого супрессора p53. Экспериментальные наблюдения также подтверждают, что белок HBx повышает TERT и теломеразную активность, продлевая срок жизни гепатоцитов и способствуя злокачественной трансформации.

В исследовании выделенных раковых клеток печени, инфицированных HBV, уровень экспрессии белка аргинин метилтрансферазы 1 (PRMT1) был ассоциирован с изменениями в транскрипции из-за метилтрансферазной функции PRMT1. Повышенная экспрессия вызывает снижение числа транскрибируемых генов HBV, в то же время наоборот, пониженная экспрессия вызывает повышение. Для PRMT1 также обнаружено, что он рекрутируется (привлекается) ДНК HBV во время репликации для регуляции процесса транскрипции. Повышенная экспрессия HBx, напротив, приводит к ингибированию PRMT1-опосредованного метилирования белка, давая преимущество вирусной репликации.

Последовательность-мишень HBx содержит последовательности, начиная с первого описанного сайта инициации транскрипции в позиции 1196 до сайта полиаденилирования в позиции 1941. Последовательность от позиции 1196 до 1941 последовательности U95551 представлена в виде SEQ ID NO: 1. Последовательность U95551 представлена в виде SEQ ID NO: 3.

HBsAg.

HBsAg (также известный как основной поверхностный антиген, основной поверхностный антиген HBV, основной поверхностный антиген HBV и 'S') представляет собой поверхностный антиген HBV.

Ген S представляет собой ген, кодирующий поверхностный антиген (HBsAg). Ген HBsAg является одной длинной открытой рамкой считывания, но содержит в рамке три "старт-кодона" (ATG), которые разделяют ген на три части пре-S1, пре-S2 и S. Учитывая множество старт-кодонов, образуются полипептиды трех различных размеров, называемые большой, средний и малый (пре-S1 + пре-S2 + S, пре-S2 + S, или S).

HBsAg кодирует три гликопротеина. Белки транслируются в одной и той же рамке считывания, но начиная с различных старт-кодонов AUG; таким образом, все имеют одинаковый С-конец. Наибольшим

белком является белок L (42 кДа), внутри которого заключен гликопротеин. Гликопротеин S (27 кДа) заключен внутри белка М. Белок HBsAg также секретируется в сыворотке пациентов, где он может быть обнаружен в виде сферических (в основном самоассоциированный белок S) или филаментных частиц (также в основном белок S, но с некоторым L и М). Образование является меньшим, чем реальный вирус, но филаменты могут быть довольно большими (несколько сотен нанометров).

S-HBsAg составляет в длину 226 аминокислотных остатков. Он представляет собой интегральный мембранный гликопротеин, который закорен в липидном бислое ЭР через аминотерминальный транс-мембранный домен (TMD-I) между остатками 4 и 24. Он содержит нижерасположенную цитозольную петлю (CYL-I) между остатками 24 и 80, второй трансмембранный домен (TMD-II) между остатками 80 и 100 и антигенную петлю (AGL), охватывающую остатки 101-164, обращенные в полость ЭР (или поверхности экстрацеллюлярных частиц). Карбоксильный конец (остатки 165-226) содержит два TMD (TMD-III и -IV), расположенных в позициях 173-193 и 202-222 соответственно, разделенных короткой последовательностью (остатки 194-201), упоминаемой в данном документе как цитозольная петля II (CYL-II), поскольку она предположительно представляет собой остаток на цитозольной стороне мембраны ЭР. Последовательность белка М-HBsAg является более длинной, чем таковая S-HBsAg на 55 остатков (пре-S2 домен) на amino-терминальном конце; она объединена с последней в вирусной оболочке, но является необязательной как для морфогенеза, так и для инфицирования *in vitro*. L-HBsAg содержит полный полипептид М с дополнительным amino-терминальным участком М (пре-S1) из 108-119 остатков в зависимости от генотипа HBV. Для него описаны две топологии с аминотерминальным пре-S доменом (пре-S1 плюс пре-S2), являющимся цитозольным на мембране ЭР (изнутри на секретируемых вирионах) или люминальным (экспонируемым на поверхности вириона). Внутренняя конформация вовлечена в рекрутирование нуклеокапсида для сборки вируса, тогда как внешнее расположение соответствует рецептор-связывающей функции при проникновении вируса.

Все три белка оболочки синтезируются в мембране эндоплазматического ретикулума (ЭР), где они агрегируют через белок-белковые взаимодействия, приводящие в первую очередь к секреции пустых S-HBsAg-покрытых субвирусных частиц (SVPs). Это только в случае, когда L-HBsAg присутствует в агрегатах белка оболочки на мембране ЭР для того, чтобы нуклеокапсид HBV мог быть вовлечен в сборку комплекса и высвобожден в виде зрелого вириона. Вследствие преодоления активности S-HBsAg для самосборки по сравнению с таковой L-HBsAg образование вириона HBV происходит только в редких случаях.

Последовательность-мишень HBsAg содержит последовательности, начинающиеся с кольцевой последовательности U95551 с участка старта транскрипции в позиции 3158-3182 и с позиции 1 до сайта полиаденилирования в позиции 1941. Таким образом, последовательность-мишень HBsAg содержит последовательности комбинированных последовательностей с позиции 3158 по 3182 и позиции 1-1944 кольцевой последовательности U95551. Данная последовательность-мишень представлена как SEQ ID NO: 2. Последовательность U95551 представлена в виде SEQ ID NO: 3.

Мишень.

В предпочтительном аспекте, соответственно олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен модулировать последовательность-мишень HBx или HBsAg вируса гепатита В (HBV). В данном отношении олигомер по изобретению может оказывать влияние на ингибирование последовательности-мишени, обычно в клетках млекопитающих, таких как клетки человека, таких как клетки печени.

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению связывается с целевой нуклеиновой кислотой и модулирует экспрессию по меньшей мере на 10 или 20% по сравнению с нормальным уровнем экспрессии, более предпочтительно по меньшей мере на 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 95% по сравнению с нормальным уровнем экспрессии (таким как уровень экспрессии в отсутствии олигомера(ов) или олигомерного конъюгата(ов)).

В одном воплощении олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен к понижению (например, ингибированию, уменьшению или устранению) экспрессии гена HBx или HBsAg. В данном отношении олигомер по изобретению может влиять на ингибирование HBx или HBsAg. Такое ингибирование обычно может происходить в клетке млекопитающего, такой как клетка человека, такая как клетка печени. В некоторых воплощениях олигомеры по изобретению связываются с целевой нуклеиновой кислотой и влияют на ингибирование экспрессии по меньшей мере на 10 или 20% по сравнению с нормальным уровнем экспрессии, более предпочтительно по меньшей мере на 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 95% ингибирования по сравнению с нормальным уровнем экспрессии (таким как уровень экспрессии в отсутствии олигомера(ов) или олигомерного конъюгата(ов)).

В некоторых воплощениях, такое модулирование обнаруживается, в случае применения 0,04-25 нМ, такой как 0,8-20 нМ концентрации соединения по изобретению. В одном и том же или разных воплощениях модулирование экспрессии составляет менее 100%, например менее 98%, менее 95%, менее 90%, менее 80%, например менее 70%. Модулирование уровня экспрессии может быть определено за счет измерения уровней белка, например, при помощи таких методов, как SDS-PAGE с последующим Вестерн-блотом при помощи соответствующих антител к целевому белку. Альтернативно, модулирование уровня экспрессии может быть определено за счет измерения уровней мРНК, например при помощи Нозерн-



блота или количественной РВ-ПЦР. В случае измерения через уровни мРНК уровень понижения при применении соответствующей дозы, такой как концентрация 0,04-25 нМ, например 0,8-20 нМ, в некоторых воплощениях обычно составляет 10-20% нормальных уровней в отсутствие соединения, конъюгата или композиции по изобретению.

Как показано в данном документе, клетки могут представлять собой *in vitro* трансфицированные клетки. Применяемая концентрация олигомера или олигомерного конъюгата в некоторых воплощениях, составляет 5 нМ. Применяемая концентрация олигомера может в некоторых воплощениях составлять 25 нМ. Применяемая концентрация олигомера и олигомерного конъюгата в некоторых воплощениях составляет 1 нМ. Следует отметить, что концентрацию олигомера, применяемую для лечения клетки обычно получают в клеточном исследовании *in vitro*, при помощи трансфекции (Lipofecton), как показано в примерах. В отсутствие трансфицирующего агента концентрация олигомера или олигомерного конъюгата, необходимая для достижения снижения экспрессии мишени обычно составляет 1-25 мкМ, например 5 мкМ.

Таким образом, изобретение предлагает способ снижения и ингибирования экспрессии белка HBx или HBsAg и/или мРНК в клетке, которая экспрессирует белок HBx или HBsAg и мРНК, упомянутый способ, содержащий введение олигомера или конъюгата по изобретению в упомянутую клетку для снижения или ингибирования экспрессии белка HBx или HBsAg и/или мРНК в упомянутой клетке. Соответственно, клетка представляет собой клетку млекопитающего, такую как клетка человека. В некоторых воплощениях ведение может быть осуществлено *in vitro*. В некоторых воплощениях введение может быть осуществлено *in vivo*.

Для конкретных воплощений олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата, нацеленного на HBx, также связывается с HBsAg.

Последовательность-мишень.

Олигомеры или олигомерные конъюгаты содержат или состоят из непрерывной нуклеотидной последовательности, соответствующей обратной комплементарной последовательности нуклеотидной последовательности, присутствующей в последовательности-мишени.

Последовательность-мишень может представлять собой ген или мРНК, такой как кодирующий или не кодирующий участок гена или мРНК. Например, последовательность-мишень может представлять собой кодирующий или не кодирующий экзон. Последовательность-мишень может содержать по меньшей мере часть экзона. Последовательность-мишень может представлять собой часть экзона, такую как внутренняя часть экзона.

В практике настоящего изобретения последовательность-мишень может представлять собой одноцепочечную или двухцепочечную ДНК или РНК; однако предпочтительны одноцепочечные ДНК и РНК мишени. Следует понимать, что последовательность-мишень, на которую направлены антисмысловые олигонуклеотиды по изобретению, включает аллельные формы целевого гена и соответствующие мРНК, включая варианты сплайсинга. Существует значительное число руководств в литературе по выбору конкретных последовательностей антисмысловых олигонуклеотидов с учетом знания последовательности целевого полинуклеотида, например, Cook ST. Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications, Marcel Dekker, Inc, 2001; Peyman and Ulmann, Chemical Reviews, 90:543-584, 1990 и Crooke, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32:329-376 (1992). мРНК мишени могут включать 5' кэп-сайт, участок связывания праймера тРНК, сайт инициаторного кодона, донорный сайт сплайсинга мРНК и акцепторный сайт сплайсинга мРНК.

В случае, когда полинуклеотидная последовательность-мишень содержит транскрипт мРНК, последовательность комплементарных олигонуклеотидов может гибридизоваться с любой желаемой частью транскрипта. Такие олигонуклеотиды в принципе эффективны для ингибирования трансляции и способны индуцировать эффекты, описанные в данном документе. Предполагается, что трансляция наиболее эффективно ингибируется за счет блокирования мРНК в сайте или близко к инициаторному кодону. Таким образом, олигонуклеотиды могут быть комплементарны 5'-участку транскрипта мРНК. Олигонуклеотиды могут быть комплементарны мРНК, включая инициаторный кодон (первый кодон на 5'-конце транслируемой части транскрипта), или кодоны, прилегающие к инициаторному кодону.

В одном воплощении последовательность-мишень может быть идентичной у генотипов А-Н HBV (подробно описано ниже).

В одном воплощении последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична любому одному или более генотипу А-Н HBV. Например, последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична генотипу А HBV. Например, последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична генотипу В HBV. Например, последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична генотипу С HBV. Например, последова-

тельность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична генотипу D HBV. Например, последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична генотипу E HBV. Например, последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична генотипу F HBV. Например, последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична генотипу G HBV. Например, последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична генотипу H HBV.

В одном воплощении последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентична двум или более генотипам A-H HBV.

В одном воплощении последовательность-мишень может быть идентична у двух или более генотипов A, B, C и D HBV. Последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентична у генотипов A и B HBV.

В одном воплощении последовательность-мишень может быть идентична у двух или более генотипов A, B, C и D HBV. Последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентична у генотипов A и C HBV.

В одном воплощении последовательность-мишень может быть идентична у трех или более генотипов A, B, C и D HBV. Последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентична у генотипов A, B, C и D HBV.

В одном воплощении последовательность-мишень может быть идентична трем или более генотипам A, B, C и D HBV. Последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентична генотипам A, B и C HBV.

В одном воплощении последовательность-мишень может быть идентична у трех или более генотипов A, B, C и D HBV. Последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% идентична у генотипов A, B и D HBV.

В одном воплощении последовательность-мишень может быть идентична у всех генотипов A, B, C и D HBV. Последовательность-мишень может быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична у генотипов A, B, C и D HBV.

В различных воплощениях последовательность-мишень находится внутри последовательности, показанной в виде SEQ ID NO: 3.

В одном воплощении последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения.

В различных воплощениях последовательность-мишень представляет собой HBx или HBsAg или их вариант естественного происхождения.

В различных воплощениях последовательность-мишень находится внутри последовательности, показанной в виде SEQ ID NO: 1.

В различных воплощениях последовательность-мишень находится внутри последовательности, показанной в виде SEQ ID NO: 2.

В различных воплощениях последовательность-мишень выбрана из одной или более позиций в SEQ ID NO: 3: позиция 1-1944, позиция 157 - 1840, позиция 1196-1941, позиция 1376-1840 и позиция 3158-3182. Предпочтительно последовательность-мишень выбрана из позиции 1530-1598 SEQ ID NO: 3, более предпочтительно из позиции 1577-1598 SEQ ID NO: 3 и наиболее предпочтительно из позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3.

В различных воплощениях последовательность-мишень может быть выбрана из группы, состоящей из любой одной или более из позиций:

1264-1278;  
1265-1277;  
1530-1543;  
1530-1544;  
1531-1543;  
1551-1565;

В аспекте олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен к нацеливанию по меньшей мере на 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 или 29 непрерывных нуклеотидов внутри последовательности, показанной в виде позиции 1200-1900, предпочтительно позиции 1530-1598, более предпочтительно позиции 1577- 1598, наиболее предпочтительно позиции 530-1543 SEQ ID NO: 3; предпочтительно, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат комплементарен упомянутый непрерывным нуклеотидам.

В аспекте олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен к нацеливанию по меньшей мере на 9 непрерывных нуклеотидов внутри последовательности, показанной в виде позиции 1200 - 1900, предпочтительно позиции 1530-1598, более предпочтительно позиции 1577-1598, наиболее предпочтительно позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3; предпочтительно, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат комплементарен упомянутым непрерывным нуклеотидам.

В аспекте олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен к нацеливанию по меньшей мере на 10 непрерывных нуклеотидов внутри последовательности, показанной в виде позиции 1200-1900, предпочтительно позиции 1530-1598, более предпочтительно позиции 1577-1598, наиболее предпочтительно позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3; предпочтительно, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат комплементарен упомянутым непрерывным нуклеотидам.

В аспекте олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению нацелен по меньшей мере на 11 непрерывных нуклеотидов внутри последовательности, показанной в виде позиции 1200-1900, предпочтительно позиции 1530-1598, более предпочтительно позиции 1577-1598, наиболее предпочтительно позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3; предпочтительно, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат комплементарен упомянутым непрерывным нуклеотидам.

В аспекте олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен к нацеливанию по меньшей мере на 12 непрерывных нуклеотидов внутри последовательности, показанной в виде позиции 1200-1900, предпочтительно позиции 1530-1598, более предпочтительно позиции 1577-1598, наиболее предпочтительно позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3; предпочтительно, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат комплементарен упомянутым непрерывным нуклеотидам.

В аспекте олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен к нацеливанию по меньшей мере на 13 непрерывных нуклеотидов внутри последовательности, показанной в виде позиции 1200-1900, предпочтительно позиции 1530-1598, более предпочтительно позиции 1577-1598, наиболее предпочтительно позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3; предпочтительно, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат комплементарен упомянутым непрерывным нуклеотидам.

В аспекте олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен к нацеливанию по меньшей мере на 14 непрерывных нуклеотидов внутри последовательности, показанной в виде позиции 1200-1900, предпочтительно позиции 1530-1598, более предпочтительно позиции 1577-1598, наиболее пред-

почтительно позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3; предпочтительно, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат комплементарен упомянутым непрерывным нуклеотидам.

В аспекте олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен к нацеливанию по меньшей мере на 15 непрерывных нуклеотидов внутри последовательности, показанной в качестве позиции 1200-1900, предпочтительно позиции 1530-1598, более предпочтительно позиции 1577-1598, наиболее предпочтительно позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3; предпочтительно, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат комплементарен упомянутым непрерывным нуклеотидам.

В аспекте олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способен к нацеливанию по меньшей мере на 16 непрерывных нуклеотидов внутри последовательности, показанной в виде позиции 1200-1900, предпочтительно позиции 1530-1598, более предпочтительно позиции 1577-1598, наиболее предпочтительно позиции 1530-1543 SEQ ID NO: 3; предпочтительно, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат комплементарен упомянутым непрерывным нуклеотидам.

В одном воплощении последовательность-мишень содержит последовательность внутри последовательности, указанной для SEQ ID NO: 1, или SEQ ID NO: 2, или SEQ ID NO: 3, или последовательности, обладающей по меньшей мере 80% идентичностью с ними. Таким образом, олигомер или олигомерный конъюгат может содержать или состоять из корового мотива, выбранного из группы, представленной в данном документе, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат (или его непрерывная нуклеотидная часть) могут, при желании, иметь одно, два или три несоответствия относительно упомянутой выбранной последовательности мотива:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8)  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9)  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15)  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834)

В одном воплощении последовательность-мишень содержит последовательность, указанную ниже или последовательность, обладающую по меньшей мере 80% идентичностью любой из них. Таким образом, олигомер или олигомерный конъюгат может содержать или состоять из последовательности, гибридирующей с последовательностью-мишенью, выбранной из группы, представленной ниже, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат (или его непрерывная нуклеотидная часть) могут, возможно, иметь одно, два или три несоответствия относительно упомянутой выбранной последовательности-мишени.

| последовательность-мишень             |
|---------------------------------------|
| acggggcgccactctcttacg (SEQ ID NO 827) |
| cgtgtgcactcgcttcacctc (SEQ ID NO 828) |
| ccgtctgtgcctctc (SEQ ID NO 829)       |
| cgatccatactgcgg (SEQ ID NO 830)       |
| tggtcagtttacta (SEQ ID NO 831)        |
| ctagtgccatttgtt (SEQ ID NO 833)       |

В некоторых воплощениях олигомер или олигомерный конъюгат могут допускать 1, 2, 3 или 4 (или более) несоответствия, в случае с гибридизацией с последовательностью-мишенью и еще достаточным связыванием с мишенью для получения желаемого эффекта, т.е. снижения экспрессии мишени. Несовпадения могут быть, например, компенсированы за счет повышенной длины олигомерной нуклеотидной последовательности и/или повышенного числа нуклеотидных аналогов, таких как LNA, присутствующих



тарна, например на 100% комплементарна (абсолютно комплементарна).

В некоторых воплощениях в случае, когда мишенью является HBsAg, олигомер или олигомерный конъюгат (или его непрерывная нуклеотидная часть) выбран из или содержит одну из последовательностей, выбранных из группы, представленной в данном документе, или ее субпоследовательности по меньшей мере из 10 непрерывных нуклеотидов, где упомянутый олигомер или олигомерный конъюгат (или его непрерывная нуклеотидная часть) могут возможно содержать один, два или три несоответствия, при сравнении с последовательностью.

В некоторых воплощениях субпоследовательность может состоять из 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 или 29 непрерывных нуклеотидов, например из 12-22, например из 12-18, например из 12-16 нуклеотидов. Соответственно в некоторых воплощениях субпоследовательность имеет такую же длину, как и непрерывная нуклеотидная последовательность олигомера по изобретению.

Однако считается, что в некоторых воплощениях нуклеотидная последовательность олигомера или олигомерного конъюгата может содержать дополнительные 5' или 3' нуклеотиды, например независимо, 1, 2, 3, 4 или 5 дополнительных нуклеотидов 5' и/или 3', которые некомплементарны последовательности-мишени. В этом отношении олигомер по изобретению может в некоторых воплощениях содержать непрерывную нуклеотидную последовательность, которая фланкирована 5' и/или 3' дополнительными нуклеотидами. В некоторых воплощениях дополнительные 5' или 3' нуклеотиды представляют собой нуклеотиды естественного происхождения, такие как ДНК или РНК. В некоторых воплощениях дополнительные 5' или 3' нуклеотиды могут представлять участок D, как упомянуто в контексте гэммерного олигомера или олигомерного конъюгата в данном документе.

Рекрутирование (привлечение) РНКазы.

Считают, что олигомерная молекула может функционировать через деградацию мРНК, не опосредованную РНКазой, такую как стерическое препятствие трансляции или другие способы.

Для некоторых воплощений олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению способны рекрутировать (привлекать) эндорибонуклеазу (РНКазу), такую как РНКазу H.

Предпочтительно, что олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению содержит участок по меньшей мере из 6, например по меньшей мере 7, непрерывных нуклеотидных звеньев, например по меньшей мере 8 или по меньшей мере 9 непрерывных нуклеотидных звеньев (остатки), включая 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16 непрерывных нуклеотидов, которые в случае формирования дуплета с комплементарной целевой РНК способны рекрутировать РНКазу. Непрерывная последовательность, способная рекрутировать РНКазу, может представлять собой участок X, как упомянуто в контексте гэммера, как описано в данном документе. В некоторых воплощениях размер непрерывной последовательности, которая способна рекрутировать РНКазу, такой как участок X, может быть большим, например 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нуклеотидных звеньев.

EP 1222309 предлагает *in vitro* способы определения активности РНКазы, которые могут быть применены для определения способности рекрутировать РНКазу H. Олигомер считается способным рекрутировать РНКазу H, если в случае присутствия вместе с комплементарной РНК мишенью он имеет начальную скорость, измеренную в пмоль/л/мин, по меньшей мере 1%, например по меньшей мере 5%, например по меньшей мере 10% или более чем 20% начальной скорости, определенной при помощи только ДНК олигонуклеотида, имеющего одну и ту же нуклеотидную последовательность, но содержащую только ДНК звенья, без 2' замен, с фосфоротиоатными связующими группами между всеми звеньями в олигонуклеотиде, при помощи методологии, предложенной в примерах 91-95 EP 1222309.

В некоторых воплощениях олигомер считают практически не способным рекрутировать РНКазу H, если в случае присутствия вместе с комплементарной РНК мишенью и РНКазой H, начальная скорость РНКазы H, измеренная в пмоль/л/мин, составляет менее 1%, например менее 5%, например менее 10% или менее 20% мощности эквивалентного только ДНК олигонуклеотида, без 2' замен, с фосфоротиоатными связующими группами между всеми нуклеотидами в олигонуклеотиде при помощи методологии, предложенной в примерах 91-95 EP 1222309.

В других воплощениях олигомер считают способным рекрутировать РНКазу H, если в случае присутствия с комплементарной РНК мишенью и РНКазой H начальная скорость РНКазы H, измеренная в пмоль/л/мин, составляет по меньшей мере 20%, например по меньшей мере 40%, например по меньшей мере 60%, например по меньшей мере 80% начальной скорости, определенной при помощи эквивалентного только ДНК олигонуклеотида, без 2' замен, с фосфоротиоатными связующими группами между всеми нуклеотидами в олигонуклеотиде, при помощи методологии, предложенной в примерах 91-95 EP 1222309.

Обычно участок олигомера или олигомерного конъюгата по изобретению, который формирует последовательные нуклеотидные звенья, которые при формировании в дуплете с комплементарной целевой РНК способны рекрутировать РНКазу, состоит из нуклеотидных звеньев, которые формируют дуплет, подобный ДНК/РНК с РНК-мишенью, и включают как ДНК, так и LNA звенья, которые присутствуют в альфа-L конфигурации, в частности предпочтительно альфа-L-окси-LNA.

Олигомер или олигомерный конъюгат по изобретению может содержать нуклеотидную последовательность, которая содержит как нуклеотиды, так и нуклеотидные аналоги и может быть в виде гэммера,

"хэдмера" или миксмера.

В некоторых воплощениях, в дополнение к усилению аффинности олигомера в отношении целевого участка, некоторые нуклеозидные аналоги могут опосредовать связывание РНКазой (например, РНКазой H) и расщепление. Поскольку звенья  $\alpha$ -L-LNA рекрутируют в определенной степени активность РНКазы H, в некоторых воплощениях участки гэпов (например, участок X, как упомянуто в данном документе) олигомеров, содержащих звенья  $\alpha$ -L-LNA, состоят из нескольких звеньев, распознаваемых и расщепляемых РНКазой H, и вводят большую гибкость в конструкцию миксмера.

Синтез.

Настоящее изобретение предлагает способ производства олигомерного конъюгата, содержащий конъюгирование по меньшей мере одного олигомера с компонентом-носителем, где упомянутый олигомерный конъюгат приемлем для лечения вирусного заболевания.

Настоящее изобретение также предлагает способ производства полиолигомерного конъюгата, как описано в данном документе, содержащий прикрепление одного или более олигомеров к линкерной группе (E или L) или симметричному ветвящему участку F, который затем прикреплен к компоненту-носителю, как описано в данном документе, где упомянутый олигомерный конъюгат приемлем для лечения вирусного заболевания.

В некоторых воплощениях симметричный ветвящийся участок представляет собой или 1,3-пентиламидопропил (от 1,3-бис-[5-(4,4'-диметокситритилокси)пентиламидо]пропил-2-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфорамиdit), трис-2,2,2-(пропилоксиметил)этил (от трис-2,2,2-[3-(4,4'-диметокситритилокси)пропилоксиметил]этил-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфорамиdit), или трис-2,2,2-(пропилоксиметил)метиленоксипропил (от трис-2,2,2-[3-(4,4'-диметокситритилокси)пропилоксиметил]метиленоксипропил-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфорамиdit). В некоторых воплощениях асимметричный ветвящийся участок представляет собой 1,3-пентиламидопропил (от 1-[5-{4,4'-диметокситритилокси)пентиламидо]-3-[5-флуоренометоксикарбонилноксипентиламидо]-пропил-2-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]-фосфорамиdit), GlenResearch, USA предлагает такие приемлемые ветви (например, каталожный номер 0-1920, 10-1922 и 10-1925).

Линкерные группы и ветвящиеся участки, как описано в данном документе, могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми.

В дальнейшем аспекте предложен способ производства композиции по изобретению, содержащей смешивание олигомерного конъюгата по изобретению с фармацевтически приемлемым разбавителем, растворителем, носителем, солью и/или адьювантом.

Активированные олигомеры.

Термин "активированный олигомер", как употреблено в данном документе, относится к олигомеру по изобретению, который ковалентно связан (т.е. функционализирован) по меньшей мере с одной функциональной группой, которая делает возможным ковалентное связывание олигомера с одной или более конъюгированной группой, т.е. группой, которая сама не является нуклеиновой кислотой или звеньями, с образованием конъюгатов, описанных в данном документе. Обычно функциональная группа будет содержать химическую группу, способную ковалентно связываться с олигомером, например, через 3'-гидроксильную группу или экзоциклическую  $\text{NH}_2$ -группу аденинового основания, спейсер, который предпочтительно представляет собой гидрофильную и терминальную группу, способную связываться с конъюгированной группой (например, amino, сульфгидрильная или гидроксильная группа). В некоторых воплощениях данная терминальная группа не защищена, например, представляет собой  $\text{NH}_2$ -группу. В других воплощениях терминальная группа защищена, например, посредством любой приемлемой защитной группы, такой как таковые, описанные в "Защитные группы в Органическом синтезе" Theodora W. Greene and Peter G.M. Wuts, 3<sup>rd</sup> edition (Jon Wiley&Sons, 1999). Примеры приемлемых гидроксильных защитных групп включают сложные эфиры, такие как сложный ацетатный эфир, аралкильные группы, такие как бензил, дифенилметил или трифенилметил и тетрагидропиранил. Примеры приемлемых аминозащитных групп включают бензил, альфа-метилбензил, дифенилметил, трифенилметил, бензилоксикарбонил, трет-бутоксикарбонил и ацильные группы, такие как трихлорацетил или трифторацетил. В некоторых воплощениях функциональная группа является саморасщепляемой. В других воплощениях функциональная группа является биodeградируемой. См., например, U.S. Patent No. 7087229, который включен в данный документ во всей полноте посредством ссылки.

В некоторых воплощениях олигомеры по изобретению функционализированы на 5'-конце, чтобы сделать возможным ковалентное прикрепление конъюгированной группы к 5'-концу олигомера. В других воплощениях олигомеры по изобретению могут быть функционализированы на 3'-конце. В других воплощениях олигомеры по изобретению могут быть функционализированы вдоль цепи или по гетероциклической группе основания. В других воплощениях олигомеры по изобретению могут быть функционализированы более чем по одной позиции, выбранной из 5'-конца и 3'-конца, цепи и основания.

В некоторых воплощениях активированные олигомеры по изобретению синтезируют при помощи включения во время синтеза одного или более звеньев, ковалентно прикрепленных к функциональной группе. В других воплощениях активированные олигомеры по изобретению синтезируют при помощи

звеньев, которые не функционализированы, и олигомер функционализируют после завершения синтеза. В некоторых воплощениях олигомеры функционализированы при помощи затрудненного сложного эфира, содержащего аминокильный линкер, где алкильная часть имеет формулу  $(CH_2)_w$ , где  $w$  представляет собой целое число, варьирующее от 1 до 10, предпочтительно приблизительно 6, где алкильная часть алкиламино группы может представлять собой прямую цепь или разветвленную цепь и где функциональная группа прикреплена к олигомеру через сложноэфирную группу  $(-O-C(O)-(CH_2)_wNH)$ .

В других воплощениях олигомеры функционализированы при помощи затрудненного сложного эфира, содержащего  $(CH_2)_w$ -сульфгидрильный (SH) линкер, где  $w$  представляет собой целое число, варьирующее от 1 до 10, предпочтительно приблизительно 6, где алкильная часть алкиламино группы может представлять собой прямую цепь или разветвленную цепь, и где функциональная группа прикреплена к олигомеру через сложноэфирную группу  $(-O-C(O)-(CH_2)_wSH)$ . В некоторых воплощениях сульфгидрил-активированные олигонуклеотиды конъюгированы с полимерными группами, такими как полиэтиленгликоль или пептида (через образование дисульфидной связи).

Активированные олигомеры, содержащие затрудненные сложные эфиры, как описано выше, могут быть синтезированы посредством любого способа, известного в области техники, и в частности способов, раскрытых в PCT Publication No. WO 2008/034122 и примерах в нем, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

В других воплощениях олигомеры по изобретению функционализированы посредством введения сульфгидрильной, amino или гидроксильной группы в олигомер при помощи функционализирующего реагента фактически, как описанного в U.S. Patent Nos. 4962029 и 4914210, т.е., по существу, линейного реагента, содержащего фосфорамидит на одном конце, связанном через цепь спейсера с противоположным концом, который содержит защищенную или не защищенную сульфгидрильную, amino или гидроксильную группу. Такие реагенты в первую очередь реагируют с гидроксильными группами олигомера. В некоторых воплощениях такие активированные олигомеры имеют функционализированный реагент, соединенный с 5'-гидроксильной группой олигомера. В других воплощениях активированные олигомеры имеют функционализированный реагент, соединенный с 3'-гидроксильной группой. В других воплощениях активированные олигомеры по изобретению имеют функционализированный реагент, соединенный с гидроксильной группой на остоле олигомера. В дальнейших воплощениях олигомер по изобретению функционализирован при помощи более чем одного функционализирующего реагента, как описано в патентах США 4962029 и 4914210, включенных в данный документ посредством ссылки во всей их полноте. Способы синтеза таких функционализирующих реагентов и их включение в звенья или олигомеры раскрыты в патентах США 4962029 и 4914210.

В некоторых воплощениях 5'-терминальный конец олигомера, связанного с твердой фазой, функционализируют при помощи производного диенилфосфорамидита, с последующей конъюгацией незащищенного олигомера, например, с аминокислотой или пептидом через реакцию циклоприсоединения Дильса-Альдера.

В различных воплощениях включение звеньев, содержащих модификации 2'-сахара, такие как 2'-карбамат замещенный сахар или 2'-(О-пентил-N-фталимидо)дезоксирибозу, в олигомер способствует ковалентному прикреплению конъюгированных групп к сахарам олигомера. В других воплощениях олигомер с аминоксодержащим линкером в 2'-позиции одного или более звеньев получают при помощи реагента, такого как, например, 5'-диметокситритил-2'-О-(е-фталимидиламинопентил)-2'-дезоксаденозин-3'-N,N-диизопропил-цианоэтоксифосфорамидит (см., например, Manoharan et al., Tetrahedron Letters, 1993, 34, 7171.).

В дальнейших воплощениях олигомеры по изобретению могут иметь аминсодержащие функциональные группы на нуклеосновании, в том числе на N6 аминогруппе пурина, на внециклическом N2 гуанина или на N4 или 5 позициях цитозина. В различных воплощениях такая функционализация может быть достигнута при помощи коммерческого реагента, который уже функционализирован при синтезе олигомера.

Некоторые функциональные группы коммерчески доступны, например гетеробифункциональные и гомобифункциональные связующие группы доступны от PierceCo. (Rockford, Ill.). Другие коммерчески доступные связующие группы представляют собой 5'-амино-модификатор C6 и 3'-амино-модификатор, оба доступные от Glen Research Corporation (Sterling, Va.). 5'-Амино-модификатор C6 также доступен от ABI (Applied Biosystems Inc., Foster City, Calif.) в виде Aminolink-2, и 3'-амино-модификатор также доступен от Clontech Laboratories Inc. (Palo Alto, Calif.).

Полиолигомеры.

Как указано выше, в некоторых воплощениях настоящего изобретения олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата может содержать или быть частью молекулы, которая имеет две нацеливающие последовательности. В некоторых случаях данные молекулы также называют полиолигомерами.

В некоторых воплощениях олигомерный конъюгат имеет или содержит структуру:

Компонент-носитель - L1 - первый олигомерный участок - L2 - второй олигомерный участок,

где L1 представляет собой дополнительный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую мо-





В некоторых воплощениях компонент-носитель связан, предпочтительно конъюгирован с упомянутым первым олигомерным участком.

В некоторых воплощениях компонент-носитель связан, предпочтительно конъюгирован с 5'-концом упомянутого олигомера.

В некоторых воплощениях каждый и первый олигомерный участок, и второй олигомерный участок связан, предпочтительно конъюгирован при помощи линкера или ветвящего участка.

В некоторых воплощениях каждый и первый олигомерный участок, и второй олигомерный участок связан, предпочтительно конъюгирован при помощи физиологически лабильной линкерной группы или физиологически лабильного ветвящего участка.

В некоторых воплощениях изобретение предлагает полиолигомерное соединение, которое может содержать первый участок (участок РА), второй участок (участок РВ) и третий участок (участок РС), где первый участок ковалентно связан по меньшей мере с одним последующим олигомерным соединением (участок РА'), где первый участок (участок РА) и участок РА ковалентно связан через биорасщепляемый линкер (участок РВ'), который может быть, например, вторым участком, как раскрыто в данном документе, например участком по меньшей мере одной фосфодисложноэфирно связанной ДНК или РНК (такой как ДНК), например два, три, четыре или пять фосфодисложноэфирно связанных нуклеозида ДНК или РНК (например, ДНК нуклеозиды). Участки РВ и РВ' могут в некоторых воплощениях иметь одинаковую структуру, например одинаковое число нуклеозидов ДНК/РНК и фосфодисложноэфирных связей и/или одинаковую нуклеиновую последовательность. В других воплощениях участки РВ и РВ' могут быть различными. Например, полиолигомерные соединения могут обладать структурой, такой как (5'-3' или 3'-5') конъюгат/соединение носитель-РО-ОН-РО'-ОН', где конъюгат/соединение-носитель представляет собой участок РС, РО представляет собой участок РВ, РО' представляет собой участок РВ', и ОН представляет собой участок РА, и ОН' представляет собой участок РА.

Следует понимать, что участок РА может в некоторых воплощениях содержать множество дополнительных олигомерных соединений (например, дополнительных 2 или 3 олигомерных соединения), связанных последовательно (или в параллель) через биорасщепляемые линкеры, например конъюгат/соединение-носитель-РО-ОН-РО'-ОН'-РО"-ОН" или конъюгат/соединение-носитель-РО-ОН-[РО-ОН']<sub>n</sub>, где n может, например, представлять собой 1, 2 или 3, и каждый ОН' может быть одинаковым или различным и, если различным, иметь одинаковую или различные мишени.

В аспекте настоящее изобретение предлагает полиолигомерные соединения (также упоминаемые в данном документе как олигомерные соединения) для применения при модулировании, таком как ингибирование целевой нуклеиновой кислоты в клетке, например НВх или HBsAg HBV. Олигомерное соединение содержит по меньшей мере два олигомерных участка, например (РА и РА'), и может содержать дополнительные олигомерные участки (например, РА"). По меньшей мере один олигомерный участок представляет собой олигомер, который способен модулировать последовательность-мишень в НВх или HBsAg HBV, например, олигомер, предложенный настоящим изобретением. В конкретных воплощениях каждый из РА, РА' (и РА", если присутствует) может представлять собой олигомер, который способен модулировать последовательность-мишень в НВх или HBsAg HBV, например, олигомер, предложенный настоящим изобретением. РА и РА' могут быть комплементарны различным позициям в последовательности-мишени.

В некоторых воплощениях РА может представлять собой олигомер, способный модулировать последовательность-мишень в НВх и РА (и/или РА", если присутствует) могут представлять собой олигомеры, способные модулировать различную последовательность-мишень. В конкретных воплощениях РА (и/или РА", если присутствует) может быть способен модулировать последовательность-мишень в HBsAg HBV. Например, РА (и/или РА", если присутствует) может представлять собой олигомер, способный модулировать последовательность-мишень в HBsAg HBV, как описано в данном документе.

В некоторых воплощениях РА может представлять собой олигомер, способный модулировать последовательность-мишень в НВх и РА (и/или РА", если присутствует) может представлять собой олигомеры, способные модулировать различные последовательности-мишени HBV. В конкретных воплощениях РА (и/или РА", если присутствует) может быть способен модулировать последовательность-мишень в HBsAg HBV. Например, РА (и/или РА", если присутствует) может представлять собой олигомер, способный модулировать последовательность-мишень в HBsAg HBV, как описано в данном документе.

Каждый олигомерный участок может быть фланкирован биорасщепляемым участком (участок РВ), который может, например, представлять собой дополнительный участок из 1-10 непрерывных нуклеотидов (участок РВ), который содержит по меньшей мере одну фосфодисложноэфирную связь, могут быть применены другие физиологически лабильные нуклеозидные участки.

В некоторых воплощениях олигомерные соединения по изобретению ковалентно связаны с конъюгирующей группой, нацеленной группой, реактивной группой, активирующей группой или блокирующей группой, возможно, через короткий участок, содержащий (например, 1-10) фосфодисложноэфирно связанных нуклеозидов ДНК или РНК. Примеры таких групп представляют собой компоненты-носители и конъюгатные компоненты, упомянутые в данном документе.

В некоторых воплощениях соединение по изобретению не содержит РНК (звеньев). В некоторых воплощениях соединение по изобретению формирует единственную непрерывную последовательность, возможно связанную с функциональной группой, такой как конъюгирующая группа, и представляет собой линейную молекулу или синтезируется в виде линейной молекулы. Олигомерное соединение может таким образом представлять собой одноцепочечную молекулу. В некоторых воплощениях олигомер не содержит короткие участки, например по меньшей мере 3, 4 или 5 непрерывных нуклеотидов, которые, комплементарны эквивалентным участкам внутри одного и того же олигомерного соединения (т.е. дуплеты). Олигомер в некоторых воплощениях может не быть (в сущности) двухцепочечным. В некоторых воплощениях олигомер, по существу, является не двухцепочечным, например, не является миРНК.

Олигомерные участки РА, РА' и, если присутствует, РА", являются фосфоротиоатными олигомерами, т.е. по меньшей мере 70% межнуклеозидных связей внутри каждого олигомерного участка РА, РА' и если присутствует РА", являются фосфоротиоатными связями, например по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90% или все межнуклеозидные связи, если присутствуют олигомерные участки РА, РА' и РА" (если присутствует), являются фосфоротиоатными.

В некоторых воплощениях олигомерные участки РА, РА' и если присутствует РА", могут формировать единственную непрерывную олигонуклеотидную последовательность. Участки РА, РА' и РА" разрезаны участками РВ, например, из 1, 2, 3, 4 или 5 фосфодисложноэфирно связанных нуклеозида ДНК.

В случае, когда участок РВ содержит только 1 нуклеозид, по меньшей мере одна или обе межнуклеозидные связи между нуклеозидами участка РВ (например, нуклеозид ДНК) могут представлять собой фосфодисложноэфирные связи. В случае, когда участок РВ содержит только два или более нуклеозида, межнуклеозидные связи между нуклеозидами участка РВ (например, нуклеозидами ДНК) могут представлять собой фосфодисложноэфирные связи и/или могут представлять собой другие межнуклеозидные связи, такие как фосфоротиоатные связи.

Олигомеры по изобретению, такие как РА, РА' и, если присутствует, РА", не формируют часть комплекса миРНК. Олигомеры по изобретению, такие как РА, РА' и если присутствует РА", являются не комплементарными, например они не гибридизуются друг с другом с образованием участка из более чем 8 или в некоторых воплощениях более чем 6 непрерывных пар оснований. В некоторых воплощениях участки РА и РА" не гибридизуются друг с другом с образованием более чем 4 непрерывных пар оснований. Примеры пар оснований могут представлять собой А-Т, G-C или А-U. В случае, когда присутствуют три олигомерных участка, РА, РА' и РА", существует некомплементарность между РА и РА', и РА' и РА", а также РА и РА".

Олигомерные участки РА, РА' и, если присутствует, РА", существуют не в виде дуплета (по существу) с комплементарным олигонуклеотидом, например не в виде миРНК.

В некоторых воплощениях олигомерные участки РА, РА' и РА" имеют одинаковую непрерывную последовательность. В некоторых воплощениях олигомерные участки РА и РА' имеют одинаковую непрерывную нуклеотидную последовательность. В данном отношении изобретение предлагает одно соединение, которое может быть применено для доставки множества копий олигомера (т.е. с одинаковой непрерывной нуклеиновой последовательностью и возможно одинаковыми химическими модификациями) в целевую ткань.

Олигомерные участки (РА, РА' и, если присутствует, РА") связаны по меньшей мере через один биорасщепляемый участок, упомянутый в данном документе как участок РВ (и где существует более чем один участок РВ, участок РВ' и участок РВ"). В некоторых воплощениях участок РВ содержит 1-10 нуклеозидов, которые формируют физиологически лабильный участок между олигомерными участками или между (или каждым) олигомерным участком и связующей группой. Могут быть применены участки из фосфодисложноэфирных нуклеозидов ДНК, но другие нуклеотидные участки могут быть применены, если они приемлемо физиологически лабильны.

В некоторых воплощениях межнуклеозидная связь между олигомерным участком (РА, РА' или, если присутствует, РА") и (каждым) вторым участком РВ, связанным фосфодисложноэфирной связью с первым (или только) нуклеотидом ДНК или РНК участка РВ содержит по меньшей мере один фосфодисложноэфирно связанный нуклеозид ДНК или РНК.

Участок РВ может в некоторых воплощениях содержать дополнительные нуклеозиды ДНК и РНК, которые могут быть фосфодисложноэфирно связаны.

Как пояснено в данном документе, участок РВ может также быть применен для связи функциональной группы с олигомерным участком(ми), возможно через дополнительную связующую группу (РУ). Применение участка РВ в качестве расщепляемого линкера для соединения функциональных групп с олигомером описано подробно в РСТ/ЕР2013/073858, который включен в данный документ посредством ссылки.

В некоторых воплощениях участок РВ является дополнительно ковалентно связанным с третьим участком, который может, например, представлять собой конъюгирующую, нацеливающую группу, реактивную группу и/или блокирующую группу (РС). Группа (РС) может представлять собой компонент-носитель, как описано в данном документе.

В некоторых воплощениях настоящее изобретение основано на обеспечении физиологически лабильного участка, второго участка, связывающего первый участок, например, антисмысловой олигонуклеотид, и конъюгирующую или функциональную группу, например компонент-носитель. Физиологически лабильный участок может содержать по меньшей мере один фосфодисложноэфирно связанный нуклеозид, такой как нуклеозид ДНК или РНК, например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 фосфодисложноэфирно связанных нуклеозидов, таких как ДНК или РНК. В некоторых воплощениях олигомерное соединение содержит расщепляемый (физиологически лабильный) линкер. В данном отношении расщепляемый линкер предпочтительно присутствует в участке РВ (или в некоторых воплощениях между участком РА и РВ).

В некоторых воплощениях один (или более или все) участок РВ может содержать или состоять по меньшей мере из одного нуклеотида ДНК или РНК, связанного с первым участком через фосфодисложноэфирную связь. В некоторых аспектах межнуклеотидную связь между олигомерным участком и вторым участком рассматривают как часть участка РВ.

В некоторых воплощениях (или более или каждый) участок РВ содержит или состоит по меньшей мере из 1-10 связанных нуклеозидов, таких как 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 связанных нуклеотидов ДНК или РНК. В тоже время участок фосфодисложного эфира ДНК/РНК является важным в обеспечении расщепляемого линкера, возможно, что участок РВ также содержит нуклеотидные аналоги с модифицированным сахаром, такие как таковые рассматриваемые для первого участка, упомянутого выше. Однако в некоторых воплощениях нуклеотиды участка РВ (возможно независимо) выбраны из группы, состоящей из ДНК или РНК. В некоторых воплощениях нуклеотиды участка РВ (возможно независимо) представляют собой ДНК. Следует учитывать, что нуклеотиды участка РВ могут содержать нуклеотидные основания естественного или неестественного происхождения. Обычно участок РВ содержит по меньшей мере один сложноэфирносвязанный нуклеозид ДНК или РНК (который может в некоторых воплощениях быть первым нуклеотидом, прилегающим к олигомеру). В случае, когда участок РВ содержит другие нуклеотиды, участок РВ также может содержать нуклеотидные связи, отличные от фосфодисложноэфирных, такие как (возможно независимо) фосфоротиоатную, фосфодитиоатную, боранофосфатную или метилфосфатную. Однако в других воплощениях, приведенных для примера, все межнуклеотидные связи участка РВ представляют собой фосфоротиоат. В некоторых воплощениях все нуклеотидные связи участка РВ содержат (возможно независимо) или 2'-ОН-рибозу (РНК) или 2'-Н-сахар, т.е. РНК или ДНК. 1-5 или 1-4, например, 2, 3, 4 фосфат (фосфатдисложный эфир) связанных нуклеотида ДНК особо полезны в соединениях по изобретению.

В некоторых воплощениях второй участок содержит или состоит по меньшей мере из 1-10 (например, фосфодисложноэфирно) связанных нуклеотидов ДНК или РНК, например 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 (например, фосфодисложноэфирно) связанных нуклеотидов ДНК или РНК.

В некоторых воплощениях участок РВ содержит не более чем 3 или не более чем 4 последовательных нуклеотида ДНК или РНК (таких как нуклеотиды ДНК). Так, участок РВ может быть таким коротким, что не будет рекрутировать РНКазу Н, аспект, который может быть важным в воплощениях, когда участок РВ не формирует часть единой непрерывной нуклеиновой последовательности, которая комплементарна мишени. Более короткий участок РВ, например, из 1-4 нуклеотидов в длину также может быть предпочтителен в некоторых воплощениях, поскольку они маловероятно будут последовательностью-мишенью специфических рестрицирующих ферментов. Например, возможно варьировать чувствительность участка РВ к расщеплению эндонуклеазами и таким образом улучшить скорость активации активного олигомера *in vivo* или даже внутриклеточно. Соответственно, при необходимости очень быстрой активации, более длинные участки РВ могут быть применены и/или участки В, которые содержат сайты распознавания (например, клеточно- или тканеспецифично или различно экспрессируемые) рестрикционные ферменты.

В некоторых воплощениях участок РВ может быть конъюгирован с функциональной группой (РС), такой как конъюгирующая, нацеливающая реактивная группа, активирующая группа или блокирующая группа, возможно через линкерную группу (РУ как таковые предложенные в данном документе).

Функциональные группы также могут быть присоединены к олигомерному участку или соединению по изобретению другими способами, например, через фосфат нуклеотидную связь (например, фосфодисложноэфирную, фосфоротиоатную, фосфодитиоатную, боранофосфатную или метилфосфонатную) или тиазольную группу. В некоторых аспектах связующая группа является такой же, как участок РВ по меньшей мере между двумя олигомерными участками, и например, может представлять собой фосфодисложноэфирную связь.

В некоторых воплощениях нуклеотиды ДНК или РНК (или более или каждый) участка РВ независимо выбраны из нуклеотидов ДНК или РНК. В некоторых воплощениях нуклеотиды ДНК или РНК (или более или каждый) участка РВ представляют собой нуклеотиды ДНК. В некоторых воплощениях нуклеотиды ДНК или РНК (или более или каждый) участка РВ представляют собой нуклеотиды РНК.

В контексте второго участка термин нуклеозид ДНК или РНК может содержать основание естественного или неестественного происхождения (также рассматриваемое как аналог основания или модифицированное основание).

Следует понимать, что в некоторых воплощениях (или более или каждый) участок РВ может дополнительно содержать другие нуклеотиды или нуклеотидные аналоги. В некоторых воплощениях (или более или каждый) участок РВ содержит нуклеозиды только ДНК или РНК. В некоторых воплощениях (или более или каждый) участок РВ содержит более чем один нуклеозид, межнуклеозидные связи в или каждом участке РВ содержат фосфодисложноэфирные связи. В некоторых воплощениях, в случае когда (или более или каждый) участок РВ содержат более чем один нуклеозид, все межнуклеозидные связи во втором участке содержат фосфодисложноэфирные связи.

В некоторых воплощениях по меньшей мере два последовательных нуклеозида (или более или каждый) участка РВ представляют собой нуклеозиды ДНК (например, по меньшей мере 3 или 4 или 5 последовательных нуклеотидов ДНК). В некоторых воплощениях по меньшей мере два последовательных нуклеозида (или более или каждый) участка РВ представляют собой нуклеозиды РНК (например, по меньшей мере 3 или 4 или 5 последовательных нуклеотидов РНК). В некоторых воплощениях по меньшей мере два последовательных нуклеозида (или более или каждый) участка РВ представляют собой по меньшей мере один нуклеозид ДНК и по меньшей мере один нуклеозид РНК. Межнуклеозидная связь между участком РА и участком РВ может представлять собой фосфодисложноэфирную связь. В некоторых воплощениях в случае, когда участок РВ содержит более чем один нуклеозид, по меньшей мере одна дополнительная межнуклеозидная связь является фосфодисложноэфирной, например связующая группа(ы) между 2 (или 3 или 4 или 5) нуклеозидами, прилегающими к участку РА.

Участок РВ может быть фланкирован по меньшей мере с одной стороны (или 5' или 3') первым участком, например, антисмысловым олигонуклеотидом, и с другой стороны (или 3' или 5' соответственно, через дополнительный олигомерный участок (РА), или конъюгирующую группу или аналогичную группу (например, блокирующую группу, нацеливающую группу или группу небольшой терапевтической молекулы), возможно через линкерную группу (т.е. между вторым участком и конъюгирующей/блокирующей группой и т.д.).

В некоторых воплощениях, участок РВ не формирует комплементарной последовательности в случае, когда олигомерный участок (например, РА, РА' и/или РА'') и РВ выравнены с комплементарной последовательностью-мишенью.

В некоторых воплощениях участок РВ не формирует комплементарной последовательности в случае, когда олигомерный участок (например, РА, РА' и/или РА'') и РВ выравнен с комплементарной последовательностью-мишенью. В этом отношении участок РА и РВ вместе могут формировать единую непрерывную последовательность, которая комплементарна последовательности-мишени.

В некоторых воплощениях последовательность оснований в участке РВ выбрана для обеспечения оптимального сайта расщепления эндонуклеазой, на основании преобладающих эндонуклеаз, присутствующих в целевой ткани или клетке или субклеточном компартменте. В данном отношении посредством выделения клеточных экстрактов из целевых тканей и не целевых тканей, последовательности, расщепляемые эндонуклеазами для применения в участке РВ, могут быть выбраны на основании предпочтительной расщепляющей активности в желаемой целевой клетке (например, печень/гепатоциты) по сравнению с нецелевой клеткой (например, почка). В данном отношении эффективность соединения для нацеленного снижения экспрессии может быть оптимизирована для желаемой ткани/клетки.

В некоторых воплощениях участок РВ содержит динуклеотид последовательности АА, АТ, АС, АГ, ТА, ТТ, ТС, ТГ, СА, СТ, СС, СГ, ГА, ГТ, ГС или ГГ, где С может представлять собой 5-метилцитозин и/или Т может быть замещен У.

В некоторых воплощениях участок РВ содержит тринуклеотид последовательности ААА, ААТ, ААС, ААГ, АТА, АТТ, АТС, АТГ, АСА, АСТ, АССТ, АСГ, АГА, АГТ, АГС, АГГ, ТАА, ТАТ, ТАС, ТАГ, ТТА, ТТТ, ТТС, ТАГ, ТСА, ТСТ, ТСС, ТСГ, ТГА, ТГТ, ТГС, ТГГ, САА, САТ, САС, САГ, СТА, СТГ, СТС, СТТ, ССА, ССТ, ССС, ССГ, СГА, СГТ, СГС, СГГ, ГАА, ГАТ, ГАС, ГАГ, ГТА, ГТТ, ГТС, ГТГ, ГСА, ГСТ, ГСС, ГСГ, ГГА, ГГТ, ГГС и ГГГ, где С может представлять собой 5-метилцитозин и/или Т может быть замещен У.

В некоторых воплощениях участок РВ содержит тетрануклеотид последовательности АААХ, ААТХ, ААСХ, ААГХ, АТАХ, АТТХ, АТСХ, АТГХ, АСАХ, АСТХ, АССТХ, АСГХ, АГАХ, АГТХ, АГСХ, АГГХ, ТААХ, ТАТХ, ТАСХ, ТАГХ, ТТАХ, ТТТХ, ТТСХ, ТАГХ, ТСАХ, ТСТХ, ТССХ, ТСГХ, ТГАХ, ТГТХ, ТГСХ, ТГГХ, СААХ, САТХ, САСХ, САГХ, СТАХ, СТГХ, СТСХ, СТТХ, ССАХ, ССТХ, СССХ, ССГХ, СГАХ, СГТХ, СГСХ, СГГХ, ГААХ, ГАТХ, ГАСХ, ГАГХ, ГТАХ, ГТТХ, ГТСХ, ГТГХ, ГСАХ, ГСТХ, ГССХ, ГСГХ, ГГАХ, ГГТХ, ГГСХ и ГГГХ, где Х может быть выбран из группы, состоящей из А, Т, У, Г, С и их аналогов, где С может представлять собой 5-метилцитозин и/или Т может быть замещен У. Следует понимать, что ссылки на (естественного происхождения) нуклеотидные основания А, Т, У, Г, С, они могут быть замещены нуклеотидными аналогами, которые функционируют эквивалентно нуклеотидам естественного происхождения (например, пара оснований с комплементарным нуклеотидом).

В некоторых воплощениях соединение по изобретению может содержать более чем одну конъюгирующую группу (или более чем одну функциональную группу РХ, такую как конъюгирующая, нацеливающая, блокирующая или активирующая группа), например 2 или 3 такие группы. В некоторых вопло-

щениях участок РВ ковалентно связан, возможно через [например, не нуклеотидную] линкерную группу), по меньшей мере с одной функциональной группой, например двумя или тремя функциональными группами. В некоторых воплощениях первый участок (РА) может быть ковалентно связан (например, через межнуклеозидные связи, такие как фосфодисложноэфирные связи) с двумя участками РВ, например один 5' и один 3' с первым участком РА, где каждый участок РВ может быть (возможно независимо) выбран из участка РВ, описанного в данном документе.

#### Композиция.

Олигомеры по изобретению и олигомерные конъюгаты по изобретению могут быть применены в фармацевтических препаратах и композициях. Соответственно такие композиции содержат фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель, соль или адъювант. WO 2007/03109 предлагает приемлемый и предпочтительный фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель и адъювант, который включен в данный документ посредством ссылки. Приемлемые дозы, препараты, пути введения, композиции, дозированные формы, комбинации с другими терапевтическими агентами, пролекарственные препараты также предложены в WO 2007/03109, который также включен в данный документ посредством ссылки.

Фармацевтические композиции по изобретению могут включать фармацевтически приемлемый носитель, который может содержать различные компоненты, которые обеспечивают различные функции, включая регуляцию концентрации лекарственного средства, регуляцию растворимости, химическую стабилизацию, регуляцию вязкости, повышение абсорбции, регуляцию pH и т.п.

Фармацевтический носитель может содержать приемлемый жидкий носитель или эксципиент и возможную вспомогательную добавку или добавки. Жидкие носители и эксципиенты являются обычными и коммерчески доступными. Примерами таковых являются дистиллированная вода, физиологический раствор, водные растворы декстрозы и т.п. Для водорастворимых препаратов, фармацевтическая композиция предпочтительно включает буфер, такой как фосфатный буфер, или другие соли органических кислот, предпочтительно при pH в диапазоне 6,5-8. Для препаратов, содержащих слаборастворимые анти-смысловые соединения, могут быть применены микроэмульсии, например, при помощи неионного поверхностно-активного вещества, такого как полисорбат 80 в количестве 0,04-0,05% (мас./об.), для повышения растворимости. Другие компоненты могут включать антиокислители, такие как аскорбиновая кислота, гидрофильные полимеры, такие как моносахара, дисахара, и другие углеводороды, включая целлюлозу и ее производные, декстрины, хелатирующие агенты, такие как ЭДТА, и подобные компоненты, хорошо известные в фармацевтической области, например в Remington's Pharmaceutical Science, latest edition (Mack Publishing Company, Easton, Pa.).

Олигонуклеотиды по изобретению включают их фармацевтически приемлемые соли, включая соли щелочноземельных металлов, например натрия или магния, аммония или  $NX_4^+$ , где X представляет собой  $C_1$ - $C_4$ -алкил. Другие фармацевтически приемлемые соли включают органические карбоновые кислоты, такие как муравьиная, уксусная, молочная, винная, яблочная, изэтиновая, лактобионовая и янтарная кислоты; органические сульфоновые кислоты, такие как метансульфоновая, этансульфоновая, толуолсульфоновая кислота и бензолсульфоновая; и неорганические кислоты, такие как соляная, серная, ортофосфорная и сульфаминовая кислоты. Фармацевтически приемлемые соли соединения, имеющие гидро-кисильную группу, включают анион такого соединения с приемлемым катионом, таким как  $Na^+$ ,  $NH_4^+$  или т.п.

Пациент должен получать достаточную ежедневную дозу олигонуклеотида для достижения эффективной безопасной внутриклеточной концентрации комбинированных олигонуклеотидов. Специалисты в области техники должны быть способны быстро определять соответствующие дозы и схемы введения для того, чтобы удовлетворить специфические условия и потребности пациента.

Эффективность лечения может быть оценена при помощи обычных способов, которые применяют для определения будет ли возникать ремиссия. Такие способы обычно основаны на морфологических, цитохимических, цитогенетических и молекулярных анализах. Кроме того, ремиссия может быть оценена генетически посредством анализа уровня экспрессии одного или более соответствующих генов. Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) может быть применена для определения даже очень небольших количеств транскрипта мРНК.

#### Способы доставки олигонуклеотида.

Олигонуклеотиды и конъюгаты по изобретению предпочтительно могут быть введены субъекту орально или местно, но также могут быть введены внутривенно посредством инъекции. Дизайн носителя разрабатывается соответственно. Альтернативно, олигонуклеотид может быть введен подкожно через дозированные формы с контролируемым высвобождением или обычные препараты для внутривенной инъекции. Предпочтительный способ введения олигонуклеотидов содержит или местную, системную, или регионарную перфузию, как соответствует. Согласно способу регионарной перфузии, приносящие и выносящие сосуды, снабжающие конечность, имеющую повреждение, изолируют и соединяют с низкопоточным перфузионным насосом совместно с оксигенатором и теплообменником. Подвздошные сосуды могут быть применены для перфузии нижней конечности. Подмышечные сосуды высоко канюлируют в подмышечной области для повреждений верхней конечности. Олигонуклеотиды добавляют в перфузионный ток, и перфузию продолжают в течение соответствующего периода времени, например 1 ч. Могут

быть применены скорости перфузии от приблизительно 100 до 150 мл/мин для повреждений нижней конечности, в то же время половина данной скорости должна быть применена для повреждений верхней конечности. Системная гепаринизация может быть применена во время перфузии и завершена после прекращения перфузии. Данная перфузионная техника выделения делает возможным введение более высоких доз химиотерапевтического агента, чем те, которые будут толерантными, при артериальной или системной венозной циркуляции.

В конкретном воплощении олигомеры и конъюгаты по изобретению вводят системно или получают для системного введения.

Для системной инфузии олигонуклеотиды предпочтительно доставляют через центральный венозный катетер, соединенный с соответствующим устройством для непрерывной инфузии. Полостные катетеры обеспечивают долгосрочный доступ к внутривенной циркуляции для частого введения лекарственного средства в течение длительного периода времени. Их обычно хирургически вводят в поверхностную мозговую или внутреннюю яремную вену при общей или местной анестезии.

Подключичная вена является другим распространенным участком катетеризации. Инфузионная помпа может быть внешней или может формировать часть полностью имплантируемой в центральную вену системы, такой как система INFUSAPORT, доступная от Infusaid Corp., Norwood, Mass, и система PORT-A-CATH, доступная от Pharmacia Laboratories, Piscataway, N.J. Данные устройства имплантируют в подкожный мешок при местной анестезии. Катетер, соединенный с впускным отверстием помпы, продевают через подключичную вену к верхней полой вене. Имплант содержит источник олигонуклеотидов в резервуаре, который может быть снова пополнен при необходимости при помощи инъекции дополнительного лекарственного средства из гиподермальной иглы через самовосстанавливающуюся перегородку в резервуаре. Предпочтительны полностью имплантируемые инфузоры, поскольку они обычно хорошо переносятся пациентом ввиду удобства, легкости поддержания и косметических преимуществ таких устройств.

Олигонуклеотиды и конъюгаты по изобретению могут быть введены посредством любого способа, описанного в патенте США 4740463, включенном в данный документ посредством ссылки. Одна из техник представляет собой трансфекцию *in vitro*, которая может быть выполнена посредством различных способов. Один из способов трансфекции включает добавление DEAE-декстрана для усиления захвата депротенинизированных молекул ДНК клетками-реципиентами. См. Me Cutchin, J.H. and Pagano, J.S., J. Natl. Cancer Inst. 41, 351-7 (1968). Другой способ трансфекции представляет собой способ кальций-фосфатной преципитации, который зависит от добавления  $Ca^{2+}$  к фосфатсодержащему раствору ДНК. Получаемый осадок должен включать ДНК в ассоциации с кальций-фосфатными кристаллами. Данные кристаллы располагаются на клеточном монослое; полученное соприкосновение кристаллов и клеточной поверхности приводит к захвату ДНК. Небольшая часть захваченной ДНК экспрессируется в трансфектанте, а также в его клонах. См. Graham, F.L. and van der Eb, A. J., Virology, 52, 456-467 (1973) and Virology, 54, 536-539 (1973).

Трансфекция также может быть выполнена посредством доставки, опосредованной катионными фосфолипидами. В частности, могут быть сформированы поликатионные липосомы из N-[1-(2,3-диолеилокси)пропил]-N,N,N-триметиламмоний хлорид (DOT-MA). См. Felgner et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 84, 7413-7417 (1987) (ДНК-трансфекция); Malone et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 86, 6077-6081 (1989) (РНК-трансфекция).

Для системного или регионарного *in vivo* введения, количества олигонуклеотидов могут варьировать в зависимости от природы и степени заболевания, конкретных используемых олигонуклеотидов и других факторов. Действительные применяемые дозы могут учитывать размер и массу пациента, или учитывать, является ли лечение профилактическим или терапевтическим, возраст, здоровье и пол пациента, путь введения, или учитывать, является ли лечение системным или регионарным, и другие факторы.

Кроме того, введение при помощи обычных фармацевтических носителей, антисмысловых олигонуклеотидов может быть выполнено при помощи различных специализированных способов доставки олигонуклеотидов. Системы замедленного высвобождения, приемлемые для применения с фармацевтическими композициями по изобретению, включают полупроницаемые полимерные матрицы в виде пленок, микрокапсул или т.п., которые могут содержать полилактид; сополимеры L-глутаминовой кислоты и гамма-этил-L-глутамата, поли(2-гидроксиэтилметакрилата), и подобные материалы, например Rosenberg et al., International application PCT/US92/05305.

Олигонуклеотиды и конъюгаты могут быть инкапсулированы в липосомы для терапевтической доставки, как описано, например, в Liposome Technology, Vol. II, Incorporation of Drugs, Proteins, and Genetic Material, CRC Press. Олигонуклеотиды в зависимости от их растворимости могут присутствовать как в водном слое, так и в липидном слое или в том, что обычно называют липосомной суспензией. Гидрофобный слой обычно, но не исключительно, содержит фосфолипиды, такие как лецитин и сфингомиелин, стероиды, такие как холестерол, ионные поверхностно-активные вещества, такие как диацетилфосфат, стеариламин или фосфатидная кислота, и/или другие материалы гидрофобной природы. Также содержащее представляет собой новые катионные амфилилы, называемые "молекулярными зонтиками", которые описаны в (DeLong et al., Nucl. Acid. Res., 1999, 27(16), 3334-3341).

Воплощения настоящего изобретения могут быть доставлены при помощи способов дисперсных систем и/или полимеров. Дисперсные системы и полимеры для *in vitro* и *in vivo* доставки полинуклеотидов подробно рассмотрены Feigner в *Advanced Drug Delivery Reviews*, 5, 163-187 (1990). Способы прямой доставки также описаны в Cook S.T. *Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications*, Marcel Dekker, Inc, 2001.

Пролекарственные средства.

Олигонуклеотиды могут быть синтезированы в качестве пролекарственных средств, несущих липофильные группы, такие как, например, метил-SATE (S-ацетилтиозил) или трет-Bu-SATE (S-пивалоилтиозил) защитные группы, которые придают олигонуклеотиду устойчивость к нуклеазам, улучшают клеточный захват и селективно снимают защиту после введения в клетку, как описано в Vives et. al. *Nucl. Acids Res.* 1999, Vol. 27, 4071-4076.

Кольцевые молекулы.

Олигонуклеотиды могут быть синтезированы в виде кольцевых молекул, в которых 5'- и 3'-концы олигонуклеотидов ковалентно связаны или удерживаются вместе за счет аффинности пары, один из членов которой прикреплен ковалентно к 5'-концу, а другой прикреплен ковалентно к 3'-концу. Такая циркуляризация защищает олигонуклеотид от разрушения экзонуклеазами и может улучшать клеточный захват и распределение. В одном аспекте изобретения группа, связывающая 5'- и 3'-конец кольцевого олигонуклеотида расщепляется автоматически после попадания в любой тип клетки человека или позвоночного, таким образом линеализуя олигонуклеотид и делая его способным к гибридизации с последовательностью-мишенью. В другом аспекте группа, связывающая 5'- и 3'-концы олигонуклеотида, конструируется так, что расщепление предпочтительно происходит только в определенном типе клеток, которые экспрессируют мРНК, являющуюся мишенью для антисмыслового олигонуклеотида. Например, кольцевой антисмысловой олигонуклеотид, направленный против гена, вовлеченного в вирусное заболевание, может быть приведен в действие только за счет линеаризации только в субпопуляции клеток, экспрессирующих интересующий ген, например, HBx или HBsAg HBV.

Дополнительное фармацевтическое вещество.

Олигомеры и олигомерные конъюгаты по изобретению могут быть применены в качестве в первую очередь терапевтических средств для лечения заболевания или могут быть применены в комбинации с не олигонуклеотидными лекарственными средствами.

Соответственно, настоящее изобретение предлагает фармацевтическую систему, содержащую фармацевтическую композицию, как описано в данном документе, и дополнительное фармацевтическое вещество. Дополнительное фармацевтическое вещество может представлять собой любой терапевтический агент, известный в области техники. Например, дополнительное фармацевтическое вещество может представлять собой антитело, небольшую терапевтическую молекулу, полинуклеотид или вектор для генной терапии (например, вектор, способный экспрессировать терапевтические полипептиды или агенты РНК-интерференции).

Таким образом, олигомер или олигомерный конъюгат по настоящему изобретению может быть применен в комбинации с другими активными веществами, например другими противовирусными веществами.

Например, олигомер или олигомерный конъюгат по настоящему изобретению может быть применены в комбинации с другими активными веществами, такими как противовирусные вещества на основе олигонуклеотидов, например противовирусные активные вещества со специфичной олигонуклеотидной последовательностью, действуя или через антисмысловые (включая другие олигомеры LNA), мРНК (такие как ARC520), аптамеры, морфолиновые олигомеры или любые другие противовирусные, основанные на нуклеотидной последовательности способы действия.

Например, олигомер или олигомерный конъюгат по настоящему изобретению может быть применен в комбинации с другими активными веществами, такими как противовирусные соединения, стимулирующие иммунитет, такие как интерферон (например, пегилированный интерферон альфа), TLR7 агонисты (например, GS-9620) или терапевтические вакцины.

Например, олигомер или олигомерный конъюгат по настоящему изобретению может быть применен в сочетании с другими активными веществами, такими как небольшие молекулы, с противовирусной активностью. Такие другие активные вещества могут представлять собой, например, нуклеозид/нуклеотидные ингибиторы (например, энтекавир или тенофовир дизопроксил фумарат), ингибиторов инкапсуляции, ингибиторов входа (например, Mycludex B).

В конкретных воплощениях дополнительный терапевтический агент может представлять собой агент HBV, агент вирус гепатита С (HCV), химиотерапевтический агент, антибиотик, анальгетик, нестероидный противовоспалительный (NSAID) агент, фунгальный агент, антипаразитарный агент, агент против тошноты, противодиарейный агент или иммуносупрессирующий агент.

В конкретных близких воплощениях дополнительный агент HBV может представлять собой интерферон-альфа-2b, интерферон-альфа-2a и интерферон-альфакон-1 (пегилированный и непегилированный), рибавирин; ингибитор репликации РНК HBV; второй антисмысловой олигомер; терапевтическую вакцину против HBV; профилактическую вакцину против HBV; ламивудин (ЗТС); энтекавир (ETV); тенофо-



вирдиизопроксилфумарат (TDF); телбивудин (LdT); адефовир или терапевтическое антитело к HBV (моноклональное или поликлональное).

В других конкретных близких воплощениях дополнительный агент HCV может представлять собой интерферон-альфа-2b, интерферон-альфа-2a и интерферон-альфакон-1 (пегилированный и непегилированный); рибавирин; ингибитор репликации РНК HCV (например, ViroPharma's серии VP50406); антисмысловой агент HCV; терапевтическую вакцину против HCV; ингибитор протеазы HCV; ингибитор геликазы HCV; или моноклональное или поликлональное терапевтическое антитело к HCV.

Дополнительное фармацевтическое вещество может представлять собой олигомер или олигомерный конъюгат, как определено в данном документе.

В конкретных воплощениях фармацевтическая система может содержать по меньшей мере один, по меньшей мере два, по меньшей мере три, до множества олигомеров или олигомерных конъюгатов, предложенных настоящим изобретением.

В конкретных воплощениях дополнительное фармацевтическое вещество может представлять собой олигомер или олигомерный конъюгат способный модулировать последовательность-мишень в HBV. Олигомеры или конъюгаты могут каждый быть способны модулировать последовательность-мишень в HBV HBx или HBsAg. Олигомеры или конъюгаты могут быть способны модулировать последовательность-мишень в HBV, которая не находится внутри HBx или HBsAg. Например, по меньшей мере один олигомер или конъюгат может быть способен модулировать последовательность-мишень внутри гена HBV или мРНК HBsAg, HBeAg, или ДНК полимеразы.

В конкретных воплощениях олигомер или дополнительный олигомер или конъюгат или дополнительный конъюгат могут быть способны модулировать последовательность-мишень в гене HBV или мРНК HBsAg.

В случае применения комбинации олигонуклеотидов, нацеленных на различные последовательности-мишени, соотношение количеств различных типов олигонуклеотида может варьировать в очень широком диапазоне. Согласно одному предпочтительному воплощению изобретения олигонуклеотиды всех типов присутствуют в приблизительно эквивалентных молярных количествах.

Введение и дозировка.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, которые содержат терапевтически эффективное количество конъюгата по изобретению. Композиция может быть получена для применения в различных системах доставки лекарственного средства. Один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов или носителей также могут быть включены в композицию для надлежащего препарата. Приемлемые препараты для применения по настоящему изобретению найдены в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17<sup>th</sup> ed., 1985.

Для краткого обзора способов доставки лекарственного средства см., например, Langer (Science, 249:1527-1533, 1990).

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению предназначены для парентерального, интраназального, местного, орального или локального введения, такого как трансдермальное, для профилактического и/или терапевтического лечения. Фармацевтические композиции могут быть введены парентерально (например, внутривенная, внутримышечная или подкожная инъекция) или посредством перорального приема внутрь, или посредством местного применения или внутрисуставной инъекции. Дополнительные пути введения включают внутрисосудистое, внутриартериальное, внутриопухолевое, интраперитонеальное, интравентрикулярное, интраэпидуральное, а также назальное, офтальмическое, интрасклеральное, интраорбитальное, ректальное местное или аэрозольно-ингаляционное введение. Введение с замедленным высвобождением также отдельно включено в изобретение, посредством инъекции вещества замедленного всасывания или эродируемые импланты или компоненты. Таким образом, изобретение предлагает композиции для парентерального введения, которые содержат вышеупомянутые агенты, растворенные или суспендированные в приемлемом носителе, предпочтительно водном носителе, например, воде, забуференной воде, солевом растворе, PBS и т.п. Композиции могут содержать фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, требуемые для аппроксимации физиологических условий, такие как агенты регуляции pH и забуферивающие агенты, агенты, регулирующие тоничность, увлажняющие агенты, детергенты и т.п. Изобретение также предлагает композиции для оральной доставки, которые могут содержать инертные ингредиенты, такие как связующие вещества или наполнители для получения таблетки, капсулы и т.п. Более того, данное изобретение предлагает композиции для локального введения, которые могут содержать инертные ингредиенты, такие как растворители или эмульгаторы для получения крема, мази и т.п.

В конкретном воплощении олигомеры и конъюгаты по изобретению вводят подкожно или получают для подкожного введения.

Данные композиции могут быть стерилизованы обычными способами стерилизации, например стерильным фильтрованием. Полученные водные растворы могут быть упакованы как есть или лиофилизированы, лиофилизированный препарат комбинируют со стерильным водным носителем перед введением. pH препаратов будет составлять от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 или от 6 до 8 и наиболее предпочтительно от 7 до 8, например от 7 до 7,5. Полученные композиции в твердой форме могут быть

упакованы в виде множественных дозированных форм, каждая, содержащих фиксированное количество вышеупомянутого агента или агентов, таких как запаянная упаковка таблеток или капсул. Композиция в твердой форме может также быть упакована в гибкий контейнер, такой как сжимаемая туба, разработанная для местно применяемого крема или мази.

Композиции, содержащие эффективное количество, могут быть введены для профилактического или терапевтического лечения. В профилактических применениях композиции могут быть введены субъекту с клинически определенной предрасположенностью или повышенной чувствительностью к развитию опухоли или рака, нейродегенеративного заболевания или лизосомального расстройства. Композиции по изобретению могут быть введены пациенту (например, человеку) в количестве, достаточном для задержки, уменьшения или предпочтительно предупреждения возникновения клинического заболевания или опухолеобразования. В терапевтических применениях композиции вводят субъекту (например, человеку), уже страдающему заболеванием (например, рак, нейродегенеративное расстройство или лизосомальная болезнь накопления), в количестве, достаточном для лечения или, по меньшей мере частичного, прекращения симптомов состояния и его осложнений. Количество, подходящее для удовлетворения данной цели, определено в виде "терапевтически эффективной дозы" количества соединения, достаточного для существенного улучшения некоего симптома, ассоциированного с заболеванием или медицинским состоянием. Например, при лечении рака, нейродегенеративного заболевания или лизосомальной болезни накопления агент или соединение, которое снижает, предотвращает, задерживает, подавляет или останавливает любой симптом заболевания или состояния будет терапевтически эффективным. Терапевтически эффективное количество агента или соединения не требуется для лечения заболевания или состояния, но будет обеспечивать лечение заболевания или состояния, так что возникновение заболевания или состояния задерживается, блокируется или предотвращается или заболевание или симптомы состояния улучшаются, или термин заболевание или состояние изменен или, например, является менее серьезным, или восстановление усилено у индивидуума. Количества, эффективные для данного применения, могут зависеть от серьезности заболевания или состояния и массы и общего состояния пациента, но обычно варьируют от приблизительно 0,5 до приблизительно 3000 мг агента или агентов на дозу на пациента. Приемлемые режимы для начального введения и бустерные введения типизированы посредством начального введения с последующими повторными дозами в интервал 1 ч или более, 1 день, 1 неделя или 1 месяц при помощи последующего введения. Общее эффективное количество агента, присутствующего в композициях по изобретению, может быть введено млекопитающему в виде единичной дозы или в виде болюса или посредством инфузии через относительно короткие периоды времени или может быть введено при помощи фракционированного протокола лечения, в котором множественные дозы вводят в течение более длительного периода времени (например, доза каждые 4-6, 8-12, 14-16 или 18-24 ч или каждые 2-4 дня, 1-2 недели, раз в месяц). Альтернативно предполагают непрерывную внутривенную инфузию, достаточную для поддержания терапевтически эффективных концентраций в крови.

Терапевтически эффективное количество одного или более агентов, присутствующее внутри композиций по изобретению и применяемое в способах применения данного изобретения у млекопитающих (например, людей), может быть определено специалистами в области техники при рассмотрении индивидуальных различий в возрасте, массе и состоянии млекопитающего. Агенты по изобретению вводят субъекту (например, млекопитающему, такому как человек) в эффективном количестве, которое дает желаемый результат у субъекта, получающего лечение (например, замедление или ремиссию рака или нейродегенеративного расстройства). Терапевтически эффективные количества могут быть определены эмпирически специалистами в области техники.

Пациент также может получать агент в диапазоне от приблизительно 0,1 до 3000 мг на дозу один или более раз в неделю (например, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 или более раз в неделю), 0,1-2500 мг дозы в неделю (например, 2000, 1500, 1000, 500, 100, 10, 1, 0,5 или 0,1). Пациент также может получать агент композиции в диапазоне от приблизительно 0,1 до 3000 мг на дозу раз в две или три недели. Единичные или множественные применения композиций по изобретению, содержащие эффективные количества, могут быть выполнены с уровнями доз и паттерном, выбранными лечащим врачом. Доза и схема введения могут быть определены и подведены на основании тяжести заболевания или состояния у пациента, которое может быть мониторируемо во время курса лечения согласно способам, широко практикуемым клиницистами или таковым, описанным в данном документе.

Носитель и конъюгаты по настоящему изобретению могут быть применены в комбинации с или обычными способами лечения или терапией или могут быть применены отдельно от обычных способов лечения или терапии.

В случае, когда конъюгаты по данному изобретению вводят в комбинации с терапиями другими агентами, они могут быть введены индивидууму последовательно или параллельно. Альтернативно, фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут входить в состав комбинации с конъюгатом носитель-агент по настоящему изобретению в ассоциации с фармацевтически приемлемым эксципиентом, как описано в данном документе, и другим терапевтическим или профилактическим агентом, известным в области техники.

Дальнейшие применения.

Олигомеры по изобретению могут быть применены в качестве исследовательских реагентов, например, для диагностики, терапии или профилактики.

При исследовании такие олигомеры могут быть применены для специфичного ингибирования экспрессии продукта последовательности-мишени (обычно посредством деградации или ингибирования мРНК и таким образом предотвращения образования белка) в клетках и экспериментальных животных, таким образом усиливая функциональный анализ мишени или оценки ее полезности в качестве мишени для терапевтического вмешательства.

В диагностике олигомеры могут быть применены для детекции и количественного анализа продукта экспрессии последовательности-мишени в клетках или тканях при помощи Нозерн-блота, гибридизации *in situ* или сходных техник.

В случае терапии животное или человека, предположительно имеющего заболевание или расстройство, которые могут быть вылечены посредством модулирования экспрессии последовательности-мишени, лечат при помощи введения олигомерных соединений по данному изобретению. Предложенное в дальнейшем представляет собой способы лечения млекопитающего, такие как лечение человека, предположительно имеющего склонность к заболеванию или состоянию, ассоциированному с экспрессией последовательности-мишени посредством введения терапевтически или профилактически эффективного количества одного или более олигомеров или композиций по изобретению. Олигомер, конъюгат или фармацевтическую композицию по изобретению обычно вводят в эффективном количестве.

Изобретение также предлагает применение соединения или конъюгата по изобретению, как описано в данном документе, для производства лекарственного препарата для лечения заболевания, упоминаемого в данном документе, или способ лечения заболевания, упоминаемого в данном документе.

Изобретение также предлагает способ лечения заболевания, упоминаемого в данном документе, упомянутый способ, содержащий введение соединения по изобретению, как описано в данном документе, и/или фармацевтической композиции по изобретению пациенту, нуждающемуся в этом.

Вирусные заболевания.

Олигомеры, олигомерные конъюгаты и другие композиции по изобретению могут быть применены для лечения состояний, ассоциированных с последовательностью-мишенью, таких как повышенная экспрессия или экспрессия мутированного варианта последовательности-мишени.

Изобретение в дальнейшем предлагает применение соединения по изобретению при производстве лекарственного препарата для лечения заболевания, расстройства или состояния, упоминаемых в данном документе.

В контексте настоящего изобретения упомянутое заболевание, расстройство или состояние могут представлять собой вирусное заболевание.

В одном воплощении вирусное заболевание ассоциировано с экспрессией или повышенной экспрессией HBx или HBsAg. Вирусное заболевание может представлять собой заболевание, ассоциированное с HBV. Примеры таких вирусных заболеваний включают, но не ограничены, гепатит В, цирроз, рак печени (например, гепатоклеточную карциному), холангиокарциному.

В одном воплощении вирусное заболевание представляет собой гепатит В. Как будет понятно специалистам в области техники, термин "гепатит В" в контексте настоящего изобретения относится к инфекционному заболеванию печени, вызываемому HBV. Гепатит В может быть острым или хроническим. Острое заболевание вызывает воспаление печени, рвоту, разлитие желчи и изредка смерть. Хронический гепатит В может вызывать цирроз и рак печени.

В одном воплощении вирусное заболевание представляет собой цирроз. Как будет понятно специалистам в области техники, термин "цирроз" в контексте настоящего изобретения относится к прогрессирующему заболеванию печени, характеризующемуся присутствием фиброза и регенеративных узлов в печени. Данные изменения могут привести к потере функции печени.

В одном воплощении вирусное заболевание представляет собой рак печени. Как будет понятно специалистам в области техники, термин "рак печени" в контексте настоящего изобретения относится к злокачественному заболеванию, которое возникает в печени.

В одном воплощении вирусное заболевание представляет собой гепатоклеточную карциному (HCC). Как будет понятно специалистам в области техники, термин "HCC" в контексте настоящего изобретения относится к типу рака печени, который обычно возникает вторично после вирусной гепатитной инфекции, например гепатита В. Макроскопически, HCC выглядит как узелковая или инфильтрирующая опухоль. Узелковый тип может быть солитарным (большая масса) или множественным (когда развивается как осложнение после цирроза). Опухолевые узелки выглядят овальными, серыми или зелеными (если опухоль продуцирует желчь), хорошо очерченными, но не инкапсулированными. Диффузный тип хуже очерчен и инфильтрирует портальные вены или печеночные вены (редко). Микроскопически существуют четыре архитектурных и цитологических типа (паттерна) HCC: фиброламеллярный, псевдожелезистый (аденоидный), плеоморфный (гигантно-клеточный) и светлоклеточный. В хорошо дифференцируемых формах опухолевые клетки, похожие на гепатоциты, формируют трабекулы, тяжи и скопления и могут содержать желчный пигмент в цитоплазме. В плохо дифференцируемых формах зло-

качественные эпителиальные клетки являются несвязанными, плеоморфными, анапластическими, гигантскими. Опухоль имеет ограниченную строму и центральный некроз из-за плохой васкуляризации.

В одном воплощении вирусное заболевание представляет собой холангиокарциному. Как будет понятно специалистам в области техники, термин "холангиокарцинома" в контексте настоящего изобретения относится к форме рака, который состоит из мутированных эпителиальных клеток (или клеток, проявляющих характеристики эпителиальной дифференциации), которые возникают в желчных протоках, дренирующих желчь из печени в тонкий кишечник.

В то время как различные воплощения, раскрытые в данном документе, относятся к вирусному заболеванию, ассоциированному с инфекцией HBV, настоящее изобретение не ограничено данными примерами воплощений. Скорее, настоящее изобретение применимо к любому расстройству, ассоциированному с вирусной инфекцией.

Обычно один аспект изобретения направлен на способ лечения млекопитающего, страдающего от или чувствительного к состояниям, ассоциированным с ненормальными уровнями экспрессии продукта последовательности-мишени, содержащий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества олигомера, нацеленного на последовательность-мишень. Олигомер по изобретению может содержать одно или более звено LNA. Олигомер, конъюгат или фармацевтическую композицию по изобретению обычно вводят в эффективном количестве.

Интересный аспект изобретения направлен на применение олигомера (соединения), как определено в данном документе, или олигомерного конъюгата, как определено в данном документе, для получения лекарственного препарата для лечения заболевания, расстройства или состояния, как упомянуто в данном документе.

Способы по изобретению предпочтительно применяют для лечения или профилактики заболеваний, вызванных ненормальными уровнями HBx или HBsAg.

Альтернативно, в некоторых воплощениях изобретение в дальнейшем направлено на способ лечения ненормальных уровней HBx или HBsAg, упомянутый способ, содержащий введение олигомера по изобретению или конъюгата по изобретению пациенту, нуждающемуся в этом.

Изобретение также относится к олигомеру, композиции или олигомерному конъюгату, как определено в данном документе, для применения в качестве лекарственного препарата.

Изобретение в дальнейшем относится к применению соединения или конъюгата, как определено в данном документе, для производства лекарственного препарата для лечения ненормальных уровней HBx или HBsAg или экспрессии мутантных форм HBx или HBsAg (таких как аллельные варианты, такие как таковые, ассоциированные с одним из заболеваний, упомянутых в данном документе).

Более того, изобретение относится к способу лечения субъекта, страдающего от заболевания или состояния, как такового, упомянутого в данном документе.

Пациент, который нуждается в лечении, представляет собой пациента, страдающего от или вероятно страдающего от заболевания или расстройства.

#### **Примеры олигомеров**

Примеры олигомеров для применения по настоящему изобретению представлены в следующих таблицах.

Табл. 1 показывает долю консервативности внутри всех опубликованных полноразмерных геномных последовательностей генотипов A, B, C и D (GenBank), означая, что данный олигомерный мотив будет на 100% комплементарен данной части последовательностей-мишеней внутри генотипа. Все олигомерные мотивы выбраны так, что они будут, по существу, нацелены почти на все последовательности внутри генотипов A, B, C и D, таким образом делая возможным лечение индивидуума, инфицированного любым из данных четырех генотипов.

Таблица 1. Мотивы олигонуклеотидной последовательности, примененные для дизайна модифицированных олигонуклеотидов LNA.

| SEQ ID NO | мишень HBx | мишень HBsAg | Стартовая позиция U95551 | Мотив олигонуклеотидной последовательности | Доля консервативности внутри всех последовательностей генотипа |      |      |      |
|-----------|------------|--------------|--------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|------|------|------|
|           |            |              |                          |                                            | A                                                              | B    | C    | D    |
| SeqID 29  |            | X            | 201                      | AAAACCCCGCCTGT                             | 0,97                                                           | 0,98 | 0,95 | 0,99 |
| SeqID 30  |            | X            | 202                      | AAAACCCCGCCTG                              | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID 31  |            | X            | 245                      | ACGAGTCTAGACTCT                            | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID 32  |            | X            | 245                      | CACGAGTCTAGACTCT                           | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID 33  |            | X            | 246                      | ACGAGTCTAGACTC                             | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID 34  |            | X            | 246                      | CACGAGTCTAGACTC                            | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID 35  |            | X            | 246                      | CCACGAGTCTAGACTC                           | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID 36  |            | X            | 247                      | ACGAGTCTAGACT                              | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID 37  |            | X            | 247                      | CACGAGTCTAGACT                             | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID 38  |            | X            | 247                      | CCACGAGTCTAGACT                            | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID 39  |            | X            | 247                      | ACCACGAGTCTAGACT                           | 0,96                                                           | 0,98 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID 40  |            | X            | 248                      | ACGAGTCTAGAC                               | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID 41  |            | X            | 248                      | CACGAGTCTAGAC                              | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID 42  |            | X            | 248                      | CCACGAGTCTAGAC                             | 0,96                                                           | 0,97 | 0,97 | 0,97 |

|             |  |   |     |                  |      |      |      |      |
|-------------|--|---|-----|------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>43 |  | X | 248 | ACCACGAGTCTAGAC  | 0,96 | 0,97 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>44 |  | X | 248 | CACCACGAGTCTAGAC | 0,99 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>45 |  | X | 249 | ACCACGAGTCTAGA   | 0,99 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>46 |  | X | 249 | CACCACGAGTCTAGA  | 0,99 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>47 |  | X | 249 | CCACCACGAGTCTAGA | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>48 |  | X | 250 | CCACCACGAGTCTAG  | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>49 |  | X | 250 | TCCACCACGAGTCTAG | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>50 |  | X | 251 | CCACCACGAGTCTA   | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>51 |  | X | 251 | TCCACCACGAGTCTA  | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>52 |  | X | 251 | GTCCACCACGAGTCTA | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>53 |  | X | 252 | TCCACCACGAGTCT   | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>54 |  | X | 252 | GTCCACCACGAGTCT  | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>55 |  | X | 252 | AGTCCACCACGAGTCT | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>56 |  | X | 253 | GTCCACCACGAGTC   | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID       |  | X | 253 | AGTCCACCACGAGTC  | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |

|             |  |   |     |                      |      |      |      |      |
|-------------|--|---|-----|----------------------|------|------|------|------|
| 57          |  |   |     |                      |      |      |      |      |
| SeqID<br>58 |  | X | 253 | AAGTCCACCACGAGTC     | 0,98 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>59 |  | X | 254 | AGTCCACCACGAGT       | 0,98 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>60 |  | X | 254 | AAGTCCACCACGAGT      | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,99 |
| SeqID<br>61 |  | X | 254 | GAAGTCCACCACGAG<br>T | 0,98 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>62 |  | X | 255 | AAGTCCACCACGAG       | 0,98 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>63 |  | X | 255 | GAAGTCCACCACGAG      | 0,97 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>64 |  | X | 255 | AGAAGTCCACCACGA<br>G | 0,97 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>65 |  | X | 256 | AGAAGTCCACCACGA      | 0,97 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>66 |  | X | 256 | GAGAAGTCCACCACG<br>A | 0,97 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>67 |  | X | 257 | GAGAAGTCCACCACG      | 0,97 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>68 |  | X | 257 | AGAGAAGTCCACCAC<br>G | 0,98 | 0,99 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>69 |  | X | 258 | GAGAGAAGTCCACCA<br>C | 0,98 | 0,99 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>70 |  | X | 259 | GAGAGAAGTCCACCA      | 0,98 | 0,99 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>71 |  | X | 259 | TGAGAGAAGTCCACCA     | 0,98 | 0,99 | 0,98 | 0,99 |

|             |  |   |     |                  |      |      |      |      |
|-------------|--|---|-----|------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>72 |  | X | 260 | GAGAGAAGTCCACC   | 0,98 | 0,99 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>73 |  | X | 260 | TGAGAGAAGTCCACC  | 0,98 | 0,99 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>74 |  | X | 261 | TGAGAGAAGTCCAC   | 0,99 | 0,96 | 0,95 | 0,98 |
| SeqID<br>75 |  | X | 384 | AAAACGCCGCAGA    | 0,98 | 0,96 | 0,95 | 0,98 |
| SeqID<br>76 |  | X | 384 | TAAAACGCCGCAGA   | 0,98 | 0,96 | 0,95 | 0,97 |
| SeqID<br>77 |  | X | 384 | ATAAAACGCCGCAGA  | 0,98 | 0,96 | 0,95 | 0,97 |
| SeqID<br>78 |  | X | 384 | GATAAAACGCCGCAGA | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>79 |  | X | 385 | ATAAAACGCCGCAG   | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>80 |  | X | 385 | GATAAAACGCCGCAG  | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>81 |  | X | 385 | TGATAAAACGCCGCAG | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>82 |  | X | 386 | ATAAAACGCCGCA    | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>83 |  | X | 386 | GATAAAACGCCGCA   | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>84 |  | X | 386 | TGATAAAACGCCGCA  | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>85 |  | X | 386 | ATGATAAAACGCCGCA | 0,98 | 0,98 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID       |  | X | 387 | ATAAAACGCCGC     | 0,98 | 0,98 | 0,97 | 0,98 |



|              |  |   |     |                  |      |      |      |      |
|--------------|--|---|-----|------------------|------|------|------|------|
| 86           |  |   |     |                  |      |      |      |      |
| SeqID<br>87  |  | X | 387 | GATAAAACGCCGC    | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>88  |  | X | 387 | TGATAAAACGCCGC   | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>89  |  | X | 387 | ATGATAAAACGCCGC  | 0,98 | 0,98 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>90  |  | X | 388 | GATAAAACGCCG     | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>91  |  | X | 388 | TGATAAAACGCCG    | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>92  |  | X | 388 | ATGATAAAACGCCG   | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>93  |  | X | 389 | TGATAAAACGCC     | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>94  |  | X | 389 | ATGATAAAACGCC    | 0,98 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>95  |  | X | 390 | ATGATAAAACGC     | 1,00 | 0,99 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>96  |  | X | 411 | TAGCAGCAGGATG    | 1,00 | 0,99 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>97  |  | X | 411 | ATAGCAGCAGGATG   | 1,00 | 0,99 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>98  |  | X | 411 | CATAGCAGCAGGATG  | 1,00 | 0,98 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>99  |  | X | 411 | GCATAGCAGCAGGATG | 1,00 | 0,99 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>100 |  | X | 412 | GCATAGCAGCAGGAT  | 1,00 | 0,99 | 0,98 | 0,97 |

|              |  |   |     |                      |      |      |      |      |
|--------------|--|---|-----|----------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>101 |  | X | 412 | GGCATAGCAGCAGGAT     | 0,99 | 0,98 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>102 |  | X | 414 | GAGGCATAGCAGCAG<br>G | 0,99 | 0,98 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>103 |  | X | 415 | TGAGGCATAGCAGCAG     | 0,99 | 0,98 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>104 |  | X | 416 | TGAGGCATAGCAGCA      | 0,99 | 0,97 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>105 |  | X | 416 | ATGAGGCATAGCAGCA     | 0,99 | 0,98 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>106 |  | X | 417 | TGAGGCATAGCAGC       | 0,99 | 0,97 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>107 |  | X | 417 | ATGAGGCATAGCAGC      | 0,99 | 0,97 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>108 |  | X | 417 | GATGAGGCATAGCAGC     | 1,00 | 0,97 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>109 |  | X | 418 | GATGAGGCATAGCAG      | 1,00 | 0,97 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>110 |  | X | 418 | AGATGAGGCATAGCAG     | 1,00 | 0,97 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>111 |  | X | 419 | GATGAGGCATAGCA       | 1,00 | 0,97 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>112 |  | X | 419 | AGATGAGGCATAGCA      | 1,00 | 0,97 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>113 |  | X | 419 | AAGATGAGGCATAGCA     | 1,00 | 0,96 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>114 |  | X | 422 | AAGAAGATGAGGCATA     | 1,00 | 0,96 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID        |  | X | 423 | AAGAAGATGAGGCAT      | 0,98 | 0,99 | 1,00 | 0,99 |

|              |  |   |     |                  |      |      |      |      |
|--------------|--|---|-----|------------------|------|------|------|------|
| 115          |  |   |     |                  |      |      |      |      |
| SeqID<br>116 |  | X | 601 | TGGGATGGGAATACA  | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>117 |  | X | 601 | ATGGGATGGGAATACA | 0,98 | 0,99 | 1,00 | 0,99 |
| SeqID<br>118 |  | X | 602 | TGGGATGGGAATAC   | 0,98 | 0,99 | 1,00 | 0,99 |
| SeqID<br>119 |  | X | 602 | ATGGGATGGGAATAC  | 0,97 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>120 |  | X | 602 | GATGGGATGGGAATAC | 0,98 | 0,99 | 1,00 | 0,99 |
| SeqID<br>121 |  | X | 603 | ATGGGATGGGAATA   | 0,97 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>122 |  | X | 603 | GATGGGATGGGAATA  | 0,97 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>123 |  | X | 604 | GATGGGATGGGAAT   | 0,99 | 0,97 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>834 |  |   | 670 | TAGTAACTGAGCCA   |      |      |      |      |
| SeqID<br>835 |  |   | 670 | CTAGTAACTGAGCCA  |      |      |      |      |
| SeqID<br>836 |  |   | 671 | CTAGTAACTGAGCC   |      |      |      |      |
| SeqID<br>837 |  |   | 674 | GCACTAGTAACTGA   |      |      |      |      |
| SeqID<br>838 |  |   | 674 | GGCACTAGTAACTGA  |      |      |      |      |
| SeqID<br>124 |  | X | 691 | AACCACTGAACAAA   | 0,99 | 0,97 | 0,96 | 0,98 |

|              |  |   |      |                  |      |      |      |      |
|--------------|--|---|------|------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>4   |  | X | 691  | GAACCACTGAACAAA  | 0,99 | 0,97 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>5   |  | X | 691  | CGAACCACTGAACAAA | 0,99 | 0,97 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>6   |  | X | 692  | CGAACCACTGAACAA  | 0,99 | 0,97 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>7   |  | X | 693  | CGAACCACTGAACA   | 0,99 | 0,98 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>8   |  | X | 694  | CGAACCACTGAAC    | 0,99 | 0,98 | 0,96 | 0,98 |
| SeqID<br>125 |  | X | 695  | CGAACCACTGAA     | 0,98 | 0,97 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>126 |  | X | 708  | GGGGGAAAGCCCT    | 0,97 | 0,97 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>127 |  | X | 708  | TGGGGGAAAGCCCT   | 0,99 | 0,97 | 0,97 | 0,99 |
| SeqID<br>839 |  |   | 1141 | CAACGGGGTAAAGGT  |      |      |      |      |
| SeqID<br>128 |  | X | 1142 | GCAACGGGGTAAAGG  | 0,99 | 0,97 | 0,97 | 0,99 |
| SeqID<br>129 |  | X | 1143 | GCAACGGGGTAAAG   | 0,99 | 0,97 | 0,97 | 0,99 |
| SeqID<br>130 |  | X | 1144 | GCAACGGGGTAAA    | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,99 |
| SeqID<br>131 |  | X | 1176 | AGCAAACACTTGGCA  | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,99 |
| SeqID<br>132 |  | X | 1176 | CAGCAAACACTTGGCA | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,99 |
| SeqID        |  | X | 1177 | CAGCAAACACTTGGC  | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,99 |

|              |   |   |      |                  |      |      |      |      |
|--------------|---|---|------|------------------|------|------|------|------|
| 133          |   |   |      |                  |      |      |      |      |
| SeqID<br>134 |   | X | 1177 | TCAGCAAACACTTGGC | 0,99 | 0,98 | 0,97 | 0,99 |
| SeqID<br>135 |   | X | 1178 | TCAGCAAACACTTGG  | 0,98 | 0,96 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>840 |   |   | 1261 | CAGTATGGATCGGCA  |      |      |      |      |
| SeqID<br>136 | x |   | 1264 | GCAGTATGGATCG    | 0,98 | 0,95 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>137 | x |   | 1264 | CGCAGTATGGATCG   | 0,98 | 0,95 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>9   | x |   | 1264 | CCGCAGTATGGATCG  | 0,98 | 0,95 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>138 | x |   | 1264 | TCCGCAGTATGGATCG | 0,98 | 0,95 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>832 |   |   | 1264 | CCGCAGTATGGATCG  |      |      |      |      |
| SeqID<br>10  | x |   | 1265 | CGCAGTATGGATC    | 0,98 | 0,95 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>139 | x |   | 1265 | CCGCAGTATGGATC   | 0,98 | 0,95 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>140 | x |   | 1265 | TCCGCAGTATGGATC  | 0,99 | 0,96 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID<br>841 |   |   | 1265 | TTCCGCAGTATGGATC |      |      |      |      |
| SeqID<br>842 |   |   | 1266 | TTCCGCAGTATGGAT  |      |      |      |      |
| SeqID<br>843 |   |   | 1266 | GTTCCGCAGTATGGAT |      |      |      |      |

|              |   |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>141 | x |  | 1266 | CGCAGTATGGAT         | 0,99 | 0,96 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID<br>142 | x |  | 1266 | CCGCAGTATGGAT        | 0,99 | 0,96 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID<br>143 | x |  | 1266 | TCCGCAGTATGGAT       | 0,99 | 0,96 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID<br>144 | x |  | 1267 | TCCGCAGTATGGA        | 0,99 | 0,95 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID<br>844 |   |  | 1267 | GTTCCGCAGTATGGA      |      |      |      |      |
| SeqID<br>845 |   |  | 1267 | AGTTCCGCAGTATGGA     |      |      |      |      |
| SeqID<br>846 |   |  | 1268 | AGTTCCGCAGTATGG      |      |      |      |      |
| SeqID<br>847 |   |  | 1268 | GAGTTCCGCAGTATGG     |      |      |      |      |
| SeqID<br>848 |   |  | 1269 | GAGTTCCGCAGTATG      |      |      |      |      |
| SeqID<br>849 |   |  | 1269 | GGAGTTCCGCAGTATG     |      |      |      |      |
| SeqID<br>145 | x |  | 1269 | TTCCGCAGTATG         | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>850 |   |  | 1525 | TAAAGAGAGGTGCGC<br>C |      |      |      |      |
| SeqID<br>851 |   |  | 1526 | TAAAGAGAGGTGCGC      |      |      |      |      |
| SeqID<br>852 |   |  | 1526 | GTAAAGAGAGGTGCG<br>C |      |      |      |      |
| SeqID        |   |  | 1527 | GTAAAGAGAGGTGCG      |      |      |      |      |

|              |   |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| 853          |   |  |      |                      |      |      |      |      |
| SeqID<br>854 |   |  | 1527 | CGTAAAGAGAGGTGC<br>G |      |      |      |      |
| SeqID<br>855 |   |  | 1528 | CGTAAAGAGAGGTGC      |      |      |      |      |
| SeqID<br>856 |   |  | 1528 | GCGTAAAGAGAGGTG<br>C |      |      |      |      |
| SeqID<br>857 |   |  | 1529 | GCGTAAAGAGAGGTG      |      |      |      |      |
| SeqID<br>858 |   |  | 1529 | CGCGTAAAGAGAGGT<br>G |      |      |      |      |
| SeqID<br>146 | x |  | 1530 | CGTAAAGAGAGGT        | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>11  | x |  | 1530 | GCGTAAAGAGAGGT       | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>12  | x |  | 1530 | CGCGTAAAGAGAGGT      | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>147 | x |  | 1530 | CCGCGTAAAGAGAGG<br>T | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>148 | x |  | 1531 | CGTAAAGAGAGG         | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>13  | x |  | 1531 | GCGTAAAGAGAGG        | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>149 | x |  | 1531 | CGCGTAAAGAGAGG       | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>150 | x |  | 1531 | CCGCGTAAAGAGAGG      | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>151 | x |  | 1532 | CGCGTAAAGAGAG        | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |

|              |   |  |      |                   |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|-------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>152 | x |  | 1532 | CCGCGTAAAGAGAG    | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>153 | x |  | 1533 | CGCGTAAAGAGA      | 0,99 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>154 | x |  | 1533 | CCGCGTAAAGAGA     | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>155 | x |  | 1534 | CCGCGTAAAGAG      | 0,98 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>156 | x |  | 1547 | GGCACAGACGGGGAG   | 0,98 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>157 | x |  | 1547 | AGGCACAGACGGGGAG  | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>158 | x |  | 1548 | GGCACAGACGGGGGA   | 0,98 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>159 | x |  | 1548 | AGGCACAGACGGGGGA  | 0,98 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>160 | x |  | 1548 | AAGGCACAGACGGGGGA | 0,98 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>161 | x |  | 1549 | AGGCACAGACGGGGG   | 0,98 | 0,98 | 0,99 | 1,00 |
| SeqID<br>162 | x |  | 1549 | AAGGCACAGACGGGGG  | 0,98 | 0,97 | 0,99 | 0,99 |
| SeqID<br>163 | x |  | 1549 | GAAGGCACAGACGGGG  | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>164 | x |  | 1550 | AGAAGGCACAGACGGGG | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>14  | x |  | 1551 | AGAAGGCACAGACGG   | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID        | x |  | 1551 | GAGAAGGCACAGACG   | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |



|              |   |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| 15           |   |  |      | G                    |      |      |      |      |
| SeqID<br>165 | x |  | 1552 | GAGAAGGCACAGACG      | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>859 |   |  | 1552 | TGAGAAGGCACAGAC<br>G |      |      |      |      |
| SeqID<br>16  | x |  | 1577 | GAAGTGCACACGG        | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>166 | x |  | 1577 | CGAAGTGCACACGG       | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>17  | x |  | 1577 | GCGAAGTGCACACGG      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>18  | x |  | 1577 | AGCGAAGTGCACACG<br>G | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>19  | x |  | 1578 | CGAAGTGCACACG        | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>167 | x |  | 1578 | GCGAAGTGCACACG       | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>20  | x |  | 1578 | AGCGAAGTGCACACG      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>21  | x |  | 1578 | AAGCGAAGTGCACAC<br>G | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>168 | x |  | 1579 | GCGAAGTGCACAC        | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>169 | x |  | 1579 | AGCGAAGTGCACAC       | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>170 | x |  | 1579 | AAGCGAAGTGCACAC      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>171 | x |  | 1579 | GAAGCGAAGTGCACA<br>C | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |

|              |   |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>172 | x |  | 1580 | AGCGAAGTGCACA        | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>173 | x |  | 1580 | AAGCGAAGTGCACA       | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>22  | x |  | 1580 | GAAGCGAAGTGCACA      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>174 | x |  | 1580 | TGAAGCGAAGTGCAC<br>A | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>175 | x |  | 1581 | AAGCGAAGTGCAC        | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>176 | x |  | 1581 | GAAGCGAAGTGCAC       | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>177 | x |  | 1581 | TGAAGCGAAGTGCAC      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>178 | x |  | 1581 | GTGAAGCGAAGTGCA<br>C | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>179 | x |  | 1582 | AAGCGAAGTGCA         | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>180 | x |  | 1582 | GAAGCGAAGTGCA        | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>181 | x |  | 1582 | TGAAGCGAAGTGCA       | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>182 | x |  | 1582 | GTGAAGCGAAGTGCA      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>23  | x |  | 1582 | GGTGAAGCGAAGTGC<br>A | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>183 | x |  | 1583 | TGAAGCGAAGTGC        | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID        | x |  | 1583 | GTGAAGCGAAGTGC       | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |

|              |   |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| 184          |   |  |      |                      |      |      |      |      |
| SeqID<br>24  | x |  | 1583 | GGTGAAGCGAAGTGC      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>25  | x |  | 1583 | AGGTGAAGCGAAGTG<br>C | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>185 | x |  | 1584 | GTGAAGCGAAGTG        | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>186 | x |  | 1584 | GGTGAAGCGAAGTG       | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>26  | x |  | 1584 | AGGTGAAGCGAAGTG      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>187 | x |  | 1584 | GAGGTGAAGCGAAGT<br>G | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>188 | x |  | 1585 | GTGAAGCGAAGT         | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>189 | x |  | 1585 | GGTGAAGCGAAGT        | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>27  | x |  | 1585 | AGGTGAAGCGAAGT       | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>190 | x |  | 1585 | GAGGTGAAGCGAAGT      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>191 | x |  | 1585 | AGAGGTGAAGCGAAG<br>T | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>192 | x |  | 1586 | AGAGGTGAAGCGAAG      | 0,98 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>193 | x |  | 1586 | CAGAGGTGAAGCGAA<br>G | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |
| SeqID<br>194 | x |  | 1587 | AGAGGTGAAGCGAA       | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,96 |

|              |   |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>195 | x |  | 1587 | CAGAGGTGAAGCGAA      | 0,99 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>196 | x |  | 1587 | GCAGAGGTGAAGCGA<br>A | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,97 |
| SeqID<br>28  | x |  | 1588 | CAGAGGTGAAGCGA       | 0,99 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>197 | x |  | 1588 | GCAGAGGTGAAGCGA      | 0,99 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>198 | x |  | 1588 | TGCAGAGGTGAAGCG<br>A | 0,99 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>199 | x |  | 1589 | TGCAGAGGTGAAGCG      | 0,99 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>200 | x |  | 1589 | GTGCAGAGGTGAAGC<br>G | 0,99 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>201 | x |  | 1590 | CGTGCAGAGGTGAAG<br>C | 0,99 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>202 | x |  | 1591 | CGTGCAGAGGTGAAG      | 0,99 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>203 | x |  | 1591 | ACGTGCAGAGGTGAA<br>G | 1,00 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>204 | x |  | 1592 | CGTGCAGAGGTGAA       | 1,00 | 0,99 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>205 | x |  | 1592 | ACGTGCAGAGGTGAA      | 1,00 | 0,99 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>206 | x |  | 1593 | CGTGCAGAGGTGA        | 1,00 | 0,99 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>207 | x |  | 1593 | ACGTGCAGAGGTGA       | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID        | x |  | 1616 | CGTTCACGGTGGT        | 0,98 | 0,96 | 0,96 | 0,95 |

|              |   |  |      |                  |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|------------------|------|------|------|------|
| 208          |   |  |      |                  |      |      |      |      |
| SeqID<br>209 | x |  | 1690 | CTCAAGGTCGGTC    | 0,99 | 0,97 | 0,98 | 0,96 |
| SeqID<br>860 |   |  | 1690 | GCCTCAAGGTCGGTC  |      |      |      |      |
| SeqID<br>210 | x |  | 1691 | CCTCAAGGTCGGT    | 0,99 | 0,97 | 0,98 | 0,95 |
| SeqID<br>211 | x |  | 1691 | GCCTCAAGGTCGGT   | 0,98 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>212 | x |  | 1706 | ACAGTCTTTGAAGTA  | 0,99 | 0,95 | 0,95 | 0,99 |
| SeqID<br>861 |   |  | 1778 | ATGCCTACAGCCTCC  |      |      |      |      |
| SeqID<br>213 | x |  | 1783 | TTTATGCCTACAG    | 0,99 | 0,96 | 0,95 | 0,99 |
| SeqID<br>214 | x |  | 1784 | AATTTATGCCTACA   | 0,99 | 0,96 | 0,95 | 0,99 |
| SeqID<br>215 | x |  | 1785 | AATTTATGCCTAC    | 0,99 | 0,95 | 0,96 | 0,99 |
| SeqID<br>862 |   |  | 1785 | ACCAATTTATGCCTAC |      |      |      |      |
| SeqID<br>216 | x |  | 1787 | CCAATTTATGCCT    | 0,97 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>217 | x |  | 1865 | GCTTGGAGGCTTGAA  | 0,97 | 0,99 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>218 | x |  | 1865 | AGCTTGGAGGCTTGAA | 0,97 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>219 | x |  | 1866 | GCTTGGAGGCTTGA   | 0,97 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |

|              |   |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>220 | x |  | 1866 | AGCTTGGAGGCTTGA      | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>221 | x |  | 1866 | CAGCTTGGAGGCTTG<br>A | 0,97 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>222 | x |  | 1867 | GCTTGGAGGCTTG        | 0,97 | 0,99 | 0,99 | 0,98 |
| SeqID<br>223 | x |  | 1867 | AGCTTGGAGGCTTG       | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>224 | x |  | 1867 | CAGCTTGGAGGCTTG      | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>225 | x |  | 1867 | ACAGCTTGGAGGCTT<br>G | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>226 | x |  | 1868 | CACAGCTTGGAGGCTT     | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>227 | x |  | 1869 | CACAGCTTGGAGGCT      | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>228 | x |  | 1869 | GCACAGCTTGGAGGC<br>T | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>229 | x |  | 1870 | GCACAGCTTGGAGGC      | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>230 | x |  | 1870 | GGCACAGCTTGGAGG<br>C | 0,96 | 0,98 | 0,98 | 0,98 |
| SeqID<br>231 | x |  | 1871 | AGGCACAGCTTGGAG<br>G | 0,96 | 0,98 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>232 | x |  | 1872 | AGGCACAGCTTGGAG      | 0,96 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>233 | x |  | 1872 | AAGGCACAGCTTGG<br>G  | 0,96 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID        | x |  | 1873 | AAGGCACAGCTTGA       | 0,96 | 0,97 | 0,98 | 0,98 |

|              |   |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|---|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| 234          |   |  |      |                      |      |      |      |      |
| SeqID<br>235 | x |  | 1873 | CAAGGCACAGCTTGG<br>A | 0,96 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>236 | x |  | 1874 | AAGGCACAGCTTGG       | 0,96 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>237 | x |  | 1874 | CAAGGCACAGCTTGG      | 0,96 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>238 | x |  | 1874 | CCAAGGCACAGCTTG<br>G | 0,96 | 0,97 | 0,98 | 0,99 |
| SeqID<br>239 | x |  | 1875 | CAAGGCACAGCTTG       | 0,96 | 0,97 | 0,97 | 0,98 |
| SeqID<br>240 | x |  | 1875 | CCAAGGCACAGCTTG      | 0,96 | 0,97 | 0,97 | 0,99 |
| SeqID<br>241 | x |  | 1876 | CCAAGGCACAGCTT       | 0,96 | 0,97 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>242 |   |  | 2272 | TGCGAATCCACAC        | 0,96 | 0,97 | 0,96 | 0,97 |
| SeqID<br>243 |   |  | 2272 | GTGCGAATCCACAC       | 0,96 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>244 |   |  | 2370 | GGAGTTCTTCTTCTA      | 0,96 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>245 |   |  | 2370 | GGGAGTTCTTCTTCTA     | 0,96 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>246 |   |  | 2371 | GGGAGTTCTTCTTCT      | 0,96 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>247 |   |  | 2371 | AGGGAGTTCTTCTTCT     | 0,96 | 0,98 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>248 |   |  | 2372 | AGGGAGTTCTTCTTC      | 0,96 | 0,98 | 0,97 | 0,97 |

|              |  |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|--|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>249 |  |  | 2372 | GAGGGAGTTCTTCTTC     | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>250 |  |  | 2373 | AGGGAGTTCTTCTT       | 0,97 | 0,98 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>251 |  |  | 2373 | GAGGGAGTTCTTCTT      | 0,97 | 0,95 | 0,97 | 0,95 |
| SeqID<br>252 |  |  | 2373 | CGAGGGAGTTCTTCTT     | 0,97 | 0,95 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>253 |  |  | 2374 | CGAGGGAGTTCTTCT      | 0,97 | 0,95 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>254 |  |  | 2374 | GCGAGGGAGTTCTTCT     | 0,97 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>255 |  |  | 2375 | GCGAGGGAGTTCTTC      | 0,97 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>256 |  |  | 2375 | GGCGAGGGAGTTCTT<br>C | 0,97 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>257 |  |  | 2376 | GCGAGGGAGTTCTT       | 0,97 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>258 |  |  | 2376 | GGCGAGGGAGTTCTT      | 0,97 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>259 |  |  | 2376 | AGGCGAGGGAGTTCT<br>T | 0,98 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>260 |  |  | 2377 | GCGAGGGAGTTCT        | 0,98 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>261 |  |  | 2377 | GGCGAGGGAGTTCT       | 0,98 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>262 |  |  | 2377 | AGGCGAGGGAGTTCT      | 0,98 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID        |  |  | 2377 | GAGGCGAGGGAGTTC      | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |



|              |  |  |      |                      |      |      |      |      |
|--------------|--|--|------|----------------------|------|------|------|------|
| 263          |  |  |      | T                    |      |      |      |      |
| SeqID<br>264 |  |  | 2378 | GGCGAGGGAGTTC        | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>265 |  |  | 2378 | AGGCGAGGGAGTTC       | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>266 |  |  | 2378 | GAGGCGAGGGAGTTC      | 0,99 | 0,96 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID<br>267 |  |  | 2378 | CGAGGCGAGGGAGTT<br>C | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>268 |  |  | 2379 | AGGCGAGGGAGTT        | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>269 |  |  | 2379 | GAGGCGAGGGAGTT       | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>270 |  |  | 2379 | CGAGGCGAGGGAGTT      | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>271 |  |  | 2379 | GCGAGGCGAGGGAGT<br>T | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>272 |  |  | 2380 | GAGGCGAGGGAGT        | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>273 |  |  | 2380 | CGAGGCGAGGGAGT       | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>274 |  |  | 2380 | GCGAGGCGAGGGAGT      | 0,99 | 0,96 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>275 |  |  | 2380 | TGCGAGGCGAGGGAG<br>T | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>276 |  |  | 2381 | CGAGGCGAGGGAG        | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>277 |  |  | 2381 | GCGAGGCGAGGGAG       | 0,99 | 0,96 | 0,97 | 0,97 |

|              |  |  |      |                  |      |      |      |      |
|--------------|--|--|------|------------------|------|------|------|------|
| SeqID<br>278 |  |  | 2381 | TGCGAGGCGAGGGAG  | 0,97 | 0,96 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>279 |  |  | 2381 | CTGCGAGGCGAGGGAG | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>280 |  |  | 2382 | CGAGGCGAGGGA     | 0,99 | 0,96 | 0,98 | 0,97 |
| SeqID<br>281 |  |  | 2382 | GCGAGGCGAGGGA    | 0,99 | 0,96 | 0,97 | 0,97 |
| SeqID<br>282 |  |  | 2382 | TGCGAGGCGAGGGA   | 0,97 | 0,96 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>283 |  |  | 2382 | CTGCGAGGCGAGGGA  | 0,97 | 0,96 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>284 |  |  | 2382 | TCTGCGAGGCGAGGGA | 0,97 | 0,96 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>285 |  |  | 2383 | TCTGCGAGGCGAGGG  | 0,97 | 0,96 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>286 |  |  | 2383 | GTCTGCGAGGCGAGGG | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,95 |
| SeqID<br>287 |  |  | 2824 | GTTCCCAAGAATAT   | 0,98 | 0,97 | 0,96 | 0,95 |
| SeqID<br>288 |  |  | 2824 | TGTTCCCAAGAATAT  | 0,98 | 0,98 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>289 |  |  | 2825 | GTTCCCAAGAATA    | 0,98 | 0,98 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID<br>290 |  |  | 2825 | TGTTCCCAAGAATA   | 0,97 | 0,97 | 0,96 | 0,96 |
| SeqID<br>291 |  |  | 2825 | TTGTTCCCAAGAATA  | 0,98 | 0,98 | 0,97 | 0,96 |
| SeqID        |  |  | 2826 | TGTTCCCAAGAAT    | 0,97 | 0,97 | 0,96 | 0,96 |
| 292          |  |  |      |                  |      |      |      |      |
| SeqID<br>293 |  |  | 2826 | TTGTTCCCAAGAAT   |      |      |      |      |

Таблица 2. Набор олигомерных мотивов из табл. 1.

| SEQ ID NO | Мишень<br>HBx | Мишень<br>HBsAg | Стартовая<br>позиция<br>на<br>U95551 | Последовательность<br>олигонуклеотида |
|-----------|---------------|-----------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| SeqID 4   |               | X               | 691                                  | GAACCACTGAACAAA                       |
| SeqID 5   |               | X               | 691                                  | CGAACCACTGAACAAA                      |
| SeqID 6   |               | X               | 692                                  | CGAACCACTGAACAA                       |
| SeqID 7   |               | X               | 693                                  | CGAACCACTGAACA                        |
| SeqID 8   |               | X               | 694                                  | CGAACCACTGAAC                         |
| SeqID 9   | X             |                 | 1264                                 | CCGCAGTATGGATCG                       |
| SeqID 10  | X             |                 | 1265                                 | CGCAGTATGGATC                         |
| SeqID 11  | X             |                 | 1530                                 | GCGTAAAGAGAGGT                        |
| SeqID 12  | X             |                 | 1530                                 | CGCGTAAAGAGAGGT                       |
| SeqID 13  | X             |                 | 1531                                 | GCGTAAAGAGAGG                         |
| SeqID 14  | X             |                 | 1551                                 | AGAAGGCACAGACGG                       |
| SeqID 15  | X             |                 | 1551                                 | GAGAAGGCACAGACGG                      |
| SeqID 16  | X             |                 | 1577                                 | GAAGTGCACACGG                         |
| SeqID 17  | X             |                 | 1577                                 | GCGAAGTGCACACGG                       |
| SeqID 18  | X             |                 | 1577                                 | AGCGAAGTGCACACGG                      |
| SeqID 19  | X             |                 | 1578                                 | CGAAGTGCACACG                         |
| SeqID 20  | X             |                 | 1578                                 | AGCGAAGTGCACACG                       |
| SeqID 21  | X             |                 | 1578                                 | AAGCGAAGTGCACACG                      |
| SeqID 22  | X             |                 | 1580                                 | GAAGCGAAGTGCACA                       |
| SeqID 23  | X             |                 | 1582                                 | GGTGAAGCGAAGTGCA                      |
| SeqID 24  | X             |                 | 1583                                 | GGTGAAGCGAAGTGC                       |
| SeqID 25  | X             |                 | 1583                                 | AGGTGAAGCGAAGTGC                      |
| SeqID 26  | X             |                 | 1584                                 | AGGTGAAGCGAAGTG                       |
| SeqID 27  | X             |                 | 1585                                 | AGGTGAAGCGAAGT                        |
| SeqID 28  | X             |                 | 1588                                 | CAGAGGTGAAGCGA                        |

Таблица 3. Олигомеры.

Заглавные буквы обозначают бета-D-окси-LNA, CLNA представляет собой 5-метил CLNA, строчные буквы обозначают ДНК, "m" обозначает 5-метилцитозин ДНК, все межнуклеозидные связи представляют собой фосфоротиоатные межнуклеозидные связи.

| SEQ ID NO | Мишень<br>HBx | мишень<br>HBsAg | Стартовая<br>позиция<br>на<br>U95551 | Последовательность<br>олигонуклеотида |
|-----------|---------------|-----------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| SeqID 294 |               | x               | 691                                  | GAAccactgaacAAA                       |
| SeqID 295 |               | x               | 691                                  | CGAaccactgaacAAA                      |
| SeqID 296 |               | x               | 692                                  | CGAaccactgaaCAA                       |
| SeqID 297 |               | x               | 693                                  | CGAaccactgaACA                        |
| SeqID 298 |               | x               | 694                                  | CGAaccactgaAC                         |
| SeqID 299 | x             |                 | 1264                                 | CCGcagtatggaTCG                       |
| SeqID 300 | x             |                 | 1265                                 | CGCagtatggaTC                         |
| SeqID 301 | x             |                 | 1530                                 | GCGtaaagagaGGT                        |
| SeqID 302 | x             |                 | 1530                                 | CGCgtaaagagaGGT                       |
| SeqID 303 | x             |                 | 1531                                 | GCGtaaagagaGG                         |
| SeqID 304 | x             |                 | 1551                                 | AGAaggcacagaCGG                       |
| SeqID 305 | x             |                 | 1551                                 | GAGAaggcacagaCGG                      |
| SeqID 306 | x             |                 | 1577                                 | GAAgtgcaca <sup>m</sup> cGG           |
| SeqID 307 | x             |                 | 1577                                 | GCGaagtgcacaCGG                       |
| SeqID 308 | x             |                 | 1577                                 | AGCgaagtgcacaCGG                      |
| SeqID 309 | x             |                 | 1578                                 | CGAagtgcacaCG                         |
| SeqID 310 | x             |                 | 1578                                 | AGCgaagtgcacACG                       |
| SeqID 311 | x             |                 | 1578                                 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcacACG        |

|           |   |   |      |                                |
|-----------|---|---|------|--------------------------------|
| SeqID 312 | x |   | 1580 | GAAg <sup>m</sup> cgaagtgcACA  |
| SeqID 313 | x |   | 1582 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagtGCA |
| SeqID 314 | x |   | 1583 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagTGC  |
| SeqID 315 | x |   | 1583 | AGGtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC |
| SeqID 316 | x |   | 1584 | AGGtgaag <sup>m</sup> cgaagGTG |
| SeqID 317 | x |   | 1585 | AGGtgaag <sup>m</sup> cgaAGT   |
| SeqID 318 | x |   | 1588 | CAGaggtgaagCGA                 |
| SeqID 319 |   | x | 201  | AAAaccc <sup>m</sup> cgccTGT   |
| SeqID 320 |   | x | 202  | AAAaccc <sup>m</sup> cgccTG    |
| SeqID 321 |   | x | 245  | ACGagtctagacTCT                |
| SeqID 322 |   | x | 245  | CACgagtctagacTCT               |
| SeqID 323 |   | x | 246  | ACGagtctagaCTC                 |
| SeqID 324 |   | x | 246  | CACgagtctagaCTC                |
| SeqID 325 |   | x | 246  | CCA <sup>m</sup> cgagtctagaCTC |
| SeqID 326 |   | x | 247  | ACGagtctagaCT                  |
| SeqID 327 |   | x | 247  | CACgagtctagACT                 |
| SeqID 328 |   | x | 247  | CCA <sup>m</sup> cgagtctagACT  |
| SeqID 329 |   | x | 247  | ACCa <sup>m</sup> cgagtctagACT |
| SeqID 330 |   | x | 248  | ACgagtctagAC                   |
| SeqID 331 |   | x | 248  | CACgagtctagAC                  |
| SeqID 332 |   | x | 248  | CCA <sup>m</sup> cgagtctaGAC   |
| SeqID 333 |   | x | 248  | ACCa <sup>m</sup> cgagtctaGAC  |
| SeqID 334 |   | x | 248  | CACca <sup>m</sup> cgagtctaGAC |
| SeqID 335 |   | x | 249  | ACCa <sup>m</sup> cgagtctAGA   |
| SeqID 336 |   | x | 249  | CACca <sup>m</sup> cgagtctAGA  |
| SeqID 337 |   | x | 249  | CCAcca <sup>m</sup> cgagtctAGA |
| SeqID 338 |   | x | 250  | CCAcca <sup>m</sup> cgagtcTAG  |
| SeqID 339 |   | x | 250  | TCCacca <sup>m</sup> cgagtcTAG |
| SeqID 340 |   | x | 251  | CCAcca <sup>m</sup> cgagtCTA   |
| SeqID 341 |   | x | 251  | TCCacca <sup>m</sup> cgagtCTA  |
| SeqID 342 |   | x | 251  | GTCcacca <sup>m</sup> cgagtCTA |

|           |  |   |     |                                              |
|-----------|--|---|-----|----------------------------------------------|
| SeqID 343 |  | x | 252 | TCCacca <sup>m</sup> cgagTCT                 |
| SeqID 344 |  | x | 252 | GTCcacca <sup>m</sup> cgagTCT                |
| SeqID 345 |  | x | 252 | AGTccacca <sup>m</sup> cgagTCT               |
| SeqID 346 |  | x | 253 | GTCcacca <sup>m</sup> cgaGTC                 |
| SeqID 347 |  | x | 253 | AGTccacca <sup>m</sup> cgaGTC                |
| SeqID 348 |  | x | 253 | AAGtccacca <sup>m</sup> cgaGTC               |
| SeqID 349 |  | x | 254 | AGTccacca <sup>m</sup> cgAGT                 |
| SeqID 350 |  | x | 254 | AAGtccacca <sup>m</sup> cgAGT                |
| SeqID 351 |  | x | 254 | GAAgtccacca <sup>m</sup> cgAGT               |
| SeqID 352 |  | x | 255 | AAGtccacca <sup>m</sup> cgAG                 |
| SeqID 353 |  | x | 255 | GAAgtccacca <sup>m</sup> cgAG                |
| SeqID 354 |  | x | 255 | AGAagtccacca <sup>m</sup> cgAG               |
| SeqID 355 |  | x | 256 | AGAagtccaccaCGA                              |
| SeqID 356 |  | x | 256 | GAGaagtccaccaCGA                             |
| SeqID 357 |  | x | 257 | GAGaagtccaccACG                              |
| SeqID 358 |  | x | 257 | AGAgagtccaccACG                              |
| SeqID 359 |  | x | 258 | GAGagaagtccacCAC                             |
| SeqID 360 |  | x | 259 | GAGagaagtccaCCA                              |
| SeqID 361 |  | x | 259 | TGAgagaagtccaCCA                             |
| SeqID 362 |  | x | 260 | GAGagaagtccACC                               |
| SeqID 363 |  | x | 260 | TGAgagaagtccACC                              |
| SeqID 364 |  | x | 261 | TGAgagaagtcCAC                               |
| SeqID 365 |  | x | 384 | AAAa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgcaGA    |
| SeqID 366 |  | x | 384 | TAAaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgcaGA   |
| SeqID 367 |  | x | 384 | ATAaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgcaGA  |
| SeqID 368 |  | x | 384 | GATaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgcaGA |
| SeqID 369 |  | x | 385 | ATAaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgCAG   |
| SeqID 370 |  | x | 385 | GATaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgCAG  |
| SeqID 371 |  | x | 385 | TGAtaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgCAG |
| SeqID 372 |  | x | 386 | ATAaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgCA    |
| SeqID 373 |  | x | 386 | GATaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGCA   |

|           |  |   |     |                                               |
|-----------|--|---|-----|-----------------------------------------------|
| SeqID 374 |  | x | 386 | TGAtaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGCA   |
| SeqID 375 |  | x | 386 | ATGataaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGCA |
| SeqID 376 |  | x | 387 | ATaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGC      |
| SeqID 377 |  | x | 387 | GATaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGC     |
| SeqID 378 |  | x | 387 | TGAtaaaa <sup>m</sup> cgcCGC                  |
| SeqID 379 |  | x | 387 | ATGataaaaa <sup>m</sup> cgcCGC                |
| SeqID 380 |  | x | 388 | GAtaaaa <sup>m</sup> cgcCG                    |
| SeqID 381 |  | x | 388 | TGAtaaaa <sup>m</sup> cgcCG                   |
| SeqID 382 |  | x | 388 | ATGataaaaa <sup>m</sup> cgCCG                 |
| SeqID 383 |  | x | 389 | TGataaaaa <sup>m</sup> cgCC                   |
| SeqID 384 |  | x | 389 | ATGataaaaa <sup>m</sup> cgCC                  |
| SeqID 385 |  | x | 390 | ATgataaaaa <sup>m</sup> cGC                   |
| SeqID 386 |  | x | 411 | TAGcagcaggATG                                 |
| SeqID 387 |  | x | 411 | ATAgcagcaggATG                                |
| SeqID 388 |  | x | 411 | CATagcagcaggATG                               |
| SeqID 389 |  | x | 411 | GCAtagcagcaggATG                              |
| SeqID 390 |  | x | 412 | GCAtagcagcagGAT                               |
| SeqID 391 |  | x | 412 | GGCAtagcagcagGAT                              |
| SeqID 392 |  | x | 414 | GAGgcatagcagAGG                               |
| SeqID 393 |  | x | 415 | TGAggcatagcagCAG                              |
| SeqID 394 |  | x | 416 | TGAggcatagcaGCA                               |
| SeqID 395 |  | x | 416 | ATGaggcatagcaGCA                              |
| SeqID 396 |  | x | 417 | TGAggcatagcAGC                                |
| SeqID 397 |  | x | 417 | ATGaggcatagcAGC                               |
| SeqID 398 |  | x | 417 | GATgaggcatagcAGC                              |
| SeqID 399 |  | x | 418 | GATgaggcatagCAG                               |
| SeqID 400 |  | x | 418 | AGAtgaggcatagCAG                              |
| SeqID 401 |  | x | 419 | GATgaggcataGCA                                |
| SeqID 402 |  | x | 419 | AGAtgaggcataGCA                               |
| SeqID 403 |  | x | 419 | AAGatgaggcataGCA                              |
| SeqID 404 |  | x | 422 | AAGaagatgaggcATA                              |

|           |   |   |      |                               |
|-----------|---|---|------|-------------------------------|
| SeqID 405 |   | x | 423  | AAGaagatgaggCAT               |
| SeqID 406 |   | x | 601  | TGGgatgggaatACA               |
| SeqID 407 |   | x | 601  | ATGggatgggaatACA              |
| SeqID 408 |   | x | 602  | TGGgatgggaTAC                 |
| SeqID 409 |   | x | 602  | ATGggatgggaTAC                |
| SeqID 410 |   | x | 602  | GATgggatgggaTAC               |
| SeqID 411 |   | x | 603  | ATGggatgggaATA                |
| SeqID 412 |   | x | 603  | GATgggatgggaATA               |
| SeqID 413 |   | x | 604  | GATgggatgggAAT                |
| SeqID 414 |   | x | 691  | AACcactgaacAAA                |
| SeqID 415 |   | x | 695  | CGaaccactgAA                  |
| SeqID 416 |   | x | 708  | GGGggaagccCT                  |
| SeqID 417 |   | x | 708  | TGGgggaagcCCT                 |
| SeqID 418 |   | x | 1142 | GCAa <sup>m</sup> cggggtaaAGG |
| SeqID 419 |   | x | 1143 | GCAa <sup>m</sup> cggggtaAAG  |
| SeqID 420 |   | x | 1144 | GCAa <sup>m</sup> cggggtaAA   |
| SeqID 421 |   | x | 1176 | AGCaaacacttgGCA               |
| SeqID 422 |   | x | 1176 | CAGcaaacacttgGCA              |
| SeqID 423 |   | x | 1177 | CAGcaaacacttGGC               |
| SeqID 424 |   | x | 1177 | TCAgcaaacacttGGC              |
| SeqID 425 |   | x | 1178 | TCAgcaaacactTGG               |
| SeqID 426 | x |   | 1264 | GCAgtatggatCG                 |
| SeqID 427 | x |   | 1264 | CGCagtatggaTCG                |
| SeqID 428 | x |   | 1264 | TCCgcagtatggaTCG              |
| SeqID 429 | x |   | 1265 | CCGcagtatggATC                |
| SeqID 430 | x |   | 1265 | TCCgcagtatggATC               |
| SeqID 431 | x |   | 1266 | CGcagtatggAT                  |
| SeqID 432 | x |   | 1266 | CCGcagtatggAT                 |
| SeqID 433 | x |   | 1266 | TCCgcagtatgGAT                |
| SeqID 434 | x |   | 1267 | TCCgcagtatgGA                 |
| SeqID 435 | x |   | 1269 | TTc <sup>m</sup> cgcagtaTG    |



|           |   |  |      |                                |
|-----------|---|--|------|--------------------------------|
| SeqID 436 | x |  | 1530 | CGTaaagagagGT                  |
| SeqID 437 | x |  | 1530 | CCG <sup>m</sup> cgtaaagagaGGT |
| SeqID 438 | x |  | 1531 | CGtaaagagaGG                   |
| SeqID 439 | x |  | 1531 | CGCgtaaagagAGG                 |
| SeqID 440 | x |  | 1531 | CCG <sup>m</sup> cgtaaagagAGG  |
| SeqID 441 | x |  | 1532 | CGCgtaaagagAG                  |
| SeqID 442 | x |  | 1532 | CCG <sup>m</sup> cgtaaagaGAG   |
| SeqID 443 | x |  | 1533 | CG <sup>m</sup> cgtaaagaGA     |
| SeqID 444 | x |  | 1533 | CCG <sup>m</sup> cgtaaagaGA    |
| SeqID 445 | x |  | 1534 | CCg <sup>m</sup> cgtaaagAG     |
| SeqID 446 | x |  | 1547 | GGCacaga <sup>m</sup> cgggGAG  |
| SeqID 447 | x |  | 1547 | AGGcacaga <sup>m</sup> cgggGAG |
| SeqID 448 | x |  | 1548 | GGCacaga <sup>m</sup> cggGGA   |
| SeqID 449 | x |  | 1548 | AGGcacaga <sup>m</sup> cggGGA  |
| SeqID 450 | x |  | 1548 | AAGgcacaga <sup>m</sup> cggGGA |
| SeqID 451 | x |  | 1549 | AGGcacaga <sup>m</sup> cgGGG   |
| SeqID 452 | x |  | 1549 | AAGgcacaga <sup>m</sup> cgGGG  |
| SeqID 453 | x |  | 1549 | GAaggcacaga <sup>m</sup> cgGGG |
| SeqID 454 | x |  | 1550 | AGAaggcacaga <sup>m</sup> cGGG |
| SeqID 455 | x |  | 1552 | GAGaaggcacagACG                |
| SeqID 456 | x |  | 1577 | CGAagtgcacaCGG                 |
| SeqID 457 | x |  | 1578 | GCGaagtgcacACG                 |
| SeqID 458 | x |  | 1579 | GCGaagtgcacAC                  |
| SeqID 459 | x |  | 1579 | AGCgaagtgcacAC                 |
| SeqID 460 | x |  | 1579 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcacAC  |
| SeqID 461 | x |  | 1579 | GAAg <sup>m</sup> cgaagtgcacAC |
| SeqID 462 | x |  | 1580 | AGCgaagtgcaca                  |
| SeqID 463 | x |  | 1580 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcaca   |
| SeqID 464 | x |  | 1580 | TGAag <sup>m</sup> cgaagtgcaca |
| SeqID 465 | x |  | 1581 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcAC    |
| SeqID 466 | x |  | 1581 | GAAg <sup>m</sup> cgaagtgcAC   |

|           |   |  |      |                                |
|-----------|---|--|------|--------------------------------|
| SeqID 467 | x |  | 1581 | TGAag <sup>m</sup> cgaagtgCAC  |
| SeqID 468 | x |  | 1581 | GTGaag <sup>m</sup> cgaagtgCAC |
| SeqID 469 | x |  | 1582 | AAg <sup>m</sup> cgaagtgCA     |
| SeqID 470 | x |  | 1582 | GAAg <sup>m</sup> cgaagtgCA    |
| SeqID 471 | x |  | 1582 | TGAag <sup>m</sup> cgaagtGCA   |
| SeqID 472 | x |  | 1582 | GTGaag <sup>m</sup> cgaagtGCA  |
| SeqID 473 | x |  | 1583 | TGAag <sup>m</sup> cgaagtGC    |
| SeqID 474 | x |  | 1583 | GTGaag <sup>m</sup> cgaagTGC   |
| SeqID 475 | x |  | 1584 | GTGaag <sup>m</sup> cgaagTG    |
| SeqID 476 | x |  | 1584 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagTG   |
| SeqID 477 | x |  | 1584 | GAGgtgaag <sup>m</sup> cgaagTG |
| SeqID 478 | x |  | 1585 | GTgaag <sup>m</sup> cgaagGT    |
| SeqID 479 | x |  | 1585 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagGT   |
| SeqID 480 | x |  | 1585 | GAGgtgaag <sup>m</sup> cgaAGT  |
| SeqID 481 | x |  | 1585 | AGAggtgaag <sup>m</sup> cgaAGT |
| SeqID 482 | x |  | 1586 | AGAggtgaag <sup>m</sup> cgAAG  |
| SeqID 483 | x |  | 1586 | CAGaggtgaag <sup>m</sup> cgAAG |
| SeqID 484 | x |  | 1587 | AGAggtgaag <sup>m</sup> cGAA   |
| SeqID 485 | x |  | 1587 | CAGaggtgaag <sup>m</sup> cGAA  |
| SeqID 486 | x |  | 1587 | GCAgaggtgaag <sup>m</sup> cGAA |
| SeqID 487 | x |  | 1588 | GCAgaggtgaagCGA                |
| SeqID 488 | x |  | 1588 | TGCagaggtgaagCGA               |
| SeqID 489 | x |  | 1589 | TGCagaggtgaaGCG                |
| SeqID 490 | x |  | 1589 | GTGcagaggtgaaGCG               |
| SeqID 491 | x |  | 1590 | CGTgcagaggtgaAGC               |
| SeqID 492 | x |  | 1591 | CGTgcagaggtgAAG                |
| SeqID 493 | x |  | 1591 | ACGtgcaagaggtgAAG              |
| SeqID 494 | x |  | 1592 | CGTgcagaggtGAA                 |
| SeqID 495 | x |  | 1592 | ACGtgcaagaggtGAA               |
| SeqID 496 | X |  | 1593 | CGTgcagaggtGA                  |
| SeqID 497 | x |  | 1593 | ACGtgcaagaggtGA                |

|           |   |  |      |                              |
|-----------|---|--|------|------------------------------|
| SeqID 498 | x |  | 1616 | CGTtca <sup>m</sup> cgggtgGT |
| SeqID 499 | x |  | 1690 | CTCaaggt <sup>m</sup> cggTC  |
| SeqID 500 | x |  | 1691 | CCTcaaggt <sup>m</sup> cgGT  |
| SeqID 501 | x |  | 1691 | GCCtcaaggt <sup>m</sup> cGGT |
| SeqID 502 | x |  | 1706 | ACAgctcttgaaGTA              |
| SeqID 503 | x |  | 1783 | TTTatgcctacAG                |
| SeqID 504 | x |  | 1784 | AATttatgcctACA               |
| SeqID 505 | x |  | 1785 | AATttatgcctAC                |
| SeqID 506 | x |  | 1787 | CCAatttatgcCT                |
| SeqID 507 | x |  | 1865 | GCTtgaggcctGAA               |
| SeqID 508 | x |  | 1865 | AGCttgaggcctGAA              |
| SeqID 509 | x |  | 1866 | GCTtgaggcctTGA               |
| SeqID 510 | x |  | 1866 | AGCttgaggcctTGA              |
| SeqID 511 | x |  | 1866 | CAGcttgaggcctTGA             |
| SeqID 512 | x |  | 1867 | GCTtgaggcctTG                |
| SeqID 513 | x |  | 1867 | AGCttgaggcctTG               |
| SeqID 514 | x |  | 1867 | CAGcttgaggcctTG              |
| SeqID 515 | x |  | 1867 | ACAgcttgaggcctTG             |
| SeqID 516 | x |  | 1868 | CACagcttgaggcCTT             |
| SeqID 517 | x |  | 1869 | CACagcttgaggGCT              |
| SeqID 518 | x |  | 1869 | GCAcagcttgaggGCT             |
| SeqID 519 | x |  | 1870 | GCAcagcttggaGGC              |
| SeqID 520 | x |  | 1870 | GGCacagcttggaGGC             |
| SeqID 521 | x |  | 1871 | AGGcacagcttgAGG              |
| SeqID 522 | x |  | 1872 | AGGcacagcttgGAG              |
| SeqID 523 | x |  | 1872 | AAGgcacagcttgGAG             |
| SeqID 524 | x |  | 1873 | AAGgcacagcttGGA              |
| SeqID 525 | x |  | 1873 | CAAggcacagcttGGA             |
| SeqID 526 | x |  | 1874 | AAGgcacagctTGG               |
| SeqID 527 | x |  | 1874 | CAAggcacagctTGG              |
| SeqID 528 | x |  | 1874 | CCAaggcacagctTGG             |

|           |   |  |      |                                  |
|-----------|---|--|------|----------------------------------|
| SeqID 529 | x |  | 1875 | CAAggcacagcTTG                   |
| SeqID 530 | x |  | 1875 | CCAaggcacagcTTG                  |
| SeqID 531 | x |  | 1876 | CCAaggcacagCTT                   |
| SeqID 532 |   |  | 2272 | TGCgaatccacAC                    |
| SeqID 533 |   |  | 2272 | GTG <sup>m</sup> cgaatccaCAC     |
| SeqID 534 |   |  | 2370 | GGAgttcttctCTA                   |
| SeqID 535 |   |  | 2370 | GGGagttcttctCTA                  |
| SeqID 536 |   |  | 2371 | GGGagttcttctTCT                  |
| SeqID 537 |   |  | 2371 | AGGgagttcttctTCT                 |
| SeqID 538 |   |  | 2372 | AGGgagttcttctTTC                 |
| SeqID 539 |   |  | 2372 | GAGggagttcttctTTC                |
| SeqID 540 |   |  | 2373 | AGGgagttcttCTT                   |
| SeqID 541 |   |  | 2373 | GAGggagttcttCTT                  |
| SeqID 542 |   |  | 2373 | CGAgggagttcttCTT                 |
| SeqID 543 |   |  | 2374 | CGAgggagttctTCT                  |
| SeqID 544 |   |  | 2374 | GCGagggagttctTCT                 |
| SeqID 545 |   |  | 2375 | GCGagggagttctTTC                 |
| SeqID 546 |   |  | 2375 | GGCgagggagttctTTC                |
| SeqID 547 |   |  | 2376 | GCGagggagttCTT                   |
| SeqID 548 |   |  | 2376 | GGCgagggagttCTT                  |
| SeqID 549 |   |  | 2376 | AGG <sup>m</sup> cgagggagttCTT   |
| SeqID 550 |   |  | 2377 | GCGagggagttCT                    |
| SeqID 551 |   |  | 2377 | GGCgagggagttTCT                  |
| SeqID 552 |   |  | 2377 | AGG <sup>m</sup> cgagggagttTCT   |
| SeqID 553 |   |  | 2377 | GAGg <sup>m</sup> cgagggagttTCT  |
| SeqID 554 |   |  | 2378 | GGCgagggagttTC                   |
| SeqID 555 |   |  | 2378 | AGG <sup>m</sup> cgagggagttTTC   |
| SeqID 556 |   |  | 2378 | GAGg <sup>m</sup> cgagggagttTTC  |
| SeqID 557 |   |  | 2378 | CGAgg <sup>m</sup> cgagggagttTTC |
| SeqID 558 |   |  | 2379 | AGG <sup>m</sup> cgagggagttTT    |
| SeqID 559 |   |  | 2379 | GAGg <sup>m</sup> cgagggagttGTT  |

|           |   |  |      |                                               |
|-----------|---|--|------|-----------------------------------------------|
| SeqID 560 |   |  | 2379 | CGAgg <sup>m</sup> cgaggggaGTT                |
| SeqID 561 |   |  | 2379 | GCGagg <sup>m</sup> cgaggggaGTT               |
| SeqID 562 |   |  | 2380 | GAGg <sup>m</sup> cgaggggaGT                  |
| SeqID 563 |   |  | 2380 | CGAgg <sup>m</sup> cgaggggAGT                 |
| SeqID 564 |   |  | 2380 | GCGagg <sup>m</sup> cgaggggAGT                |
| SeqID 565 |   |  | 2380 | TGCgagg <sup>m</sup> cgaggggAGT               |
| SeqID 566 |   |  | 2381 | CGAgg <sup>m</sup> cgaggggAG                  |
| SeqID 567 |   |  | 2381 | GCGagg <sup>m</sup> cgagggGAG                 |
| SeqID 568 |   |  | 2381 | TGCgagg <sup>m</sup> cgagggGAG                |
| SeqID 569 |   |  | 2381 | CTG <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgagggGAG |
| SeqID 570 |   |  | 2382 | CGagg <sup>m</sup> cgaggGA                    |
| SeqID 571 |   |  | 2382 | GCGagg <sup>m</sup> cgaggGA                   |
| SeqID 572 |   |  | 2382 | TGCgagg <sup>m</sup> cgagGGA                  |
| SeqID 573 |   |  | 2382 | CTG <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgagGGA   |
| SeqID 574 |   |  | 2382 | TCTg <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgagGGA  |
| SeqID 575 |   |  | 2383 | TCTg <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgaGGG   |
| SeqID 576 |   |  | 2383 | GTCtg <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgaGGG  |
| SeqID 577 |   |  | 2824 | GTTcccaagaaTAT                                |
| SeqID 578 |   |  | 2824 | TGTtcccaagaaTAT                               |
| SeqID 579 |   |  | 2825 | GTTcccaagaaTA                                 |
| SeqID 580 |   |  | 2825 | TGTtcccaagaATA                                |
| SeqID 581 |   |  | 2825 | TTGttcccaagaATA                               |
| SeqID 582 |   |  | 2826 | TGTtcccaagaAT                                 |
| SeqID 583 |   |  | 2826 | TTGttcccaagAAT                                |
| SeqID 584 | x |  | 414  | GAGGcatagcagCAGG                              |
| SeqID 585 |   |  | 691  | GAAccactgaaCAAA                               |
| SeqID 586 |   |  | 691  | GAACcactgaacAAA                               |
| SeqID 587 |   |  | 691  | CGaaccactgaaCAAA                              |
| SeqID 588 |   |  | 691  | CGAAccactgaacAAA                              |
| SeqID 589 |   |  | 691  | CGAaccactgaaCAAA                              |
| SeqID 590 |   |  | 691  | CGAAccactgaacaAA                              |

|           |  |  |      |                  |
|-----------|--|--|------|------------------|
| SeqID 591 |  |  | 691  | CGAAccactgaaCAAA |
| SeqID 592 |  |  | 692  | CGAAccactgaacAA  |
| SeqID 593 |  |  | 692  | CGAAccactgaaCAA  |
| SeqID 594 |  |  | 692  | CGAaccactgaACAA  |
| SeqID 595 |  |  | 693  | CGaaccactgAACAA  |
| SeqID 596 |  |  | 693  | CGAAccactgaaCA   |
| SeqID 597 |  |  | 693  | CGAaccactgAACAA  |
| SeqID 598 |  |  | 693  | CGAAccactgaACA   |
| SeqID 599 |  |  | 694  | CGaaccactgAAC    |
| SeqID 600 |  |  | 694  | CGAaccactgAAC    |
| SeqID 601 |  |  | 1264 | CCgcagtatggATCG  |
| SeqID 602 |  |  | 1264 | CCGCagtatggatCG  |
| SeqID 603 |  |  | 1264 | CCGCagtatggaTCG  |
| SeqID 604 |  |  | 1264 | CCGcagtatggATCG  |
| SeqID 605 |  |  | 1265 | CGCAgtatggaTC    |
| SeqID 606 |  |  | 1265 | CGcagtatggATC    |
| SeqID 607 |  |  | 1265 | CGCagtatggATC    |
| SeqID 608 |  |  | 1265 | CGcagtatgGATC    |
| SeqID 609 |  |  | 1530 | GCGTaaagagagGT   |
| SeqID 610 |  |  | 1530 | GCgtaaagagAGGT   |
| SeqID 611 |  |  | 1530 | GCGtaaagagAGGT   |
| SeqID 612 |  |  | 1530 | GCGTaaagagaGGT   |
| SeqID 613 |  |  | 1530 | CGCGtaaagagagGT  |
| SeqID 614 |  |  | 1530 | CGcgtaaagagAGGT  |
| SeqID 615 |  |  | 1530 | CGCGtaaagagaGGT  |
| SeqID 616 |  |  | 1530 | CGCgtaaagagAGGT  |
| SeqID 617 |  |  | 1531 | GCgtaaagagAGG    |
| SeqID 618 |  |  | 1531 | GCGtaaagagAGG    |
| SeqID 619 |  |  | 1531 | GCgtaaagaGAGG    |
| SeqID 620 |  |  | 1531 | GCGTaaagagaGG    |
| SeqID 621 |  |  | 1551 | AGaaggcacagACGG  |

|           |  |  |      |                                |
|-----------|--|--|------|--------------------------------|
| SeqID 622 |  |  | 1551 | AGAaggcacagACGG                |
| SeqID 623 |  |  | 1551 | AGAAggcacagaCGG                |
| SeqID 624 |  |  | 1551 | GAGAaggcacagaCGG               |
| SeqID 625 |  |  | 1551 | GAGaaggcacagACGG               |
| SeqID 626 |  |  | 1551 | GAGAaggcacagACGG               |
| SeqID 627 |  |  | 1577 | GAagtgcacaCGG                  |
| SeqID 628 |  |  | 1577 | GAAGtgcacaCGG                  |
| SeqID 629 |  |  | 1577 | GAAGtgcacaCGG                  |
| SeqID 630 |  |  | 1577 | GAAGtgcacACGG                  |
| SeqID 631 |  |  | 1577 | GCgaagtgcacaCGG                |
| SeqID 632 |  |  | 1577 | GCGaagtgcacacGG                |
| SeqID 633 |  |  | 1577 | GCGAagtgcacacGG                |
| SeqID 634 |  |  | 1577 | GCGaagtgcacACGG                |
| SeqID 635 |  |  | 1577 | AGCGaagtgcacacGG               |
| SeqID 636 |  |  | 1577 | AG <sup>m</sup> cgaagtgcacACGG |
| SeqID 637 |  |  | 1577 | AG <sup>m</sup> cgaagtgcacaCGG |
| SeqID 638 |  |  | 1577 | AGCGaagtgcacacGG               |
| SeqID 639 |  |  | 1578 | CGaagtgcacACG                  |
| SeqID 640 |  |  | 1578 | CGAagtgcacACG                  |
| SeqID 641 |  |  | 1578 | CGaagtgcacACG                  |
| SeqID 642 |  |  | 1578 | AGCGaagtgcacACG                |
| SeqID 643 |  |  | 1578 | AGCGaagtgcacACG                |
| SeqID 644 |  |  | 1578 | AGCGaagtgcacaCG                |
| SeqID 645 |  |  | 1578 | AG <sup>m</sup> cgaagtgcacACG  |
| SeqID 646 |  |  | 1578 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcacACG |
| SeqID 647 |  |  | 1578 | AAGCGaagtgcacaCG               |
| SeqID 648 |  |  | 1578 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcacACG |
| SeqID 649 |  |  | 1578 | AAGCGaagtgcacACG               |
| SeqID 650 |  |  | 1578 | AAGCGaagtgcacACG               |
| SeqID 651 |  |  | 1580 | GAag <sup>m</sup> cgaagtgcACA  |
| SeqID 652 |  |  | 1580 | GAAG <sup>m</sup> cgaagtgcACA  |

|           |  |  |      |                                |
|-----------|--|--|------|--------------------------------|
| SeqID 653 |  |  | 1580 | GAAG <sup>m</sup> cgaagtgcACA  |
| SeqID 654 |  |  | 1580 | GAAG <sup>m</sup> cgaagtgcACA  |
| SeqID 655 |  |  | 1582 | GGtgaag <sup>m</sup> cgaagtGCA |
| SeqID 656 |  |  | 1582 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagtGCA |
| SeqID 657 |  |  | 1582 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagtGCA |
| SeqID 658 |  |  | 1582 | GGtgaag <sup>m</sup> cgaagTGCA |
| SeqID 659 |  |  | 1583 | GGtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC  |
| SeqID 660 |  |  | 1583 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagTGC  |
| SeqID 661 |  |  | 1583 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagTGC  |
| SeqID 662 |  |  | 1583 | GGtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC  |
| SeqID 663 |  |  | 1583 | AGgtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC |
| SeqID 664 |  |  | 1583 | AGGtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC |
| SeqID 665 |  |  | 1583 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaagTGC |
| SeqID 666 |  |  | 1583 | AGgtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC |
| SeqID 667 |  |  | 1584 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaagTG  |
| SeqID 668 |  |  | 1584 | AGgtgaag <sup>m</sup> cgaAGTG  |
| SeqID 669 |  |  | 1584 | AGGtgaag <sup>m</sup> cgaAGTG  |
| SeqID 670 |  |  | 1584 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaAGTG  |
| SeqID 671 |  |  | 1585 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaagT   |
| SeqID 672 |  |  | 1585 | AGgtgaag <sup>m</sup> cgAAGT   |
| SeqID 673 |  |  | 1585 | AGGtgaag <sup>m</sup> cgAAGT   |
| SeqID 674 |  |  | 1585 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaAGT   |
| SeqID 675 |  |  | 1588 | CAGAggtgaagcGA                 |
| SeqID 676 |  |  | 1588 | CAGaggtgaaGCGA                 |
| SeqID 677 |  |  | 1588 | CAGaggtgaaGCGA                 |
| SeqID 678 |  |  | 670  | TAGtaaactgagCCA                |
| SeqID 679 |  |  | 670  | TAgtaaactgaGCCA                |
| SeqID 680 |  |  | 670  | TAGTaaactgagcCA                |
| SeqID 681 |  |  | 670  | TAGtaaactgaGCCA                |
| SeqID 682 |  |  | 670  | TAGTaaactgagCCA                |
| SeqID 683 |  |  | 670  | CTAgtaaactgagCCA               |



|           |  |  |      |                                |
|-----------|--|--|------|--------------------------------|
| SeqID 684 |  |  | 670  | CTagtaaactgaGCCA               |
| SeqID 685 |  |  | 670  | CTAGtaaactgagcCA               |
| SeqID 686 |  |  | 671  | CTAgtaaactgaGCC                |
| SeqID 687 |  |  | 671  | CTagtaaactgAGCC                |
| SeqID 688 |  |  | 671  | CTAGtaaactgagCC                |
| SeqID 689 |  |  | 671  | CTagtaaactgaGCC                |
| SeqID 690 |  |  | 671  | CTAgtaaactgagCC                |
| SeqID 691 |  |  | 674  | GCActagtaaactGA                |
| SeqID 692 |  |  | 674  | GCactagtaaaCTGA                |
| SeqID 693 |  |  | 674  | GCACtagtaaactGA                |
| SeqID 694 |  |  | 674  | GCActagtaaaCTGA                |
| SeqID 695 |  |  | 674  | GCACtagtaaactGA                |
| SeqID 696 |  |  | 674  | GGCactagtaaactGA               |
| SeqID 697 |  |  | 674  | GGcactagtaaaCTGA               |
| SeqID 698 |  |  | 674  | GGCActagtaaactGA               |
| SeqID 699 |  |  | 1141 | CAA <sup>m</sup> cggggtaaaGGT  |
| SeqID 700 |  |  | 1141 | CAa <sup>m</sup> cggggtaaAGGT  |
| SeqID 701 |  |  | 1141 | CAACggggtaaagGT                |
| SeqID 702 |  |  | 1141 | CAA <sup>m</sup> cggggtaaAGGT  |
| SeqID 703 |  |  | 1141 | CAACggggtaaaGGT                |
| SeqID 704 |  |  | 1261 | CAGtatggat <sup>m</sup> cgGCA  |
| SeqID 705 |  |  | 1261 | CAGtatggat <sup>m</sup> cGGCA  |
| SeqID 706 |  |  | 1261 | CAGtatggat <sup>m</sup> cgGCA  |
| SeqID 707 |  |  | 1261 | CAGtatggat <sup>m</sup> cggCA  |
| SeqID 708 |  |  | 1265 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatggATC |
| SeqID 709 |  |  | 1265 | TTc <sup>m</sup> cgcagtatgGATC |
| SeqID 710 |  |  | 1265 | TTCCgcagtatggaTC               |
| SeqID 711 |  |  | 1265 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatgGATC |
| SeqID 712 |  |  | 1265 | TTCCgcagtatggATC               |
| SeqID 713 |  |  | 1266 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatgGAT  |
| SeqID 714 |  |  | 1266 | TTc <sup>m</sup> cgcagtatGGAT  |

|           |  |  |      |                                |
|-----------|--|--|------|--------------------------------|
| SeqID 715 |  |  | 1266 | TTCCgcagtatggAT                |
| SeqID 716 |  |  | 1266 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatGGAT  |
| SeqID 717 |  |  | 1266 | TTCCgcagtatgGAT                |
| SeqID 718 |  |  | 1266 | GTTc <sup>m</sup> cgcagtatgGAT |
| SeqID 719 |  |  | 1266 | GTTc <sup>m</sup> cgcagtatGGAT |
| SeqID 720 |  |  | 1266 | GTTc <sup>m</sup> cgcagtatggAT |
| SeqID 721 |  |  | 1267 | GTTc <sup>m</sup> cgcagtaTGGA  |
| SeqID 722 |  |  | 1267 | GTTc <sup>m</sup> cgcagtatgGA  |
| SeqID 723 |  |  | 1267 | GTTc <sup>m</sup> cgcagtatGGA  |
| SeqID 724 |  |  | 1267 | GTTc <sup>m</sup> cgcagtatgGA  |
| SeqID 725 |  |  | 1267 | AGTtc <sup>m</sup> cgcagtatGGA |
| SeqID 726 |  |  | 1267 | AGTtc <sup>m</sup> cgcagtatgGA |
| SeqID 727 |  |  | 1267 | AGttc <sup>m</sup> cgcagtatGGA |
| SeqID 728 |  |  | 1267 | AGTtc <sup>m</sup> cgcagtatgGA |
| SeqID 729 |  |  | 1267 | AGttc <sup>m</sup> cgcagtatgGA |
| SeqID 730 |  |  | 1268 | AGTtc <sup>m</sup> cgcagtaTGG  |
| SeqID 731 |  |  | 1268 | AGttc <sup>m</sup> cgcagtaTGG  |
| SeqID 732 |  |  | 1268 | AGTtc <sup>m</sup> cgcagtatGG  |
| SeqID 733 |  |  | 1268 | AGttc <sup>m</sup> cgcagtatGG  |
| SeqID 734 |  |  | 1268 | GAgttc <sup>m</sup> cgcagtaTGG |
| SeqID 735 |  |  | 1268 | GAGttc <sup>m</sup> cgcagtatGG |
| SeqID 736 |  |  | 1268 | GAgttc <sup>m</sup> cgcagtatGG |
| SeqID 737 |  |  | 1269 | GAGTtc <sup>m</sup> cgcagtaTG  |
| SeqID 738 |  |  | 1269 | GAgttc <sup>m</sup> cgcagtATG  |
| SeqID 739 |  |  | 1269 | GAGttc <sup>m</sup> cgcagtaTG  |
| SeqID 740 |  |  | 1269 | GAgttc <sup>m</sup> cgcagtaTG  |
| SeqID 741 |  |  | 1269 | GGAGttc <sup>m</sup> cgcagtaTG |
| SeqID 742 |  |  | 1269 | GGagttc <sup>m</sup> cgcagtATG |
| SeqID 743 |  |  | 1269 | GGAGttc <sup>m</sup> cgcagtaTG |
| SeqID 744 |  |  | 1269 | GGagttc <sup>m</sup> cgcagtaTG |
| SeqID 745 |  |  | 1525 | TAAagagagtg <sup>m</sup> cGCC  |

|           |  |  |      |                                |
|-----------|--|--|------|--------------------------------|
| SeqID 746 |  |  | 1525 | TAAagagaggtgCGCC               |
| SeqID 747 |  |  | 1525 | TAAAgagaggtg <sup>m</sup> cgCC |
| SeqID 748 |  |  | 1525 | TAAagagaggtgCGCC               |
| SeqID 749 |  |  | 1525 | TAAAgagaggtg <sup>m</sup> cGCC |
| SeqID 750 |  |  | 1526 | TAAagagaggtgCGC                |
| SeqID 751 |  |  | 1526 | TAAagagaggtGCGC                |
| SeqID 752 |  |  | 1526 | TAAagagaggtGCGC                |
| SeqID 753 |  |  | 1526 | TAAAgagaggtgCGC                |
| SeqID 754 |  |  | 1526 | GTAagagaggtgCGC                |
| SeqID 755 |  |  | 1526 | GTaaagagaggtGCGC               |
| SeqID 756 |  |  | 1527 | GTAagagaggtGCG                 |
| SeqID 757 |  |  | 1527 | GTaaagagaggTGCG                |
| SeqID 758 |  |  | 1527 | GTAagagaggTGCG                 |
| SeqID 759 |  |  | 1527 | GTAaagagaggtGCG                |
| SeqID 760 |  |  | 1527 | CGtaaagagaggTGCG               |
| SeqID 761 |  |  | 1527 | CGTAaagagaggtgCG               |
| SeqID 762 |  |  | 1527 | CGTaaagagaggTGCG               |
| SeqID 763 |  |  | 1527 | CGTAaagagaggtGCG               |
| SeqID 764 |  |  | 1528 | CGTaaagagaggTGC                |
| SeqID 765 |  |  | 1528 | CGtaaagagagGTGC                |
| SeqID 766 |  |  | 1528 | CGTAaagagaggtGC                |
| SeqID 767 |  |  | 1528 | CGTaaagagagGTGC                |
| SeqID 768 |  |  | 1528 | CGTAaagagaggTGC                |
| SeqID 769 |  |  | 1528 | GCGtaaagagaggTGC               |
| SeqID 770 |  |  | 1528 | GCgtaaagagagGTGC               |
| SeqID 771 |  |  | 1528 | GCGtaaagagaggTGC               |
| SeqID 772 |  |  | 1528 | GCGtaaagagaggtGC               |
| SeqID 773 |  |  | 1529 | GCGtaaagagagGTG                |
| SeqID 774 |  |  | 1529 | GCgtaaagagaGGTG                |
| SeqID 775 |  |  | 1529 | GCGTaaagagaggTG                |
| SeqID 776 |  |  | 1529 | GCGtaaagagaGGTG                |

|           |  |  |      |                                             |
|-----------|--|--|------|---------------------------------------------|
| SeqID 777 |  |  | 1529 | GCGTaaagagagGTG                             |
| SeqID 778 |  |  | 1529 | CGCgtaaagagagGTG                            |
| SeqID 779 |  |  | 1529 | <sup>m</sup> cg <sup>m</sup> cgtaaagagaGGTG |
| SeqID 780 |  |  | 1529 | CGCGtaaagagaggTG                            |
| SeqID 781 |  |  | 1529 | CGCgtaaagagaGGTG                            |
| SeqID 782 |  |  | 1529 | CGCGtaaagagagGTG                            |
| SeqID 783 |  |  | 1552 | TGAgaaggcacagACG                            |
| SeqID 784 |  |  | 1552 | TGagaaggcacaGACG                            |
| SeqID 785 |  |  | 1552 | TGAGaaggcacagaCG                            |
| SeqID 786 |  |  | 1552 | TGAgaaggcacaGACG                            |
| SeqID 787 |  |  | 1552 | TGAGaaggcacagACG                            |
| SeqID 788 |  |  | 1690 | GCctcaaggt <sup>m</sup> cgGTC               |
| SeqID 789 |  |  | 1690 | GCCtcaaggt <sup>m</sup> cggTC               |
| SeqID 790 |  |  | 1690 | GCctcaaggt <sup>m</sup> cggTC               |
| SeqID 791 |  |  | 1778 | ATgcctacagccTCC                             |
| SeqID 792 |  |  | 1778 | ATGcctacagcctCC                             |
| SeqID 793 |  |  | 1778 | ATgcctacagcctCC                             |
| SeqID 794 |  |  | 1785 | ACCAatttatgcCTAC                            |
| SeqID 795 |  |  | 1785 | ACCaatttatgcCTAC                            |
| SeqID 796 |  |  | 1785 | ACCAatttatgccTAC                            |
| SeqID 797 |  |  | 1785 | ACCaatttatgccTAC                            |
| SeqID 798 |  |  | 1785 | ACCaatttatgcCTAC                            |

Таблица 4. Олигомеры LNA с GalNAc2 с конъюгирующей группой, связанной через С6 аминотерминал и расщепляемую са фосфодисложноэфирную связь с олигомером. GalNAc2 конъюгирующая группа также может быть замещена другими GalNA с конъюгирующими группами или стерольными группами. Мотив олигомерной последовательности, на котором основаны данные олигомеры, представляет собой вариант из табл. 2 и 3.

Заглавные буквы обозначают бета-D-окси LNA, строчные буквы обозначают ДНК, "<sup>m</sup>c/<sup>m</sup>C" обозначает 5-метилцитозин ДНК/LNA, "s" обозначает фосфоротиоатные межнуклеозидные связи. В случаях, когда не определено, связь представляет собой фосфодисложноэфирную межнуклеозидную связь.

| SEQ ID NO | Дизайн                                                                                                                                                                                                                                                |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| SeqID 799 | 5'- GN2-C6 ca <b>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A</b> -3'                                      |
| SeqID 800 | 5'- GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A</b> -3'             |
| SeqID 801 | 5'- GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A</b> -3'              |
| SeqID 802 | 5'- GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>T<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G</b> -3'  |
| SeqID 803 | 5'- GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G<sub>S</sub>T</b> -3'              |
| SeqID 804 | 5'- GN2-C6 ca <b>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>g<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G</b> -3'                          |
| SeqID 805 | 5'- GN2-C6 ca <b>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>g<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G</b> -3'             |
| SeqID 806 | 5'- GN2-C6 ca <b>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G</b> -3'              |
| SeqID 807 | 5'- GN2-C6 ca <b>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G</b> -3' |
| SeqID 808 | 5'- GN2-C6 ca <b>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G</b> -3'              |
| SeqID 809 | 5'- GN2-C6 ca <b>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>T<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C</b> -3' |
| SeqID 810 | 5'- GN2-C6 ca <b>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>G<sub>S</sub>T<sub>S</sub>G</b> -3'                          |
| SeqID 811 | 5'- GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A</b> -3'                           |
| SeqID 812 | 5'- GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C</b> -3'                                        |
| SeqID 813 | 5'- GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>T<sub>S</sub><sup>m</sup>C</b> -3'                            |
| SeqID 814 | 5'- GN2-C6 ca <b>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G<sub>S</sub>T</b> -3'                                       |
| SeqID 815 | 5'- GN2-C6 ca <b>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G</b> -3'                                                    |
| SeqID 816 | 5'- GN2-C6 ca <b>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G</b> -3'                                                    |
| SeqID 817 | 5'-GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G</b> -3'                                         |
| SeqID 818 | 5'-GN2-C6 ca <b>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>T</b> -3'                                        |
| SeqID 819 | 5'-GN2-C6 ca <b>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A</b> -3'                                        |
| SeqID 820 | 5'-GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A</b> -3'                           |
| SeqID 821 | 5'-GN2-C6 ca <b>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G</b> -3'                                                     |
| SeqID 822 | 5'-GN2-C6 ca <b>T<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A<sub>S</sub>3</b> '    |
| SeqID 823 | 5'-GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C</b> -3'                                         |
| SeqID 824 | 5'-GN2-C6 ca <b><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>A<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>C<sub>S</sub>a<sub>S</sub>C<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>A<sub>S</sub>A<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>A</b> -3'                            |
| SeqID 825 | 5'-GN2-C6 ca <b>G<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>G<sub>S</sub>t<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>G</b> -3'                                                     |
| SeqID 826 | 5'-GN2-C6 ca <b>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>g<sub>S</sub>t<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>a<sub>S</sub>g<sub>S</sub><sup>m</sup>C<sub>S</sub>g<sub>S</sub>a<sub>S</sub>A<sub>S</sub>G<sub>S</sub>T<sub>S</sub>G</b> -3'                           |

Перед конъюгацией с GalNAc, олигомеры LNA из табл. 4 представляют собой AM-C6 са-олигомер, где AM-C6 представляет собой аминотерминальный олигомер, готовый для конъюгации, и са представляет собой расщепляемую фосфодисложноэфирную связь. Данные олигомеры включены посредством ссылки из табл. 4 в приоритетной заявке GB1408623.5.

Воплощения.

Следующие воплощения настоящего изобретения, представленные в виде пронумерованных абзацев, могут быть применены в комбинации с другими воплощениями, описанными в данном документе.

1. Олигомерный конъюгат для применения при лечении вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель для доставки упомянутого первого олигомера в печень.

2. Олигомерный конъюгат для применения по п.1, где упомянутый компонент-носитель способен к доставке упомянутого олигомера в печень субъекта, подлежащего лечению посредством введения упомянутого олигомерного конъюгата.

3. Олигомерный конъюгат для применения по п.1 или 2, где упомянутый компонент-носитель способен к доставке упомянутого олигомера к гепатоциту субъекта, подлежащего лечению посредством введения упомянутого олигомерного кандидата.

4. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-3, где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу.

5. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-4, где упомянутый компонент-носитель представляет собой группу, нацеленную на асиалогликопротеиновый рецептор (ASGP-R).

6. Олигомерный конъюгат для применения по п.4 или 5, где упомянутая карбогидратная группа или нацеленная на ASGP-R группа выбрана из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них.

7. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-6, где упомянутый компонент-носитель представляет собой кластер GalNAc, содержащий 2-4 терминальных производных галактозы, гидрофильный спейсер, связывающий каждое производное галактозы с группой точки ветвления.

8. Олигомерный конъюгат для применения по п.7, где производные галактозы представляют собой GalNAc, спейсер представляет собой ПЭГ спейсер и группа точки ветвления содержит пептид с двумя или более аминокислотными группами, такими как дилизин или трилизин.

9. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-8, где упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc2.

10. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-9, где упомянутый первый олигомерный участок по меньшей мере на 80% комплементарен последовательности-мишени.

11. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-10, где упомянутый первый олигомерный участок содержит одно или более звено LNA.

12. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-11, где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэмпер.

13. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-12, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэм, фланкированный с каждой стороны крылом, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено - запертую нуклеиновую кислоту (LNA, от англ. locked nucleic acid).

14. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-13, где упомянутый первый олигомерный участок содержит любой из мотивов: 2-8-2, 3-8-3, 2-8-3, 3-8-2, 2-9-2, 3-9-3, 2-9-3, 3-9-2, 2-10-2, 3-10-3, 3-10-2, 2-10-3, где первое число представляет собой число звеньев LNA в 5' участке крыла LNA, второе число представляет собой число нуклеотидов в гэм участке, и третье число представляет собой число звеньев LNA в 3' участке крыла LNA.

15. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-13, где упомянутый первый олигомерный участок составляет 8-30 нуклеотидов в длину.

16. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-15, где упомянутый первый олигомерный участок составляет 10-20 нуклеотидов в длину.

17. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-16, где упомянутый первый олигомерный участок составляет 10-16 нуклеотидов в длину.

18. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-17, где упомянутый первый олигомерный участок составляет 10-14 нуклеотидов в длину.

19. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-18, где упомянутый первый олигомерный участок связывается с последовательностью-мишенью.

20. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-19, где упомянутый первый олигомерный участок способен ингибировать любой один или более экспрессию, репликацию или трансляцию

последовательности-мишени.

21. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-20, где упомянутый первый олигомерный участок способен ингибировать экспрессию последовательности-мишени.

22. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-21, где упомянутая последовательность-мишень представляет собой ген или мРНК.

23. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-22, где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или ее вариант естественного происхождения.

24. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-23, где упомянутая последовательность-мишень представляет собой ген или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или ее вариант естественного происхождения.

25. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-24, где упомянутая последовательность-мишень расположена внутри последовательности, показанной как SEQ ID NO: 1 и/или SEQ ID NO: 2, или последовательности, которая по меньшей мере на 80% идентична ей, предпочтительно по меньшей мере на 85% идентична ей, предпочтительно по меньшей мере на 90% идентична ей, предпочтительно по меньшей мере на 95% идентична ей.

26. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-24, где упомянутая последовательность-мишень расположена внутри последовательности, показанной в виде SEQ ID NO: 1 и \SEQ ID NO: 2.

27. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-26, где упомянутая последовательность-мишень по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% идентична любой одной или более из HBV генотипов А-Н.

28. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-27, где упомянутая последовательность-мишень выбрана из группы, состоящей из любой одной или более позиций:

1264-1278;  
1530-1544;  
1551-1566;  
1577 to 1598;  
691-706;  
670-684,  
SEQ ID NO: 3.

29. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-28, где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8)  
CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9)  
CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15)  
GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
TAGTAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834).

30. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-29, где упомянутый первый олигомерный участок основан на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой одной или более:

GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO 303);  
 GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO 301);  
 GCGtaaagagaAGG (SEQ ID NO 618);  
 AGCgaagtcacACG (SEQ ID NO 310);  
 AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO 668);  
 AGCgaagtcacaCGG (SEQ ID NO 308);  
 CGAaccactgaACA (SEQ ID NO 297);  
 CGCagtatggaTC (SEQ ID NO 300);  
 AGGtgaagcgaagTGC (SEQ ID NO 315);  
 AGGtgaagcgaagGTG (SEQ ID NO 316);  
 GAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 294);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 295);  
 CGAaccactgaacCAA (SEQ ID NO 296);  
 CGAaccactgaAC (SEQ ID NO 298);  
 CCGcagtatggaTCG (SEQ ID NO 299);  
 CGCgtaaagagaGGT (SEQ ID NO 302);  
 AGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 304);  
 GAGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 305);  
 GAAgtgcacacGG (SEQ ID NO 306);  
 GCGaagtcacaCGG (SEQ ID NO 307);  
 CGAagtgcacaCG (SEQ ID NO 309);  
 GAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 585);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 588);  
 GAAgtgcacaCGG (SEQ ID NO 628);  
 TAGtaaactgagCCA (SEQ ID NO 678);  
 CGAaccactgAAC (SEQ ID NO 600);  
 AGGtgaagcgaAGT (SEQ ID NO 317); и  
 CGAaccactgAACA (SEQ ID NO 597).

где прописные буквы обозначают звенья LNA и строчные буквы обозначают звенья ДНК.

31. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-30, где упомянутый олигомерный конъюгат выбран из группы, состоящей из любой одной или более:



|                                                                                                                                                                                                                                                                              |                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                           | (SEQ ID NO 815) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                                            | (SEQ ID NO 814) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                            | (SEQ ID NO 825) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'                | (SEQ ID NO 808) |
| 5'-GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G-3'                              | (SEQ ID NO 826) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3' | (SEQ ID NO 807) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'                                          | (SEQ ID NO 799) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'             | (SEQ ID NO 800) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'               | (SEQ ID NO 801) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> T <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'  | (SEQ ID NO 802) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'               | (SEQ ID NO 803) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                             | (SEQ ID NO 804) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'              | (SEQ ID NO 805) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                | (SEQ ID NO 806) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C-3' | (SEQ ID NO 809) |
| 5'- GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G-3'                             | (SEQ ID NO 810) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A-3'                              | (SEQ ID NO 811) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C-3'                                             | (SEQ ID NO 812) |
| 5'- GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> T <sub>S</sub> <sup>m</sup> C-3'                                | (SEQ ID NO 813) |
| 5'- GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                           | (SEQ ID NO 816) |
| 5'-GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3'                                              | (SEQ ID NO 817) |
| 5'-GN2-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                                             | (SEQ ID NO 818) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'                              | (SEQ ID NO 819) |
| 5'-GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A-3'              | (SEQ ID NO 820) |
| 5'-GN2-C6 caG <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                                            | (SEQ ID NO 821) |
| 5'-GN2-C6 caT <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A <sub>S</sub> 3'    | (SEQ ID NO 822) |
| 5'-GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C-3'                                              | (SEQ ID NO 823) |
| 5'-GN2-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> A <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> A-3'                               | (SEQ ID NO 824) |

где прописные буквы обозначают звенья бета-D-окси-LNA;

строчные буквы обозначают звенья ДНК;

нижний индекс "s" означает фосфоротиоатную связь;

верхний индекс "m" означает звено ДНК или бета-D-окси-LNA, содержащее 5-метилцитозинное основание;

GN2-C6 обозначает GalNAc2 компонент-носитель с C6 линкером.

32. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-29, где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13)  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11) и  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQIDNO 12).

33. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-29, где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из одной или более из:

AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19) и  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQIDNO 27).

34. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-33, где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

Компонент-носитель - L1 - первый олигомерный участок,  
 где L1 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу, или  
 где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:  
 первый олигомерный участок - L2 - компонент-носитель,  
 где L2 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу.

35. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-34, где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

Компонент-носитель - L1 - первый олигомерный участок где L1 представляет собой возможный линкер.

36. Олигомерный конъюгат для применения по п.34 или 35, где присутствует упомянутый линкер 1.

37. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-36, где упомянутый компонент-носитель связан, предпочтительно конъюгирован с 5'-концом упомянутого олигомера.

38. Олигомерный конъюгат для применения по пп.34-37, где линкерная группа или ветвящийся участок представляет собой физиологически лабильную линкерную группу, или физиологически лабильный ветвящийся участок, или физиологически лабильную связывающую молекулу, или физиологически лабильную мостиковую группу.

39. Олигомерный конъюгат для применения по п.38, где физиологически лабильная линкерная группа представляет собой линкер, чувствительный к нуклеазе.

40. Олигомерный конъюгат для применения по п.38 или 39, где физиологически лабильный линкер в дальнейшем конъюгирован с C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> аминокильной группой.

41. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-40, который в дальнейшем содержит второй олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень.

42. Олигомерный конъюгат для применения по п.41, где каждый из первого олигомерного участка и второго олигомерного участка способен модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV.

43. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.31 или 42, где каждый из первого олигомерного участка и второго олигомерного участка способен модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV; где упомянутые целевые участки различаются.

44. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.41-43, где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

Компонент-носитель - L1 - первый олигомерный участок - L2 – второй олигомерный участок,  
 где L1 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу,

L2 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу,

L1 и L2 могут быть одинаковыми или различными; или

где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

первый олигомерный участок - L2 - второй олигомерный участок - L3 -компонент-носитель,

где L2 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу,

L3 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу,

L2 и L3 могут быть одинаковыми или различными; или

где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

компонент-носитель 1 - L1 - первый олигомерный участок - L2 – второй олигомерный участок - L3 - компонент-носитель 2,

где L1 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу,

L2 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу,

L3 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу, где L1, L2 и L3 могут быть одинаковыми или различными,

компонент-носитель 1 и компонент-носитель 2 могут быть одинаковыми или различными; или

где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

первый олигомерный участок - L1 -компонент-носитель 1 - L2 - второй олигомерный участок,

где L1 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу,

L2 представляет собой возможный линкер или ветвящийся участок или

связывающую молекулу или мостиковую группу

где L1 и L2 и L3 могут быть одинаковыми или различными; или

где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

первый олигомерный участок - L1 -компонент-носитель 1 - L2 - второй олигомерный участок - L3 -

компонент-носитель 2,

где L1 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу,

L2 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу, или мостиковую группу,

L3 представляет собой возможный линкер, или ветвящийся участок, или связывающую молекулу или мостиковую группу,

L1 и L2 могут быть одинаковыми или различными,

компонент-носитель 1 и компонент-носитель 2 могут быть одинаковыми или различными; или

где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

компонент-носитель 1 - L1 - первый олигомерный участок - L2 -компонент-носитель 2 - L3 - второй олигомерный участок - L4 - компонент-носитель 3,

где L1 представляет собой возможный линкер или ветвящийся участок или связывающую молекулу или мостиковую группу

L2 представляет собой возможный линкер или ветвящийся участок или связывающую молекулу или мостиковую группу,

L3 представляет собой возможный линкер или ветвящийся участок или связывающую молекулу или мостиковую группу,

L1, L2 и L3 могут быть одинаковыми или различными,

компонент-носитель 1, компонент-носитель 2 и компонент-носитель 3 могут быть одинаковыми или различными.

45. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.39-43, где упомянутый олигомерный конъюгат обладает или содержит структуру:

Компонент-носитель - L1 - первый олигомерный участок - L2 - второй олигомерный участок,

где L1 представляет собой возможный линкер или ветвящийся участок или связывающую молекулу или мостиковую группу,

L2 представляет собой возможный линкер или ветвящийся участок или связывающую молекулу или мостиковую группу,

L1 и L2 могут быть одинаковыми или различными.

46. Олигомерный конъюгат для применения по п.45, где присутствует упомянутый линкер 1.

47. Олигомерный конъюгат для применения по п.45 или 46, где присутствует упомянутый линкер 2.

48. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.41-46, где упомянутый компонент-носитель связан, предпочтительно конъюгирован с 5'-концом упомянутого олигомера.

49. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.41-48, где каждый из первого олигомерного участка и второго олигомерного участка связан, предпочтительно конъюгирован посредством линкера или ветвящего участка.

50. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.41-49, где каждый и первый олигомерный участок и второй олигомерный участок связаны, предпочтительно конъюгированы за счет физиологически лабильной линкерной группы или физиологически лабильного участка.

51. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-50, где упомянутое вирусное заболевание представляет собой гепатит В или заболевание, ассоциированное с HBV.

52. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-51, где вирусное заболевание ассоциировано с экспрессией или повышенной экспрессией HBx или HBsAg.

53. Олигомерный конъюгат для применения по любому из пп.1-52, где упомянутый олигомерный

конъюгат вводят подкожно.

54. Композиция для применения при лечении вирусного заболевания, где упомянутая композиция содержит олигомерный конъюгат, как определено в любом из пп.1-53 и по меньшей мере один дополнительный отличающийся олигонуклеотид.

55. Композиция для применения по п.54, где по меньшей мере один из упомянутых дополнительных отличающихся олигонуклеотидов представляет собой олигомерный конъюгат.

56. Композиция для применения по п.54 или .55, где каждый упомянутый дополнительный отличающийся олигонуклеотид представляет собой олигомерный конъюгат.

57. Композиция для применения по любому из пп.54-56, где упомянутый дополнительный отличающийся олигонуклеотид способен модулировать последовательность-мишень в HBV.

58. Композиция для применения по любому из пп.54-57, где по меньшей мере один дополнительный отличающийся олигонуклеотид способен модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV.

59. Композиция для применения по любому из пп.54-58, где по меньшей мере один упомянутый дополнительный отличающийся олигонуклеотид способен модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV; и где упомянутый по меньшей мере один из дополнительных упомянутых отличающихся олигонуклеотидов способен модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV отличную от той, на которую нацелен олигомерный конъюгат по любому из пп.1-53.

60. Композиция для применения по любому из пп.54-59, где каждый упомянутый дополнительный отличающийся олигонуклеотид способен модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV.

61. Композиция для применения по любому из пп.54-60, где каждый из упомянутых дополнительных отличающихся олигонуклеотидов способен модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV; и где каждый дополнительный отличающийся олигонуклеотид способен модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV, отличающуюся от той, на которую нацелен олигомерный конъюгат по любому из пп.1 - 53.

62. Олигомерный конъюгат приемлемый для лечения вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного расстройства; и

б) компонент-носитель для доставки упомянутого первого олигомера в печень.

63. Олигомерный конъюгат по п.62, где упомянутый олигомер определен в любом из пп.1-53.

64. Композиция, приемлемая для лечения вирусного заболевания, где упомянутая композиция содержит олигомерный конъюгат и по меньшей мере один дополнительный отличающийся олигонуклеотид; где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель для доставки упомянутого первого олигомера в печень.

65. Композиция по п.64, где упомянутый олигомерный конъюгат представляет собой олигомерный конъюгат, определенный в любом из пп.1-53 или любом из пп.62, 63.

66. Композиция по п.64 или 65, где упомянутый дополнительный отличающийся олигонуклеотид определен в любом из пп.62, 63.

67. Олигомер, основанный на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8)  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9)  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15)  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834)

который способен модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg HBV для лечения вирусного заболевания.

68. Олигомер по п.67, где упомянутый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13)  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11) и  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12).

69. Олигомер по п.67, где олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19) и  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27).

70. Олигомер по любому из пп.67-69, где упомянутый олигомер содержит одно или более звено LNA.

71. Олигомер по любому из пп.67-70, где упомянутый олигомер представляет собой гэтмер.

72. Олигомер по любому из пп.67-71, где упомянутый олигомер содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэт, фланкированный с каждой стороны крылом, где каждое крыло независимо содержит одно или более звеньев LNA.

73. Олигомер по любому из пп.67-72, где упомянутый олигомер любой один из мотивов: 2-8-2, 3-8-3, 2-8-3, 3-8-2, 2-9-2, 3-9-3, 2-9-3, 3-9-2, 2-10-2, 3-10-3, 3-10-2, 2-10-3, где первое число представляет собой звенья LNA в участке крыла LNA, второе число представляет собой число нуклеотидов в гэт участке, и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла LNA.

74. Олигомер по любому из пп.67-73, где упомянутый первый олигомерный участок составляет в длину 10-18 нуклеотидов.

75. Олигомер по любому из пп.67-74, где упомянутый первый олигомерный участок составляет в длину 10-16 нуклеотидов.

76. Олигомер по любому из пп.67-75, где упомянутый первый олигомерный участок составляет в длину 10-14 нуклеотидов.

77. Олигомер по любому из пп.67-76, основанный на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGtaaagagaGG(SEQ ID NO 303);  
 GCGtaaagagaGGT(SEQ ID NO 301);  
 GCGtaaagagAGG (SEQ ID NO 618);  
 AGCgaagtgcacACG (SEQ ID NO 310)

AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO 668);  
 AGCgaagtcacaCGG (SEQ ID NO 308);  
 CGAaccactgaACA (SEQ ID NO 297);  
 CGCagtatggaTC (SEQ ID NO 300);  
 AGGtgaagcgaagTGC (SEQ ID NO 315);  
 AGGtgaagcgaaGTG (SEQ ID NO 316);  
 GAAccactgaacAAA (SEQ ID NO 294);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 295);  
 CGAaccactgaaCAA (SEQ ID NO 296);  
 CGAaccactgaAC (SEQ ID NO 298);  
 CCGcagtatggaTCG (SEQ ID NO 299);  
 CGCgtaaagagaGGT (SEQ ID NO 302);  
 AGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 304);  
 GAGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO 305);  
 GAAgtgcacacGG (SEQ ID NO 306);  
 GCGaagtcacaCGG (SEQ ID NO 307);  
 CGAagtgcacaCG (SEQ ID NO 309);  
 GAAccactgaaCAAA (SEQ ID NO 585);  
 CGAaccactgaacAAA (SEQ ID NO 588);  
 GAAgtgcacaCGG (SEQ ID NO 628);  
 TAGtaaactgagCCA (SEQ ID NO 678);  
 CGAaccactgAAC (SEQ ID NO 600);  
 AGGtgaagcgaAGT (SEQ ID NO 317); и  
 CGAaccactgAACA (SEQ ID NO 597),

где прописные буквы обозначают усиливающие аффинность нуклеотидные аналоги, и строчные буквы обозначают звенья ДНК.

78. Олигомер по любому из пп.67-77, основанный на последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой одной или более из:

- |                                                                                                                                                                                                                                                              |                 |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 5'- AM-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                            | (SEQ ID NO 303) |
| 5'- AM-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T-3'                             | (SEQ ID NO 301) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G <sub>S</sub> t <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> G-3'                                             | (SEQ ID NO 618) |
| 5'- AM-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> c <sub>S</sub> a <sub>S</sub> c <sub>S</sub> A <sub>S</sub> <sup>m</sup> C <sub>S</sub> G-3' | (SEQ ID NO 310) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>S</sub> G <sub>S</sub> g <sub>S</sub> t <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> g <sub>S</sub> <sup>m</sup> c <sub>S</sub> g <sub>S</sub> a <sub>S</sub> A <sub>S</sub> G <sub>S</sub> T <sub>S</sub> G-3'                              | (SEQ ID NO 668) |

|                                                                                                                                                                                                                                                                            |                 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| 5'-AM-C6 caA <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                               | (SEQ ID NO 308) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A-3'                                                         | (SEQ ID NO 294) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A-3'                                           | (SEQ ID NO 295) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A-3'                              | (SEQ ID NO 296) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> A <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> T <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G-3'                 | (SEQ ID NO 299) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T-3'                              | (SEQ ID NO 302) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                                            | (SEQ ID NO 304) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                             | (SEQ ID NO 305) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                               | (SEQ ID NO 307) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C-3' | (SEQ ID NO 315) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G-3'                             | (SEQ ID NO 316) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A-3'                                             | (SEQ ID NO 297) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C-3'                                                            | (SEQ ID NO 298) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> A <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> T <sub>s</sub> <sup>m</sup> C-3'                                               | (SEQ ID NO 300) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                                                                          | (SEQ ID NO 306) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G-3'                                                            | (SEQ ID NO 309) |
| 5'-AM-C6 caA <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T-3'                                                           | (SEQ ID NO 317) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A-3'                                            | (SEQ ID NO 585) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A-3'                            | (SEQ ID NO 588) |
| 5'-AM-C6 caG <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> G-3'                                                                          | (SEQ ID NO 628) |
| 5'-AM-C6 caT <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> T <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> G <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> 3'                  | (SEQ ID NO 678) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C-3'                                                            | (SEQ ID NO 600) |
| 5'-AM-C6 ca <sup>m</sup> C <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> C <sub>s</sub> A <sub>s</sub> C <sub>s</sub> T <sub>s</sub> G <sub>s</sub> A <sub>s</sub> A <sub>s</sub> <sup>m</sup> C <sub>s</sub> A-3'                              | (SEQ ID NO 597) |

где прописные буквы обозначают звенья бета-D-окси-LNA;  
 строчные буквы обозначают звенья ДНК;  
 нижний индекс "s" обозначает фосфоротиоатную связь;  
 верхний индекс "m" обозначает звено ДНК или бета-D-окси-LNA, содержащее 5-метилцитозинное основание;

AM-C6 представляет собой аминок-6 линкер; где 5' терминальная группа "AM-C6 ca" является возможной.

79. Олигомеры по любому из пп.67-78 для применения при медицинском лечении.

80. Олигомеры по любому из пп.67-79 для применения при лечении вирусного заболевания.

81. Олигомеры по п.79 или п.80, где упомянутый олигомер определен в любом из пп.1-53.

82. Олигомеры по п.79 или п.81, где упомянутое заболевание определено в любом из пп.1-53.

83. Композиция, приемлемая для лечения вирусного заболевания, где упомянутая композиция содержит по меньшей мере один дополнительный отличающийся олигонуклеотид; где упомянутый олигомер содержит по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания.

84. Композиция по п.83, где упомянутый олигомер представляет собой олигомер по любому из пп.67-82.

85. Композиция по п.83 или п.84, где упомянутый по меньшей мере один дополнительный отличающийся олигонуклеотид представляет собой дополнительный отличающийся олигонуклеотид по лю-

бому из пп.54-61.

86. Способ лечения вирусного заболевания, упомянутый способ, содержащий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, эффективного количества олигомерного конъюгата по п.62 или 63 или олигомерного конъюгата по любому из пп.1-52.

87. Способ лечения вирусного заболевания, упомянутый способ, содержащий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, эффективного количества композиции по любому из пп.64-66 или композиции по любому из пп.54-61 или композиции по любому из пп.83-85.

88. Способ лечения вирусного заболевания, упомянутый способ, содержащий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, эффективного количества олигомера по любому из пп.67-82.

89. Фармацевтическая композиция, содержащая олигомерный конъюгат по п.62 или п.63 или олигомерный конъюгат по любому из пп.1-53 и один или более фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель, соль или адъювант.

90. Фармацевтическая композиция, содержащая композицию по любому из пп.64-66 или композиции по любому из пп.54-61, или композицию по любому из пп.83-85 и один или более фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель, соль или адъювант.

91. Фармацевтическая композиция, содержащая олигомер по любому из пп.67-82 и один или более фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель, соль или адъювант.

Фармацевтическая система, содержащая фармацевтическую композицию по любому из пп.89-91 и дополнительное фармацевтическое вещество.

92. Способ производства олигомерного конъюгата по любому из пп.1-52, содержащий один или более олигомер по любому из пп.1-52, содержащий конъюгирование одного или более олигомера, определенного в любом из пп.1-53, с компонентом-носителем по любому из пп.1-53.

93. Способ производства композиции по любому из пп.64-66, содержащий смешивание олигомерного конъюгата по любому из пп.1-53 с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем, солью или адъювантом.

94. Способ производства композиции по п.91, содержащий смешивание олигомера по любому из пп.67-82 с фармацевтически приемлемым разбавителем, носителем, солью или адъювантом.

95. Изобретение по любому из пп.1-93, где олигомер или олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит любой из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число модифицированных нуклеотидов в участке крыла, предпочтительно по меньшей мере один, представляющий собой звено LNA, предпочтительно все представляющие собой звено LNA, второе число представляет собой число нуклеотидов в гзп участке, и третье число представляет собой число модифицированных нуклеотидов в участке крыла, предпочтительно по меньшей мере один, представляющий собой звено LNA, предпочтительно все, представляющие собой звено LNA.

96. Олигомерный конъюгат, по существу, определенный в данном документе, и со ссылкой на примеры.

97. Композиция, по существу, определенная в данном документе и со ссылкой на примеры.

98. Олигомер, по существу, определенный в данном документе и со ссылкой на примеры.

99. Способ, по существу, определенный в данном документе и со ссылкой на примеры.

#### **Конкретные воплощения**

Настоящее изобретение относится к олигомерному конъюгату для применения при лечении вирусного заболевания. Олигомерный конъюгат содержит:

а) олигомер, способный модулировать последовательность-мишень в HBx или HBsAg вируса гепатита В (HBV) для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель, конъюгированный с упомянутым олигомером. Предпочтительно компонент-носитель служит для доставки упомянутого первого олигомера в печень.

Предпочтительные аспекты для конкретных воплощений настоящего изобретения в настоящем приведены.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат для применения при лечении вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень в вирусе гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель,

где упомянутый первый олигомерный участок составляет в длину 8-16 нуклеотидов; где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гзпмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гзп, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звеньев LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из



них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит кластер GalNAc или GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc<sub>2</sub>;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат, приемлемый для лечения вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель,

где упомянутый первый олигомерный участок составляет в длину 8-16 нуклеотидов; где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэнмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэн, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит кластер GalNAc или GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc<sub>2</sub>;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает композицию, приемлемую для лечения вирусного заболевания, где упомянутая композиция содержит олигомерный конъюгат и по меньшей мере один дополнительный отличающийся олигонуклеотид; где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень в вирусе гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного расстройства; и

б) компонент-носитель,

где упомянутый первый олигомерный участок составляет 8-16 нуклеотидов в длину;

где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэнмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэн, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетил-галактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них;

предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит кластер GalNAc или GalNAc;

предпочтительно компонент-носитель представляет собой GalNAc<sub>2</sub>;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующей HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат для применения при лечении вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель;

где упомянутый первый олигомерный участок составляет 8-16 нуклеотидов в длину; где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэнмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэн, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звеньев LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамин или кластер любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит кластер GalNAc или GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc<sub>2</sub>;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения;

где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8)  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9)  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15)  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834).

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат, приемлемый для лечения вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель;

где упомянутый олигомерный участок составляет 8-16 олигонуклеотидов в длину; где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэнмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэн, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит кластер GalNAc или GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc2;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения;

где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8)  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9)  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15)  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает композицию, приемлемую для лечения вирусного заболевания, где упомянутая композиция содержит олигомерный конъюгат и по меньшей мере один дополнительный отличающийся олигонуклеотид; где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного расстройства; и

б) компонент-носитель;

где упомянутый первый олигомерный участок составляет 8-16 нуклеотидов в длину;

где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэлмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэл, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звеньев LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит GalNAc или кластер GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc<sub>2</sub>;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения;

где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);

CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8)  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9)  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15)  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат для применения при лечении вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель;

где упомянутый первый олигомерный участок составляет 12-16 нуклеотидов в длину;

где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэмпер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэм, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит GalNAc или кластер GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc2;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения;

где олигомерный конъюгат содержит любой один из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла, второе число представляет собой число нуклеотидов в гэм участке и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат, приемлемый для лечения вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один олигомерный участок способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель;

где упомянутый олигомерный участок составляет 12-16 нуклеотидов в длину; где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэмпер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэм, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит GalNAc или кластер GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc2;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть или мРНК, кодирующей HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения; где олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит любой один из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла, второе число представляет собой число нуклеотидов в гэм участке и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает композицию, приемлемую для лечения вирусного заболевания, где упомянутая композиция содержит олигомерный конъюгат и по меньшей мере один дополнительный отличающийся олигонуклеотид; где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомяну-

того вирусного заболевания; и

b) компонент-носитель;

где упомянутый олигомерный участок составляет 12-16 нуклеотидов в длину; где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэммер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэм, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA; где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит GalNAc или кластер GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc2;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения;

где олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит любой один из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла, второе число представляет собой число нуклеотидов в гэм участке и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат для применения при лечении вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

a) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

b) компонент-носитель;

где упомянутый первый олигомерный участок составляет 12-16 нуклеотидов в длину;

где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гэммер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэм, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит GalNAc или кластер GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc2;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения;

где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8);  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9);  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15);  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834);

где олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит любой один из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла, второе число представляет собой число нуклеотидов в гзп участке и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомерный конъюгат, приемлемый для лечения вирусного заболевания, где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель;

где упомянутый первый олигомерный участок составляет 12-16 нуклеотидов в длину;

где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гзпмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гзп, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит GalNAc или кластер GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc<sub>2</sub>;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения;

где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8);  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9);  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15);  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834);

где олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит любой один из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла, второе число представляет собой число нуклеотидов в гзп участке и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает композицию, приемлемую для лечения вирусного заболевания, где упомянутая композиция содержит олигомерный конъюгат и по меньшей мере один дополнительный отличающийся олигонуклеотид; где упомянутый олигомерный конъюгат содержит:

а) по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

б) компонент-носитель;

где упомянутый первый олигомерный участок составляет 12-16 нуклеотидов в длину;

где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гзпмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гзп, фланкированный

с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA;

где упомянутый компонент-носитель представляет собой карбогидратную конъюгирующую группу, предпочтительно упомянутый компонент-носитель выбран из группы, состоящей из галактозы, галактозамина, N-формил-галактозамина, N-ацетилгалактозамина (GalNAc), N-пропионил-галактозамина, N-н-бутаноил-галактозамина, N-изобутаноилгалактозамина или кластера любого одного или более из них; предпочтительно упомянутый компонент-носитель содержит GalNAc или кластер GalNAc; предпочтительно упомянутый компонент-носитель представляет собой GalNAc<sub>2</sub>;

где упомянутая последовательность-мишень содержит по меньшей мере часть гена или мРНК, кодирующую HBx или HBsAg или его вариант естественного происхождения;

где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8);  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9);  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15);  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834);

где олигомерный компонент олигомерного конъюгата содержит любой один из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла, второе число представляет собой число нуклеотидов в гэп участке, и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомер для лечения вирусного заболевания, где упомянутый олигомер содержит по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания; и

где упомянутый первый олигомерный участок составляет 12-16 нуклеотидов в длину;

где упомянутый олигомерный участок представляет собой гэпмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гэп, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звеньев LNA;

где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8);  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9);  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15);  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834);

где олигомер содержит любой один из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла, второе число представляет собой число нуклеотидов в гзп участке и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла.

В одном аспекте настоящее изобретение предлагает олигомер, приемлемый для лечения вирусного заболевания, где упомянутый олигомер содержит по меньшей мере один первый олигомерный участок, способный модулировать последовательность-мишень вируса гепатита В (HBV), предпочтительно HBx или HBsAg HBV, для лечения упомянутого вирусного заболевания, и где упомянутый первый олигомерный участок составляет 12-16 нуклеотидов в длину; где упомянутый первый олигомерный участок представляет собой гзпмер, предпочтительно, где упомянутый первый олигомерный участок содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гзп, фланкированный с каждой стороны крылом, предпочтительно, где каждое крыло независимо содержит одно или более звено LNA;

где упомянутый первый олигомерный участок основан на коровом мотиве, выбранном из группы, состоящей из любой одной или более из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO 13);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 11);  
 AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 20);  
 AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO 26);  
 AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 18);  
 CGAACCACTGAACA (SEQ ID NO 7);  
 GAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 4);  
 CGAACCACTGAACAAA (SEQ ID NO 5);  
 CGAACCACTGAACAA (SEQ ID NO 6);  
 CGAACCACTGAAC (SEQ ID NO 8);  
 CCGCAGTATGGATCG (SEQ ID NO 9);  
 CGCAGTATGGATC (SEQ ID NO 10);  
 GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO 12);  
 AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 14);  
 GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO 15);  
 GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 16);  
 GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO 17);  
 CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO 19);  
 AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO 27); и  
 TAGTAACTGAGCCA (SEQ ID NO 834);

где олигомер содержит любой один из мотивов: 3-10-3, 3-10-2, 3-9-3, 3-9-2, 3-8-3, 3-8-2, где первое число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла, второе число представляет собой число нуклеотидов в гзп участке и третье число представляет собой число звеньев LNA в участке крыла.



## Примеры

Материалы и методы.

Детекция HBsAg и HBeAg.

Сывороточный уровень HBsAg и HBeAd определяли в сыворотке инфицированных AAV-HBV мышей при помощи HBsAg хемотропной люминесцентной иммуноанализа (CLIA) и HBeAd кита CLIA (Autobio diagnostics Co. Ltd., Zhengzhou, China, Cat. no. CL0310-2 и CL0312-2 соответственно) согласно протоколу производителя. Вкратце, 50 мкл сыворотки переносили в соответствующий микропланшет, покрытый антителами, и добавляли 50 мкл реагента конъюгата фермента. Планшет инкубировали в течение 60 мин на шейкере при комнатной температуре перед тем, как все лунки промывали 6 раз буфером для промывки при помощи автоматического вошера. К каждой лунке добавляли 25 мкл субстрата А и затем 25 мкл субстрата В. Планшет инкубировали в течение 10 мин при КТ (комнатной температуре) перед измерением люминесценции при помощи ридера люминесценции Envision. HBsAg дана в виде единицы МЕ/мл; где 1 нг HBsAg = 1,14 МЕ. HBeAg дана в виде единицы ТЕ/мл сыворотки.

Экстракция ДНК HBV и количественная ПЦР (qPCR).

Первично сыворотку мыши разбавляли с фактором разведения 10 (1:10) фосфатно-буферным солевым раствором (PBS). ДНК экстрагировали при помощи робота MagNA Pure 96 (Roche). 50 мкл разбавленной сыворотки смешивали в рабочем картридже с 200 мкл внешнего лизисного буфера MagNA Pure 96 (Roche, Cat. no. 06374913001) и инкубировали в течение 10 мин. Затем ДНК экстрагировали при помощи "MagNA Pure 96 DNA and Viral Nucleic Acid Small Volume Kit" (Roche, Cat. no. 06543588001) и протокола "Viral NA Plasma SV external lysis 2.0". Элюирующий объем ДНК составил 50 мкл.

Количественную оценку экстрагированной ДНК HBV выполняли при помощи Taqman qPCR machine (VNA7, life technologies). Каждый образец ДНК тестировали в дубликate в ходе ПЦР. 5 мкл образца ДНК добавляли к 15 мкл ПЦР-смеси, содержащей 10 мкл TaqMan Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems, Cat. no. 4369016), 0,5 мкл PrimeTime XL qPCR Primer/Probe (IDT) и 4,5 мкл дистиллированной воды в 384 луночном планшете и ПУР проводили при следующих условиях: UDG-инкубация (2 мин, 50°C), активация фермента (10 мин, 95°C) и ПЦР (40 циклов: 15 с, 95° для денатурации и 1 мин, 60°C для отжига и удлинения). Число копий ДНК вычисляли исходя из значений  $C_t$  на основании стандартной кривой для плазмидной ДНК HBV при помощи программного обеспечения VNA7. Последовательности TaqMan праймеров и проб (IDT): Прямой праймер на кор (F3\_core): CTG TGC CTT GGG TGG CTT T Обратный праймер (R3\_core): AAG GAAAGAAGT CAG AAG GCAAAA Taqman проба (P3\_core): 56-FAM/AGC TCC AAA /ZEN/TTC TTT ATA AGG GTC GAT GTC CAT G/3IABkFC

In vitro анализ тканеспецифичного расщепления линкера FAM-меченные олигомеры с физиологически лабильным линкером, подлежащие тестированию (например, ДНК фосфодисложноэфирный линкер (PO линкер)) подвергали расщеплению in vitro при помощи гомогенатов соответствующих тканей (например, печень или почки) и сыворотки.

Образцы тканей и сыворотки собирали от приемлемых животных (например, мышь, обезьяна, свинья или крыса) и гомогенизировали в буфере для гомогенизации (0,5% Igepal CA-630, 25 mM Трис pH 8,0, 100 mM NaCl, pH 8,0 (подведенного 1n. NaOH). Тканевые гомогенаты и сыворотку обогащали олигомером до концентрации 200 мкг/г ткани. Образцы инкубировали в течение 24 ч при 37°C, и затем образцы экстрагировали при помощи фенол-хлороформа. Растворы подвергали анионообменной ВЭЖХ на Dionex Ultimate 3000 при помощи Dionex DNAPac p-100 колонки и градиента, варьирующего от 10 mM до 1 M перхлората натрия при pH 7,5. Содержание расщепленного и не расщепленного олигомера определяли относительно стандарта при помощи как флуоресцентного детектора при 615 нм, так и УФ-детектора при 260 нм.

Анализ расщепления нуклеазой S1.

FAM-меченные олигомеры с линкерами, чувствительными к нуклеазе S1, (например, ДНК фосфодисложноэфирным линкером (PO линкер)) подвергали расщеплению in vitro в экстракте нуклеазы S1 или сыворотке.

100 мкМ олигомер подвергали расщеплению in vitro нуклеазой S1 в нуклеазном буфере (60 ед/100 мкл) в течение 20 и 120 мин. Ферментативную активность останавливали посредством добавления ЭДТА к буферному раствору. Растворы подвергали анионообменной ВЭЖХ на Dionex Ultimate 3000 при помощи Dionex DNAPac p-100 колонки и градиента, варьирующего от 10 mM до 1 M перхлората натрия при pH 7,5. Содержание расщепленного и не расщепленного олигомера определяли относительно стандарта при помощи как флуоресцентного детектора при 615 нм, так и УФ-детектора при 260 нм.

Пример 1.

Конструкция конъюгатов.

Олигонуклеотиды синтезировали на уридиновых универсальных подложках или подложке UnyLinker от Kinovate при помощи фосфорамидитного метода на синтезаторе ДНК/РНК MerMade12 или OligoMaker при масштабе 4 мкмоль. В конце синтеза олигонуклеотиды отщепляли от твердой подложки при помощи водного аммиака в течение 1-2 ч при комнатной температуре и в дальнейшем депротектиро-

вали в течение 16 ч при 65°C. Олигонуклеотиды очищали при помощи обратно-фазовой ВЭЖХ (RP-HPLC) и характеризовали посредством ВЭЖХ, и молекулярные массы в дальнейшем подтверждали посредством ESI-MS (масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением). Подробнее см. ниже.

Удлинение олигонуклеотида.

Соединение  $\beta$ -цианоэтил-фосфорамидитов (DNA-A(Bz), DNA-G(ibu), DNA-C(Bz), DNA-T, LNA-5-метил-C(Bz), LNA-A(Bz), LNA-G(dmf), LNA-T или amino-C6 линкер) проводили при помощи раствора 0,1 М 5'-O-DMT-защищенного фосфорамидита в ацетонитриле и DCI (4,5-дицианоимидазоле) в ацетонитриле (0,25 М) в качестве активатора. Тиолирование для введения фосфотиоатных связей выполняли при помощи гидрида ксантана (0,01 М в ацетонитрил/пиридин 9:1). Фосфодисложноэфирные связи вводили при помощи 0,02 М йодина в ТГФ/пиридин/вода 7:2:1. Остальные реагенты представляли собой таковые, обычно применяемые для синтеза олигонуклеотидов. Для конъюгирования после твердофазного синтеза применяли коммерчески доступный C6 амиолинкер фосфорамидит в последнем цикле твердофазного синтеза и после депротектирования и отщепления от твердой подложки, изолировали аминокислотный депротектированный олигонуклеотид. Конъюгат вводили через активацию карбоновой кислоты и последующую реакцию с амином на 5'-конце олигонуклеотида при помощи способов стандартного синтеза.

Очистка посредством ОФ-ВЭЖХ.

Неочищенное соединение очищали при помощи препаративной ОФ-ВЭЖХ на Phenomenex Jupiter C18 10 мкм 150×10 мм колонке. 0,1 М ацетат аммония pH 8 и ацетонитрил применяли в качестве буферов при скорости тока 5 мл/мин. Собранные фракции лиофилизировали для получения очищенного соединения, обычно в виде белого твердого вещества.

Сокращения:

DCI: 4,5-дицианоимидазол,

ДХМ: дихлорметан,

ДМФ: диметилформамид,

DMT: 4,4'-диметокситритил,

ТГФ: тетрагидрофуран,

Bz: бензоил,

Ibu: изобутирил,

ОФ-ВЭЖХ: обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография.

Пример 2.

Анализ эффективности *in vitro*.

Введение.

HbsAg анализ, выполненный в следующих исследованиях, является стандартным методом. Он измеряет количество образующегося вируса. Таким образом, он измеряет снижение вируса за счет олигомеров или олигомерных конъюгатов, нацеленных на HBx или HBsAg. Кроме того, олигомеры или олигомерные конъюгаты, которые нацелены на транскрипт HBx также будут нацелены на транскрипт HbsAg (см. также столбец 3 и 4 в таблице результатов).

Клеточные линии.

НерG2.2.15 клетки культивировали в DMEM+Glutamax-I среде (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой (Invitrogen) и G418 (Invitrogen) в конечной концентрации 200 мг/л и поддерживали при 5% CO<sub>2</sub> при 37°C.

HBsAg анализ.

НерG2.2.15 клетки (клеточная линия, постоянно экспрессирующая HBV) засеивали в дубликатах в белые 96-луночные планшеты при 1,5×10<sup>4</sup> клеток/лунку. Клетки обрабатывали отдельными концентрациями олигомеров или сериями трехкратных серийных разведений соединений в ДМСО. Конечная концентрация ДМСО в каждой лунке составляла 1%, и ДМСО применяли в качестве контроля.

Кит для HBsAg хемилюминесцентного анализа (CLIA) (Autobio Diagnostics Co., Zhengzhou, China) применяли для полуколичественного измерения уровней секретируемых HBV-антигенов. Для детекции применяли 50 мкл/лунку супернатанта культуры, и процедуру проводили согласно инструкции производителя. Цитотоксичность измеряли при помощи CellTiter-Glo (Promega, Madison, WI, USA, Cat# G7571). При помощи E-WorkBook Suite (ID Business Solutions Ltd., Guildford, UK) получали кривые дозовой зависимости и экстраполировали значения IC<sub>50</sub> и CC<sub>50</sub>.

IC<sub>50</sub> и CC<sub>50</sub> определяют как концентрацию соединения (или log разведения кондиционированной среды), при котором секреция и цитотоксичность (IC<sub>50</sub>) и (CC<sub>50</sub>), HBsAg соответственно снижены на 50% по сравнению с контролем. Данные могут быть представлены в виде значения EC<sub>50</sub> для олигомера, в случае тестирования в диапазоне концентраций, или в качестве абсолютного уровня HBsAg в супернатанте в виде процента уровней HBsAg в контрольных образцах без лекарственного средства, в случае тестирования с единственной концентрацией.

Результаты обработки отдельными концентрациями.

Всего 290 олигомеров без конъюгата скринировали в анализе эффективности *in vitro* при помощи

единственной дозы 25 мкМ олигомера. Секретию HBV антигена (HBsAg) измеряли после 13 дней. Табл. 5 ниже показывает результаты скрининга. Олигомеры SEQ ID NO: 294 - SEQ ID NO: 318, все, снижали активность HBsAg до менее 40% от контроля. Олигомер SEQ ID NO: 584 соответствует олигомеру, раскрытому как SEQ ID NO: 16 в US 8598334.

Дополнительные 213 олигомеров скринировали в анализе эффективности in vitro при помощи единственной дозы 25 мкМ олигомера. Результаты приведены на фиг. 5а.

Таблица 5. Активность HBsAg при 25 мкМ олигомера как % контроля.

| SEQ ID NO | Олигомеры, которые связывают как транскрипт HBsAg, так и HBx (SEQ ID NO 2) | Олигомеры, которые связывают транскрипты HBsAg (SEQ ID NO 3), но не транскрипт HBx | Старт-позиции олигомера U95551 (SEQ ID NO 1) | LNA олигомерные последовательности (заглавные буквы - бета-D-окси LNA; C LNA представляет собой 5-метил C LNA; прописные буквы - ДНК; <sup>m</sup> с - 5-метилцитозин ДНК; все межнуклеозидные связи представляют собой фосфоротиоатные межнуклеозидные связи) | Активность (HBsAg уровни в супернатанте культуры в виде процента клеток, обработанных ДМСО) | Стандартное отклонение |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| SeqID 294 |                                                                            | X                                                                                  | 691                                          | GAAccactgaacAAA                                                                                                                                                                                                                                                | 22,07                                                                                       | 2,28                   |
| SeqID 295 |                                                                            | X                                                                                  | 691                                          | CGAaccactgaacAAA                                                                                                                                                                                                                                               | 18,38                                                                                       | 2,08                   |
| SeqID 296 |                                                                            | X                                                                                  | 692                                          | CGAaccactgaaCAA                                                                                                                                                                                                                                                | 10,28                                                                                       | 0,83                   |
| SeqID 297 |                                                                            | X                                                                                  | 693                                          | CGAaccactgaACA                                                                                                                                                                                                                                                 | 14,74                                                                                       | 1,99                   |
| SeqID 298 |                                                                            | X                                                                                  | 694                                          | CGAaccactgaAC                                                                                                                                                                                                                                                  | 15,68                                                                                       | 1,09                   |
| SeqID 299 | x                                                                          |                                                                                    | 126<br>4                                     | CCGcagtatggaTCG                                                                                                                                                                                                                                                | 38,83                                                                                       | 4,40                   |
| SeqID 300 | x                                                                          |                                                                                    | 126<br>5                                     | CGCagtatggaTC                                                                                                                                                                                                                                                  | 26,86                                                                                       | 2,15                   |
| SeqID 301 | x                                                                          |                                                                                    | 153<br>0                                     | GCGtaaagagaGGT                                                                                                                                                                                                                                                 | 34,38                                                                                       | 1,52                   |

|              |   |   |          |                                |       |      |
|--------------|---|---|----------|--------------------------------|-------|------|
| SeqID<br>302 | x |   | 153<br>0 | CGCgtaaagagaGGT                | 38,30 | 6,35 |
| SeqID<br>303 | x |   | 153<br>1 | GCGtaaagagaGG                  | 37,42 | 3,29 |
| SeqID<br>304 | x |   | 155<br>1 | AGAaggcacagaCGG                | 25,28 | 1,62 |
| SeqID<br>305 | x |   | 155<br>1 | GAGaaggcacagaCGG               | 25,02 | 1,51 |
| SeqID<br>306 | x |   | 157<br>7 | GAAgtgcaca <sup>m</sup> cGG    | 14,81 | 3,11 |
| SeqID<br>307 | x |   | 157<br>7 | GCGaagtgcacaCGG                | 21,88 | 2,55 |
| SeqID<br>308 | x |   | 157<br>7 | AGCgaagtgcacaCGG               | 16,33 | 2,31 |
| SeqID<br>309 | x |   | 157<br>8 | CGAagtgcacaCG                  | 25,64 | 2,12 |
| SeqID        | x |   | 157      | AGCgaagtgcacACG                | 23,45 | 1,99 |
| 310          |   |   | 8        |                                |       |      |
| SeqID<br>311 | x |   | 157<br>8 | AAGmogaagtgcacACG              | 31,48 | 2,85 |
| SeqID<br>312 | x |   | 158<br>0 | GAAg <sup>m</sup> cgaagtgcACA  | 35,14 | 0,93 |
| SeqID<br>313 | x |   | 158<br>2 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagtGCA | 38,27 | 2,92 |
| SeqID<br>314 | x |   | 158<br>3 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagTGC  | 30,58 | 4,73 |
| SeqID<br>315 | x |   | 158<br>3 | AGGtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC | 15,21 | 1,90 |
| SeqID<br>316 | x |   | 158<br>4 | AGGtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC | 13,27 | 0,84 |
| SeqID<br>317 | x |   | 158<br>5 | AGGtgaag <sup>m</sup> cgaAGT   | 13,29 | 0,75 |
| SeqID<br>318 | x |   | 158<br>8 | CAGaggtgaagCGA                 | 32,61 | 2,06 |
| SeqID<br>319 |   | X | 201      | AAAaccc <sup>m</sup> cgccTGT   | 72,50 | 5,31 |
| SeqID<br>320 |   | X | 202      | AAAaccc <sup>m</sup> cgccTG    | 69,30 | 7,61 |
| SeqID<br>321 |   | X | 245      | ACGagtctagacTCT                | 99,91 | 3,04 |
| SeqID<br>322 |   | X | 245      | CACgagtctagacTCT               | 88,47 | 3,67 |
| SeqID<br>323 |   | X | 246      | ACGagtctagaCTC                 | 96,60 | 5,49 |
| SeqID<br>324 |   | X | 246      | CACgagtctagaCTC                | 94,04 | 2,94 |
| SeqID<br>325 |   | X | 246      | CCA <sup>m</sup> cgagtctagaCTC | 75,51 | 2,45 |
| SeqID<br>326 |   | X | 247      | ACGagtctagaCT                  | 75,87 | 2,71 |
| SeqID        |   | X | 247      | CACgagtctagACT                 | 85,96 | 5,46 |

|       |  |   |     |                                |       |       |
|-------|--|---|-----|--------------------------------|-------|-------|
| 327   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 247 | CCA <sup>m</sup> cgagtctagACT  | 65,26 | 8,04  |
| 328   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 247 | ACCa <sup>m</sup> cgagtctagACT | 73,80 | 4,94  |
| 329   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 248 | ACgagtctagAC                   | 92,49 | 5,72  |
| 330   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 248 | CACgagtctagAC                  | 83,99 | 4,30  |
| 331   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 248 | CCA <sup>m</sup> cgagtctaGAC   | 72,31 | 5,85  |
| 332   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 248 | ACCa <sup>m</sup> cgagtctaGAC  | 69,87 | 4,09  |
| 333   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 248 | CACca <sup>m</sup> cgagtctaGAC | 74,68 | 5,33  |
| 334   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 249 | ACCa <sup>m</sup> cgagtctAGA   | 78,52 | 3,55  |
| 335   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 249 | CACca <sup>m</sup> cgagtctAGA  | 78,82 | 0,55  |
| 336   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 249 | CCAcca <sup>m</sup> cgagtctAGA | 70,68 | 10,64 |
| 337   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 250 | CCAcca <sup>m</sup> cgagtcTAG  | 72,06 | 4,76  |
| 338   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 250 | TCCacca <sup>m</sup> cgagtcTAG | 96,44 | 19,49 |
| 339   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 251 | CCAcca <sup>m</sup> cgagtCTA   | 62,36 | 3,29  |
| 340   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 251 | TCCacca <sup>m</sup> cgagtCTA  | 74,38 | 12,81 |
| 341   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 251 | GTCacca <sup>m</sup> cgagtCTA  | 66,96 | 8,93  |
| 342   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 252 | TCCacca <sup>m</sup> cgagTCT   | 88,72 | 6,91  |
| 343   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 252 | GTCacca <sup>m</sup> cgagTCT   | 81,54 | 3,34  |
| 344   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 252 | AGTccacca <sup>m</sup> cgagTCT | 73,05 | 5,43  |
| 345   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 253 | GTCacca <sup>m</sup> cgaGTC    | 86,41 | 4,93  |
| 346   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 253 | AGTccacca <sup>m</sup> cgaGTC  | 68,79 | 2,19  |
| 347   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 253 | AAGtccacca <sup>m</sup> cgaGTC | 55,97 | 4,51  |
| 348   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 254 | AGTccacca <sup>m</sup> cgAGT   | 74,01 | 6,04  |
| 349   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 254 | AAGtccacca <sup>m</sup> cgAGT  | 64,64 | 2,31  |
| 350   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 254 | GAAgtccacca <sup>m</sup> cgAGT | 71,86 | 2,47  |
| 351   |  |   |     |                                |       |       |
| SeqID |  | X | 255 | AAGtccacca <sup>m</sup> cgAG   | 74,30 | 9,08  |
| 352   |  |   |     |                                |       |       |

|              |  |   |     |                                              |        |       |
|--------------|--|---|-----|----------------------------------------------|--------|-------|
| SeqID<br>353 |  | X | 255 | GAAGtccacca <sup>m</sup> cgAG                | 72,50  | 1,71  |
| SeqID<br>354 |  | X | 255 | AGAAGtccacca <sup>m</sup> cgAG               | 70,48  | 1,43  |
| SeqID<br>355 |  | X | 256 | AGAAGtccaccaCGA                              | 60,35  | 2,15  |
| SeqID<br>356 |  | X | 256 | GAGaagtccaccaCGA                             | 50,28  | 3,88  |
| SeqID<br>357 |  | X | 257 | GAGaagtccaccACG                              | 67,82  | 4,14  |
| SeqID<br>358 |  | X | 257 | AGAGaagtccaccACG                             | 67,76  | 2,44  |
| SeqID<br>359 |  | X | 258 | GAGagaagtccacCAC                             | 62,90  | 3,23  |
| SeqID<br>360 |  | X | 259 | GAGagaagtccaCCA                              | 74,92  | 3,15  |
| SeqID        |  | X | 259 | TGAgagaagtccaCCA                             | 73,90  | 3,92  |
| 361          |  |   |     |                                              |        |       |
| SeqID<br>362 |  | X | 260 | GAGagaagtccACC                               | 87,37  | 7,72  |
| SeqID<br>363 |  | X | 260 | TGAgagaagtccACC                              | 65,36  | 4,30  |
| SeqID<br>364 |  | X | 261 | TGAgagaagtcCAC                               | 109,45 | 11,99 |
| SeqID<br>365 |  | X | 384 | AAAa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgcaGA    | 70,63  | 10,93 |
| SeqID<br>366 |  | X | 384 | TAAaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgcaGA   | 76,98  | 11,99 |
| SeqID<br>367 |  | X | 384 | ATAaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgcaGA  | 67,24  | 7,92  |
| SeqID<br>368 |  | X | 384 | GATaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgcaGA | 35,91  | 1,17  |
| SeqID<br>369 |  | X | 385 | ATAaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgCAG   | 80,52  | 2,79  |
| SeqID<br>370 |  | X | 385 | GATaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgCAG  | 57,46  | 3,54  |
| SeqID<br>371 |  | X | 385 | TGAtaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgCAG | 62,20  | 3,88  |
| SeqID<br>372 |  | X | 386 | ATAaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cgCA    | 82,52  | 1,41  |
| SeqID<br>373 |  | X | 386 | GATaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGCA   | 58,35  | 1,00  |
| SeqID<br>374 |  | X | 386 | TGAtaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGCA  | 46,17  | 4,23  |
| SeqID<br>375 |  | X | 386 | ATGataaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGCA | 42,47  | 2,86  |
| SeqID<br>376 |  | X | 387 | ATAaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGC     | 86,96  | 6,36  |
| SeqID<br>377 |  | X | 387 | GATaaaa <sup>m</sup> cgc <sup>m</sup> cGC    | 61,13  | 4,90  |
| SeqID        |  | X | 387 | TGAtaaaa <sup>m</sup> cgcCGC                 | 55,76  | 4,38  |

|              |  |   |     |                               |        |       |
|--------------|--|---|-----|-------------------------------|--------|-------|
| 378          |  |   |     |                               |        |       |
| SeqID<br>379 |  | X | 387 | ATGataaaa <sup>m</sup> cgcCGC | 35,38  | 4,12  |
| SeqID<br>380 |  | X | 388 | GAtaaaa <sup>m</sup> cgcCG    | 71,71  | 3,20  |
| SeqID<br>381 |  | X | 388 | TGAtaaaa <sup>m</sup> cgcCG   | 56,48  | 9,26  |
| SeqID<br>382 |  | X | 388 | ATGataaaa <sup>m</sup> cgCCG  | 64,46  | 2,93  |
| SeqID<br>383 |  | X | 389 | TGataaaa <sup>m</sup> cgCC    | 87,42  | 18,65 |
| SeqID<br>384 |  | X | 389 | ATGataaaa <sup>m</sup> cgCC   | 53,02  | 0,62  |
| SeqID<br>385 |  | X | 390 | ATgataaaa <sup>m</sup> cGC    | 103,50 | 4,41  |
| SeqID<br>386 |  | X | 411 | TAGcagcaggaTG                 | 47,43  | 1,27  |
| SeqID<br>387 |  | X | 411 | ATAgcagcaggATG                | 59,29  | 9,28  |
| SeqID<br>388 |  | X | 411 | CATagcagcaggATG               | 52,52  | 5,05  |
| SeqID<br>389 |  | X | 411 | GCAtagcagcaggATG              | 40,12  | 5,45  |
| SeqID<br>390 |  | X | 412 | GCAtagcagcagGAT               | 33,12  | 2,79  |
| SeqID<br>391 |  | X | 412 | GGCatagcagcagGAT              | 34,61  | 1,30  |
| SeqID<br>392 |  | X | 414 | GAGgcatagcagcAGG              | 57,92  | 6,48  |
| SeqID<br>393 |  | X | 415 | TGAggcatagcagCAG              | 44,07  | 1,35  |
| SeqID<br>394 |  | X | 416 | TGAggcatagcaGCA               | 59,87  | 0,84  |
| SeqID        |  | X | 416 | ATGaggcatagcaGCA              | 57,12  | 5,36  |
| 395          |  |   |     |                               |        |       |
| SeqID<br>396 |  | X | 417 | TGAggcatagcAGC                | 60,89  | 4,54  |
| SeqID<br>397 |  | X | 417 | ATGaggcatagcAGC               | 53,18  | 3,00  |
| SeqID<br>398 |  | X | 417 | GATgaggcatagcAGC              | 35,17  | 4,19  |
| SeqID<br>399 |  | X | 418 | GATgaggcatagCAG               | 51,50  | 4,39  |
| SeqID<br>400 |  | X | 418 | AGAtgaggcatagCAG              | 30,80  | 2,00  |
| SeqID<br>401 |  | X | 419 | GATgaggcataGCA                | 56,86  | 2,93  |
| SeqID<br>402 |  | X | 419 | AGAtgaggcataGCA               | 26,45  | 3,15  |
| SeqID<br>403 |  | X | 419 | AAGatgaggcataGCA              | 42,05  | 1,52  |

|              |   |   |          |                               |        |       |
|--------------|---|---|----------|-------------------------------|--------|-------|
| SeqID<br>404 |   | X | 422      | AAGaagatgaggcATA              | 50,42  | 4,13  |
| SeqID<br>405 |   | X | 423      | AAGaagatgaggCAT               | 47,84  | 4,75  |
| SeqID<br>406 |   | X | 601      | TGGgatgggaatACA               | 127,91 | 11,95 |
| SeqID<br>407 |   | X | 601      | ATGggatgggaatACA              | 104,41 | 6,06  |
| SeqID<br>408 |   | X | 602      | TGGgatgggaaTAC                | 97,86  | 33,35 |
| SeqID<br>409 |   | X | 602      | ATGggatgggaaTAC               | 100,98 | 11,30 |
| SeqID<br>410 |   | X | 602      | GATgggatgggaaTAC              | 80,86  | 4,66  |
| SeqID<br>411 |   | X | 603      | ATGggatgggaATA                | 101,56 | 17,94 |
| SeqID        |   | X | 603      | GATgggatgggaATA               | 95,71  | 10,78 |
| 412          |   |   |          |                               |        |       |
| SeqID<br>413 |   | X | 604      | GATgggatgggAAT                | 136,89 | 7,88  |
| SeqID<br>414 |   | X | 691      | AACcactgaacAAA                | 56,01  | 3,86  |
| SeqID<br>415 |   | X | 695      | CGaaccactgAA                  | 67,83  | 3,12  |
| SeqID<br>416 |   | X | 708      | GGGggaaagccCT                 | 61,65  | 34,06 |
| SeqID<br>417 |   | X | 708      | TGGgggaagcCCT                 | 166,53 | 7,16  |
| SeqID<br>418 |   | X | 1142     | GCAa <sup>m</sup> cggggtaaAGG | 99,66  | 2,38  |
| SeqID<br>419 |   | X | 1143     | GCAa <sup>m</sup> cggggtaAAG  | 128,31 | 18,17 |
| SeqID<br>420 |   | X | 1144     | GCAa <sup>m</sup> cggggtaAA   | 142,61 | 5,42  |
| SeqID<br>421 |   | X | 1176     | AGCaaacacttgGCA               | 81,61  | 3,37  |
| SeqID<br>422 |   | X | 1176     | CAGcaaacacttgGCA              | 59,14  | 4,84  |
| SeqID<br>423 |   | X | 1177     | CAGcaaacacttGGC               | 47,64  | 0,61  |
| SeqID<br>424 |   | X | 1177     | TCAgcaaacacttGGC              | 28,43  | 2,09  |
| SeqID<br>425 |   | X | 1178     | TCAgcaaacactTGG               | 53,37  | 9,79  |
| SeqID<br>426 | x |   | 126<br>4 | GCAgtatggatCG                 | 51,14  | 8,21  |
| SeqID<br>427 | x |   | 126<br>4 | CGCagtatggaTCG                | 45,10  | 12,21 |
| SeqID<br>428 | x |   | 126<br>4 | TCCgcagtatggaTCG              | 40,99  | 6,50  |
| SeqID        | x |   | 126      | CCGcagtatggATC                | 144,18 | 11,10 |



|              |   |  |          |                                |        |       |
|--------------|---|--|----------|--------------------------------|--------|-------|
| 429          |   |  | 5        |                                |        |       |
| SeqID<br>430 | x |  | 126<br>5 | TCCgcagtatggATC                | 74,40  | 9,23  |
| SeqID<br>431 | x |  | 126<br>6 | CGcagtatggAT                   | 77,64  | 7,37  |
| SeqID<br>432 | x |  | 126<br>6 | CCGcagtatggAT                  | 86,57  | 3,84  |
| SeqID<br>433 | x |  | 126<br>6 | TCCgcagtatgGAT                 | 86,85  | 16,10 |
| SeqID<br>434 | x |  | 126<br>7 | TCCgcagtatgGA                  | 90,43  | 0,25  |
| SeqID<br>435 | x |  | 126<br>9 | TTc <sup>m</sup> cgcagtaTG     | 70,69  | 5,10  |
| SeqID<br>436 | x |  | 153<br>0 | CGTaaagagagGT                  | 65,75  | 2,97  |
| SeqID<br>437 | x |  | 153<br>0 | CCG <sup>m</sup> cgtaaagagaGGT | 62,74  | 2,15  |
| SeqID<br>438 | x |  | 153<br>1 | CGtaaagagaGG                   | 73,84  | 4,24  |
| SeqID<br>439 | x |  | 153<br>1 | CGCgtaaagagAGG                 | 93,28  | 8,65  |
| SeqID<br>440 | x |  | 153<br>1 | CCG <sup>m</sup> cgtaaagagAGG  | 64,33  | 0,96  |
| SeqID<br>441 | x |  | 153<br>2 | CGCgtaaagagAG                  | 92,93  | 7,76  |
| SeqID<br>442 | x |  | 153<br>2 | CCG <sup>m</sup> cgtaaagaGAG   | 46,68  | 2,09  |
| SeqID<br>443 | x |  | 153<br>3 | CG <sup>m</sup> cgtaaagaGA     | 96,70  | 11,51 |
| SeqID<br>444 | x |  | 153<br>3 | CCG <sup>m</sup> cgtaaagaGA    | 63,96  | 2,03  |
| SeqID<br>445 | x |  | 153<br>4 | CCg <sup>m</sup> cgtaaagAG     | 60,43  | 4,10  |
| SeqID<br>446 | x |  | 154<br>7 | GGCacaga <sup>m</sup> cgggGAG  | 105,39 | 4,49  |
| SeqID<br>447 | x |  | 154<br>7 | AGGcacaga <sup>m</sup> cgggGAG | 65,54  | 1,27  |
| SeqID<br>448 | x |  | 154<br>8 | GGCacaga <sup>m</sup> cggGGA   | 114,17 | 2,09  |
| SeqID<br>449 | x |  | 154<br>8 | AGGcacaga <sup>m</sup> cggGGA  | 63,67  | 1,22  |
| SeqID<br>450 | x |  | 154<br>8 | AAGgcacaga <sup>m</sup> cggGGA | 52,62  | 1,97  |
| SeqID<br>451 | x |  | 154<br>9 | AGGcacaga <sup>m</sup> cgGGG   | 117,50 | 7,77  |
| SeqID<br>452 | x |  | 154<br>9 | AAGgcacaga <sup>m</sup> cgGGG  | 105,77 | 3,94  |
| SeqID<br>453 | x |  | 154<br>9 | GAAggcacaga <sup>m</sup> cgGGG | 109,39 | 7,50  |
| SeqID<br>454 | x |  | 155<br>0 | AGAaggcacaga <sup>m</sup> cGGG | 60,92  | 7,17  |

|              |   |  |          |                                 |       |       |
|--------------|---|--|----------|---------------------------------|-------|-------|
| SeqID<br>455 | x |  | 155<br>2 | GAGaaggcacagACG                 | 43,34 | 2,63  |
| SeqID<br>456 | x |  | 157<br>7 | CGAagtgcacaCGG                  | 35,27 | 4,48  |
| SeqID<br>457 | x |  | 157<br>8 | GCGaagtgcacACG                  | 49,25 | 1,43  |
| SeqID<br>458 | x |  | 157<br>9 | GCGaagtgcacAC                   | 65,82 | 7,11  |
| SeqID<br>459 | x |  | 157<br>9 | AGCGaagtgcacCAC                 | 64,47 | 2,76  |
| SeqID<br>460 | x |  | 157<br>9 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcacCAC  | 42,82 | 5,42  |
| SeqID<br>461 | x |  | 157<br>9 | GAAg <sup>m</sup> cgaagtgcacCAC | 37,15 | 4,92  |
| SeqID<br>462 | x |  | 158<br>0 | AGCGaagtgcacCA                  | 59,26 | 7,36  |
| SeqID        | x |  | 158      | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcACA    | 56,58 | 1,80  |
| 463          |   |  | 0        |                                 |       |       |
| SeqID<br>464 | x |  | 158<br>0 | TGAag <sup>m</sup> cgaagtgcACA  | 58,81 | 5,72  |
| SeqID<br>465 | x |  | 158<br>1 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcAC     | 61,08 | 10,94 |
| SeqID<br>466 | x |  | 158<br>1 | GAAg <sup>m</sup> cgaagtgcCAC   | 87,45 | 24,12 |
| SeqID<br>467 | x |  | 158<br>1 | TGAag <sup>m</sup> cgaagtgcCAC  | 70,27 | 2,31  |
| SeqID<br>468 | x |  | 158<br>1 | GTGaag <sup>m</sup> cgaagtgcCAC | 91,50 | 6,40  |
| SeqID<br>469 | x |  | 158<br>2 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcCA     | 75,07 | 12,27 |
| SeqID<br>470 | x |  | 158<br>2 | GAAg <sup>m</sup> cgaagtgcCA    | 52,66 | 2,00  |
| SeqID<br>471 | x |  | 158<br>2 | TGAag <sup>m</sup> cgaagtGCA    | 55,33 | 5,23  |
| SeqID<br>472 | x |  | 158<br>2 | GTGaag <sup>m</sup> cgaagtGCA   | 45,56 | 1,33  |
| SeqID<br>473 | x |  | 158<br>3 | TGAag <sup>m</sup> cgaagtGC     | 47,33 | 2,27  |
| SeqID<br>474 | x |  | 158<br>3 | GTGaag <sup>m</sup> cgaagTGC    | 48,90 | 0,54  |
| SeqID<br>475 | x |  | 158<br>4 | GTGaag <sup>m</sup> cgaagTG     | 44,41 | 3,30  |
| SeqID<br>476 | x |  | 158<br>4 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagGTG   | 39,79 | 2,48  |
| SeqID<br>477 | x |  | 158<br>4 | GAGgtgaag <sup>m</sup> cgaagGTG | 45,00 | 0,65  |
| SeqID<br>478 | x |  | 158<br>5 | GTgaag <sup>m</sup> cgaagGT     | 62,45 | 5,15  |
| SeqID<br>479 | x |  | 158<br>5 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagGT    | 43,08 | 2,85  |
| SeqID        | x |  | 158      | GAGgtgaag <sup>m</sup> cgaAGT   | 55,57 | 2,43  |

|       |   |  |     |                                |        |       |
|-------|---|--|-----|--------------------------------|--------|-------|
| 480   |   |  | 5   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | AGAggtgaag <sup>m</sup> cgaAGT | 39,17  | 2,82  |
| 481   |   |  | 5   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | AGAggtgaag <sup>m</sup> cgAAG  | 41,25  | 0,88  |
| 482   |   |  | 6   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | CAGaggtgaag <sup>m</sup> cgAAG | 53,21  | 3,02  |
| 483   |   |  | 6   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | AGAggtgaag <sup>m</sup> cGAA   | 38,81  | 4,56  |
| 484   |   |  | 7   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | CAGaggtgaag <sup>m</sup> cGAA  | 42,07  | 2,56  |
| 485   |   |  | 7   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | GCAgaggtgaag <sup>m</sup> cGAA | 56,89  | 8,91  |
| 486   |   |  | 7   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | GCAgaggtgaagCGA                | 53,71  | 4,36  |
| 487   |   |  | 8   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | TGCagaggtgaagCGA               | 70,80  | 5,16  |
| 488   |   |  | 8   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | TGCagaggtgaaGCG                | 92,30  | 7,94  |
| 489   |   |  | 9   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 158 | GTGcagaggtgaaGCG               | 70,51  | 10,18 |
| 490   |   |  | 9   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 159 | CGTgcagaggtgaAGC               | 130,05 | 13,54 |
| 491   |   |  | 0   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 159 | CGTgcagaggtgAAG                | 91,47  | 26,28 |
| 492   |   |  | 1   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 159 | ACGTgcagaggtgAAG               | 90,23  | 8,21  |
| 493   |   |  | 1   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 159 | CGTgcagaggtGAA                 | 64,85  | 22,74 |
| 494   |   |  | 2   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 159 | ACGTgcagaggtGAA                | 58,06  | 4,58  |
| 495   |   |  | 2   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 159 | CGTgcagaggtGA                  | 81,44  | 11,66 |
| 496   |   |  | 3   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 159 | ACGTgcagaggTGA                 | 50,58  | 6,38  |
| 497   |   |  | 3   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 161 | CGTtca <sup>m</sup> cggtgGT    | 54,29  | 3,89  |
| 498   |   |  | 6   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 169 | CTCaaggt <sup>m</sup> cggtTC   | 68,75  | 3,36  |
| 499   |   |  | 0   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 169 | CCTcaaggt <sup>m</sup> cgGT    | 110,10 | 6,42  |
| 500   |   |  | 1   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 169 | GCCtcaaggt <sup>m</sup> cGGT   | 94,30  | 7,43  |
| 501   |   |  | 1   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 170 | ACAgctttgaaGTA                 | 90,33  | 13,01 |
| 502   |   |  | 6   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 178 | TTTatgcctacAG                  | 98,15  | 8,26  |
| 503   |   |  | 3   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 178 | AATttatgcctACA                 | 115,05 | 4,58  |
| 504   |   |  | 4   |                                |        |       |
| SeqID | x |  | 178 | AATttatgcctAC                  | 126,86 | 2,63  |
| 505   |   |  | 5   |                                |        |       |

|              |   |  |          |                  |        |       |
|--------------|---|--|----------|------------------|--------|-------|
| SeqID<br>506 | x |  | 178<br>7 | CCAatttatgcCT    | 152,55 | 29,03 |
| SeqID<br>507 | x |  | 186<br>5 | GCTtggaggcttGAA  | 103,91 | 5,71  |
| SeqID<br>508 | x |  | 186<br>5 | AGCttggaggcttGAA | 133,58 | 0,46  |
| SeqID<br>509 | x |  | 186<br>6 | GCTtggaggctTGA   | 79,26  | 8,08  |
| SeqID<br>510 | x |  | 186<br>6 | AGCttggaggctTGA  | 122,38 | 3,30  |
| SeqID<br>511 | x |  | 186<br>6 | CAGcttggaggctTGA | 132,43 | 18,26 |
| SeqID<br>512 | x |  | 186<br>7 | GCTtggaggctTG    | 81,83  | 10,69 |
| SeqID<br>513 | x |  | 186<br>7 | AGCttggaggctTTG  | 98,04  | 9,53  |
| SeqID<br>514 | x |  | 186<br>7 | CAGcttggaggctTTG | 113,24 | 9,04  |
| SeqID<br>515 | x |  | 186<br>7 | ACAgttggaggctTTG | 145,15 | 11,39 |
| SeqID<br>516 | x |  | 186<br>8 | CACagcttggaggCTT | 122,78 | 2,77  |
| SeqID<br>517 | x |  | 186<br>9 | CACagcttggagGCT  | 123,68 | 22,48 |
| SeqID<br>518 | x |  | 186<br>9 | GCAcagcttggagGCT | 145,75 | 6,22  |
| SeqID<br>519 | x |  | 187<br>0 | GCAcagcttgaGGC   | 146,57 | 13,30 |
| SeqID<br>520 | x |  | 187<br>0 | GGCacagcttgaGGC  | 127,49 | 1,31  |
| SeqID<br>521 | x |  | 187<br>1 | AGGcacagcttgaAGG | 126,44 | 11,99 |
| SeqID<br>522 | x |  | 187<br>2 | AGGcacagcttgGAG  | 113,11 | 1,53  |
| SeqID<br>523 | x |  | 187<br>2 | AAGgcacagcttgGAG | 97,13  | 2,46  |
| SeqID<br>524 | x |  | 187<br>3 | AAGgcacagcttGGA  | 102,44 | 3,67  |
| SeqID<br>525 | x |  | 187<br>3 | CAAggcacagcttGGA | 112,11 | 6,26  |
| SeqID<br>526 | x |  | 187<br>4 | AAGgcacagctTGG   | 111,03 | 4,15  |
| SeqID<br>527 | x |  | 187<br>4 | CAAggcacagctTGG  | 108,76 | 6,19  |
| SeqID<br>528 | x |  | 187<br>4 | CCAaggcacagctTGG | 111,82 | 10,50 |
| SeqID<br>529 | x |  | 187<br>5 | CAAggcacagcTTG   | 111,24 | 3,42  |
| SeqID<br>530 | x |  | 187<br>5 | CCAaggcacagcTTG  | 113,32 | 5,72  |
| SeqID        | x |  | 187      | CCAaggcacagCTT   | 93,54  | 9,51  |

|       |  |   |     |                                |        |       |
|-------|--|---|-----|--------------------------------|--------|-------|
| 531   |  |   | 6   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 227 | TGCgaatccacAC                  | 111,18 | 2,58  |
| 532   |  |   | 2   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 227 | GTG <sup>m</sup> cgatccaCAC    | 116,70 | 3,36  |
| 533   |  |   | 2   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GGAgttcttctCTA                 | 117,09 | 3,11  |
| 534   |  |   | 0   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GGGagttcttctCTA                | 138,82 | 2,94  |
| 535   |  |   | 0   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GGGagttcttctTCT                | 112,95 | 5,88  |
| 536   |  |   | 1   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | AGGgagttcttctTCT               | 115,73 | 2,39  |
| 537   |  |   | 1   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | AGGgagttcttcTTC                | 115,60 | 13,69 |
| 538   |  |   | 2   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GAGggagttcttcTTC               | 160,52 | 12,84 |
| 539   |  |   | 2   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | AGGgagttcttCTT                 | 187,99 | 14,17 |
| 540   |  |   | 3   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GAGggagttcttCTT                | 152,23 | 3,57  |
| 541   |  |   | 3   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | CGAgggagttcttCTT               | 125,29 | 10,56 |
| 542   |  |   | 3   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | CGAgggagttctTCT                | 125,58 | 12,12 |
| 543   |  |   | 4   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GCGagggagttctTCT               | 127,13 | 7,13  |
| 544   |  |   | 4   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GCGagggagttcTTC                | 140,39 | 2,94  |
| 545   |  |   | 5   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GGCgagggagttcTTC               | 103,21 | 15,13 |
| 546   |  |   | 5   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GCGagggagttCTT                 | 104,72 | 31,01 |
| 547   |  |   | 6   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GGCgagggagttCTT                | 120,43 | 4,29  |
| 548   |  |   | 6   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | AGG <sup>m</sup> cgagggagttCTT | 126,12 | 8,49  |
| 549   |  |   | 6   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GCGagggagttCT                  | 99,63  | 21,49 |
| 550   |  |   | 7   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GGCgagggagtTCT                 | 126,46 | 5,07  |
| 551   |  |   | 7   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | AGG <sup>m</sup> cgagggagtTCT  | 124,41 | 7,46  |
| 552   |  |   | 7   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GAGg <sup>m</sup> cgagggagtTCT | 122,05 | 4,13  |
| 553   |  |   | 7   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GGCgagggagtTC                  | 93,75  | 32,13 |
| 554   |  |   | 8   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | AGG <sup>m</sup> cgagggagTTC   | 97,91  | 10,99 |
| 555   |  |   | 8   |                                |        |       |
| SeqID |  | X | 237 | GAGg <sup>m</sup> cgagggagTTC  | 125,97 | 14,10 |
| 556   |  |   | 8   |                                |        |       |

|              |  |   |          |                                              |        |       |
|--------------|--|---|----------|----------------------------------------------|--------|-------|
| SeqID<br>557 |  | X | 237<br>8 | CGAgg <sup>m</sup> cgagggagTTC               | 114,85 | 11,32 |
| SeqID<br>558 |  | X | 237<br>9 | AGG <sup>m</sup> cgagggagTT                  | 161,79 | 17,40 |
| SeqID<br>559 |  | X | 237<br>9 | GAGg <sup>m</sup> cgaggggaGTT                | 112,49 | 14,53 |
| SeqID<br>560 |  | X | 237<br>9 | CGAgg <sup>m</sup> cgaggggaGTT               | 99,73  | 6,03  |
| SeqID<br>561 |  | X | 237<br>9 | GCGagg <sup>m</sup> cgaggggaGTT              | 26,82  | 16,61 |
| SeqID<br>562 |  | X | 238<br>0 | GAGg <sup>m</sup> cgaggggaGT                 | 126,11 | 10,60 |
| SeqID<br>563 |  | X | 238<br>0 | CGAgg <sup>m</sup> cgaggggAGT                | 113,92 | 2,48  |
| SeqID<br>564 |  | X | 238<br>0 | GCGagg <sup>m</sup> cgaggggAGT               | 114,21 | 22,83 |
| SeqID        |  | X | 238      | TGCgagg <sup>m</sup> cgaggggAGT              | 120,75 | 7,83  |
| 565          |  |   | 0        |                                              |        |       |
| SeqID<br>566 |  | X | 238<br>1 | CGAgg <sup>m</sup> cgaggggAG                 | 96,48  | 7,91  |
| SeqID<br>567 |  | X | 238<br>1 | GCGagg <sup>m</sup> cgaggGAG                 | 111,38 | 23,08 |
| SeqID<br>568 |  | X | 238<br>1 | TGCgagg <sup>m</sup> cgaggGAG                | 150,61 | 9,91  |
| SeqID<br>569 |  | X | 238<br>1 | CTG <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgaggGAG | 115,39 | 3,45  |
| SeqID<br>570 |  | X | 238<br>2 | CGagg <sup>m</sup> cgaggGA                   | 94,94  | 9,74  |
| SeqID<br>571 |  | X | 238<br>2 | GCGagg <sup>m</sup> cgaggGA                  | 107,97 | 15,32 |
| SeqID<br>572 |  | X | 238<br>2 | TGCgagg <sup>m</sup> cgagGGA                 | 90,20  | 10,52 |
| SeqID<br>573 |  | X | 238<br>2 | CTG <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgagGGA  | 117,46 | 22,79 |
| SeqID<br>574 |  | X | 238<br>2 | TCTg <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgagGGA | 119,40 | 1,22  |
| SeqID<br>575 |  | X | 238<br>3 | TCTg <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgaGGG  | 139,98 | 6,20  |
| SeqID<br>576 |  | X | 238<br>3 | GTCTg <sup>m</sup> cgagg <sup>m</sup> cgaGGG | 17,32  | 7,04  |
| SeqID<br>577 |  | X | 282<br>4 | GTTccaagaaTAT                                | 121,37 | 5,20  |
| SeqID<br>578 |  | X | 282<br>4 | TGTtccaagaaTAT                               | 119,62 | 5,98  |
| SeqID<br>579 |  | X | 282<br>5 | GTTccaagaaTA                                 | 118,81 | 12,04 |
| SeqID<br>580 |  | X | 282<br>5 | TGTtccaagaATA                                | 119,14 | 20,21 |
| SeqID<br>581 |  | X | 282<br>5 | TTGttccaagaATA                               | 109,70 | 3,36  |
| SeqID        |  | X | 282      | TGTtccaagaAT                                 | 110,02 | 17,04 |

|       |  |   |     |                  |        |       |
|-------|--|---|-----|------------------|--------|-------|
| 582   |  |   | 6   |                  |        |       |
| SeqID |  | X | 282 | TTGttccaagAAT    | 132,22 | 4,26  |
| 583   |  |   | 6   |                  |        |       |
| SeqID |  | X | 414 | GAGGcatagcagCAGG | 79,64  | 10,52 |
| 584   |  |   |     |                  |        |       |

Таблица 5а. Активность HBsAg 25 мкМ олигомера в виде % контроля.

| SEQ ID NO | Старт-позиция олигомера U95551 (SEQ ID NO 1) | LNA олигомерные последовательности (заглавные буквы - бета-D-окси LNA; C LNA представляет собой 5-метил C LNA; прописные буквы - ДНК; <sup>m</sup> с - 5-метилцитозин ДНК; все межнуклеозидные связи представляют собой фосфоротионатные межнуклеозидные связи) | Активность (HBsAg уровни в супернатанте культуры в виде процента клеток, обработанных ДМСО) | Стандартное отклонение |
|-----------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 585       | 691                                          | GAAccactgaaCAAA                                                                                                                                                                                                                                                 | 31,9                                                                                        | 2,6                    |
| 586       | 691                                          | GAACcactgaacAAA                                                                                                                                                                                                                                                 | 35,1                                                                                        | 1,3                    |
| 587       | 691                                          | CGaaccactgaaCAAA                                                                                                                                                                                                                                                | 45,5                                                                                        | 2,4                    |
| 588       | 691                                          | CGAAccactgaacAAA                                                                                                                                                                                                                                                | 18,3                                                                                        | 2,2                    |
| 589       | 691                                          | CGAaccactgaaCAAA                                                                                                                                                                                                                                                | 36,2                                                                                        | 9,1                    |
| 590       | 691                                          | CGAAccactgaacaAA                                                                                                                                                                                                                                                | 22,4                                                                                        | 1,6                    |
| 591       | 691                                          | CGAAccactgaaCAAA                                                                                                                                                                                                                                                | 26,3                                                                                        | 2,3                    |
| 592       | 692                                          | CGAAccactgaacAA                                                                                                                                                                                                                                                 | 11,8                                                                                        | 1,2                    |
| 593       | 692                                          | CGAAccactgaaCAA                                                                                                                                                                                                                                                 | 21,9                                                                                        | 8,5                    |
| 594       | 692                                          | CGAaccactgAACAA                                                                                                                                                                                                                                                 | 18,3                                                                                        | 0,6                    |
| 595       | 693                                          | CGaaccactgAACAA                                                                                                                                                                                                                                                 | 25,8                                                                                        | 1,6                    |
| 596       | 693                                          | CGAAccactgaaCA                                                                                                                                                                                                                                                  | 9,5                                                                                         | 1,5                    |
| 597       | 693                                          | CGAaccactgAACAA                                                                                                                                                                                                                                                 | 23,6                                                                                        | 2,0                    |
| 598       | 693                                          | CGAAccactgAACAA                                                                                                                                                                                                                                                 | 14,6                                                                                        | 0,9                    |
| 599       | 694                                          | CGaaccactgAAC                                                                                                                                                                                                                                                   | 42,1                                                                                        | 3,8                    |
| 600       | 694                                          | CGAaccactgAAC                                                                                                                                                                                                                                                   | 25,0                                                                                        | 1,7                    |
| 601       | 1264                                         | CCGcagtatggATCG                                                                                                                                                                                                                                                 | 98,7                                                                                        | 16,4                   |
| 602       | 1264                                         | CCGCagtatggatCG                                                                                                                                                                                                                                                 | 62,0                                                                                        | 2,0                    |
| 603       | 1264                                         | CCGCagtatggaTCG                                                                                                                                                                                                                                                 | 79,6                                                                                        | 21,3                   |
| 604       | 1264                                         | CCGcagtatggATCG                                                                                                                                                                                                                                                 | 113,3                                                                                       | 12,3                   |
| 605       | 1265                                         | CGCAgtatggaTC                                                                                                                                                                                                                                                   | 43,0                                                                                        | 5,9                    |
| 606       | 1265                                         | CGcagtatggATC                                                                                                                                                                                                                                                   | 97,7                                                                                        | 22,6                   |
| 607       | 1265                                         | CGCagtatggATC                                                                                                                                                                                                                                                   | 80,1                                                                                        | 21,3                   |
| 608       | 1265                                         | CGcagtatgGATC                                                                                                                                                                                                                                                   | 110,0                                                                                       | 11,2                   |
| 609       | 1530                                         | GCGTaaagagagGT                                                                                                                                                                                                                                                  | 65,2                                                                                        | 6,6                    |
| 610       | 1530                                         | GCgtaaagagAGGT                                                                                                                                                                                                                                                  | 43,4                                                                                        | 6,1                    |

|     |      |                                |       |      |
|-----|------|--------------------------------|-------|------|
| 611 | 1530 | GCGtaaagagAGGT                 | 59,9  | 5,8  |
| 612 | 1530 | GCGTaaagagaGGT                 | 52,7  | 1,9  |
| 613 | 1530 | CGCGtaaagagagGT                | 96,7  | 9,7  |
| 614 | 1530 | CG <sup>m</sup> cgtaaagagAGGT  | 35,9  | 1,1  |
| 615 | 1530 | CGCGtaaagagaGGT                | 63,1  | 3,9  |
| 616 | 1530 | CGCgtaaagagAGGT                | 65,0  | 4,6  |
| 617 | 1531 | GCgtaaagagAGG                  | 24,6  | 1,5  |
| 618 | 1531 | GCGtaaagagAGG                  | 32,2  | 1,3  |
| 619 | 1531 | GCgtaaagaGAGG                  | 54,7  | 4,7  |
| 620 | 1531 | GCGTaaagagaGG                  | 59,0  | 0,4  |
| 621 | 1551 | AGaaggcacagACGG                | 41,2  | 4,2  |
| 622 | 1551 | AGAaggcacagACGG                | 45,4  | 10,9 |
| 623 | 1551 | AGAAggcacagaCGG                | 38,3  | 4,0  |
| 624 | 1551 | GAGAaggcacagaCGG               | 35,0  | 11,1 |
| 625 | 1551 | GAGaaggcacagACGG               | 50,3  | 10,2 |
| 626 | 1551 | GAGAaggcacagACGG               | 48,1  | 2,1  |
| 627 | 1577 | GAagtcacaCGG                   | 21,5  | 2,1  |
| 628 | 1577 | GAAgtgcacaCGG                  | 23,7  | 1,4  |
| 629 | 1577 | GAAGtcacaCGG                   | 41,2  | 1,3  |
| 630 | 1577 | GAAgtgcacACGG                  | 29,3  | 1,3  |
| 631 | 1577 | GCgaagtcacaCGG                 | 54,0  | 19,6 |
| 632 | 1577 | GCGaagtcaca <sup>m</sup> cGG   | 49,7  | 10,7 |
| 633 | 1577 | GCGAagtcaca <sup>m</sup> cGG   | 30,3  | 5,2  |
| 634 | 1577 | GCgaagtcacACGG                 | 46,9  | 7,3  |
| 635 | 1577 | AGCGaagtcaca <sup>m</sup> cGG  | 47,5  | 10,3 |
| 636 | 1577 | AG <sup>m</sup> cgaagtcacACGG  | 38,1  | 4,2  |
| 637 | 1577 | AG <sup>m</sup> cgaagtcacaCGG  | 83,2  | 37,3 |
| 638 | 1577 | AGCgaagtcaca <sup>m</sup> cGG  | 43,1  | 17,7 |
| 639 | 1578 | CGaagtgcaCACG                  | 58,3  | 6,9  |
| 640 | 1578 | CGAagtgcaCACG                  | 30,9  | 2,7  |
| 641 | 1578 | CGaagtgcaCACG                  | 45,4  | 2,1  |
| 642 | 1578 | AGCgaagtgcaCACG                | 128,1 | 7,6  |
| 643 | 1578 | AGCGaagtgcaCACG                | 49,6  | 5,3  |
| 644 | 1578 | AGCGaagtcacaCG                 | 47,4  | 5,3  |
| 645 | 1578 | AG <sup>m</sup> cgaagtgcaCACG  | 59,1  | 3,5  |
| 646 | 1578 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcaCACG | 91,7  | 20,2 |
| 647 | 1578 | AAGCgaagtcacaCG                | 49,5  | 3,0  |
| 648 | 1578 | AAG <sup>m</sup> cgaagtgcaCACG | 63,2  | 1,9  |
| 649 | 1578 | AAGCgaagtgcaCACG               | 41,9  | 2,1  |
| 650 | 1578 | AAGCgaagtgcaCACG               | 64,7  | 4,5  |
| 651 | 1580 | GAag <sup>m</sup> cgaagtgcACA  | 142,9 | 18,3 |
| 652 | 1580 | GAAG <sup>m</sup> cgaagtgcACA  | 61,5  | 4,1  |
| 653 | 1580 | GAAg <sup>m</sup> cgaagtgcACA  | 152,1 | 21,8 |
| 654 | 1580 | GAAG <sup>m</sup> cgaagtgcACA  | 167,2 | 17,5 |
| 655 | 1582 | GTgaag <sup>m</sup> cgaagtGCA  | 117,8 | 18,0 |
| 656 | 1582 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagtGCA | 108,0 | 10,4 |
| 657 | 1582 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagtGCA | 93,5  | 24,7 |
| 658 | 1582 | GTgaag <sup>m</sup> cgaagTGCA  | 125,1 | 18,6 |
| 659 | 1583 | GTgaag <sup>m</sup> cgaagTGC   | 109,4 | 18,5 |
| 660 | 1583 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagTGC  | 104,1 | 14,0 |



|     |      |                                |       |      |
|-----|------|--------------------------------|-------|------|
| 661 | 1583 | GGTgaag <sup>m</sup> cgaagtGC  | 84,4  | 23,1 |
| 662 | 1583 | GGtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC  | 60,1  | 9,7  |
| 663 | 1583 | AGgtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC | 48,4  | 5,5  |
| 664 | 1583 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaagtGC | 42,3  | 3,7  |
| 665 | 1583 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaagtGC | 71,6  | 12,3 |
| 666 | 1583 | AGgtgaag <sup>m</sup> cgaagTGC | 50,7  | 10,7 |
| 667 | 1584 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaagTG  | 47,7  | 44,6 |
| 668 | 1584 | AGgtgaag <sup>m</sup> cgaAGTG  | 27,7  | 2,1  |
| 669 | 1584 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaAGTG  | 15,7  | 2,1  |
| 670 | 1584 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaagTG  | 58,8  | 49,5 |
| 671 | 1585 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaagT   | 118,2 | 14,8 |
| 672 | 1585 | AGgtgaag <sup>m</sup> cgaAGT   | 31,5  | 38,6 |
| 673 | 1585 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaAGT   | 25,8  | 4,4  |
| 674 | 1585 | AGGTgaag <sup>m</sup> cgaAGT   | 48,2  | 37,8 |
| 675 | 1588 | CAGAggtgaag <sup>m</sup> cGA   | 52,4  | 4,6  |
| 676 | 1588 | CAGaggtgaaGCGA                 | 67,4  | 0,1  |
| 677 | 1588 | CAGaggtgaaGCGA                 | 79,0  | 9,4  |
| 678 | 670  | TAGtaaactgagCCA                | 31,3  | 2,7  |
| 679 | 670  | TAgtaaactgaGCCA                | 93,0  | 12,1 |
| 680 | 670  | TAGTaaactgagcCA                | 15,8  | 2,4  |
| 681 | 670  | TAGtaaactgaGCCA                | 66,9  | 6,6  |
| 682 | 670  | TAGTaaactgagCCA                | 26,6  | 4,9  |
| 683 | 670  | CTAgtaaactgagCCA               | 101,6 | 6,7  |
| 684 | 670  | CTagtaaactgaGCCA               | 158,0 | 11,6 |
| 685 | 670  | CTAGtaaactgagcCA               | 102,4 | 34,7 |
| 686 | 671  | CTAgtaaactgaGCC                | 76,3  | 32,9 |
| 687 | 671  | CTagtaaactgAGCC                | 53,0  | 13,8 |
| 688 | 671  | CTAGtaaactgagCC                | 41,9  | 5,1  |
| 689 | 671  | CTagtaaactgaGCC                | 31,8  | 2,2  |
| 690 | 671  | CTAgtaaactgagCC                | 102,9 | 10,2 |
| 691 | 674  | GCActagtaaacTGA                | 53,6  | 4,8  |
| 692 | 674  | GCactagtaaaCTGA                | 74,4  | 1,5  |
| 693 | 674  | GCACtagtaaacTGA                | 81,9  | 10,6 |
| 694 | 674  | GCActagtaaaCTGA                | 54,5  | 1,5  |
| 695 | 674  | GCACTagtaaacTGA                | 74,9  | 4,5  |
| 696 | 674  | GGCactagtaaacTGA               | 42,8  | 60,5 |
| 697 | 674  | GGcactagtaaaCTGA               | 47,1  | 38,9 |
| 698 | 674  | GGCActagtaaacTGA               | 147,7 | 7,1  |
| 699 | 1141 | CAA <sup>m</sup> cggggtaaaGGT  | 187,2 | 5,6  |
| 700 | 1141 | CAa <sup>m</sup> cggggttaaAGGT | 176,2 | 18,0 |
| 701 | 1141 | CAACggggtaaagGT                | 187,9 | 3,8  |
| 702 | 1141 | CAA <sup>m</sup> cggggttaaAGGT | 142,7 | 19,7 |
| 703 | 1141 | CAACggggtaaaGGT                | 144,8 | 31,8 |
| 704 | 1261 | CAGtatggat <sup>m</sup> cgGCA  | 59,6  | 19,9 |
| 705 | 1261 | CAGtatggat <sup>m</sup> cGGCA  | 54,3  | 4,1  |
| 706 | 1261 | CAGtatggat <sup>m</sup> cgGCA  | 70,0  | 8,6  |
| 707 | 1261 | CAGtatggat <sup>m</sup> cggCA  | 60,3  | 8,0  |
| 708 | 1265 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatggATC | 110,7 | 2,0  |
| 709 | 1265 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatgGATC | 105,5 | 4,2  |
| 710 | 1265 | TTCCgcagtatggaTC               | 104,1 | 6,7  |

|     |      |                                |       |      |
|-----|------|--------------------------------|-------|------|
| 711 | 1265 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatgGATC | 107,1 | 8,8  |
| 712 | 1265 | TTCCgcagtatggATC               | 119,0 | 9,6  |
| 713 | 1266 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatgGAT  | 99,8  | 6,8  |
| 714 | 1266 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatGGAT  | 92,3  | 5,1  |
| 715 | 1266 | TTCCgcagtatggAT                | 104,7 | 3,6  |
| 716 | 1266 | TTC <sup>m</sup> cgcagtatGGAT  | 108,7 | 3,8  |
| 717 | 1266 | TTCCgcagtatgGAT                | 112,0 | 2,1  |
| 718 | 1266 | GTTC <sup>m</sup> cgcagtatgGAT | 85,5  | 4,5  |
| 719 | 1266 | GTTC <sup>m</sup> cgcagtatGGAT | 80,0  | 6,7  |
| 720 | 1266 | GTTC <sup>m</sup> cgcagtatggAT | 127,9 | 16,9 |
| 721 | 1267 | GTTC <sup>m</sup> cgcagtaTGGA  | 67,2  | 5,0  |
| 722 | 1267 | GTTC <sup>m</sup> cgcagtatgGA  | 150,8 | 5,9  |
| 723 | 1267 | GTTC <sup>m</sup> cgcagtatGGA  | 78,6  | 8,0  |
| 724 | 1267 | GTTC <sup>m</sup> cgcagtatgGA  | 76,5  | 7,9  |
| 725 | 1267 | AGTTC <sup>m</sup> cgcagtatGGA | 72,6  | 5,2  |
| 726 | 1267 | AGTTC <sup>m</sup> cgcagtatgGA | 87,1  | 5,6  |
| 727 | 1267 | AGTTC <sup>m</sup> cgcagtatGGA | 83,1  | 4,3  |
| 728 | 1267 | AGTTC <sup>m</sup> cgcagtatgGA | 79,4  | 5,6  |
| 729 | 1267 | AGTTC <sup>m</sup> cgcagtatgGA | 89,9  | 2,0  |
| 730 | 1268 | AGTTC <sup>m</sup> cgcagtaTGG  | 51,2  | 4,0  |
| 731 | 1268 | AGTTC <sup>m</sup> cgcagtaTGG  | 63,6  | 0,5  |
| 732 | 1268 | AGTTC <sup>m</sup> cgcagtatGG  | 65,9  | 1,6  |
| 733 | 1268 | AGTTC <sup>m</sup> cgcagtatGG  | 80,9  | 2,5  |
| 734 | 1268 | GAGTTC <sup>m</sup> cgcagtaTGG | 49,2  | 4,7  |
| 735 | 1268 | GAGTTC <sup>m</sup> cgcagtatGG | 60,1  | 6,1  |
| 736 | 1268 | GAGTTC <sup>m</sup> cgcagtatGG | 73,9  | 1,1  |
| 737 | 1269 | GAGTTC <sup>m</sup> cgcagtaTG  | 58,6  | 6,6  |
| 738 | 1269 | GAGTTC <sup>m</sup> cgcagtATG  | 57,1  | 8,1  |
| 739 | 1269 | GAGTTC <sup>m</sup> cgcagtaTG  | 49,8  | 6,8  |
| 740 | 1269 | GAGTTC <sup>m</sup> cgcagtaTG  | 60,8  | 1,6  |
| 741 | 1269 | GGAGTTC <sup>m</sup> cgcagtaTG | 137,3 | 2,6  |
| 742 | 1269 | GGAGTTC <sup>m</sup> cgcagtATG | 90,5  | 22,8 |
| 743 | 1269 | GGAGTTC <sup>m</sup> cgcagtaTG | 117,5 | 2,4  |
| 744 | 1269 | GGAGTTC <sup>m</sup> cgcagtaTG | 124,7 | 6,4  |
| 745 | 1525 | TAAagagaggtg <sup>m</sup> cGCC | 71,3  | 60,7 |
| 746 | 1525 | TAAagagaggtgCGCC               | 73,9  | 59,0 |
| 747 | 1525 | TAAAgagaggtg <sup>m</sup> cgCC | 79,5  | 45,6 |
| 748 | 1525 | TAAagagaggtgCGCC               | 93,6  | 4,6  |
| 749 | 1525 | TAAAgagaggtg <sup>m</sup> cGCC | 28,0  | 22,3 |
| 750 | 1526 | TAAagagaggtgCGC                | 96,3  | 22,2 |
| 751 | 1526 | TAAagagaggtGCGC                | 101,9 | 73,2 |
| 752 | 1526 | TAAagagaggtGCGC                | 44,3  | 72,6 |
| 753 | 1526 | TAAAgagaggtgCGC                | 64,1  | 50,8 |
| 754 | 1526 | GTAaagagaggtgCGC               | 27,0  | 47,8 |
| 755 | 1526 | GTAaagagaggtGCGC               | 65,6  | 58,8 |
| 756 | 1527 | GTAaagagaggtGCG                | 23,6  | 42,9 |
| 757 | 1527 | GTAaagagaggTGCG                | 80,5  | 2,4  |
| 758 | 1527 | GTAaagagaggTGCG                | 81,8  | 61,8 |
| 759 | 1527 | GTAaagagaggtGCG                | 31,5  | 35,2 |
| 760 | 1527 | CGtaaagagaggTGCG               | 91,5  | 62,5 |

|     |      |                                             |       |      |
|-----|------|---------------------------------------------|-------|------|
| 761 | 1527 | CGTAaagagaggtgCG                            | 70,5  | 60,0 |
| 762 | 1527 | CGTaaagagaggTGCG                            | 79,6  | 60,1 |
| 763 | 1527 | CGTAaagagaggtGCG                            | 4,5   | 4,1  |
| 764 | 1528 | CGTaaagagaggTGC                             | 37,0  | 55,1 |
| 765 | 1528 | CGtaaagagagGTGC                             | 89,4  | 17,7 |
| 766 | 1528 | CGTAaagagaggtGC                             | 93,3  | 17,1 |
| 767 | 1528 | CGTaaagagagGTGC                             | 63,4  | 4,2  |
| 768 | 1528 | CGTAaagagaggTGC                             | 34,1  | 51,7 |
| 769 | 1528 | GCGtaaagagaggTGC                            | 50,5  | 83,8 |
| 770 | 1528 | GCgtaaagagagGTGC                            | 43,6  | 73,2 |
| 771 | 1528 | GCgtaaagagaggTGC                            | 31,3  | 53,0 |
| 772 | 1528 | GCGtaaagagaggtGC                            | 43,9  | 69,9 |
| 773 | 1529 | GCGtaaagagagGTG                             | 53,2  | 67,4 |
| 774 | 1529 | GCgtaaagagaGGTG                             | 2,9   | 3,1  |
| 775 | 1529 | GCGTaaagagaggTG                             | 44,0  | 32,8 |
| 776 | 1529 | GCGtaaagagaGGTG                             | 8,8   | 4,3  |
| 777 | 1529 | GCGTaaagagagGTG                             | -0,6  | 0,6  |
| 778 | 1529 | CGCgtaaagagagGTG                            | 43,2  | 40,7 |
| 779 | 1529 | <sup>m</sup> cg <sup>m</sup> cgtaaagagaGGTG | 8,3   | 5,3  |
| 780 | 1529 | CGCgtaaagagaggTG                            | 37,6  | 40,0 |
| 781 | 1529 | CGCgtaaagagaGGTG                            | 33,5  | 40,4 |
| 782 | 1529 | CGCgtaaagagagGTG                            | 33,5  | 54,0 |
| 783 | 1552 | TGAgaaggcacagACG                            | 95,2  | 5,5  |
| 784 | 1552 | TGagaaggcacaGACG                            | 54,4  | 48,4 |
| 785 | 1552 | TGAgaaggcacagaCG                            | 67,2  | 6,3  |
| 786 | 1552 | TGAgaaggcacaGACG                            | 49,4  | 43,8 |
| 787 | 1552 | TGAgaaggcacagACG                            | 56,1  | 9,5  |
| 788 | 1690 | GCctcaaggt <sup>m</sup> cgGTC               | 78,8  | 70,1 |
| 789 | 1690 | GCctcaaggt <sup>m</sup> cggTC               | 21,6  | 40,1 |
| 790 | 1690 | GCctcaaggt <sup>m</sup> cggTC               | 46,7  | 74,2 |
| 791 | 1778 | ATgcctacagccTCC                             | 51,8  | 1,4  |
| 792 | 1778 | ATGcctacagcctCC                             | 51,1  | 2,2  |
| 793 | 1778 | ATgcctacagcctCC                             | 59,4  | 7,0  |
| 794 | 1785 | ACCAatttatgcCTAC                            | 145,3 | 4,8  |
| 795 | 1785 | ACCAatttatgcCTAC                            | 138,6 | 10,2 |
| 796 | 1785 | ACCAatttatgccTAC                            | 137,4 | 0,4  |
| 797 | 1785 | ACCaatttatgccTAC                            | 131,3 | 9,2  |
| 798 | 1785 | ACCaatttatgcCTAC                            | 126,0 | 8,7  |

Результаты обработки множеством концентраций.

Набор олигонуклеотидов из таблицы 5 тестировали при помощи трехкратных серийных разведений (25,000, 8,3333, 2,7778, 0,9259, 0,0343, 0,0114, 0,0038, 0,0013 мкМ олигомера) в анализе эффективности *in vitro* для оценки значений IC<sub>50</sub> и CC<sub>50</sub> для олигомеров. Секрецию антигена HBV (HBsAg) измеряли спустя 13 дней. В табл. 6 ниже представлены результаты анализа. Олигомер SEQ ID NO: 585 соответствует олигомеру, раскрытому как SEQ ID NO: 16 в US 8598334.

Таблица 6

| SEQ ID NO | IC <sub>50</sub> (мкМ) | CC <sub>50</sub> (мкМ) |
|-----------|------------------------|------------------------|
| SeqID 294 | 2,07                   | >25                    |
| SeqID 295 | 2,05                   | >25                    |
| SeqID 296 | 1,72                   | <0,0013                |
| SeqID 297 | 0,45                   | >25                    |
| SeqID 298 | 0,44                   | >25                    |
| SeqID 300 | 0,54                   | >25                    |
| SeqID 301 | 0,96                   | >25                    |
| SeqID 303 | 2,57                   | >25                    |
| SeqID 304 | 1,70                   | <0,0013                |
| SeqID 305 | 2,05                   | >25                    |
| SeqID 306 | 1,18                   | >25                    |
| SeqID 307 | 0,68                   | >25                    |
| SeqID 308 | 2,62                   | >25                    |
| SeqID 309 | 2,15                   | >25                    |
| SeqID 310 | 2,04                   | >25                    |
| SeqID 311 | 9,75                   | >25                    |
| SeqID 315 | 1,12                   | >25                    |
| SeqID 316 | 1,13                   | >25                    |
| SeqID 317 | 0,80                   | >25                    |
| SeqID 318 | 5,27                   | >25                    |
| SeqID 368 | >25                    | <0,0013                |
| SeqID 386 | 12,32                  | >25                    |
| SeqID 389 | 23,43                  | >25                    |
| SeqID 390 | 2,57                   | >25                    |
| SeqID 391 | 5,91                   | >25                    |
| SeqID 393 | 3,08                   | >25                    |
| SeqID 398 | 19,84                  | >25                    |
| SeqID 400 | 3,07                   | >25                    |
| SeqID 402 | 2,00                   | >25                    |
| SeqID 424 | 2,43                   | >25                    |
| SeqID 427 | 0,61                   | >25                    |
| SeqID 442 | 2,24                   | >25                    |
| SeqID 456 | 0,78                   | >25                    |
| SeqID 457 | 6,05                   | >25                    |
| SeqID 473 | 3,91                   | >25                    |
| SeqID 474 | 4,67                   | >25                    |
| SeqID 475 | 6,15                   | >25                    |
| SeqID 476 | 3,82                   | >25                    |
| SeqID 479 | 5,88                   | >25                    |
| SeqID 481 | 6,63                   | >25                    |
| SeqID 482 | 10,10                  | >25                    |
| SeqID 484 | 17,04                  | >25                    |
| SeqID 485 | 4,34                   | >25                    |
| SeqID 584 | >25                    | >25                    |

## Пример 3.

In vivo мышьяная модель AAV/HBV.

Анти-HBV LNA могут быть оценены в мышьяной модели AAV/HBV. В данной модели мышья, инфицированная рекомбинантным аденоассоциированным вирусом (AAV), несущим геном HBV (AAV/HBV), поддерживает стабильную вирусемию и антигенемию в течение более чем 30 недель (Dan Yang, et al. 2014 Cellular & Molecular Immunology, 11, 71-78).

Самцов мышья C57BL/6 (4-6 недельных), свободных от специфического патогена, закупают у SLAC (Shanghai Laboratory Animal Center of Chinese Academy of Sciences) и держали в условиях ухода за животными в отдельных вентилируемых клетках. Следовали рекомендациям по содержанию и использованию животных, указанным WuXi IACUC (Комитет по содержанию и использованию лабораторных животных, WUXI IACUC протокол номер P20131126-мышья). Мышьям позволяли адаптироваться к новым условиям среды в течение 3 дней и затем разделяли на группы согласно дизайну эксперимента.

Рекомбинантный AAV-HBV разводили в PBS, 200 мкл на инъекцию. Данный рекомбинантный вирус содержит 1, 3 копии генома HBV (генотип D, серотип ауw).

На день 0 всем мышьям инъектировали в хвостовую вену 200 мкл AAV-HBV. На день 6, 13 и 20 после инъекции AAV у всех мышья субмандибулярно брали кровь (0,1 мл крови/мышья) для сбора сыворотки. На день 22 после инфекции мышья со стабильной вирусемией получали носитель или анти-HBV LNA внутривенно в дозе 5 мг/кг. Олигомеры LNA могут быть неконъюгированными или GalNAc конъюгированными.

Мышья получали дозу дважды в неделю в течение двух недель. На день 3, 7, 10 и 14 после первого дозирования LNA у всех мышья субмандибулярно брали кровь (0,1 мл крови/мышья) для сбора сыворотки и мониторинга HBV поверхностного антигена (HBsAg), HBV e антигена (HBeAg) и геномной ДНК HBV в сыворотке.

## Пример 4.

In vivo исследование при инъекциях дважды в неделю одной и той же дозой.

Мышьяную модель AAV/HBV, как показано в примере 3, применяли в данном исследовании. Тестируют десять GalNAc конъюгированных анти-HBV LNA олигомеров с солевым раствором в качестве контроля в мышьях C57BL/6 со стабильной вирусемией. Некоторые из олигомеров сравнивали со стандартом лечения нуклеозидным аналогом, Энтекавиром (ETV), вводимым как предписано ежедневно в дозе 0,03 мг/кг орально.

Мышьям инъектировали дозу дважды в неделю подкожно в течение двух недель на день 0, 3, 7 и 10 или день 0, 3, 6 и 9 в дозе 2 мг/кг. HBV поверхностный антиген (HBsAg), HBV e антиген (HBeAg) и геномную ДНК HBV в сыворотке измеряли в указанные дни при помощи способов, описанных в разделе "Материалы и методы". Мышья наблюдали в течение 23-24 дней.

Результаты приведены в табл. 7А-С.

Таблица 7А-С. Сывороточный уровень HBsAg ( $\log_{10}$  (МЕ/мл)) при дозе 2 мг/кг дважды в неделю. Данные трех независимых экспериментов.

| A    | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 806 |      | SEQ ID NO 807 |      | SEQ ID NO 815 |      | SEQ ID NO 800 |      | SEQ ID NO 802 |      | ETV   |      |
|------|-----------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|-------|------|
|      | HBsAg           |      | HBsAg         |      | HBsAg         |      | HBsAg         |      | HBsAg         |      | HBsAg         |      | HBsAg |      |
| день |                 | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |       | С.о. |
| 0    | 4,23            | 0,53 | 4,79          | 0,04 | 4,68          | 0,04 | 4,06          | 0,76 | 4,73          | 0,01 | 4,07          | 0,37 | 4,49  | 0,24 |
| 3    | 4,05            | 0,40 | 4,48          | 0,16 | 4,00          | 0,12 | 3,48          | 0,83 | 4,08          | 0,14 | 3,89          | 0,24 | 4,37  | 0,30 |
| 7    | 4,26            | 0,22 | 4,17          | 0,13 | 3,37          | 0,20 | 2,68          | 0,71 | 3,23          | 0,23 | 3,57          | 0,52 | 4,33  | 0,33 |
| 10   | 4,38            | 0,17 | 4,09          | 0,14 | 3,12          | 0,17 | 2,60          | 0,61 | 2,90          | 0,30 | 3,66          | 0,53 | 4,43  | 0,25 |
| 14   | 4,37            | 0,20 | 3,86          | 0,33 | 2,82          | 0,21 | 2,69          | 0,45 | 2,67          | 0,38 | 3,52          | 0,52 | 4,53  | 0,22 |
| 17   | 4,47            | 0,12 | 4,10          | 0,23 | 3,03          | 0,20 | 2,91          | 0,36 | 2,20          | 0,84 | 3,62          | 0,49 | 3,71  | 1,52 |
| 21   | 4,55            | 0,12 | 4,21          | 0,22 | 3,37          | 0,20 | 3,36          | 0,44 | 2,92          | 0,24 | 3,72          | 0,50 | 4,64  | 0,11 |
| 24   | 4,57            | 0,11 | 4,36          | 0,20 | 3,67          | 0,08 | 3,91          | 0,34 | 3,21          | 0,25 | 4,06          | 0,32 | 4,72  | 0,15 |

С.о. - стандартное отклонение.

| В    | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 808 |      | SEQ ID NO 814 |      | SEQ ID NO 826 |      | SEQ ID NO 825 |      |
|------|-----------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|
|      | HBsAg           |      | HBsAg         |      | HBsAg         |      | HBsAg         |      | HBsAg         |      |
| день |                 | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |
| 0    | 4,68            | 0,10 | 4,64          | 0,05 | 4,67          | 0,07 | 4,00          | 0,43 | 4,50          | 0,09 |
| 3    | 4,40            | 0,12 | 3,99          | 0,09 | 3,64          | 0,16 | 3,21          | 0,90 | 3,44          | 0,05 |
| 6    | 4,49            | 0,09 | 3,56          | 0,07 | 2,78          | 0,20 | 2,62          | 1,03 | 2,59          | 0,13 |
| 9    | 4,50            | 0,07 | 3,24          | 0,07 | 2,36          | 0,16 | 2,32          | 1,00 | 2,16          | 0,20 |
| 13   | 4,71            | 0,07 | 3,16          | 0,14 | 2,29          | 0,15 | 2,21          | 1,03 | 2,03          | 0,22 |
| 16   | 4,58            | 0,05 | 3,10          | 0,15 | 2,64          | 0,08 | 2,37          | 1,05 | 2,27          | 0,21 |
| 20   | 4,71            | 0,03 | 3,37          | 0,21 | 3,05          | 0,14 | 2,45          | 1,18 | 2,47          | 0,33 |
| 23   | 4,62            | 0,08 | 3,47          | 0,23 | 3,36          | 0,12 | 2,68          | 1,24 | 2,54          | 0,62 |

| С    | Солевой раствор |      | SEQ ID 824 |      |
|------|-----------------|------|------------|------|
|      | HBsAg           |      | HBsAg      |      |
| день |                 | С.о. |            | С.о. |
| 0    | 4,49            | 0,13 | 4,67       | 0,03 |
| 3    | 4,62            | 0,13 | 4,14       | 0,06 |
| 6    | 4,50            | 0,14 | 3,00       | 0,13 |
| 9    | 4,45            | 0,21 | 2,35       | 0,15 |
| 13   | 4,36            | 0,38 | 2,19       | 0,25 |
| 16   | 4,20            | 0,66 | 2,45       | 0,20 |
| 20   | 4,46            | 0,09 | 3,45       | 0,22 |
| 23   | 3,97            | 1,05 | 2,42       | 0,18 |

Исходя из этих данных может быть сделан вывод, что *in vivo* все GalNAc конъюгированные анти-HBV антисмысловые олигомеры способны снижать уровни HBV с антигена (HBsAg) до уровня, меньше, чем солевой раствор и стандарт лечения. В частности, SEQ ID NO: 807, SEQ ID NO: 808, SEQ ID NO: 814, SEQ ID NO: 815, SEQ ID NO: 825, SEQ ID NO: 826 демонстрировали значительное снижение сывороточных уровней HBsAg.

Таблица 8А-С. Сывороточный уровень HBeAg ( $\log_{10}$  (ТЕ/мл)) при дозе 2 мг/кг дважды в неделю.

| А    | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 806 |      | SEQ ID NO 807 |      | SEQ ID NO 815 |      | SEQ ID NO 800 |      | SEQ ID NO 802 |      | ETV   |      |
|------|-----------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|-------|------|
|      | HBeAg           |      | HBeAg         |      | HBeAg         |      | HBeAg         |      | HBeAg         |      | HBeAg         |      | HBeAg |      |
| день |                 | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |       | С.о. |
| 0    | 3,63            | 0,05 | 3,66          | 0,05 | 3,62          | 0,03 | 3,65          | 0,04 | 3,63          | 0,03 | 3,63          | 0,03 | 3,59  | 0,05 |
| 3    | 3,54            | 0,04 | 3,21          | 0,06 | 2,91          | 0,05 | 3,04          | 0,05 | 2,65          | 0,03 | 3,43          | 0,04 | 3,62  | 0,03 |
| 7    | 3,61            | 0,08 | 3,00          | 0,05 | 2,41          | 0,14 | 2,54          | 0,13 | 2,19          | 0,05 | 3,37          | 0,03 | 3,64  | 0,02 |
| 10   | 3,63            | 0,05 | 2,21          | 1,05 | 2,21          | 0,11 | 2,35          | 0,93 | 1,96          | 0,05 | 2,29          | 0,91 | 3,67  | 0,02 |
| 14   | 3,63            | 0,04 | 2,69          | 0,34 | 2,09          | 0,10 | 2,95          | 0,29 | 1,98          | 0,10 | 2,96          | 0,33 | 3,67  | 0,03 |
| 17   | 3,66            | 0,06 | 2,90          | 0,24 | 2,27          | 0,10 | 2,84          | 0,30 | 1,73          | 0,54 | 2,83          | 0,25 | 2,96  | 1,20 |
| 21   | 3,67            | 0,04 | 3,05          | 0,08 | 2,45          | 0,09 | 2,82          | 0,10 | 2,07          | 0,20 | 3,33          | 0,03 | 3,68  | 0,01 |
| 24   | 3,70            | 0,07 | 3,27          | 0,03 | 2,66          | 0,06 | 3,12          | 0,06 | 2,29          | 0,03 | 3,40          | 0,02 | 3,74  | 0,04 |

| B    | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 808 |      | SEQ ID NO 814 |      | SEQ ID NO 826 |      | SEQ ID NO 825 |      |
|------|-----------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|
|      | HBeAg           |      | HBeAg         |      | HBeAg         |      | HBeAg         |      | HBeAg         |      |
| день |                 | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |
| 0    | 3,72            | 0,08 | 3,63          | 0,03 | 3,56          | 0,03 | 3,32          | 0,17 | 3,51          | 0,12 |
| 3    | 3,43            | 0,06 | 2,74          | 0,03 | 2,48          | 0,08 | 2,82          | 0,18 | 2,31          | 0,07 |
| 6    | 3,44            | 0,02 | 2,35          | 0,06 | 1,98          | 0,07 | 2,43          | 0,16 | 1,94          | 0,06 |
| 9    | 3,36            | 0,02 | 2,03          | 0,11 | 1,84          | 0,07 | 2,22          | 0,11 | 1,76          | 0,05 |
| 13   | 3,72            | 0,05 | 2,25          | 0,08 | 1,96          | 0,03 | 2,23          | 0,09 | 1,95          | 0,08 |
| 16   | 3,66            | 0,10 | 2,32          | 0,06 | 2,08          | 0,04 | 2,45          | 0,15 | 1,98          | 0,08 |
| 20   | 3,74            | 0,01 | 2,58          | 0,04 | 2,36          | 0,05 | 2,67          | 0,18 | 2,21          | 0,11 |
| 23   | 3,65            | 0,05 | 2,60          | 0,07 | 2,52          | 0,08 | 2,82          | 0,10 | 2,33          | 0,11 |

| C    | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 824 |      |
|------|-----------------|------|---------------|------|
|      | HBeAg           |      | HBeAg         |      |
| день |                 | С.о. |               | С.о. |
| 0    | 3,75            | 0,02 | 3,74          | 0,02 |
| 3    | 3,52            | 0,09 | 2,35          | 0,07 |
| 6    | 3,45            | 0,06 | 1,89          | 0,03 |
| 9    | 3,60            | 0,06 | 1,94          | 0,04 |
| 13   | 3,58            | 0,10 | 1,58          | 0,04 |
| 16   | 3,58            | 0,15 | 1,64          | 0,04 |

|    |      |      |      |      |
|----|------|------|------|------|
| 20 | 3,48 | 0,13 | 2,69 | 0,05 |
| 23 | 3,59 | 0,12 | 1,75 | 0,02 |

Исходя из этих данных, можно сделать вывод о том, что in vivo все GalNAc конъюгированные анти-HBV бессмысловые олигомеры способны снижать сывороточные уровни HBeAg до уровня меньшего, чем солевой раствор или стандарт лечения. В частности, SEQ ID NO: 807, SEQ ID NO: 808, SEQ ID NO: 814, SEQ ID NO: 815, SEQ ID NO: 825, SEQ ID NO: 826 продемонстрировали значительное снижение сывороточных уровней HBeAg.

Таблица 9А-С. Сывороточный уровень ДНК HBV ( $\log_{10}$  число копий) при дозе 2 мг/кг дважды в неделю.

| A    | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 806 |      | SEQ ID NO 807 |      | SEQ ID NO 815 |      | SEQ ID NO 800 |      | SEQ ID NO 802 |      | ETV  |      |
|------|-----------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|------|------|
|      | ДНК             |      | ДНК           |      | ДНК           |      | ДНК           |      | ДНК           |      | ДНК           |      | ДНК  |      |
| день |                 | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |      | С.о. |
| 0    | 7,08            | 0,54 | 7,78          | 0,08 | 7,27          | 0,38 | 7,06          | 0,39 | 7,26          | 0,35 | 6,92          | 0,31 | 7,30 | 0,37 |
| 3    | 7,21            | 0,36 | 7,28          | 0,20 | 6,45          | 0,54 | 6,11          | 0,41 | 5,99          | 0,45 | 6,78          | 0,33 | 5,73 | 0,83 |
| 7    | 6,81            | 0,54 | 6,53          | 0,15 | 5,16          | 0,86 | 4,52          | 0,38 | 5,16          | 0,50 | 6,43          | 0,58 | 5,15 | 0,50 |
| 10   | 7,64            | 0,14 | 6,38          | 0,37 | 4,72          | 0,52 | 4,23          | LLOQ | 4,23          | LLOQ | 6,39          | 0,60 | 4,23 | LLOQ |
| 14   | 7,71            | 0,09 | 5,97          | 0,70 | 4,23          | LLOQ | 4,23          | LLOQ | 4,23          | LLOQ | 6,12          | 0,46 | 4,23 | LLOQ |
| 17   | 7,76            | 0,04 | 6,13          | 0,57 | 4,23          | LLOQ | 4,56          | 0,57 | 4,23          | LLOQ | 6,07          | 0,58 | 4,23 | LLOQ |
| 21   | 7,80            | 0,08 | 6,62          | 0,43 | 4,29          | 0,11 | 4,65          | 0,49 | 4,44          | 0,35 | 6,54          | 0,42 | 4,89 | 0,41 |
| 24   | 8,01            | 0,03 | 6,91          | 0,34 | 4,65          | 0,41 | 5,60          | 0,68 | 4,23          | LLOQ | 7,01          | 0,33 | 5,22 | 0,57 |

LLOQ = нижний предел количественного вычисления.

| В    | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 808 |      | SEQ ID NO 814 |      | SEQ ID NO 826 |      | SEQ ID NO 825 |      |
|------|-----------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|---------------|------|
|      | ДНК             |      | ДНК           |      | ДНК           |      | ДНК           |      | ДНК           |      |
| День |                 | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |               | С.о. |
| 0    | 6,95            | 0,35 | 6,79          | 0,30 | 7,13          | 0,24 | 6,94          | 0,40 | 7,02          | 0,18 |
| 3    | 7,15            | 0,26 | 5,92          | 0,27 | 5,88          | 0,15 | 6,25          | 0,50 | 5,90          | 0,35 |
| 6    | 7,26            | 0,22 | 4,80          | 0,64 | 4,44          | 0,48 | 5,34          | 0,70 | 4,56          | 0,68 |
| 9    | 7,44            | 0,23 | 4,16          | LLOQ | 4,16          | LLOQ | 4,78          | 0,62 | 4,16          | LLOQ |
| 13   | 7,13            | 0,26 | 4,16          | LLOQ | 4,16          | LLOQ | 4,35          | 0,33 | 4,16          | LLOQ |
| 16   | 7,04            | 0,44 | 4,16          | LLOQ | 4,16          | LLOQ | 4,27          | 0,20 | 4,16          | LLOQ |
| 20   | 7,04            | 0,36 | 4,16          | LLOQ | 4,16          | LLOQ | 4,40          | 0,41 | 4,16          | LLOQ |
| 23   | 7,24            | 0,14 | 4,16          | LLOQ | 4,16          | LLOQ | 4,77          | 0,63 | 4,34          | 0,30 |

LLOQ - нижний предел количественного вычисления.

| С    | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 824 |      |
|------|-----------------|------|---------------|------|
|      | ДНК             |      | ДНК           |      |
| день |                 | С.о. |               | С.о. |
| 0    | 7,47            | 0,23 | 7,33          | 0,16 |
| 3    | 7,55            | 0,21 | 5,99          | 0,25 |
| 6    | 7,74            | 0,19 | 4,89          | 0,48 |
| 9    | 7,76            | 0,21 | 4,51          | 0,40 |
| 13   | 7,82            | 0,27 | 4,32          | LLOQ |
| 16   | 7,60            | 0,42 | 4,32          | LLOQ |
| 20   | 7,42            | 0,16 | 5,03          | 0,53 |
| 23   | 7,58            | 0,57 | 4,32          | LLOQ |

LLOQ - нижний предел количественного вычисления.

Исходя из этих данных, можно сделать вывод о том, что все GalNAc конъюгированные анти-HBV антисмысловые олигомеры способны снижать сывороточные уровни геномной ДНК HBV до уровня меньшего, чем солевой раствор или эквивалентного ETV (клинический стандарт лечения). В частности, SEQ ID NO: 807, SEQ ID NO: 808, SEQ ID NO: 814, SEQ ID NO: 815, SEQ ID NO: 825, SEQ ID NO: 826 продемонстрировали значительное снижение сывороточных уровней геномной ДНК HBV.

Общий вывод из этих данных заключается в том, что *in vivo* GalNAc-конъюгированные HBV-нацеленные LNA могут нацеливаться и снижать экспрессию HBsAg и HBeAg лучше, чем ETV (клинический стандарт лечения) и сывороточную ДНК HBV с эквивалентной или лучшей эффективностью по сравнению с ETV. Учитывая более широкое влияние на вирусную транскрипционную программу, чем нуклеозидного аналога ETV, эти данные подтверждают, что применение GalNAc конъюгированных HBV-нацеленных LNA в клинике, вероятно, приводит к намного более лучшему результату, включая существенное повышение уровня излечения для пациентов хронически инфицированных HBV. В частности, снижение иммунного супрессора HBsAg будет приводить к восстановлению HBV-направленного хозяйского иммунного ответа.

#### Пример 5.

*In vivo* исследование инъекцией дважды в неделю при нескольких дозах.

AAV/HBV мышиную модель, как описано в примере 3, применяли в данном исследовании. Семь GalNAc конъюгированных анти-HBV LNA олигомеров тестировали в различных дозах с солевым раствором в качестве контроля на мышах C57BL/6 со стабильной вирусемией.

Мышам вводили дозу подкожно дважды в неделю в течение двух недель на день 0, 3, 7 и 10 или день 0, 3, 6 и 9 при дозах в мг/кг на инъекцию, указанных в таблицах ниже. HBV поверхностный антиген (HBsAg), HBV е антиген (HBeAg) и геномную ДНК HBV в сыровотке измеряли в указанные дни при помощи способов, описанных в разделе "Материалы и методы". Мышей наблюдали в течение 23-24 дней.

Результаты приведены в таблицах ниже.



Таблица 10А-Г. Сывороточный уровень HBsAg ( $\log_{10}$  (МЕ/мл)) при дозировании в разных концентрациях, указанных ниже, дважды в неделю.

| A   | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 807  |      |                |      |                |      |
|-----|-----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|
|     |                 |      | 7,1 мг/кг      |      | 1,4 мг/кг      |      | 0,28 мг/кг     |      |
|     | HBsAg           |      | HBsAg          |      | HBsAg          |      | HBsAg          |      |
| Ден | Сыворо          | С.о. | Сыворо         | С.о. | Сыворо         | С.о. | Сыворо         | С.о. |
| ь   | точный уровень  |      | точный уровень |      | точный уровень |      | точный уровень |      |
| 0   | 4,63            | 0,12 | 4,74           | 0,06 | 4,71           | 0,05 | 4,51           | 0,24 |
| 3   | 4,67            | 0,09 | 3,79           | 0,19 | 4,23           | 0,08 | 4,23           | 0,45 |
| 6   | 4,63            | 0,11 | 2,68           | 0,15 | 3,50           | 0,08 | 3,83           | 0,52 |
| 9   | 4,62            | 0,10 | 2,09           | 0,09 | 2,95           | 0,05 | 3,62           | 0,42 |
| 13  | 4,64            | 0,06 | 1,84           | 0,09 | 2,50           | 0,04 | 3,54           | 0,28 |
| 16  | 4,56            | 0,05 | 1,72           | 0,05 | 2,53           | 0,13 | 3,63           | 0,35 |
| 20  | 4,69            | 0,03 | 1,97           | 0,29 | 2,92           | 0,17 | 3,91           | 0,25 |
| 23  | 4,67            | 0,10 | 1,78           | 0,11 | 3,18           | 0,15 | 4,08           | 0,20 |

| B   | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 815  |      |                |      |                |      |
|-----|-----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|
|     |                 |      | 7,5 мг/кг      |      | 1,5 мг/кг      |      | 0,3 мг/кг      |      |
|     | HBsAg           |      | HBsAg          |      | HBsAg          |      | HBsAg          |      |
| Ден | Сыворо          | С.о. | Сыворо         | С.о. | Сыворо         | С.о. | Сыворо         | С.о. |
| ь   | точный уровень  |      | точный уровень |      | точный уровень |      | точный уровень |      |
| 0   | 4,63            | 0,12 | 4,74           | 0,05 | 4,67           | 0,18 | 4,14           | 0,61 |
| 3   | 4,67            | 0,09 | 3,47           | 0,10 | 3,55           | 0,38 | 3,46           | 0,99 |
| 7   | 4,63            | 0,11 | 2,25           | 0,20 | 2,70           | 0,32 | 3,02           | 0,99 |
| 10  | 4,62            | 0,10 | 1,89           | 0,17 | 2,07           | 0,27 | 2,68           | 1,14 |
| 14  | 4,64            | 0,06 | 1,48           | 0,19 | 1,81           | 0,24 | 2,60           | 1,07 |
| 17  | 4,56            | 0,05 | 1,59           | 0,19 | 2,22           | 0,21 | 2,79           | 1,13 |
| 21  | 4,69            | 0,03 | 1,68           | 0,16 | 2,99           | 0,16 | 3,24           | 1,15 |
| 24  | 4,67            | 0,10 | 2,17           | 0,29 | 3,54           | 0,16 | 3,53           | 1,11 |

| C   | Солевой раствор |      | SEQ ID NO 814  |      |                |      |                |      |
|-----|-----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|
|     |                 |      | 6,15 мг/кг     |      | 1,26 мг/кг     |      | 0,252 мг/кг    |      |
|     | HBsAg           |      | HBsAg          |      | HBsAg          |      | HBsAg          |      |
| Ден | Сыворо          | С.о. | Сыворо         | С.о. | Сыворо         | С.о. | Сыворо         | С.о. |
| ь   | точный уровень  |      | точный уровень |      | точный уровень |      | точный уровень |      |
| 0   | 4,49            | 0,13 | 4,59           | 0,07 | 4,55           | 0,17 | 4,48           | 0,18 |
| 3   | 4,62            | 0,13 | 3,56           | 0,21 | 4,02           | 0,29 | 4,51           | 0,18 |
| 7   | 4,5             | 0,14 | 2,22           | 0,23 | 3,26           | 0,23 | 4,25           | 0,23 |
| 10  | 4,45            | 0,21 | 1,89           | 0,24 | 2,9            | 0,2  | 4,21           | 0,22 |
| 14  | 4,36            | 0,38 | 1,69           | 0,27 | 2,77           | 0,24 | 4,33           | 0,16 |
| 17  | 4,2             | 0,66 | 1,75           | 0,2  | 3,02           | 0,19 | 4,4            | 0,09 |
| 21  | 4,46            | 0,09 | 2,13           | 0,21 | 3,5            | 0,29 | 4,31           | 0,17 |
| 24  | 3,97            | 1,05 | 2,45           | 0,17 | 3,54           | 0,36 | 4,51           | 0,09 |

| D    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 825        |      |                      |      |                      |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 7,5 мг/кг            |      | 1,5 мг/кг            |      | 0,3 мг/кг            |      |
|      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 4,49                 | 0,13 | 4,62                 | 0,06 | 4,51                 | 0,04 | 4,48                 | 0,25 |
| 3    | 4,62                 | 0,13 | 3,56                 | 0,18 | 3,73                 | 0,15 | 4,47                 | 0,31 |
| 7    | 4,5                  | 0,14 | 2,36                 | 0,12 | 2,84                 | 0,16 | 4,15                 | 0,32 |
| 10   | 4,45                 | 0,21 | 1,99                 | 0,08 | 2,43                 | 0,15 | 3,95                 | 0,35 |
| 14   | 4,36                 | 0,38 | 1,87                 | 0,09 | 2,2                  | 0,12 | 4,01                 | 0,25 |
| 17   | 4,2                  | 0,66 | 1,93                 | 0,06 | 2,51                 | 0,12 | 4,1                  | 0,22 |
| 21   | 4,46                 | 0,09 | 2,2                  | 0,11 | 3,04                 | 0,14 | 4,42                 | 0,13 |
| 24   | 3,97                 | 1,05 | 2,45                 | 0,19 | 3,32                 | 0,17 | 4,49                 | 0,08 |

| E    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 808        |      |                      |      |                      |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 7,1 мг/кг ПК         |      | 1,42 мг/кг ПК        |      | 0,29 мг/кг ПК        |      |
|      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 4,78                 | 0,11 | 4,58                 | 0,29 | 4,86                 | 0,08 | 4,55                 | 0,34 |
| 3    | 4,75                 | 0,1  | 3,38                 | 0,72 | 4,27                 | 0,24 | 4,36                 | 0,43 |
| 7    | 4,85                 | 0,05 | 2,8                  | 0,55 | 3,7                  | 0,45 | 4,25                 | 0,37 |
| 10   | 4,81                 | 0,08 | 2,31                 | 0,43 | 3,42                 | 0,35 | 4,06                 | 0,5  |
| 14   | 4,99                 | 0,02 | 2,36                 | 0,31 | 3,51                 | 0,4  | 4,18                 | 0,68 |
| 17   | 4,91                 | 0,04 | 2,36                 | 0,31 | 3,52                 | 0,3  | 4,11                 | 0,68 |
| 21   | 4,89                 | 0,04 | 2,26                 | 0,34 | 3,66                 | 0,35 | 4,32                 | 0,64 |
| 24   | 4,8                  | 0,06 | 2,4                  | 0,28 | 3,87                 | 0,3  | 4,45                 | 0,47 |

| F    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 824        |      |                      |      |                      |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 7,4 мг/кг ПК         |      | 1,5 мг/кг ПК         |      | 0,3 мг/кг ПК         |      |
|      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 4,78                 | 0,11 | 4,78                 | 0,05 | 4,57                 | 0,34 | 4,7                  | 0,11 |
| 3    | 4,75                 | 0,1  | 3,86                 | 0,23 | 4                    | 0,51 | 4,6                  | 0,15 |
| 7    | 4,85                 | 0,05 | 2,44                 | 0,32 | 2,87                 | 0,54 | 4,15                 | 0,16 |
| 10   | 4,81                 | 0,08 | 2,38                 | 0,25 | 2,18                 | 0,58 | 3,86                 | 0,17 |
| 14   | 4,99                 | 0,02 | 2,85                 | 0,4  | 2,21                 | 0,82 | 3,84                 | 0,28 |
| 17   | 4,91                 | 0,04 | 2,85                 | 0,41 | 2,28                 | 0,82 | 3,49                 | 0,54 |
| 21   | 4,89                 | 0,04 |                      |      | 2,25                 | 0,91 | 3,63                 | 0,74 |
| 24   | 4,8                  | 0,06 |                      |      | 2,2                  | 0,76 | 3,7                  | 0,66 |

| G    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 826        |      |                      |      |                      |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 7,1 мг/кг            |      | 1,42 мг/кг           |      | 0,29 мг/кг           |      |
|      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 4,78                 | 0,11 | 4,61                 | 0,26 | 4,67                 | 0,06 | 4,57                 | 0,14 |
| 3    | 4,75                 | 0,1  | 3,78                 | 0,45 | 4,42                 | 0,03 | 4,66                 | 0,2  |
| 7    | 4,85                 | 0,05 | 2,46                 | 0,51 | 3,84                 | 0,13 | 4,52                 | 0,2  |
| 10   | 4,81                 | 0,08 | 2,02                 | 0,57 | 3,61                 | 0,11 | 4,42                 | 0,24 |
| 14   | 4,99                 | 0,02 | 2,08                 | 0,63 | 3,65                 | 0,27 | 4,63                 | 0,21 |
| 17   | 4,91                 | 0,04 | 1,94                 | 0,55 | 3,73                 | 0,18 | 4,57                 | 0,21 |
| 21   | 4,89                 | 0,04 | 2,54                 | 0,25 | 4,09                 | 0,13 | 4,73                 | 0,2  |
| 24   | 4,8                  | 0,06 | 3,04                 | 0,21 | 4,23                 | 0,17 | 4,79                 | 0,24 |

Вышеуказанные данные также представлены на фиг. 11.

Таблица 11A-G. Сывороточный уровень HBeAg ( $\log_{10}$  (ТЕ/мл)) при дозировании дважды в неделю в различных указанных концентрациях.

| A    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 807        |      |                      |      |                      |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 7,1 мг/кг            |      | 1,4 мг/кг            |      | 0,28 мг/кг           |      |
|      | HBeAg                |      | HBeAg                |      | HBeAg                |      | HBeAg                |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 3,83                 | 0,04 | 3,82                 | 0,02 | 3,78                 | 0,02 | 3,75                 | 0,03 |
| 3    | 3,74                 | 0,02 | 2,24                 | 0,04 | 2,83                 | 0,07 | 3,39                 | 0,05 |
| 6    | 3,69                 | 0,02 | 1,67                 | 0,04 | 2,32                 | 0,06 | 3,16                 | 0,03 |
| 9    | 3,68                 | 0,03 | 1,48                 | 0,05 | 2,04                 | 0,03 | 3,01                 | 0,02 |
| 13   | 3,66                 | 0,03 | 1,53                 | 0,02 | 1,75                 | 0,03 | 2,83                 | 0,14 |
| 16   | 3,69                 | 0,03 | 1,21                 | 0,07 | 1,85                 | 0,03 | 2,98                 | 0,04 |
| 20   | 3,66                 | 0,04 | 1,48                 | 0,07 | 1,98                 | 0,05 | 3,12                 | 0,04 |
| 23   | 3,63                 | 0,04 | 1,34                 | 0,09 | 2,19                 | 0,06 | 3,24                 | 0,07 |

| B        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 815               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 7,5 мг/кг                   |      | 1,5 мг/кг                   |      | 0,3 мг/кг                   |      |
|          | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      |
| Ден<br>ь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 3,83                        | 0,04 | 3,80                        | 0,07 | 3,77                        | 0,03 | 3,67                        | 0,15 |
| 3        | 3,74                        | 0,02 | 2,00                        | 0,08 | 2,56                        | 0,12 | 3,37                        | 0,15 |
| 7        | 3,69                        | 0,02 | 1,60                        | 0,05 | 2,02                        | 0,08 | 3,04                        | 0,11 |
| 10       | 3,68                        | 0,03 | 1,47                        | 0,03 | 1,85                        | 0,10 | 2,75                        | 0,38 |
| 14       | 3,66                        | 0,03 | 1,40                        | 0,39 | 1,64                        | 0,09 | 2,81                        | 0,10 |
| 17       | 3,69                        | 0,03 | 1,29                        | 0,12 | 1,85                        | 0,09 | 2,78                        | 0,29 |
| 21       | 3,66                        | 0,04 | 1,74                        | 0,14 | 2,27                        | 0,09 | 3,10                        | 0,23 |
| 24       | 3,63                        | 0,04 | 1,88                        | 0,07 | 2,50                        | 0,09 | 3,19                        | 0,18 |

| C        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 814               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 6,15 мг/кг                  |      | 1,26 мг/кг                  |      | 0,252 мг/кг                 |      |
|          | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      |
| Ден<br>ь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 3,75                        | 0,02 | 3,8                         | 0,08 | 3,8                         | 0,05 | 3,75                        | 0,08 |
| 3        | 3,52                        | 0,09 | 2,15                        | 0,06 | 2,97                        | 0,05 | 3,46                        | 0,09 |
| 7        | 3,45                        | 0,06 | 1,73                        | 0,05 | 2,47                        | 0,02 | 3,22                        | 0,09 |
| 10       | 3,6                         | 0,06 | 1,7                         | 0,07 | 2,32                        | 0,05 | 3,2                         | 0,08 |
| 14       | 3,58                        | 0,1  | 1,4                         | 0,05 | 2,15                        | 0,04 | 3,24                        | 0,12 |
| 17       | 3,58                        | 0,15 | 1,55                        | 0,05 | 2,44                        | 0,06 | 3,34                        | 0,1  |
| 21       | 3,48                        | 0,13 | 1,75                        | 0,04 | 2,7                         | 0,05 | 3,34                        | 0,15 |
| 24       | 3,59                        | 0,12 | 1,92                        | 0,05 | 2,8                         | 0,04 | 3,44                        | 0,13 |

| D        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 825               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 7,5 мг/кг                   |      | 1,5 мг/кг                   |      | 0,3 мг/кг                   |      |
|          | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      |
| Ден<br>ь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 3,75                        | 0,02 | 3,72                        | 0,08 | 3,71                        | 0,09 | 3,93                        | 0,16 |
| 3        | 3,52                        | 0,09 | 2,22                        | 0,1  | 2,68                        | 0,06 | 3,39                        | 0,06 |
| 7        | 3,45                        | 0,06 | 1,77                        | 0,1  | 2,36                        | 0,05 | 3,14                        | 0,12 |
| 10       | 3,6                         | 0,06 | 1,7                         | 0,05 | 2,18                        | 0,1  | 3,17                        | 0,1  |
| 14       | 3,58                        | 0,1  | 1,47                        | 0,07 | 1,92                        | 0,07 | 3,14                        | 0,02 |
| 17       | 3,58                        | 0,15 | 1,69                        | 0,06 | 2,17                        | 0,13 | 3,25                        | 0,04 |
| 21       | 3,48                        | 0,13 | 1,87                        | 0,08 | 2,4                         | 0,08 | 3,38                        | 0,05 |
| 24       | 3,59                        | 0,12 | 1,98                        | 0,09 | 2,55                        | 0,06 | 3,48                        | 0,02 |

| E    | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 808               |      |                             |      |                             |      |
|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|      |                             |      | 7,1 мг/кг ПК                |      | 1,42 мг/кг ПК               |      | 0,29 мг/кг ПК               |      |
|      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      |
| День | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0    | 3,59                        | 0,06 | 3,51                        | 0,04 | 3,56                        | 0,01 | 3,47                        | 0,07 |
| 3    | 3,59                        | 0,03 | 2,5                         | 0,06 | 2,98                        | 0,02 | 3,4                         | 0,07 |
| 7    | 3,69                        | 0,02 | 2,05                        | 0,08 | 2,63                        | 0,03 | 3,2                         | 0,07 |
| 10   | 3,67                        | 0,04 | 1,84                        | 0,11 | 2,46                        | 0,04 | 3,19                        | 0,06 |
| 14   | 3,81                        | 0,03 | 1,72                        | 0,07 | 2,45                        | 0,02 | 3,27                        | 0,07 |
| 17   | 3,74                        | 0,03 | 1,68                        | 0,14 | 2,5                         | 0,02 | 3,27                        | 0,07 |
| 21   | 3,72                        | 0,03 | 1,58                        | 0,18 | 2,64                        | 0,04 | 3,35                        | 0,08 |
| 24   | 3,73                        | 0,06 | 1,77                        | 0,19 | 2,8                         | 0,04 | 3,55                        | 0,05 |

| F    | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 824               |      |                             |      |                             |      |
|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|      |                             |      | 7,4 мг/кг ПК                |      | 1,5 мг/кг ПК                |      | 0,3 мг/кг ПК                |      |
|      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      |
| День | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0    | 3,59                        | 0,06 | 3,5                         | 0,03 | 3,51                        | 0,02 | 3,49                        | 0,03 |
| 3    | 3,59                        | 0,03 | 2,09                        | 0,08 | 2,47                        | 0,13 | 3,28                        | 0,03 |
| 7    | 3,69                        | 0,02 | 1,81                        | 0,05 | 1,95                        | 0,05 | 2,88                        | 0,04 |
| 10   | 3,67                        | 0,04 | 1,88                        | 0,07 | 1,88                        | 0,03 | 2,65                        | 0,06 |
| 14   | 3,81                        | 0,03 | 1,71                        | 0,06 | 1,72                        | 0,1  | 2,48                        | 0,05 |
| 17   | 3,74                        | 0,03 | 1,68                        | 0,06 | 1,68                        | 0,05 | 2,56                        | 0,05 |
| 21   | 3,72                        | 0,03 |                             |      | 1,8                         | 0,04 | 2,63                        | 0,08 |
| 24   | 3,73                        | 0,06 |                             |      | 2,02                        | 0,06 | 2,81                        | 0,05 |

| G    | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 826               |      |                             |      |                             |      |
|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|      |                             |      | 7,1 мг/кг                   |      | 1,42 мг/кг                  |      | 0,29 мг/кг                  |      |
|      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      |
| День | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0    | 3,59                        | 0,06 | 3,44                        | 0,09 | 3,45                        | 0,06 | 3,5                         | 0,02 |
| 3    | 3,59                        | 0,03 | 2,58                        | 0,08 | 3,17                        | 0,07 | 3,52                        | 0,02 |
| 7    | 3,69                        | 0,02 | 1,81                        | 0,08 | 2,8                         | 0,1  | 3,4                         | 0,03 |
| 10   | 3,67                        | 0,04 | 1,45                        | 0,06 | 2,67                        | 0,09 | 3,37                        | 0,05 |
| 14   | 3,81                        | 0,03 | 1,27                        | 0,05 | 2,54                        | 0,12 | 3,39                        | 0,07 |
| 17   | 3,74                        | 0,03 | 1,51                        | 0,05 | 2,76                        | 0,08 | 3,45                        | 0,04 |
| 21   | 3,72                        | 0,03 | 1,83                        | 0,11 | 2,9                         | 0,08 | 3,54                        | 0,03 |
| 24   | 3,73                        | 0,06 | 2,23                        | 0,18 | 3,18                        | 0,1  | 3,66                        | 0,03 |

Вышеуказанные данные также представлена на фиг. 12.

Таблица 12А-G. Сывороточный уровень  $\log_{10}$  (ДНК HBV (число копий) при дозировании в указанных концентрациях дважды в неделю.

| A     | Солевой раствор                      |      | SEQ ID NO 807                        |      |                             |      |                             |      |
|-------|--------------------------------------|------|--------------------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|       |                                      |      | 7,1 мг/кг                            |      | 1,4 мг/кг                   |      | 0,28 мг/кг                  |      |
|       | ДНК                                  |      | ДНК                                  |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      |
| Де нь | Сыворо<br>о<br>точный<br>уровен<br>ь | С.о. | Сыворо<br>о<br>точный<br>уровен<br>ь | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0     | 6,64                                 | 0,31 | 6,77                                 | 0,57 | 6,46                        | 0,22 | 6,80                        | 0,38 |
| 3     | 6,58                                 | 0,42 | 4,86                                 | 0,58 | 4,61                        | 0,49 | 6,10                        | 0,11 |
| 6     | 7,25                                 | 0,49 | 4,43                                 | 0,18 | 4,32                        | LLOQ | 5,87                        | 0,31 |
| 9     | 7,14                                 | 0,23 | 4,32                                 | LLOQ | 4,32                        | 0,01 | 5,19                        | 0,58 |
| 13    | 7,32                                 | 0,33 | 4,30                                 | LLOQ | 4,30                        | LLOQ | 5,23                        | 0,54 |
| 16    | 7,28                                 | 0,27 | 4,30                                 | LLOQ | 4,30                        | LLOQ | 5,60                        | 0,27 |
| 20    | 7,23                                 | 0,31 | 4,30                                 | LLOQ | 4,40                        | 0,17 | 6,05                        | 0,19 |
| 23    | 7,43                                 | 0,28 | 4,30                                 | LLOQ | 4,30                        | LLOQ | 6,41                        | 0,20 |

LLOQ - нижний предел количественного вычисления.

| B     | Солевой раствор                      |      | SEQ ID NO 815                        |      |                             |      |                             |      |
|-------|--------------------------------------|------|--------------------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|       |                                      |      | 7,5 мг/кг                            |      | 1,5 мг/кг                   |      | 0,3 мг/кг                   |      |
|       | ДНК                                  |      | ДНК                                  |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      |
| Де нь | Сыворо<br>о<br>точный<br>уровен<br>ь | С.о. | Сыворо<br>о<br>точный<br>уровен<br>ь | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0     | 6,64                                 | 0,31 | 6,64                                 | 0,32 | 6,48                        | 0,31 | 6,54                        | 0,42 |
| 3     | 6,58                                 | 0,42 | 4,44                                 | 0,21 | 4,59                        | 0,46 | 4,95                        | 0,67 |
| 7     | 7,25                                 | 0,49 | 4,32                                 | LLOQ | 4,32                        | LLOQ | 4,56                        | 0,41 |
| 10    | 7,14                                 | 0,23 | 4,31                                 | 0,01 | 4,32                        | LLOQ | 4,38                        | 0,11 |
| 14    | 7,32                                 | 0,33 | 4,30                                 | LLOQ | 4,30                        | LLOQ | 4,30                        | LLOQ |
| 17    | 7,28                                 | 0,27 | 4,30                                 | LLOQ | 4,30                        | LLOQ | 4,64                        | 0,58 |
| 21    | 7,23                                 | 0,31 | 4,30                                 | LLOQ | 4,30                        | LLOQ | 5,12                        | 0,87 |
| 24    | 7,43                                 | 0,28 | 4,30                                 | LLOQ | 4,30                        | LLOQ | 5,37                        | 1,08 |

LLOQ - нижний предел количественного вычисления.

| C        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 814               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 6,15 мг/кг                  |      | 1,26 мг/кг                  |      | 0,252 мг/кг                 |      |
|          | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      |
| Ден<br>ь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 7,47                        | 0,23 | 7,55                        | 0,18 | 7,48                        | 0,22 | 7,64                        | 0,17 |
| 3        | 7,55                        | 0,21 | 6,2                         | 0,18 | 6,44                        | 0,26 | 7,37                        | 0,14 |
| 7        | 7,74                        | 0,19 | 5,31                        | 0,25 | 5,53                        | 0,36 | 7,31                        | 0,08 |
| 10       | 7,76                        | 0,21 | 4,46                        | 0,19 | 4,65                        | 0,49 | 7,22                        | 0,1  |
| 14       | 7,82                        | 0,27 | 4,32                        | 0    | 4,32                        | 0    | 7,27                        | 0,09 |
| 17       | 7,6                         | 0,42 | 4,32                        | 0,01 | 4,38                        | 0,09 | 7,41                        | 0,14 |
| 21       | 7,42                        | 0,16 | 4,32                        | 0    | 4,62                        | 0,56 | 7,42                        | 0,09 |
| 24       | 7,58                        | 0,57 | 4,32                        | 0    | 5,48                        | 0,7  | 7,66                        | 0,16 |

| D        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 825               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 7,5 мг/кг                   |      | 1,5 мг/кг                   |      | 0,3 мг/кг                   |      |
|          | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      |
| ден<br>ь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 7,47                        | 0,23 | 7,36                        | 0,28 | 7,41                        | 0,32 | 7,5                         | 0,44 |
| 3        | 7,55                        | 0,21 | 5,89                        | 0,31 | 5,84                        | 0,67 | 6,95                        | 0,43 |
| 7        | 7,74                        | 0,19 | 4,75                        | 0,57 | 4,92                        | 0,55 | 6,73                        | 0,43 |
| 10       | 7,76                        | 0,21 | 4,35                        | 0,13 | 4,28                        | 0    | 6,49                        | 0,44 |
| 14       | 7,82                        | 0,27 | 4,32                        | 0    | 4,32                        | 0    | 6,52                        | 0,48 |
| 17       | 7,6                         | 0,42 | 4,32                        | 0,01 | 4,31                        | 0,01 | 6,68                        | 0,26 |
| 21       | 7,42                        | 0,16 | 4,32                        | 0    | 4,32                        | 0    | 6,82                        | 0,57 |
| 24       | 7,58                        | 0,57 | 4,32                        | 0,01 | 4,63                        | 0,31 | 7,19                        | 0,32 |

| E        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 808               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 7,1 мг/кг ПК                |      | 1,42 мг/кг ПК               |      | 0,29 мг/кг ПК               |      |
|          | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      |
| Ден<br>ь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 7,77                        | 0,17 | 7,97                        | 0,26 | 7,93                        | 0,11 | 7,93                        | 0,24 |
| 3        | 7,8                         | 0,05 | 6,29                        | 0,4  | 6,69                        | 0,21 | 7,31                        | 0,35 |
| 7        | 7,75                        | 0,15 | 5,02                        | 0,59 | 5,67                        | 0,43 | 7,24                        | 0,35 |
| 10       | 7,79                        | 0,09 | 4,5                         | 0,36 | 4,95                        | 0,75 | 6,98                        | 0,3  |
| 14       | 8,01                        | 0,09 | 4,29                        | 0    | 4,56                        | 0,46 | 6,83                        | 0,55 |
| 17       | 7,89                        | 0,13 | 4,29                        | 0    | 4,29                        | 0    | 6,97                        | 0,46 |
| 21       | 7,94                        | 0,06 | 4,29                        | 0    | 4,72                        | 0,47 | 7,13                        | 0,41 |
| 24       | 7,83                        | 0,08 | 4,29                        | 0    | 4,97                        | 0,45 | 7,37                        | 0,36 |

| F        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 824               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 7,4 мг/кг ПК                |      | 1,5 мг/кг ПК                |      | 0,3 мг/кг ПК                |      |
|          | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      |
| Ден<br>ь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 7,77                        | 0,17 | 8                           | 0,24 | 7,98                        | 0,23 | 7,87                        | 0,17 |
| 3        | 7,8                         | 0,05 | 6,64                        | 0,22 | 6,44                        | 0,47 | 7,05                        | 0,24 |
| 7        | 7,75                        | 0,15 | 5,58                        | 0,32 | 5,34                        | 0,75 | 6,25                        | 0,26 |
| 10       | 7,79                        | 0,09 | 4,59                        | 0,36 | 4,87                        | 0,4  | 5,64                        | 0,3  |
| 14       | 8,01                        | 0,09 | 4,29                        | 0    | 4,59                        | 0,2  | 4,81                        | 0,35 |
| 17       | 7,89                        | 0,13 | 4,29                        | 0    | 4,29                        | 0    | 4,61                        | 0,37 |
| 21       | 7,94                        | 0,06 |                             |      | 4,29                        | 0    | 4,94                        | 0,43 |
| 24       | 7,83                        | 0,08 |                             |      | 4,29                        | 0    | 5,24                        | 0,56 |

| G        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 826               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 7,1 мг/кг                   |      | 1,42 мг/кг                  |      | 0,29 мг/кг                  |      |
|          | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      |
| ден<br>ь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 7,77                        | 0,17 | 7,86                        | 0,29 | 7,86                        | 0,18 | 7,87                        | 0,22 |
| 3        | 7,8                         | 0,05 | 6,45                        | 0,24 | 7,05                        | 0,34 | 7,72                        | 0,18 |
| 7        | 7,75                        | 0,15 | 5,32                        | 0,47 | 6,42                        | 0,31 | 7,57                        | 0,16 |
| 10       | 7,79                        | 0,09 | 4,76                        | 0,47 | 6,01                        | 0,48 | 7,53                        | 0,12 |
| 14       | 8,01                        | 0,09 | 4,29                        | 0    | 5,39                        | 0,7  | 7,53                        | 0,14 |
| 17       | 7,89                        | 0,13 | 4,29                        | 0    | 5,47                        | 0,83 | 7,57                        | 0,16 |
| 21       | 7,94                        | 0,06 | 4,29                        | 0    | 6,24                        | 0,5  | 7,66                        | 0,16 |
| 24       | 7,83                        | 0,08 | 4,29                        | 0    | 6,43                        | 0,55 | 7,74                        | 0,16 |

Вышеуказанные данные также представлены на фиг. 13.

Исходя из этих данных, можно сделать вывод о том, что все GalNAc конъюгированные анти-HBV антисмысловые олигомеры способны снижать сывороточные уровни HBsAG, HBeAG и геномной ДНК HBV до уровня меньшего, чем таковой для солевого раствора. В частности, SEQ ID NO: 807, 814, 815 и 825 показывают очень эффективное снижение HBsAG даже при промежуточных дозах. При наивысшей дозе снижение антигена поддерживается по меньшей мере 11 дней после окончания лечения для SEQ ID NO: 807 и 815. SEQ ID NO: 814, 815 и 825 демонстрируют наиболее эффективное снижение вирусной сывороточной ДНК, демонстрируя в частности сильное влияние на вирусные полимеразо-экспрессирующие транскрипты.

Пример 6.

Сравнение антивирусной эффективности различных путей введения.

В данном исследовании применяли AAV/HBV мышиную модель, как описано в примере 3. GalNAc конъюгированный анти-HBV LNA олигомер тестировали в различных дозах, применяя или подкожный (ПК) или внутривенный (ВВ) путь введения с солевым раствором в качестве контроля на мышах C57BL/6 со стабильной вирусемией.

Мышам вводили дозу подкожно или внутривенно дважды в неделю в течение двух недель на день 0, 3, 6 и 9 в дозе в мг/кг на инъекцию, указанную в таблицах ниже. Поверхностный антиген HBV (HBsAg), HBV e антиген (HBeAg) и геномную ДНК HBV в сыворотке измеряли в указанные дни при помощи способов, описанных в разделе "Материалы и методы". Мышей наблюдали в течение 23 дней после первого дозирования.

Результаты приведены в таблицах ниже.



Таблица 13А. Сывороточный уровень HBsAg ( $\log_{10}$  (МЕ/мл)) при подкожном введении дозы в указанных концентрациях дважды в неделю.

| A    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 807        |      |                      |      |                      |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 0,2 мг/кг            |      | 1,0 мг/кг            |      | 5,0 мг/кг            |      |
|      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 4,64                 | 0,11 | 4,55                 | 0,08 | 4,46                 | 0,13 | 4,69                 | 0,07 |
| 3    | 4,61                 | 0,11 | 4,44                 | 0,06 | 3,80                 | 0,22 | 3,64                 | 0,10 |
| 6    | 4,58                 | 0,07 | 4,29                 | 0,08 | 3,33                 | 0,19 | 2,54                 | 0,12 |
| 9    | 4,57                 | 0,10 | 4,11                 | 0,05 | 2,98                 | 0,20 | 1,83                 | 0,14 |
| 13   | 4,67                 | 0,08 | 3,93                 | 0,18 | 2,85                 | 0,23 | 2,00                 | 0,08 |
| 16   | 4,61                 | 0,08 | 3,98                 | 0,15 | 2,93                 | 0,19 | 2,05                 | 0,09 |
| 20   | 4,52                 | 0,08 | 4,08                 | 0,11 | 3,11                 | 0,31 | 1,98                 | 0,11 |
| 23   | 4,25                 | 0,52 | 3,97                 | 0,26 | 3,30                 | 0,33 | 2,05                 | 0,16 |

Таблица 13В. Сывороточный уровень HBsAg ( $\log_{10}$  (МЕ/мл)) при введении дозы в указанной концентрации внутривенно дважды в неделю.

| B    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 807        |      |                      |      |                      |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 0,2 мг/кг            |      | 1,0 мг/кг            |      | 5,0 мг/кг            |      |
|      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 4,64                 | 0,11 | 4,61                 | 0,09 | 4,60                 | 0,11 | 4,63                 | 0,12 |
| 3    | 4,61                 | 0,11 | 4,39                 | 0,06 | 4,19                 | 0,12 | 3,93                 | 0,11 |
| 6    | 4,58                 | 0,07 | 4,13                 | 0,05 | 3,69                 | 0,13 | 3,17                 | 0,13 |
| 9    | 4,57                 | 0,10 | 3,91                 | 0,12 | 3,36                 | 0,15 | 2,73                 | 0,20 |
| 13   | 4,67                 | 0,08 | 3,72                 | 0,21 | 3,16                 | 0,02 | 2,36                 | 0,14 |
| 16   | 4,61                 | 0,08 | 3,70                 | 0,30 | 3,14                 | 0,14 | 2,47                 | 0,16 |
| 20   | 4,52                 | 0,08 | 3,86                 | 0,28 | 3,31                 | 0,14 | 2,57                 | 0,12 |
| 23   | 4,25                 | 0,52 | 3,99                 | 0,34 | 3,59                 | 0,13 | 2,86                 | 0,11 |

Таблица 14А. Сывороточный уровень HBeAg ( $\log_{10}$  (МЕ/мл)) при подкожном введении дозы в указанной концентрации дважды в неделю.

| A    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 807        |      |                      |      |                      |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 0,2 мг/кг            |      | 1,0 мг/кг            |      | 5,0 мг/кг            |      |
|      | HBeAg                |      | HBeAg                |      | HBeAg                |      | HBeAg                |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 3,57                 | 0,06 | 3,57                 | 0,04 | 3,57                 | 0,04 | 6,85                 | 0,60 |
| 3    | 3,63                 | 0,04 | 3,43                 | 0,03 | 2,87                 | 0,07 | 5,74                 | 0,82 |
| 6    | 3,61                 | 0,04 | 3,28                 | 0,03 | 2,42                 | 0,09 | 5,27                 | 0,60 |
| 9    | 3,63                 | 0,05 | 3,15                 | 0,03 | 2,14                 | 0,09 | 4,57                 | 0,40 |
| 13   | 3,49                 | 0,07 | 2,84                 | 0,09 | 2,01                 | 0,05 | 4,30                 | LLOQ |
| 16   | 3,53                 | 0,06 | 3,06                 | 0,04 | 2,09                 | 0,06 | 4,30                 | LLOQ |
| 20   | 3,56                 | 0,05 | 3,21                 | 0,03 | 2,24                 | 0,08 | 4,30                 | LLOQ |
| 23   | 3,64                 | 0,06 | 3,29                 | 0,03 | 2,46                 | 0,09 | 4,85                 | 0,54 |

LLOQ - нижний предел количественного вычисления.

Таблица 14В. Сывороточный уровень HBeAg ( $\log_{10}$  (МЕ/мл)) при внутривенном введении дозы в указанной концентрации дважды в неделю.

| В        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 807               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 0,2 мг/кг                   |      | 1,0 мг/кг                   |      | 5,0 мг/кг                   |      |
|          | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      | HBeAg                       |      |
| Ден<br>ь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 3,57                        | 0,06 | 3,65                        | 0,06 | 3,62                        | 0,04 | 3,61                        | 0,08 |
| 3        | 3,63                        | 0,04 | 2,13                        | 0,06 | 3,37                        | 0,05 | 2,96                        | 0,03 |
| 6        | 3,61                        | 0,04 | 1,59                        | 0,05 | 3,05                        | 0,04 | 2,52                        | 0,07 |
| 9        | 3,63                        | 0,05 | 1,39                        | 0,07 | 2,88                        | 0,06 | 2,35                        | 0,03 |
| 13       | 3,49                        | 0,07 | 1,55                        | 0,03 | 2,63                        | 0,04 | 2,10                        | 0,04 |
| 16       | 3,53                        | 0,06 | 1,59                        | 0,04 | 2,73                        | 0,06 | 2,18                        | 0,08 |
| 20       | 3,56                        | 0,05 | 1,60                        | 0,03 | 3,01                        | 0,06 | 2,37                        | 0,11 |
| 23       | 3,64                        | 0,06 | 1,64                        | 0,08 | 3,22                        | 0,05 | 2,60                        | 0,07 |

Таблица 15А. Сывороточный уровень ДНК HBV ( $\log_{10}$  (число копий)) при подкожном введении доз в указанных концентрациях дважды в неделю.

| А        | Солевой раствор             |      | SEQ ID NO 807               |      |                             |      |                             |      |
|----------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|-----------------------------|------|
|          |                             |      | 0,2 мг/кг                   |      | 1,0 мг/кг                   |      | 5,0 мг/кг                   |      |
|          | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      | ДНК                         |      |
| Де<br>нь | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. | Сыворо<br>точный<br>уровень | С.о. |
| 0        | 6,50                        | 0,21 | 6,56                        | 0,19 | 6,85                        | 0,60 | 6,48                        | 0,14 |
| 3        | 6,65                        | 0,31 | 6,30                        | 0,33 | 5,74                        | 0,82 | 4,34                        | LLOQ |
| 6        | 6,83                        | 0,31 | 6,20                        | 0,33 | 5,27                        | 0,60 | 4,34                        | LLOQ |
| 9        | 6,94                        | 0,37 | 5,90                        | 0,32 | 4,57                        | 0,40 | 4,73                        | 0,67 |
| 13       | 7,13                        | 0,21 | 5,82                        | 0,88 | 4,30                        | LLOQ | 4,56                        | 0,46 |
| 16       | 7,12                        | 0,31 | 6,23                        | 0,38 | 4,30                        | LLOQ | 4,30                        | LLOQ |
| 20       | 7,06                        | 0,17 | 6,27                        | 0,35 | 4,30                        | LLOQ | 4,30                        | LLOQ |
| 23       | 6,94                        | 0,32 | 6,42                        | 0,32 | 4,85                        | 0,54 | 4,30                        | LLOQ |

LLOQ - нижний предел количественного вычисления.

Таблица 15В. Сывороточный уровень ДНК HBV ( $\log_{10}$  (число копий)) при внутривенном введении доз в указанных концентрациях дважды в неделю.

| A    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 807        |      |                      |      |                      |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 0,2 мг/кг            |      | 1,0 мг/кг            |      | 5,0 мг/кг            |      |
|      | ДНК                  |      | ДНК                  |      | ДНК                  |      | ДНК                  |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 6,50                 | 0,21 | 6,71                 | 0,59 | 6,62                 | 0,23 | 6,71                 | 0,45 |
| 3    | 6,65                 | 0,31 | 6,20                 | 0,59 | 5,50                 | 0,43 | 5,24                 | 0,69 |
| 6    | 6,83                 | 0,31 | 5,50                 | 0,90 | 4,62                 | 0,48 | 4,34                 | LLOQ |
| 9    | 6,94                 | 0,37 | 5,18                 | 0,85 | 4,34                 | LLOQ | 4,34                 | LLOQ |
| 13   | 7,13                 | 0,21 | 5,05                 | 0,76 | 4,30                 | LLOQ | 4,30                 | LLOQ |
| 16   | 7,12                 | 0,31 | 5,13                 | 0,84 | 4,30                 | LLOQ | 4,30                 | LLOQ |
| 20   | 7,06                 | 0,17 | 5,50                 | 0,80 | 4,30                 | LLOQ | 4,30                 | LLOQ |
|      |                      |      | 0,2 мг/кг            |      | 1,0 мг/кг            |      | 5,0 мг/кг            |      |
| 23   | 6,94                 | 0,32 | 5,99                 | 0,41 | 4,30                 | LLOQ | 4,30                 | LLOQ |

LLOQ - нижний предел количественного вычисления.

Данные также представлены на фиг. 14.

Исходя из этих данных, можно сделать вывод, что введение GalNAc конъюгированных анти-HBV антисмысловых олигомеров более эффективно снижает сывороточные уровни HBsAg, HBeAg и геномной ДНК HBV до уровня, меньшего, чем таковой для солевого раствора, в случае подкожного введения дозы, по сравнению с внутривенным введением.

Пример 7.

Сравнение конъюгированных и неконъюгированных олигонуклеотидов.

В данном исследовании применяли мышиную модель AAV/HBV, как описано в примере 3. Неконъюгированные и (SEQ ID NO: 308 и 303) и GalNAc конъюгированные (SEQ ID NO: 807 и 815) анти-HBV LNA олигомеры тестировали при эквимоллярных дозах олигомера с солевым раствором в качестве контроля на мышах C57BL/6 со стабильной вирусемией.

Мышам подкожно вводили дозу дважды в неделю в течение двух недель на день 0, 3, 6 и 9 в дозе в мг/кг на инъекцию, указанной в таблицах ниже. HBV поверхностный антиген (HBsAg), HBV е антиген (HBeAg) и геномную ДНК HBV в сыворотке измеряли в указанные дни при помощи способов описанных в разделе "Материалы и методы". Мышей наблюдали в течение 23 дней.

Результаты приведены в таблицах ниже.

Таблица 16А, В. Сывороточный уровень HBsAg ( $\log_{10}$  (МЕ/мл)) при введении эквимоллярных концентрация дважды в неделю.

| A    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 308        |      | SEQ ID NO 807        |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      |                      |      | 5 мг/кг              |      | 7,1 мг/кг            |      |
|      | HBsAg                |      | HBsAg                |      | HBsAg                |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 4,63                 | 0,12 | 4,70                 | 0,05 | 4,74                 | 0,06 |
| 3    | 4,67                 | 0,09 | 4,44                 | 0,14 | 3,79                 | 0,19 |
| 6    | 4,63                 | 0,11 | 3,91                 | 0,44 | 2,68                 | 0,15 |
| 9    | 4,62                 | 0,10 | 3,50                 | 0,44 | 2,09                 | 0,09 |
| 13   | 4,64                 | 0,06 | 3,27                 | 0,43 | 1,84                 | 0,09 |
| 16   | 4,56                 | 0,05 | 3,20                 | 0,53 | 1,72                 | 0,05 |
| 20   | 4,69                 | 0,03 | 3,61                 | 0,54 | 1,97                 | 0,29 |
| 23   | 4,67                 | 0,10 | 3,96                 | 0,34 | 1,78                 | 0,11 |

| В        | Солевой раствор          |      | SEQ ID NO 303            |      | SEQ ID NO 815            |      |
|----------|--------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|------|
|          |                          |      | 1 мг/кг                  |      | 1,5 мг/кг                |      |
|          | HBsAg                    |      | HBsAg                    |      | HBsAg                    |      |
| Ден<br>ь | Сывороточн<br>ый уровень | С.о. | Сывороточны<br>й уровень | С.о. | Сывороточн<br>ый уровень | С.о. |
| 0        | 4,63                     | 0,28 | 4,49                     | 0,54 | 4,62                     | 0,25 |
| 3        | 4,70                     | 0,17 | 4,58                     | 0,38 | 3,31                     | 0,09 |
| 6        | 4,84                     | 0,12 | 4,78                     | 0,17 | 3,21                     | 0,14 |
| 9        | 4,81                     | 0,13 | 4,81                     | 0,13 | 2,64                     | 0,22 |
| 13       | 4,86                     | 0,12 | 4,91                     | 0,06 | 2,63                     | 0,58 |
| 16       | 4,83                     | 0,13 | 4,85                     | 0,10 | 2,04                     | 0,57 |
| 20       | 4,73                     | 0,18 | 4,68                     | 0,14 | 2,26                     | 0,58 |
| 23       | 4,66                     | 0,20 | 4,48                     | 0,40 | 2,74                     | 0,64 |

Таблица 17А, В. Сывороточный уровень HBeAg ( $\log_{10}$  (МЕ/мл)) при введении доз в эквимоллярных концентрациях дважды в неделю.

| А        | Солевой раствор          |      | SEQ ID NO 308            |      | SEQ ID NO 807            |      |
|----------|--------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|------|
|          |                          |      | 5 мг/кг                  |      | 7,1 мг/кг                |      |
|          | HBeAg                    |      | HBeAg                    |      | HBeAg                    |      |
| Ден<br>ь | Сывороточн<br>ый уровень | С.о. | Сывороточны<br>й уровень | С.о. | Сывороточн<br>ый уровень | С.о. |
| 0        | 3,83                     | 0,04 | 3,79                     | 0,05 | 3,82                     | 0,02 |
| 3        | 3,74                     | 0,02 | 3,39                     | 0,08 | 2,24                     | 0,04 |
| 6        | 3,69                     | 0,02 | 3,07                     | 0,02 | 1,67                     | 0,04 |
| 9        | 3,68                     | 0,03 | 2,82                     | 0,04 | 1,48                     | 0,05 |
| 13       | 3,66                     | 0,03 | 2,66                     | 0,03 | 1,53                     | 0,02 |
| 16       | 3,69                     | 0,03 | 2,75                     | 0,03 | 1,21                     | 0,07 |
| 20       | 3,66                     | 0,04 | 3,01                     | 0,02 | 1,48                     | 0,07 |
| 23       | 3,63                     | 0,04 | 3,10                     | 0,05 | 1,34                     | 0,09 |

| В        | Солевой раствор          |      | SEQ ID NO 303            |      | SEQ ID NO 815            |      |
|----------|--------------------------|------|--------------------------|------|--------------------------|------|
|          |                          |      | 1 мг/кг                  |      | 1,5 мг/кг                |      |
|          | HBeAg                    |      | HBeAg                    |      | HBeAg                    |      |
| Ден<br>ь | Сывороточн<br>ый уровень | С.о. | Сывороточны<br>й уровень | С.о. | Сывороточн<br>ый уровень | С.о. |
| 0        | 3,82                     | 0,03 | 3,74                     | 0,04 | 3,80                     | 0,06 |
| 3        | 3,82                     | 0,03 | 3,78                     | 0,02 | 2,48                     | 0,10 |
| 6        | 3,85                     | 0,02 | 3,83                     | 0,06 | 2,70                     | 0,05 |
| 9        | 3,81                     | 0,03 | 3,75                     | 0,02 | 2,29                     | 0,07 |
| 13       | 3,84                     | 0,02 | 3,84                     | 0,03 | 2,45                     | 0,08 |
| 16       | 3,84                     | 0,04 | 3,80                     | 0,02 | 2,19                     | 0,02 |
| 20       | 3,78                     | 0,04 | 3,73                     | 0,04 | 2,27                     | 0,06 |
| 23       | 3,79                     | 0,03 | 3,79                     | 0,01 | 2,60                     | 0,04 |

Таблица 18А, В. Сывороточный уровень ДНК HBV ( $\log_{10}$  (число копий)) при введении доз в эквивалентных концентрациях дважды в неделю.

| A    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 308        |      | SEQ ID NO 807        |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      | ДНК                  |      | ДНК                  |      | ДНК                  |      |
|      |                      |      | 5 мг/кг              |      | 7,1 мг/кг            |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 6,64                 | 0,31 | 6,53                 | 0,26 | 6,77                 | 0,57 |
| 3    | 6,58                 | 0,42 | 5,18                 | 0,88 | 4,86                 | 0,58 |
| 6    | 7,25                 | 0,49 | 5,05                 | 0,73 | 4,43                 | 0,18 |
| 9    | 7,14                 | 0,23 | 4,54                 | 0,37 | 4,32                 | LLOQ |
| 13   | 7,32                 | 0,33 | 4,30                 | LLOQ | 4,30                 | LLOQ |
| 16   | 7,28                 | 0,27 | 4,41                 | 0,19 | 4,30                 | LLOQ |
| 20   | 7,23                 | 0,31 | 4,63                 | 0,57 | 4,30                 | LLOQ |
| 23   | 7,43                 | 0,28 | 5,23                 | 0,93 | 4,30                 | LLOQ |

LLOQ - нижний предел количественного вычисления.

| B    | Солевой раствор      |      | SEQ ID NO 303        |      | SEQ ID NO 815        |      |
|------|----------------------|------|----------------------|------|----------------------|------|
|      | ДНК                  |      | ДНК                  |      | ДНК                  |      |
|      |                      |      | 1 мг/кг              |      | 1,5 мг/кг            |      |
| День | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. | Сывороточный уровень | С.о. |
| 0    | 7,89                 | 0,16 | 7,91                 | 0,42 | 7,91                 | 0,23 |
| 3    | 8,28                 | 0,13 | 8,06                 | 0,41 | 6,54                 | 0,25 |
| 6    | 8,03                 | 0,13 | 7,94                 | 0,20 | 5,38                 | 0,63 |
| 9    | 8,19                 | 0,13 | 8,07                 | 0,14 | 4,30                 | LLOQ |
| 13   | 8,37                 | 0,16 | 8,31                 | 0,13 | 4,30                 | LLOQ |
| 16   | 8,41                 | 0,19 | 8,16                 | 0,18 | 4,30                 | LLOQ |
| 20   | 8,23                 | 0,09 | 7,94                 | 0,19 | 4,30                 | LLOQ |
| 23   | 8,20                 | 0,06 | 7,89                 | 0,28 | 4,30                 | LLOQ |

LLOQ - нижний предел количественного вычисления.

Данные также представлены на фиг. 15.

Исходя из этих данных, можно сделать вывод, что введение GalNAc конъюгированных анти-HBV антисмысловых олигомеров более эффективно снижает сывороточные уровни HBsAG и HBeAG до уровня меньшего, чем таковой для солевого раствора, в случае подкожного введения дозы по сравнению с внутривенным введением. ДНК HBV в сыворотке снижается с эквивалентной эффективностью двумя способами доставки, хотя ограничение исследования препятствует выявлению различий при высоких дозах.

Все ссылки, включая публикации, заявки на патент и патенты, процитированные в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки во всей их полноте и в той же степени, как если бы каждая ссылка была бы отдельно и специально указана для включения посредством ссылки и изложена во всей их полноте в данном документе (с максимальной степенью, разрешенной правом). Все заголовки и подзаголовки применены в данном документе только для удобства и не должны трактоваться как ограничивающие объем изобретения каким-либо образом. Применение любых и всех примеров или референсных выражений (например, "такой как"), предложенных в данном документе, предназначено исключительно для иллюстрации изобретения и не ограничивают объем изобретения, если не указано иное. Отсутствие формулировки в описании должно трактоваться в качестве указания на то, что любой незааявленный элемент, по существу, не является необходимым для практического воплощения изобретения. Цитирование и включение патентных документов в данный документ приведено только для справки и не отражает оценки действительности, патентоспособности и/или правового обеспечения таких патентных документов. Данное изобретение включает все модификации и эквиваленты объекта, определенного в прилагаемой формуле изобретения, как допущено применяемыми правовыми нормами.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Олигомерный конъюгат для модуляции последовательности-мишени вируса гепатита В (HBV), содержащий:

- а) по меньшей мере один олигомер составляющий в длину от 10 до 20 нуклеотидов и на 100% комплементарный последовательности от позиции 1530 до позиции 1598 в SEQ ID NO: 3; и
- б) компонент-носитель, представляющий собой кластер GalNAc, содержащий от двух до четырех терминальных GalNAc групп.

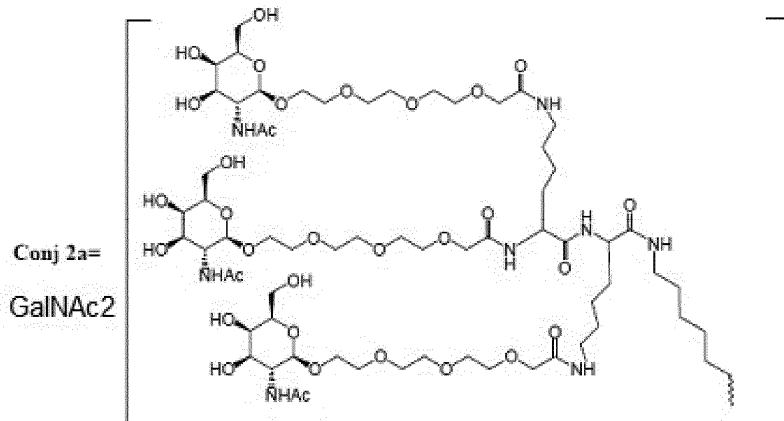
2. Олигомерный конъюгат по п.1, где олигомер на 100% комплементарен последовательности от позиции 1530 до позиции 1544 или от позиции 1551 до позиции 1566 в SEQ ID NO: 3.

3. Олигомерный конъюгат по п.1 или 2, где указанный олигомер содержит 2'-дезоксирибонуклеотидный гзп, фланкированный с каждой стороны крылом, где каждое крыло независимо содержит одно или более звеньев - закрытую нуклеиновую кислоту (LNA, от англ. locked nucleic acid).

4. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-3, где указанный кластер GalNAc содержит ПЭГ (полиэтиленгликоль) спейсер, связывающий каждую GalNAc группу с группой точки разветвления.

5. Олигомерный конъюгат по п.4, где кластер GalNAc представляет собой трехвалентный GalNAc, выбранный из группы, состоящей из Conj 1, 2, 1a или 2a.

6. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-5, где указанный компонент-носитель представляет собой GalNAc<sub>2</sub>, имеющий следующую структуру:



7. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-6, где указанный компонент-носитель связан с олигомером посредством PO-линкера, содержащего 2, 3, 4 или 5 фосфодисложноэфирно-связанных ДНК или РНК нуклеозидов.

8. Олигомерный конъюгат по п.7, где PO-лиinker состоит из динуклеотидной последовательности CA.

9. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-8, где указанный олигомер содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO: 13);  
GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO: 11);  
CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO: 12);  
AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO: 14);  
GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO: 15);  
AGCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO: 18);  
GAAGTGCACACGG (SEQ ID NO: 16);  
GCGAAGTGCACACGG (SEQ ID NO: 17);  
AGCGAAGTGCACACG (SEQ ID NO: 20);  
CGAAGTGCACACG (SEQ ID NO: 19);  
AGGTGAAGCGAAGTG (SEQ ID NO: 26) и  
AGGTGAAGCGAAGT (SEQ ID NO: 27).

10. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-9, где указанный олигомер содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из:

GCGTAAAGAGAGG (SEQ ID NO: 13);  
GCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO: 11);  
CGCGTAAAGAGAGGT (SEQ ID NO: 12);  
AGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO: 14) и  
GAGAAGGCACAGACGG (SEQ ID NO: 15).

11. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-10, где указанный олигомер состоит из последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO: 303);  
 GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO: 301);  
 GCGtaaagagaAGG (SEQ ID NO: 618);  
 CGCgtaaagagaGGT (SEQ ID NO: 302);  
 AGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO: 304);  
 GAGaaggcacagaCGG (SEQ ID NO: 305);  
 GAAgtgcacacGG (SEQ ID NO: 306);  
 GCGaagtgcacaCGG (SEQ ID NO: 307);  
 GAAgtgcacaCGG (SEQ ID NO: 628);  
 AGCgaagtgcacaCGG (SEQ ID NO: 308);  
 CGAagtgcacaCG (SEQ ID NO: 309);  
 AGCgaagtgcacACG (SEQ ID NO: 310);  
 AGGtgaagcgaagTGC (SEQ ID NO: 315);  
 AGGtgaagcgaagGTG (SEQ ID NO: 316);  
 AGGtgaagcgaAGT (SEQ ID NO: 317) и  
 AGgtgaagcgaAGTG (SEQ ID NO: 668),

где прописные буквы обозначают звенья LNA, а строчные буквы обозначают звенья ДНК.

12. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-11, где указанный олигомер состоит из последовательности, выбранной из группы, состоящей из:

GCGtaaagagaGG (SEQ ID NO: 303);  
 GCGtaaagagaGGT (SEQ ID NO: 301);  
 GCGtaaagagaAGG (SEQ ID NO: 618);  
 CGCgtaaagagaGGT (SEQ ID NO: 302);  
 AGAaggcacagaCGG (SEQ ID NO: 304) и  
 GAGaaggcacagaCGG (SEQ ID NO: 305),

где прописные буквы обозначают звенья LNA, а строчные буквы обозначают звенья ДНК.

13. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-12, выбранный из группы, состоящей из любой одной или более из:

5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 815);  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G<sub>s</sub>T-3' (SEQ ID NO: 814);  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>A<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 825);  
 5'-GN2-C6 caA<sub>s</sub>G<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 808);  
 5'-GN2-C6 caA<sub>s</sub>G<sub>s</sub>g<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub><sup>m</sup>c<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>A<sub>s</sub>G<sub>s</sub>T<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 826);  
 5'-GN2-C6 caA<sub>s</sub>G<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 807);  
 5'-GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>g<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G<sub>s</sub>T-3' (SEQ ID NO: 803);  
 5'-GN2-C6 caA<sub>s</sub>G<sub>s</sub>A<sub>s</sub>g<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 804);  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub>A<sub>s</sub>G<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 805);  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 806);  
 5'-GN2-C6 caA<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub><sup>m</sup>c<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>A<sub>s</sub>G<sub>s</sub><sup>m</sup>C-3' (SEQ ID NO: 809);  
 5'-GN2-C6 caA<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub><sup>m</sup>c<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>A<sub>s</sub>G<sub>s</sub>T<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 810);  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub>A<sub>s</sub>A<sub>s</sub>g<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 816);  
 5'-GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>A<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 817);  
 5'-GN2-C6 caA<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub><sup>m</sup>c<sub>s</sub>g<sub>s</sub>A<sub>s</sub>G<sub>s</sub>T-3' (SEQ ID NO: 818);  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub>A<sub>s</sub>A<sub>s</sub>c<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>A<sub>s</sub>A<sub>s</sub>-3' (SEQ ID NO: 819);  
 5'-GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>A<sub>s</sub>A<sub>s</sub>c<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>A<sub>s</sub>A<sub>s</sub>-3' (SEQ ID NO: 820);  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub>A<sub>s</sub>A<sub>s</sub>g<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 821) и  
 5'-GN2-C6 caT<sub>s</sub>A<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>t<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>A<sub>s</sub>-3' (SEQ ID NO: 822),

где прописные буквы обозначают звенья бета-D-окси-LNA;

строчные буквы обозначают звенья ДНК;

нижний индекс "s" обозначает фосфоротиоатную связь;

верхний индекс "m" обозначает звено ДНК или бета-D-окси-LNA, содержащее 5-метилцитозинное основание;

GN2-C6 обозначает GalNAc2 компонент-носитель с C6 линкером.

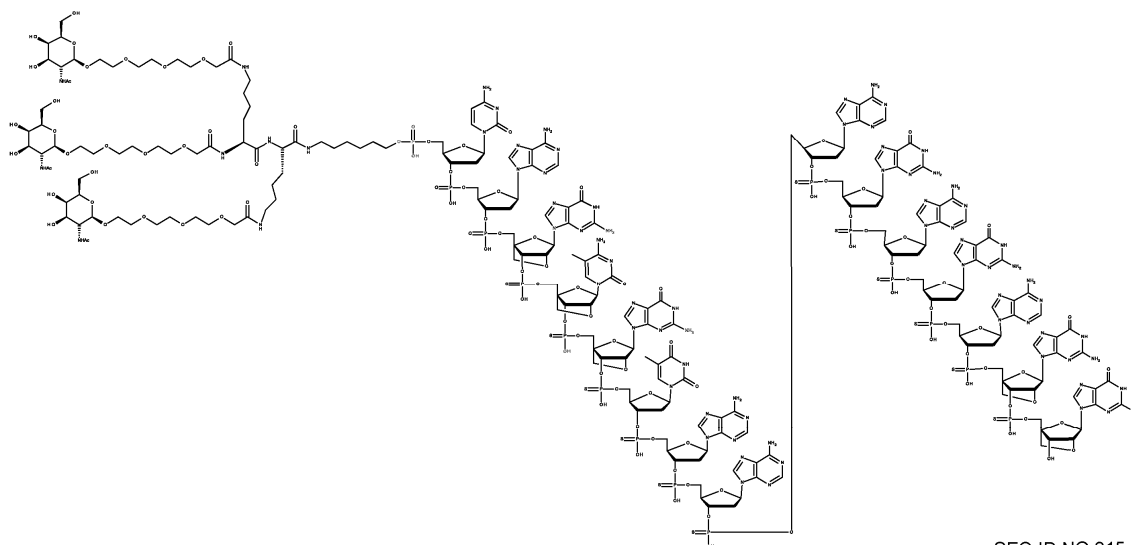
14. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-13, выбранный из группы, состоящей из любой одной или более из:

5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 815);  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G<sub>s</sub>T-3' (SEQ ID NO: 814);  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>A<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 825);  
 5'-GN2-C6 ca<sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>g<sub>s</sub>t<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>a<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G<sub>s</sub>T-3' (SEQ ID NO: 803);  
 5'-GN2-C6 caA<sub>s</sub>G<sub>s</sub>A<sub>s</sub>g<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 804) и  
 5'-GN2-C6 caG<sub>s</sub>A<sub>s</sub>G<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>g<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>c<sub>s</sub>a<sub>s</sub>g<sub>s</sub>A<sub>s</sub><sup>m</sup>C<sub>s</sub>G<sub>s</sub>G-3' (SEQ ID NO: 805),

где прописные буквы обозначают звенья бета-D-окси-LNA; строчные буквы обозначают звенья

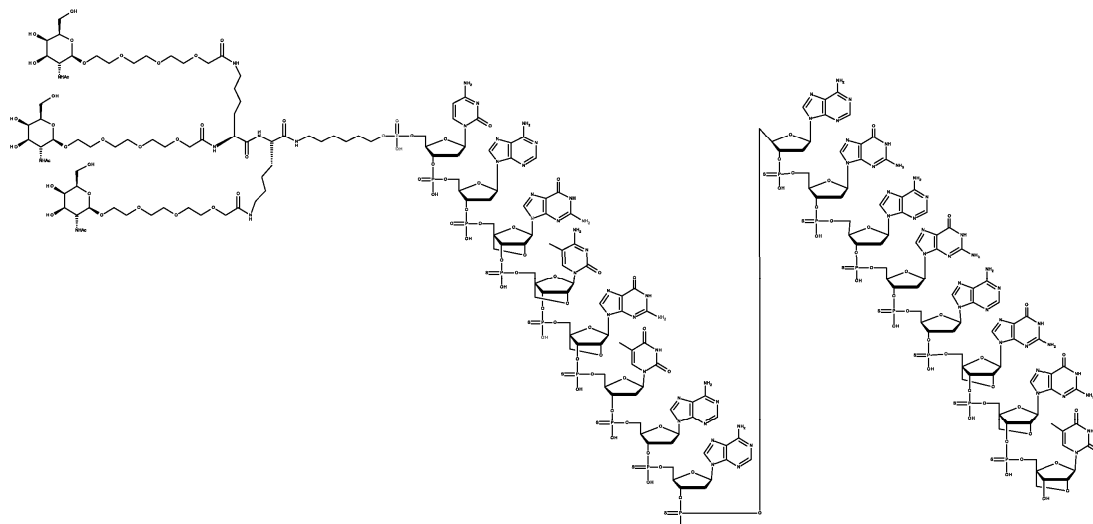
ДНК; нижний индекс "s" обозначает фосфоротиоатную связь; верхний индекс "m" обозначает звено ДНК или бета-D-окси-LNA, содержащее 5-метилцитозинное основание; GN2-C6 обозначает GalNAc2 компонент-носитель с C6 линкером.

15. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-14, имеющий структуру



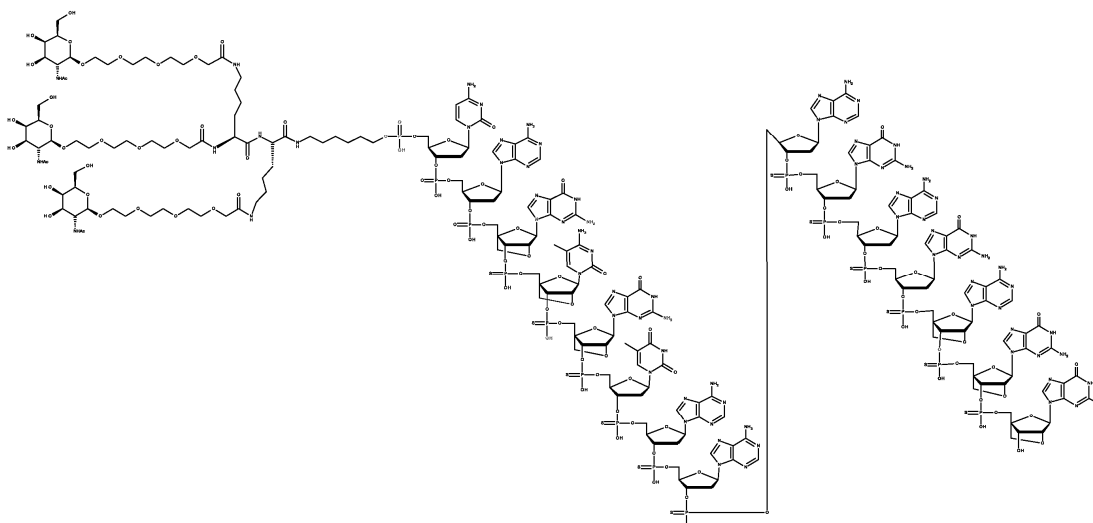
SEQ ID NO 815.

16. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-14, имеющий структуру



SEQ ID NO 814.

17. Олигомерный конъюгат по любому из пп.1-14, имеющий структуру



SEQ ID NO 825.

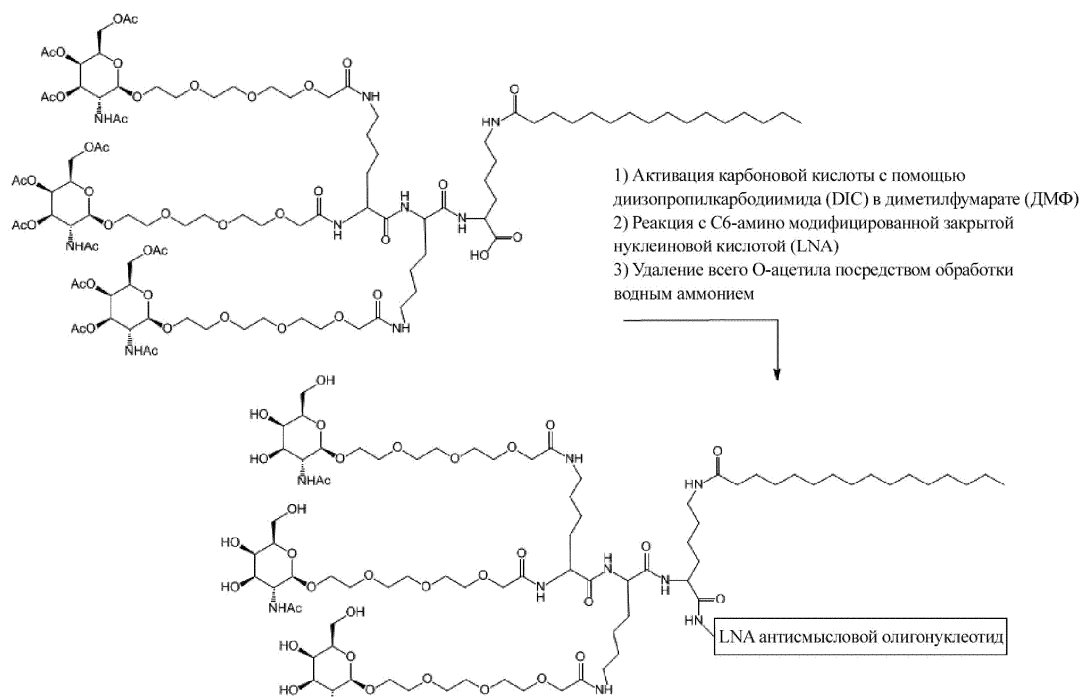


18. Фармацевтическая композиция для модуляции последовательности-мишени вируса гепатита В (HBV), содержащая олигомерный конъюгат по любому из пп.1-17 и один или более фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель, соль или адъювант.

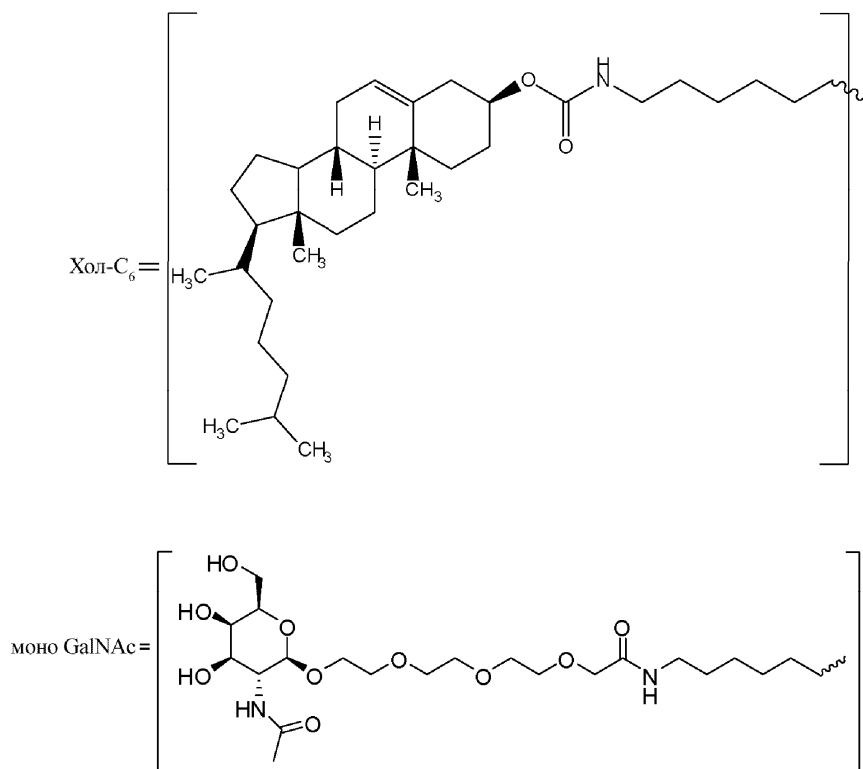
19. Применение олигомерного конъюгата по любому из пп.1-17 в лечении вирусного заболевания печени.

20. Применение фармацевтической композиции по п.18 в лечении вирусного заболевания печени.

21. Применение олигомерного конъюгата по любому из пп.1-17 для производства лекарственного препарата для лечения вирусного заболевания печени.

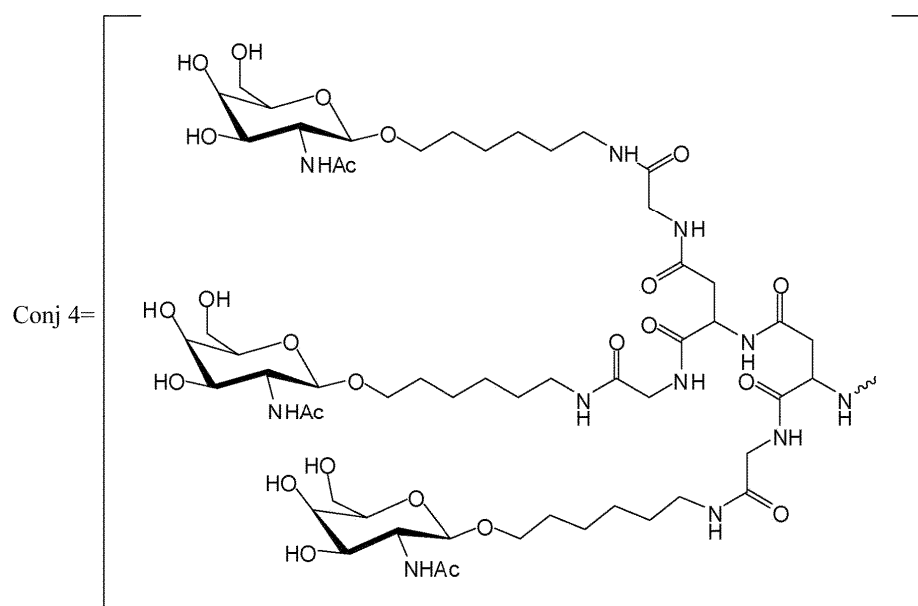


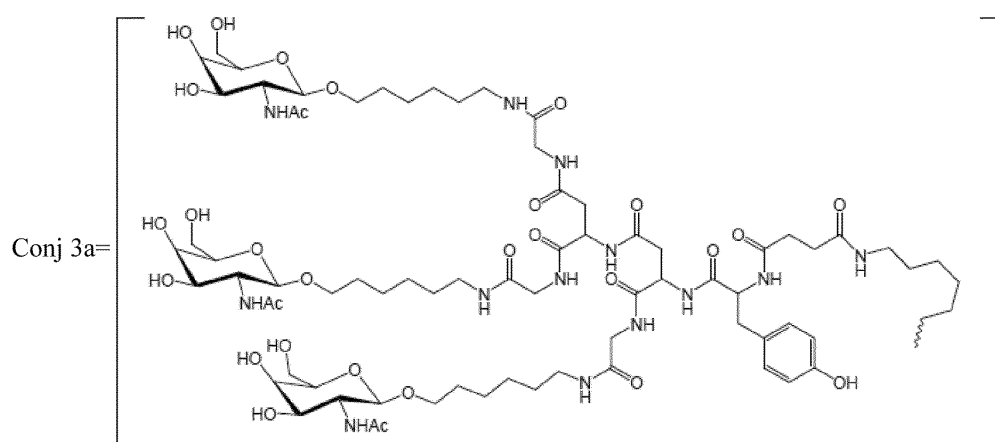
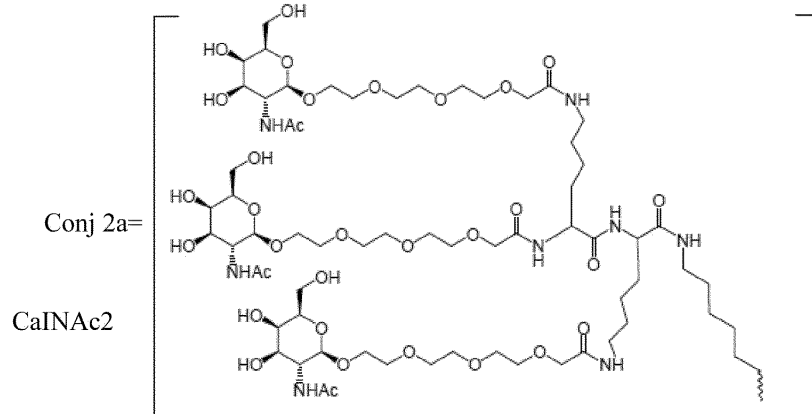
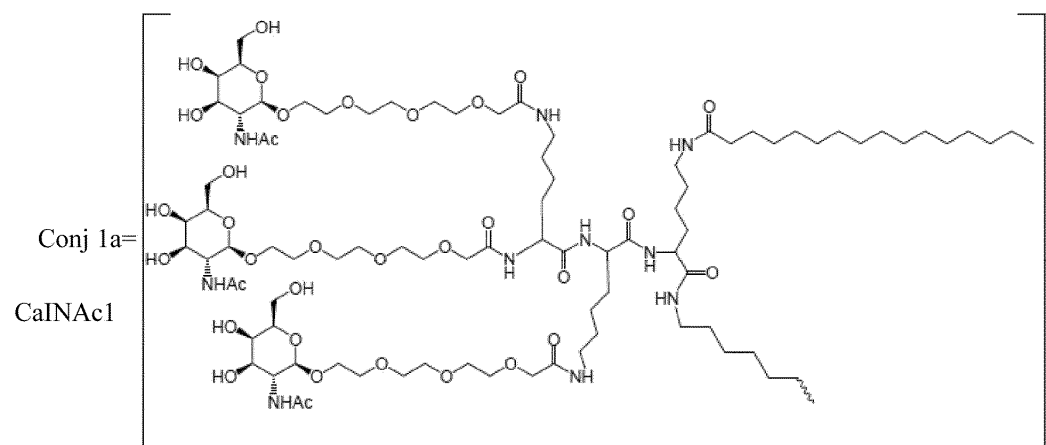
Фиг. 1

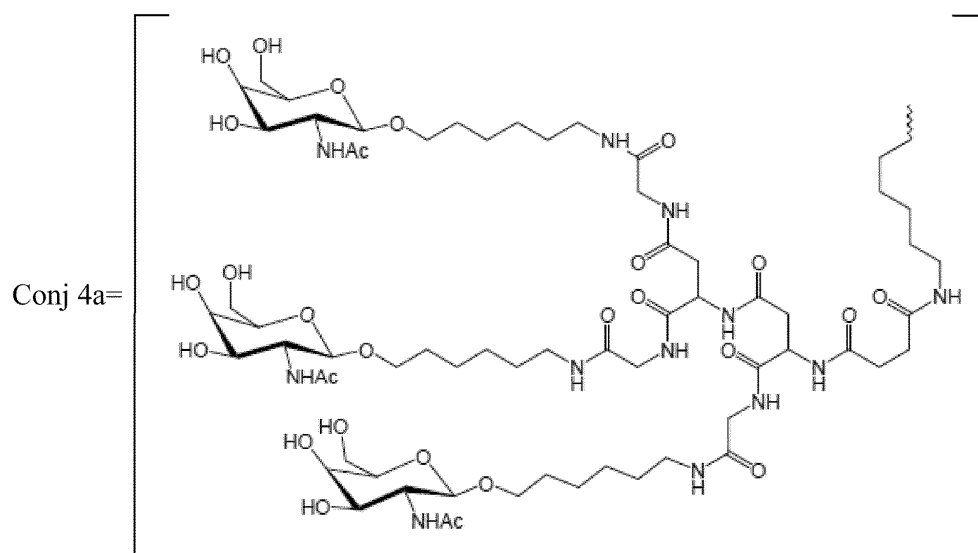


Фиг. 2

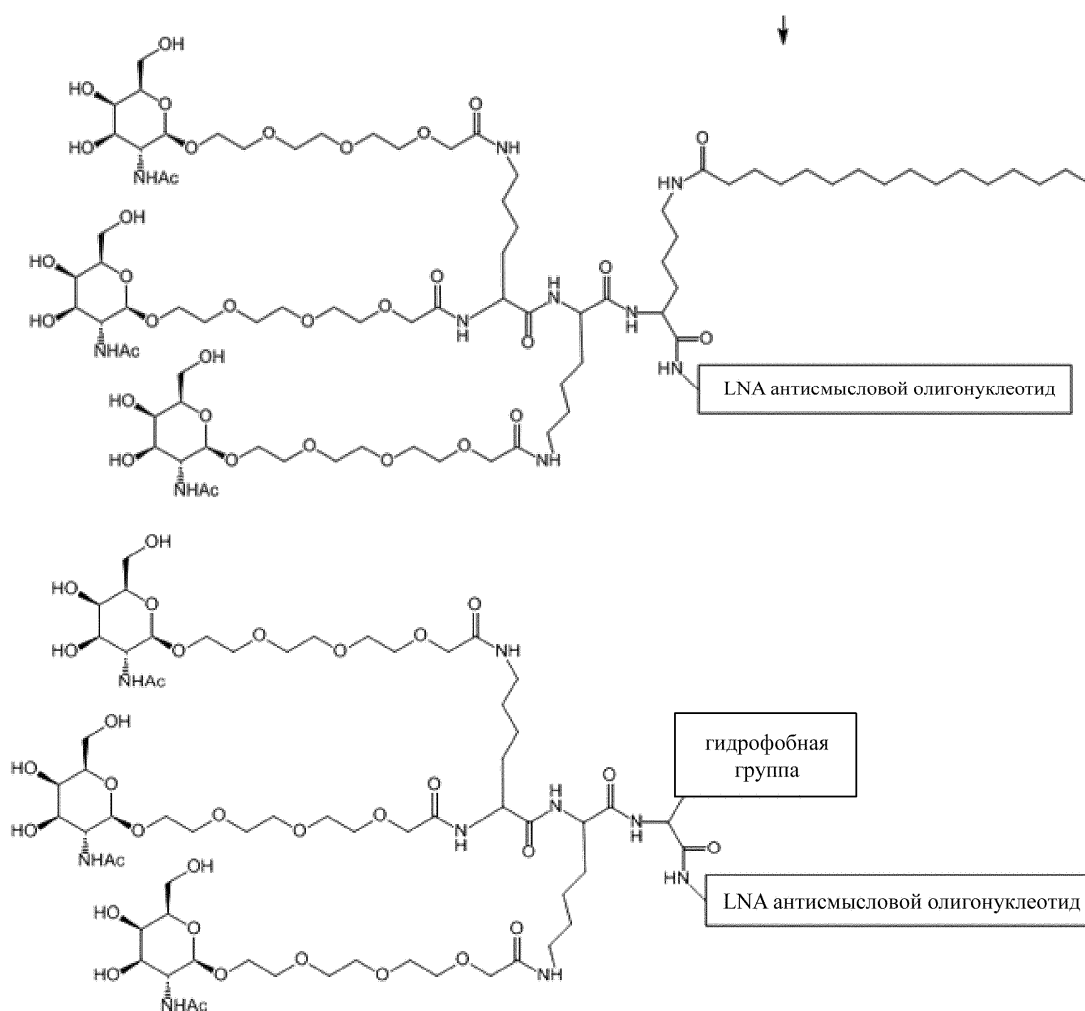


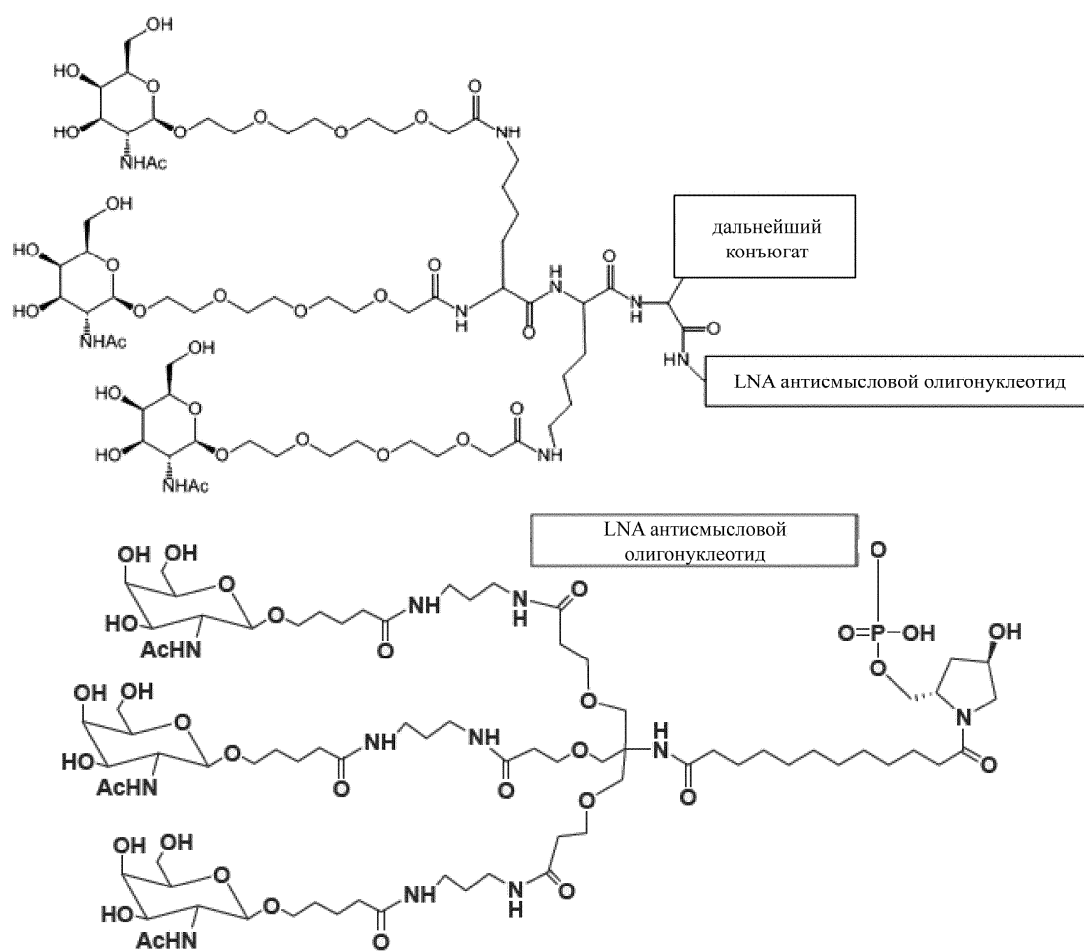




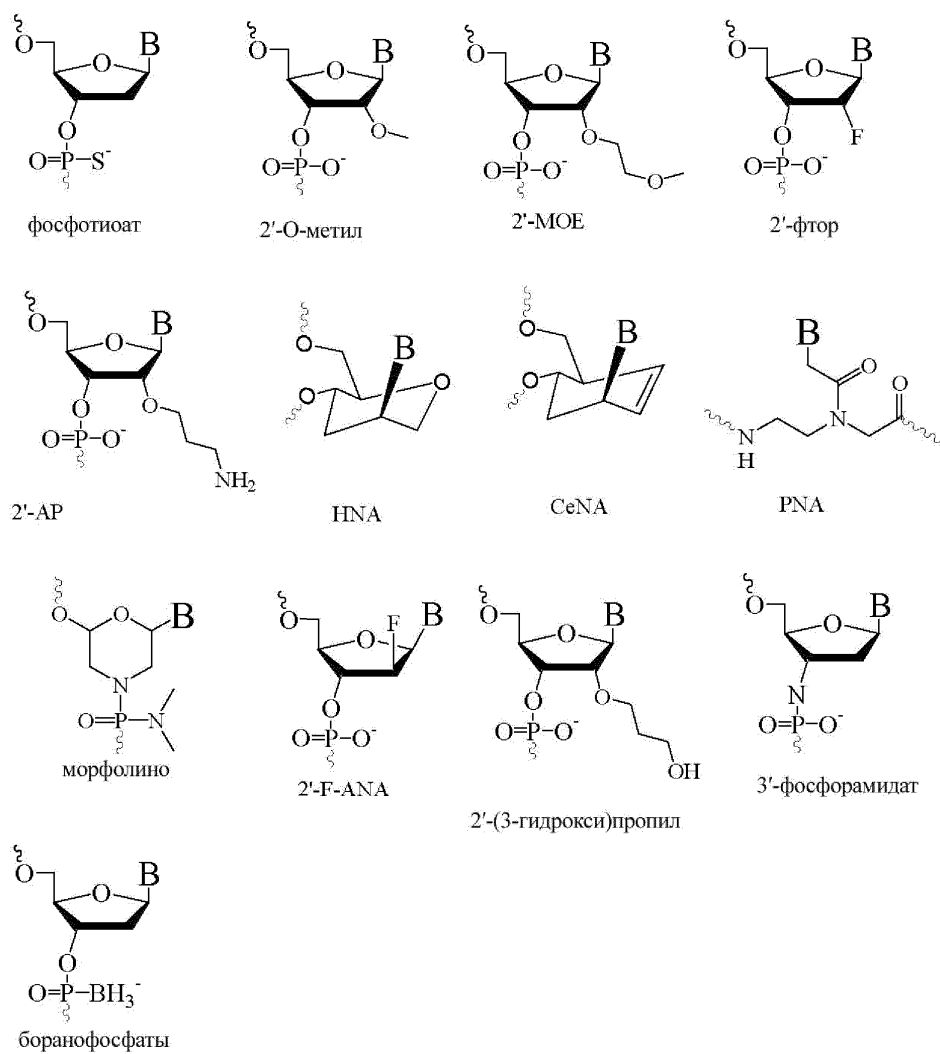


Фиг. 3

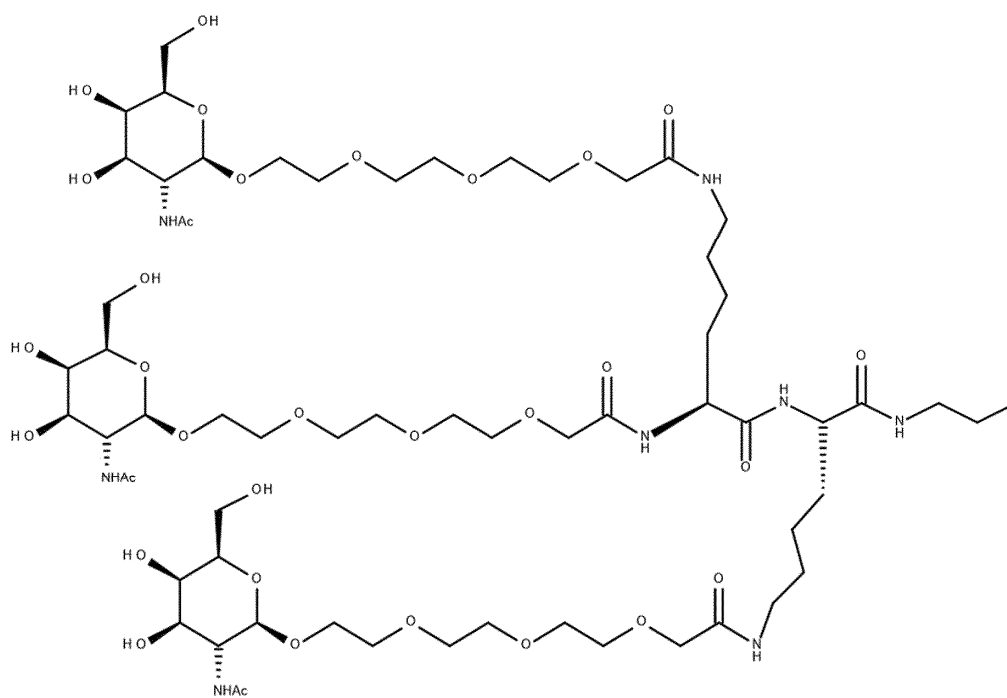




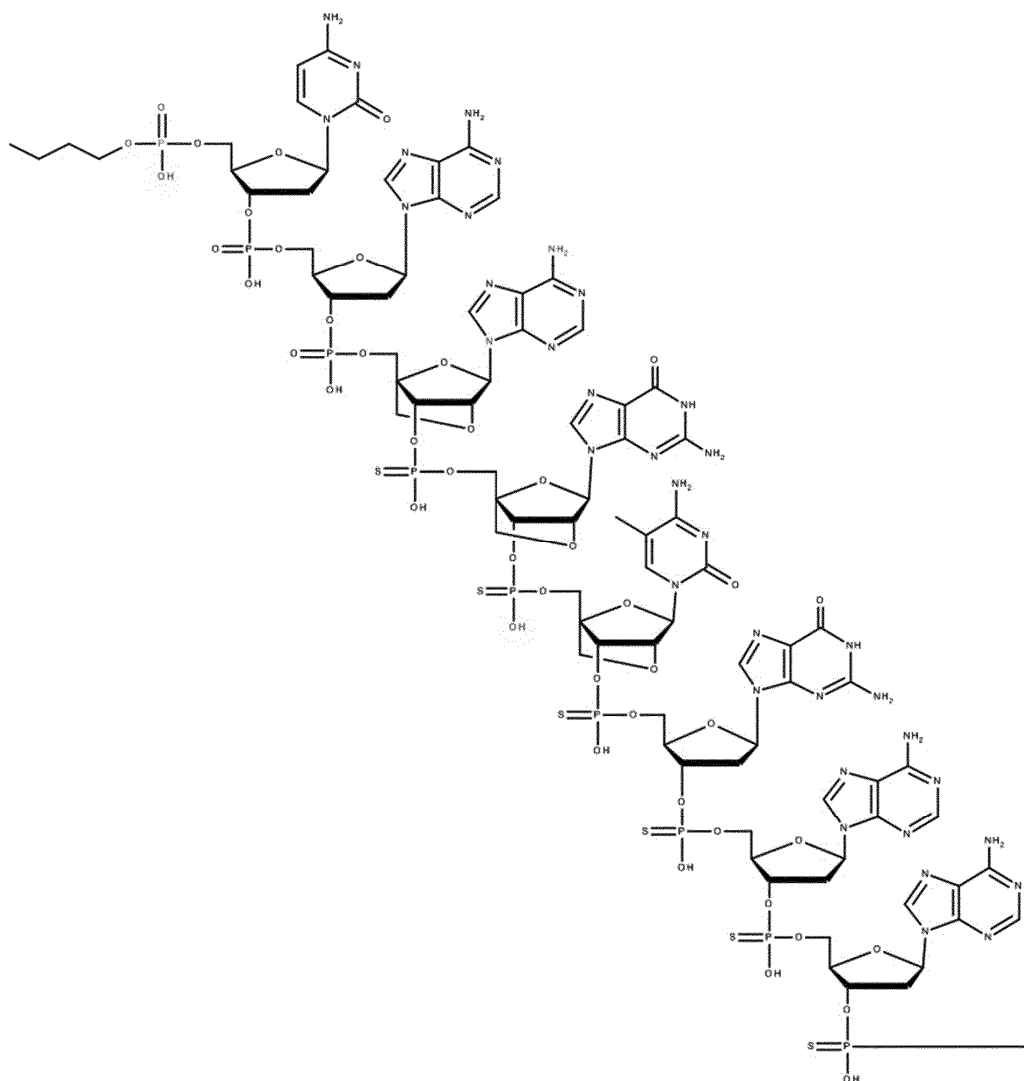
Фиг. 4



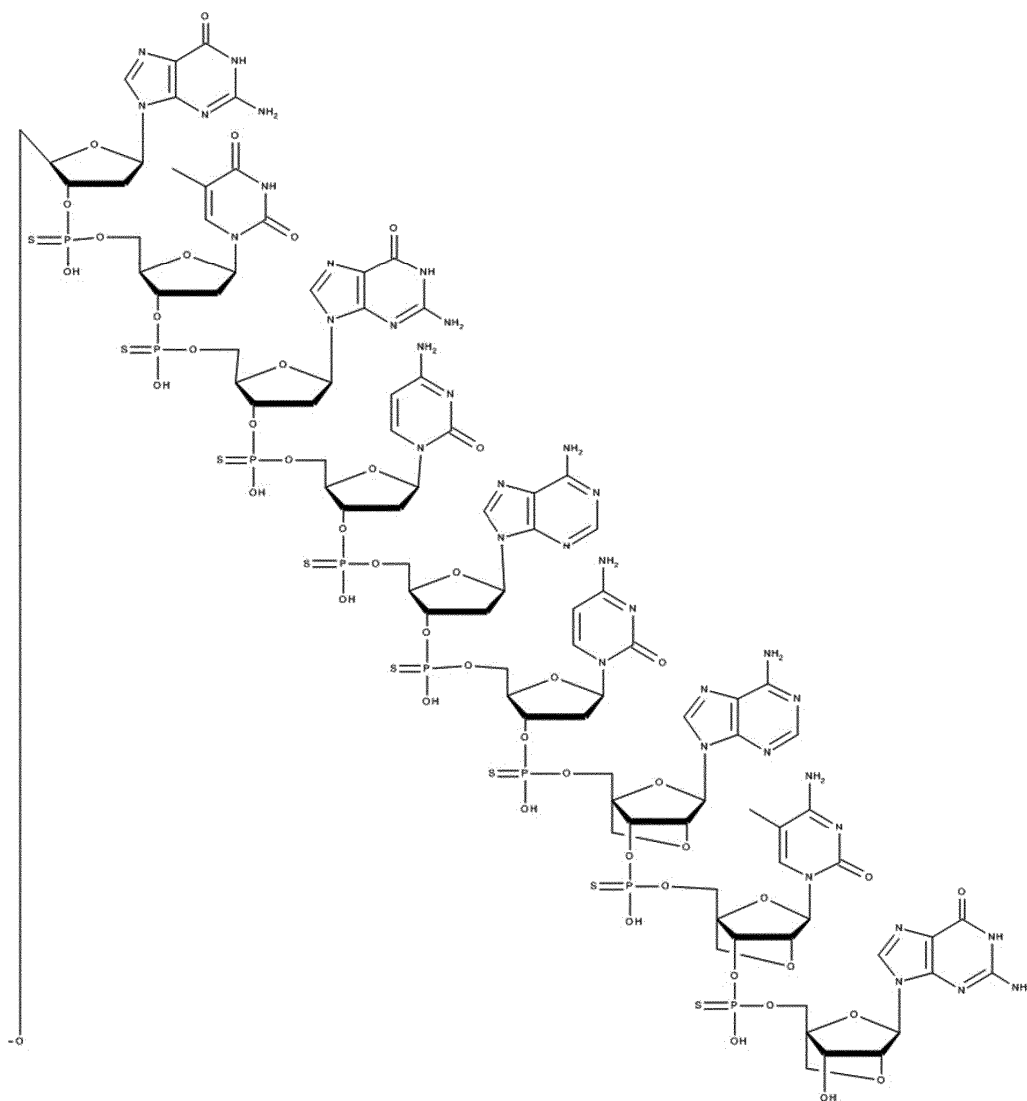
Фиг. 5



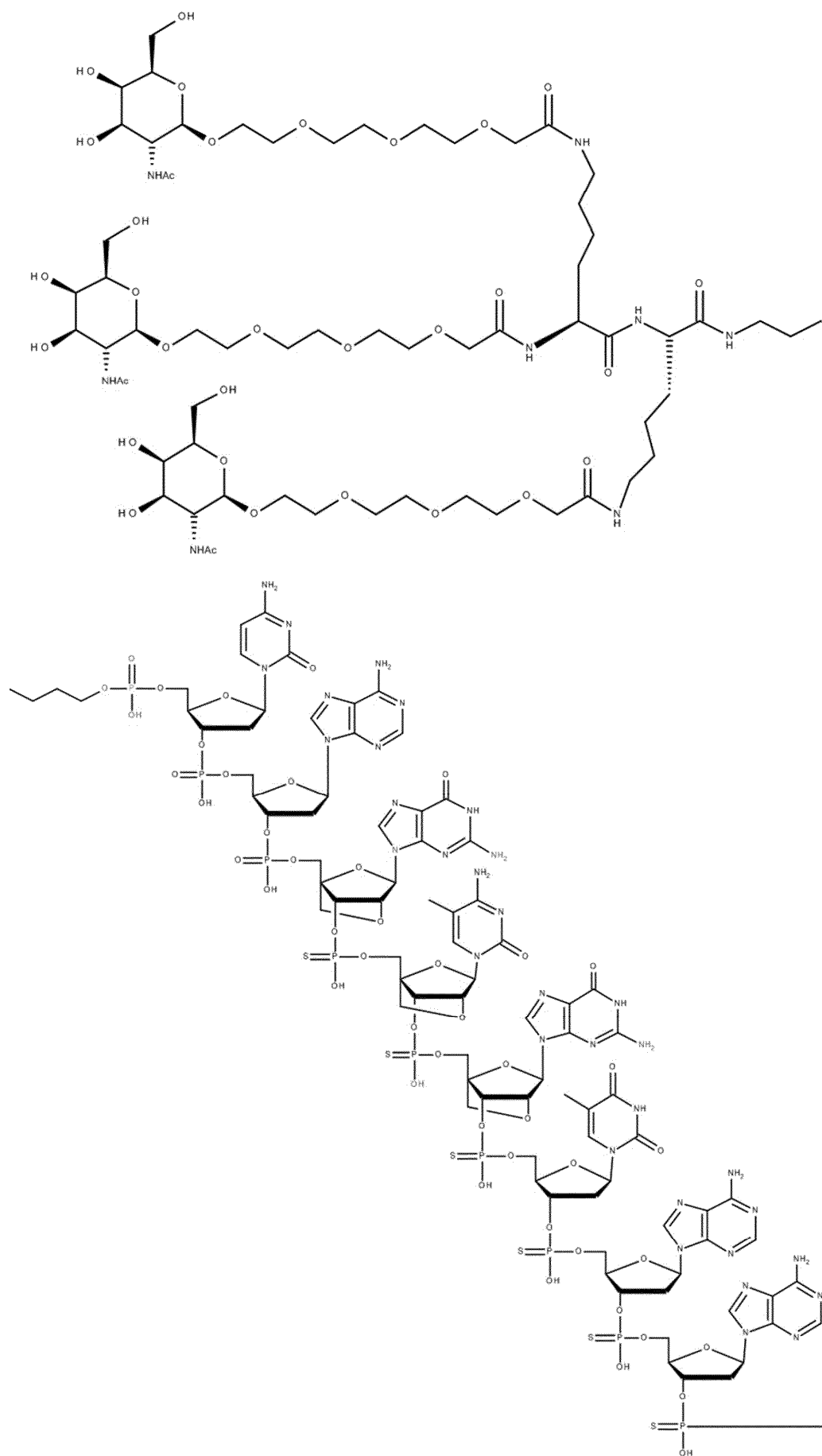
034924

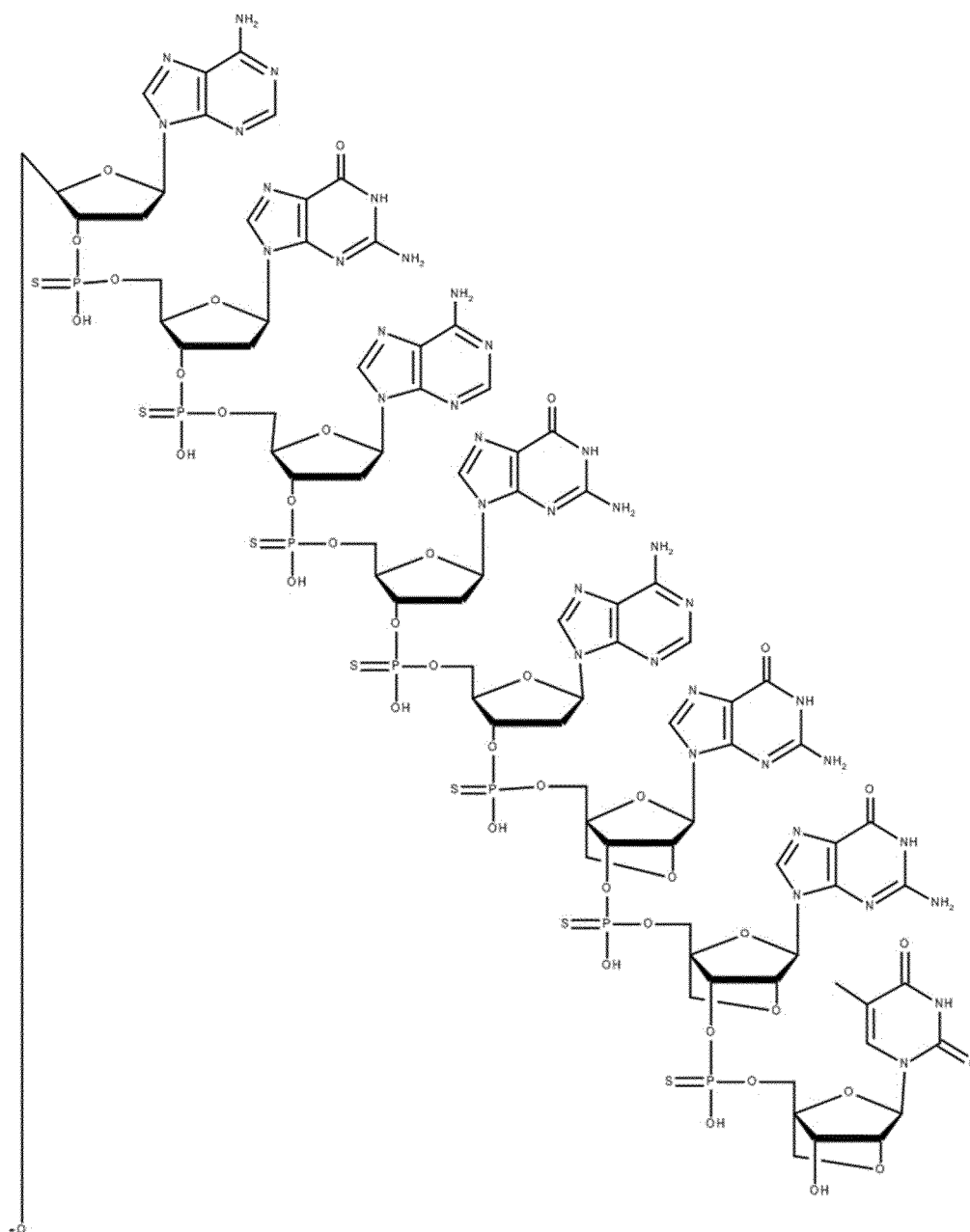






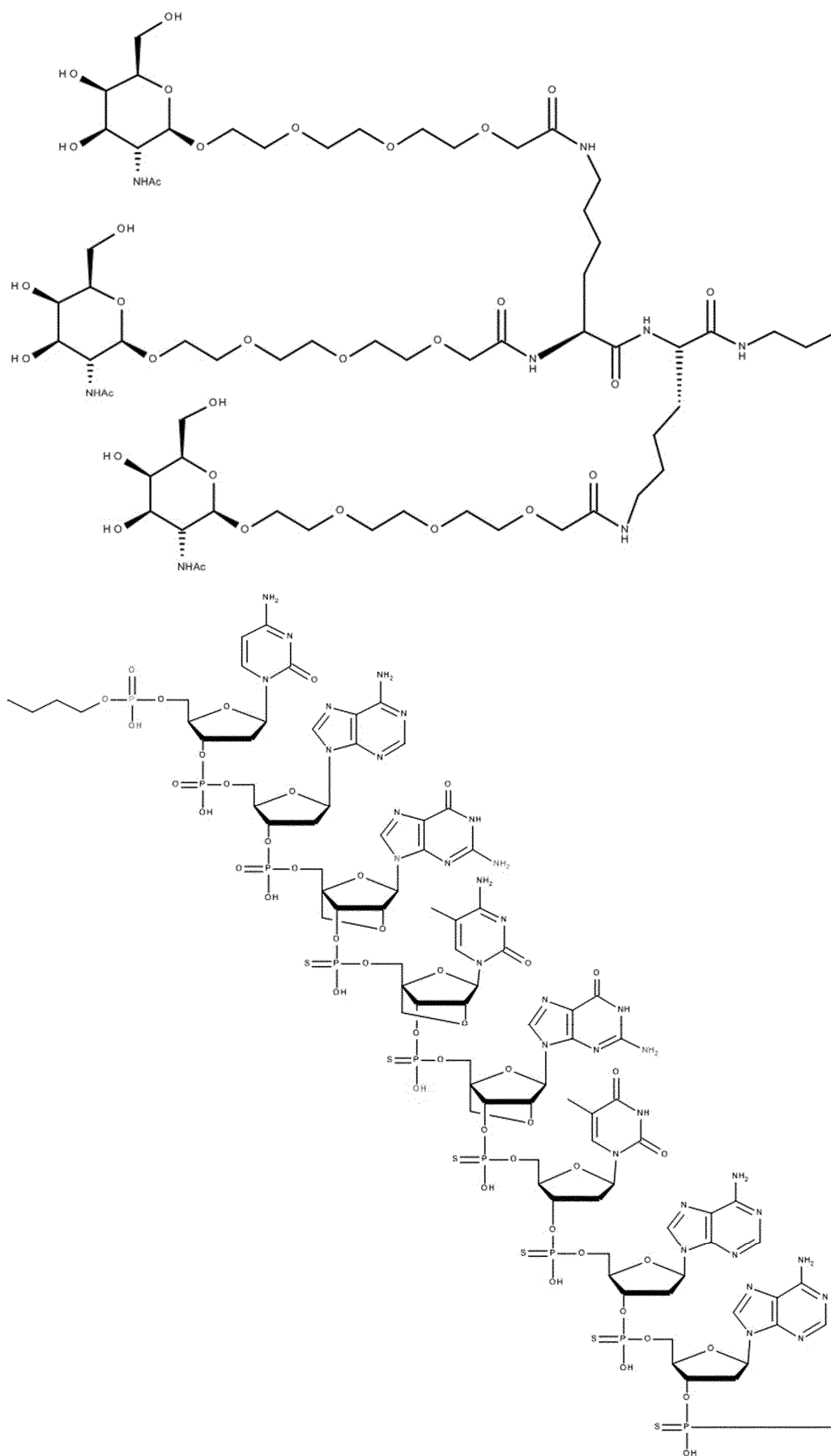
ФИГ. 6

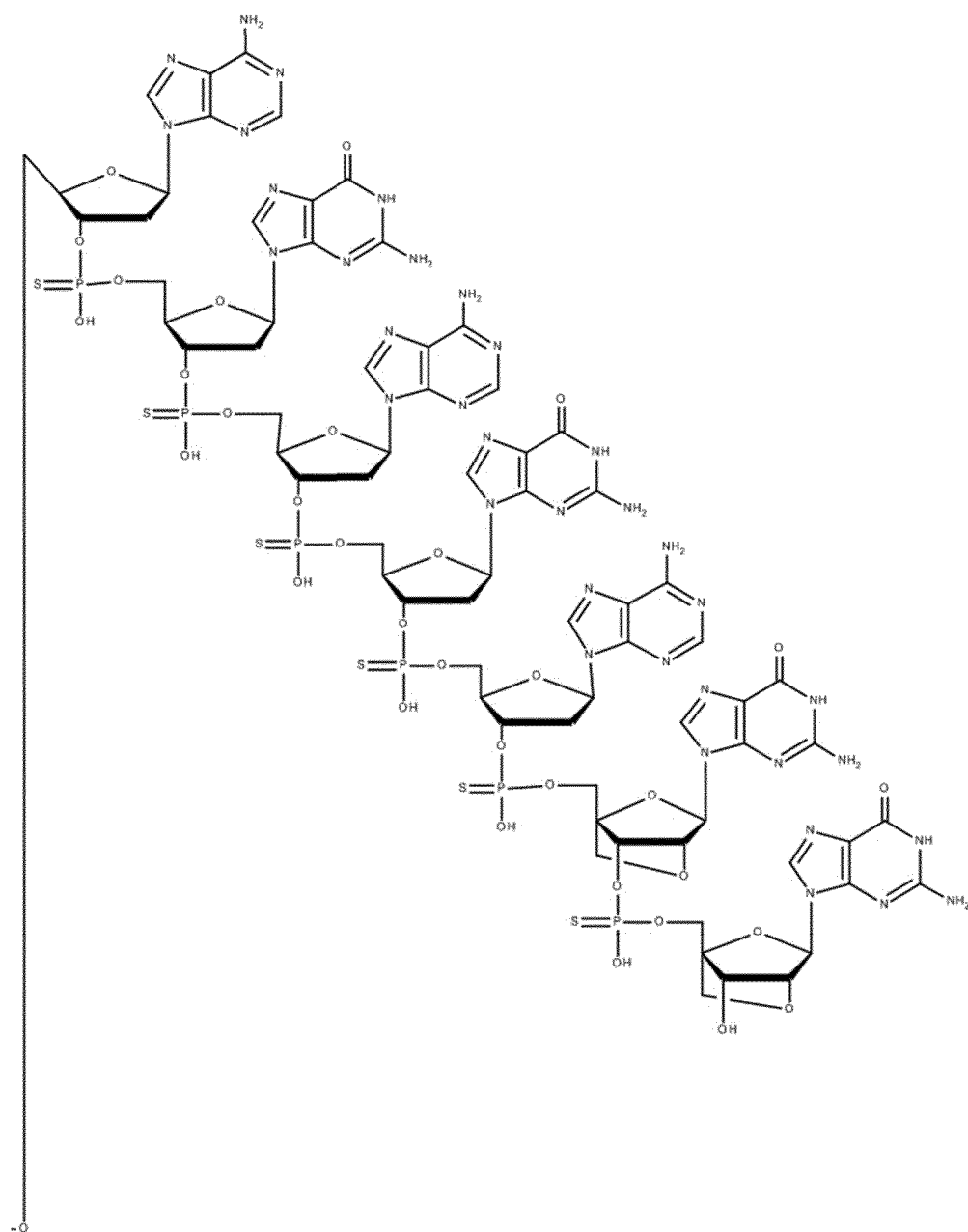




Фиг. 7

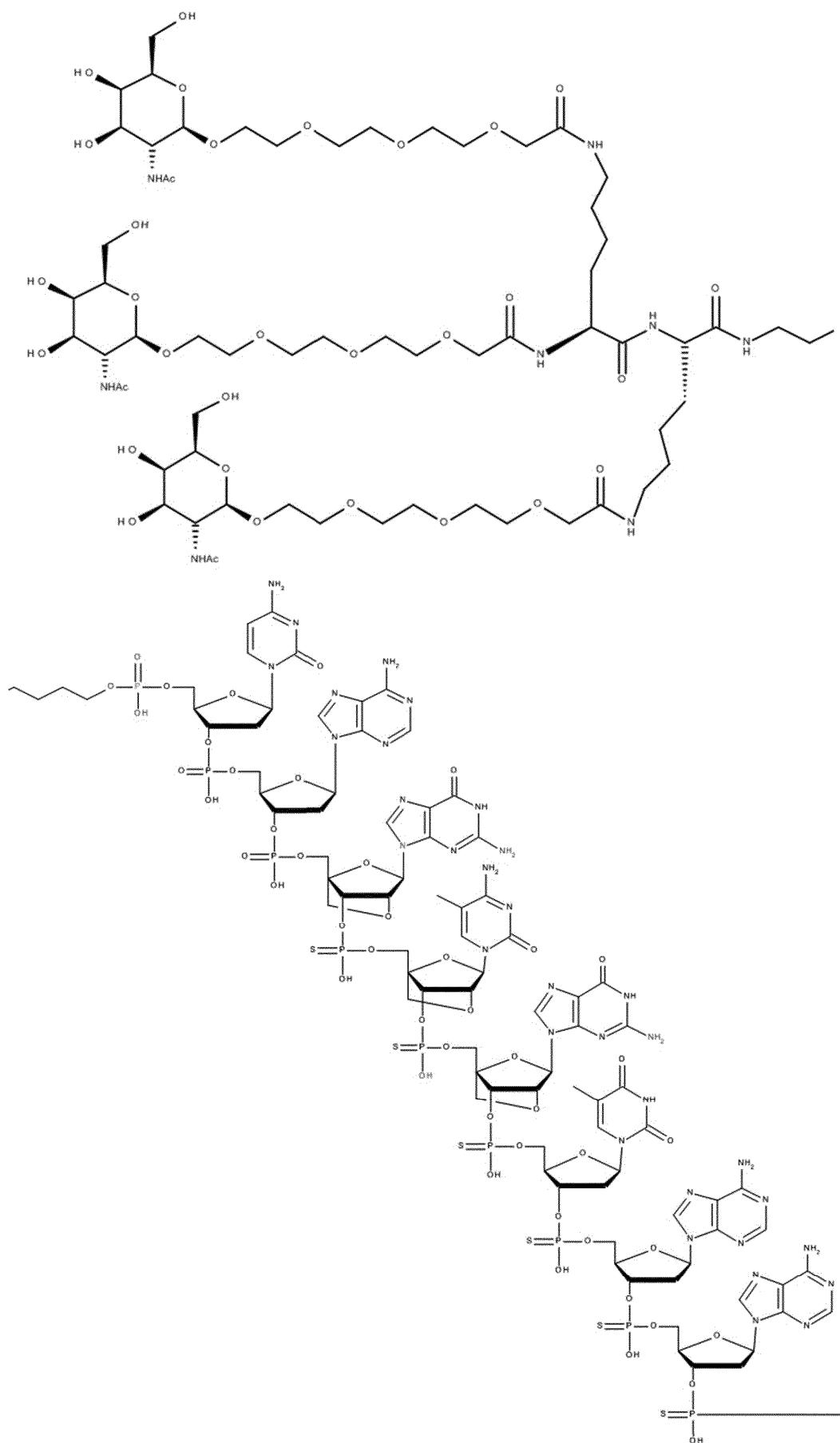
034924

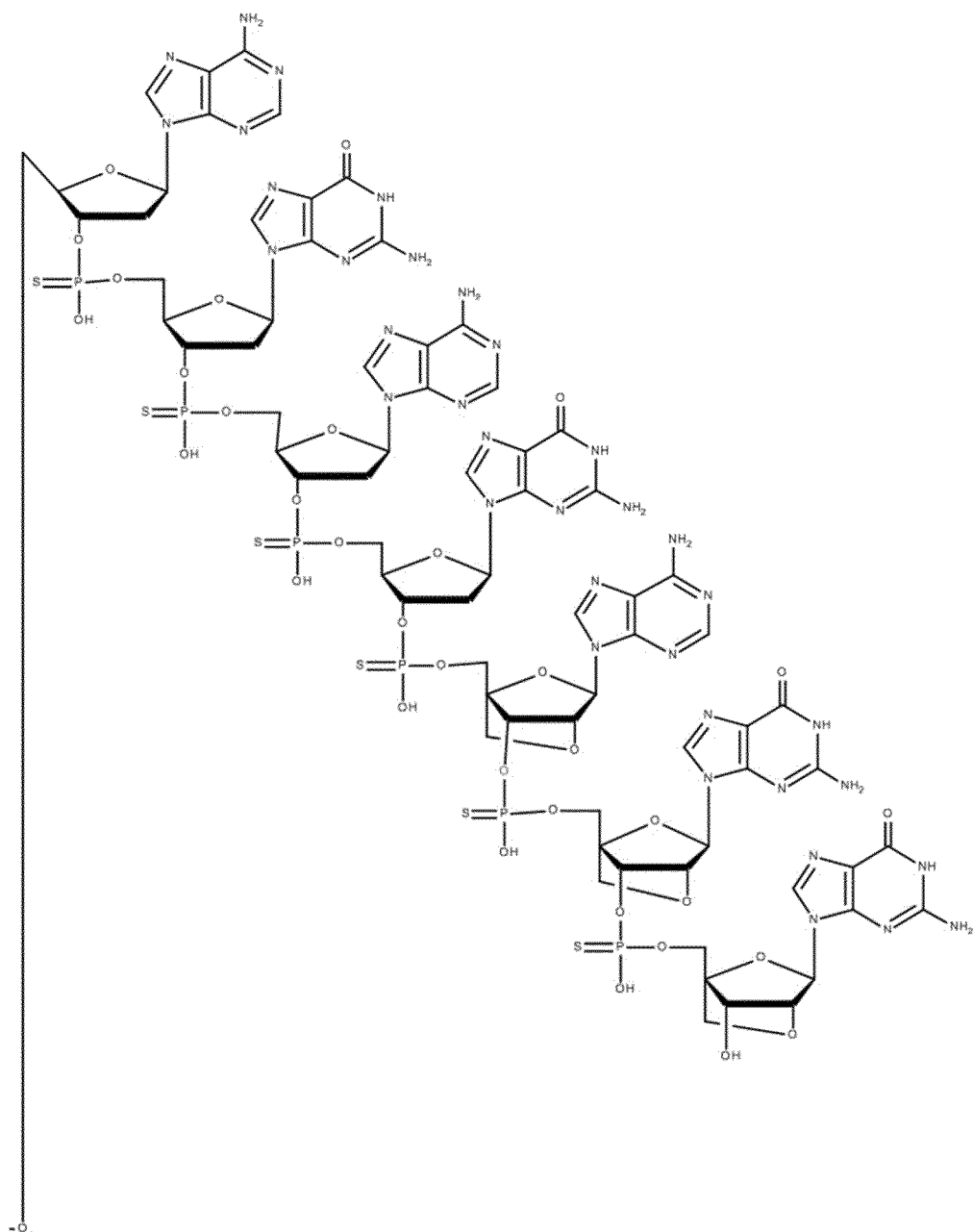




Фиг. 8

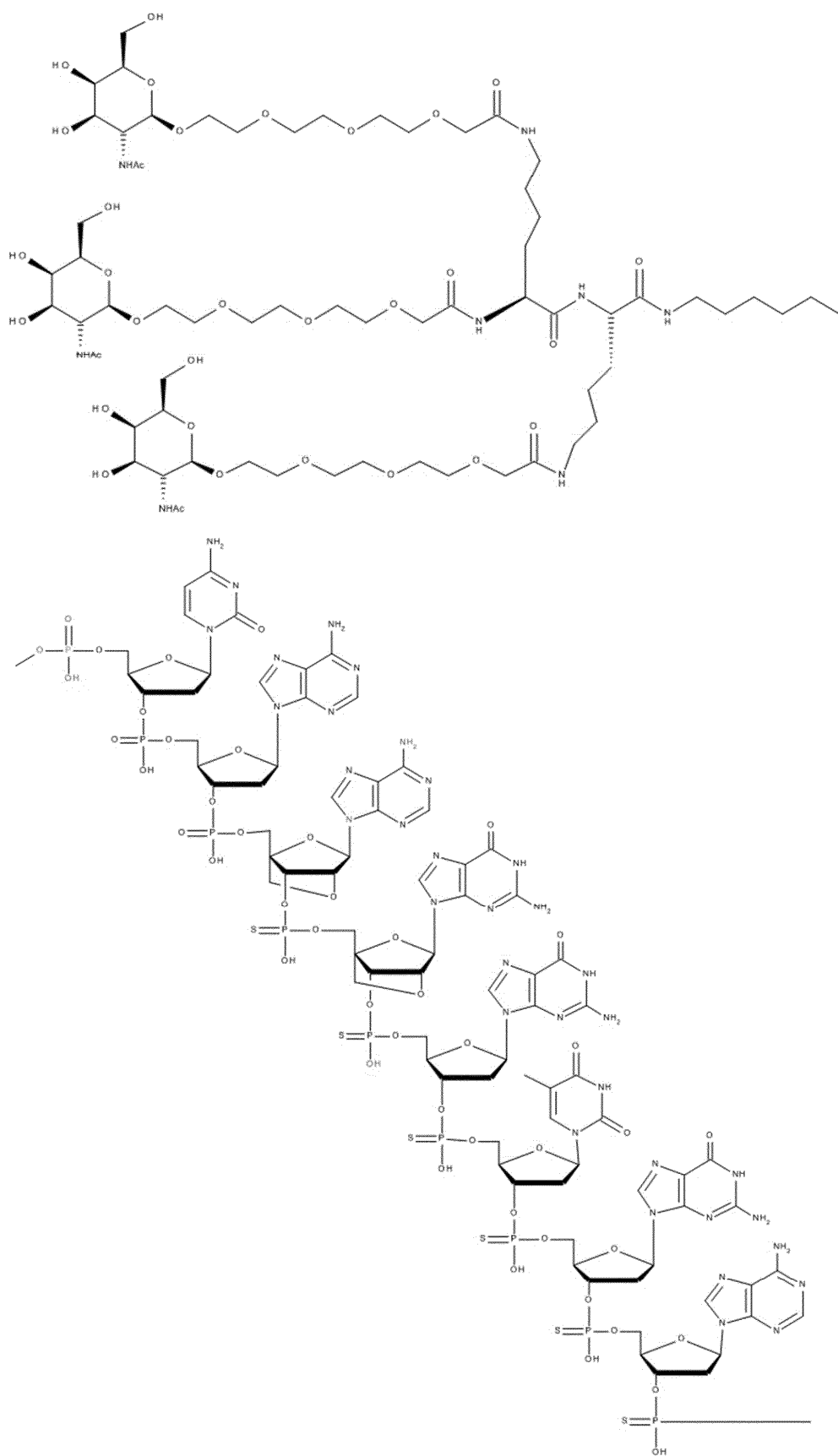
034924



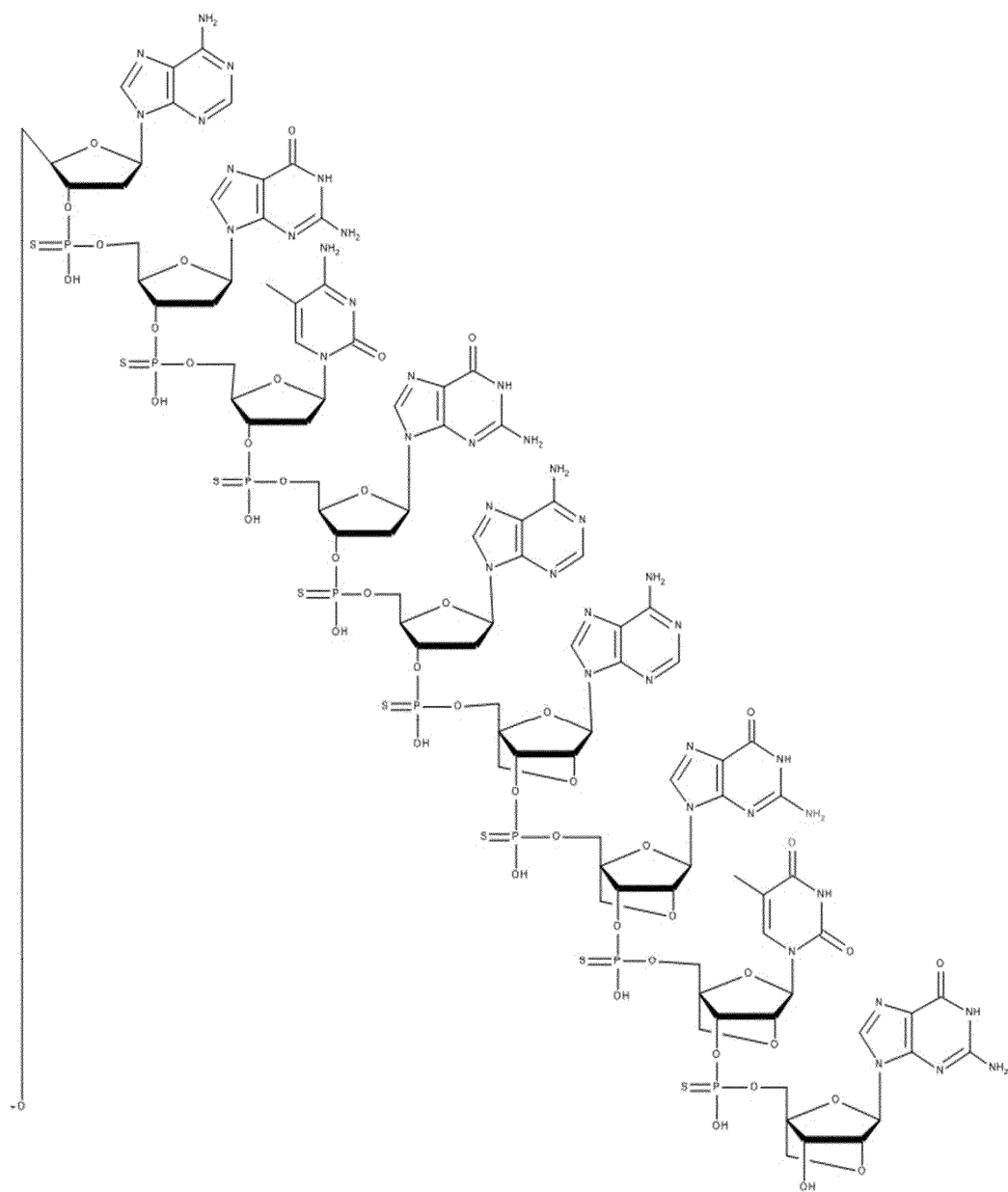


Фиг. 9

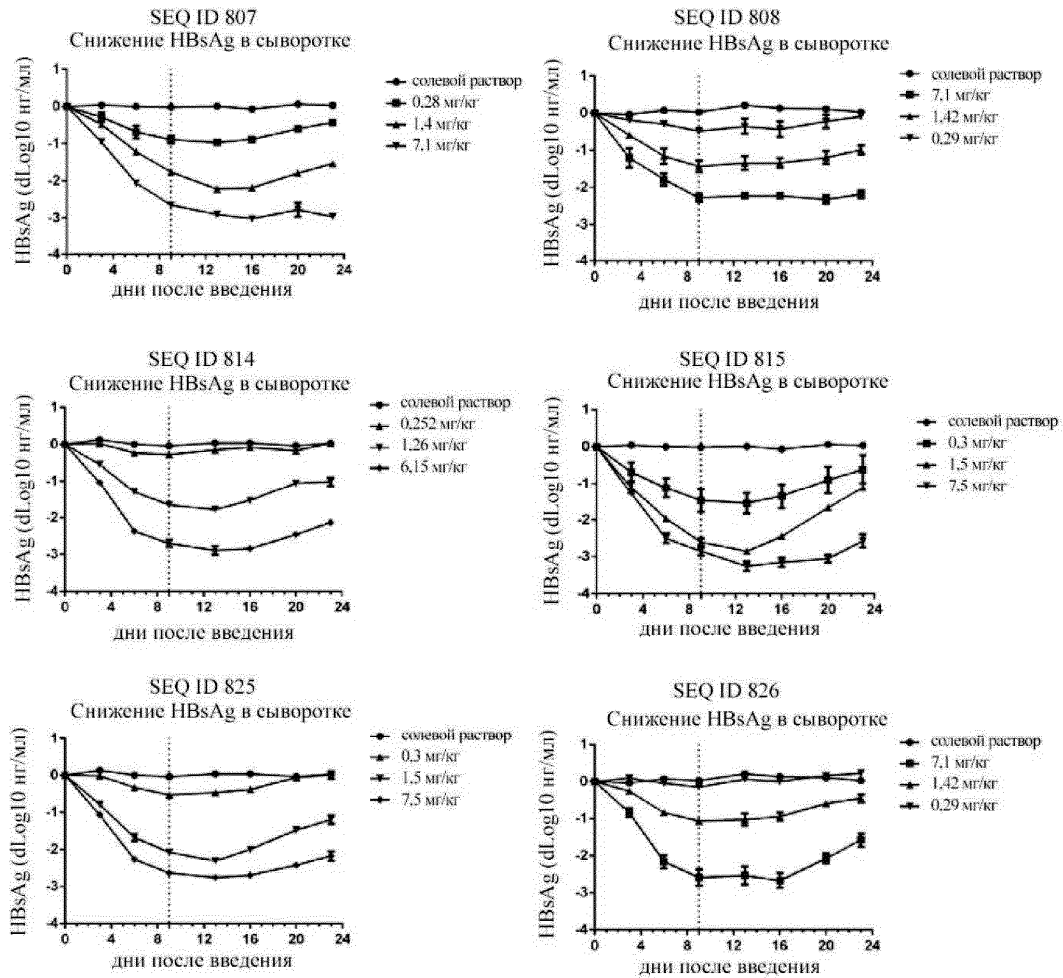
034924



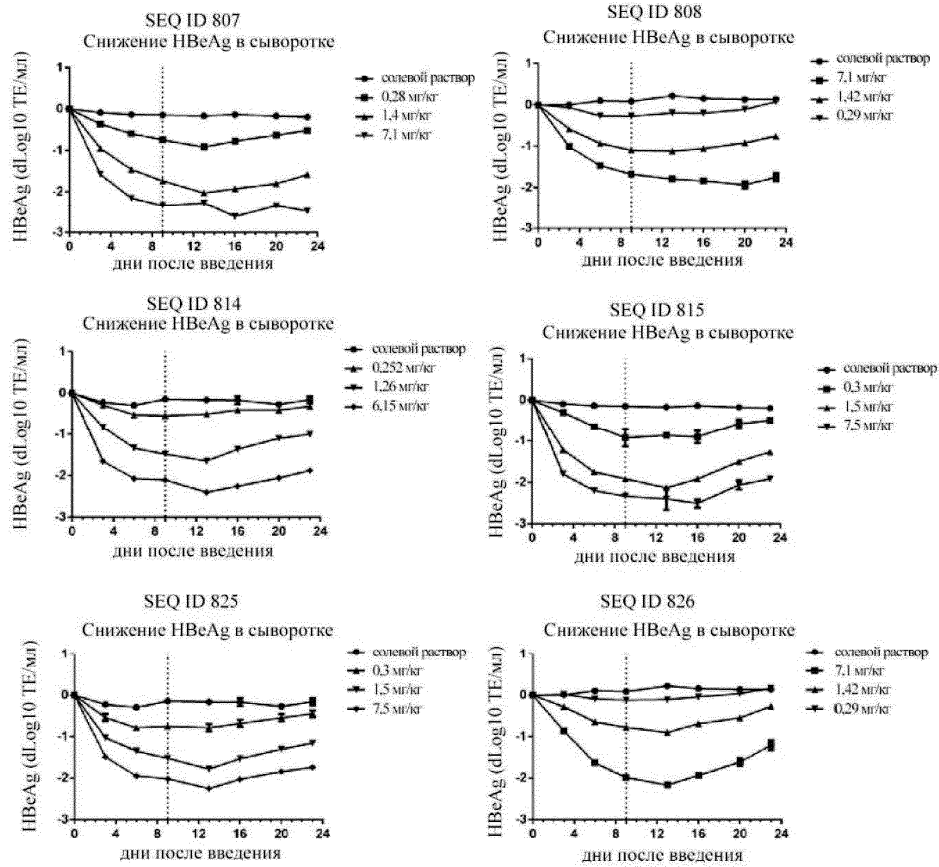




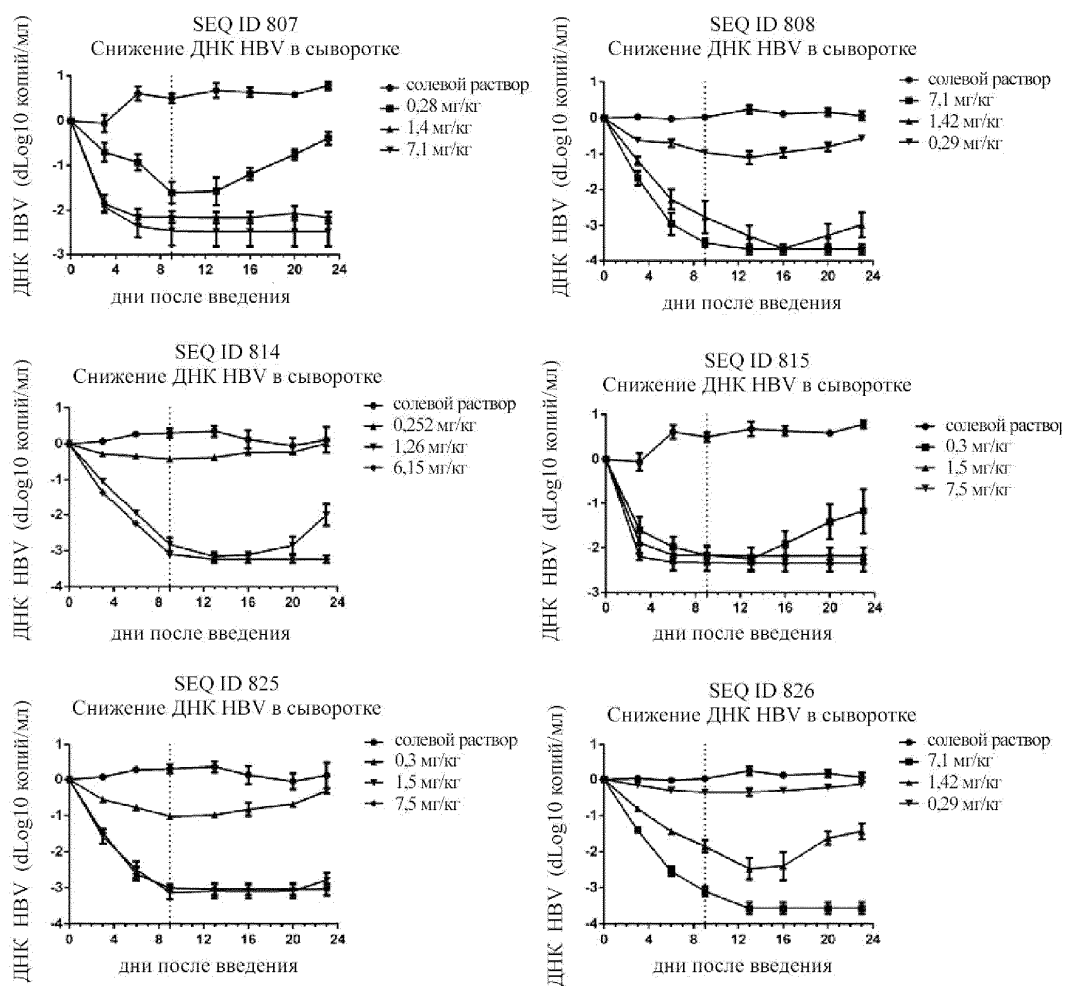
Фиг. 10



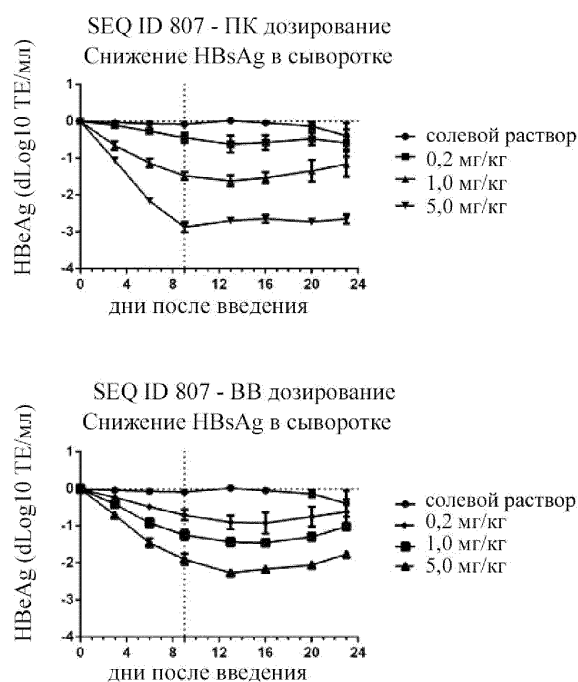
Фиг. 11



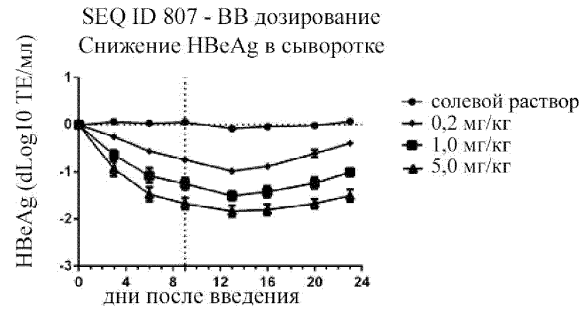
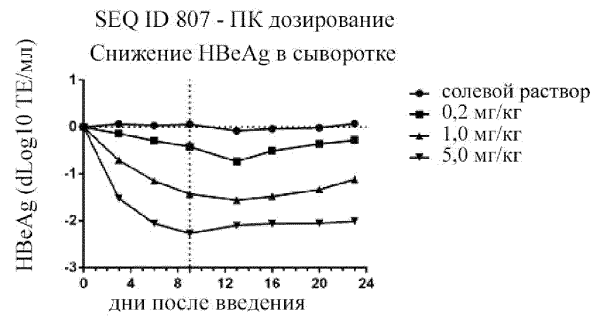
Фиг. 12



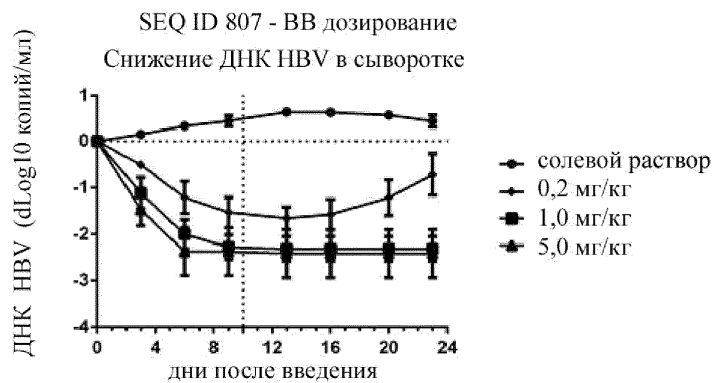
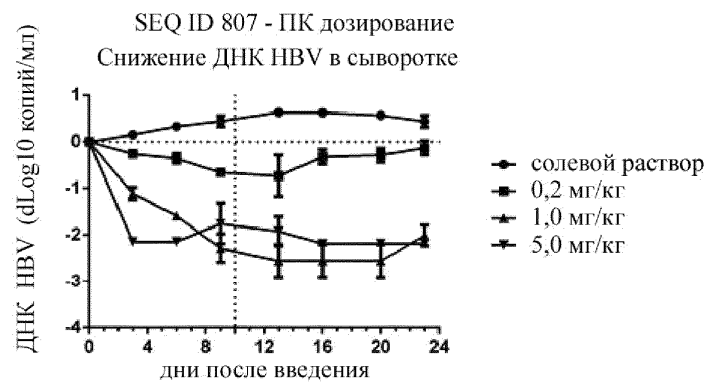
Фиг. 13



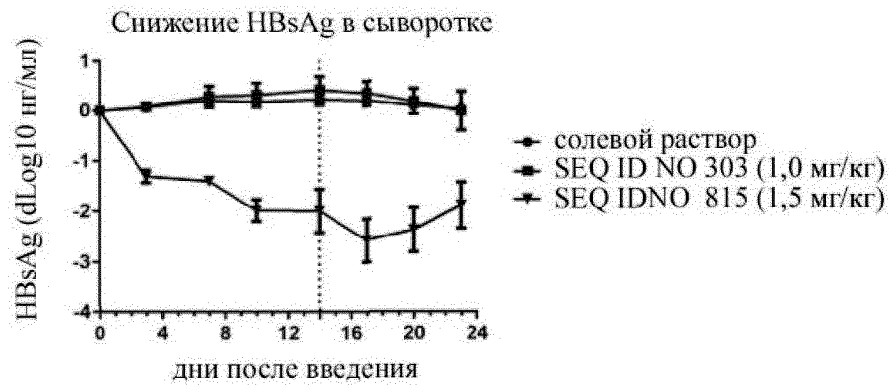
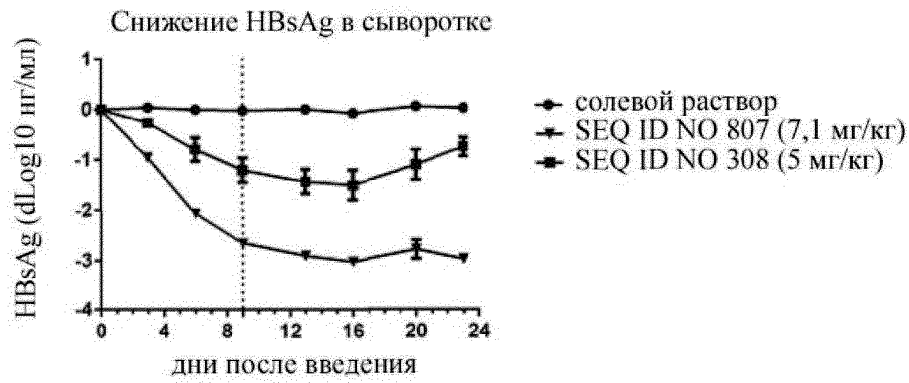
Фиг. 14А



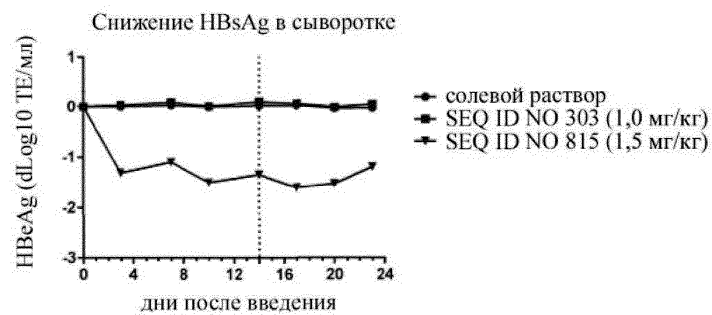
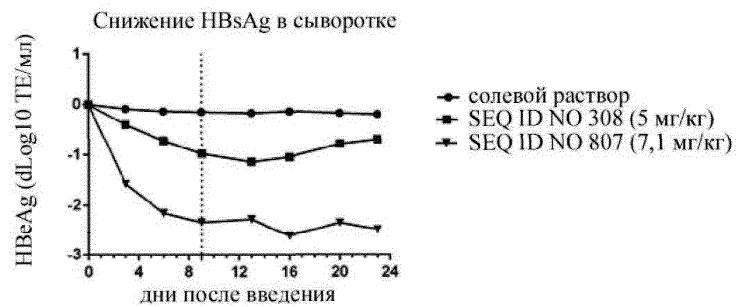
Фиг. 14В



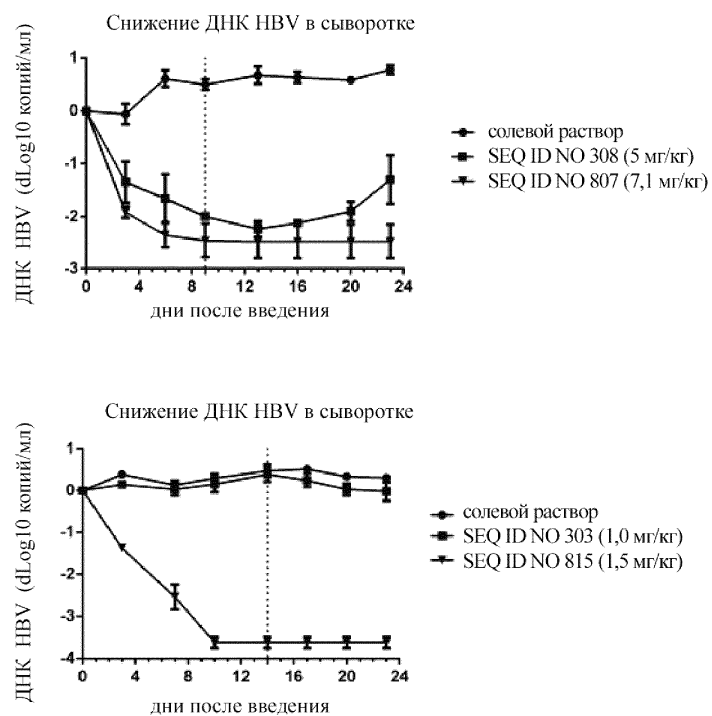
Фиг. 14С



Фиг. 15А



Фиг. 15В



Фиг. 15С



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2