

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202190800** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2021.08.19

(51) Int. Cl. *A61K 31/7105* (2006.01)
A61K 31/713 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.09.18

(54) **РНКИ АГЕНТЫ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ 17БЕТА-HSD ТИПА 13 (HSD17B13), ИХ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **62/733,320; 62/773,707; 62/890,220**

(32) **2018.09.19; 2018.11.30; 2019.08.22**

(33) **US**

(86) **PCT/US2019/051707**

(87) **WO 2020/061177 2020.03.26**

(71) Заявитель:
**ЭРРОУХЕД ФАРМАСЬЮТИКАЛС,
ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:
**Ли Чжэнь, Чжу Жуй, Моралес Шон А.
(US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее описание относится к РНКи агентам, например двухцепочечным РНКи агентам, способным ингибировать экспрессию гена 17 β -гидроксистероидной дегидрогеназы типа 13 (HSD17B13 или 17 β -HSD13). Также описаны фармацевтические композиции, которые включают HSD17B13 РНКи агенты, и способы их применения. HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем документе, могут быть конъюгированы с направляющими лигандами, чтобы облегчить доставку в клетки, включая гепатоциты. Доставка HSD17B13 РНКи агентов *in vivo* предназначена для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена. РНКи агенты могут использоваться в способах лечения HSD17B13-родственных заболеваний или расстройств, включая неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз печени и алкогольную или неалкогольную болезнь печени, включая цирроз.

A1

202190800

202190800

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-567128EA/045

РНКИ АГЕНТЫ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ 17БЕТА-HSD ТИПА 13 (HSD17B13), ИХ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается приоритет временной заявки на патент США № 62/890,220, поданной 22 августа 2019, временной заявки на патент США № 62/773,707, поданной 30 ноября 2018, и временной заявки на патент США № 62/733,320, поданной 19 сентября 2018, содержание каждой из которых полностью включено сюда в качестве ссылки.

Список последовательностей

Эта заявка содержит список последовательностей, который был подан в формате ASCII и включен сюда в качестве ссылки полностью. Копия ASCII названа 30667-WO_SEQLIST.txt и имеет размер 75 кб.

Область техники

Настоящее описание относится к агентам РНК-интерференции (РНКи), *например*, двухцепочечным РНКи агентам, для ингибирования экспрессии гена 17 β -гидроксистероид дегидрогеназы типа 13, композициям, которые включают РНКи агенты 17 β -гидроксистероид дегидрогеназы типа 13, и способам их применения.

Уровень техники

Белок жировых капель печени 17 β -гидроксистероид дегидрогеназа типа 13 (обычно называемый HSD17B13, 17 β -HSD13, HSD17 β 13, 17 β ета-HSD13, 17 β ета-HSD тип 13 или 17B-HSD13) является членом семейства 17 β ета-гидроксистероид дегидрогеназ (17 β -HSD). Семейство 17 β -HSD содержит 14 ферментов, которые участвуют в восстановлении или окислении половых гормонов, жирных кислот и желчных кислот. Распределение в ткани, подклеточная локализация и каталитическое предпочтение отличается для разных членов семейства. Семейство 17 β -HSD демонстрирует разную специфичность к субстрату, включая стероиды, жиры и ретиноиды.

17 β -HSD13 белки распределены в широком спектре тканей в организме и кодируются HSD17B13 геном (альтернативно названным 17 β -HSD13 ген). Известно, что наивысший уровень экспрессии обнаруживается в гепатоцитах в печени, в то время как низкие уровни могут быть определены в яичниках, костном мозге, почках, мозге, легком, скелетной мышце, мочевом пузыре и яичках. Функция 17 β -HSD13 понята не полностью, однако было показано, что некоторые члены семейства 17 β -HSD, включая 17 β -HSD-4, -7, -10 и -12, участвуют в метаболизме углевода и жирной кислоты. Это предполагает, что 17 β -HSD13 также может играть роль в метаболических путях жиров. Сообщалось, что печеночная активация 17 β -HSD13 наблюдалась у пациентов с жировой дистрофией печени, что подтверждает роль этого фермента в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП).

Wen Su et al. ранее идентифицировали 17 β -HSD13 как ассоциированный с жировыми

каплями (ЖК) белок у пациентов с НАЖБП, и описано, что 17 β -HSD13 был одним из наиболее широко экспрессируемых белков ЖК, специфически локализованных на поверхности ЖК. (Wen Su et al., *Comparative proteomic study reveals 17 β -HSD13 as a pathogenic protein in nonalcoholic fatty liver disease*, 111 *PNAS* 11437-11442 (2014)). Также было обнаружено, что уровень 17 β -HSD13 повышается в печени пациентов и мышей с НАЖБП. Суперэкспрессия вызывает повышение количества и размера ЖК, тогда как подавление гена HSD17B13 ослабляет индуцированное олеиновой кислотой образование ЖК в культивируемых гепатоцитах. Было показано, что суперэкспрессия 17 β -HSD13 белка в печени C57BL/6 мышей значительно увеличивает липогенез и содержание триглицеридов (ТГ) в печени, что приводит к фенотипу жировой дистрофии печени.

Дополнительное доказательство участия экспрессии гена HSD17B13 в патогенезе НАЖБП и неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) представлено N.S. Abul-Husnet. al., *A Protein-Truncating HSD17B13 Variant and Protection from Chronic Liver Disease*, 378 *N. Eng. J. Med.* 1096-1106 (2018). Эта группа провела общегеномное исследование, которое выявило вариант сплайсинга (rs72613567: TA) в HSD17B13, который был связан со сниженными уровнями аланинаминотрансферазы (ALT) и аспартатаминотрансферазы (AST), что указывает на меньшее повреждение печени и воспаление у пациентов с жировой дистрофией печени. Вариант сплайсинга вызывает усеченную потерю функционального белка, что позволяет предположить, что HSD17B13 обычно генерирует продукт, который может способствовать гепатоцеллюлярному повреждению.

НАЖБП является серьезной проблемой здравоохранения во всем мире. НАЖБП является обобщающим понятием, которое включает в себя совокупность состояний печени, различающихся по степени тяжести повреждения и возникающего в результате фиброза. Среди них только стеатоз печени (жировая инфильтрация печени) обычно называют НАЖБ, а НАСГ обычно определяют как более тяжелый процесс с воспалением и повреждением гепатоцитов (стеатогепатит). Как правило, НАСГ сопровождается фиброзом, который часто прогрессирует до цирроза. Пациенты с только НАЖБ несут меньший риск неблагоприятных исходов, тогда как наличие НАСГ увеличивает риск поражения печени и исходов, не связанных с печенью. Неблагоприятные исходы для печени, связанные с НАСГ, включают печеночную недостаточность, цирроз и печеночно-клеточную карциному. Неблагоприятные исходы, не связанные с печенью, обычно связаны с усилением сердечнососудистых заболеваний и злокачественных новообразований.

Глобально распространенность НАЖБП оценивается как ~25%. В США количество случаев НАЖБП предположительно вырастет с 83,1 миллиона в 2015 году (~25% населения) до 100,9 миллиона в 2030 году. Ожидается, что доля НАСГ в этих случаях увеличится с 20% до 27% взрослых с НАЖБП. Этот рост распространенности заболевания несомненно приведет к увеличению экономического бремени и будет сопровождаться как увеличением числа пациентов с терминальной стадией заболевания печени, требующей трансплантации печени, так и резким увеличением печеночно-клеточной карциномы. По сравнению с другими заболеваниями печени, больший процент (~35-50%) случаев

печеночно-клеточной карциномы, возникающей при НАСГ, происходит до того, как пациенты приобретают цирроз, и проводится обычный скрининг на рак. Это часто приводит к образованию более крупных опухолей, менее поддающихся лечению, чем опухоли другой этиологии.

Алкогольная болезнь печени (АБП) также широко распространена во всем мире и относится к прогрессирующему заболеванию печени, вызванному чрезмерным и длительным употреблением алкоголя. Существуют различные болезненные состояния АБП, включая алкогольную жировую дистрофию печени (алкогольный стеатоз), алкогольный гепатит и цирроз.

В настоящее время не существует апробированных фармакологических агентов для лечения НАСГ или других заболеваний и состояний, подпадающих под НАЖБП или АБП.

Сущность изобретения

Существует потребность в новых специфичных для гена HSD17B13 РНК-интерференция (РНКи) агентах (также называемых РНКи агент, РНКи триггер или триггер), *например*, двухцепочечных РНКи агентах, которые способны селективно и эффективно ингибировать экспрессию гена HSD17B13. Дополнительно, существует потребность в композициях, которые включают новые HSD17B13-специфические РНКи агенты для лечения заболеваний, таких как, среди прочих, НАЖБП, НАСГ, фиброз печени и алкогольные или неалкогольные заболевания печени, включая цирроз.

В общем, настоящее описание характеризуется новыми HSD17B13 ген-специфическими РНКи агентами, композициями, которые включают HSD17B13 РНКи агенты и способами ингибирования экспрессии HSD17B13 гена *in vitro* и/или *in vivo* с применением HSD17B13 РНКи агентов и композиций, которые включают HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем документе. HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем документе, могут селективно и эффективно снижать, ингибировать или подавлять экспрессию HSD17B13 гена у субъекта, *например*, человека или животного.

Описанные HSD17B13 РНКи агенты могут использоваться в способах терапевтического лечения (включая профилактическое и превентивное лечение) симптомов и заболеваний, ассоциированных с НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени и алкогольных или неалкогольных заболеваний печени, включая цирроз. Способы, описанные в настоящем описании, включают введение одного или более HSD17B13 РНКи агентов субъекту, *например*, человеку или животному, с применением любых подходящих способов, известных в данной области техники, таких как подкожная инъекция или внутривенное введение.

В одном аспекте, описание представляет РНКи агенты для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена, где РНКи агент включает смысловую цепь (также называемую «сопровождающая» цепь) и антисмысловую цепь (также называемую направляющая цепь). Смысловая цепь и антисмысловая цепь могут быть частично, по существу или полностью комплементарны друг другу. Длина каждой смысловой и антисмысловой цепей РНКи агента, описанного в настоящем описании, может быть 16-49 нуклеотидов в длину. В

некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи независимо имеют 17-26 нуклеотидов в длину. Смысловая и антисмысловая цепи могут иметь одинаковую длину или разные длины. В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи независимо имеют 21-26 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи независимо имеют 21-24 нуклеотида в длину. В некоторых вариантах осуществления, и смысловая цепь и антисмысловая цепь имеют 21 нуклеотид в длину. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловые цепи независимо имеют 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, смысловые цепи независимо имеют 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 или 49 нуклеотидов в длину. РНКи агенты, описанные в настоящем описании, при доставке в клетку, экспрессирующую HSD17B13, ингибируют экспрессию одного или более HSD17B13 генов *in vivo* или *in vitro*.

HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, направлены на HSD17B13 ген человека (см., например, SEQ ID NO:1). В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, направлены на часть HSD17B13 гена, имеющую последовательность по любой из последовательностей, описанных в таблице 1.

Примеры смысловых цепей и антисмысловых цепей HSD17B13 РНКи агента, которые могут быть включены в HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, представлены в таблице 3 и таблице 4. Примеры дуплексов HSD17B13 РНКи агента представлены в таблице 5, и химические структуры и схематические диаграммы некоторых HSD17B13 РНКи агентов, которые показаны связанными с направляющими лигандами, которые включают N-ацетилгалактозамин, изображены на фигурах 1A - 10D и фигурах 11A - 11E. Примеры 19-нуклеотидных коровых удлиняющих последовательностей, которые состоят из или включены в смысловые цепи и антисмысловые цепи HSD17B13 РНКи агентов, описанных в настоящем описании, представлены в таблице 2.

В другом аспекте, описание представляет способы доставки HSD17B13 РНКи агентов в клетки печени у субъекта, такого как млекопитающее, *in vivo*. Также в настоящем описании описаны композиции для применения в таких способах.

Один или более HSD17B13 РНКи агентов могут быть доставлены в клетки-мишени или ткани-мишени с применением любой технологии доставки олигонуклеотидов, известной в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент доставляют в клетки-мишени или ткани-мишени через ковалентное связывание или конъюгацию РНКи агента в направляющую группу, такую как лиганд асиалогликопротеинового рецептора (т.е., лиганд, который включает соединение, имеющее сродство с асиалогликопротеиновым рецептором, который повсеместно экспрессируется на гепатоцитах в печени). В некоторых вариантах осуществления, лиганд асиалогликопротеинового рецептора включает, состоят из или состоит по существу из

галактозы или кластера производного галактозы. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент связан с направляющей группой или направляющим лигандом, который содержит производное галактозы N-ацетилгалактозамин. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы включает или состоит из N-ацетилгалактозаминового тримера или N-ацетилгалактозаминового тетрамера.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, которые конъюгированы с направляющими группами или направляющими лигандами, которые включают N-ацетилгалактозамин, селективно интернализуются клетками печени, и гепатоцитами в частности, либо через рецептор-опосредованный эндоцитоз, либо другими средствами.

В некоторых вариантах осуществления, направляющая группа связана с 3' или 5' концом смысловой цепи HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, направляющая группа связана с 5' концом смысловой цепи.

Примеры направляющих лигандов и направляющих групп, используемых для доставки HSD17B13 РНКи агентов, описанных в настоящем описании, в гепатоциты описаны, например, в публикациях международных заявок на патент №№ WO 2018/044350 и WO 2017/156012, которые включены в настоящий документ в качестве ссылки полностью. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, могут быть связаны с одним или более направляющими лигандами, имеющими структуру (NAG25), (NAG25)_s, (NAG26), (NAG26)_s, (NAG27), (NAG27)_s, (NAG28), (NAG28)_s, (NAG29), (NAG29)_s, (NAG30), (NAG30)_s, (NAG31), (NAG31)_s, (NAG32), (NAG32)_s, (NAG33), (NAG33)_s, (NAG34), (NAG34)_s, (NAG35), (NAG35)_s, (NAG36), (NAG36)_s, (NAG37), (NAG37)_s, (NAG38), (NAG38)_s, (NAG39), (NAG39)_s, каждая из которых определена в настоящем описании в таблице 6.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, связаны с направляющим лигандом, который содержит три N-ацетилгалактозаминовых группы на 5' конце смысловой цепи, где направляющий лиганд имеет структуру (NAG25), (NAG25)_s, (NAG26), (NAG26)_s, (NAG27), (NAG27)_s, (NAG28), (NAG28)_s, (NAG29), (NAG29)_s, (NAG30), (NAG30)_s, (NAG31), (NAG31)_s, (NAG32), (NAG32)_s, (NAG33), (NAG33)_s, (NAG34), (NAG34)_s, (NAG35), (NAG35)_s, (NAG36), (NAG36)_s, (NAG37), (NAG37)_s, (NAG38), (NAG38)_s, (NAG39), (NAG39)_s, каждая из которых определена в настоящем описании в таблице 6.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем описании, представлены композиции, которые включают один или более HSD17B13 РНКи агентов, которые имеют дуплексные структуры, описанные в таблице 5.

В другом аспекте, в описании представлены способы ингибирования экспрессии HSD17B13 гена, где способы включают введение субъекту или в клетку субъекта количества HSD17B13 РНКи агента, способное ингибировать экспрессию HSD17B13 гена, где HSD17B13 РНКи агент содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, и где

антисмысловая цепь включает последовательность по любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах осуществления, описанных в настоящем описании, представлены способы ингибирования экспрессии HSD17B13 гена, где способ включает введение субъекту или в клетку количества HSD17B13 РНКи агента, способное ингибировать экспрессию HSD17B13 гена, где HSD17B13 РНКи агент содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, и где смысловая цепь включает последовательность по любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи в таблицах 2 или 4. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем описании описаны способы ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в клетке или у субъекта, где способ включает введение в клетку или субъекту HSD17B13 РНКи агента, имеющего смысловую цепь, содержащую последовательность по любому из последовательностей в таблице 4, и антисмысловую цепь, содержащую последовательность по любой из последовательностей в таблице 3. Композиции для применения в таких способах также описаны в настоящем описании.

В дополнительном аспекте, описание относится к способам лечения (включая превентивное или профилактическое лечение) заболеваний или симптомов, вызванных НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени и/или алкогольными или неалкогольными болезнями печени, включая цирроз, где способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, HSD17B13 РНКи агента, имеющего антисмысловую цепь, которая включает последовательность по любой из последовательностей в таблицах 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем описании описаны способы лечения (включая превентивное лечение) заболеваний или симптомов, вызванных НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени и/или алкогольными или неалкогольными болезнями печени, включая цирроз, где способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, HSD17B13 РНКи агента, имеющего смысловую цепь, содержащую последовательность по любой из последовательностей в таблицах 2 или 4. Также в настоящем описании описаны композиции для применения в таких способах.

В некоторых вариантах осуществления, описаны композиции для доставки HSD17B13РНКи агента в клетки печени, в частности, гепатоциты, *in vivo*, где композиции включают: HSD17B13 РНКи агент, связанный или конъюгированный с направляющей группой. В некоторых вариантах осуществления, направляющей группой является N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит последовательность нуклеотидных оснований, отличающуюся 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидной последовательности (5' → 3') UCAUCAUCAGACUUCUACG (SEQ ID NO:3). В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной

последовательности (5' → 3') UCAUCUAUCAGACUUCUUACG (SEQ ID NO:3), где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13PHKi агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит последовательность нуклеотидных оснований, отличающуюся 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидной последовательности (5' → 3') UCAUCUAUCAGACUUCUUACG (SEQ ID NO:3), где SEQ ID NO:3 расположены в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13PHKi агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной последовательности (5' → 3') usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2), где a, c, g и u представляют 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь, и где смысловая цепь на, по меньшей мере, по существу комплементарна антисмысловой цепи. Как четко понимает специалист в данной области техники, включение фосфоротиоатной связи, как показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, описанных в настоящем описании, замещает фосфодизфирную связь, обычно присутствующую в олигонуклеотидах (см., например, Фиг. 11А - 11Е, показывающие все интернуклеозидные связи). В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13PHKi агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность (5' → 3') usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2), где a, c, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь, и где смысловая цепь на, по меньшей мере, по существу комплементарна антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13PHKi агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной последовательности (5' → 3') usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4), где a, c, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь, и где смысловая цепь, по меньшей мере, по существу комплементарна антисмысловой цепи. Как ясно понимает специалист в данной области техники, включение фосфоротиоатной связи, как показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, описанных в настоящем описании, замещает фосфодизфирную связь, обычно присутствующую в олигонуклеотидах (см., например, Фиг.

11A - 11E, показывающую все интернуклеозидные связи). В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность (5' → 3') usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4), где а, с, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь, и где смысловая цепь, по меньшей мере, по существу комплементарна антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит последовательность нуклеотидных оснований, отличающуюся 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидной последовательности (5' → 3') UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6). В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной последовательности (5' → 3') UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6), где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит последовательность нуклеотидных оснований, отличающуюся 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидной последовательности (5' → 3') UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6), где SEQ ID NO:6 расположена в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной последовательности (5' → 3') usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5), где а, с, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь, и где смысловая цепь, по меньшей мере, по существу комплементарна антисмысловой цепи. Как ясно понимает специалист в данной области техники, включение фосфоротиоатной связи, как показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, описанных в настоящем описании, замещает фосфодифирную связь, обычно присутствующую в олигонуклеотидах (см., например, Фиг. 11A - 11E, показывающую все интернуклеозидные связи). В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность (5' → 3') usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ

ID NO:5), где a, c, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь, и где смысловая цепь, по меньшей мере, по существу комплементарна антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной последовательности (5' → 3') usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7), где a, c, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь, и где смысловая цепь, по меньшей мере, по существу комплементарна антисмысловой цепи. Как ясно понимает специалист в данной области техники, включение фосфоротиоатной связи, как показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, описанных в настоящем описании, замещает фосфодизфирную связь, обычно присутствующую в олигонуклеотидах (см., например, Фиг. 11А - 11Е, показывающую все интернуклеозидные связи). В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность (5' → 3') usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7), где a, c, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь, и где смысловая цепь, по меньшей мере, по существу комплементарна антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит последовательность нуклеотидных оснований, отличающуюся 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидной последовательности (5' → 3') UCAUCAUCAGACUUCUACG (SEQ ID NO:3) и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит последовательность нуклеотидных оснований, отличающуюся 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидной последовательности (5' → 3') CGUAAGAAGUCUGAUAGAUGA (SEQ ID NO:8). В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной последовательности (5' → 3') UCAUCAUCAGACUUCUACG (SEQ ID NO:3), где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной последовательности (5' → 3') CGUAAGAAGUCUGAUAGAUGA (SEQ ID

NO:8), где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит последовательность нуклеотидных оснований, отличающуюся 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидной последовательности (5' → 3') UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6) и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит последовательность нуклеотидных оснований, отличающуюся 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидной последовательности (5' → 3') GCCUAGGACAUUUUUGIAUCA (SEQ ID NO:11), где I представляет инозиновый (гипоксантиновый) нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной последовательности (5' → 3') UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6), где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, отличающуюся не более чем 1 нуклеотидом от нуклеотидной последовательности (5' → 3') GCCUAGGACAUUUUUGIAUCA (SEQ ID NO:11), где I представляет инозиновый (гипоксантиновый) нуклеотид, и где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2), и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') cguaagaaGfUfCfugauagauga (SEQ ID NO:9), где а, с, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2), и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') cguaagaaGfUfCfugauagauga (SEQ ID NO:9), и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4), и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') cguaagaaGfuCfuGfauagauga (SEQ ID NO:10), где а, с, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4) и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') cguaagaaGfuCfuGfauagauga (SEQ ID NO:10), и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5), и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') gccuaggaCfAfUfuuuugiauca (SEQ ID NO:12), где а, с, g, i и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин, инозиновый или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5), и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') gccuaggaCfAfUfuuuugiauca (SEQ ID NO:12) и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по

существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5) и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (SEQ ID NO:13), где а, с, g, і и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин, инозиновый или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; s представляет фосфоротиоатную связь. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5) и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (SEQ ID NO:13) и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7) и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (SEQ ID NO:13), где а, с, g, і и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин, инозиновый или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7) и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность (5' → 3') gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (SEQ ID NO:13) и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, которая отличается 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

UCAUCAUCAGACUUCUUACG (SEQ ID NO:3); или

UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6);

где HSD17B13 РНКи агент дополнительно включает смысловую цепь, которая, по меньшей мере, частично комплементарна антисмысловой цепи; и где все или по существу все нуклеотиды на обеих, антисмысловой цепи и смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, которая отличается 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

UCAUCAUCAGACUUCUUACG (SEQ ID NO:3); или

UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6);

где HSD17B13 РНКи агент дополнительно включает смысловую цепь, которая, по меньшей мере, частично комплементарна антисмысловой цепи; где все или по существу все нуклеотиды на обеих, антисмысловой цепи и смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами; и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, которая отличается 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

UCAUCAUCAGACUUCUUACG (SEQ ID NO:3); или

UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6);

где HSD17B13 РНКи агент дополнительно включает смысловую цепь, которая, по меньшей мере, частично комплементарна антисмысловой цепи; где все или по существу все нуклеотиды на обеих, антисмысловой цепи и смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами; и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин; и где соответствующая последовательность антисмысловой цепи расположена в положениях 1-21 антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, где антисмысловая цепь и смысловая цепь состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидные последовательности, которые отличаются 0 или 1 нуклеотидами от следующих пар нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

UCAUCAUCAGACUUCUACG (SEQ ID NO:3) и
 CGUAAGAAGUCUGAUAGAUGA (SEQ ID NO:8); или
 UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6) и
 GCCUAGGACAUUUUUGIAUCA (SEQ ID NO:11), где I представляет инозиновый
 (гипоксантиновый) нуклеотид;

где все или по существу все нуклеотиды на обеих, антисмысловой цепи и смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, где антисмысловая цепь и смысловая цепь состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидные последовательности, которые отличаются 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих пар нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

UCAUCAUCAGACUUCUACG (SEQ ID NO:3) и
 CGUAAGAAGUCUGAUAGAUGA (SEQ ID NO:8); или
 UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6) и
 GCCUAGGACAUUUUUGIAUCA (SEQ ID NO:11), где I представляет инозиновый
 (гипоксантиновый) нуклеотид;

где все или по существу все нуклеотиды на обеих, антисмысловой цепи и смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами; и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность, которая отличается 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2);
 usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4);
 usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5);
 usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7);

где а, с, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; s представляет фосфоротиоатную связь; и где theHSD17B13 РНКи агент дополнительно включает смысловую часть, которая, по меньшей мере, частично комплементарна антисмысловой цепи; и где все или по существу все нуклеотиды смысловой цепи являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по

существу из или содержит модифицированную нуклеотидную последовательность, которая отличается 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2);

usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4);

usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5);

usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7);

где HSD17B13 РНКи агент дополнительно включает смысловую часть, которая, по меньшей мере, частично комплементарна антисмысловой цепи; где все или по существу все нуклеотиды смысловой цепи являются модифицированными нуклеотидами; где все или по существу все нуклеотиды на обеих, антисмысловой цепи и смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами; и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит модифицированные нуклеотидные последовательности, которые отличаются 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих пар нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2) и cguaagaaGfUfCfugauagauga (SEQ ID NO:9);

usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4) и cguaagaaGfuCfuGfauagauga (SEQ ID NO:10);

usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5) и gccuaggaCfAfUfuuuugiauca (SEQ ID NO:12);

usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5) и gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (SEQ ID NO:13); или

usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7) и gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (SEQ ID NO:13);

где а, с, g, і и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин, инозиновый или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; и s представляет фосфоротиоатную связь.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит одну из следующих пар нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2) и cguaagaaGfUfCfugauagauga (SEQ ID NO:9);

usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4) и cguaagaaGfuCfuGfauagauga (SEQ ID NO:10);

usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5) и gccuaggaCfaUfuuuugiauca (SEQ ID NO:12);

usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5) и gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (SEQ ID NO:13); или

usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7) и gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (SEQ ID NO:13);

где a, c, g, i и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин, инозиновый или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; s представляет фосфоротиоатную связь; и где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце и на 5' конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также включает направляющий лиганд, который ковалентно связан с 5' концом, где направляющий лиганд включает N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая включает последовательность нуклеотидных оснований, которая отличается 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из (5' → 3'):

UCAUCAUCAGACUUCUUA (SEQ ID NO:26);или

UGAUCCAAAAAUGUCCUAG (SEQ ID NO:41).

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая включает последовательность нуклеотидных оснований, которая отличается 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из (5' → 3'):

UCAUCAUCAGACUUCUUA (SEQ ID NO:26); и

UGAUCCAAAAAUGUCCUAG (SEQ ID NO:41);

где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь, которая включает последовательность нуклеотидных оснований, которая отличается 0 или 1 нуклеотидными основаниями от нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из (5' → 3'):

UCAUCAUCAGACUUCUUA (SEQ ID NO:26); или

UGAUCCAAAAAUGUCCUAG (SEQ ID NO:41);

где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами и где SEQ ID NO:26 или SEQ ID NO:41, соответственно, расположена в

нуклеотидных положениях 1-19 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, каждая из которых включает последовательности нуклеотидных оснований, которые отличаются 0 или 1 нуклеотидными основаниями от пар нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из (5' → 3'):

UCAUCUAUCAGACUUCUUA (SEQ ID NO:26) и UAAGAAGUCUGAUAGAUGA (SEQ ID NO:67);

UGAUCCAAAAAUGUCCUAG (SEQ ID NO:41) и CUAGGACAUUUUUGIAUCA (SEQ ID NO:86), где (I) представляет инозиновый нуклеотид.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, каждая из которых включает последовательности нуклеотидных оснований, которые отличаются 0 или 1 нуклеотидными основаниями от пар нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из (5' → 3'):

UCAUCUAUCAGACUUCUUA (SEQ ID NO:26) и UAAGAAGUCUGAUAGAUGA (SEQ ID NO:67);

UGAUCCAAAAAUGUCCUAG (SEQ ID NO:41) и CUAGGACAUUUUUGIAUCA (SEQ ID NO:86), где (I) представляет инозиновый нуклеотид; и

где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления, композиции, описанные в настоящем описании, содержащие один или более HSD17B13 РНКи агентов, упакованы в набор, контейнер, упаковку, диспенсер, наполненные шприцы или флаконы. В некоторых вариантах осуществления, композиции, описанные в настоящем описании, вводят парентерально, например, подкожной инъекцией.

Используемые в настоящем описании термины «олигонуклеотид» и «полинуклеотид» означают полимер связанных нуклеозидов, каждый из которых может быть независимо модифицирован или не модифицирован.

Используемый в настоящем описании, «РНКи агент» (также называемый «РНКи триггер») означает композицию, которая содержит РНК или РНК-подобные (например, химически модифицированные РНК) молекулы олигонуклеотида, которые способны нарушать или ингибировать (например, нарушать или ингибировать в подходящих условиях) трансляцию транскриптов информационной РНК (иРНК) иРНК-мишени в сиквенс-специфическим образом. Используемые в настоящем описании РНКи агенты могут действовать через механизм РНК-интерференции (т.е., вызывать РНК-интерференцию через взаимодействие с механизмом пути РНК-интерференции (RNA-индуцированным сайленсинг-комплексом или RISC) клеток млекопитающих) или альтернативные механизмы или пути. Хотя полагают, что РНКи агенты, как этот термин используется в настоящем описании, работают в первую очередь через механизм РНК-

интерференции, раскрытые РНКи агенты не связаны или не ограничены какими-либо конкретными путями или механизмами действия. РНКи агенты, описанные в настоящем описании, состоят из смысловой цепи и антисмысловой цепи и включают, но не ограничены ими: короткие (или малые) интерферирующие РНК (киРНК), двухцепочечные РНК (дцРНК), микро РНК (миРНК), короткие шпилечные РНК (кшРНК) и дайсер субстраты. Антисмысловая цепь РНКи агентов, описанных в настоящем описании, по меньшей мере, частично комплементарна иРНК, на которую направлена (т.е. HSD17B13 иРНК). РНКи агенты могут включать один или более модифицированных нуклеотидов и/или один или более не-фосфодиэфирных связей.

Используемые в настоящем описании термины «подавлять», «снижать», «ингибировать», «подавлять» или «выключать» в отношении экспрессии данного гена означает, что экспрессия гена, измеренная уровнем РНК, транскрибированной из гена, или уровнем полипептида, белка или белковой субъединицы, транслированной из иРНК в клетке, группе клеток, ткани, органе или субъекте, в котором транскрибирован ген, снижается, когда клетку, группу клеток, ткань, орган или субъекта обрабатывают РНКи агентами, описанными в настоящем описании, по сравнению со второй клеткой, группой клеток, тканью, органом или субъектом, который не был или не предназначен для такой обработки.

Используемые в настоящем описании термины «последовательность» и «нуклеотидная последовательность» означает последовательность или порядок нуклеотидных оснований или нуклеотидов, описанный последовательностью букв с применением стандартной номенклатуры.

Используемое в настоящем описании, «основание», «нуклеотидное основание» или «нуклеотидное основание» является гетероциклическим пиримидиновым или пуриновым соединением, которое является компонентом нуклеотида и включает первичные пуриновые основания аденин и гуанин, и первичные пиримидиновые основания цитозин, тимин и урацил. Нуклеотидное основание может быть дополнительно модифицировано так, чтобы включать, без ограничений, универсальные основания, гидрофобные основания, неизбирательные основания, расширенные по размеру основания и фторированные основания. (См., *например*, Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008). Синтез таких модифицированных нуклеотидных оснований (включая соединения фосфорамидита, которые включают модифицированные нуклеотидные основания) известен в данной области техники.

Используемый в настоящем описании и если не указано иначе, термин «комплементарный» при применении для описания первого нуклеотидного основания или нуклеотидной последовательности (например, смысловой цепи РНКи агента или направленной иРНК) по отношению ко второму нуклеотидному основанию или нуклеотидной последовательности (например, антисмысловой цепи РНКи агент или одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида), означает способность олигонуклеотида или полинуклеотида, включая первую нуклеотидную

последовательность, гибридизироваться (образовывать водородные связи пар оснований в физиологических условиях млекопитающих (или других подходящих *in vivo* или *in vitro* условий)) и образовывать дуплекс или двуспиральную структуру в определенных стандартных условиях с олигонуклеотидом, который включает вторую нуклеотидную последовательность. Специалист в данной области техники сможет выбрать набор условий, наиболее подходящих для тестирования гибридизации. Комплементарные последовательности включают пар оснований по Уотсону-Крику или пар оснований не по Уотсону-Крику и включают природные или модифицированные нуклеотиды или миметики нуклеотидов, по меньшей мере, до той степени, в которой удовлетворяются вышеуказанные требования к гибридизации. Идентичность последовательности или комплементарность не зависит от модификации. Например, а и Af, как определены в настоящем описании, комплементарны U (или T) и идентичны A для целей определения идентичности или комплементарности.

Используемый в настоящем описании термин «превосходно комплементарная» или «полностью комплементарная» означает, что в гибридизированной паре нуклеотидных оснований или молекуле нуклеотидной последовательности все (100%) оснований в непрерывной последовательности первого олигонуклеотида, который будет гибридизироваться в таком же количестве оснований в непрерывной последовательности второго олигонуклеотида. Непрерывная последовательность может содержать все или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.

Используемый в настоящем описании термин «частично комплементарна» означает, что в гибридизированной паре нуклеотидных оснований или молекулах нуклеотидных последовательностей, по меньшей мере, 70%, но не все основания в непрерывной последовательности первого олигонуклеотида будут гибридизироваться с таким же количеством оснований в непрерывной последовательности второго олигонуклеотида. Непрерывная последовательность может содержать все или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.

Используемый в настоящем описании термин «по существу комплементарная» означает, что в гибридизированной паре нуклеотидных оснований или молекулах нуклеотидных последовательностей, по меньшей мере, 85%, но не все основания в непрерывной последовательности первого олигонуклеотида будут гибридизироваться с таким же количеством оснований в непрерывной последовательности второго олигонуклеотида. Непрерывная последовательность может содержать все или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.

Используемые в настоящем описании термины «комплементарная» «полностью комплементарная» «частично комплементарная» и «по существу комплементарная» применяются в отношении нуклеотидных оснований или нуклеотидных совпадений между смысловой цепью и антисмысловой цепью РНКи агента или между антисмысловой цепью РНКи агента и последовательностью HSD17B13 иРНК.

Используемый в настоящем описании термин «по существу идентичная» или «по

существу идентичность», применяемый в отношении последовательности нуклеиновых кислот, означает нуклеотидную последовательность (или часть нуклеотидной последовательности) имеющую, по меньшей мере, приблизительно 85% идентичность последовательности или больше, например, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95% или, по меньшей мере, 99% идентичность по сравнению со ссылочной последовательностью. Долю идентичности последовательности определяют сравнением двух оптимально выровненных последовательностей в окне сравнения. Долю рассчитывают через определение количества положений, в которых одинаковый тип оснований нуклеиновых кислот имеется в обеих последовательностях с получением количества совпавших положений, деление количества совпавших положений на общее количество положений в окне сравнения и умножением результата на 100 с получением доли идентичности последовательности. Изобретение, описанное в настоящем описании, охватывает нуклеотидные последовательности, по существу идентичные тем, которые описаны в настоящем описании.

Используемые в настоящем описании термины «лечить», «лечение» и подобные означают способы или шаги, предпринимаемые для облегчения или ослабления количества, тяжести и/или частоты одного или более симптомов заболевания у субъекта. Используемый в настоящем описании термин «лечить» и «лечение» может включать профилактику, управление, профилактическое лечение и/или ингибирование или снижение количества, тяжести и/или частоты одного или более симптомов заболевания у субъекта.

Используемая в настоящем описании фраза «введение в клетку», относящаяся к РНКи агенту, означает функциональную доставку РНКи агента в клетку. Фраза «функциональная доставка» означает доставку РНКи агента в клетку таким образом, который позволяет РНКи агенту иметь ожидаемую биологическую активность, например, сиквенс-специфичное ингибирование экспрессии гена.

Если не указано иначе, символ ---^* , используемый в настоящем описании, означает любую группу или группы, которые могут быть связаны с ним, означает, что любая группа или группы могут быть связаны с ними в соответствии с объемом изобретений, описанных в настоящем описании.

Используемый в настоящем описании термин «изомеры» относится к соединениям, которые имеют идентичные молекулярные формулы, но отличаются по природе или последовательностью связывания их атомов или расположению их атомов в пространстве. Изомеры, которые отличаются расположением их атомов в пространстве, называют «стереоизомерами». Стереоизомеры, которые не являются зеркальным отображением друг друга, называются «диастереоизомерами», а стереоизомеры, которые являются неналагающимися зеркальными изображениями, называются «энантиомерами» или иногда оптическими изомерами. Атом углерода, связанный с четырьмя неидентичными заместителями, называется «хиральным центром».

Используемый в настоящем описании, если специально не указано, что структура

имеет конкретную конформацию, для каждой структуры, в которой присутствуют асимметричные центры и, таким образом, образуются энантиомеры, диастереомеры или другие стереоизомерные конфигурации, каждая структура в настоящем описании предназначена для представления всех таких возможных изомеров, включая их оптически чистые и рацемические формы. Например, структуры, описанные в настоящем описании, предназначены для охвата смесей диастереомеров, а также отдельных стереоизомеров.

В пункте формулы настоящего документа фраза «состоящий из» исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не указанные в пункте формулы. При использовании в пункте формулы изобретения в настоящем описании фраза «состоящий по существу из» ограничивает объем формулы указанными материалами или стадиями, а также теми, которые существенно не влияют на основные и новые характеристики заявленного изобретения.

Специалист в данной области легко поймет и оценит, что соединения и композиции, описанные в настоящем описании, могут иметь определенные атомы (например, атомы N, O или S) в протонированном или депротонированном состоянии, в зависимости от среды, в которую соединение или композиция помещена. Соответственно, используемые в настоящем описании структуры, описанные в настоящем описании, предусматривают, что определенные функциональные группы, такие как, например, OH, SH или NH, могут быть протонированы или депротонированы. Представленное в настоящем описании описание предназначено для охвата раскрытых соединений и композиций независимо от их состояния протонирования в зависимости от окружающей среды (например, pH), что будет понятно специалисту в данной области. Соответственно, следует понимать, что соединения, описанные в настоящем описании с лабильными протонами или основными атомами, представляют собой солевые формы соответствующего соединения. Соединения, описанные в настоящем описании, могут быть в форме свободной кислоты, свободного основания или соли. Следует понимать, что фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящем описании, входят в объем изобретения.

Используемый в настоящем описании термин «связанный» или «конъюгированный» применительно к связи между двумя соединениями или молекулами означает, что два соединения или молекулы соединены ковалентной связью. Если не указано иное, термины «связанный» и «конъюгированный», использованные в настоящем описании, могут относиться к связи между первым соединением и вторым соединением с или без любых промежуточных атомов или групп атомов.

Используемый в настоящем описании термин «включая» используется в настоящем описании взаимозаменяемо с фразой «включая, но не ограничиваясь ими». Термин «или» используется в настоящем описании взаимозаменяемо с термином «и/или», если контекст явно не указывает иное.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области. Хотя способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые

описаны в настоящем описании, могут использоваться на практике или при тестировании настоящего изобретения, подходящие способы и материалы описаны ниже. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие ссылки, упомянутые в настоящем описании, полностью включены в качестве ссылки полностью. В случае противоречия преимущественную силу имеет настоящее описание, включая определения. Кроме того, материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

Другие объекты, признаки, аспекты и преимущества изобретения будут очевидны из следующего подробного описания, прилагаемых чертежей и формулы изобретения.

Краткое описание чертежей

На **ФИГ. 1А - 1D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06214, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме свободной кислоты.

На **ФИГ. 2А - 2D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06280, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме свободной кислоты.

На **ФИГ. 3А - 3D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06187, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме свободной кислоты.

На **ФИГ. 4А - 4D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06276, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме свободной кислоты.

На **ФИГ. 5А - 5D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06277, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме свободной кислоты.

На **ФИГ. 6А - 6D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06214, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме натриевой соли.

На **ФИГ. 7А - 7D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06280, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме натриевой соли.

На **ФИГ. 8А - 8D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06187, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме натриевой соли.

На **ФИГ. 9А - 9D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06276, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме натриевой соли.

На **ФИГ. 10А - 10D**. Представлена химическая структура HSD17B13 РНКи агента AD06277, конъюгированная с тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом (NAG37)_s на 5' конце смысловой цепи, показанная в форме натриевой соли.

На **ФИГ.11А.** Представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловых и антисмысловых цепей HSD17B13 РНКи агента AD06214 (см. таблицы 3-5), конъюгированных с N-ацетилгалактозаминовым тридентатным лигандом, имеющим структуру (NAG37)s (см. таблицу 6; Фиг. 1 и 6). Следующие аббревиатуры применяют на фигурах 11А - 11Е: а, с, g, i и u являются 2'-О-метил-модифицированными нуклеотидами; Af, Cf, Gf и Uf являются 2'-фтор-модифицированные нуклеотиды; о является фосфодизфирной связью; s является фосфоротиоатной связью; invAb является инвертированными остатками с удаленным азотистым основанием; и (NAG37)s является тридентатным N-ацетилгалактозаминовым направляющим лигандом, имеющим структуру, изображенную в таблице 6. На Фиг. 11А описаны SEQ ID NOs: 2 и 14.

На **ФИГ.11В.** Представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловых и антисмысловых цепей HSD17B13 РНКи агента AD06280 (см. Таблицы 3-5), конъюгированных с N-ацетилгалактозаминовым тридентатным лигандом, имеющим структуру (NAG37)s (см. таблицу 6). На Фиг. 11В описаны SEQ ID NOs: 4 и 15.

На **ФИГ.11С.** Представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловых и антисмысловых цепей HSD17B13 РНКи агента AD06187 (см. Таблицы 3-5), конъюгированных с N-ацетилгалактозаминовым тридентатным лигандом, имеющим структуру (NAG37)s (см. таблицу 6). На Фиг. 11С описаны SEQ ID NOs: 5 и 16.

На **ФИГ.11D.** Представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловых и антисмысловых цепей HSD17B13РНКи агента AD06276 (см. Таблицы 3-5), конъюгированных с N-ацетилгалактозаминовым тридентатным лигандом, имеющим структуру (NAG37)s (см. таблицу 6). На Фиг. 11D описаны SEQ ID NOs: 5 и 17.

ФИГ.11Е. Представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловых и антисмысловых цепей HSD17B13 РНКи агента AD06277 (см. Таблицы 3-5), конъюгированных с N-ацетилгалактозаминовым тридентатным лигандом, имеющим структуру (NAG37)s (см. таблицу 6). На Фиг. 11D описаны SEQ ID NOs: 7 и 17.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

РНКи агенты

В настоящем описании описаны РНКи агенты для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена (обозначенные в настоящем описании как HSD17B13 или 17 β -HSD13 РНКи агенты или HSD17B13 или 17 β -HSD13 РНКи триггеры). Каждый HSD17B13 РНКи агент содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь. Каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи может быть 16-49 нуклеотидов в длину. Смысловая и антисмысловая цепи могут либо иметь одинаковую длину, либо могут иметь разные длины. В некоторых вариантах осуществления, каждая из смысловой и антисмысловой цепи независимо имеет 17-27 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, каждая из смысловой и антисмысловой цепи независимо имеет 19-21 нуклеотид в длину. В некоторых вариантах осуществления, обе, смысловая и антисмысловая цепи, имеют 21-26 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, каждая из смысловой и антисмысловой цепи имеет 21-24 нуклеотида в длину. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь имеет

приблизительно 19 нуклеотидов в длину, а антисмысловая цепь имеет приблизительно 21 нуклеотид в длину. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь имеет приблизительно 21 нуклеотид в длину, а антисмысловая цепь имеет приблизительно 23 нуклеотида в длину. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь имеет 23 нуклеотида в длину и антисмысловая цепь имеет 21 нуклеотид в длину. В некоторых вариантах осуществления, обе, смысловая и антисмысловая цепи, имеют 21 нуклеотид в длину. В некоторых вариантах осуществления, каждая из смысловой и антисмысловой цепей РНКи агента независимо имеет 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 или 27 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, двухцепочечный РНКи агент имеет дуплекс длиной приблизительно 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 нуклеотида.

Примеры нуклеотидных последовательностей, используемых при формировании HSD17B13 РНКи агентов, представлены в Таблицах 2, 3 и 4. Примеры дуплексов РНКи агентов, которые включают последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи из Таблиц 2, 3 и 4, показаны в таблице 5, а также изображены на фигурах 1А - 10D и фигурах 11А - 11Е.

В некоторых вариантах осуществления, область превосходной, существенной или частичной комплементарности между смысловой цепью и антисмысловой цепью имеет 16-26 (например, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26) нуклеотидов в длину, и находится на или рядом с 5' концом антисмысловой цепи (например, эта область может быть отделена от 5' конца антисмысловой цепи 0, 1, 2, 3 или 4 нуклеотидами, которые не являются превосходно, по существу или частично комплементарными).

Смысловая цепь HSD17B13 РНКи агентов, описанных в настоящем описании, включает, по меньшей мере, 16 последовательных нуклеотидов, которые имеют, по меньшей мере, 85% идентичность коровой удлиняющей последовательности (также названной в настоящем описании как «коровое удлинение» или «коровая последовательность») с тем же количеством нуклеотидов в HSD17B13 иРНК. В некоторых вариантах осуществления, коровая удлиняющая последовательность смысловой цепи на 100% (превосходно) комплементарна или, по меньшей мере, на приблизительно 85% (по существу) комплементарна коровой удлиняющей последовательности в антисмысловой цепи и, таким образом, коровая удлиняющая последовательность смысловой цепи обычно превосходно идентична или, по меньшей мере, приблизительно на 85% идентична нуклеотидной последовательности той же длины (иногда называемой, *например*, последовательностью-мишенью), присутствующей в HSD17B13 иРНК мишени. В некоторых вариантах осуществления, эта смысловая цепь корового удлинения имеет 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотида в длину. В некоторых вариантах осуществления, эта смысловая цепь корового удлинения имеет 17 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, эта смысловая цепь корового удлинения имеет 19 нуклеотидов в длину.

Антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании, включает, по меньшей мере, 16 последовательных нуклеотидов, которые имеют, по меньшей мере, 85% комплементарность коровому удлинению с тем же количеством

нуклеотидов в HSD17B13 иРНК и коровому удлинению с тем же количеством нуклеотидов в соответствующей смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, коровое удлинение антисмысловой цепи на 100% (превосходно) комплементарно или, по меньшей мере, на приблизительно 85% (по существу) комплементарно нуклеотидной последовательности (*например*, последовательности-мишени) той же длины, присутствующей в HSD17B13 иРНК мишени. В некоторых вариантах осуществления, это коровое удлинение антисмысловой цепи имеет 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотида в длину. В некоторых вариантах осуществления, это коровое удлинение антисмысловой цепи имеет 19 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, это коровое удлинение антисмысловой цепи имеет 17 нуклеотидов в длину. Коровая удлиняющая последовательность смысловой цепи может иметь ту же длину, что и соответствующая антисмысловая коровая последовательность, или она может иметь другую длину.

Смысловая и антисмысловая цепи HSD17B13 РНКи агента ренатурируют с образованием дуплекса. Смысловая цепь и антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента могут быть частично, по существу или полностью комплементарны друг другу. В комплементарной дуплексной области, коровая удлиняющая последовательность смысловой цепи на, по меньшей мере, 85% комплементарна или на 100% комплементарна антисмысловой коровой удлиняющей последовательности. В некоторых вариантах осуществления, коровая удлиняющая последовательность смысловой цепи содержит последовательность из, по меньшей мере, 16, по меньшей мере, 17, по меньшей мере, 18, по меньшей мере, 19, по меньшей мере, 20, по меньшей мере, 21, по меньшей мере, 22 или по меньшей мере, 23 нуклеотидов, которая на, по меньшей мере, 85% или 100% комплементарна соответствующей 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотидной последовательности коровой удлиняющей последовательности антисмысловой цепи (т.е., смысловой и антисмысловой коровым удлиняющим последовательностям HSD17B13 РНКи агента, имеющего область из, по меньшей мере, 16, по меньшей мере, 17, по меньшей мере, 18, по меньшей мере, 19, по меньшей мере, 20, по меньшей мере, 21, по меньшей мере, 22 или по меньшей мере, 23 нуклеотидов, которые имеют, по меньшей мере, 85% спаренных оснований или 100% спаренных оснований.)

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов от любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов от любой из последовательностей смысловой цепи в таблице 2 или таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь и/или антисмысловая цепь может необязательно и независимо содержать дополнительные 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов (удлинение) на 3' конце, 5' конце или обоих 3' и 5' концах коровой удлиняющей последовательности. Дополнительные нуклеотиды антисмысловой цепи, если присутствуют, могут быть или не быть комплементарными соответствующей

последовательности в HSD17B13 иРНК. Дополнительные нуклеотиды смысловой цепи, если присутствуют, могут быть или не быть идентичны соответствующей последовательности в HSD17B13 иРНК. Дополнительные нуклеотиды антисмысловой цепи, если присутствуют, могут быть или не быть комплементарны соответствующим дополнительным нуклеотидам смысловой цепи, если присутствуют.

Используемый в настоящем описании, удлинение содержит 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов на 5' и/или 3' конце коровой удлиняющей последовательности смысловой цепи и/или коровой удлиняющей последовательности антисмысловой цепи. Удлиняющие нуклеотиды на смысловой цепи могут быть или не быть комплементарны нуклеотидам либо коровой удлиняющей последовательности нуклеотидов, либо удлиняющим нуклеотидам, в соответствующей антисмысловой цепи. Наоборот, удлиняющие нуклеотиды на антисмысловой цепи могут быть или не быть комплементарны нуклеотидам либо нуклеотидам корового удлинения, либо удлиняющим нуклеотидам в соответствующей смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, и смысловая цепь, и антисмысловая цепь РНКи агента содержит 3' и 5' удлинения. В некоторых вариантах осуществления, один или более нуклеотидов 3' удлинения одной цепи образуют пары оснований с одним или более нуклеотидами 5' удлинения другой цепи. В других вариантах осуществления, один или более нуклеотидов 3' удлинения на одной цепи не образуют пары оснований с одним или более нуклеотидами 5' удлинения на другой цепи. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент имеет антисмысловую цепь, имеющую 3' удлинение, и смысловую цепь, имеющую 5' удлинение. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид(ы) удлинения не спарены и образуют «липкий» конец. Используемый в настоящем описании термин «липкий конец» относится к удлинению одного или более неспаренных нуклеотидов, расположенных на концевой области либо смысловой цепи, либо антисмысловой цепи, которое не образует часть гибридизированной или дуплексной части РНКи агента, описанного в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит антисмысловую цепь, имеющую 3' удлинение из 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов в длину. В других вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит антисмысловую цепь, имеющую 3' удлинение из 1, 2 или 3 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, один или более удлиняющих нуклеотидов антисмысловой цепи содержат нуклеотиды, которые комплементарны соответствующей HSD17B13 иРНК последовательности. В некоторых вариантах осуществления, один или более удлиняющих нуклеотидов антисмысловой цепи содержит нуклеотиды, которые не комплементарны соответствующим HSD17B13 иРНК последовательностям.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит смысловую цепь, имеющую 3' удлинение из 1, 2, 3, 4 или 5 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, один или более удлиняющих нуклеотидов смысловой цепи содержит аденозиновый, урациловый или тимидиновый нуклеотиды, АТ динуклеотид или нуклеотиды, которые соответствуют или являются идентичными нуклеотидам в

HSD17B13 иРНК последовательности. В некоторых вариантах осуществления, 3' удлинение смысловой цепи включает или состоит из одной из следующих последовательностей, но не ограничено ими: T, UT, TT, UU, UUT, TTT или TTTT (каждая перечислена от 5' к 3').

Смысловая цепь может иметь 3' удлинение и/или 5' удлинение. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит смысловую цепь, имеющую 5' удлинение из 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления, один или более нуклеотидов удлинения смысловой цепи содержит нуклеотиды, которые соответствуют или идентичны нуклеотидам в HSD17B13 иРНК последовательности. В некоторых вариантах осуществления, 5' удлинением смысловой цепи является одна из следующих последовательностей, но не ограничена ими: CA, AUAGGC, AUAGG, AUAG, AUA, A, AA, AC, GCA, GGCA, GGC, UAUCA, UAUC, UCA, UAU, U, UU (каждая перечислена от 5' к 3').

Примеры последовательностей, используемых в формировании HSD17B13 РНКи агентов, представлены в Таблицах 2, 3 и 4. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 антисмысловая цепь РНКи агента включает последовательность по любой из последовательностей в таблицах 2 или 3. В определенных вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит или состоит из любой из модифицированных последовательностей в таблице 3. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента включает последовательность нуклеотидов (5' конец → 3' конец) 1-17, 2-15, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21 или 2-21, из любой из последовательностей в Таблицах 2 или 3. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента включает последовательность по любой из последовательностей в таблицах 2 или 4. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента включает последовательность нуклеотидов (5' конец → 3' конец) 1-18, 1-19, 1-20, 1-21, 2-19, 2-20, 2-21, 3-20, 3-21 или 4-21 из любой из последовательностей в Таблице 2 или 4. В определенных вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит или состоит из модифицированных последовательностей в таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи РНКи агентов, описанных в настоящем описании, содержат одинаковое количество нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи РНКи агентов, описанных в настоящем описании, содержат разные количества нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь 5' конца и антисмысловая цепь 3' конца РНКи агента образуют тупой конец. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь 3' конца и антисмысловая цепь 5' конца РНКи агента образуют тупой конец. В некоторых вариантах осуществления, оба конца РНКи агента образуют тупые концы. В некоторых вариантах осуществления, ни один из концов РНКи агента не является тупым концом. Используемый в настоящем описании термин «тупой конец» относится к концу двухцепочечного РНКи агента, в котором концевые нуклеотиды двух ренатурированных

цепей являются комплементарными (образуют комплементарную пару оснований).

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь 5' конца и антисмысловая цепь 3' конца РНКи агента образуют истрепанный конец. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь 3' конца и антисмысловая цепь 5' конца РНКи агента образуют истрепанный конец. В некоторых вариантах осуществления, оба конца РНКи агента образуют истрепанный конец. В некоторых вариантах осуществления, ни один из концов РНКи агента не является истрепанным концом. Используемый в настоящем описании истрепанный конец относится к концу двухцепочечного РНКи агента, где концевые нуклеотиды двух ренатурированных цепей образуют пару (т.е., не образуют «липкий» конец) но не являются комплементарными (т.е. образуют не комплементарную пару). В некоторых вариантах осуществления, один или более неспаренных нуклеотидов на конце одной цепи двухцепочечного РНКи агента образует «липкий» конец. Неспаренные нуклеотиды могут быть на смысловой цепи или антисмысловой цепи, создавая либо 3' либо 5' «липкие» концы. В некоторых вариантах осуществления, РНКи агент содержит: тупой конец и истрепанный конец, тупой конец и 5' «липкий» конец, тупой конец и 3' «липкий» конец, истрепанный конец и 5' «липкий» конец, истрепанный конец и 3' «липкий» конец, два 5' «липких» конца, два 3' «липких» конца, 5' «липкий» конец и 3' «липкий» конец, два истрепанных конца или два тупых конца. Обычно, если присутствуют, «липкие» концы расположены на 3' концах смысловой цепи, антисмысловой цепи или и смысловой цепи и антисмысловой цепи.

HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, также могут содержать один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, по существу все нуклеотиды смысловой цепи и по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи HSD17B13 РНКи агента являются модифицированными нуклеотидами. HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, могут дополнительно содержать одну или несколько модифицированных интруклеозидных связей, например, одну или несколько фосфоротиоатных связей. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит один или более модифицированных нуклеотидов и один или более модифицированных интернуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления, 2'-модифицированный нуклеотид объединен с модифицированной интернуклеозидной связью.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент получают или представляют в виде соли, смешанной соли или свободной кислоты. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент получают в виде натриевой соли. Такие формы хорошо известны в данной области техники и включены в объем изобретений, описанных в настоящем описании.

Модифицированные нуклеотиды

Модифицированные нуклеотиды, при применении в разных олигонуклеотидных конструктах, могут сохранить активность соединения в клетках, в то же время повышая стабильность этих соединений в сыворотке, а также могут минимизировать возможность

активации активности интерферона у человека при введении олигонуклеотидного конструкта.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит один или более модифицированных нуклеотидов. Используемый в настоящем описании термин «модифицированный нуклеотид» представляет нуклеотид, отличный от рибонуклеотида (2'-гидроксилнуклеотида). В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50% (например, по меньшей мере, 60%, по меньшей мере, 70%, по меньшей мере, 80%, по меньшей мере, 90%, по меньшей мере, 95%, по меньшей мере, 97%, по меньшей мере, 98%, по меньшей мере, 99% или 100%) нуклеотидов являются модифицированными нуклеотидами. Используемый в настоящем описании термин модифицированные нуклеотиды может включать, но не ограничен ими, дезоксирибонуклеотиды, миметики нуклеотидов, нуклеотиды с удаленным азотистым основанием, 2'-модифицированные нуклеотиды, инвертированные нуклеотиды, нуклеотиды, содержащие модифицированное нуклеотидное основание, мостиковые нуклеотиды, пептидные нуклеиновые кислоты (PNA), миметики 2',3'-секонуклеотида (разомкнутые аналоги нуклеотидных оснований), замкнутые нуклеотиды, 3'-О-метокси (2' интернуклеозид-связанные) нуклеотиды, 2'-F-арабинонуклеотиды, 5'-Me, 2'-фторнуклеотид, морфолино нуклеотиды, винилфосфонат дезоксирибонуклеотиды, винилфосфонат-содержащие нуклеотиды и циклопропилфосфонат-содержащие нуклеотиды. 2'-модифицированные нуклеотиды (*m.e.*, нуклеотид с группой, отличной от гидроксильной группы, в положении 2' пятичленного сахарного кольца) включают, но не ограничены ими, 2'-О-метилнуклеотиды, 2'-фторнуклеотиды (также называемые в настоящем описании 2'-деокси-2'-фторнуклеотиды), 2'-деоксинуклеотиды, 2'-метоксиэтил (2'-О-2-метоксилэтил) нуклеотиды (также называемые 2'-МОЕ), 2'-аминонуклеотиды и 2'-алкилнуклеотиды. Нет необходимости в том, чтобы все положения в данном соединении были однородно модифицированы. Наоборот, более одной модификации могут быть введены в один HSD17B13 РНКи агент или даже в его отдельный нуклеотид. Смысловые цепи и антисмысловые цепи HSD17B13 РНКи агента могут быть синтезированы и/или модифицированы способами, известным в данной области техники. Модификация на одном нуклеотиде не зависит от модификации на другом нуклеотиде.

Модифицированные нуклеотидные основания включают синтетические и натуральные нуклеотидные основания, такие как 5-замещенные пиримидины, 6-азапиримидины и N-2, N-6 и O-6-замещенные пурины (например, 2-аминопропиладенин, 5-пропинилурацил или 5-пропинилцитозин), 5-метилцитозин (5-me-C), 5-гидроксиметилцитозин, инозин, ксантин, гипоксантин, 2-аминоаденин, 6-алкильные (например, 6-метильные, 6-этильные, 6-изопропильные или 6-н-бутильные) производные аденина и гуанина, 2-алкильные (например, 2-метильные, 2-этильные, 2-изопропильные или 2-н-бутильные) и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-тиоурацил, 2-тиотимин, 2-тиоцитозин, 5-галоурацил, цитозин, 5-пропинилурацил, 5-пропинилцитозин, 6-азоурацил, 6-азоцитозин, 6-азотимин, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тиоурацил, 8-гало, 8-

амино, 8-сульфгидрил, 8-тиоалкил, 8-гидроксиил и другие 8-замещенные аденины и гуанины, 5-галоген (например, 5-бром), 5-трифторметил и другие 5-замещенные урацилы и цитозины, 7-метилгуанин и 7-метиладенин, 8-азагуанин и 8-азааденин, 7-деазагуанин, 7-деазааденин, 3-деазагуанин и 3-деазааденин.

В некоторых вариантах осуществления, 5' и/или 3' конец антисмысловой цепи может включать остатки с удаленными азотистыми основаниями (Ab), которые также могут быть обозначены как «участок с удаленными азотистыми основаниями» или «нуклеотид с удаленными азотистыми основаниями». Остатком с удаленными азотистыми основаниями (Ab) является нуклеотид или нуклеозид, который не имеет нуклеотидное основание в 1' положении сахарной группы (см., *например*, патент США № 5,998,203). В некоторых вариантах осуществления, остаток с удаленными азотистыми основаниями может быть помещен внутри нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления, Ab или AbAb может быть добавлен на 3' конец антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, 5' конец смысловой цепи может включать один или более дополнительных остатков с удаленными азотистыми основаниями (например, (Ab) или (AbAb)). В некоторых вариантах осуществления, UUAб, UAб или Ab добавляются к 3' концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, остаток с удаленными азотистыми основаниями (деоксирибоза) может быть замещен рибитовым (рибозой с удаленными азотистыми основаниями) остатком.

В некоторых вариантах осуществления, все или по существу все нуклеотиды РНКи агента являются модифицированными нуклеотидами. Используемый в настоящем описании, РНКи агент, где по существу все присутствующие нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, является РНКи агентом, имеющим четыре или меньше (т.е., 0, 1, 2, 3 или 4) нуклеотида в обеих смысловых цепях, антисмысловые цепи являются рибонуклеотидами (т.е., не модифицированы). Используемая в настоящем описании смысловая цепь, где по существу все присутствующие нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, является смысловой цепью, имеющей два или меньше (т.е., 0, 1 или 2) нуклеотида в смысловой цепи, являющихся не модифицированными рибонуклеотидами. Используемая в настоящем описании антисмысловая смысловая цепь, где по существу все присутствующие нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, является антисмысловой цепью, имеющей два или меньше (т.е., 0, 1 или 2) нуклеотидов в смысловой цепи, являющихся не модифицированными рибонуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления, один или более нуклеотидов РНКи агента являются не модифицированными рибонуклеотидами.

Модифицированные интернуклеозидные связи

В некоторых вариантах осуществления, один или более нуклеотидов HSD17B13 РНКи агента связаны нестандартными связями или остовами (т.е., модифицированными интернуклеозидными связями или модифицированными скелетами). Модифицированные интернуклеозидные связи или остовы включают, но не ограничены ими, фосфоротионатные группы (представленные в настоящем описании строчными буквами «s»), хиральные

фосфоротиоаты, тиофосфаты, фосфородитиоаты, фосфотриэфиры, аминокилфосфотриэфиры, алкилфосфонаты (например, метилфосфонаты или 3'-алкиленфосфонаты), хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфорамидаты (например, 3'-аминофосфорамидат, аминокилфосфорамидаты или тионофосфорамидаты), тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры, морфолино связи, боранофосфаты, имеющие в норме 3'-5' связей, 2'-5'-связанные аналоги боранофосфатов или боранофосфаты, имеющие инвертированную полярность, где соседние пары нуклеозидных единиц связаны от 3'-5' до 5'-3' или от 2'-5' до 5'-2'. В некоторых вариантах осуществления, модифицированные интернуклеозидные связи или скелеты не имеют атом фосфора. Модифицированные интернуклеозидные связи, не имеющие атом фосфора, включают, но не ограничены ими, короткоцепочечные алкильные или циклоалкильные межсахарные связи, смешанные гетероатомные и алкильные или циклоалкильные межсахарные связи или одну или несколько короткоцепочечных гетероатомных или гетероциклических межсахарных связей. В некоторых вариантах осуществления, модифицированные интернуклеозидные остовы включают, но не ограничены ими, силоксановые остовы, сульфидные остовы, сульфоксидные остовы, сульфоновые остовы, формацетильные и тиоформацетильные остовы, метиленформацетильные и тиоформацетильные остовы, алкенсодержащие остовы, сульфаматные остовы, метиленимино и метиленигидразино остовы, сульфонатные и сульфонамидные остовы, амидные остовы и другие остовы, имеющие смешанные N, O, S и CH₂ компоненты.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных связей, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных связей или обе, смысловая цепь и антисмысловая цепь независимо могут содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных связей. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента может содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатные связи, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента может содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатные связи или обе, смысловая цепь и антисмысловая цепь, независимо могут содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатные связи.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит, по меньшей мере, две фосфоротиоатные интернуклеозидные связи. В некоторых вариантах осуществления, фосфоротиоатные интернуклеозидные связи находятся между нуклеотидами в положениях 1-3 от 3' конца смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, одна фосфоротиоатная интернуклеозидная связь находится на 5' конце нуклеотидной последовательности смысловой цепи, и другая фосфоротиоатная связь находится на 3' конце нуклеотидной последовательности смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, две фосфоротиоатные интернуклеозидные связи расположены на 5' конце смысловой цепи, и другая фосфоротиоатная связь находится на 3' конце смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь не включает каких-либо фосфоротиоатных интернуклеозидных связей между нуклеотидами, но

содержит одну, две или три фосфоротиоатные связи между концевыми нуклеотидами на обоих 5' и 3' концах и необязательно присутствуют концевые кэпы инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием. В некоторых вариантах осуществления, направляющий лиганд связан со смысловой цепью через фосфоротиоатную связь.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит четыре фосфоротиоатные интернуклеозидные связи. В некоторых вариантах осуществления, четыре фосфоротиоатные интернуклеозидные связи расположены между нуклеотидами в положениях 1-3 от 5' конца антисмысловой цепи и между нуклеотидами в положениях 19-21, 20-22, 21-23, 22-24, 23-25 или 24-26 от 5' конца. В некоторых вариантах осуществления, три фосфоротиоатные интернуклеозидные связи расположены между положениями 1-4 от 5' конца антисмысловой цепи и четыре фосфоротиоатные интернуклеозидные связи расположены между положениями 20-21 от 5' конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит, по меньшей мере, три или четыре фосфоротиоатных интернуклеозидных связей в антисмысловой цепи.

Кэпирующие остатки или группы

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь может включать один или более кэпирующих остатков или групп, иногда называемых в данной области техники «кэп», «концевой кэп» или «кэпирующий остаток». Используемый в настоящем описании, «кэпирующий остаток» является не нуклеотидным соединением или другой группой, которая может быть введена на одном или нескольких концах нуклеотидной последовательности РНКи агента, описанного в настоящем описании. Кэпирующий остаток может давать РНКи агент, в некоторых случаях, с определенными благоприятными свойствами, такими как, например, защита от разложения экзонуклеазы. В некоторых вариантах осуществления, инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием (invAb) (также называемые в данной области техники «инвертированные участки с удаленными азотистыми основаниями») добавляют в качестве кэпирующих остатков (см. таблицу А). (См., например, F. Czauderna, *Nucleic Acids Res.*, 2003, 31(11), 2705-16). Кэпирующие остатки обычно известны в данной области техники и включают, например, инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием, а также углеродные цепи, такие как концевые C₃H₇ (пропильные), C₆H₁₃ (гексильные) или C₁₂H₂₅ (додецильные) группы. В некоторых вариантах осуществления, кэпирующий остаток присутствует в любой из 5' концевой области, 3' концевой области или обеих, 5' и 3', концевых областях смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, 5' конец и/или 3' конец смысловой цепи может включать более чем одну инвертированную дезоксирибозную группу с удаленным азотистым основанием в качестве кэпирующего остатка.

В некоторых вариантах осуществления, один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием (invAb) добавляют к 3' концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием (invAb) добавляют к 5' концу смысловой цепи. В

некоторых вариантах осуществления, один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием или инвертированный участок с удаленными азотистыми основаниями вставляют между направляющим лигандом и нуклеотидной последовательностью смысловой цепи РНКи агента. В некоторых вариантах осуществления, включение одного или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием или инвертированного участка с удаленными азотистыми основаниями в или рядом с концевой областью или концевыми областями смысловой цепи РНКи агента позволяет улучшить активность или другие желаемые свойства РНКи агента.

В некоторых вариантах осуществления, один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием (invAb) добавляют к 5' концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием могут быть вставлены между направляющим лигандом и нуклеотидной последовательностью смысловой цепи РНКи агента. Инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием могут быть связаны через фосфатные, фосфоротиоатные (например, показанные в настоящем описании как (invAb)s)) или другими интернуклеозидными связями. В некоторых вариантах осуществления, включение одного или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием в или рядом с концевой областью или концевыми областями смысловой цепи РНКи агента может позволить улучшить активность или другие желаемые свойства РНКи агента. В некоторых вариантах осуществления, инвертированный остаток с удаленным азотистым основанием (деоксирибоза) может быть замещен инвертированным рибитовым (рибозой с удаленным азотистым основанием) остатком. В некоторых вариантах осуществления, 3' конец коровой удлиняющей последовательности антисмысловой цепи или 3' конец последовательности антисмысловой цепи, может включать инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием. Химические структуры инвертированных деоксирибозных остатков с удаленным азотистым основанием показаны в таблице 6 ниже, а также в химических структурах, показанных на фигурах 1A - 10D.

HSD17B13 РНКи агенты

HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, разработаны для направления на определенные положения на HSD17B13 гене (SEQ ID NO:1). Как определено в настоящем описании, последовательность антисмысловой цепи создана для направления на HSD17B13 ген в данном положении гена, когда 5' концевые нуклеотидные основания антисмысловой цепи выровнены с положением, которое находится на 21 нуклеотид ниже (в направлении 3' конца) от положения гена при спаривании основания с геном. Например, как показано в Таблицах 1 и 2 в настоящем описании, последовательность антисмысловой цепи, созданная для направления на HSD17B13 ген в положении 499, требует того, чтобы при спаривании основания с геном, 5' концевое нуклеотидное основание антисмысловой цепи было выровнено с положением 519 HSD17B13 гена.

Как представлено в настоящем описании, HSD17B13 РНКи агент не требует того, чтобы нуклеотидное основание в положении 1 (5' → 3') антисмысловой цепи было

комплементарно гену, при условии, что существует, по меньшей мере, 85% комплементарность (например, по меньшей мере, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% комплементарность) антисмысловой цепи и гена от края до края коровой удлиняющей последовательности из, по меньшей мере, 16 последовательных нуклеотидов. Например, для HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании, который создан для направления на положение 499 HSD17B13 гена, 5' концевое нуклеотидное основание антисмысловой цепи HSD17B13 РНКи агента должно быть выровнено с положением 519 гена; однако, 5' концевое нуклеотидное основание антисмысловой цепи может быть, но не обязательно, комплементарно положению 519 HSD17B13 гена, при условии, что существует, по меньшей мере, 85% комплементарность (например, по меньшей мере, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% комплементарность) антисмысловой цепи и гена от края до края коровой удлиняющей последовательности из, по меньшей мере, 16 последовательных нуклеотидов. Как показано, среди прочего, в разных примерах, описанных в настоящем описании, конкретный сайт связывания гена антисмысловой цепью HSD17B13 РНКи агента (например, предназначен ли агент HSD17B13 РНКи для нацеливания на ген HSD17B13 в положении 499, в положении 791, в положении 513 или в каком-либо другом положении) является важным для уровня ингибирования, достигаемого HSD17B13 РНКи агентом.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, направлены на HSD17B13 ген в или рядом с положениями последовательности HSD17B13 гена, показанной в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании, включает коровую удлиняющую последовательность, которая полностью, по существу или, по меньшей мере, частична комплементарна HSD17B13 19-mer последовательности-мишени, описанной в таблице 1.

Таблица 1. HSD17B13 19-mer и РНК последовательности-мишени (взяты из гидроксистероидной 17-бета дегидрогеназы 13 (HSD17B13) *homo sapiens*, транскрипт вариант А, GenBank NM_178135.4 (SEQ ID NO:1))

SEQ ID No.	HSD17B13 19-mer последовательности-мишени (5'→3')	Соответствующие положения последовательности на SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени (указанное в настоящем описании)
18	UAAGAAGUCUGAUAGA UGG	793-811	791
19	GAUCACAAAAGCACUUC UU	515-533	513
20	CUAGGACAUUUUUGGA UCA	501-519	499

SEQ ID No.	HSD17B13 19-mer последовательности-мишени (5' → 3')	Соответствующие положения последовательности на SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени (указанное в настоящем описании)
21	AGGUCAACAUCCUAGGACA	490-508	488
22	CGGUGCAACUCUAUUCUGG	1503-1521	1501
23	CAACAUCCUAGGACAUUUU	494-512	492
24	AUUAUGGCCUGUAUUGGAG	761-779	759

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент включает антисмысловую цепь, где положение 19 антисмысловой цепи (5' → 3') способно образовывать пару оснований с положением 1 19-мер последовательности-мишени, описанной в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент включает антисмысловую цепь, где положение 1 антисмысловой цепи (5' → 3') способно образовывать пару оснований с положением 19 19-мер последовательности-мишени, описанной в таблице 1.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент включает антисмысловую цепь, где положение 2 антисмысловой цепи (5' → 3') способно образовывать пару оснований с положением 18 19-мер последовательности-мишени, описанной в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент включает антисмысловую цепь, где положения 2-18 антисмысловой цепи (5' → 3') способны образовывать пару оснований с каждым из соответствующих комплементарных оснований, расположенных в положениях 18-2 19-мер последовательности-мишени, описанной в таблице 1.

Для РНКи агентов, описанных в настоящем описании, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5' конец → 3' конец) может быть превосходно комплементарным к HSD17B13 гену, или может быть не комплементарным HSD17B13 гену. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5' конец → 3' конец) является U, A или dT. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5' конец → 3' конец) образует пару оснований A:U или U:A со смысловой цепью.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит последовательность нуклеотидов (5' конец → 3' конец) 2-18, 2-19, 2-20 или 2-21 любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи смысловая цепь содержит

последовательность нуклеотидов (5' конец → 3' конец) 3-21, 2-21, 1-21, 3-20, 2-20, 1-20, 3-19, 2-19, 2-19, 2-18 или 1-18, любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2 или таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит (i) антисмысловую цепь, содержащую последовательность нуклеотидов (5' конец → 3' конец) 2-18 или 2-19 любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2 или таблице 3 и (ii) смысловую цепь, содержащую последовательность нуклеотидов (5' конец → 3' конец) 3-21, 2-21, 1-21, 3-20, 2-20, 1-20, 3-19, 2-19, 2-19, 2-18 или 1-18 любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2 или таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агенты включают коровые 19-мер нуклеотидные последовательности, показанные в следующей таблице 2.

Таблица 2. Антисмысловая цепь и смысловая цепь последовательностей корового удлиняющего основания HSD17B13 РНКи агента
(N=любое нуклеотидное основание; I=гипоксантиновый (инозиновый нуклеотид))

SEQ ID No.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (Показана как немодифицированная нуклеотидная последовательность)	SEQ ID No.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (Показана как немодифицированная нуклеотидная последовательность)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности на SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
25	CCAUCUAUCAGACUUCUUA	66	UAAGAAGUCUGAUAGAUGG	793-811	791
26	UCAUCUAUCAGACUUCUUA	67	UAAGAAGUCUGAUAGAUGA	793-811	791
27	NCAUCUAUCAGACUUCUUA	68	UAAGAAGUCUGAUAGAUGN	793-811	791
28	NCAUCUAUCAGACUUCUUN	69	NAAGAAGUCUGAUAGAUGN	793-811	791
25	CCAUCUAUCAGACUUCUUA	70	UAAGAAGUCUGAUAGAUIG	793-811	791
26	UCAUCUAUCAGACUUCUUA	71	UAAGAAGUCUGAUAGAUIA	793-811	791
27	NCAUCUAUCAGACUUCUUA	72	UAAGAAGUCUGAUAGAUIN	793-811	791
28	NCAUCUAUCAGACUUCUUN	73	NAAGAAGUCUGAUAGAUIN	793-811	791
25	CCAUCUAUCAGACUUCUUA	74	UAAGAAGUCUGAUAI AUGG	793-811	791
26	UCAUCUAUCAGACUUCUUA	75	UAAGAAGUCUGAUAI AUGA	793-811	791
27	NCAUCUAUCAGACUUCUUA	76	UAAGAAGUCUGAUAI AUGN	793-811	791
28	NCAUCUAUCAGACUUCUUN	77	NAAGAAGUCUGAUAI AUGN	793-811	791
37	AAGAAGUGC UUUUGUGAUC	78	GAUCACAAAAGCACUUCUU	515-533	513
38	UAGAAGUGC UUUUGUGAUC	79	GAUCACAAAAGCACUUCUA	515-533	513
39	NAGAAGUGC UUUUGUGAUC	80	GAUCACAAAAGCACUUCUN	515-533	513

SEQ ID No.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (Показана как немодифицированная нуклеотидная последовательность)	SEQ ID No.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (Показана как немодифицированная нуклеотидная последовательность)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности на SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
40	NAGAAGUGCUUUUGUGAUN	81	NAUCACAAAAGCACUUCUN	515-533	513
41	UGAUCCAAAAAUGUCCUAG	82	CUAGGACAUUUUUGGAUCA	501-519	499
42	AGAUCCAAAAAUGUCCUAG	83	CUAGGACAUUUUUGGAUCU	501-519	499
43	NGAUCCAAAAAUGUCCUAG	84	CUAGGACAUUUUUGGAUCN	501-519	499
44	NGAUCCAAAAAUGUCCUAN	85	NUAGGACAUUUUUGGAUCN	501-519	499
41	UGAUCCAAAAAUGUCCUAG	86	CUAGGACAUUUUUGIAUCA	501-519	499
42	AGAUCCAAAAAUGUCCUAG	87	CUAGGACAUUUUUGIAUCU	501-519	499
43	NGAUCCAAAAAUGUCCUAG	88	CUAGGACAUUUUUGIAUCN	501-519	499
44	NGAUCCAAAAAUGUCCUAN	89	NUAGGACAUUUUUGIAUCN	501-519	499
49	UGUCCUAGGAUGUUGACCU	90	AGGUCAACAUCCUAGGACA	490-508	488
50	AGUCCUAGGAUGUUGACCU	91	AGGUCAACAUCCUAGGACU	490-508	488
51	NGUCCUAGGAUGUUGACCU	92	AGGUCAACAUCCUAGGACN	490-508	488
52	NGUCCUAGGAUGUUGACCN	93	NGGUCAACAUCCUAGGACN	490-508	488
53	CCAGAAUAGAGUUGCACCG	94	CGGUGCAACUCUAUUCUGG	1503-1521	1501
54	UCAGAAUAGAGUUGCACCG	95	CGGUGCAACUCUAUUCUGA	1503-1521	1501
55	ACAGAAUAGAGUUGCACCG	96	CGGUGCAACUCUAUUCUGU	1503-1521	1501
56	NCAGAAUAGAGUUGCACCG	97	CGGUGCAACUCUAUUCUGN	1503-1521	1501

SEQ ID No.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (Показана как немодифицированная нуклеотидная последовательность)	SEQ ID No.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (Показана как немодифицированная нуклеотидная последовательность)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности на SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
57	NCAGAAUAGAGUUGCACCN	98	NGGUGCAACUCUAUUCUGN	1503-1521	1501
58	AAA AUGUCCUAGGAUGUUG	99	CAACAUCCUAGGACAUUUU	494-512	492
59	UAAAUGUCCUAGGAUGUUG	100	CAACAUCCUAGGACAUUUA	494-512	492
60	NAAAUGUCCUAGGAUGUUG	101	CAACAUCCUAGGACAUUUN	494-512	492
61	NAAAUGUCCUAGGAUGUUN	102	NAACAUCCUAGGACAUUUN	494-512	492
62	CUCCA AUACAGGCCAUAAU	103	AUUAUGGCCUGUAUUGGAG	761-779	759
63	UCCA AUACAGGCCAUAAU	104	AUUAUGGCCUGUAUUGGAA	761-779	759
64	NUCCA AUACAGGCCAUAAU	105	AUUAUGGCCUGUAUUGGAN	761-779	759
65	NUCCA AUACAGGCCAUAAU	106	NUUAUGGCCUGUAUUGGAN	761-779	759

Смысловые цепи и антисмысловые цепи HSD17B13 РНКи агента, которые содержат или состоят из последовательностей в таблице 2, могут быть модифицированными нуклеотидами или немодифицированными нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13РНКи агенты, имеют последовательности смысловых и антисмысловых цепей, которые содержат или состоят из последовательностей в таблице 2, все которые или по существу все являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любых последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любых последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2.

При использовании в настоящем описании, каждый N, указанный в последовательности, описанной в таблице 2, может быть независимо выбран из любых и всех нуклеотидных оснований (включая такие, которые найдены и на модифицированных, и на немодифицированных нуклеотидах). В некоторых вариантах осуществления, N нуклеотид, указанный в последовательности, описанной в таблице 2, имеет нуклеотидное основание, которое комплементарно N нуклеотиду в соответствующем положении на другой цепи. В некоторых вариантах осуществления, N нуклеотид, указанный в последовательности, описанной в таблице 2, имеет нуклеотидное основание, которое не комплементарно N нуклеотиду в соответствующем положении на другой цепи. В некоторых вариантах осуществления, N нуклеотид, указанный в последовательности, описанной в таблице 2, имеет нуклеотидное основание, которое является таким же, как в N нуклеотиде в соответствующем положении на другой цепи. В некоторых вариантах осуществления, N нуклеотид, указанный в последовательности, описанной в таблице 2, имеет нуклеотидное основание, которое отличается от N нуклеотида в соответствующем положении на другой цепи.

Определенные модифицированные антисмысловые цепи HSD17B13 РНКи агента, а также их лежащие в основе немодифицированные последовательности нуклеотидных оснований, представлены в таблице 3. Определенные модифицированные смысловые цепи HSD17B13 РНКи агента, а также их лежащие в основе немодифицированные последовательности нуклеотидных оснований, представлены в таблице 4. При формировании HSD17B13 РНКи агентов, каждый из нуклеотидов в каждой из лежащих в основе последовательностей оснований, перечисленных в Таблицах 3 и 4, а также в таблице 2, выше, могут быть модифицированным нуклеотидом.

HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, получают ренатурацией антисмысловой цепи со смысловой цепью. Смысловая цепь, содержащая последовательность, перечисленную в таблице 2 или таблице 4, может быть гибридизирована с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, перечисленную в таблице 2 или таблице 3, при условии, что две последовательности имеют

область, по меньшей мере, на 85% комплементарную к непрерывным 16, 17, 18, 19, 20 или 21 нуклеотидным последовательностям.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит нуклеотидную последовательность по любой из последовательностей в таблице 2 или таблице 3.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит или состоит из дуплекса, имеющего последовательность нуклеотидных оснований смысловой цепи и антисмысловой цепи по любой из последовательностей в таблице 2, таблице 3 или таблице 4.

Примеры антисмысловых цепей, содержащих модифицированные нуклеотиды, представлены в таблице 3. Примеры смысловых цепей, содержащих модифицированные нуклеотиды, представлены в таблице 4.

В таблицах 3 и 4, для обозначения модифицированных нуклеотидов и связывающих групп используются следующие обозначения:

A=аденозин-3'-фосфат;

C=цитидин-3'-фосфат;

G=гуанозин-3'-фосфат;

U=уридин-3'-фосфат

I=инозин-3'-фосфат

a=2'-О-метиладенозин-3'-фосфат

as=2'-О-метиладенозин-3'-фосфоротиоат

c=2'-О-метилцитидин-3'-фосфат

cs=2'-О-метилцитидин-3'-фосфоротиоат

g=2'-О-метилгуанозин-3'-фосфат

gs=2'-О-метилгуанозин-3'-фосфоротиоат

t=2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфат

ts=2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфоротиоат

u=2'-О-метилуридин-3'-фосфат

us=2'-О-метилуридин-3'-фосфоротиоат

i=2'-О-метиинозин-3'-фосфат

is=2'-О-метиинозин-3'-фосфоротиоат

Af=2'-фтораденозин-3'-фосфат

Afs=2'-фтораденозин-3'-фосфоротиоат

Cf=2'-фторцитидин-3'-фосфат

Cfs=2'-фторцитидин-3'-фосфоротиоат

Gf=2'-фторгуанозин-3'-фосфат

Gfs=2'-фторгуанозин-3'-фосфоротиоат

Tf=2'-фтор-5'-метилуридин-3'-фосфат

Tfs=2'-фтор-5'-метилуридин-3'-фосфоротиоат

Uf=2'-фторуридин-3'-фосфат

Ufs=2'-фторуридин-3'-фосфоротиоат

A_{UNA}=2',3'-секо-аденозин-3'-фосфат

A_{UNAS}=2',3'-секо-аденозин-3'-фосфоротиоат

C_{UNA}=2',3'-секо-цитидин-3'-фосфат

C_{UNAS}=2',3'-секо-цитидин-3'-фосфоротиоат

G_{UNA}=2',3'-секо-гуанозин-3'-фосфат

G_{UNAS}=2',3'-секо-гуанозин-3'-фосфоротиоат

U_{UNA}=2',3'-секо-уридин-3'-фосфат

U_{UNAS}=2',3'-секо-уридин-3'-фосфоротиоат

a_{2N}=см. таблицу 6

a_{2Ns}=см. таблицу 6

(invAb) = инвертированный дезоксирибонуклеотид с удаленным азотистым основанием, см. таблицу 6

(invAb)_s=инвертированный дезоксирибонуклеотид-5'-фосфоротиоат с удаленным азотистым основанием, см. таблицу 6

Как ясно понимает специалист в данной области техники, если не указано иначе последовательностью (например, фосфоротиоатной связью «s»), если присутствуют в олигонуклеотиде, нуклеотидные мономеры взаимно связаны 5'-3'-фосфодиэфирными связями. Как ясно понимает специалист в данной области техники, включение фосфоротиоатной связи, как показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, описанных в настоящем описании, замещает фосфодиэфирную связь, обычно присутствующую в олигонуклеотидах (см., например, фигуры 1A - 10D, показывающие химические структуры, и фигуры 11A - 11E, схематически показывающие все интернуклеозидные связи в определенных HSD17B13 РНКи агентов). Далее, специалист в данной области техники легко поймет, что концевой нуклеотид на 3' конце данной олигонуклеотидной последовательности обычно будет иметь гидроксильную (-ОН) группу в соответствующем 3' положении данного мономера вместо фосфатной группы *ex vivo*. Дополнительно, для вариантов осуществления, описанных в настоящем описании, при обзоре соответствующей цепи 5' → 3', инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием вставлены так, что 3' положение дезоксирибозы связано с 3' концом предшествующего мономера на соответствующей нити (см., например, Фиг. 1A - 10D и таблицу 6). Более того, как специалист в данной области техники легко поймет и оценит, хотя химические структуры фосфоротиоата, изображенные в настоящем описании, обычно показывают анион на атоме серы изобретения, описанные в настоящем описании, охватывают все фосфоротиоатные таутомеры (например, когда атом серы имеет двойную связь и анион находится на атоме кислорода). Если не указано иначе в настоящем описании, такое понимание обычного специалиста в данной области техники используется при описании HSD17B13 РНКи агентов и композиций HSD17B13 РНКи агентов, описанных в настоящем описании.

Определенные примеры направляющих лигандов, направляющих групп и

связывающих групп, используемых с HSD17B13 РНКи агентами, описанными в настоящем описании, представлены ниже в таблице 6. Более конкретно, направляющими группами являются связывающие группы (которые вместе могут образовывать направляющий лиганд) включают следующие, для которых их химические структуры представлены ниже в таблице 6: (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), (NAG39)s. Каждая смысловая цепь и/или антисмысловая цепь может иметь любые направляющие лиганды, направляющие группы и связывающие группы, перечисленные в настоящем описании, а также другие группы, конъюгированные с 5' и/или 3' концом последовательности.

Таблица 3. Последовательности антисмысловой цепи HSD17B13 РНКи агент

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
AM08050-AS	usCfsasGfaAfuagagUfuGfcAfcCfGUfsc	107	UCAGAAUAGAGUUGCACCGUC	221
AM08052-AS	usGfsusCfcUfaggauGfuUfgAfcCfuCfsa	108	UGUCCUAGGAUGUUGACCUCA	222
AM08054-AS	usGfsusCfcUfA _{UNA} ggauGfuUfgAfcCfuCfsa	109	UGUCCUAGGAUGUUGACCUCA	222
AM08056-AS	asAfsasAfuGfuccuaGfgAfuGfuUfgAfc	110	AAA AUGUCCUAGGAUGUUGAC	223
AM08059-AS	usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsa	111	UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGA	224
AM08178-AS	usGfsusCfcUfaggauGfuUfgAfcCfuCfsc	112	UGUCCUAGGAUGUUGACCUCC	225
AM08180-AS	usGfsusCfcUfA _{UNA} ggauGfuUfgAfcCfuCfsu	113	UGUCCUAGGAUGUUGACCUUCU	226
AM08181-AS	usGfsusCfcUfA _{UNA} ggauGfuUfgAfcCfuCfsc	114	UGUCCUAGGAUGUUGACCUCC	225
AM08182-AS	usGfsusCfcUfA _{UNA} GfgAfuGfuUfgAfcCfuCfsc	115	UGUCCUAGGAUGUUGACCUCC	225
AM08184-AS	usGfsusCfcUfaG _{UNA} gauGfuUfgAfcCfuCfsc	116	UGUCCUAGGAUGUUGACCUCC	225
AM08185-AS	usGfsusC _{UNAc} UfaggauGfuUfgAfcCfuCfsc	117	UGUCCUAGGAUGUUGACCUCC	225
AM08186-AS	usGfsusCfC _{UNA} UfaggauGfuUfgAfcCfuCfsc	118	UGUCCUAGGAUGUUGACCUCC	225
AM08188-AS	usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsu	119	UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGU	227
AM08190-AS	usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc	7	UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC	6
AM08192-AS	usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc	5	UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC	6
AM08193-AS	usGfsasUfcC _{UNA} aaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc	122	UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC	6
AM08194-AS	usGfsasUfcCfA _{UNA} aaaaUfgUfcCfuAfgGfsc	123	UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC	6

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
AM08195-AS	usGfsasUfC _{UNA} CfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc	124	UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC	6
AM08196-AS	asAfsasAfuGfuCfcUfaG _{UNAG} AfuGfuUfgAfsc	125	AAA AUGUCCUAGGAUGUUGAC	223
AM08236-AS	usAfsagsAfuGfaUfgGfuGfaUfcAfgAfaGfsc	126	UAGAUGAUGGUGAUCAGAAGC	229
AM08238-AS	usAfsasUfgUfcCfcAfgCfaUfuAfuUfcAfsc	127	UACUGUCCCAGCAUUAUUCAC	230
AM08240-AS	asAfsagsAfaGfuGfcUfuUfuGfuGfaUfcCfsa	128	AAGAAGUGCUUUUGUGAUCCA	231
AM08242-AS	usGfsusCfaGfaccucUfgUfgAfaAfgCfsc	129	UGUCAGACCUCUGUGAAAGCC	232
AM08244-AS	usUfsgsAfuGfucagaCfcUfcUfgUfgAfsc	130	UUGAUGUCAGACCUCUGUGAC	233
AM08246-AS	usUfscsCfaAfuAfcAfgGfcCfaUfaAfuCfsc	131	UCCAUAUACAGGCCAUAAUCC	234
AM08248-AS	usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg	2	UCAUCUAUCAGACUUCUACG	3
AM08250-AS	usCfsasGfgUfuGfaGfaUfaAfaGfcUfgCfsc	133	UCAGGUUGAGAUAAAGCUGCC	236
AM08252-AS	usCfscsAfgAfaUfaGfaGfuUfgCfaCfcGfsu	134	UCCAGAAUAGAGUUGCACCGU	237
AM08254-AS	asAfsagsUfcCfaGfaAfuAfgAfgUfuGfcAfsc	135	AAGUCCAGAAUAGAGUUGCAC	238
AM08256-AS	usCfsusUfgAfuguagUfgGfgAfgUfcGfsg	136	UCUUGAUGUAGUGGGAGUCGG	239
AM08258-AS	asCfsasAfgAfuUfaGfuCfuUfgAfuGfuAfs	137	ACAAGAUUAGUCUUGAUGUAG	240
AM08260-AS	usCfsasGfaAfuagagUfuGfcAfcCfgUfsu	138	UCAGAAUAGAGUUGCACCGUU	241
AM08262-AS	usCfsasGfaAfuagagUfuGfcAfcCfgCfsu	139	UCAGAAUAGAGUUGCACCGCU	242
AM08264-AS	usCfsasGfaAfuagagUfuGfcAfcCfgUfsg	140	UCAGAAUAGAGUUGCACCGUG	243

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
AM08266-AS	usCfsasGfaAfuagagUfuGfcAfcCfgGfsu	141	UCAGAAUAGAGUUGCACCGGU	244
AM08270-AS	usCfsasGfaAfU _{UNA} agagUfuGfcAfcCfgUfsc	142	UCAGAAUAGAGUUGCACCGUC	221
AM08272-AS	usCfsasGfaAfuagagUfuGfcAfcCfgCfsc	143	UCAGAAUAGAGUUGCACCGCC	245
AM08274-AS	usCfsasGfaAfuagagUfuGfcAfcCfgGfsc	144	UCAGAAUAGAGUUGCACCGGC	246
AM08275-AS	usCfsasGfaAfuAfgagUfuGfcAfcCfgUfsc	145	UCAGAAUAGAGUUGCACCGUC	221
AM08303-AS	asGfsusGfaCfuccagGfuAfgGfaGfuAfsG	146	AGUGACUCCAGGUAGGAGUAG	247
AM08305-AS	asAfsGsaAfaCfuUfuAfcCfaGfuGfaCfuCfsc	147	AAGAACUUUACCAGUGACUCC	248
AM08307-AS	asAfsGsaAfaCfuUfuAfcCfaGfuGfaCfuCfsg	148	AAGAACUUUACCAGUGACUCG	249
AM08309-AS	usUfsGsaCfaGfuccacCfaCfaAfaCfaCfsg	149	UUGCAGUCCACCACAAACACG	250
AM08311-AS	usCfsasGfcAfucgauGfgAfaGfgAfgUfsg	150	UCAGCAUCGAUGGAAGGAGUG	251
AM08313-AS	asGfsasGfuUfuCfuUfcUfcAfgCfaUfcGfsa	151	AGAGUUUCUUCUCAGCAUCGA	252
AM08315-AS	usCfsasGfuAfuUfcAfcGfaAfcAfcAfgGfsg	152	UCAGUAUUCACGAACACAGGG	253
AM08317-AS	usCfsasGfuAfuUfcAfcGfaAfcAfcAfgGfsc	153	UCAGUAUUCACGAACACAGGC	254
AM08319-AS	usGfsasAfgAfuCfaUfuUfuCfuUfgUfuGfsg	154	UGAAGAUCAUUUUCUUGUUGG	255
AM08341-AS	asAfsGsaAfaGfuGfcUfuUfuGfuGfaUfcCfsg	155	AAGAAGUGCUUUUGUGAUCCG	256
AM08343-AS	asAfsGsaAfaGfuGfcUfuUfuGfuGfaUfcCfsc	156	AAGAAGUGCUUUUGUGAUCCC	257
AM08345-AS	usAfsGsaAfaGfuGfcUfuUfuGfuGfaUfcCfsc	157	UAGAAGUGCUUUUGUGAUCCC	258

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
AM08347-AS	asAfsgsAfaGfU _{UNA} GfcUfuUfuGfuGfaUfcCfsc	158	AAGAAGUGCUUUUGUGAUCCC	257
AM08348-AS	asAfsgsAfaGfuG _{UNA} cUfuUfuGfuGfaUfcCfsc	159	AAGAAGUGCUUUUGUGAUCCC	257
AM08350-AS	usAfsgsAfaGfugcuuUfuGfuGfaUfcCfsc	160	UAGAAGUGCUUUUGUGAUCCC	258
AM08352-AS	usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg	4	UCAUCUAUCAGACUUCUUACG	3
AM08354-AS	usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsc	162	UCAUCUAUCAGACUUCUUACC	259
AM08356-AS	usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsc	163	UCAUCUAUCAGACUUCUUACC	259
AM08366-AS	asAfsgsAfaGfugcuuUfuGfuGfaUfcCfsg	164	AAGAAGUGCUUUUGUGAUCCG	256
AM08367-AS	asAfsgsAfaGfugcuuUfuGfuGfaUfcCfsc	165	AAGAAGUGCUUUUGUGAUCCC	257

Таблица 4. Последовательности смысловой цепи HSD17B13 РНКи агента

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
AM08049-SS	(NAG37)s(invAb)sgacggugcAfAfCfucuaauucugas(invAb)	166	GACGGUGCAACUCUAUUCUGA	260
AM08051-SS	(NAG37)s(invAb)sugaggucaAfCfAfuccuaggacas(invAb)	167	UGAGGUCAACAUCUAGGACA	261
AM08053-SS	(NAG37)s(invAb)sugaggucaAfCfAfuccuagiacas(invAb)	168	UGAGGUCAACAUCUAGIACA	262

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
AM08055-SS	(NAG37)s(invAb)sgucaacauCfCfUfaggacauuuus(invAb)	169	GUCAACAUCCUAGGACAUUUU	263
AM08057-SS	(NAG37)s(invAb)sgucaacauCfCfUfaggaca_2Nuuuus(in vAb)	170	GUCAACAUCCUAGGAC(A ^{2N})UUUU	264
AM08058-SS	(NAG37)s(invAb)succuaggaCfAfUfuuuuggaucas(invAb)	171	UCCUAGGACAUUUUUGGAUCA	265
AM08060-SS	(NAG37)s(invAb)succuaggaCfAfUfuuuugiaucas(invAb)	172	UCCUAGGACAUUUUUGIAUCA	266
AM08177-SS	(NAG37)s(invAb)sggaggucaAfCfAfuccuaggacas(invAb)	173	GGAGGUCAACAUCCUAGGACA	267
AM08179-SS	(NAG37)s(invAb)sagaggucaAfCfAfuccuaggacas(invAb)	174	AGAGGUCAACAUCCUAGGACA	268
AM08183-SS	(NAG37)s(invAb)sggaggucaAfCfAfuccuagiacas(invAb)	175	GGAGGUCAACAUCCUAGIACA	269
AM08187-SS	(NAG37)s(invAb)saccuaggaCfAfUfuuuugiaucas(invAb)	176	ACCUAGGACAUUUUUGIAUCA	270
AM08189-SS	(NAG37)s(invAb)sgccuaggaCfAfUfuuuuggaucas(invAb)	177	GCCUAGGACAUUUUUGGAUCA	271
AM08191-SS	(NAG37)s(invAb)sgccuaggaCfAfUfuuuugiaucas(invAb)	16	GCCUAGGACAUUUUUGIAUCA	11
AM08235-SS	(NAG37)s(invAb)sgcuucugaUfCfAfccaucaucuas(invAb)	179	GCUUCUGAUCACCAUCAUCA	273

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
AM08237-SS	(NAG37)s(invAb)sgugaauaaUfGfCfuggacaguas(invAb)	180	GUGAAUAAUGCUGGGACAGUA	274
AM08239-SS	(NAG37)s(invAb)suggaucacAfAfAfgcacuucuus(invAb)	181	UGGAUCACAAAAGCACUUCUU	275
AM08241-SS	(NAG37)s(invAb)sggcuuucAfAfGfaggucugacas(invAb)	182	GGCUUUCACAGAGGUCUGACA	276
AM08243-SS	(NAG37)s(invAb)sgucacagaGfGfUfcugacaucaas(invAb)	183	GUCACAGAGGUCUGACAUCAA	277
AM08245-SS	(NAG37)s(invAb)sggauuugGfCfCfuguauuggaas(invAb)	184	GGAUUAUGGCCUGUAUUGGAA	278
AM08247-SS	(NAG37)s(invAb)scguaagaaGfUfCfugauagaugas(invAb)	14	CGUAAGAAGUCUGAUAGAUGA	8
AM08249-SS	(NAG37)s(invAb)sggcagcuUfAfUfcucaaccugas(invAb)	186	GGCAGCUUUAUCUCAACCUGA	280
AM08251-SS	(NAG37)s(invAb)sacggugcaAfCfUfcuauucuggas(invAb)	187	ACGGUGCAACUCUAUUCUGGA	281
AM08253-SS	(NAG37)s(invAb)sgugcaacuCfUfAfuucuggacuus(invAb)	188	GUGCAACUCUAUUCUGGACUU	282
AM08255-SS	(NAG37)s(invAb)scgcacuccCfAfCfucaucaagas(invAb)	189	CCGACUCCCACUACAUCAAGA	283

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
AM08257-SS	(NAG37)s(invAb)scuacaucaAfGfAfcuaauucuugus(invAb)	190	CUACAUCAAGACUAAUCUUGU	284
AM08259-SS	(NAG37)s(invAb)scggugcAfAfCfucuaauucugauus(invAb)	191	CGGUGCAACUCUAUUCUGAUU	285
AM08261-SS	(NAG37)s(invAb)sagcggugcAfAfCfucuaauucugas(invAb)	192	AGCGGUGCAACUCUAUUCUGA	286
AM08263-SS	(NAG37)s(invAb)scacggugcAfAfCfucuaauucugas(invAb)	193	CACGGUGCAACUCUAUUCUGA	287
AM08265-SS	(NAG37)s(invAb)saccggugcAfAfCfucuaauucugas(invAb)	194	ACCGGUGCAACUCUAUUCUGA	288
AM08267-SS	(NAG37)s(invAb)sgacgguicAfAfCfucuaauucugas(invAb)	195	GACGGUICAAACUCUAUUCUGA	289
AM08268-SS	(NAG37)s(invAb)sgacgiugcAfAfCfucuaauucugas(invAb)	196	GACGIUGCAACUCUAUUCUGA	290
AM08269-SS	(NAG37)s(invAb)sgacggugcAfAfCfucuaauucuias(invAb)	197	GACGGUGCAACUCUAUUCUIA	291
AM08271-SS	(NAG37)s(invAb)sgcggugcAfAfCfucuaauucugas(invAb)	198	GGCGGUGCAACUCUAUUCUGA	292
AM08273-SS	(NAG37)s(invAb)sgccggugcAfAfCfucuaauucugas(invAb)	199	GCCGGUGCAACUCUAUUCUGA	293
AM08302-SS	(NAG37)s(invAb)scuacuccuAfCfCfuggagucacus(invAb)	200	CUACUCCUACCUGGAGUCACU	294

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
)			
AM08304-SS	(NAG37)s(invAb)sggagucacUfGfGfuaaaguucuu(s(invAb))	201	GGAGUCACUGGUAAAGUUCUU	295
AM08306-SS	(NAG37)s(invAb)scgagucacUfGfGfuaaaguucuu(s(invAb))	202	CGAGUCACUGGUAAAGUUCUU	296
AM08308-SS	(NAG37)s(invAb)scguguuugUfGfGfuggacugcaas(invAb))	203	CGUGUUUGUGGUGGACUGCAA	297
AM08310-SS	(NAG37)s(invAb)scacuccuuCfCfAfucgaugcugas(invAb))	204	CACUCCUCCAUCGAUGCUGA	298
AM08312-SS	(NAG37)s(invAb)sucgaugcuGfAfGfaagaaacucus(invAb))	205	UCGAUGCUGAGAAGAAACUCU	299
AM08314-SS	(NAG37)s(invAb)scccuguguUfCfGfugaauacugas(invAb))	206	CCCUGUGUUCGUGAAUACUGA	300
AM08316-SS	(NAG37)s(invAb)sgccuguguUfCfGfugaauacugas(invAb))	207	GCCUGUGUUCGUGAAUACUGA	301
AM08318-SS	(NAG37)s(invAb)sccaacaagAfAfAfaugaucuucas(invAb))	208	CCAACAAGAAAUGAUCUUCA	302
AM08340-SS	(NAG37)s(invAb)scggaucacAfAfAfagcacuucuu(s(invAb))	209	CGGAUCACAAAAGCACUUCUU	303

ID антисмысловой цепи:	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащие в основе последовательности оснований (5' → 3')	
			(Показаны как немодифицированные нуклеотидные последовательности)	SEQ ID NO.
AM08342-SS	(NAG37)s(invAb)sgggaucacAfAfAfagcacuucuu(s(invAb))	210	GGGAUCACAAAAGCACUUCUU	304
AM08344-SS	(NAG37)s(invAb)sgggaucacAfAfAfagcacuucuas(invAb)	211	GGGAUCACAAAAGCACUUCUA	305
AM08346-SS	(NAG37)s(invAb)sgggaucacAfaAfaGfcacuucuu(s(invAb))	212	GGGAUCACAAAAGCACUUCUU	304
AM08349-SS	(NAG37)s(invAb)sgggaucacAfaAfaGfcacuucuas(invAb)	213	GGGAUCACAAAAGCACUUCUA	305
AM08351-SS	(NAG37)s(invAb)scguaagaaGfuCfuGfauagauias(invAb)	214	CGUAAGAAGUCUGAUAGAUIA	306
AM08353-SS	(NAG37)s(invAb)sgguaagaaGfuCfuGfauagaugas(invAb)	215	GGUAAGAAGUCUGAUAGAUGA	307
AM08355-SS	(NAG37)s(invAb)sgguaagaaGfuCfuGfauagauias(invAb)	216	GGUAAGAAGUCUGAUAGAUIA	308
AM08357-SS	(NAG37)s(invAb)sgguaagaaGfuCfuGfauaiaugas(invAb)	217	GGUAAGAAGUCUGAUAIAUGA	309
AM08358-SS	(NAG37)s(invAb)sgccuaggaCfaUfuUfuugiaucas(invAb)	17	GCCUAGGACAUUUUUGIAUCA	11
AM08365-SS	(NAG37)s(invAb)scggaucacAfaAfaGfcacuucuu(s(invAb))	219	CGGAUCACAAAAGCACUUCUU	303
AM08368-SS	(NAG37)s(invAb)scguaagaaGfuCfuGfauagaugas(invAb)	15	CGUAAGAAGUCUGAUAGAUGA	8

(A^{2N}) = 2-аминоадениновый нуклеотид

HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, получают ренатурацией антисмысловой цепи со смысловой цепью. Смысловая цепь, содержащая последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 4, может быть гибридизирована с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 3, при условии, что две последовательности имеют область, по меньшей мере, на 85% комплементарную непрерывным 16, 17, 18, 19, 20 или 21 нуклеотидным последовательностям.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 3. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из последовательностей смысловой цепи в таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит нуклеотидную последовательность по любой из последовательностей в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агент содержит последовательность нуклеотидов (5' конец → 3' конец) 1-17, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21 или 2-21, по любой из последовательностей в таблице 2 или таблице 3. В определенных вариантах осуществления, антисмысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит или состоит из модифицированной последовательности по любой из модифицированных последовательностей в таблице 3.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит нуклеотидную последовательность по любой из последовательностей в таблице 2 или таблице 4. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит последовательность нуклеотидов (5' конец → 3' конец) 1-17, 2-17, 3-17, 4-17, 1-18, 2-18, 3-18, 4-18, 1-19, 2-19, 3-19, 4-19, 1-20, 2-20, 3-20, 4-20, 1-21, 2-21, 3-21 или 4-21, по любой из последовательностей в таблице 2 или таблице 4. В определенных вариантах осуществления, смысловая цепь HSD17B13 РНКи агента содержит или состоит из модифицированной последовательности по любой из модифицированных последовательностей в таблице 4.

Для HSD17B13 РНКи агентов, описанных в настоящем описании, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5' конец → 3' конец) может быть превосходно комплементарен HSD17B13 гену или может быть не комплементарен HSD17B13 гену. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5' конец → 3' конец) является U, A или dT (или их модифицированной версией). В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5' конец → 3' конец) образует A:U или U:A пару оснований со смысловой цепью.

Смысловая цепь, содержащая последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 4, может быть гибридизирована с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 3, при условии, что две

последовательности имеют область, по меньшей мере, на 85% комплементарную непрерывной 16, 17, 18, 19, 20 или 21 нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент имеет смысловую цепь, состоящую из модифицированной последовательности по любой из модифицированных последовательностей в таблице 4, и антисмысловую цепь, состоящую из модифицированной последовательности по любой из модифицированных последовательностей в таблице 3. Определенные типовые пары последовательностей представлены дуплексами с ID, показанными в таблице 5.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит, состоит из или состоит по существу из дуплекса, представленного любым из дуплексов с ID, представленными в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи по любому из дуплексов, представленных дуплексами с ID, представленными в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи по любому из дуплексов, представленных дуплексами с ID, представленных в настоящем описании, и направляющую группу и/или связывающую группу, где направляющая группа и/или связывающая группа ковалентно связана (*m.e.*, конъюгирована) со смысловой цепью или антисмысловой цепью. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент включает модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи по любому из дуплексов с ID, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи по любому из дуплексов с ID, представленных в настоящем описании, и направляющую группу и/или связывающую группу, где направляющая группа и/или связывающая группа ковалентно связана со смысловой цепью или антисмысловой цепью.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, имеющие нуклеотидные последовательности по любому из дуплексов антисмысловой цепи/смысловой цепи из таблицы 2 или таблицы 5, и дополнительно содержит направляющую группу или направляющий лиганд. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, имеющие нуклеотидные последовательности по любому из дуплексов антисмысловой цепи/смысловой цепи из таблицы 2 или таблицы 5, и дополнительно содержит направляющую группу лиганда асиалоггликопротеинового рецептора.

Направляющая группа, с или без линкера, может быть связана с 5' или 3' концом любой из смысловых и/или антисмысловых цепей, описанных в таблицах 2, 3 и 4. Линкер, с или без направляющей группы, может быть присоединен к 5' или 3' концу любой из смысловых и/или антисмысловых цепей, описанных в таблицах 2, 3 и 4.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит

антисмысловую цепь и смысловую цепь, имеющие нуклеотидные последовательности по любому из дуплексов антисмысловой цепи/смысловой цепи из таблицы 2 или таблицы 5, и дополнительно содержит направляющий лиганд, выбранный из группы, состоящей из: (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, каждый из которых определен в таблице 6. В некоторых вариантах осуществления, направляющим лигандом является (NAG25) или (NAG25)s, как определены в таблице 6. В других вариантах осуществления, направляющим лигандом является (NAG37) или (NAG37)s, как определены в таблице 6.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, имеющую модифицированную нуклеотидную последовательность по любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи и/или смысловой цепи в таблице 3 или таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, имеющую модифицированную нуклеотидную последовательность по любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи и/или смысловой цепи по любому из дуплексов в таблице 5 и дополнительно содержит направляющую группу лиганда асиалогликопротеинового рецептора.

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит, состоит из или состоит по существу из любого из дуплексов из таблицы 5.

Таблица 5. Дуплексы HSD17B13 РНКи агентов с соответствующими ID смысловой и антисмысловой цепей

ID дуплекса	ID антисмысловой цепи	ID смысловой цепи
AD06078	AM08050-AS	AM08049-SS
AD06079	AM08052-AS	AM08051-SS
AD06080	AM08052-AS	AM08053-SS
AD06081	AM08054-AS	AM08051-SS
AD06082	AM08056-AS	AM08055-SS
AD06083	AM08056-AS	AM08057-SS
AD06084	AM08059-AS	AM08058-SS
AD06085	AM08059-AS	AM08060-SS
AD06176	AM08178-AS	AM08177-SS
AD06177	AM08180-AS	AM08179-SS
AD06178	AM08181-AS	AM08177-SS
AD06179	AM08182-AS	AM08177-SS

ID дуплекса	ID антисмысловой цепи	ID смысловой цепи
AD06180	AM08181-AS	AM08183-SS
AD06181	AM08184-AS	AM08177-SS
AD06182	AM08185-AS	AM08177-SS
AD06183	AM08186-AS	AM08177-SS
AD06184	AM08188-AS	AM08187-SS
AD06185	AM08190-AS	AM08189-SS
AD06186	AM08190-AS	AM08191-SS
AD06187	AM08192-AS	AM08191-SS
AD06188	AM08193-AS	AM08191-SS
AD06189	AM08194-AS	AM08191-SS
AD06190	AM08195-AS	AM08189-SS
AD06191	AM08196-AS	AM08055-SS
AD06208	AM08236-AS	AM08235-SS
AD06209	AM08238-AS	AM08237-SS
AD06210	AM08240-AS	AM08239-SS
AD06211	AM08242-AS	AM08241-SS
AD06212	AM08244-AS	AM08243-SS
AD06213	AM08246-AS	AM08245-SS
AD06214	AM08248-AS	AM08247-SS
AD06215	AM08250-AS	AM08249-SS
AD06216	AM08252-AS	AM08251-SS
AD06217	AM08254-AS	AM08253-SS
AD06218	AM08256-AS	AM08255-SS
AD06219	AM08258-AS	AM08257-SS
AD06220	AM08260-AS	AM08259-SS
AD06221	AM08262-AS	AM08261-SS
AD06222	AM08264-AS	AM08263-SS
AD06223	AM08266-AS	AM08265-SS
AD06224	AM08050-AS	AM08267-SS
AD06225	AM08050-AS	AM08268-SS
AD06226	AM08050-AS	AM08269-SS
AD06227	AM08270-AS	AM08049-SS
AD06228	AM08272-AS	AM08271-SS

ID дуплекса	ID антисмысловой цепи	ID смысловой цепи
AD06229	AM08274-AS	AM08273-SS
AD06230	AM08275-AS	AM08049-SS
AD06244	AM08303-AS	AM08302-SS
AD06245	AM08305-AS	AM08304-SS
AD06246	AM08307-AS	AM08306-SS
AD06247	AM08309-AS	AM08308-SS
AD06248	AM08311-AS	AM08310-SS
AD06249	AM08313-AS	AM08312-SS
AD06250	AM08315-AS	AM08314-SS
AD06251	AM08317-AS	AM08316-SS
AD06252	AM08319-AS	AM08318-SS
AD06265	AM08341-AS	AM08340-SS
AD06266	AM08343-AS	AM08342-SS
AD06267	AM08345-AS	AM08344-SS
AD06268	AM08347-AS	AM08346-SS
AD06269	AM08348-AS	AM08346-SS
AD06270	AM08343-AS	AM08346-SS
AD06271	AM08350-AS	AM08349-SS
AD06272	AM08352-AS	AM08351-SS
AD06273	AM08354-AS	AM08353-SS
AD06274	AM08356-AS	AM08355-SS
AD06275	AM08356-AS	AM08357-SS
AD06276	AM08192-AS	AM08358-SS
AD06277	AM08190-AS	AM08358-SS
AD06278	AM08366-AS	AM08365-SS
AD06279	AM08367-AS	AM08346-SS
AD06280	AM08352-AS	AM08368-SS
AD06281	AM08356-AS	AM08353-SS

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент готовят или получают в виде соли, смешанной соли или свободной кислоты. РНКи агенты, описанные в настоящем описании, при доставке в клетку, экспрессирующую HSD17B13 ген, ингибируют или выключают экспрессию одного или более HSD17B13 генов *in vivo* и/или *in vitro*.

Направляющие лиганды или группы, связующие группы и средства доставки

В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент конъюгирован с одной или несколькими ненуклеотидными группами, включающими, но не ограниченными ими, направляющую группу, связующую группу, направляющий лиганд, полимер доставки или средство доставки. Ненуклеотидная группа может улучшать нацеливание доставку или присоединение РНКи агента. Примеры направляющих групп и связующих групп представлены в таблице 6. Ненуклеотидная группа может быть ковалентно связана с 3' и/или 5' концом любой из смысловой цепи и/или антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент содержит ненуклеотидную группу, связанную с 3' и/или 5' концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, ненуклеотидная группа связана с 5' концом смысловой цепи HSD17B13 РНКи агента. Ненуклеотидная группа может быть связана прямо или косвенно с РНКи агентом через линкерную/связующую группу. В некоторых вариантах осуществления, ненуклеотидная группа связана с РНКи агентом через лабильную, расщепляемую или обратимую связь или линкер.

В некоторых вариантах осуществления, ненуклеотидная группа улучшает свойства фармакокинетики или биораспределения РНКи агента или конъюгата, к которому она присоединена для улучшения клетка- или ткань-специфического распределения или клетка-специфического поглощения РНКи агента или конъюгата. В некоторых вариантах осуществления, ненуклеотидная группа улучшает эндозитоз РНКи агента.

Направляющие группы или направляющие части улучшает свойства фармакокинетики или биораспределения конъюгата или РНКи агента, к которому они присоединены для улучшения клетка-специфического (включая, в некоторых случаях, орган-специфического) распределения и клетка-специфического (или орган-специфического) поглощения конъюгата или РНКи агента. Направляющая группа может быть одновалентной, двухвалентной, трехвалентной, четырехвалентной или иметь более высокую валентность для мишени, на которую она направлена. Типовые направляющие группы включают, без ограничения, соединения, обладающие аффинностью к молекулам клеточной поверхности, лигандам клеточных рецепторов, гаптенам, антителам, моноклональным антителам, фрагментам антител и имитаторам антител с аффинностью к молекулам клеточной поверхности.

В некоторых вариантах осуществления, направляющая группа связана с РНКи агентом с использованием линкера, такого как ПЭГ линкер или одного, двух или трех остатков с удаленным азотистым основанием и/или остатков рибита (рибозы с удаленным азотистым основанием), которые могут в некоторых случаях служить в качестве линкеров. В некоторых вариантах осуществления, направляющий лиганд включает галактоза-производный кластер.

HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, могут быть синтезированы так, чтобы иметь реакционноспособную группу, такую как аминогруппа (также называемая в настоящем описании амин) на 5'-конце и/или 3'-конце. Реакционноспособная группа может быть использована впоследствии для присоединения

направляющего фрагмента с использованием способов, типичных в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления, направляющая группа включает лиганд асиалогликопротеинового рецептора. Используемый в настоящем описании лиганд асиалогликопротеинового рецептора является лигандом, который содержит соединение, имеющее аффинность к асиалогликопротеиновому рецептору. Как отмечено в настоящем описании, асиалогликопротеиновый рецептор значительно экспрессируется на гепатоцитах. В некоторых вариантах осуществления, лиганд асиалогликопротеинового рецептора включает или состоит из одного или более производных галактозы. Используемый в настоящем описании термин «производное галактозы» включает как галактозу, так и производные галактозы, имеющие аффинность к асиалогликопротеиновому рецептору, равную или большую, чем галактоза. Производные галактозы включают, но не ограничиваются ими: галактозу, галактозамин, N-формилгалактозамин, N-ацетилгалактозамин, N-пропионилгалактозамин, N-н-бутаноилгалактозамин и N-изобутаноилгалактозамин (см., например: S.T. Iobst and K. Drickamer, J.B.C., 1996, 271, 6686). Производные галактозы и кластеры производных галактозы, которые применяют для *in vivo* направления олигонуклеотидов и других молекул в печень, известны в данной области техники (см., например, Baenziger and Fiete, 1980, Cell, 22, 611-620; Connolly et al., 1982, J. Biol. Chem., 257, 939-945).

Производные галактозы использовались для направления молекул на гепатоциты *in vivo* через их связывание с асиалогликопротеиновым рецептором, экспрессируемым на поверхности гепатоцитов. Связывание лигандов асиалогликопротеинового рецептора с асиалогликопротеиновым рецептором(ами) способствует специфическому направлению на гепатоциты и эндоцитозу молекулы в гепатоциты. Лиганды асиалогликопротеинового рецептора могут быть мономерными (*например*, имеющими одно производное галактозы, также называемыми моновалентными или монодентатными) или мультимерными (*например*, имеющими несколько производных галактозы). Производное галактозы или кластер производного галактозы может быть присоединен к 3' или 5' концу смысловой или антисмысловой цепи РНКи агента с использованием способов, известных в данной области техники. Получение направляющих лигандов, таких как кластеры производных галактозы, описано в, например, Публикации международной заявки на патент № WO 2018/044350 от Arrowhead Pharmaceuticals, Inc. и публикации международной заявки на патент № WO 2017/156012 от Arrowhead Pharmaceuticals, Inc., содержание обеих включено в настоящий документ в качестве ссылки полностью.

Используемый в настоящем описании кластер производного галактозы включает молекулу, содержащую от двух до четырех концевых производных галактозы. Конечное производное галактозы присоединяется к молекуле через его C-1 углерод. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы представляет собой тример производного галактозы (также называемый трехантенным производным галактозы или трехвалентным производным галактозы). В некоторых вариантах осуществления, кластер

производного галактозы содержит N-ацетилгалактозамин. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы содержит три N-ацетилгалактозамина. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы представляет собой тетрамер производного галактозы (также называемый четырехантенным производным галактозы или четырехвалентным производным галактозы). В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы включает четыре N-ацетилгалактозамина.

Используемый в настоящем описании тример производного галактозы содержит три производных галактозы, каждое из которых связано с центральной точкой ветвления. Используемый в настоящем описании тетрамер производного галактозы содержит четыре производных галактозы, каждая из которых связана с центральной точкой ветвления. Производные галактозы могут быть присоединены к центральной точке разветвления через C-1 атомы углерода сахаридов. В некоторых вариантах осуществления производные галактозы связаны с точкой ветвления через линкеры или спейсеры. В некоторых вариантах осуществления линкер или спейсер представляет собой гибкий гидрофильный спейсер, такой как группа ПЭГ (см., например, Патент США № 5,885,968; Biessen et al. J. Med. Chem. 1995 Vol. 39 p. 1538-1546). В некоторых вариантах осуществления, ПЭГ спейсером является ПЭГ₃ спейсер. Точкой ветвления может быть любая малая молекула, которая допускает присоединение трех производных галактозы и дополнительно разрешает присоединение точки ветвления к РНКи агенту. Примером группы точек ветвления является ди-лизин или ди-глутамат. Присоединение точки ветвления к РНКи агенту может происходить через линкер или спейсер. В некоторых вариантах осуществления линкер или спейсер содержит гибкий гидрофильный спейсер, такой как, но не ограниченный ими, спейсер ПЭГ. В некоторых вариантах осуществления, линкер содержит жесткий линкер, такой как циклическая группа. В некоторых вариантах осуществления, производное галактозы содержит или состоит из N-ацетилгалактозамина. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы состоит из тетрамера производного галактозы, который может быть, например, тетрамером N-ацетилгалактозамина.

Варианты осуществления настоящего описания включают фармацевтические композиции для доставки HSD17B13 РНКи агента в клетку печени *in vivo*. Такие фармацевтические композиции могут включать, например, HSD17B13 РНКи агент, конъюгированный с кластером производного галактозы. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы состоит из тримера производного галактозы, которым может быть, например, тример N-ацетилгалактозамина, или тетрамера производного галактозы, которым может быть, например, тетрамер N-ацетилгалактозамина.

Направляющий лиганд или направляющая группа может быть связана с 3' или 5' концом смысловой цепи или антисмысловой цепи HSD17B13 РНКи агента, описанного в настоящем описании.

Направляющие лиганды включают, но не ограничены ими, (NAG13), (NAG13)_s, (NAG18), (NAG18)_s, (NAG24), (NAG24)_s, (NAG25), (NAG25)_s, (NAG26), (NAG26)_s,

(NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39) и (NAG39)s, определенные в таблице 6. Другие направляющие группы и направляющие лиганды, включая направляющие лиганды галактозного кластера, известны в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления, связующая группа конъюгирована с РНКи агентом. Связующая группа облегчает ковалентное связывание агента с направляющей группой, полимером доставки или средством доставки. Связующая группа может быть связана с 3' и/или 5' концом смысловой цепи или антисмысловой цепи РНКи агента. В некоторых вариантах осуществления, связующая группа связана со смысловой цепью РНКи агента. В некоторых вариантах осуществления, связующая группа конъюгирована с 5' или 3' концом смысловой цепи РНКи агента. В некоторых вариантах осуществления, связующая группа конъюгирована с 5' концом смысловой цепи РНКи агента. Примеры связующих групп могут включать, но не ограничиваются ими: реакционноспособные группы, такие как первичные амины и алкины, алкильные группы, нуклеотиды с удаленными азотистыми основаниями, рибит (рибозу с удаленным азотистым основанием) и/или группы ПЭГ.

В некоторых вариантах осуществления, направляющая группа связана внутренне с нуклеотидом на смысловой цепи и/или антисмысловой цепи РНКи агента. В некоторых вариантах осуществления, направляющая группа связана с РНКи агентом через линкер.

Линкер или связующая группа является соединением между двумя атомами, которое связывает одну химическую группу (такую как РНКи агент) или сегмент, представляющий интерес, с другой химической группой (такой как направляющая группа или полимер доставки) или сегментом, представляющим интерес, через одну или несколько ковалентных связей. Лабильная связующая группа содержит лабильную связь. Связь может дополнительно включать спейсер, который увеличивает расстояние между двумя соединенными атомами. Спейсер может дополнительно увеличить гибкость и/или длину связи. Спейсеры включают, но не ограничены ими, алкильные группы, алкенильные группы, алкинильные группы, арильные группы, аралкильные группы, аралкенильные группы и аралкинильные группы; каждая из которых может содержать один или более гетероатомов, гетероциклов, аминокислот, нуклеотидов и сахаридов. Спейсерные группы хорошо известны в данной области техники, и предыдущий список не предназначен для ограничения объема описания.

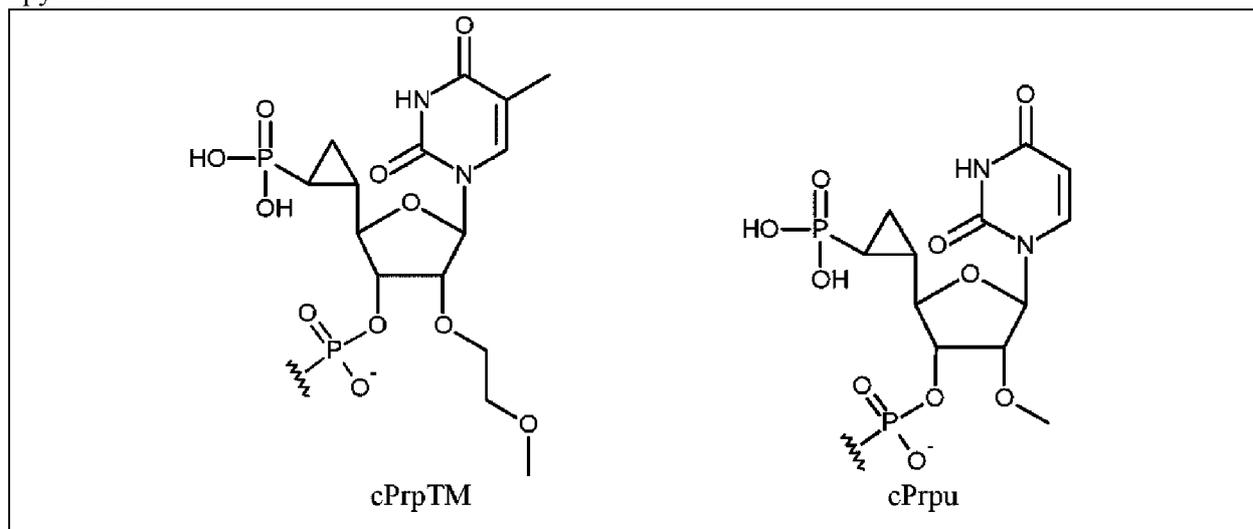
В некоторых вариантах осуществления, когда два или несколько агентов РНКи включены в одну композицию, каждый из агентов РНКи может быть связан с одними и теми же направляющими группами или двумя разными направляющими группами (т.е. направляющими группами, имеющими разную химическую структуру). В некоторых вариантах осуществления, направляющие группы связаны с HSD17B13 РНКи агентами, описанными в настоящем описании, без использования дополнительного линкера. В некоторых вариантах осуществления, сама направляющая группа сконструирована с

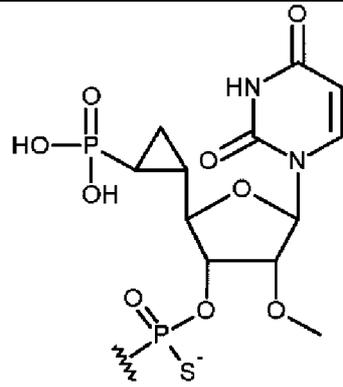
линкером или другим сайтом для облегчения конъюгирования. В некоторых вариантах осуществления, когда два или несколько HSD17B13 РНКи агентов включены в один, каждый из РНКи агентов может использовать один и тот же линкер или разные линкеры (т.е. линкеры, имеющие разные химические структуры).

Любая из нуклеотидных последовательностей HSD17B13 РНКи агента, перечисленных в таблицах 2, 3 или 4, модифицированных или немодифицированных, может содержать 3' и/или 5' направляющую группу или связующую группу. Любая из последовательностей HSD17B13 РНКи агента, перечисленных в таблице 3 или 4, или иным образом описанных в настоящем описании, которые содержат 3' или 5' направляющую группу или связующую группу, альтернативно не могут содержать 3' или 5' направляющую группу или связующую группу, или могут содержать групп другую 3' или 5' направляющую группу или связующую группу, включая, но не ограничиваясь ими, показанные в Таблице 6. Любой из дуплексов HSD17B13 РНКи агента, перечисленных в Таблице 5, модифицированных или немодифицированных, может дополнительно содержать направляющую группу или связующую группу, включая, но не ограничиваясь ими, изображенные в Таблице 6, и направляющая группа или связующая группа может быть присоединена к 3 'или 5' концу либо смысловой цепи, либо антисмысловой цепи дуплекса HSD17B13 РНКи агента.

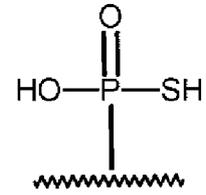
Примеры направляющих групп и связующих групп (которые в комбинации могут образовывать направляющие лиганды) представлены в Таблице 6. В Таблице 4 представлены несколько вариантов смысловых цепей HSD17B13 РНКи агента, имеющих направляющую группу или связующую группу, связанную с 5 'или 3' концом.

Таблица 6. Структуры, представляющие разные модифицированные нуклеотиды, направляющие лиганды или направляющие группы, кэпирующие остатки и связующие группы

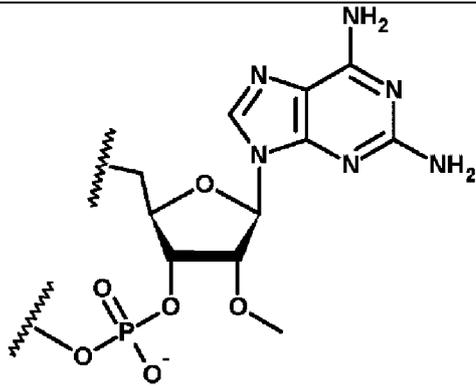




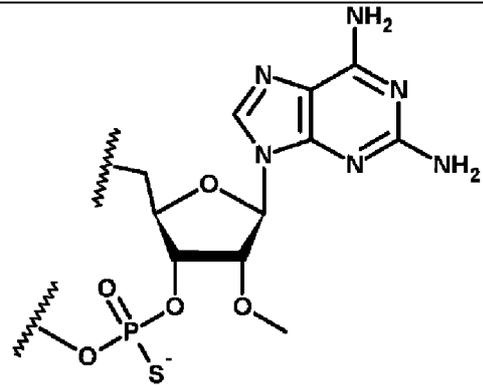
cPrpus



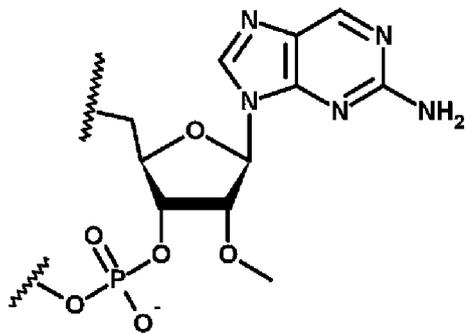
sp



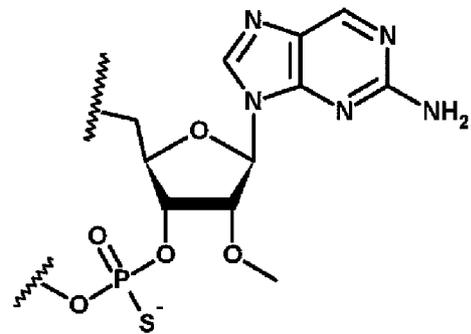
a_2N



a_2Ns



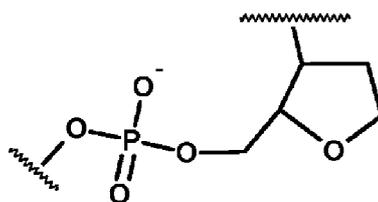
pu_2N



pu_2Ns

Если расположена внутри олигонуклеотида:

Связь в направлении 5' конца
олигонуклеотида

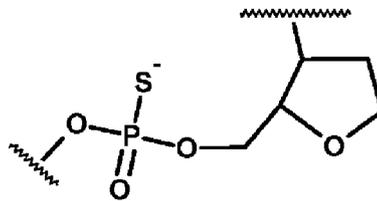


Связь в направлении 5' конца
олигонуклеотида

(invAb)

Если расположена внутри олигонуклеотида:

Связь в направлении 5' конца
олигонуклеотида

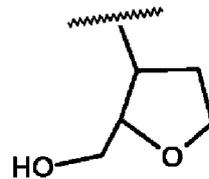


Связь в направлении 5' конца
олигонуклеотида

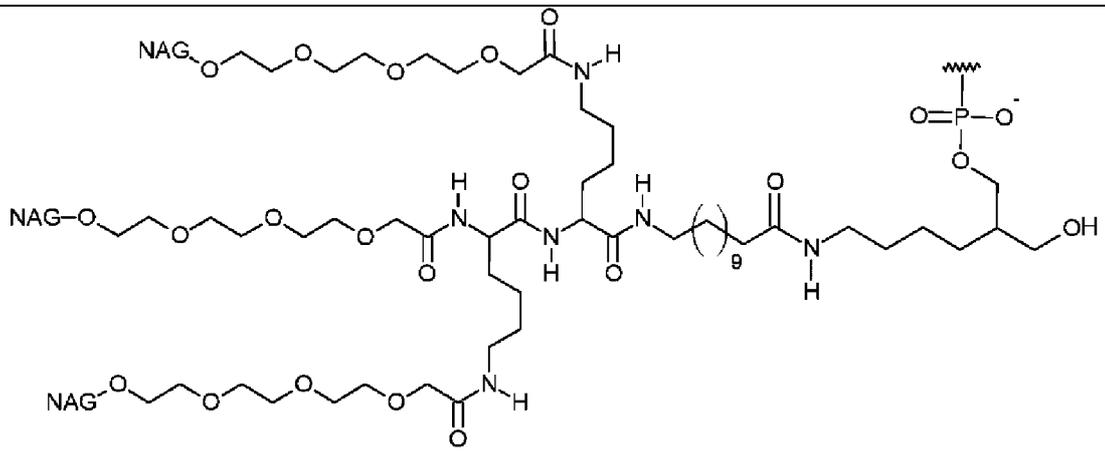
(invAb)s

Если расположена на 3' концевой области олигонуклеотида:

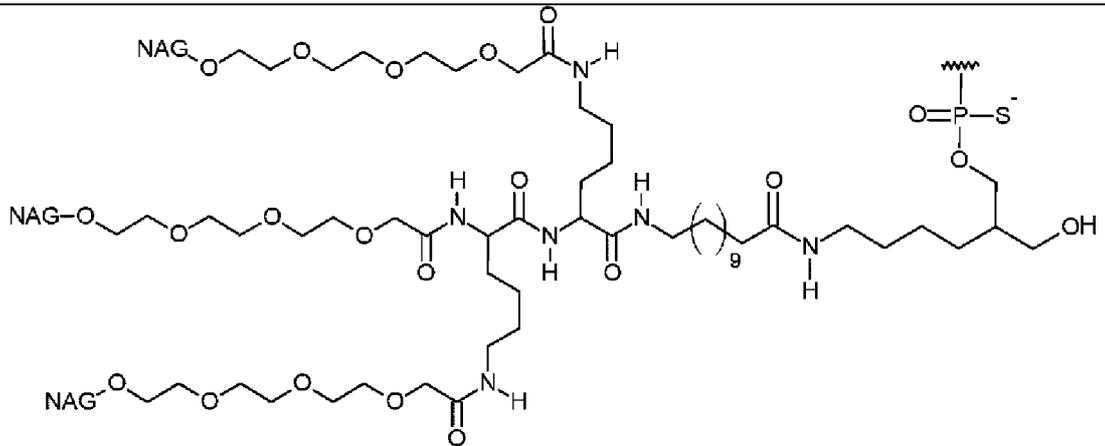
Связь в направлении 5' конца олигонуклеотида



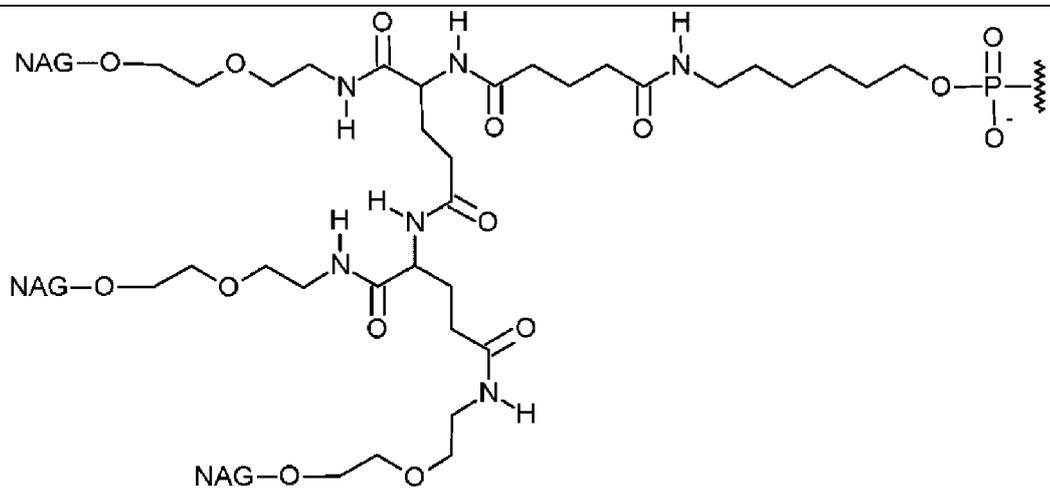
(invAb)



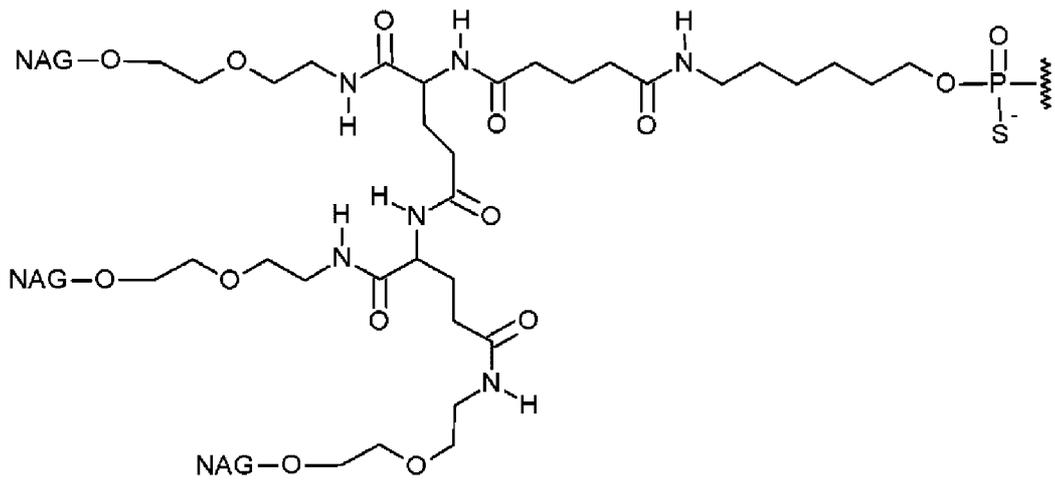
(NAG13)



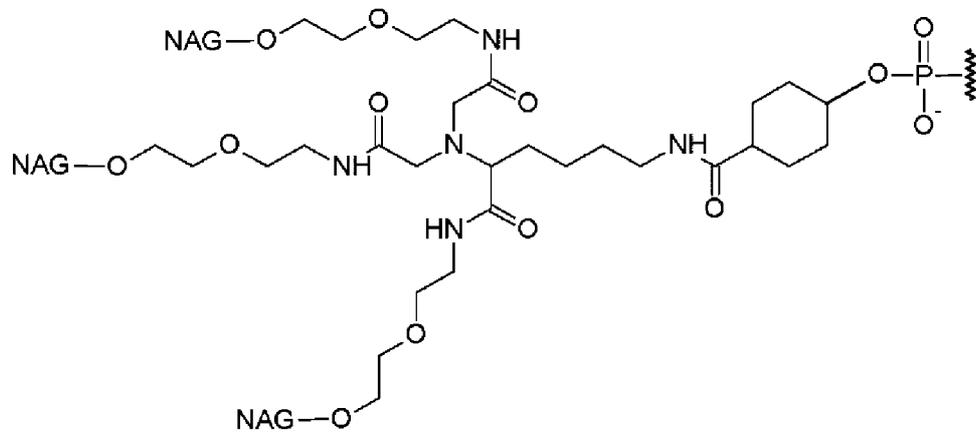
(NAG13)s



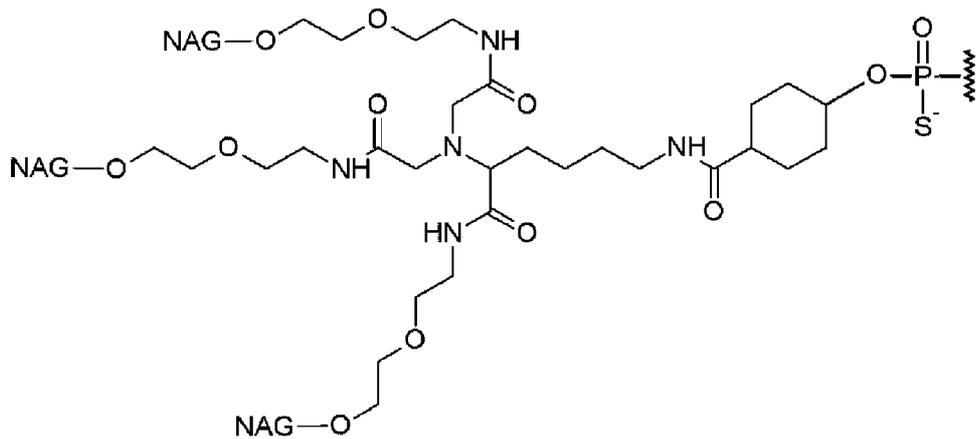
(NAG18)



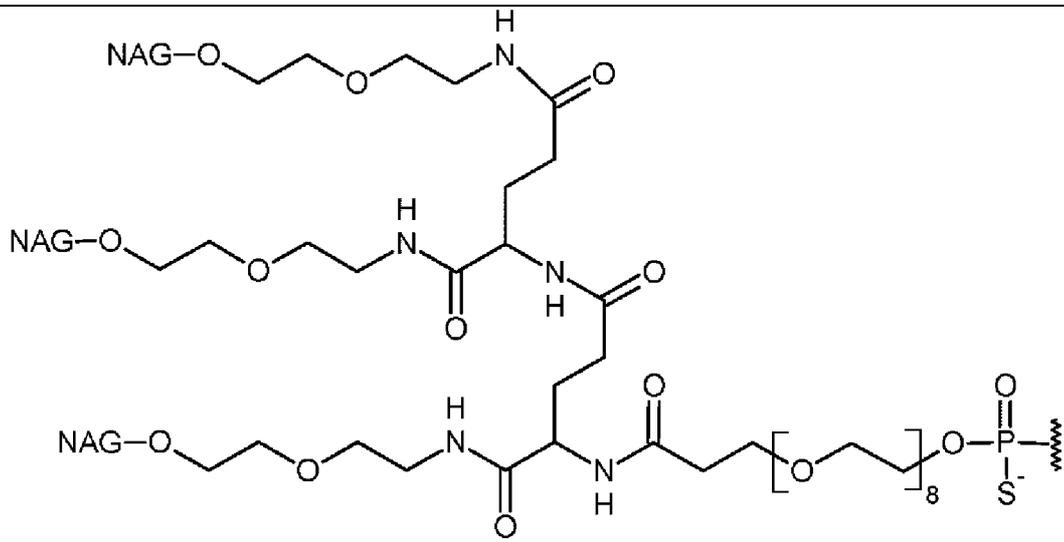
(NAG18)s



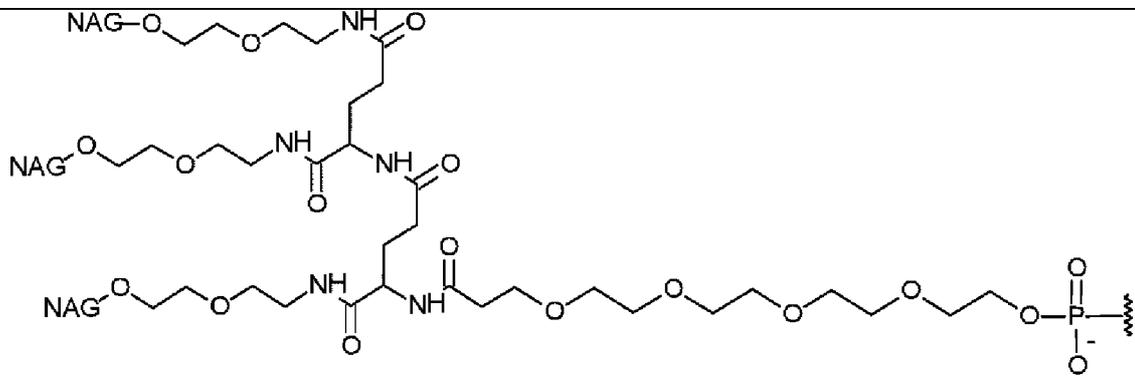
(NAG24)



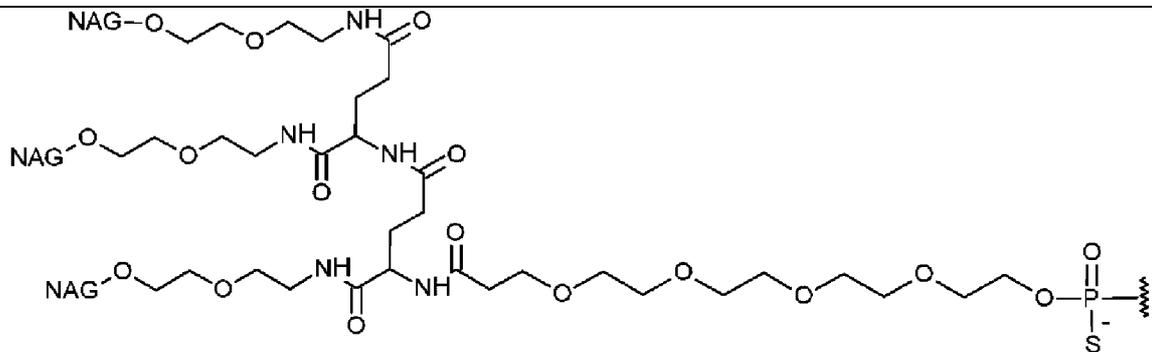
(NAG24)s



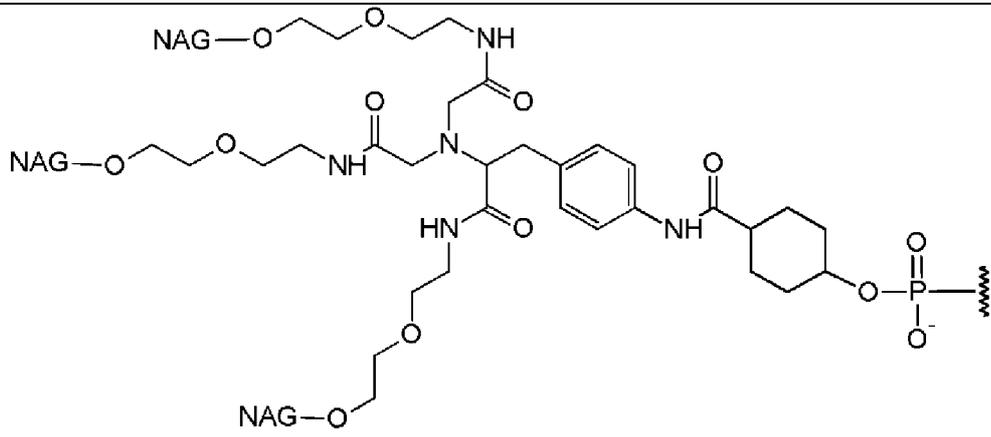
(NAG26)s



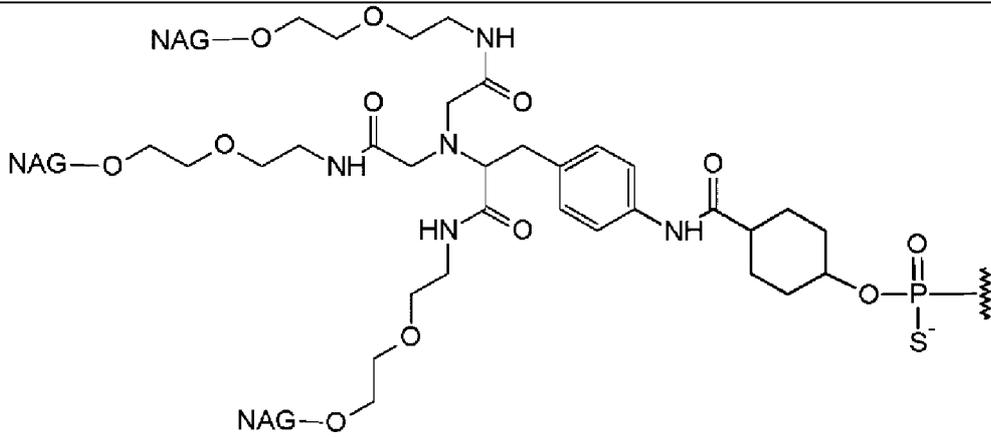
(NAG27)



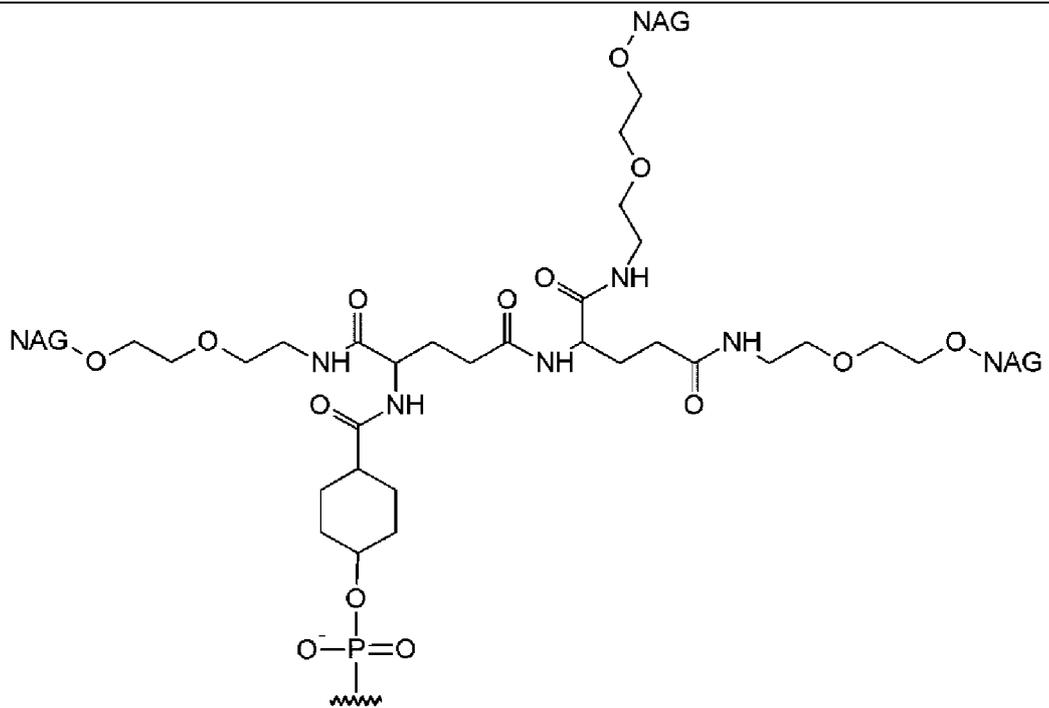
(NAG27)s



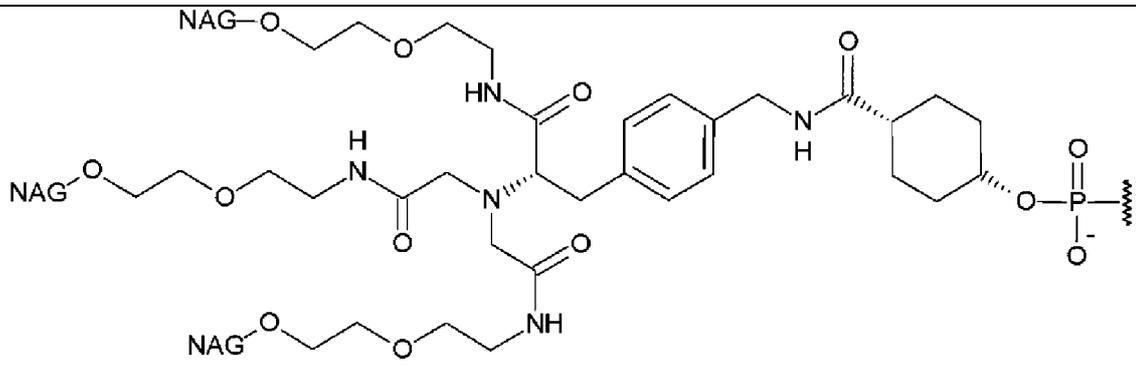
(NAG28)



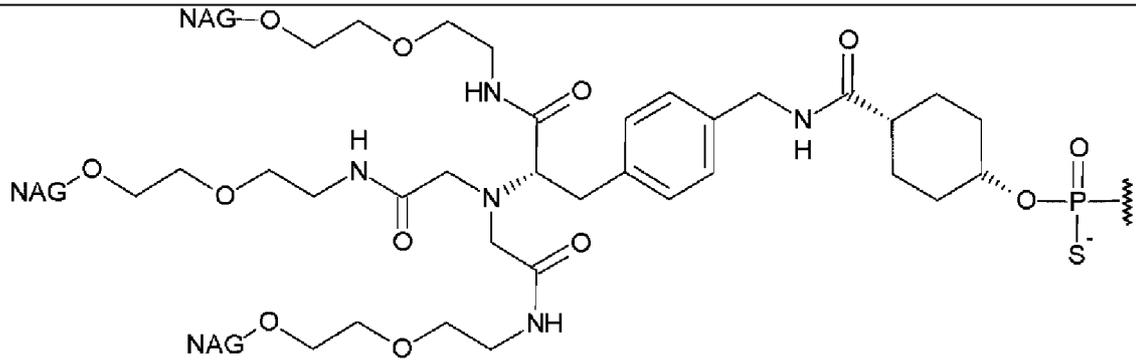
(NAG28)s



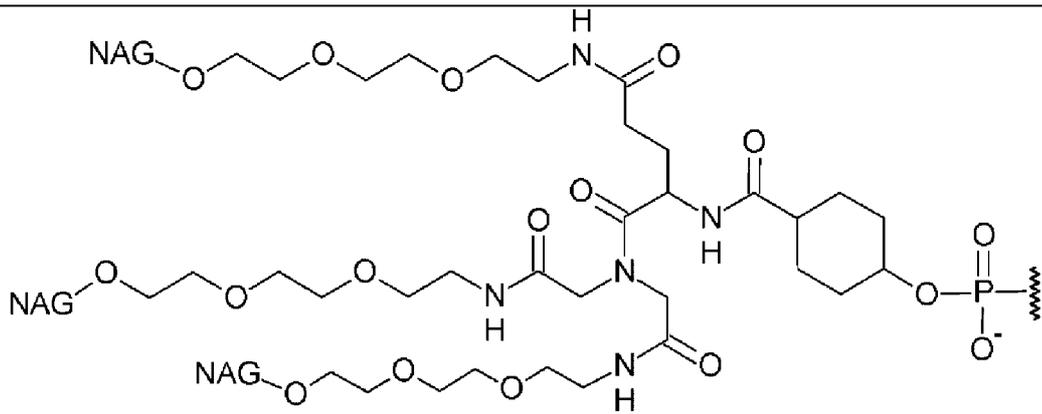
(NAG29)



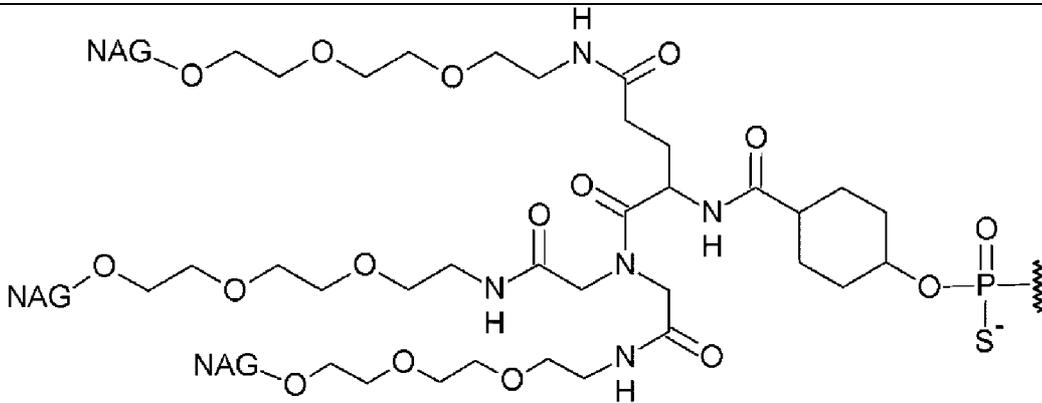
(NAG31)



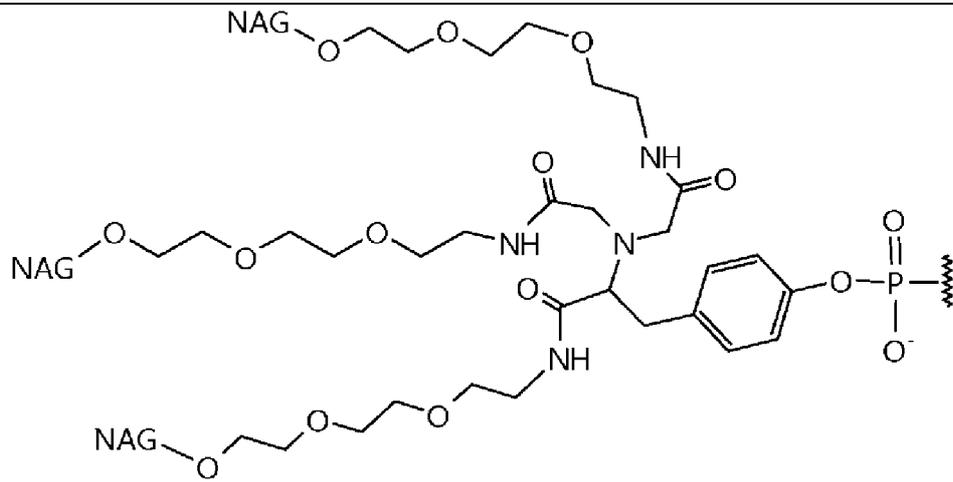
(NAG31)s



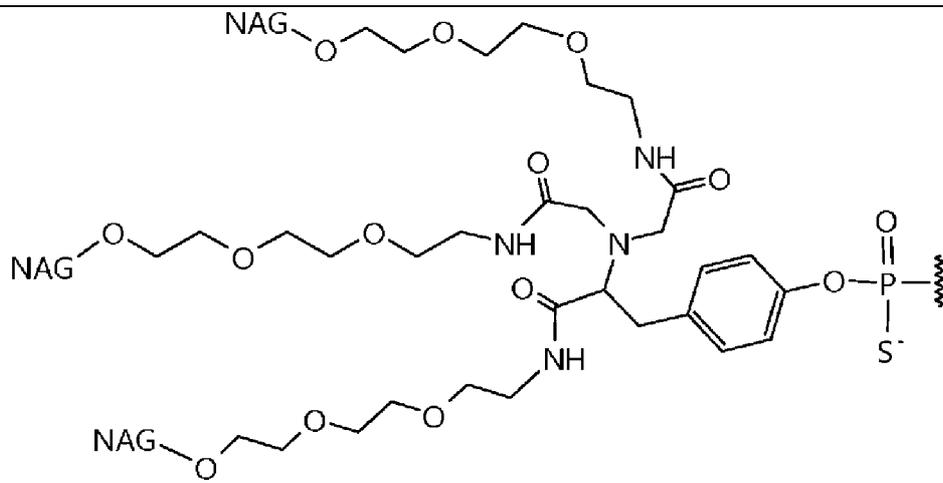
(NAG32)



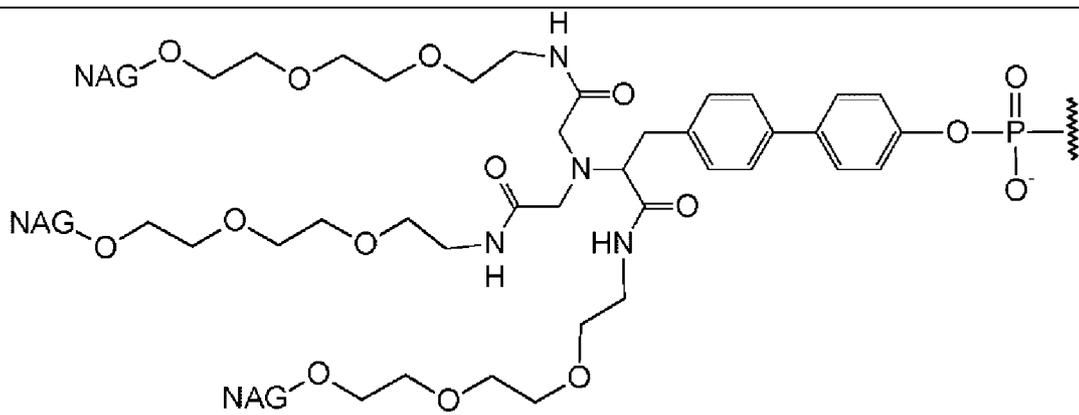
(NAG32)s



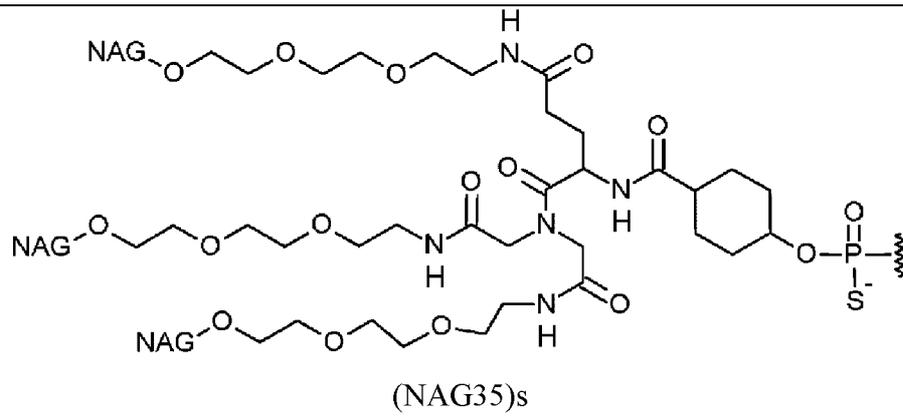
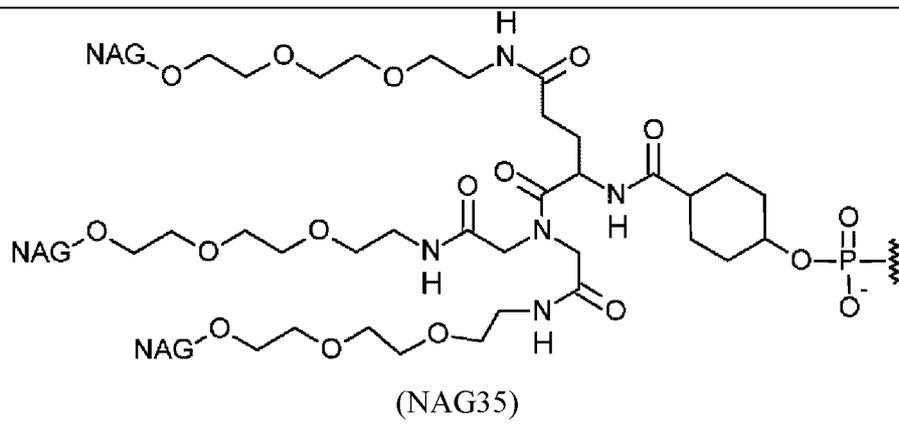
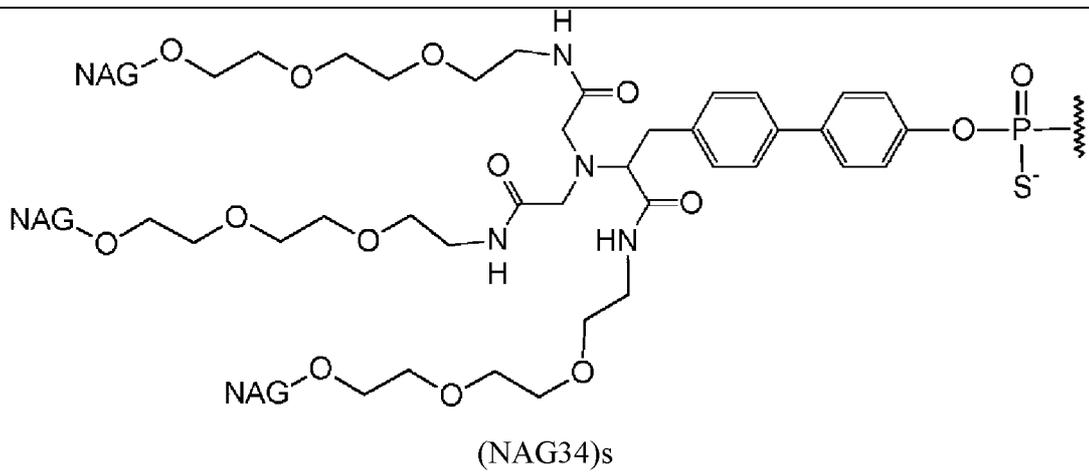
(NAG33)

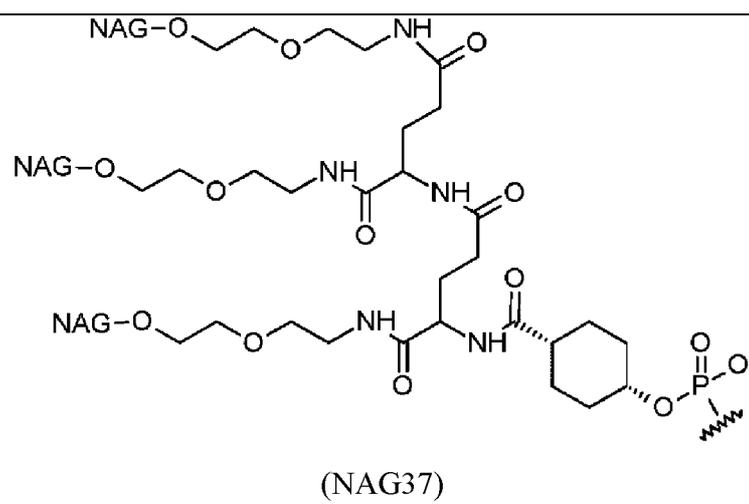
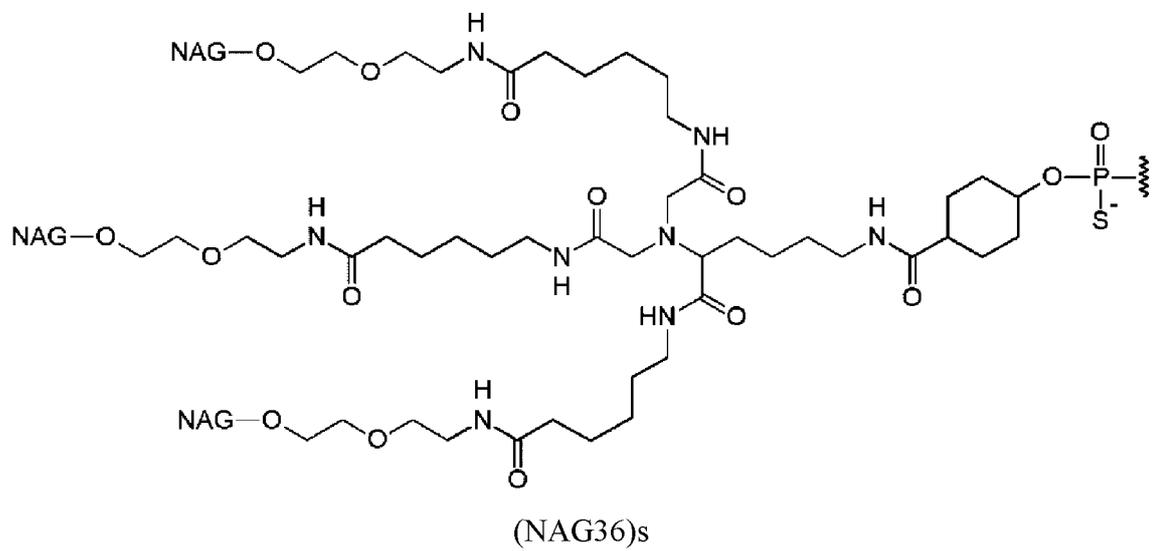
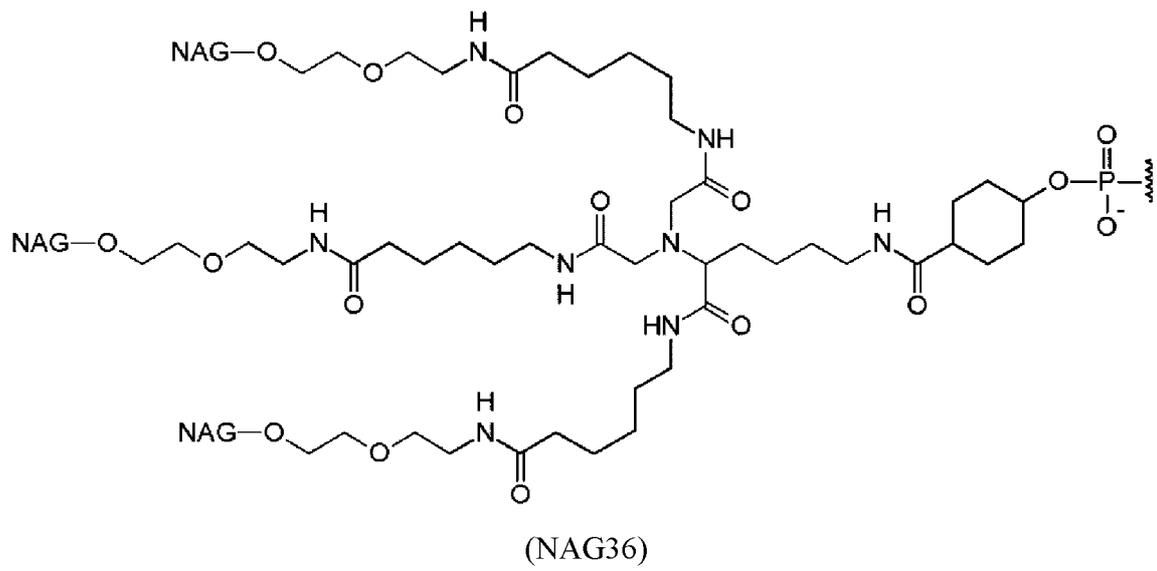


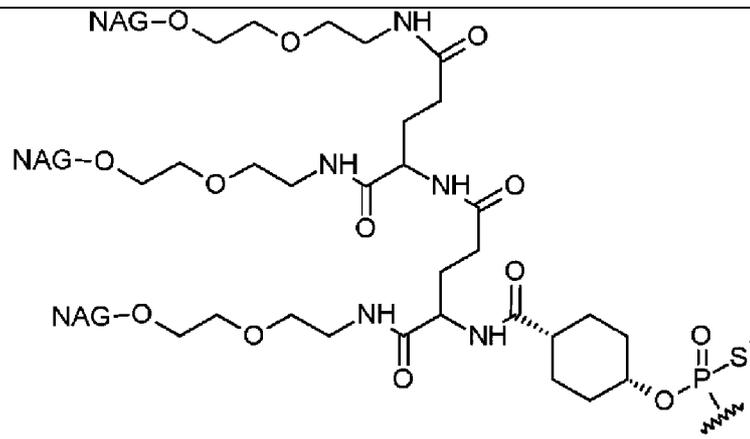
(NAG33)s



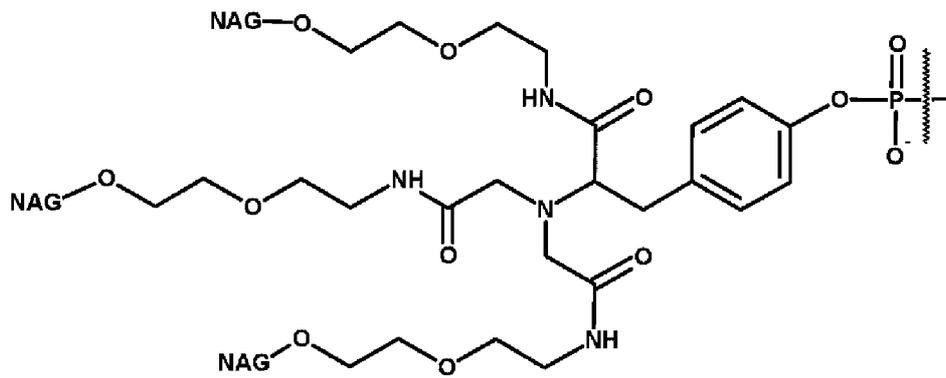
(NAG34)



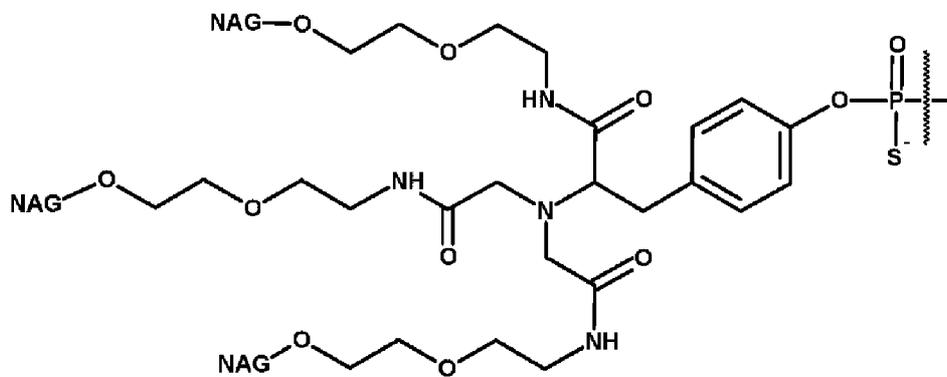




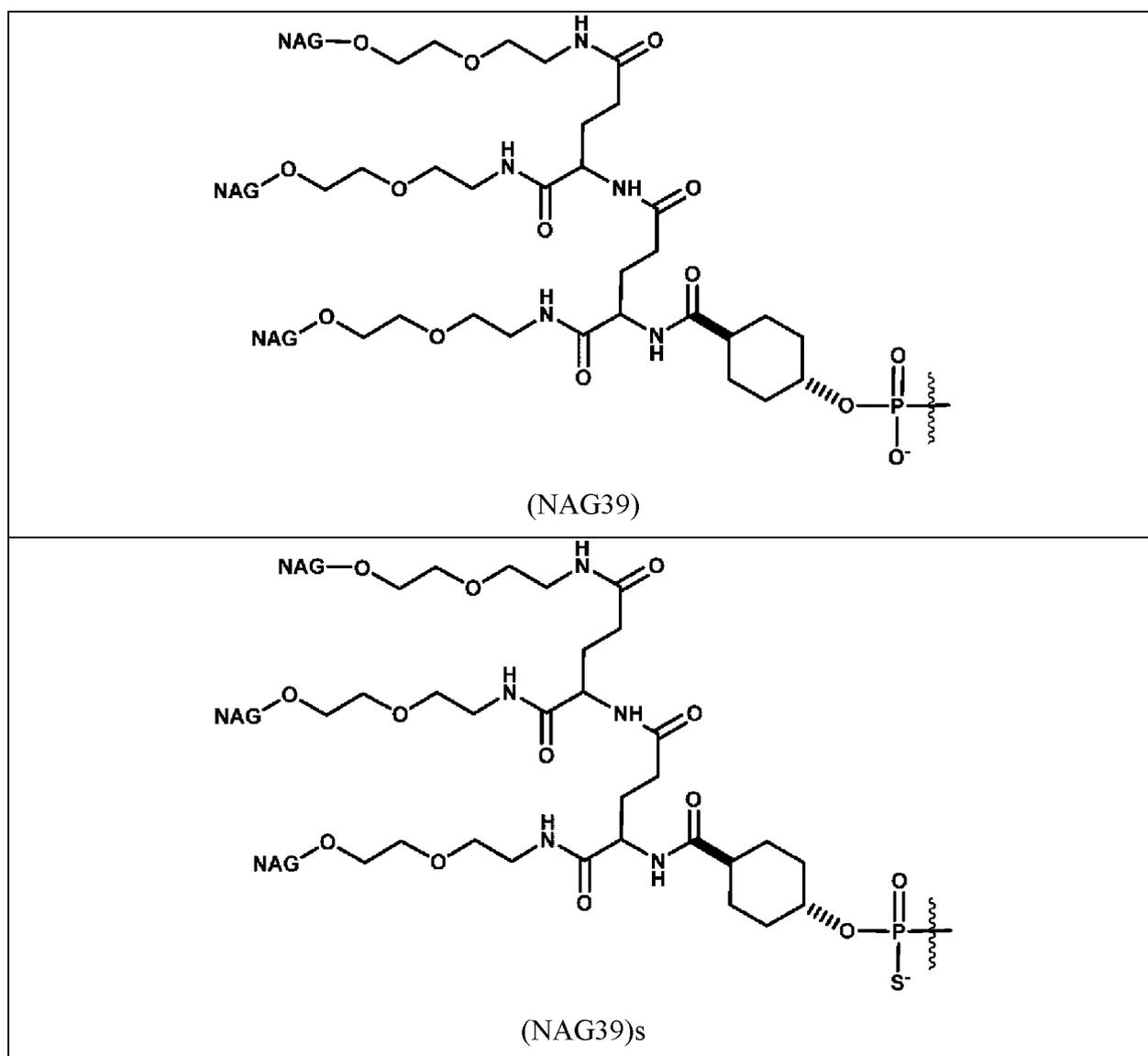
(NAG37)s



(NAG 38)

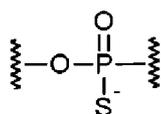
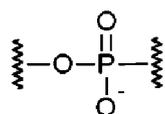


(NAG 38)s



В каждой из вышеуказанных структур в Таблице 6, NAG содержит N-ацетилгалактозамин или другое производное галактозы, как будет понятно специалисту в данной области техники, с учетом приведенных выше структур и описания, представленного в настоящем описании. Например, в некоторых вариантах осуществления, NAG в представленных структурах представляет собой N-ацетилгалактозамин.

Каждый (NAG_x) может быть присоединен к HSD17B13 РНКи агенту через фосфатную группу (как в (NAG25), (NAG30) и (NAG31)) или фосфотиоатную группу (как в (NAG25)_s, (NAG29)_s, (NAG30)_s, (NAG31)_s или (NAG37)_s) или другую связующую группу.



Фосфатная группа Фосфотиоатная группа

Могут использоваться другие связующие группы, известные в данной области техники.

В некоторых вариантах осуществления, средство доставки может использоваться

для доставки РНКи агента к клетке или ткани. Средством доставки является соединение, которое улучшает доставку РНКи агента к клетке или ткани. Средство доставки может включать или состоять из, но не ограничивается ими: полимер, такой как амфипатический полимер, мембранно-активный полимер, пептид, пептид мелиттина, мелиттиноподобный пептид (MLP), жир, обратимо модифицированный полимер или пептид или обратимо модифицированный мембрано-активный полиамин. В некоторых вариантах осуществления, РНКи агенты могут быть объединены с жирами, наночастицами, полимерами, липосомами, мицеллами, DPC или другими системами доставки, доступными в данной области техники. РНКи агенты также могут быть химически конъюгированы с направляющими группами, жирами (включая, но не ограничиваясь ими, холестерин и производные холестерина), наночастицами, полимерами, липосомами, мицеллами, DPC (см., например WO 2000/053722, WO 2008/0022309, WO 2011/104169 и WO 2012/083185, WO 2013/032829, WO 2013/158141, каждая из которых включена в настоящий документ в качестве ссылки), гидрогели, циклодекстрины, биоразлагаемые нанокапсулы и биоадгезивные микросферы, белковые векторы или другие системы доставки, подходящие для доставки нуклеиновых кислот или олигонуклеотидов, как известно и доступно в данной области техники.

Фармацевтические композиции и составы

HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, могут быть приготовлены в виде фармацевтических композиций или составов (также называемых в настоящем описании «лекарственными средствами»). В некоторых вариантах осуществления, фармацевтические композиции включают, по меньшей мере, один HSD17B13 РНКи агент. Эти фармацевтические композиции особенно полезны для ингибирования экспрессии иРНК-мишени в являющихся мишенями клетке, группе клеток, ткани или организме.

Фармацевтические композиции могут быть использованы для лечения субъекта, страдающего заболеванием, расстройством или состоянием, для которого было бы полезно снижение уровня HSD17B13 иРНК-мишени или ингибирование экспрессии целевого гена. Фармацевтические композиции можно использовать для лечения субъекта с риском развития заболевания, расстройства или состояния, для которого может быть полезно снижение уровня иРНК-мишени или ингибирование экспрессии целевого гена. В одном варианте осуществления, способ включает введение HSD17B13 РНКи агента, связанного с направляющим лигандом, как описано в настоящем описании, субъекту, подлежащему лечению. В некоторых вариантах осуществления, один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов (включая средства доставки, носители, разбавители и/или полимеры доставки) добавляют к фармацевтическим композициям, которые включают HSD17B13 РНКи агент, с образованием фармацевтического состава или лекарственного средства, подходящего для доставки *in vivo* субъекту, в том числе человеку.

Фармацевтические композиции, которые включают HSD17B13 РНКи агент, и способы, описанные в настоящем описании, снижают уровень иРНК-мишени в клетке,

группе клеток, группе клеток, ткани, органе или субъекте, в том числе путем введения субъекту терапевтически эффективного количества описанного в настоящем описании HSD17B13 РНКи агента, тем самым ингибируя экспрессию HSD17B13 иРНК у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, субъект был ранее идентифицирован или диагностирован как имеющий патогенную активацию гена-мишени в таргетируемой клетке или ткани. В некоторых вариантах осуществления, субъект был ранее идентифицирован или диагностирован как страдающий НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени и/или алкогольным или неалкогольным заболеванием печени, таким как цирроз. В некоторых вариантах осуществления, субъект страдает симптомами, связанными с НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени и/или алкогольным или неалкогольным заболеванием печени, таким как цирроз.

В некоторых вариантах осуществления, описанные фармацевтические композиции, включающие HSD17B13 РНКи агент, используют для лечения или управления клиническими проявлениями, связанными с НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени, алкогольным или неалкогольным заболеванием печени, включая цирроз, и/или суперэкспрессией HSD17B13 у субъекта. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически (включая профилактически) эффективное количество одной или нескольких фармацевтических композиций вводят субъекту, нуждающемуся в таком лечении. В некоторых вариантах осуществления, введение любого из описанных HSD17B13 РНКи агентов можно использовать для уменьшения количества, тяжести и/или частоты симптомов заболевания у субъекта.

Описанные фармацевтические композиции, которые включают HSD17B13 РНКи агент, могут быть использованы для лечения, по меньшей мере, одного симптома у субъекта, страдающего заболеванием или расстройством, для которого было бы полезно снижение или ингибирование экспрессии HSD17B13 иРНК. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят терапевтически эффективное количество одной или нескольких фармацевтических композиций, которые включают HSD17B13 РНКи агент, таким образом, излечивая симптом. В других вариантах осуществления, субъекту вводят профилактически эффективное количество одного или более HSD17B13 РНКи агентов, тем самым предотвращая или ингибируя, по меньшей мере, один симптом.

Путем введения является путь, которым HSD17B13 РНКи агент контактирует с телом. В общем, способы введения лекарственных средств, олигонуклеотидов и нуклеиновых кислот для лечения млекопитающих хорошо известны в данной области техники и могут использоваться для введения композиций, описанных в настоящем описании. HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, могут вводиться любым подходящим путем в препарате, подходящем для конкретного пути. Таким образом, описанные в настоящем описании фармацевтические композиции могут быть введены инъекцией, например, внутривенно, внутримышечно, внутрикожно, подкожно, внутрисуставно или внутривнутрибрюшинно. В некоторых вариантах осуществления, описанные в настоящем описании фармацевтические композиции вводят подкожной инъекцией.

Фармацевтические композиции, включая HSD17B13 РНКи агент, описанные в

настоящем описании, могут быть доставлены в клетку, группу клеток, ткань или субъект с использованием технологий доставки олигонуклеотидов, известных в данной области техники. В общем, любой подходящий способ доставки молекулы нуклеиновой кислоты (*in vitro* или *in vivo*), признаваемый в данной области техники, может быть адаптирован для использования с композициями, описанными в настоящем описании. Например, доставка может осуществляться местным введением (*например*, прямой инъекцией, имплантацией или местным введением), системным введением или подкожным, внутривенным, внутривенным или парентеральным путями, включая внутривенное (*например*, внутривенное, внутривенное и интратекальное), внутримышечное, трансдермальное, через дыхательные пути (аэрозоль), назальное, пероральное, ректальное или местное (включая буккальное и сублингвальное) введение. В некоторых вариантах осуществления, композиции вводят подкожной или внутривенной инфузией или инъекцией.

В некоторых вариантах осуществления, фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, содержат один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов. Фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, составлены для введения субъекту.

Используемые в настоящем описании фармацевтическая композиция или лекарственное средство включает фармакологически эффективное количество, по меньшей мере, одного из описанных терапевтических соединений и одного или более фармацевтически приемлемых эксципиентов. Фармацевтически приемлемые эксципиенты (эксципиенты) являются веществами, отличными от активного фармацевтического ингредиента (АФИ, терапевтического продукта, *например*, HSD17B13 РНКи агента), которые намеренно включены в систему доставки лекарственного средства. Эксципиенты не оказывают или не предназначены для оказания терапевтического эффекта в намеченной дозировке. Эксципиенты могут действовать так, чтобы: а) способствовать обработке системы доставки лекарственного средства во время производства, б) защищать, поддерживать или повышать стабильность, биодоступность или приемлемость АФИ для пациентов, в) помогать в идентификации продукта и/или d) улучшать любые другие характеристики общей безопасности, эффективности доставки АПИ во время хранения или использования. Фармацевтически приемлемый эксципиент может быть или не быть инертным веществом.

Эксципиенты включают, но не ограничиваются ими: усилители абсорбции, антиадгезивы, противопенные агенты, антиоксиданты, связующие агенты, буферные агенты, носители, покрывающие агенты, красители, усилители доставки, полимеры доставки, детергенты, декстран, декстроза, разбавители, разрыхлители, эмульгаторы, сухие наполнители, наполнители, ароматизаторы, глиданты, увлажнители, смазки, масла, полимеры, консерванты, солевой раствор, соли, растворители, сахара, поверхностно-активные вещества, суспендирующие агенты, матрицы замедленного высвобождения, подсластители, загустители, регуляторы тоничности, носители, водоотталкивающие агенты

и смачивающие агенты.

Фармацевтические композиции, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы (если они водорастворимы) или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Для внутривенного введения, подходящие носители включают физиологический солевой раствор, бактериостатическую воду, Cremophor® ELTM (BASF, Parsippany, NJ) или физиологический раствор с фосфатным буфером (ФРФБ). Подходящие носители должны быть стабильными в условиях производства и хранения и должны быть защищены от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носителем может быть растворитель или дисперсионная среда, содержащая, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль) и их подходящие смеси. Подходящую текучесть можно поддерживать, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и использования поверхностно-активных веществ. Во многих случаях будет предпочтительно включать изотонические агенты, например, сахара, многоатомные спирты, такие как маннит, сорбит и хлорид натрия, в композиции. Пролонгированная абсорбция инъекционных композиций может быть достигнута включением в композицию агента, который задерживает абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина.

Стерильные инъекционные растворы могут быть приготовлены включением активного соединения в необходимом количестве в соответствующий растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости, с последующей стерилизацией фильтрованием. В общем, дисперсии готовят включением активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для приготовления стерильных растворов для инъекций, способы приготовления включают вакуумную сушку и сублимационную сушку, которая дает порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из его раствора, предварительно стерилизованного фильтрованием.

В некоторых вариантах осуществления, фармацевтические составы, которые включают HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, подходящее для подкожного введения, могут быть приготовлены в водном буфере на основе фосфата натрия (например, HSD17B13 РНКи агент, составленный в 0,5 мМ одноосновном фосфате натрия, 0,5 мМ двухосновном фосфате натрия, в воде).

Составы, подходящие для внутрисуставного введения, могут быть в форме стерильного водного препарата лекарственного средства, который может быть в микрокристаллической форме, например, в форме водной микрокристаллической суспензии. Липосомные составы или биоразлагаемые полимерные системы также могут использоваться для составления лекарственного средства как для внутрисуставного, так и для офтальмологического введения.

Также могут быть приготовлены составы, подходящие для перорального введения HSD17B13 РНКи агентов, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, вводят перорально. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, составлен в капсуле для перорального введения.

Активные соединения могут быть приготовлены с носителями, которые будут защищать соединение от быстрого выведения из организма, например, составом с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микроинкапсулированные системы доставки. Могут использоваться биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфиры и полимолочная кислота. Способы приготовления таких составов будут очевидны специалистам в данной области. Липосомальные суспензии также могут использоваться в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Они могут быть приготовлены способами, известными специалистам в данной области, например, как описано в патенте США № 4,522,811.

HSD17B13 РНКи агенты могут быть составлены в композиции в виде единичной дозированной формы для простоты введения и единообразия дозировки. Единичная дозированная форма относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для субъекта, подлежащего лечению; каждая единица содержит заранее определенное количество активного соединения, рассчитанное на достижение желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Спецификация стандартных дозированных форм по настоящему описанию продиктована и напрямую зависит от уникальных характеристик активного соединения и терапевтического эффекта, который должен быть достигнут, и ограничений, имеющихся в области составления такого активного соединения для лечения индивидуумов.

Фармацевтическая композиция может содержать другие дополнительные компоненты, обычно присутствующие в фармацевтических композициях. Такие дополнительные компоненты включают, но не ограничиваются ими: противозудные агенты, вяжущие агенты, местные анестетики, анальгетики, антигистамины или противовоспалительные агенты (например, ацетаминофен, НПВП, дифенгидрамин и т. д.). Также предполагается, что клетки, ткани или изолированные органы, которые экспрессируют или содержат определенные в настоящем описании РНКи агенты, могут использоваться как «фармацевтические композиции». Используемый в настоящем описании термин «фармакологически эффективное количество», «терапевтически эффективное количество» или просто «эффективное количество» относится к количеству РНКи агента, обеспечивающему фармакологический, терапевтический или профилактический результат.

В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в настоящем описании, дополнительно включают стадию введения второго терапевтического агента или средства лечения в дополнение к введению РНКи агента, описанного в настоящем описании. В

некоторых вариантах осуществления, вторым терапевтическим средством является другой HSD17B13 РНКи агент (например, HSD17B13 РНКи агент, который направлен на другую последовательность в пределах HSD17B13-мишени). В других вариантах осуществления, вторым терапевтическим средством может быть низкомолекулярное лекарственное средство, антитело, фрагмент антитела или аптамер.

В некоторых вариантах осуществления, описанные HSD17B13 РНКи агенты необязательно комбинируют с одним или более дополнительными терапевтическими средствами. HSD17B13 РНКи агент и дополнительные терапевтические средства можно вводить в одной композиции или их можно вводить отдельно. В некоторых вариантах осуществления, одно или несколько дополнительных терапевтических средств вводят отдельно в отдельных дозированных формах от РНКи агента (например, HSD17B13 РНКи агент вводят подкожной инъекцией, в то время как дополнительное терапевтическое средство, включенное в схему дозирования способа лечения, вводят перорально). В некоторых вариантах осуществления, описанные HSD17B13 РНКи агенты вводят нуждающемуся в этом субъекту подкожной инъекцией, и одно или несколько дополнительных терапевтических средств вводят перорально, что вместе обеспечивает схему лечения заболеваний и состояний, связанных с НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени и/или алкогольными или неалкогольными заболеваниями печени, в том числе циррозом. В некоторых вариантах осуществления, описанные HSD17B13 РНКи агенты вводят субъекту, нуждающемуся в этом, подкожной инъекцией, и одно или несколько необязательных дополнительных терапевтических средств вводят отдельной подкожной инъекцией. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агент и одно или несколько дополнительных терапевтических средств объединены в единую дозированную форму (например, «коктейль», составленный в виде единой композиции для подкожной инъекции). HSD17B13 РНКи агенты с одним или более дополнительными терапевтическими средствами или без них, могут быть объединены с одним или более эксципиентами с образованием фармацевтических композиций.

В общем, эффективное количество HSD17B13 РНКи агента будет в диапазоне от приблизительно 0,1 до приблизительно 100 мг/кг массы тела/дозу, например, от приблизительно 1,0 до приблизительно 50 мг/кг массы тела/дозу. В некоторых вариантах осуществления, эффективное количество активного соединения будет в диапазоне от приблизительно 0,25 до приблизительно 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления, эффективное количество активного ингредиента будет в диапазоне от приблизительно 0,5 до приблизительно 4 мг/кг массы тела на дозу. Дозирование может осуществляться еженедельно, раз в две недели, ежемесячно или с любым другим интервалом в зависимости от вводимой дозы HSD17B13 РНКи агента, уровня активности конкретного HSD17B13 РНКи агента и желаемого уровня ингибирования для конкретного субъекта. Примеры в настоящем описании показывают подходящие уровни ингибирования у определенных видов животных. Вводимое количество будет зависеть от таких переменных, как общее состояние здоровья пациента, относительная биологическая

эффективность доставляемого соединения, состава лекарственного средства, присутствия и типов эксципиентов в составе и способа введения. Также следует понимать, что вводимая начальная доза может быть увеличена сверх указанного выше верхнего уровня для быстрого достижения желаемого уровня в крови или тканях, или начальная доза может быть меньше оптимальной.

Для лечения заболевания или для создания лекарственного средства или композиции для лечения заболевания, фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, включающие HSD17B13 РНКи агент, могут быть скомбинированы с эксципиентом или с терапевтическим агентом или способом лечения, включая, но не ограничиваясь ими: второй или другой РНКи агент, низкомолекулярное лекарственное средство, антитело, фрагмент антитела, пептид и/или аптамер.

Описанные HSD17B13 РНКи агенты при добавлении к фармацевтически приемлемым эксципиентам или адьювантам, могут быть упакованы в наборы, контейнеры, упаковки или дозаторы. Фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, могут быть упакованы в предварительно заполненные шприцы или флаконы.

Способы лечения и ингибирования экспрессии

HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, может быть использованы для лечения субъекта (например, человека или другого млекопитающего), страдающего заболеванием или расстройством, для которого будет полезно введение РНКи агента. В некоторых вариантах осуществления, РНКи агенты, описанные в настоящем описании, могут быть использованы для лечения субъекта (например, человека), которому будет полезно снижение и/или ингибирование уровней экспрессии HSD17B13 иРНК и/или HSD17B13 (альтернативно обозначаемого в настоящем описании как 17 β -HSD13) белка, например, субъекту, у которого диагностировали или имеются симптомы, связанные с НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени или алкогольной или неалкогольной болезнью печени, включая цирроз.

В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят терапевтически эффективное количество любого одного или более HSD17B13 РНКи агентов. Лечение субъекта может включать терапевтическое и/или профилактическое лечение. Субъекту вводят терапевтически эффективное количество любого одного или более HSD17B13 РНКи агентов, описанных в настоящем описании. Субъектом может быть человек, пациент или пациент-человек. Субъект может быть взрослым, подростком, ребенком или младенцем. Фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, могут вводиться человеку или животному.

HSD17B13 РНКи агенты, описанные в настоящем описании, могут быть использованы для лечения, по меньшей мере, одного симптома у субъекта, страдающего заболеванием или расстройством, связанным с HSD17B13, или страдающего заболеванием или расстройством, которое, по меньшей мере, частично опосредовано экспрессией гена HSD17B13. Агенты HSD17B13РНКи используются для лечения или управления клинической картиной субъекта с заболеванием или нарушением, которое могло бы

принести пользу или быть опосредованным в меньшей степени, в частности, за счет снижения HSD17B13 иРНК. В некоторых вариантах осуществления, HSD17B13 РНКи агенты используются для лечения или управления клиническими проявлениями у субъекта с заболеванием или расстройством, для которого могло бы быть полезным или которое может быть опосредованным, по меньшей мере, частично за счет снижения HSD17B13 иРНК. Субъекту вводят терапевтически эффективное количество одного или более HSD17B13 РНКи агентов или содержащих HSD17B13 РНКи агент композиций, описанных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, способы, описанные в настоящем описании, включают введение композиции, содержащей HSD17B13 РНКи агент, описанный в настоящем описании, субъекту, подлежащему лечению. В некоторых вариантах осуществления, субъекту вводят профилактически эффективное количество любого одного или более из описанных HSD17B13 РНКи агентов, тем самым вылечивая субъекта через предотвращение или ингибирование, по меньшей мере, одного симптома.

В определенных вариантах осуществления, настоящее описание предоставляет способы лечения заболеваний, расстройств, состояний или патологических состояний, по меньшей мере, частично опосредованных экспрессией HSD17B13 гена, у пациента, нуждающегося в этом, где способы включают введение пациенту любого из HSD17B13 РНКи агентов, описанных в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, уровень экспрессии гена и/или уровень иРНК HSD17B13 гена у субъекта, которому вводят описанный HSD17B13 РНКи агент, снижается, по меньшей мере, приблизительно на 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более 99% относительно субъекта до введения HSD17B13 РНКи агента, или субъекта, не получающего HSD17B13 РНКи агент. Уровень экспрессии гена и/или уровень иРНК у субъекта может быть снижен в клетке, группе клеток и/или ткани субъекта.

В некоторых вариантах осуществления, уровень HSD17B13 белка у субъекта, которому вводят описанный HSD17B13 РНКи агент, снижается, по меньшей мере, приблизительно на 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более 99% относительно субъекта до введения HSD17B13 РНКи агента, или субъекта, не получающего HSD17B13 РНКи агент. Уровень белка у субъекта может быть снижен в клетке, группе клеток и/или ткани субъекта.

Снижение уровней HSD17B13 иРНК и HSD17B13 белка можно оценить любыми способами, известными в данной области техники. Используемая в настоящем описании уменьшение или снижение уровня HSD17B13 иРНК и/или уровня белка в совокупности упоминается в настоящем описании как снижение или уменьшение HSD17B13 или ингибирование или уменьшение экспрессии HSD17B13. Примеры, изложенные в настоящем описании, иллюстрируют известные способы оценки ингибирования экспрессии гена HSD17B13. Специалисту в данной области также известны подходящие способы оценки ингибирования экспрессии гена HSD17B13 *in vivo* и/или *in vitro*.

В некоторых вариантах осуществления, в настоящем описании описаны способы

лечения (включая профилактическое или превентивное лечение) заболеваний, расстройств или симптомов, вызванных НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени и/или алкогольной или неалкогольной болезнью печени, включая цирроз, где способы включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества HSD17B13 РНКи агента, который включает антисмысловую цепь, которая, по меньшей мере, частично комплементарна части HSD17B13 иРНК, имеющей последовательность, указанную в Таблице 1. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем описании описаны способы лечения (включая профилактическое или превентивное лечение) заболеваний или симптомов, вызванных НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени и/или алкогольной или неалкогольной болезнью печени, включая цирроз, где способы включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества HSD17B13 РНКи агента, который включает антисмысловую цепь, содержащую последовательность по любой из последовательностей в таблицах 2 или 3, и смысловую цепь, которая включает любую из последовательностей в Таблицах 2 или 4, которая, по меньшей мере, частично комплементарна антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем описании описаны способы лечения (включая профилактическое или превентивное лечение) заболеваний или симптомов, вызванных НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени и/или алкогольной или неалкогольной болезнью печени, включая цирроз, где способы включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества HSD17B13 РНКи агента, который включает смысловую цепь, которая включает любую из последовательностей в Таблицах 2 или 4, и антисмысловую цепь, содержащую последовательность по любой из последовательностей в таблицах 2 или 3, которая, по меньшей мере, частично комплементарна смысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, в настоящем описании описаны способы ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в клетке, где способы включают введение в клетку HSD17B13 РНКи агента, который включает антисмысловую цепь, которая, по меньшей мере, частично комплементарна части HSD17B13 иРНК, имеющей последовательность из таблицы 1. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем описании описаны способы ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в клетке, где способы включают введение в клетку HSD17B13 РНКи агента, который включает антисмысловую цепь, содержащую последовательность по любой из последовательностей в таблицах 2 или 3, и смысловую цепь, которая содержит любую из последовательностей в таблицах 2 или 4, которая, по меньшей мере, частично комплементарна антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, в настоящем описании описаны способы ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в клетке, где способы включают введение в клетку HSD17B13 РНКи агента, который включает смысловую цепь, которая содержит любую из последовательностей в таблицах 2 или 4, и антисмысловую цепь, которая включает последовательность по любой из последовательностей в таблицах 2 или 3, которая, по меньшей мере, частично комплементарна смысловой цепи.

Применение HSD17B13 РНКи агентов представляет способы терапевтического

(включая профилактическое) лечение заболеваний/расстройств, ассоциированных с НАЖБП, НАСГ, фиброзом печени, алкогольной или неалкогольной болезнью печени, включая цирроз, и/или усиленной или повышенной экспрессией HSD17B13. Описанные HSD17B13 РНКи агенты опосредуют РНК интерференцию для ингибирования экспрессии одного или более генов, необходимых для продуцирования HSD17B13 белка. HSD17B13 РНКи агенты также могут использоваться для лечения или профилактики разных заболеваний, расстройств или состояний, включающих НАЖБП, НАСГ, фиброз печени и/или алкогольную или неалкогольную болезнь печени, включая цирроз. Кроме того, описаны композиции для доставки HSD17B13 РНКи агентов в клетки печени *in vivo*.

Клетки, ткани, органы и организмы, не относящиеся к человеку.

Рассматриваются клетки, ткани, органы и организмы, не относящиеся к человеку, которые включают, по меньшей мере, один из HSD17B13 РНКи агентов, описанных в настоящем описании. Клетку, ткань, орган или организм, не относящийся к человеку, получают доставкой РНКи агента к клетке, ткани, органу или организму, не относящемуся к человеку.

Приведенные выше варианты осуществления и элементы теперь проиллюстрированы следующими неограничивающими примерами.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Синтез HSD17B13 РНКи агентов.

Дуплексы HSD17B13 РНКи агентов, показанные в таблице 5 выше, синтезируют в соответствии со следующими общими методиками:

A. Синтез.

Смысловую и антисмысловую цепи РНКи агентов синтезируют согласно фосфорамидитной технологии на твердой фазе, применяемой в олигонуклеотидном синтезе. Такой стандартный синтез в общем известен в данной области техники. В зависимости от масштаба, применяют либо MerMade96E® (Bioautomation), MerMade12® (Bioautomation) или OP Pilot 100 (GE Healthcare). Синтез проводят на твердой подложке, сделанной из стекла с заданным размером пор (CPG, 500 Å или 600Å, полученного от Prime Synthesis, Aston, PA, USA). Мономеры, расположенные на 3' конце соответствующей нити, присоединяют к твердой подложке в качестве начальной точки синтеза. Все РНК и 2'-модифицированные РНК фосфорамидиты покупают от Thermo Fisher Scientific (Milwaukee, WI, USA) или HONGGEN BIOTECH (Shanghai, PRC). 2'-О-метил фосфорамидиты включают следующие: (5'-О-диметокситритил-N⁶-(бензоил)-2'-О-метил-аденозин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино) фосфорамидит, 5'-О-диметокси-тритил-N⁴-(ацетил)-2'-О-метил-цитидин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропил-амино) фосфорамидит, (5'-О-диметокситритил-N²-(изобутирил)-2'-О-метил-гуанозин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино) фосфорамидит и 5'-О-диметокситритил-2'-О-метил-уридин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино) фосфорамидит. 2'-деокси-2'-фтор-фосфорамидиты имеют такие же защитные группы, как и 2'-О-метиламидиты. 5'-(4,4'-Диметокситритил)-2',3'-секо-уридин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N, N-диизопропил)]-фосфорамидит также

покупают от Thermo Fisher Scientific или HONGENE Biotech. 5'-диметокситритил-2'-О-метил-инозин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино) фосфорамидиты покупают у Glen Research (Virginia) или HONGENE Biotech. Инвертированные (3'-О-диметокситритил-2'-деоксирибоза-5'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино) фосфорамидиты с удаленным азотистым основанием покупают у ChemGenes (Wilmington, MA, USA) или SAFC (St Louis, MO, USA). 5'-О-диметокситритил-N²,N⁶-(феноксиацетат)-2'-О-метил-диаминопурин-3'-О-(2-цианоэтил-N, N-диизопропиламино) фосфорамидиты получают от ChemGenes или HONGENE Biotech.

Направляющие лигандсодержащие фосфорамидиты растворяют в безводном дихлорметане или водном ацетонитриле (50 мМ), в то время как другие амидиты растворяют в безводном ацетонитриле (50 мМ) или безводном диметилформамиде и добавляют молекулярные сита (3 Å). 5-Бензилтио-1Н-тетразол (БТТ, 250 мМ в ацетонитриле) или 5-этилтио-1Н-тетразол (ЕТТ, 250 мМ в ацетонитриле) применяют в качестве активатора раствора. Время сочетания составляет 12 мин (РНК), 15 мин (направляющий лиганд), 90 сек (2'ОМе) и 60 сек (2'F). Для введения фосфоротиоатных связей применяют 100 мМ раствор 3-фенил 1,2,4-дитиазолин-5-она (POS, полученный от PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA) в безводном ацетонитриле. Если специально не идентифицирован как «голый» РНК-агент, в котором не присутствует направляющий лиганд, каждый из дуплексов HSD17B13 РНК-агента синтезируют и тестируют в следующих примерах с применением N-ацетилгалактозамина в качестве «NAG» в химических структурах направляющего лиганда, представленных в таблице 6. Химические структуры определенных дуплексов используемых в примерах, описанных в настоящем описании, могут быть найдены на фигурах 1A - 10D.

В. Расщепление и снятие защиты с олигомера, связанного с подложкой.

После окончания твердофазного синтеза, высушенную твердую подложку обрабатывают 1:1 объемом раствора 40% масс. метиламина в воде и 28% раствора гидроксида аммония (Aldrich) в течение 1,5 часов при 30°C. Раствор выпаривают, и твердый остаток восстанавливают в воде (см. ниже).

С. Очистка.

Неочищенные олигомеры очищают ВЭЖХ с анионным обменом с применением колонки TSKgel SuperQ-5PW 13 мкм и системы Shimadzu LC-8. Буфер А состоит из 20 мМ Tris, 5 мМ EDTA, pH 9,0 и содержит 20% ацетонитрил, и буфер В является таким же, как буфер А с добавлением 1,5 М хлорида натрия. УФ следы при 260 нм записывают. Подходящие фракции объединяют, затем проводят эксклюзионную ВЭЖХ с применением колонки GE Healthcare XK 26/40, заполненной порошком Sephadex G-25 с подвижным буфером или фильтрованной ДИ водой или 100 мМ бикарбоната аммония, pH 6,7 и 20% ацетонитрилом.

Д. Ренатурация.

Комплементарные цепи смешивают объединением эквимольных РНК растворов (смысловой и антисмысловой) в 1 × физиологическом растворе с фосфатным буфером

(Corning, Cellgro) с образованием РНКи агентов. Некоторые РНКи агенты лиофилизируют и хранят при температуре от -15 до -25°C . Концентрацию дуплекса определяют измерением поглощающей способности раствора на спектрометре UV-Vis в $1 \times$ физиологическом растворе с фосфатным буфером. Поглощающую способность раствора при 260 нм затем умножают на коэффициент пересчета и коэффициент разведения для определения концентрации дуплекса. Применяемый коэффициент пересчета составляет либо $0,050 \text{ мг}/(\text{мл}\cdot\text{см})$ или рассчитывают из определенного экспериментально коэффициента экстинкции.

Пример 2. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на крысах.

Для оценки *in vivo* активности HSD17B13 РНКи агентов, которые разработаны для направления на разные положения в HSD17B13 гене, применяют крыс Sprague Dawley. На 1 день каждой крысе вводят одну подкожную инъекцию $500 \text{ мкл}/200 \text{ г}$ массы тела животного, содержащую $3,0 \text{ мг}/\text{кг}$ (мнк) HSD17B13 РНКи агента, составленного в фармацевтически приемлемом солевом буфере, или контрольный носитель (солевой буфер без РНКи агента), согласно группам дозирования, указанным в таблице 7.

Таблица 7. Группы дозирования из примера 2

Группа	РНКи агент и доза	Схема дозирования
1	Солевой раствор (без РНКи агента)	Одна инъекция на 1 день
2	$3,0 \text{ мг}/\text{кг}$ AD06079	Одна инъекция на 1 день
3	$3,0 \text{ мг}/\text{кг}$ AD06080	Одна инъекция на 1 день
4	$3,0 \text{ мг}/\text{кг}$ AD06081	Одна инъекция на 1 день
5	$3,0 \text{ мг}/\text{кг}$ AD06082	Одна инъекция на 1 день
6	$3,0 \text{ мг}/\text{кг}$ AD06083	Одна инъекция на 1 день
7	$3,0 \text{ мг}/\text{кг}$ AD06084	Одна инъекция на 1 день
8	$3,0 \text{ мг}/\text{кг}$ AD06085	Одна инъекция на 1 день

Каждый из РНКи агентов, включенных в модифицированную последовательность и тридентатный направляющий лиганд, содержащий N-ацетилгалактозамин, конъюгируют с 5' концевой областью смысловой цепи. (см. таблицы 3-6 для структур модифицированных последовательностей и направляющего лиганда). Каждый из HSD17B13 РНКи агентов AD06079, AD06080 и AD06081 (группы 2, 3 и 4) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 488 гена; каждый из HSD17B13 РНКи агентов AD06082 и AD06083 (группы 5 и 6) содержит нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 492 гена; и каждый из HSD17B13 РНКи агентов AD06084 и AD06085 (группы 7 и 8) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 499 гена. (см., например, SEQ ID NO:1 и таблицу 2 для указанного HSD17B13 гена).

Инъекцию делают между кожей и мышцами (т.е. подкожную инъекцию) в дряблую кожу в области шеи и плеч. Тестируют три (3) крысы в каждой группе (n=3). Всех крыс умерщвляют на 15 день. Печени собирают, и приблизительно 100 мг образцов печени собирают и мгновенно замораживают и жидком азоте для выделения РНК. Относительную экспрессию каждого из HSD17B13 РНКи агентов определяют кПЦР-РВ через нормализацию уровней HSD17B13 иРНК экспрессии у животных для каждой соответствующей группы лечения до животных из 1 группы (контрольный носитель, без РНКи агента) ($\Delta\Delta C_T$ анализ), результаты которого представлены в следующей таблице 8:

Таблица 8. Относительные уровни HSD17B13 иРНК на 15 день, нормализованные до контроля, из примера 2

ID группы	День 15		
	Относительные HSD17B13 иРНК	Низкое отклонение (ошибка)	Высокое отклонение (ошибка)
Группа 1(Носитель - солевой раствор)	1,000	0,057	0,060
Группа 2 (3,0 мг/кг AD06079)	0,247	0,064	0,086
Группа 3 (3,0 мг/кг AD06080)	0,214	0,006	0,006
Группа 4 (3,0 мг/кг AD06081)	0,155	0,016	0,017
Группа 5 (3,0 мг/кг AD06082)	0,543	0,090	0,108
Группа 6 (3,0 мг/кг AD06083)	0,484	0,037	0,040
Группа 7 (3,0 мг/кг AD06084)	0,179	0,054	0,077
Группа 8 (3,0 мг/кг AD06085)	0,131	0,034	0,045

Как показано в таблице 8 выше, на 15 день каждый из РНКи агентов в группах 2-8 показал снижение уровней HSD17B13 иРНК по сравнению с контрольным носителем. Например, одно подкожное введение 3,0 мг/кг HSD17B13 РНКи агента AD06085 показало снижение на приблизительно 87% (0,131) HSD17B13 иРНК на 15 день.

Пример 3. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на крысах.

Для оценки *in vivo* активности HSD17B13 РНКи агентов применяют крыс Sprague Dawley. На 1 день каждой крысе вводят одну подкожную инъекцию 500 мкл/200 г массы тела животного, содержащую 3,0 мг/кг (мнк) HSD17B13 РНКи агента, составленного в фармацевтически приемлемом солевом буфере, или контрольный носитель (солевой буфер без РНКи агента), согласно группам дозирования, указанным в таблице 9.

Таблица 9. Группы дозирования в примере 3

Группа	РНКи агент и доза	Схема дозирования
1	Солевой раствор (без РНКи агента)	Одна инъекция на 1 день
2	3,0 мг/кг AD06081	Одна инъекция на 1 день

3	3,0 мг/кг AD06079	Одна инъекция на 1 день
4	3,0 мг/кг AD06177	Одна инъекция на 1 день
5	3,0 мг/кг AD06178	Одна инъекция на 1 день
6	3,0 мг/кг AD06179	Одна инъекция на 1 день
7	3,0 мг/кг AD06180	Одна инъекция на 1 день
8	3,0 мг/кг AD06181	Одна инъекция на 1 день
9	3,0 мг/кг AD06182	Одна инъекция на 1 день
10	3,0 мг/кг AD06183	Одна инъекция на 1 день

Каждый из РНКи агентов, включенных в модифицированную последовательность и тридентатный направляющий лиганд, содержащий N-ацетилгалактозамин, конъюгируют с 5' концевой областью смысловой цепи. (см. таблицы 3-6 для структур модифицированных последовательностей и направляющего лиганда). Все тестированные HSD17B13 РНКи агенты (группы 2-10) включают нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 488 гена; каждый из HSD17B13 РНКи агентов AD06082 и AD06083 (группы 5 и 6) содержит нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 488 гена. (см., например, SEQ ID NO:1 и таблицу 2 для указанного HSD17B13 гена).

Инъекцию делают между кожей и мышцами (т.е. подкожную инъекцию) в дряблую кожу в области шеи и плеч. Тестируют четыре (4) крысы в каждой группе (n=4). Всех крыс умерщвляют на 15 день. Печени собирают, и приблизительно 100 мг образцов печени собирают и мгновенно замораживают в жидком азоте для выделения РНК. Относительную экспрессию каждого из HSD17B13 РНКи агентов определяют кПЦР-РВ через нормализацию уровней HSD17B13 иРНК экспрессии у животных для каждой соответствующей группы лечения до животных из 1 группы (контрольный носитель, без РНКи агента) ($\Delta\Delta C_T$ анализ), результаты которого представлены в следующей таблице 10:

Таблица 10. Относительные уровни HSD17B13 иРНК на 15 день, нормализованные до контроля, из примера 3

ID группы	День 15		
	Относительны е HSD17B13 иРНК	Низкое отклонение (ошибка)	Высокое отклонени е (ошибка)
Группа 1(Носитель - солевой раствор)	1,000	0,113	0,128
Группа 2 (3,0 мг/кг AD06081)	0,248	0,039	0,046
Группа 3 (3,0 мг/кг AD06079)	0,196	0,062	0,091
Группа 4 (3,0 мг/кг AD06177)	0,317	0,057	0,070

Группа 5 (3,0 мг/кг AD06178)	0,316	0,085	0,116
Группа 6 (3,0 мг/кг AD06179)	0,308	0,106	0,161
Группа 7 (3,0 мг/кг AD06180)	0,326	0,100	0,145
Группа 8 (3,0 мг/кг AD06181)	0,295	0,038	0,043
Группа 9 (3,0 мг/кг AD06182)	0,800	0,070	0,077
Группа 10 (3,0 мг/кг AD06183)	0,348	0,018	0,019

Как показано в таблице 10 выше, каждый из РНКи агентов в группах 2-10 показал снижение уровней HSD17B13 иРНК по сравнению с контрольным носителем на 15 день. Группа 9 (AD06182) показала только приблизительно 20% (0,800) снижение HSD17B13 иРНК на 15 день. Однако, каждый из оставшихся тестируемых HSD17B13 РНКи агентов (т.е., группы 2-8 и 10) показал снижение от приблизительно 65% (группа 10, 0,348) до приблизительно 81% (группа 3, 0,196) HSD17B13 иРНК на 15 день после одного подкожного введения.

Пример 4. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на крысах.

Для оценки *in vivo* активности определенных дополнительных HSD17B13 РНКи агентов применяют крыс Sprague Dawley. На 1 день каждой крысе вводят одну подкожную инъекцию 500 мкл/200 г массы тела животного, содержащую 3,0 мг/кг (мнк) HSD17B13 РНКи агента, составленного в фармацевтически приемлемом солевом буфере, или контрольный носитель (солевой буфер без РНКи агента), согласно группам дозирования, указанным в таблице 11.

Таблица 11. Группы дозирования в примере 4

Группа	РНКи агент и доза	Схема дозирования
1	Солевой раствор (без РНКи агента)	Одна инъекция на 1 день
2	3,0 мг/кг AD06085	Одна инъекция на 1 день
3	3,0 мг/кг AD06184	Одна инъекция на 1 день
4	3,0 мг/кг AD06185	Одна инъекция на 1 день
5	3,0 мг/кг AD06186	Одна инъекция на 1 день
6	3,0 мг/кг AD06187	Одна инъекция на 1 день
7	3,0 мг/кг AD06188	Одна инъекция на 1 день
8	3,0 мг/кг AD06189	Одна инъекция на 1 день
9	3,0 мг/кг AD06190	Одна инъекция на 1 день
10	3,0 мг/кг AD06082	Одна инъекция на 1 день
11	3,0 мг/кг AD06191	Одна инъекция на 1 день

Каждый из РНКи агентов, включенных в модифицированную последовательность и тридентатный направляющий лиганд, содержащий N-ацетилгалактозамин, конъюгируют с 5' концевой областью смысловой цепи. (см. таблицы 3-6 для структур модифицированных последовательностей и направляющего лиганда). Каждый из HSD17B13 РНКи агентов

AD06085, AD06184, AD06185, AD06186, AD06187, AD06188, AD06189 и AD06190 (группы 2-9) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 499 гена; и каждый из HSD17B13 РНКи агентов AD06082 и AD06191 включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 492 гена. (см., например, SEQ ID NO:1 и таблицу 2 для указанного HSD17B13 гена).

Инъекцию делают между кожей и мышцами (т.е. подкожную инъекцию) в дряблую кожу в области шеи и плеч. Тестируют четыре (4) крысы в каждой группе (n=4). Всех крыс умерщвляют на 15 день. Печени собирают, и приблизительно 100 мг образцов печени собирают и мгновенно замораживают в жидком азоте для выделения РНК. Относительную экспрессию каждого из HSD17B13 РНКи агентов определяют кПЦР-РВ через нормализацию уровней HSD17B13 иРНК экспрессии у животных для каждой соответствующей группы лечения до животных из 1 группы (контрольный носитель, без РНКи агента) ($\Delta\Delta C_T$ анализ), результаты которого представлены в следующей таблице 12:

Таблица 12. Относительные уровни HSD17B13 иРНК на 15 день, нормализованные до контроля, из примера 4

ID группы	День 15		
	Относительны е HSD17B13 иРНК	Низкое отклонение (ошибка)	Высокое отклонение (ошибка)
Группа 1(Носитель - солевой раствор)	1,000	0,151	0,178
Группа 2 (3,0 мг/кг AD06085)	0,211	0,080	0,128
Группа 3 (3,0 мг/кг AD06184)	0,153	0,029	0,035
Группа 4 (3,0 мг/кг AD06185)	0,113	0,025	0,032
Группа 5 (3,0 мг/кг AD06186)	0,133	0,041	0,059
Группа 6 (3,0 мг/кг AD06187)	0,099	0,014	0,016
Группа 7 (3,0 мг/кг AD06188)	0,682	0,090	0,104
Группа 8 (3,0 мг/кг AD06189)	0,142	0,027	0,033
Группа 9 (3,0 мг/кг AD06190)	0,477	0,060	0,068
Группа 10 (3,0 мг/кг AD06082)	0,526	0,053	0,059
Группа 11 (3,0 мг/кг AD06191)	0,774	0,089	0,101

Как показано в таблице 12 выше, каждый из РНКи агентов в группах 2-11 показал снижение уровней HSD17B13 иРНК по сравнению с контрольным носителем на 15 день. Более конкретно, на 15 день HSD17B13 РНКи агент AD06187 показал приблизительно 90% (0,099) снижение HSD17B13 иРНК после одного подкожного введения, и HSD17B13 РНКи агент AD06085 показал приблизительно 79% (0,211) снижение HSD17B13 иРНК.

Пример 5. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на яванских макаках

HSD17B13 РНКи агент AD06078 оценивают на яванских макаках. На 1 и 22 дни двум приматам яванским макакам (*Macaca fascicularis*) (также называемым в настоящем описании «яванские макаки») вводят подкожную инъекцию 0,4 мл/кг (объем приблизительно 3 мл, в зависимости от массы животного), содержащую 4,0 мг/кг HSD17B13 РНКи агента AD06078, составленного в солевом растворе. HSD17B13 РНКи агент AD06078 включает модифицированные нуклеотиды и тридентатный направляющий лиганд, содержащий N-ацетилгалактозамин ((NAG37)s), конъюгированный с 5'-концевой областью смысловой цепи, как показано в таблицах 3-6. HSD17B13 РНКи агент AD06078 включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 1501 гена. (см., например, SEQ ID NO: 1 и таблицу 2 для указанного HSD17B13 гена).

В дни -8 (перед дозированием), 15, 29 и 43 берут биопсии печени. На дату каждого сбора биопсии, яванских макаков анестезируют и проводят управляемую ультразвуком биопсию печени для взятия двух или трех образцов ткани печени размером приблизительно 1 мм x 2 мм. Образцы биопсии затем гомогенизируют и измеряют уровни HSD17B13 иРНК в печени яванского макака РВ-кПЦР. Полученные значения затем нормализуют до измерений HSD17B13 иРНК перед дозированием (в этом случае, на -8 день). Полученные данные иРНК указаны в следующих таблицах 13 и 14:

Таблица 13. Уровни HSD17B13 иРНК, нормализованные до уровней перед дозированием из примера 5 для яванского макака #1 (су0595)

День 15			День 43		
Относительная экспрессия HSD17B13 иРНК	Низкая ошибка	Высокая ошибка	Относительная экспрессия HSD17B13 иРНК	Низкая ошибка	Высокая ошибка
0,570	0,035	0,037	0,576	0,050	0,055

** на 29 день образцы биопсии для яванского макака #1 были меньше нормальных и, основываясь на слишком бледном виде, подозревают, что это была жировая ткань вместо ткани печени. Поэтому анализ на 29 день был отбракован.

Таблица 14. Уровни HSD17B13 иРНК, нормализованные до уровней перед дозированием из примера 5 для яванского макака #2 (су0471)

День 15			День 29		
Относительная экспрессия HSD17B13 иРНК	Низкая ошибка	Высокая ошибка	Относительная экспрессия HSD17B13 иРНК	Низкая ошибка	Высокая ошибка
0,416	0,010	0,010	0,383	0,015	0,015
День 43					
Относительная	Низкая	Высокая			

экспрессия HSD17B13 иРНК	ошибка	ошибка
0,335	0,019	0,020

Оба яванских макака, которым дозировали AD06078, показали снижение печенъ-специфической HSD17B13 иРНК по сравнению с измерениями перед лечением, через 43 дня. На 43 день второй яванский макак показал снижение HSD17B13 иРНК приблизительно 67% (0,335) по сравнению с уровнями перед дозированием.

Пример 6. Модель HSD17B13-SEAP у мышей.

Для оценки определенных дополнительных HSD17B13 РНКи агентов используют модель HSD17B13-SEAP у мышей. Шести-восемь-недельных самок мышей-альбиносов C57BL/6 временно трансфицируют *in vivo* плазмидой через гидродинамическую инъекцию в хвостовую вену, введенную, по меньшей мере, за 29 дней до введения HSD17B13 РНКи агента или контроля. Плазида содержит HSD17B13 кДНК последовательность (GenBank NM_178135.4 (SEQ ID NO:1)), вставленную в 3' UTR гена-репортера SEAP (секретированной плацентарной щелочной фосфатазы человека). 50 мкг плазмиды, содержащей HSD17B13 кДНК последовательность в растворе Рингера в общем объеме 10% от массы тела животного, вводят инъекцией мышам через хвостовую вену для получения модели HSD17B13-SEAP у мышей. Раствор вводят инъекцией через иглу 27 калибра в течение 5-7 секунд как описано ранее (Zhang G et al., «High levels of foreign gene expression in hepatocytes after tail vein injection of naked plasmid DNA.» Human Gene Therapy 1999 Vol. 10, p1735-1737.). Ингибирование экспрессии HSD17B13 с помощью HSD17B13 РНКи агента дает сопутствующее ингибирование экспрессии SEAP, которую измеряют. До введения лечения (между днем -7 и днем 1 перед дозированием), уровни экспрессии SEAP в сыворотке измеряют на системе Phospha-Light™ SEAP Reporter Gene Assay System (Invitrogen) и мышей группируют согласно средним уровням SEAP.

Мышей анестезируют 2-3% изофлураном и собирают образцы крови из подчелюстной области в пробирки для отделения сыворотки (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Germany). Крови дают свернуться при температуре окружающей среды в течение 20 мин. Пробирки центрифугируют при 8000 × g в течение 3 мин для отделения сыворотки, и хранят при 4°C. Сыворотку собирают и измеряют Phospha-Light™ SEAP Reporter Gene Assay System (Invitrogen) согласно инструкциям производителя. Уровни SEAP в сыворотке для каждого животного могут быть нормализованы до контрольной группы мышей, которым вводят контрольный носитель для того, чтобы учесть снижение экспрессии HSD17B13 без лечения, связанное с этой моделью. Чтобы сделать это, уровень SEAP для каждого животного делят на уровень экспрессии до лечения у этого животного (день -1) для определения соотношения экспрессии «нормализованного до значения перед лечением». Экспрессию в определенный момент времени затем нормализуют до контрольной группы делением «нормализованного до значения перед лечением» соотношения для конкретного животного на среднее «нормализованное до значения перед лечением» соотношения для

всех мышей в нормальной группе с контрольным носителем. Альтернативно, уровни SEAP в сыворотке для каждого животного оценивают нормализацией только до уровней перед лечением.

Пример 7. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на HSD17B13-SEAP мышцах.

Применяют модель HSD17B13-SEAP у мышей, описанную в примере 6 выше. В 1 день каждой мыши делают одно подкожное введение 200 мкл/20 г массы животного, содержащее 3,0 мг/кг (мнк) HSD17B13 РНКи агента, составленного в фармацевтически приемлемом солевом буфере или контрольном носителе (солевой буфер без РНКи агента), согласно следующей таблице 15.

Таблица 15. Группы дозирования из примера 7

Группа	РНКи агент и доза	Схема дозирования
1	Солевой раствор (без РНКи агента)	Одна инъекция на 1 день
2	3,0 мг/кг AD06078	Одна инъекция на 1 день
3	3,0 мг/кг AD06081	Одна инъекция на 1 день
4	3,0 мг/кг AD06084	Одна инъекция на 1 день
5	3,0 мг/кг AD06085	Одна инъекция на 1 день

Каждый из HSD17B13 РНКи агентов включает модифицированные нуклеотиды, которые конъюгированы на 5' конце смысловой цепи с направляющим лигандом, который включает три N-ацетилгалактозаминных группы (тридентатным лигандом), имеющим модифицированные последовательности, указанные в дуплексных структурах в настоящем описании. (см. таблицы 3-6 для информации о конкретных модификациях и структурах, родственных HSD17B13 РНКи агентам). HSD17B13 РНКи агент AD06078 (группа 2) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 1501 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06081 (группа 3) включает нуклеотидные последовательности, которые были сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 488 гена; и HSD17B13 РНКи агенты AD06084 и AD06085 включают нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 499 гена. (см. SEQ ID NO:1 и таблицу 2 для указанного HSD17B13 гена).

Инъекцию делают между кожей и мышцами (т.е. подкожную инъекцию) в дряблую кожу в области шеи и плеч. Тестируют четыре (4) мыши в каждой группе (n=4). Сыворотку собирают в день -2 (перед лечением), день 8, день 15, день 22 и день 29, и уровни экспрессии SEAP определяют в соответствии с методикой, указанной в примере 6, выше. Данные эксперимента показаны в следующих таблицах 16 и 17

Таблица 16. Средняя SEAP, нормализованная до значений перед лечением (день -2) у HSD17B13-SEAP мышей из примера 7

ID группы	День 8		День 15		День 22		День 29	
	Ср.SEA	Ст. откл.	Ср.SEAP	Ст. откл.	Ср.SEA	Ст. откл.	Ср.SEA	Ст. откл.
	Р	(+/-)		(+/-)	Р	(+/-)	Р	(+/-)
Группа 1 (Носитель - солевой раствор)	0,852	0,189	0,524	0,220	0,481	0,168	0,440	0,118
Группа 2 (3,0 мг/кг AD06078)	0,516	0,133	0,264	0,119	0,316	0,198	0,223	0,097
Группа 3 (3,0 мг/кг AD06081)	0,629	0,098	0,389	0,110	0,487	0,163	0,381	0,075
Группа 4 (3,0 мг/кг AD06084)	0,213	0,139	0,082	0,017	0,122	0,030	0,129	0,031
Группа 5 (3,0 мг/кг AD06085)	0,168	0,022	0,053	0,013	0,083	0,022	0,083	0,016

* Как отмечено в примере 6, выше, постепенное снижение SEAP в группе контрольного носителя (группе 1) с течением времени происходит из-за потери гена-репортера SEAP в клетках мышей из-за естественной репликации клеток у животных и не является результатом какого-либо ингибирующего соединения.

Таблица 17. Средняя SEAP, нормализованная до значений перед лечением (день -2) для контрольного носителя у HSD17B13-SEAP мышей из примера 7

ID группы	День 8		День 15		День 22		День 29	
	Ср.SEA	Ст. откл.	Ср.SEAP	Ст. откл.	Ср.SEA	Ст. откл.	Ср.SEA	Ст. откл.
	Р	(+/-)		(+/-)	Р	(+/-)	Р	(+/-)
Группа 1 (Носитель - солевой раствор)	1,000	0,221	1,000	0,419	1,000	0,349	1,000	0,267
Группа 2 (3,0 мг/кг AD06078)	0,606	0,156	0,504	0,228	0,657	0,412	0,507	0,221
Группа 3 (3,0 мг/кг AD06081)	0,738	0,115	0,741	0,210	1,012	0,340	0,865	0,169
Группа 4 (3,0 мг/кг AD06084)	0,250	0,163	0,156	0,033	0,254	0,063	0,293	0,070
Группа 5 (3,0 мг/кг AD06085)	0,197	0,025	0,101	0,025	0,173	0,047	0,189	0,037

Каждый из HSD17B13 РНКи агентов в каждой из групп дозирования (т.е., группах 2-5) показал снижение SEAP по сравнению с контрольным носителем (Группа 1) в дни 8 и 15. Далее, HSD17B13 РНКи агенты AD06084 и AD06085, оба которых включают нуклеотидные последовательности, сконструированные для ингибирования в положении 499 HSD17B13 гена, показали высокие уровни выключения при изменениях на 22 день. (сравните группы 4 и 5 с группой 1).

Пример 8. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на яванских макаках

HSD17B13 РНКи агенты AD06078, AD06187, AD06278 и AD06280 оценивают на яванских макаках. В 1 день и 30 день, трем яванским макакам из каждой группы (n=3) вводят подкожной инъекцией 0,3 мл/кг (приблизительно 3 мл, в зависимости от массы животного), содержащую 3,0 мг/кг соответствующего HSD17B13 РНКи агента, составленного в солевом растворе. HSD17B13 РНКи агенты включают модифицированные нуклеотиды и тридентатный направляющий лиганд, содержащий N-ацетилгалактозамин ((NAG37)s), конъюгированный с 5'-концевой областью смысловой цепи, как показано в таблицах 3-6. HSD17B13 РНКи агент AD06078 (Группа 1) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 1501 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06187 (Группа 2) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 499 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06278 (Группа 3) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 513 гена; и HSD17B13 РНКи агент AD06280 (Группа 4) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 791 гена. (см., например, SEQ ID NO:1 и таблицу 2 для указанного HSD17B13 гена).

В дни -7 (перед дозированием), 15, 29 и 43 берут биопсии печени. На дату каждого сбора биопсии, яванских макаков анестезируют и проводят лапароскопию для взятия двух образцов ткани печени приблизительно 80 мг и 120 мг каждый. Образцы биопсии затем гомогенизируют и измеряют уровни HSD17B13 иРНК в печени яванского макака РВ-кПЦР. Полученные значения затем нормализуют до измерений HSD17B13 иРНК перед дозированием (в этом случае, на -7 день). Полученные данные иРНК указаны в следующей таблице 18:

Таблица 18. Уровни HSD17B13 иРНК, нормализованные до уровней перед дозированием (день -7) из примера 8 для каждой группы (n=3)

	День 15			День 29		
	Относительная экспрессия HSD17B13 иРНК	Низкая ошибка	Высокая ошибка	Относительная экспрессия HSD17B13 иРНК	Низкая ошибка	Высокая ошибка

Группа 1: AD06078	1,339	0,368	0,507	1,355	0,364	0.498
Группа 2: AD06187	0,806	0,233	0,328	0,540	0,217	0.362
Группа 3: AD06278	1,137	0,193	0,233	0,802	0,120	0.141
Группа 4: AD06280	0,343	0,098	0,137	0,235	0,077	0.115
	День 43					
	Относительная экспрессия HSD17B13 иРНК	Низкая ошибка	Высокая ошибка			
Группа 1: AD06078	0,506	0,078	0,092			
Группа 2: AD06187	0,396	0,069	0,083			
Группа 3: AD06278	1,091	0,074	0,079			
Группа 4: AD06280	0,265	0,111	0,191			

Пример 9. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на HSD17B13-SEAP мышцах.

Применяют модель HSD17B13-SEAP у мышей, описанную в примере 6 выше. В 1 день каждой мышце делают одно подкожное введение 200 мкл/20 г массы животного, содержащее 3,0 мг/кг (мнк) HSD17B13 РНКи агента, составленного в фармацевтически приемлемом солевом буфере или контрольном носителе (солевой буфер без РНКи агента), согласно следующей таблице 19.

Таблица 19. Группы дозирования из примера 9

Группа	РНКи агент и доза	Схема дозирования
1	Солевой раствор (без РНКи агента)	Одна инъекция на 1 день
2	3,0 мг/кг AD06210	Одна инъекция на 1 день
3	3,0 мг/кг AD06211	Одна инъекция на 1 день
4	3,0 мг/кг AD06212	Одна инъекция на 1 день

5	3,0 мг/кг AD06213	Одна инъекция на 1 день
6	3,0 мг/кг AD06214	Одна инъекция на 1 день
7	3,0 мг/кг AD06217	Одна инъекция на 1 день
8	3,0 мг/кг AD06218	Одна инъекция на 1 день

Каждый из HSD17B13 РНКи агентов включает модифицированные нуклеотиды, которые конъюгированы на 5' конце смысловой цепи с направляющим лигандом, который включает три N-ацетилгалактозаминных группы (тридентатным лигандом), имеющим модифицированные последовательности, указанные в дуплексных структурах в настоящем описании. (см. таблицы 3-6 для информации о конкретных модификациях и структурах, родственных HSD17B13 РНКи агентам). HSD17B13 РНКи агент AD06210 (Группа 2) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 513 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06211 (Группа 3) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 645 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06212 (Группа 4) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 649 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06213 (Группа 5) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 759 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06214 (Группа 6) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 791 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06217 (Группа 7) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 1505 гена; и HSD17B13 РНКи агент AD06218 (Группа 8) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 2185 гена. (см. SEQ ID NO:1 и таблицу 2 для указанного HSD17B13 гена).

Инъекцию делают между кожей и мышцами (т.е. подкожную инъекцию) в дряблую кожу в области шеи и плеч. Тестируют четыре (4) мыши в каждой группе (n=4). Сыворотку собирают в день -1 (перед лечением), день 8, день 15 и день 22, и уровни экспрессии SEAP определяют в соответствии с методикой, указанной в примере 6, выше. Данные эксперимента показаны в следующей таблице 20.

Таблица 20. Средняя SEAP, нормализованная до значений перед лечением (день -1) у HSD17B13-SEAP мышей из примера 9

ID группа	День 8		День 15		День 22	
	Ср. SEAP	Ст. откл. (+/-)	Ср. SEAP	Ст. откл. (+/-)	Ср. SEAP	Ст. откл. (+/-)
Группа 1 (Носитель - солевой раствор)	0,965	0,263	0,586	0,283	0,506	0,249
Группа 2 (3,0 мг/кг AD06210)	0,409	0,132	0,157	0,068	0,210	0,086
Группа 3 (3,0 мг/кг AD06211)	0,983	0,638	0,340	0,223	0,397	0,266
Группа 4 (3,0 мг/кг AD06212)	0,505	0,228	0,241	0,105	0,264	0,100
Группа 5 (3,0 мг/кг AD06213)	0,533	0,125	0,167	0,070	0,230	0,145
Группа 6 (3,0 мг/кг AD06214)	0,468	0,063	0,151	0,028	0,171	0,022
Группа 7 (3,0 мг/кг AD06217)	0,678	0,221	0,325	0,150	0,345	0,186
Группа 8 (3,0 мг/кг AD06218)	0,903	0,230	0,451	0,143	0,440	0,206

* Как отмечено в примере 6, выше, постепенное снижение SEAP в группе контрольного носителя (группе 1) с течением времени происходит из-за потери гена-репортера SEAP в клетках мышей из-за естественной репликации клеток у животных и не является результатом какого-либо ингибирующего соединения.

Каждый из HSD17B13 РНКи агентов в каждой из групп дозирования (т.е., группах 2-8) показал снижение SEAP по сравнению с контрольным носителем (Группа 1) в дни 15 и 22. Далее, HSD17B13 РНКи агент AD06210 (Группа 2), который включает нуклеотидные последовательности, сконструированные для ингибирования в положении 513 HSD17B13 гена, и AD06214 (Группа 6), который включает нуклеотидные последовательности, сконструированные для ингибирования в положении 791 HSD17B13 гена, показали высокие уровни выключения по сравнению с другими тестируемыми РНКи агентами. Например, на 15 день AD06210 (Группа 2) показал снижение приблизительно 84% (0,157), в то время как AD06214 (Группа 6) показал снижение приблизительно 85% (0,151). (Сравните, например, AD06218 (Группа 8), который показал уровни выключения, которые были только незначительно выше, чем в контрольной группе (Группа 1)). HSD17B13 РНКи агент AD06214 (Группа 6) также показал приблизительно 83% выключение (0,171) на 22 день.

Пример 10. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на HSD17B13-SEAP мышцах.

Применяют модель HSD17B13-SEAP у мышей, описанную в примере 6 выше. В 1 день каждой мыши делают одно подкожное введение 200 мкл/20 г массы животного, содержащее 3,0 мг/кг (мнк) HSD17B13 РНКи агента, составленного в фармацевтически приемлемом солевом буфере или контрольном носителе (солевой буфер без РНКи агента), согласно следующей таблице 21.

Таблица 21. Группы дозирования из примера 10

Группа	РНКи агент и доза	Схема дозирования
1	Солевой раствор (без РНКи агента)	Одна инъекция на 1 день
2	3,0 мг/кг AD06185	Одна инъекция на 1 день
3	3,0 мг/кг AD06187	Одна инъекция на 1 день
4	3,0 мг/кг AD06210	Одна инъекция на 1 день
5	3,0 мг/кг AD06213	Одна инъекция на 1 день
6	3,0 мг/кг AD06214	Одна инъекция на 1 день

Каждый из HSD17B13 РНКи агентов включает модифицированные нуклеотиды, которые конъюгированы на 5' конце смысловой цепи с направляющим лигандом, который включает три N-ацетилгалактозаминных группы (тридентатным лигандом), имеющим модифицированные последовательности, указанные в дуплексных структурах в настоящем описании. (см. таблицы 3-6 для информации о конкретных модификациях и структурах, родственных HSD17B13 РНКи агентам). HSD17B13 РНКи агенты AD06185 (Группа 2) и AD06187 (Группа 3) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 499 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06210 (Группа 4) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 513 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06213 (Группа 5) включает нуклеотидные

последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 759 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06214 (Группа 6) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 791 гена. (см. SEQ ID NO:1 и таблицу 2 для указанного HSD17B13 гена).

Инъекцию делают между кожей и мышцами (т.е. подкожную инъекцию) в дряблую кожу в области шеи и плеч. Тестируют четыре (4) мышцы в каждой группе (n=4). Сыворотку собирают в день -1 (перед лечением), день 8, день 15 и день 22, и уровни экспрессии SEAP определяют в соответствии с методикой, указанной в примере 6, выше. Данные эксперимента показаны в следующей таблице 22.

Таблица 22. Средняя SEAP, нормализованная до значений перед лечением (день -1) у HSD17B13-SEAP мышей из примера 10

ID группа	День 8		День 15		День 22	
	Ср.SEAP	Ст. откл. (+/-))	Ср.SEAP	Ст. откл. (+/-))	Ср.SEAP	Ст. откл. (+/-))
Группа 1 (Носитель - солевой раствор)	0,735	0,042	0,751	0,063	0,651	0,200
Группа 2 (3,0 мг/кг AD06185)	0,233	0,045	0,136	0,061	0,111	0,054
Группа 3 (3,0 мг/кг AD06187)	0,191	0,028	0,097	0,067	0,080	0,039
Группа 4 (3,0 мг/кг AD06210)	0,256	0,038	0,201	0,062	0,195	0,079
Группа 5 (3,0 мг/кг AD06213)	0,315	0,054	0,235	0,045	0,163	0,015
Группа 6 (3,0 мг/кг AD06214)	0,417	0,099	0,344	0,050	0,304	0,100

* Как отмечено в примере 6, выше, постепенное снижение SEAP в группе контрольного носителя (группе 1) с течением времени происходит из-за потери гена-репортера SEAP в клетках мышей из-за естественной репликации клеток у животных и не является результатом какого-либо ингибирующего соединения.

Каждый из HSD17B13 РНКи агентов в каждой из групп дозирования (т.е., группах 2-6) показал снижение SEAP по сравнению с контрольным носителем (Группа 1) во все измеренные моменты времени.

Пример 11. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на HSD17B13-SEAP мышцах.

Применяют модель HSD17B13-SEAP у мышей, описанную в примере 6 выше. В 1 день каждой мышце делают одно подкожное введение 200 мкл/20 г массы животного, содержащее мг/кг (мнк) HSD17B13 РНКи агента, составленного в фармацевтически приемлемом солевом буфере или контрольном носителе (солевой буфер без РНКи агента), согласно следующей таблице 23.

Таблица 23. Группы дозирования из примера 11

Группа	РНКи агент и доза	Схема дозирования
1	Солевой раствор (без РНКи агента)	Одна инъекция на 1 день
2	0,625 мг/кг AD06280	Одна инъекция на 1 день
3	1,25 мг/кг AD06280	Одна инъекция на 1 день
4	2,5 мг/кг AD06280	Одна инъекция на 1 день
5	5,0 мг/кг AD06280	Одна инъекция на 1 день
6	0,625 мг/кг AD06187	Одна инъекция на 1 день
7	1,25 мг/кг AD06187	Одна инъекция на 1 день
8	2,5 мг/кг AD06187	Одна инъекция на 1 день
9	5,0 мг/кг AD06187	Одна инъекция на 1 день

Оба HSD17B13 РНКи агента включают модифицированные нуклеотиды, которые конъюгированы на 5' конце смысловой цепи с направляющим лигандом, который включает три N-ацетилгалактозаминовых группы (тридентатным лигандом), имеющим модифицированные последовательности, указанные в дуплексных структурах в настоящем описании. (см. таблицы 3-6 для информации о конкретных модификациях и структурах, родственных HSD17B13 РНКи агентам).

Инъекцию делают между кожей и мышцами (т.е. подкожную инъекцию) в дряблую кожу в области шеи и плеч. Тестируют четыре (4) мыши в каждой группе (n=4), за исключением группы контрольного носителя, в которой только две (2) мыши. Сыворотку собирают в день -1 (перед лечением), день 8, день 15, день 22 и день 29, и уровни экспрессии SEAP определяют в соответствии с методикой, указанной в примере 6, выше. Данные эксперимента показаны в следующей таблице 24.

Таблица 24. Средняя SEAP, нормализованная до значений перед лечением (день -1) для контрольного носителя у HSD17B13-SEAP мышей из примера 11

ID группы	День 8		День 15		День 22		День 29	
	Ср. SEA P	Ст. откл. (+/-)	Ср. SEAP	Ст. откл. (+/-)	Ср. SEA P	Ст. откл. (+/-)	Ср. SEA P	Ст. откл. (+/-)
Группа 1 (Носитель - солевой раствор)	1,000	0,079	1,000	0,231	1,000	0,284	1,000	0,105
Группа 2 (0,625 мг/кг AD06280)	1,000	0,186	0,827	0,177	0,767	0,338	0,741	0,271
Группа 3 (1,25 мг/кг AD06280)	0,889	0,161	0,585	0,102	0,477	0,128	0,406	0,099
Группа 4 (2,5 мг/кг AD06280)	0,813	0,103	0,579	0,151	0,558	0,283	0,517	0,277
Группа 5 (5,0 мг/кг AD06280)	0,214	0,098	0,109	0,047	0,080	0,024	0,081	0,028
Группа 6 (0,625 мг/кг AD06187)	0,605	0,132	0,525	0,187	0,520	0,209	0,522	0,182
Группа 7 (1,25 мг/кг AD06187)	0,656	0,152	0,514	0,176	0,569	0,130	0,600	0,109
Группа 8 (2,5 мг/кг AD06187)	0,480	0,124	0,223	0,114	0,203	0,123	0,177	0,107
Группа 9 (5,0 мг/кг AD06187)	0,203	0,056	0,050	0,015	0,045	0,008	0,054	0,014

Оба тестированных HSD17B13 РНКи агента (т.е., AD06280 и AD06187) показала снижение SEAP по сравнению с контрольным носителем (Группа 1).

Пример 12. *In Vivo* тестирование HSD17B13 РНКи агентов на HSD17B13-SEAP мышцах.

Применяют модель HSD17B13-SEAP у мышей, описанную в примере 6 выше. В 1 день каждой мыши делают одно подкожное введение 200 мкл/20 г массы животного, содержащее 3 мг/кг (мнк) HSD17B13 РНКи агента, составленного в фармацевтически приемлемом солевом буфере или контрольном носителе (солевой буфер без РНКи агента), согласно следующей таблице 25.

Таблица 25. Группы дозирования из примера 12

Группа	РНКи агент и доза	Схема дозирования
1	Солевой раствор (без РНКи агента)	Одна инъекция на 1 день
2	3 мг/кг AD06187	Одна инъекция на 1 день
3	3 мг/кг AD06208	Одна инъекция на 1 день
4	3 мг/кг AD06209	Одна инъекция на 1 день
5	3 мг/кг AD06215	Одна инъекция на 1 день
6	3 мг/кг AD06216	Одна инъекция на 1 день
7	3 мг/кг AD06219	Одна инъекция на 1 день

Все HSD17B13 РНКи агенты включают модифицированные нуклеотиды, которые конъюгированы на 5' конце смысловой цепи с направляющим лигандом, который включает три N-ацетилгалактозаминовых группы (тридентатным лигандом), имеющим модифицированные последовательности, указанные в дуплексных структурах в настоящем описании. (см. таблицы 3-6 для информации о конкретных модификациях и структурах, родственных HSD17B13 РНКи агентам). HSD17B13 РНКи агент AD06187 (Группа 2) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 499 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06208 (Группа 3) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 92 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06209 (Группа 4) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 417 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06215 (Группа 5) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 1418 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06216 (Группа 6) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 1502 гена; HSD17B13 РНКи агент AD06219 (Группа 7) включает нуклеотидные последовательности, которые сконструированы для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в положении 2195 гена. (см. SEQ ID NO:1 и таблицу 2 для указанного HSD17B13 гена).

Инъекцию делают между кожей и мышцами (т.е. подкожную инъекцию) в дряблую

кожу в области шеи и плеч. Тестируют четыре (4) мыши в каждой группе (n=4). Сыворотку собирают в день -1 (перед лечением), день 8, день 15 и день 22, и уровни экспрессии SEAP определяют в соответствии с методикой, указанной в примере 6, выше. Данные эксперимента показаны в следующей таблице 26.

Таблица 26. Средняя SEAP, нормализованная до значений перед лечением (день -1) и контрольного носителя у HSD17B13-SEAP мышей из примера 12

ID группа	День 8		День 15		День 22	
	Ср.SEAP	Ст. откл. (+/-)	Ср.SEAP	Ст. откл. (+/-)	Ср.SEAP	Ст. откл. (+/-)
Группа 1 (Носитель - солевой раствор)	1,000	0,29	1,000	0,112	1,000	0,207
Группа 2 (3 мг/кг AD06187)	0,288	0,156	0,205	0,131	0,186	0,151
Группа 3 (3 мг/кг AD06208)	0,393	0,048	0,323	0,088	0,268	0,054
Группа 4 (3 мг/кг AD06209)	0,614	0,106	0,481	0,146	0,315	0,06
Группа 5 (3 мг/кг AD06215)	0,790	0,355	0,662	0,281	0,578	0,202
Группа 6 (3 мг/кг AD06216)	0,962	0,556	0,867	0,681	0,612	0,404
Группа 7 (3 мг/кг AD06219)	0,878	0,425	0,848	0,479	0,688	0,352

ДРУГИЕ ВАРИАНТЫ

Следует понимать, что хотя изобретение было описано вместе с его подробным описанием, вышеприведенное описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема изобретения, который определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации входят в объем следующей формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. РНКи агент для ингибирования экспрессии HSD17B13 гена, содержащий:
антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 17 непрерывных нуклеотидов, отличающихся 0 или 1 нуклеотидами от любой из последовательностей, представленных в таблице 2 или таблице 3; и
смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи.
2. РНКи агент по п.1, где антисмысловая цепь содержит нуклеотиды 2-18 из любой из последовательностей, представленных в таблице 2 или таблице 3.
3. РНКи агент по п.1 или п.2, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность из, по меньшей мере, 17 непрерывных нуклеотидов, отличающихся 0 или 1 нуклеотидами от любой из последовательностей смысловой цепи, представленных в таблице 2 или таблице 4, и где смысловая цепь имеет область по меньшей мере с 85% комплементарностью по 17 непрерывным нуклеотидам с антисмысловой цепью.
4. РНКи агент по любому из пп. 1-3, где по меньшей мере один нуклеотид РНКи агента является модифицированным нуклеотидом или он включает модифицированные интернуклеозидные связи.
5. РНКи агент по любому из пп. 1-3, где все или по существу все нуклеотиды смысловой и/или антисмысловой цепи РНКи агента являются модифицированными нуклеотидами.
6. РНКи агент по любому из пп. 4-5, где модифицированный нуклеотид выбран из группы, состоящей из: 2'-О-метил нуклеотида, 2'-фтор нуклеотида, 2'-деокси нуклеотида, миметика 2',3'-секо нуклеотида, замкнутого нуклеотида, 2'-F-арабино нуклеотида, 2'-метоксиэтил нуклеотида, нуклеотида с удаленными азотистыми основаниями, рибита, инвертированного нуклеотида, инвертированного 2'-О-метил нуклеотида, инвертированного 2'-деокси нуклеотида, 2'-амино-модифицированного нуклеотида, 2'-алкил-модифицированного нуклеотида, морфолино нуклеотида, винилфосфонатного деоксирибонуклеотида, циклопропилфосфонатного деоксирибонуклеотида и 3'-О-метил нуклеотида.
7. РНКи агент по п.5, где все по существу все модифицированные нуклеотиды являются 2'-О-метил нуклеотидами, 2'-фтор нуклеотидами или их комбинациями.
8. РНКи агент по любому из пп. 1-7, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность по любой из модифицированных последовательностей антисмысловой цепи, представленных в таблице 3.
9. РНКи агент по любому из пп. 1-8, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность по любой из модифицированных последовательностей смысловой цепи, представленных в таблице 4.
10. РНКи агент по п.1, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность по любой из модифицированных последовательностей, представленных в таблице 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную

последовательность по любой из модифицированных последовательностей, представленных в таблице 4.

11. РНКи агент по любому из пп. 1-10, где РНКи агент связан с направляющим лигандом.

12. РНКи агент по п.11, где направляющий лиганд содержит n-ацетилгалактозамин.

13. РНКи агент по п.11 или пункту 12, где направляющий лиганд содержит структуру, выбранную из группы, состоящей из: (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), (NAG39)s.

14. РНКи агент по п.13, где направляющий лиганд содержит структуру (NAG37) или (NAG37)s.

15. РНКи агент по любому из пп. 11-14, где направляющий лиганд связан со смысловой цепью.

16. РНКи агент по п.15, где направляющий лиганд связан с 5' концевой областью смысловой цепи.

17. РНКи агент по любому из пп. 1-16, где смысловая цепь имеет от 18 до 30 нуклеотидов в длину и антисмысловая цепь имеет от 18 до 30 нуклеотидов в длину.

18. РНКи агент по п.17, где каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи имеет от 18 до 27 нуклеотидов в длину.

19. РНКи агент по п.18, где каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи имеет от 18 до 24 нуклеотидов в длину.

20. РНКи агент по п.19, где каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи имеет 21 нуклеотид в длину.

21. РНКи агент по любому из пп. 17-20, где РНКи агент имеет два тупых конца.

22. РНКи агент по любому из пп. 1-21, где смысловая цепь содержит один или два концевых кэпа.

23. РНКи агент по любому из пп. 1-22, где смысловая цепь содержит один или два инвертированных остатка с удаленным азотистым основанием.

24. РНКи агент по п.1, где РНКи агент содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, которая образует дуплекс, имеющий структуру по любому из дуплексов в таблице 5.

25. РНКи агент по п.1, содержащий антисмысловую цепь, которая состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность, которая отличается 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

UCAUCAUCAGACUUCUACG (SEQ ID NO:3); или

UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGC (SEQ ID NO:6).

26. РНКи агент по п.25, где смысловая цепь состоит из, состоит по существу из или содержит нуклеотидную последовательность которая отличается 0 или 1 нуклеотидами от

одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

CGUAAGAAGUCUGAUAGAUGA (SEQ ID NO:8); или

GCCUAGGACAUUUUUGIAUCA (SEQ ID NO:11),

где I представляет инозиновый (гипоксантиновый) нуклеотид.

27. РНКи агент по п.25 или 26, где все или по существу все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

28. РНКи агент по п.25 или 26, где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце нуклеотидной последовательности, на 5' конце нуклеотидной последовательности или на обоих.

29. РНКи агент по п.1, содержащий антисмысловую цепь, которая содержит, состоит из или состоит по существу из модифицированной нуклеотидной последовательности, которая отличается 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2);

usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4);

usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5);

usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7);

где a, c, g и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; s представляет фосфоротиоатную связь; и где все или по существу все нуклеотиды смысловой цепи являются модифицированными нуклеотидами.

30. РНКи агент по п.1, где смысловая цепь содержит, состоит из или состоит по существу из модифицированной нуклеотидной последовательности, которая отличается 0 или 1 нуклеотидами от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

cguaagaaGfUfCfugauagauga (SEQ ID NO:9);

cguaagaaGfuCfuGfauagauga (SEQ ID NO:10);

gccuaggaCfAfUfuuuugiauca (SEQ ID NO:12); или

gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (SEQ ID NO:13);

где a, c, g, i и u представляет 2'-О-метил аденозин, цитидин, гуанозин, инозиновый или уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляет 2'-фтор аденозин, цитидин, гуанозин или уридин, соответственно; s представляет фосфоротиоатную связь; и где все или по существу все нуклеотиды на антисмысловой цепи являются модифицированными нуклеотидами.

31. РНКи агент по любому из пп. 25-30, где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием на 3' конце нуклеотидной последовательности, на 5' конце нуклеотидной последовательности или обоих.

32. РНКи агент по любому из пп. 25-31, где смысловая цепь РНКи агента связана с направляющим лигандом.

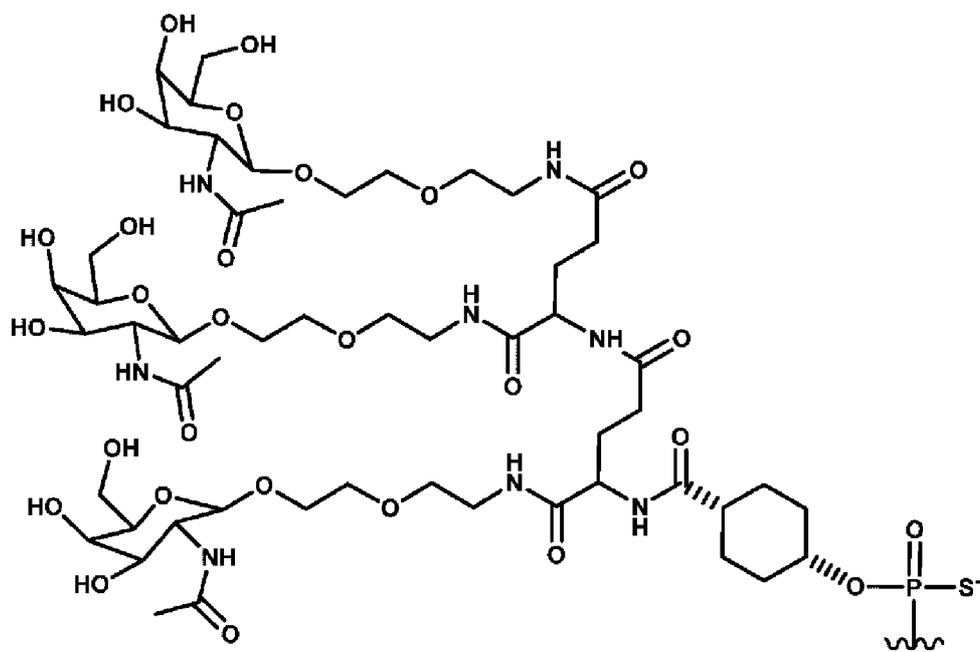
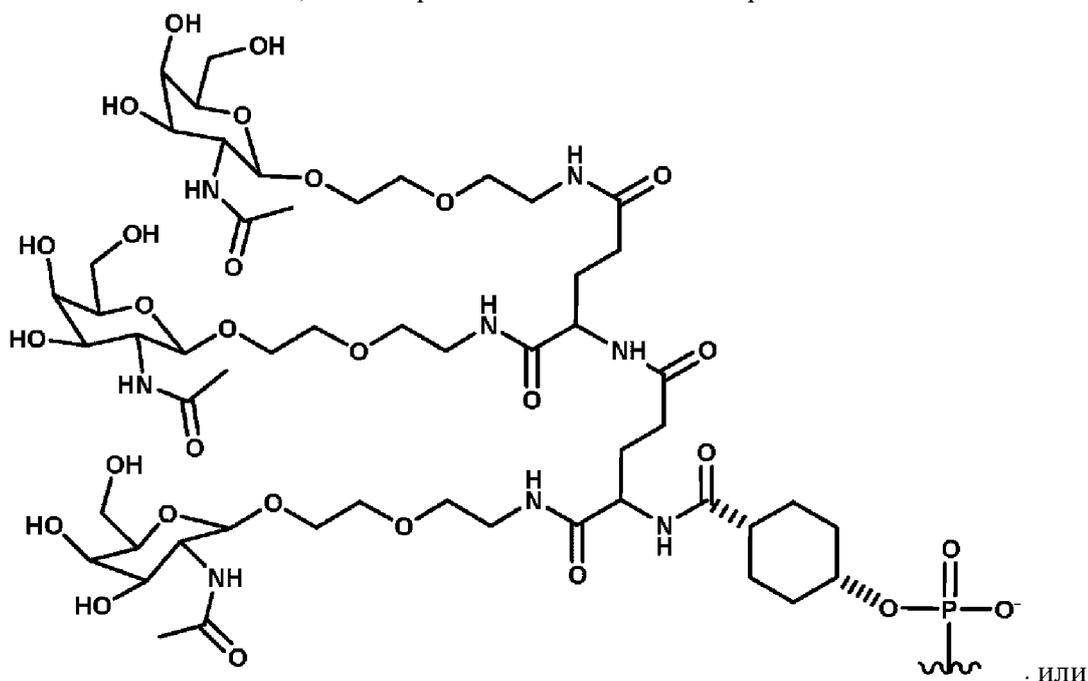
33. РНКи агент по п.32, где направляющий лиганд имеет аффинность к асиалогликопротеиновому рецептору.

34. РНКи агент по п.33, где направляющий лиганд содержит N-ацетилгалактозамин.

35. РНКи агент по п.1, где РНКи агент имеет дуплексную структуру, выбранную из группы, состоящей из: AD06214 (SEQ ID NOs: 2 и 16); AD06280 (SEQ ID NOs: 4 и 15); AD06187 (SEQ ID NOs: 5 и 16); AD06276 (SEQ ID NOs: 5 и 17); AD06277 (SEQ ID NOs: 7 и 17).

36. РНКи агент по п.35, где РНКи агент имеет дуплексную структуру, выбранную из группы, состоящей из: AD06214 (SEQ ID NOs: 2 и 16) и AD06280 (SEQ ID NOs: 4 и 15).

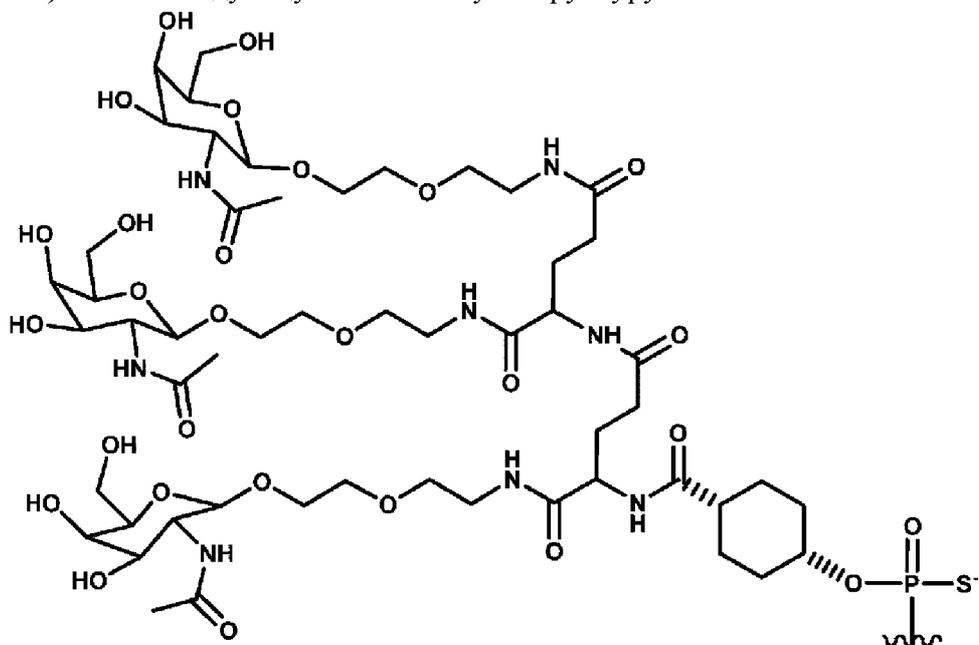
37. РНКи агент по п.1, где направляющий лиганд содержит:



38. РНКи агент по п.1, где антисмысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности (5' → 3') usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:2), и смысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной

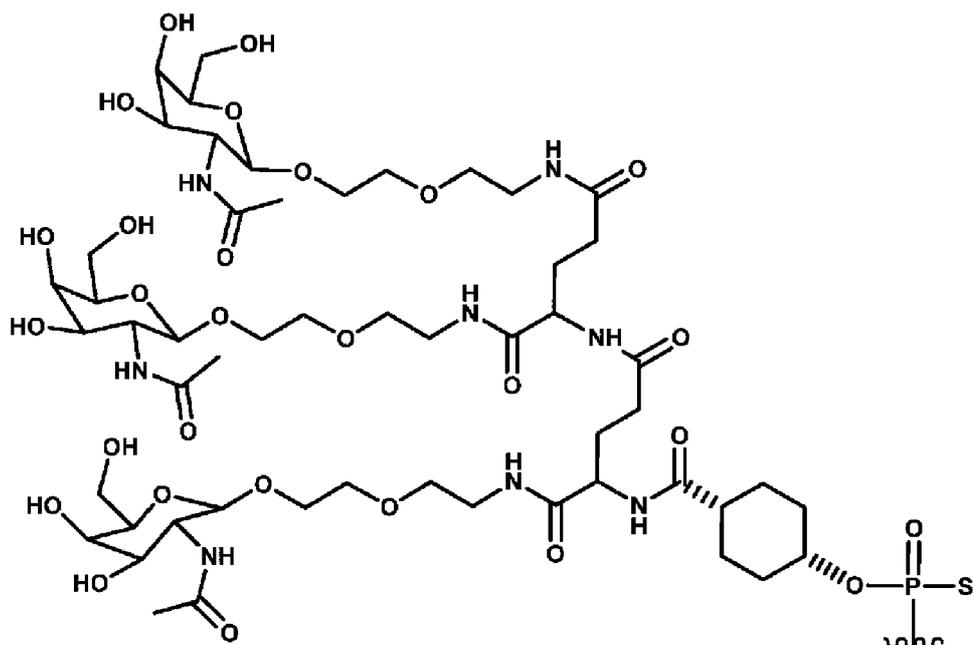
последовательности (5' → 3') (NAG37)s(invAb)scguaagaaGfUfCfugauagaugas(invAb) (SEQ ID NO:14);

где а, с, g и и являются 2'-О-метил аденозином, цитидином, гуанозином или уридином, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf являются 2'-фтор аденозином, цитидином, гуанозином или уридином, соответственно; s является фосфоротиоатной связью; (invAb) является инвертированным дезоксирибозным остатком с удаленным азотистым основанием; и (NAG37)s имеет следующую химическую структуру:



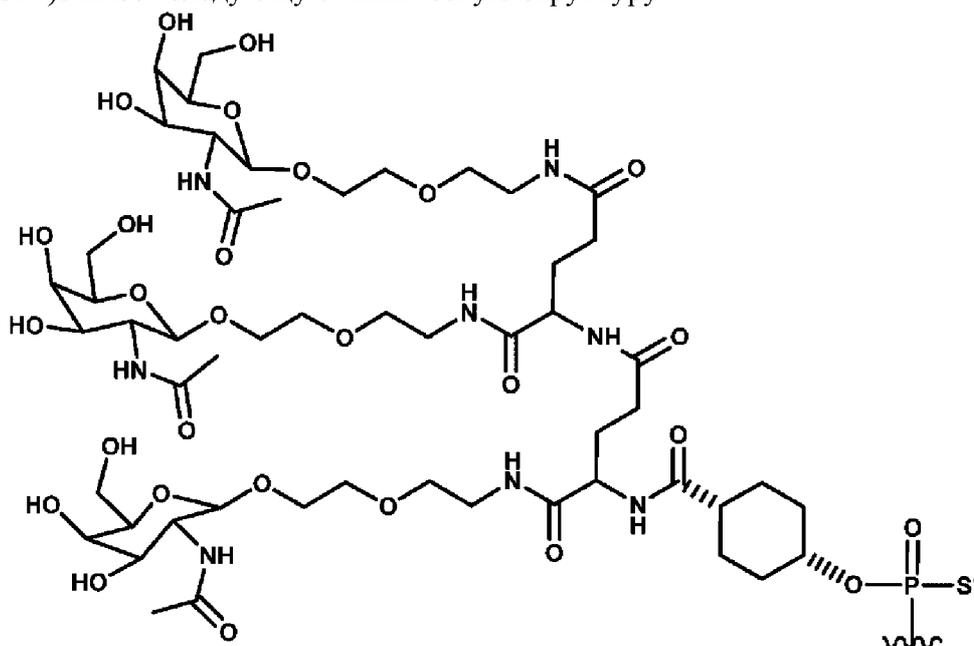
39. РНКи агент по п.1, где антисмысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности (5' → 3') usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (SEQ ID NO:4) и где смысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности (5' → 3') (NAG37)s(invAb)scguaagaaGfuCfuGfauagaugas(invAb) (SEQ ID NO:15);

где а, с, g и и являются 2'-О-метил аденозином, цитидином, гуанозином или уридином, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf являются 2'-фтор аденозином, цитидином, гуанозином или уридином, соответственно; s является фосфоротиоатной связью; (invAb) является инвертированным дезоксирибозным остатком с удаленным азотистым основанием; и (NAG37)s имеет следующую химическую структуру:



40. РНКи агент по п.30, где антисмысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности ($5' \rightarrow 3'$) usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:5) и где смысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности ($5' \rightarrow 3'$) (NAG37)s(invAb)sgccuaggaCfAfUfuuuuugiaucas(invAb) (SEQ ID NO:16);

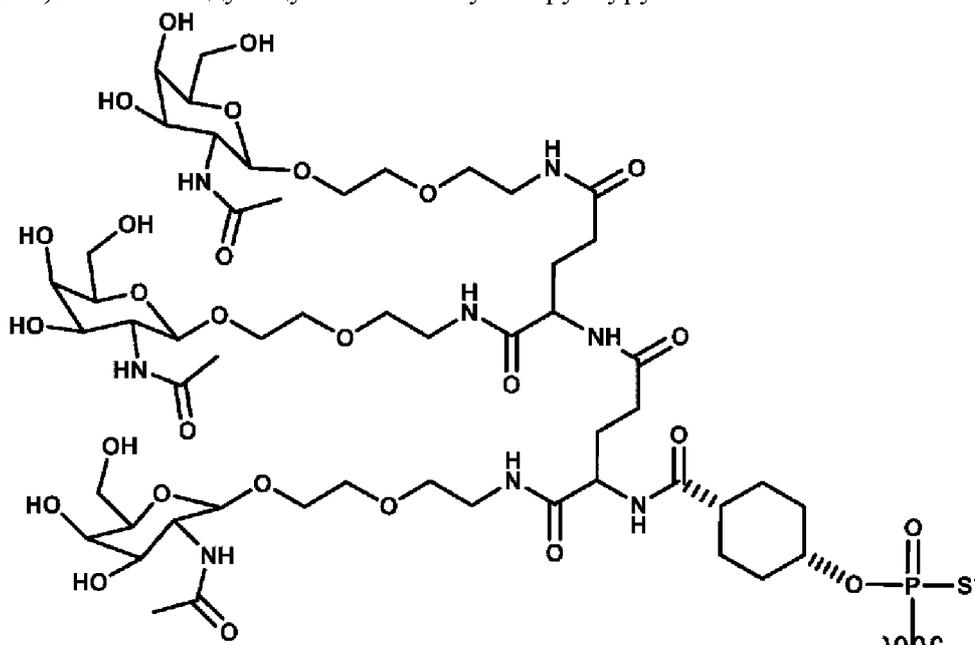
где а, с, g, i и u являются 2'-О-метил аденозином, цитидином, гуанозином, инозином или уридином, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf являются 2'-фтор аденозином, цитидином, гуанозином или уридином, соответственно; s является фосфоротиоатной связью; (invAb) является инвертированным дезоксирибозным остатком с удаленным азотистым основанием; и (NAG37)s имеет следующую химическую структуру:



41. РНКи агент по п.30, где антисмысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности ($5' \rightarrow 3'$) usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ

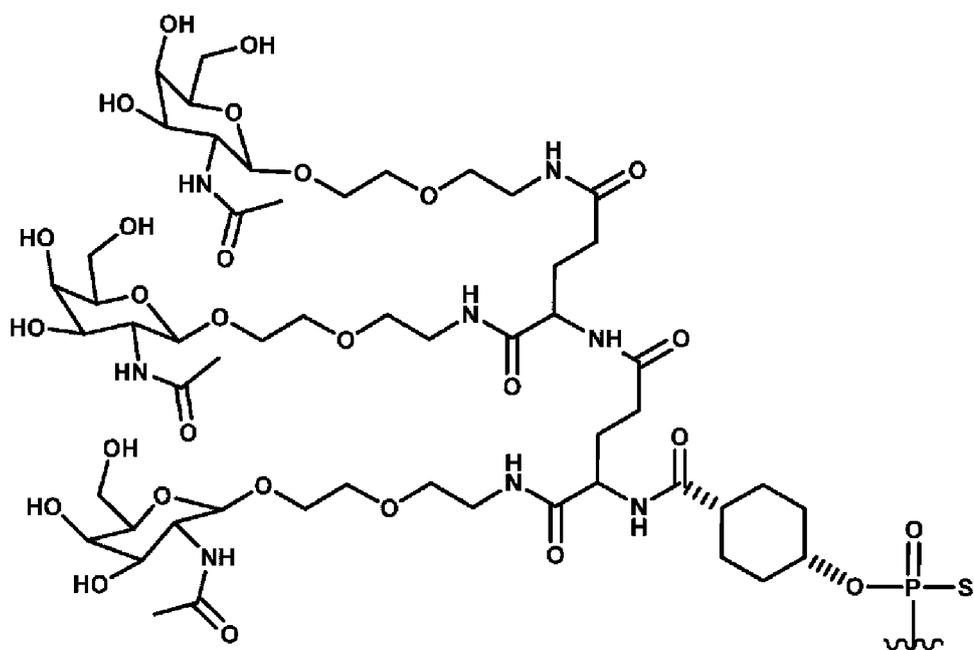
ID NO:5) и где смысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности (5' → 3') (NAG37)s(invAb)sgccuaggaCfaUfuUfuugiaucas(invAb) (SEQ ID NO:17);

где а, с, g, і и u являются 2'-О-метил аденозином, цитидином, гуанозином, инозином или уридином, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf являются 2'-фтор аденозином, цитидином, гуанозином или уридином, соответственно; s является фосфоротиоатной связью; (invAb) является инвертированным дезоксирибозным остатком с удаленным азотистым основанием; и (NAG37)s имеет следующую химическую структуру:



42. РНКи агент по п.30, где антисмысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности (5' → 3') usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (SEQ ID NO:7) и где смысловая цепь состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности (5' → 3') (NAG37)s(invAb)sgccuaggaCfaUfuUfuugiaucas(invAb) (SEQ ID NO:17);

где а, с, g, і и u являются 2'-О-метил аденозином, цитидином, гуанозином, инозином или уридином, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf являются 2'-фтор аденозином, цитидином, гуанозином или уридином, соответственно; s является фосфоротиоатной связью; (invAb) является инвертированным дезоксирибозным остатком с удаленным азотистым основанием; и (NAG37)s имеет следующую химическую структуру:



43. Композиция, содержащая РНКи агент по любому из пп. 1-42, где композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый эксципиент.

44. Композиция по п.43, дополнительно содержащая второй РНКи агент для ингибирования экспрессии HSD17B13.

45. Композиция по п.43 или 44, дополнительно содержащая один или более дополнительных терапевтических средств.

46. Способ ингибирования экспрессии HSD17B13 гена в клетке, включающий введение в клетку эффективного количества РНКи агента по любому из пп. 1-42 или композиции по любому из пп. 43-45.

47. Способ по п.46, где клетка находится в субъекте.

48. Способ по п.47, где субъектом является человек.

49. Способ по любому из пп. 46-48, где экспрессия HSD17B13 гена ингибируется на по меньшей мере приблизительно 30%.

50. Способ лечения HSD17B13-родственного заболевания или расстройства, где способ включает введение человеку, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества композиции по любому из пп. 43-45.

51. Способ по п.50, где заболевание представляет собой НАЖБП, НАСГ, фиброз печени, алкогольную жировую дистрофию печени или цирроз.

52. Способ по любому из пп. 46-51, где РНКи агент вводят в дозе от приблизительно 0,05 мг/кг до приблизительно 5,0 мг/кг массы тела человека.

53. Способ по любому из пп. 46-52, где РНКи агент вводят двумя или несколькими дозами.

54. Применение РНКи агента по любому из пп. 1-42 или композиции по любому из пп. 43-45 для лечения заболевания, расстройства или симптома, который опосредован, по меньшей мере частично, экспрессией HSD17B13 гена.

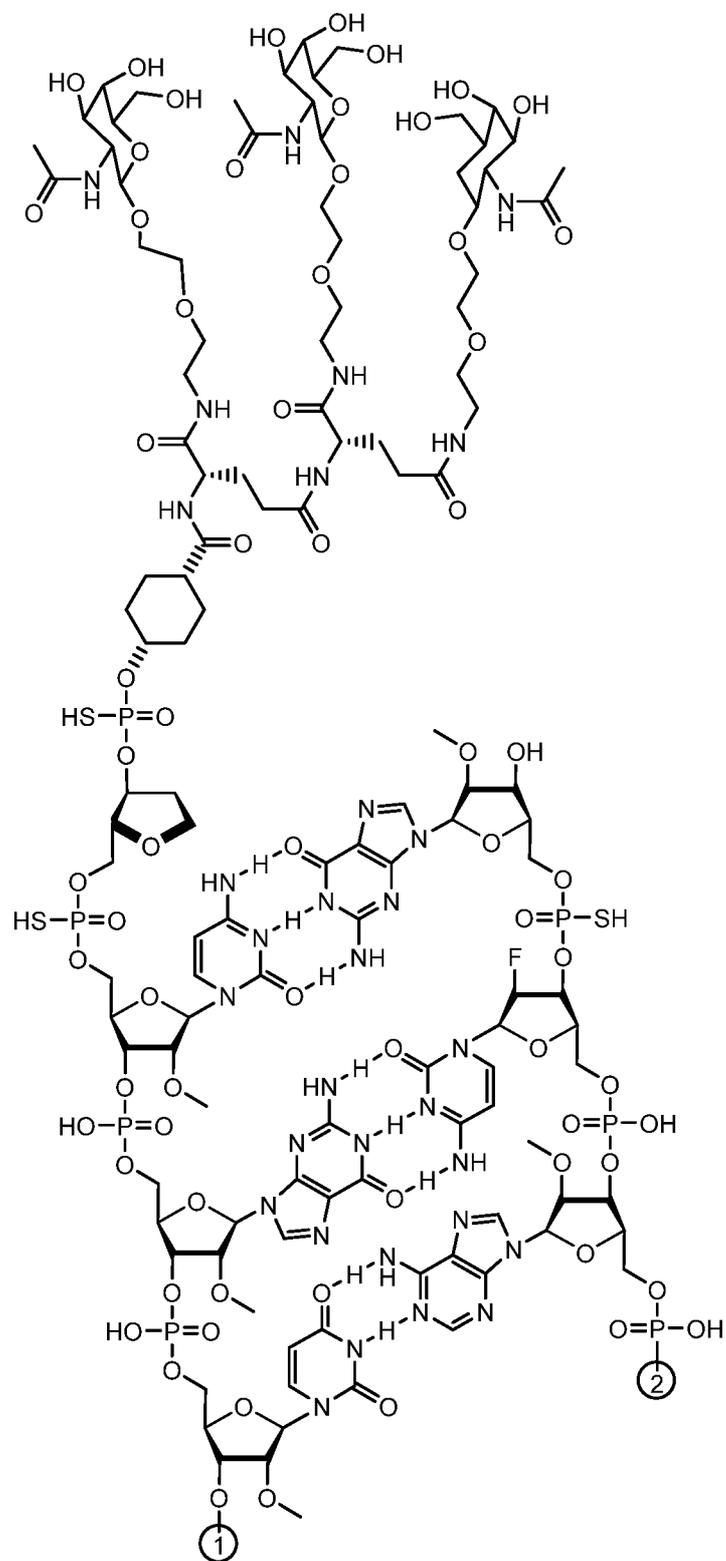
55. Применение по п.54, где симптомом является цирроз печени.

56. Применение РНКи агента по любому из пп. 1-42 или композиции по любому из пп. 43-45 для получения фармацевтических композиций для лечения заболевания, расстройства или симптома, который опосредован, по меньшей мере частично, экспрессией HSD17B13 гена.

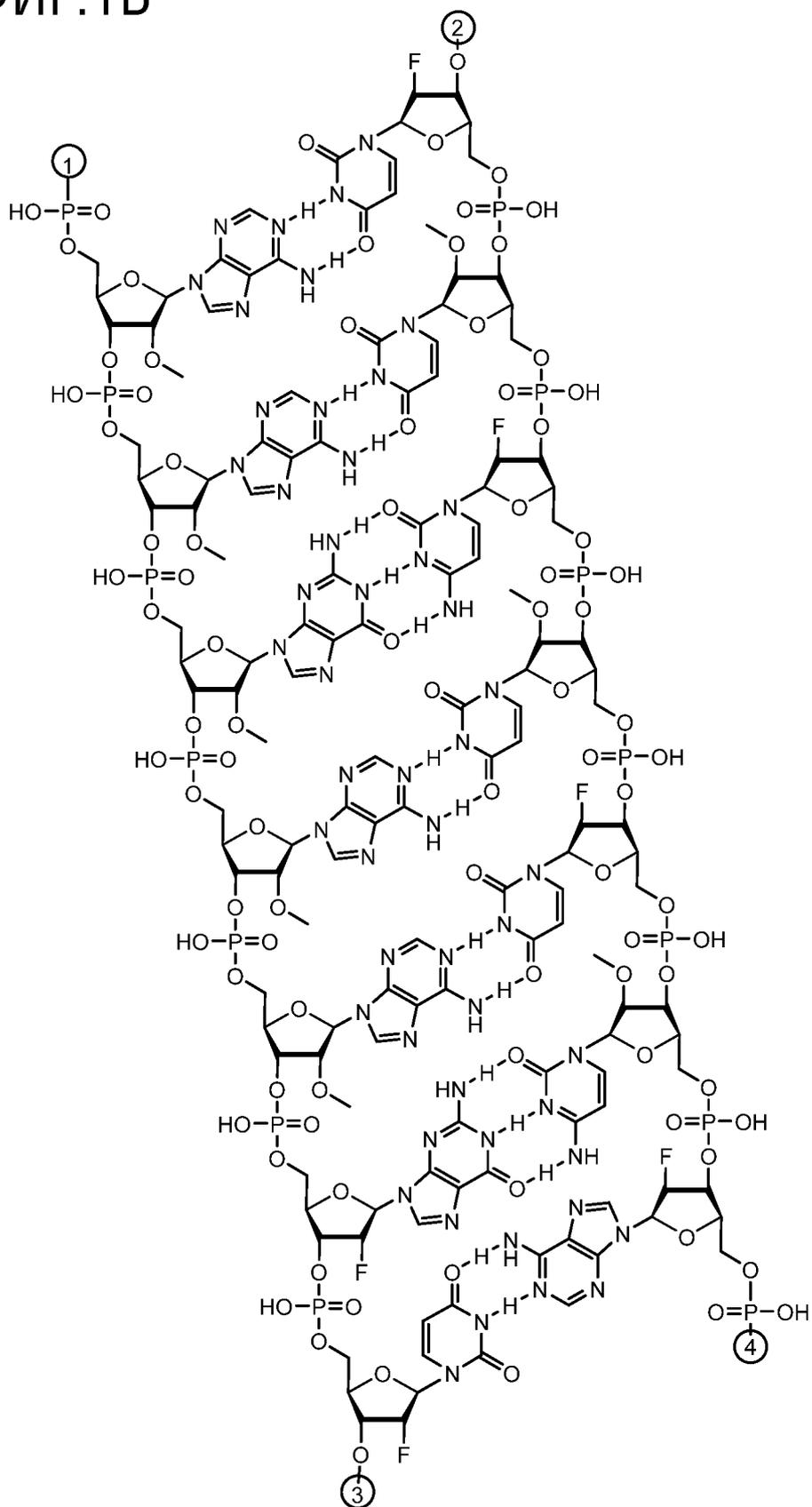
57. Применение композиции по любому из пп. 43-45, где заболеванием является НАЖБП, НАСГ, фиброз печени или алкогольная или не алкогольная болезнь печени, такая как цирроз.

58. Применение композиции по любому из пп. 43-45, где РНКи агент вводят в дозе от приблизительно 0,05 мг/кг до приблизительно 5,0 мг/кг массы тела человека.

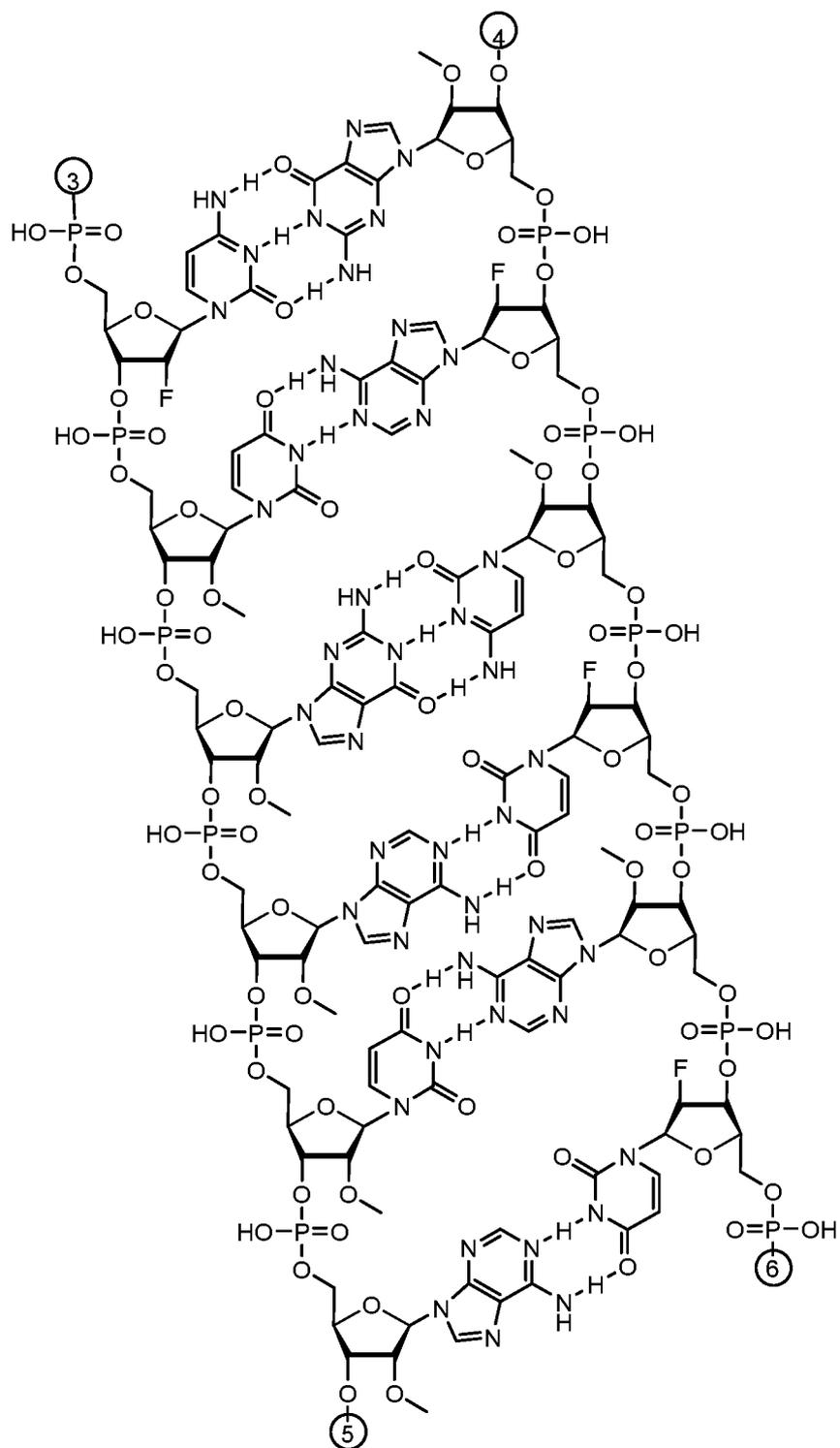
ФИГ.1А



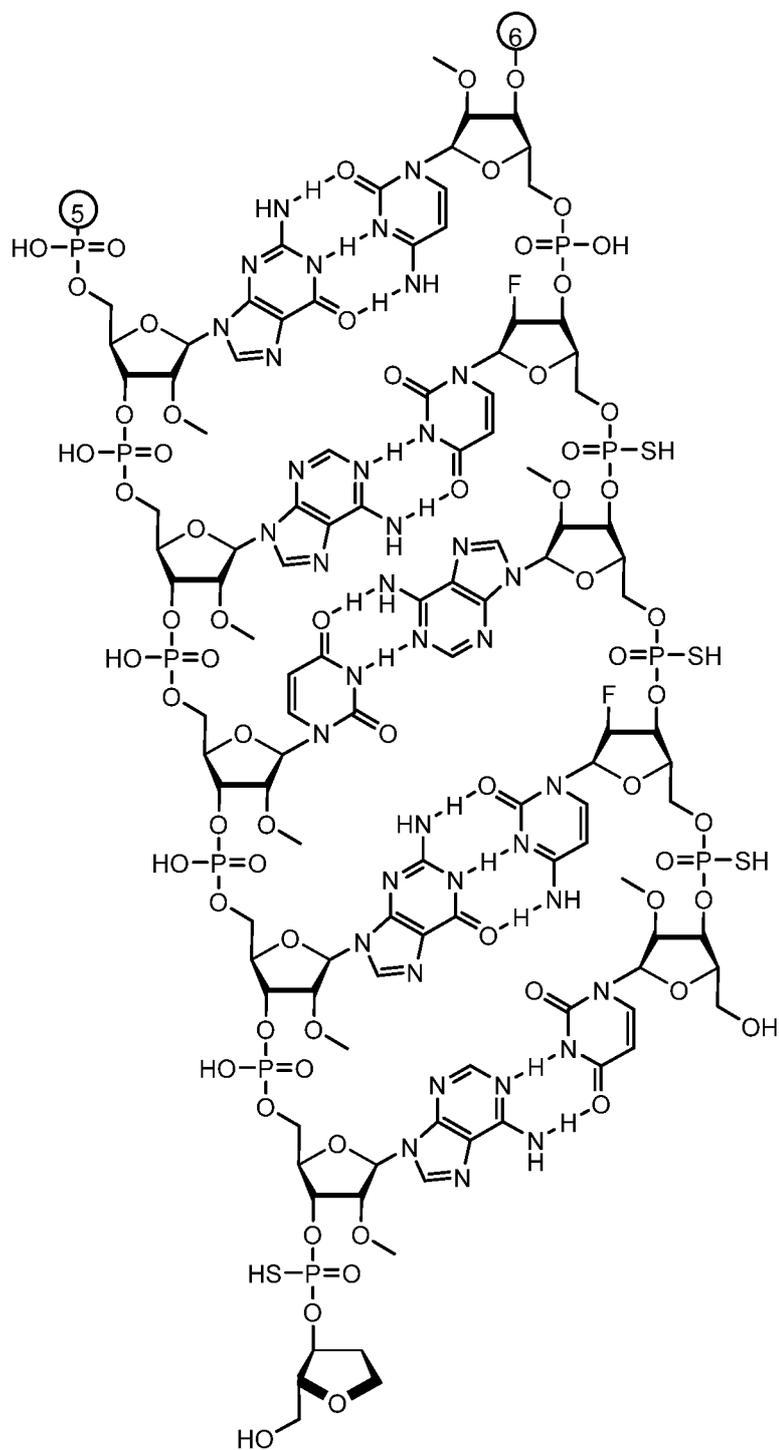
ФИГ.1В



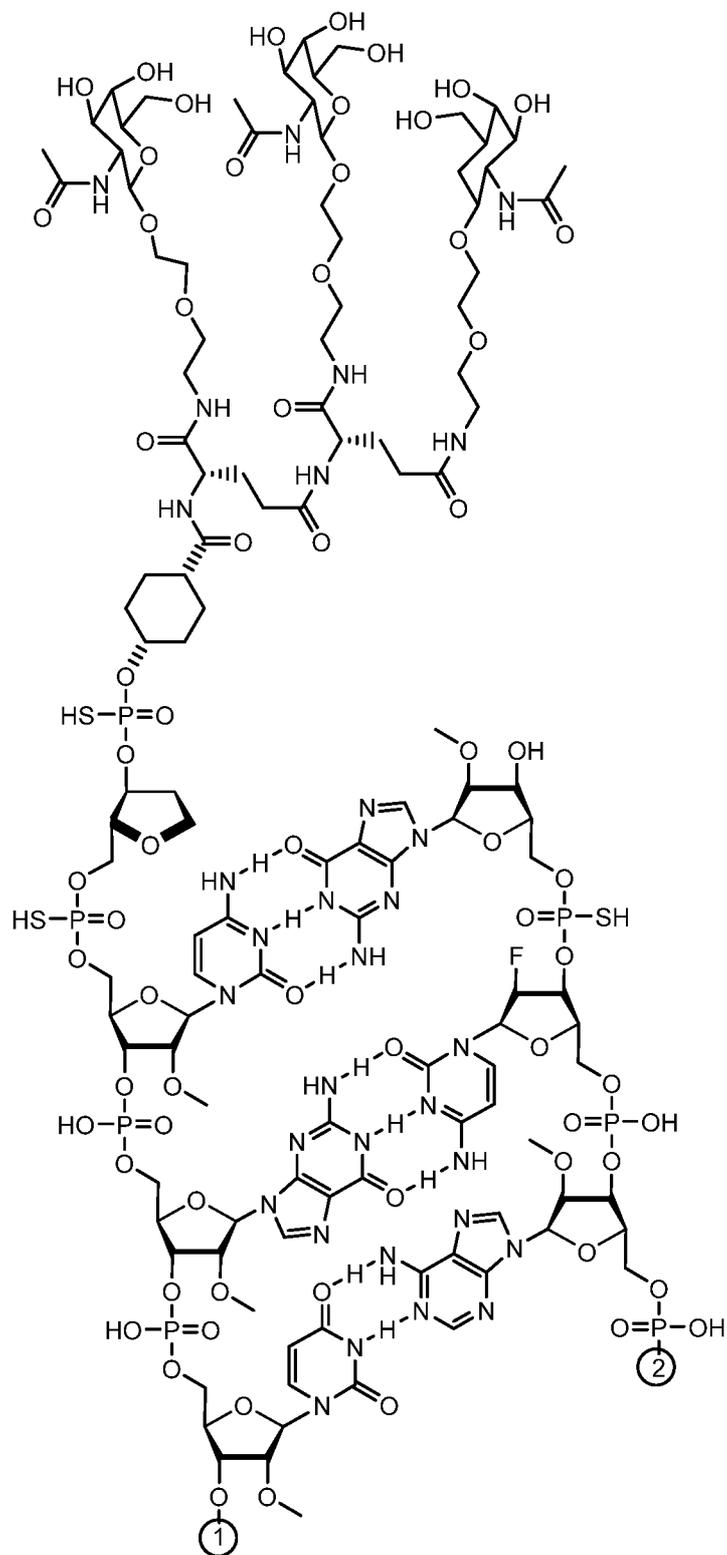
ФИГ.1С



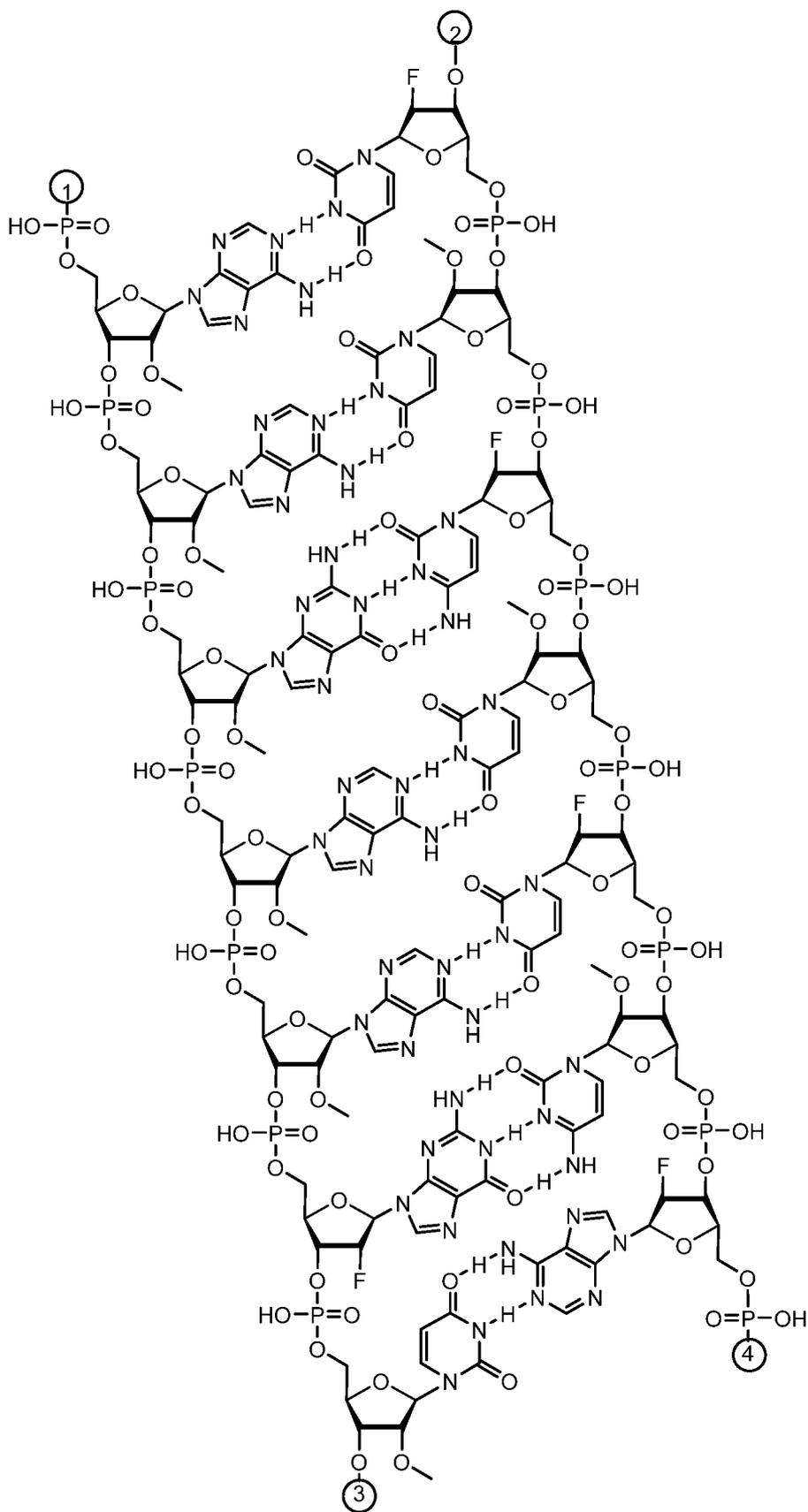
ФИГ.1D



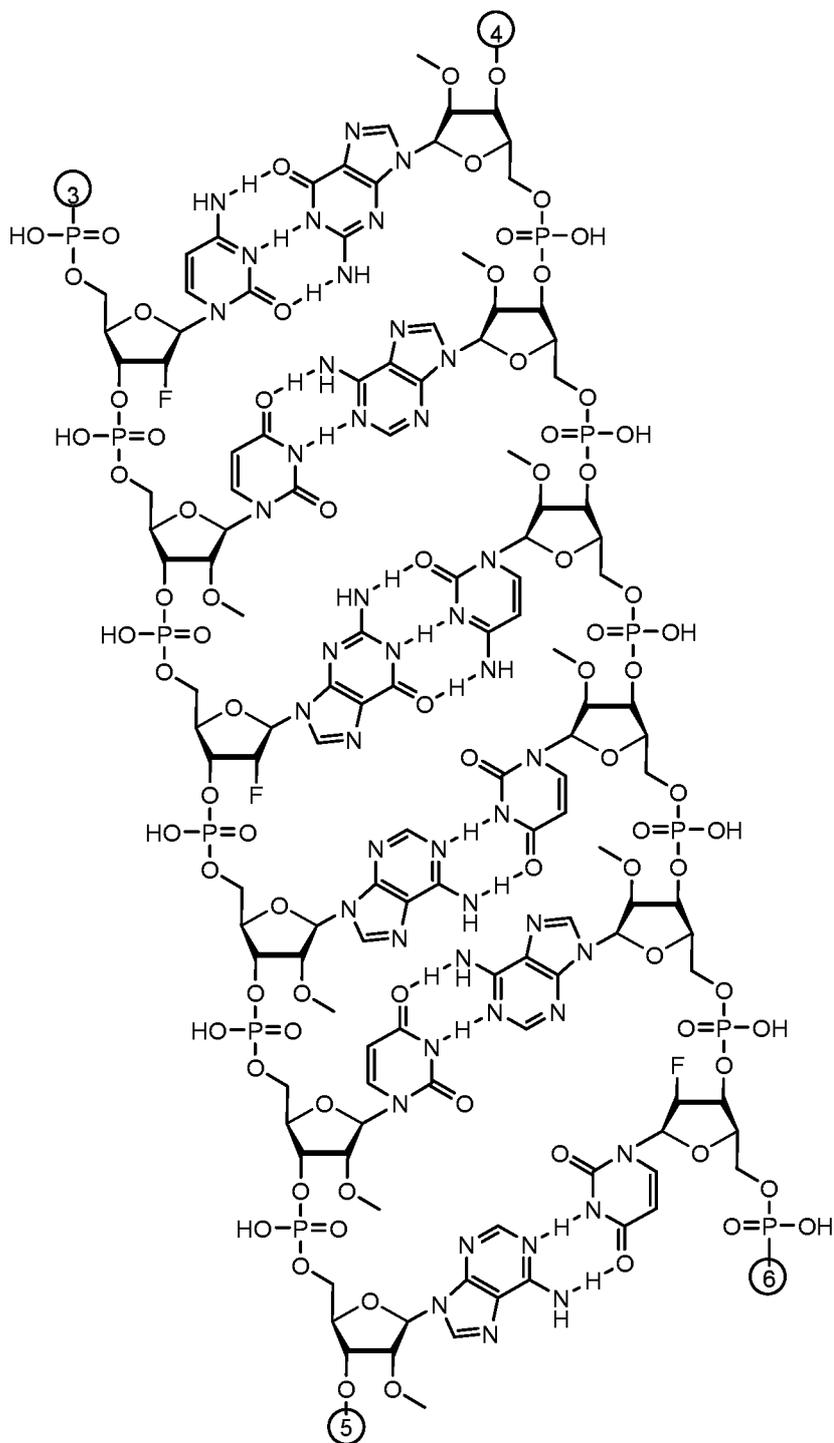
ФИГ.2А



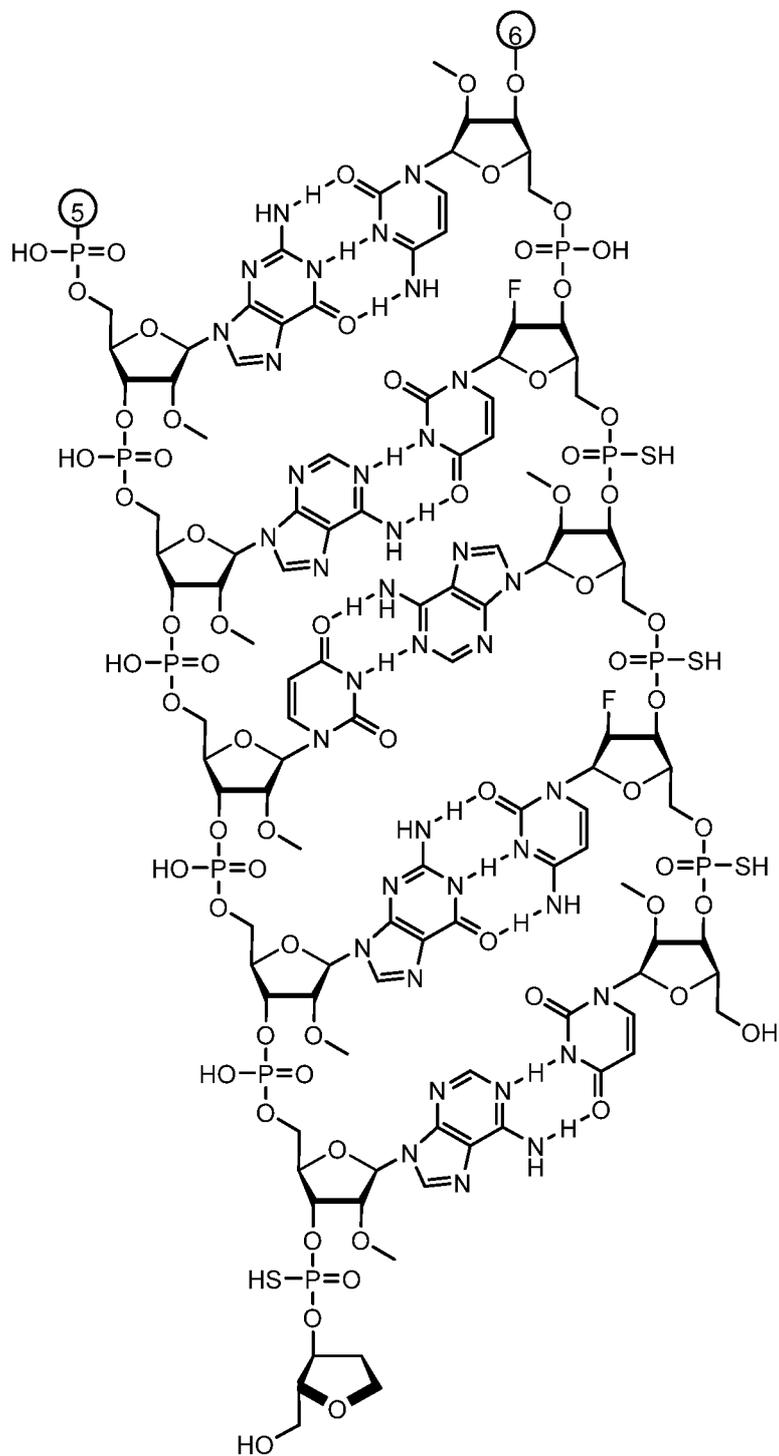
ФИГ.2В



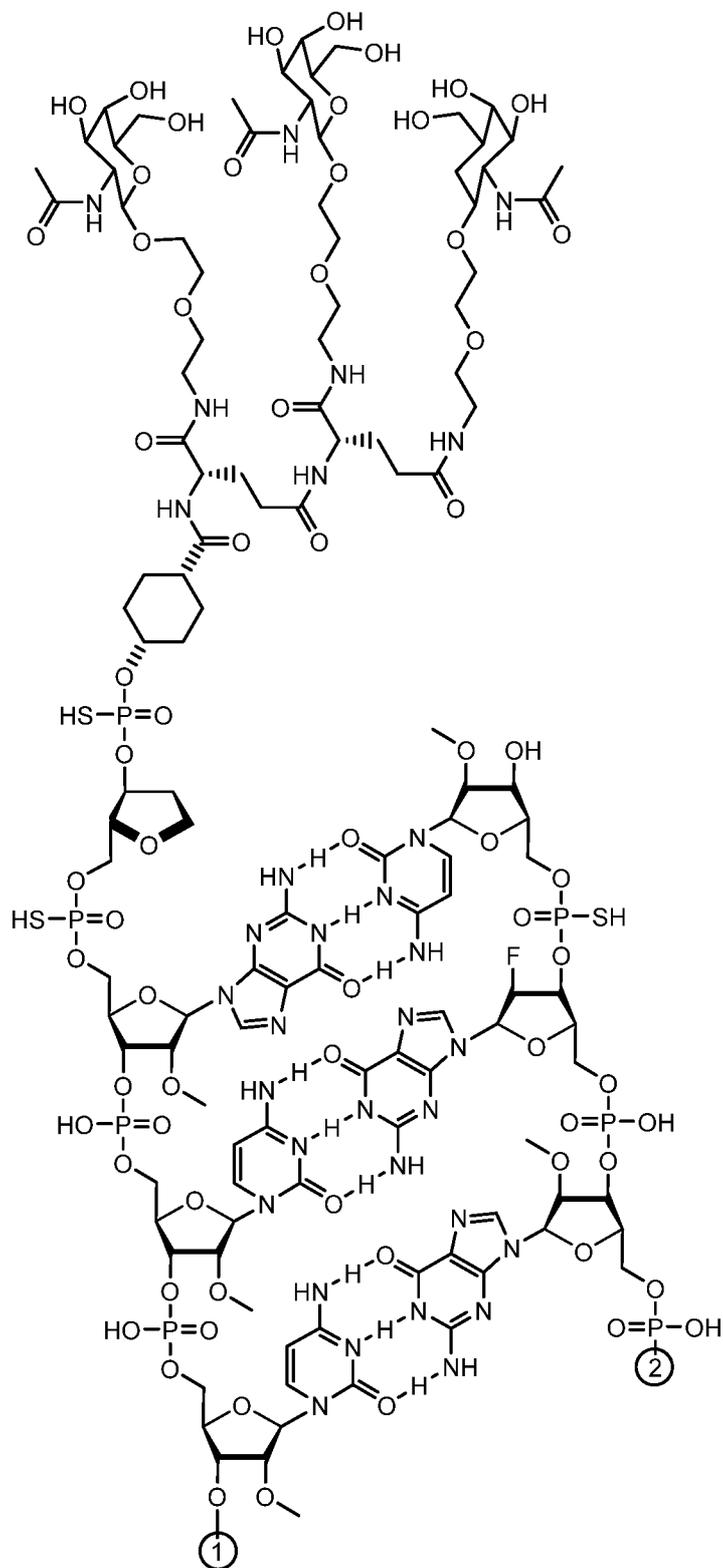
ФИГ.2С



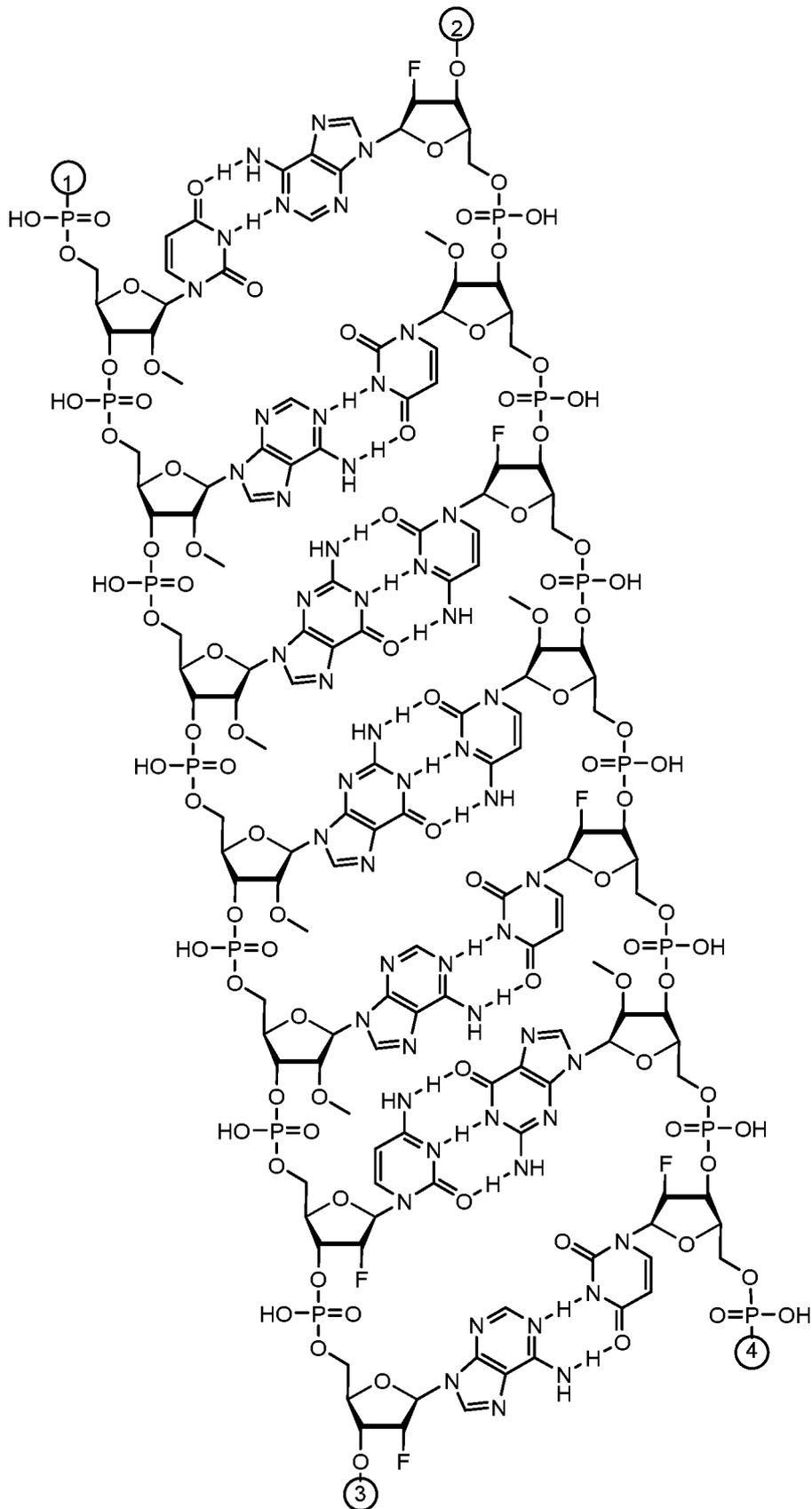
ФИГ.2D



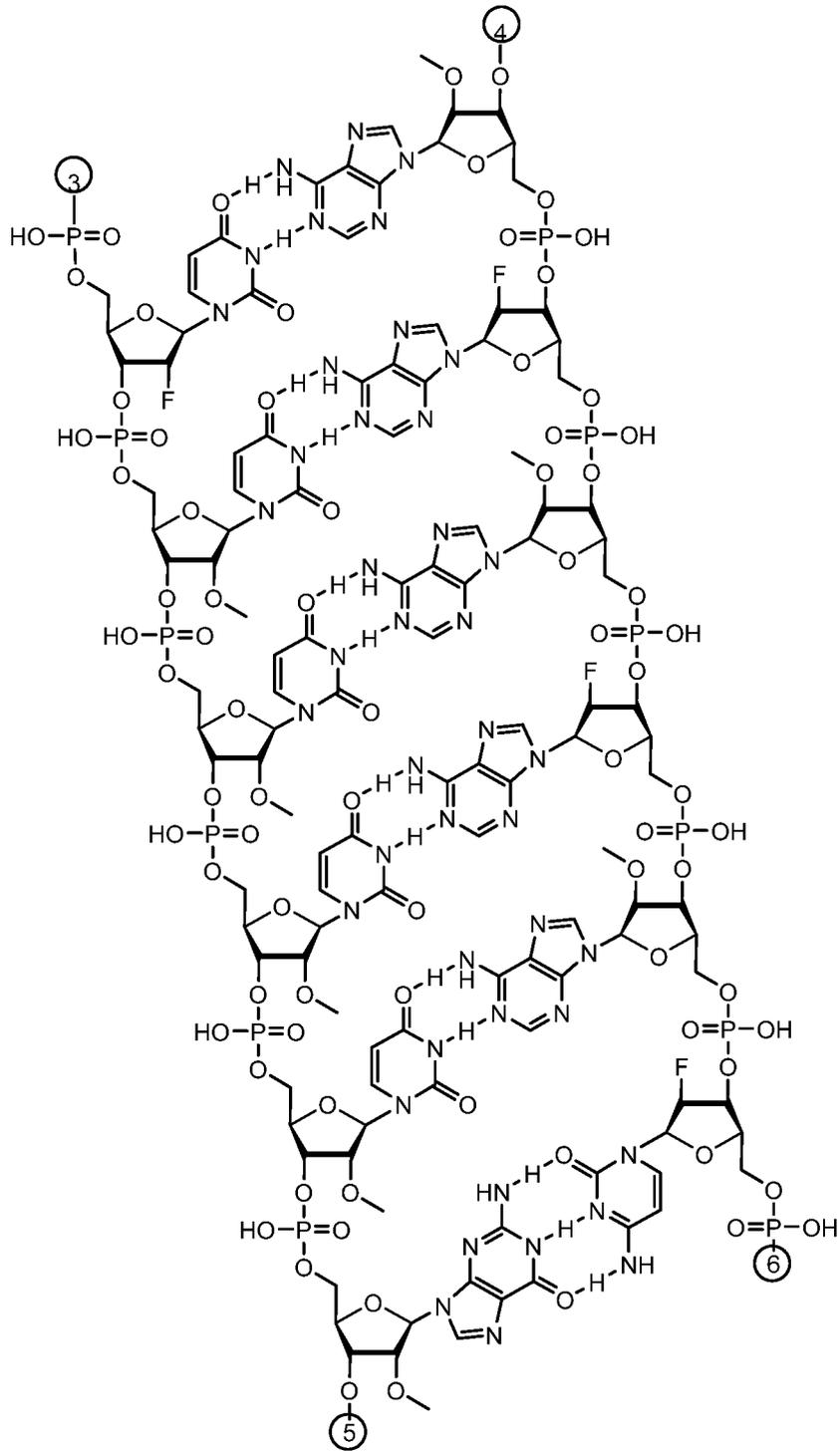
ФИГ.3А



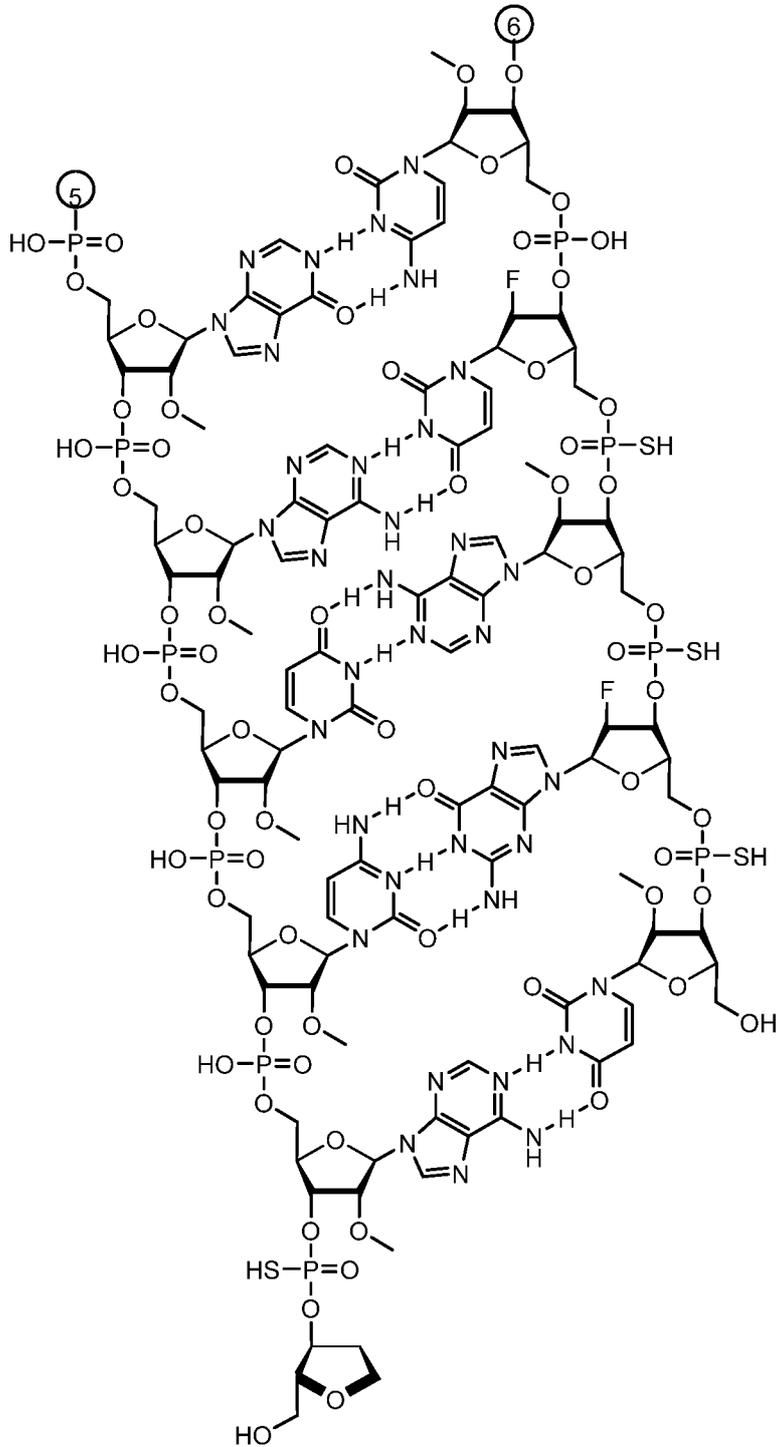
ФИГ.3В



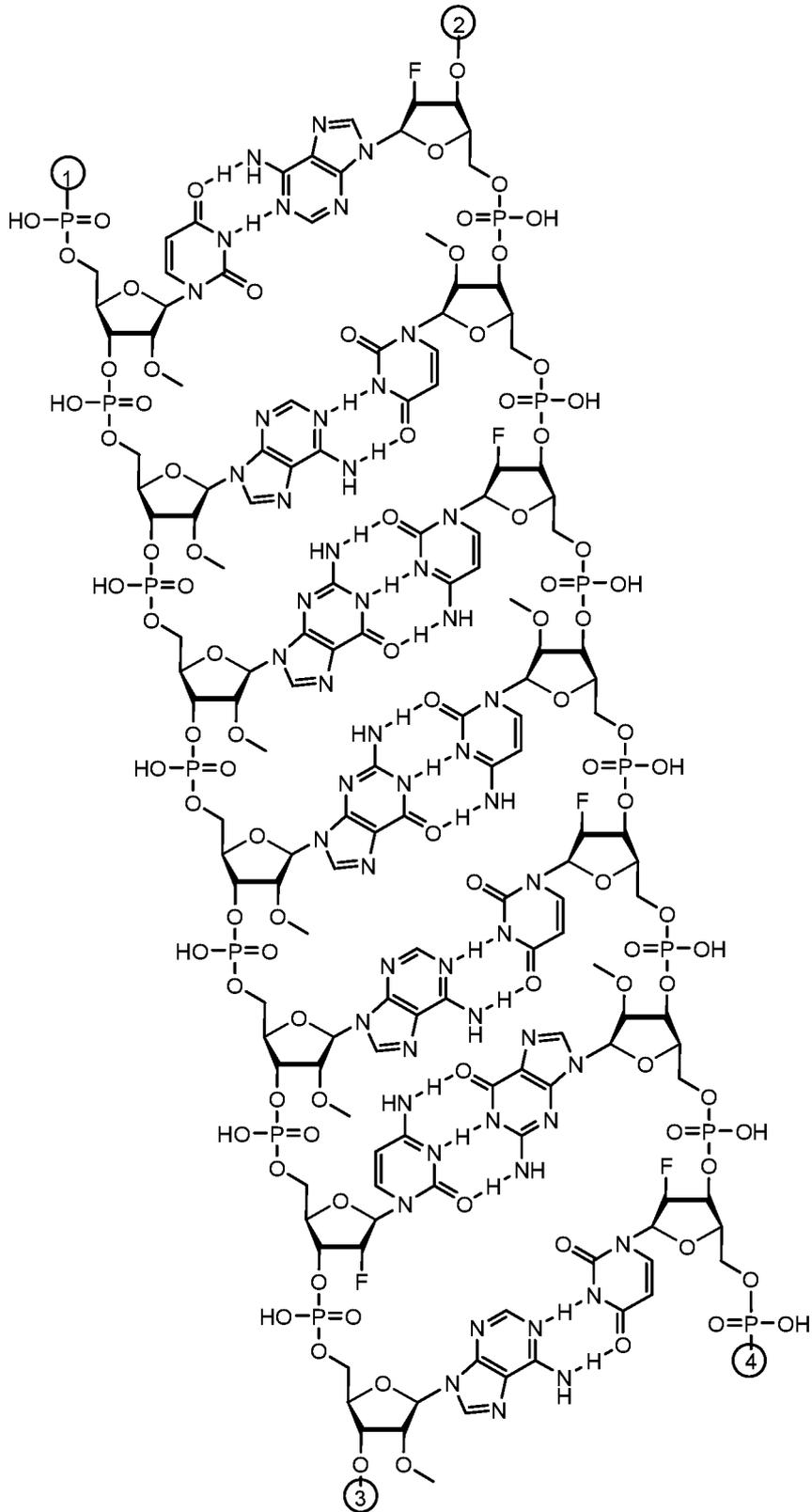
ФИГ.3С



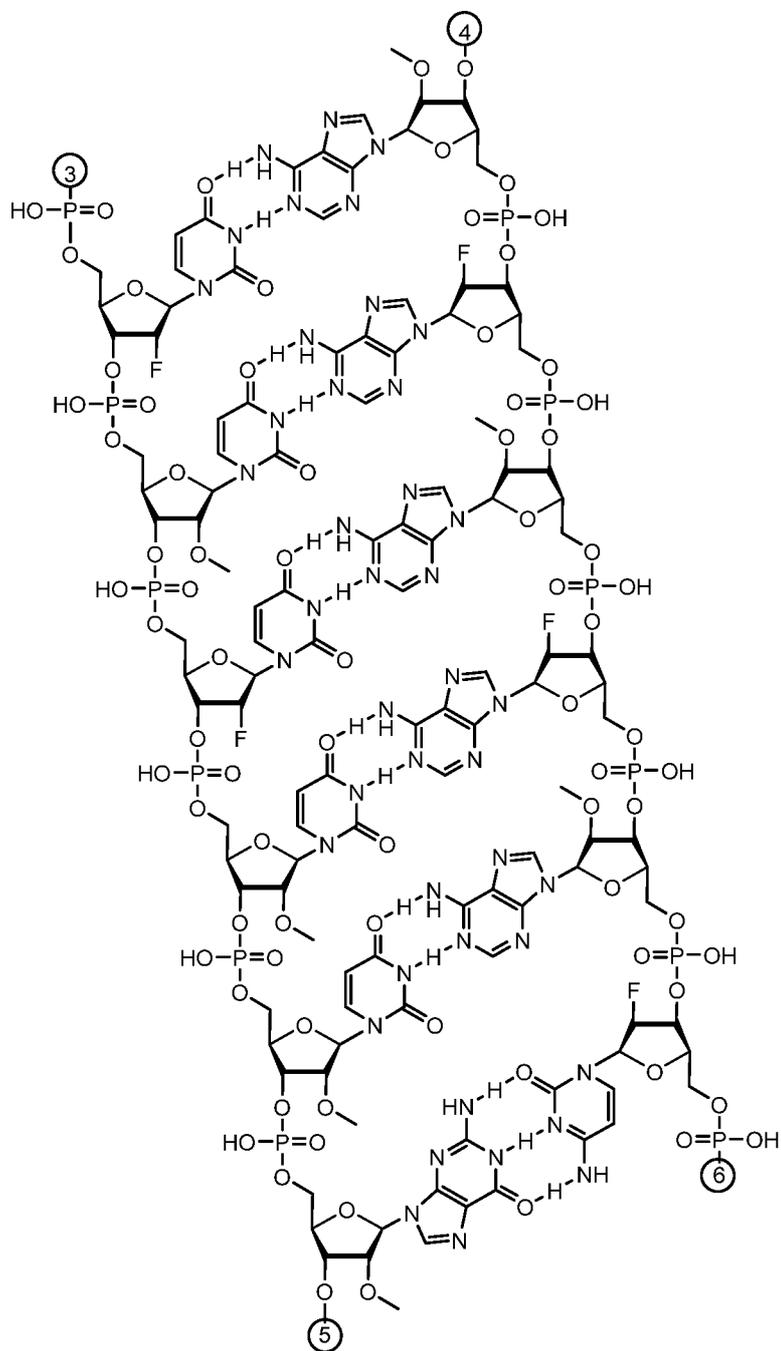
ФИГ.3D



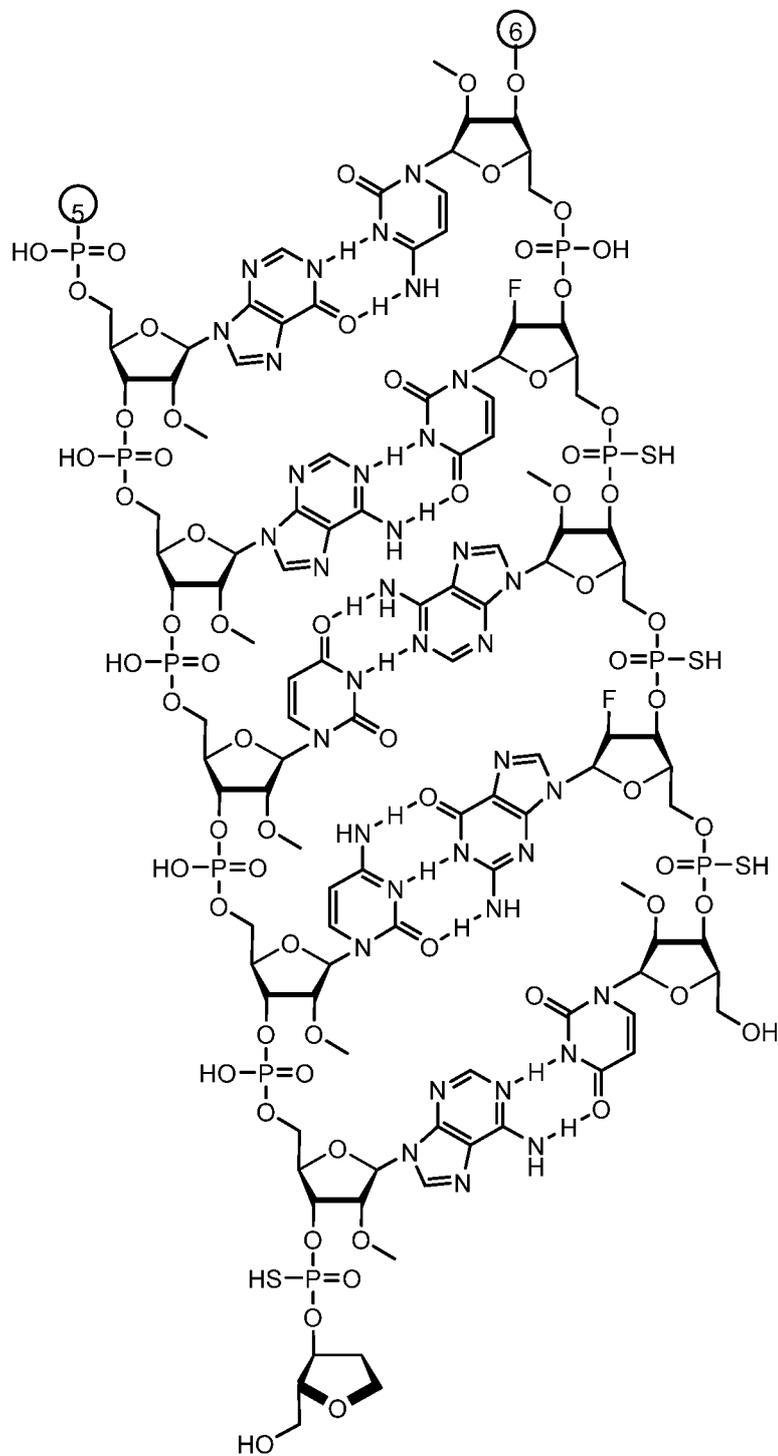
ФИГ.4В



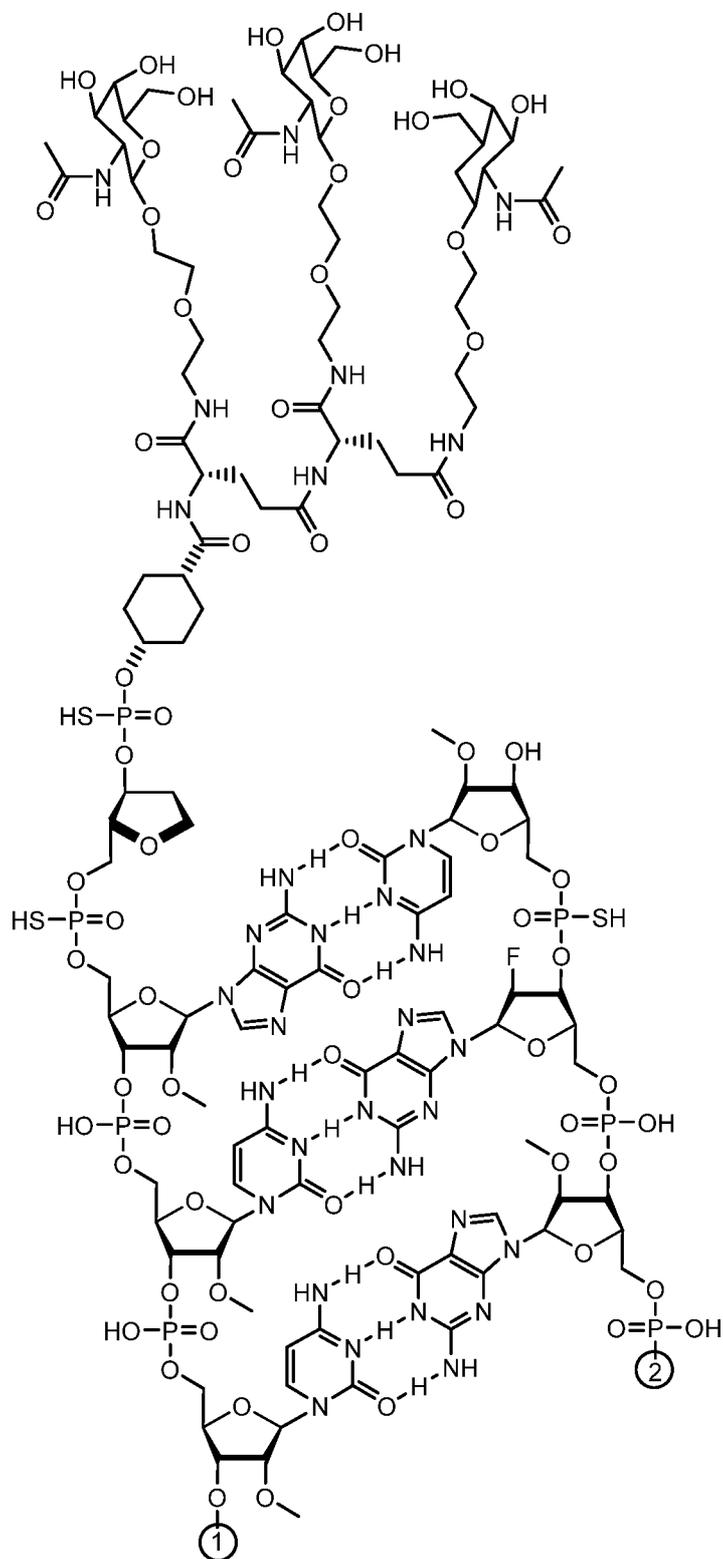
ФИГ.4С



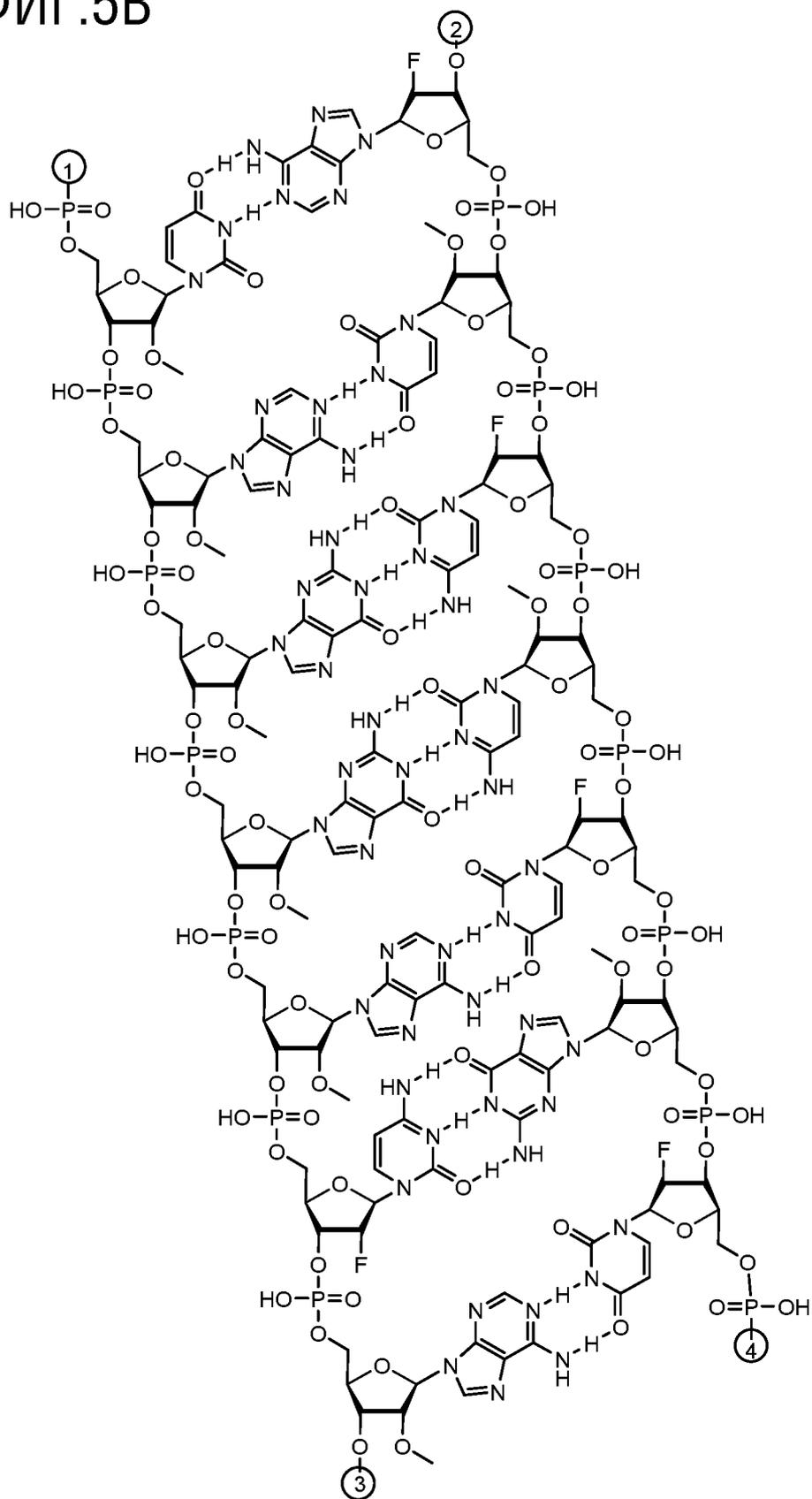
ФИГ.4D



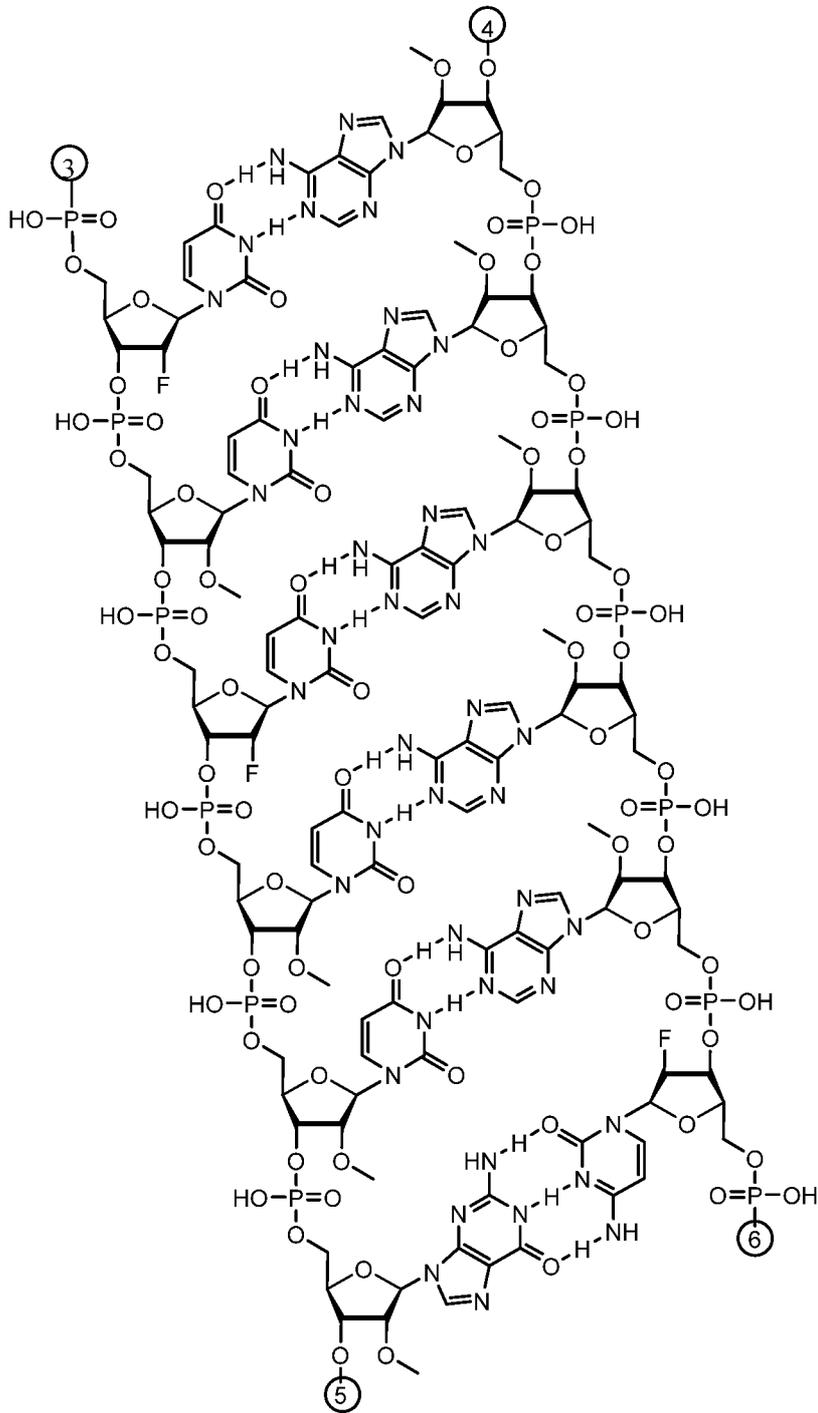
ФИГ.5А



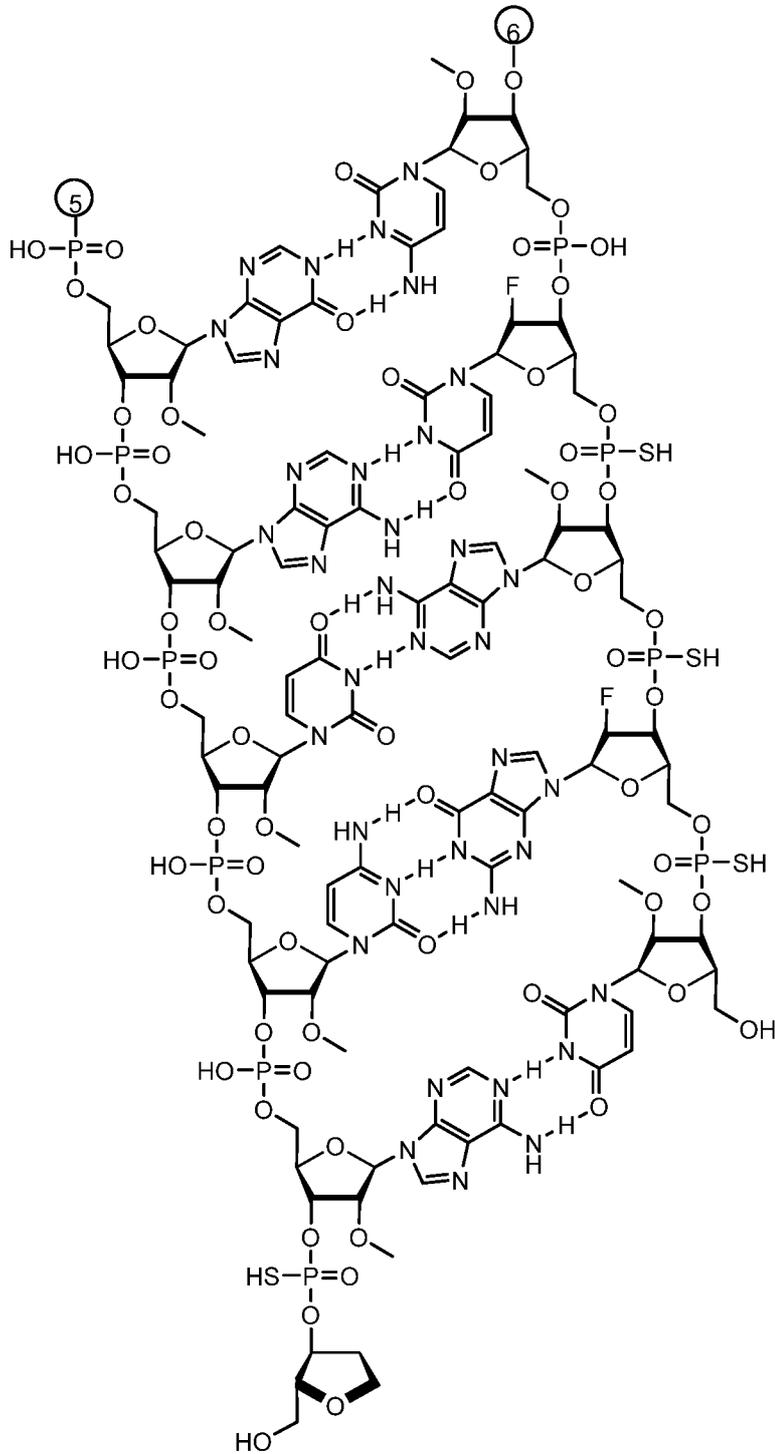
ФИГ.5В



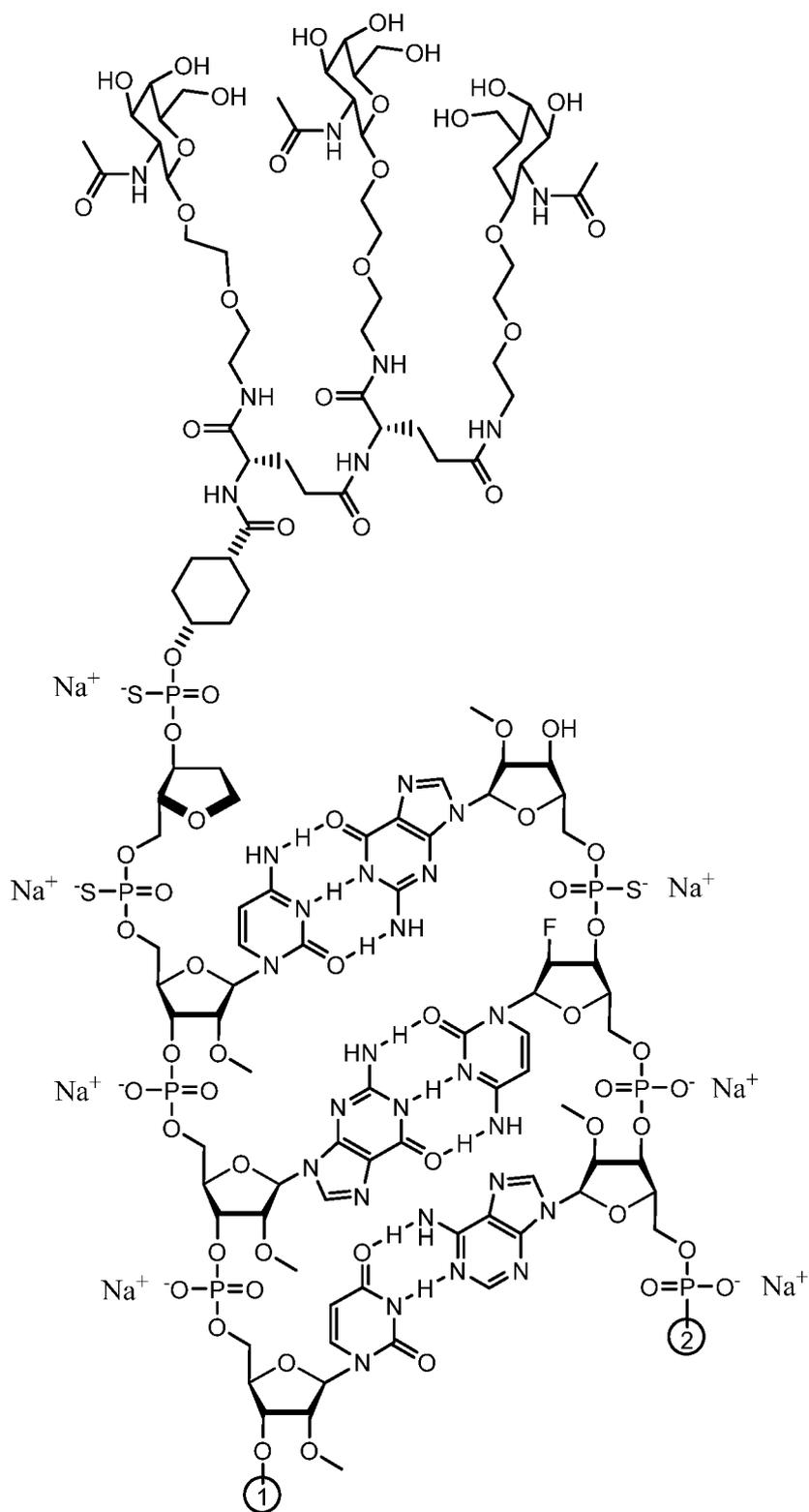
ФИГ.5С



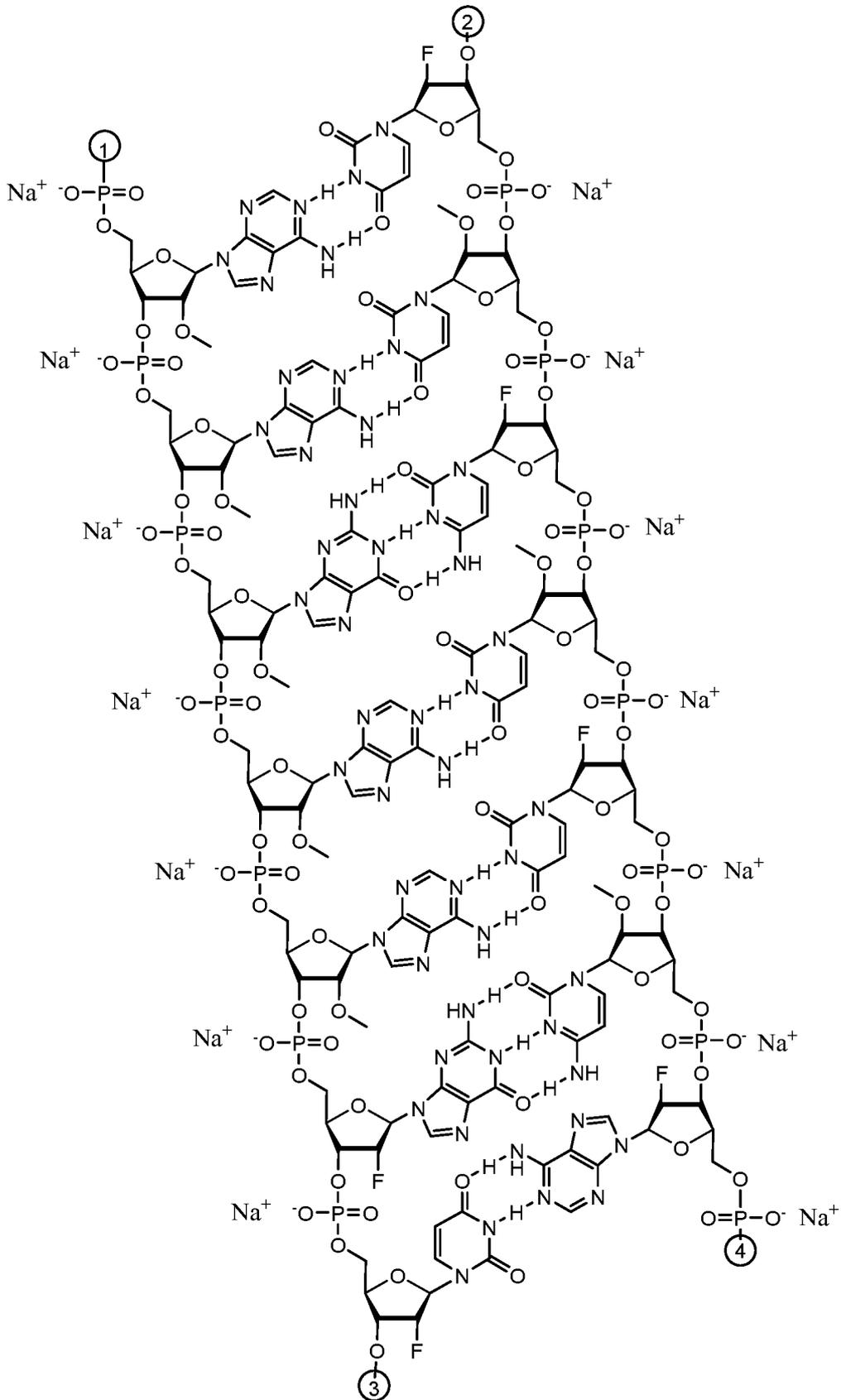
ФИГ.5D



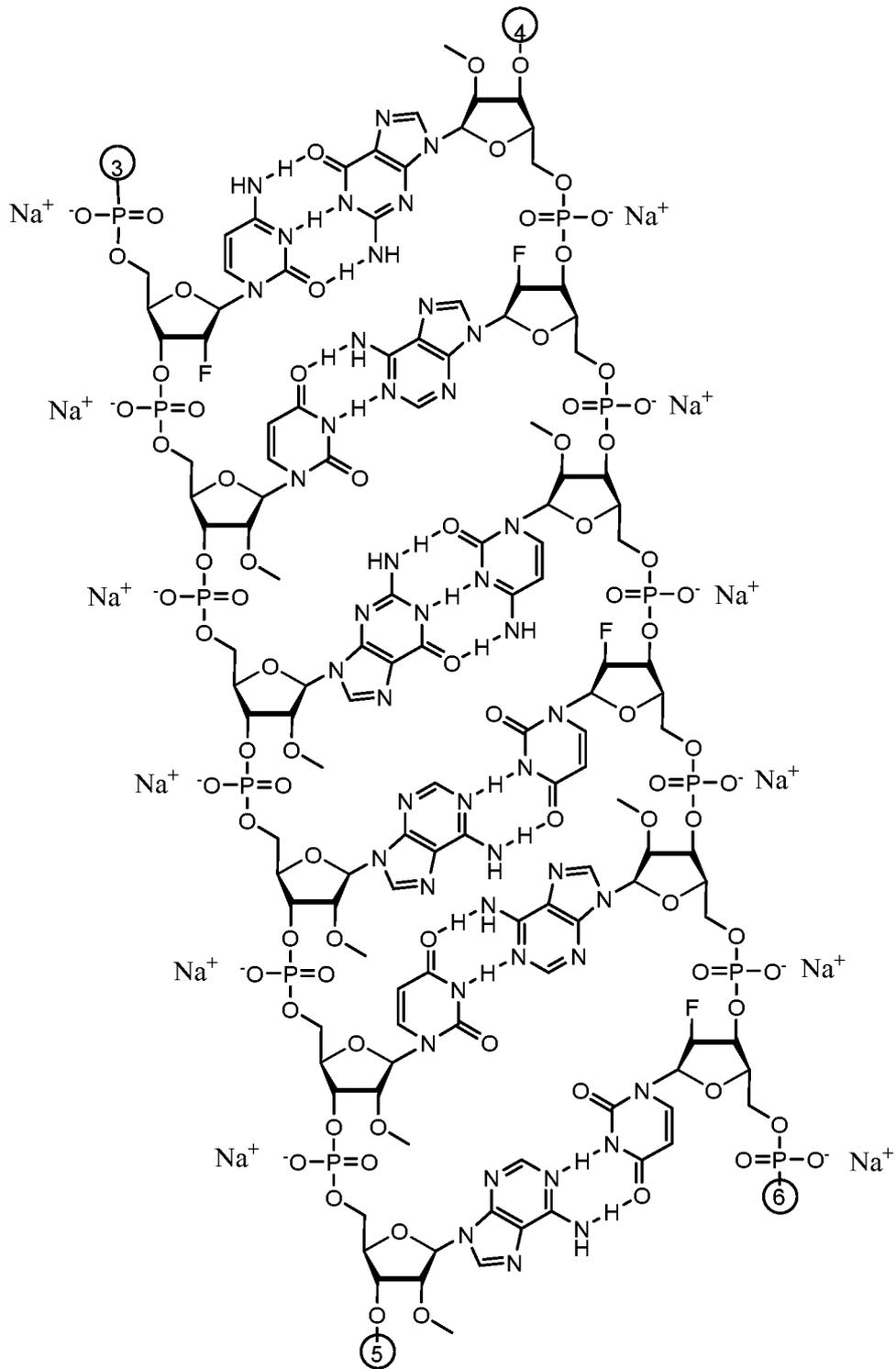
ФИГ.6А



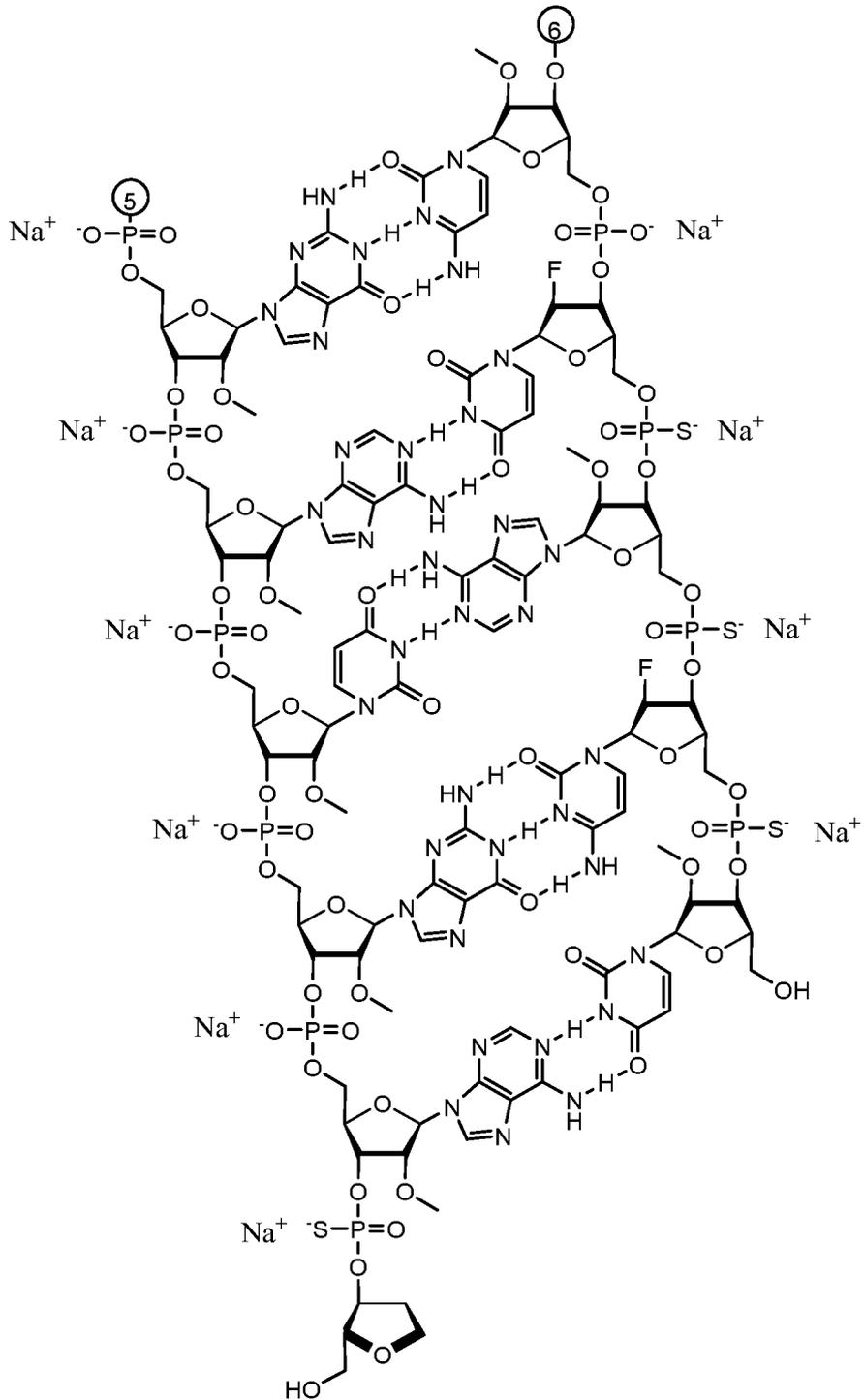
ФИГ.6В



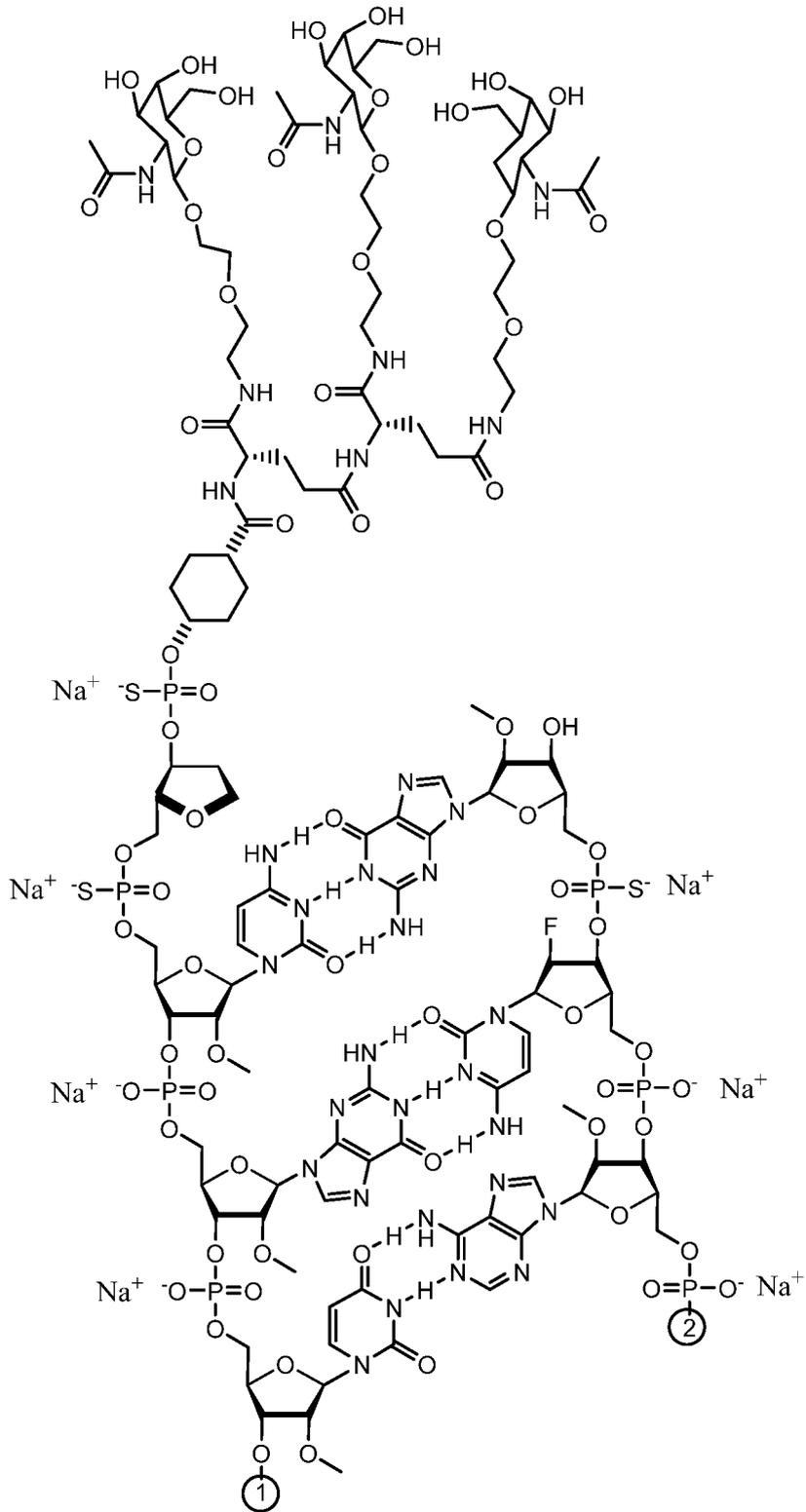
ФИГ.6С



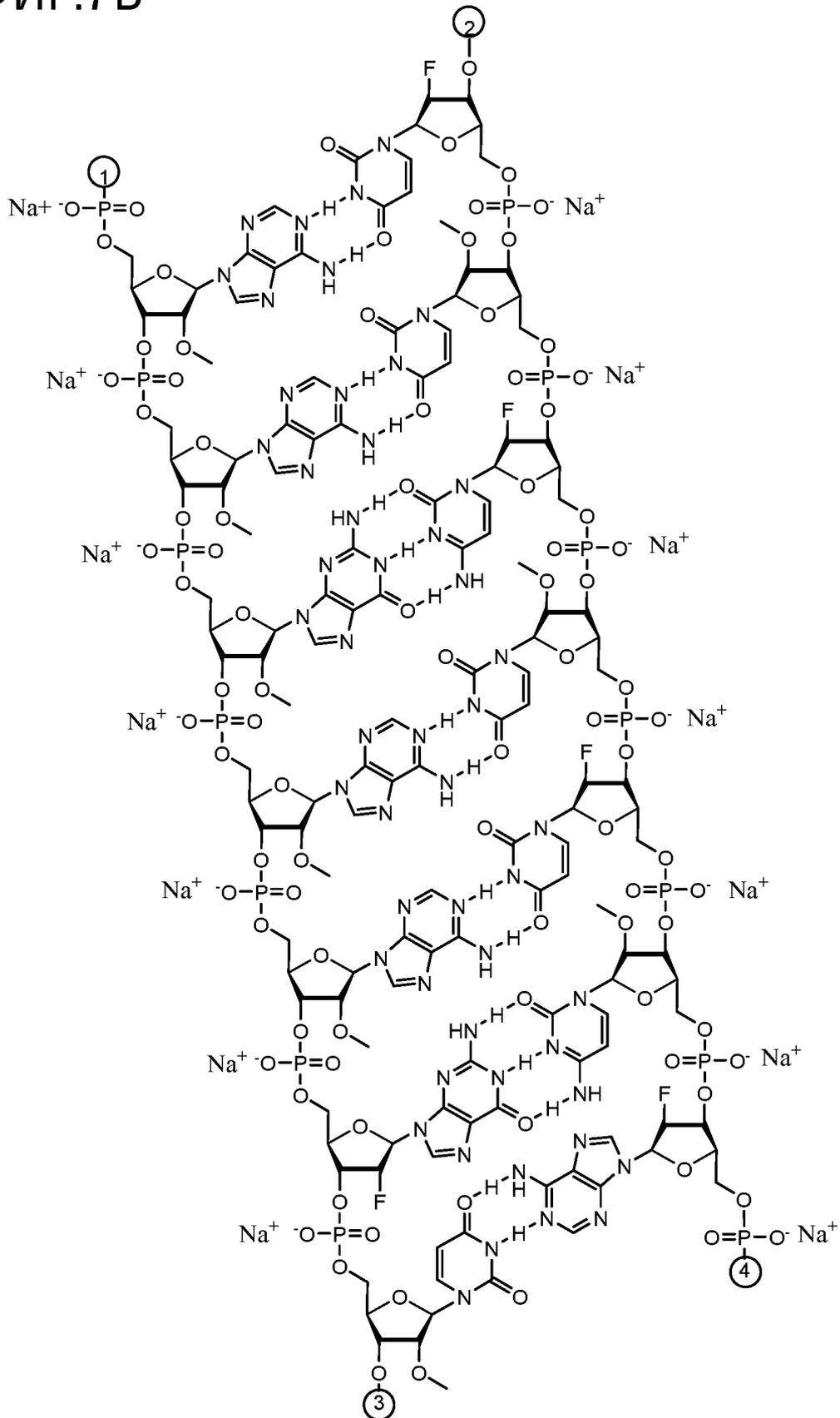
ФИГ.6D



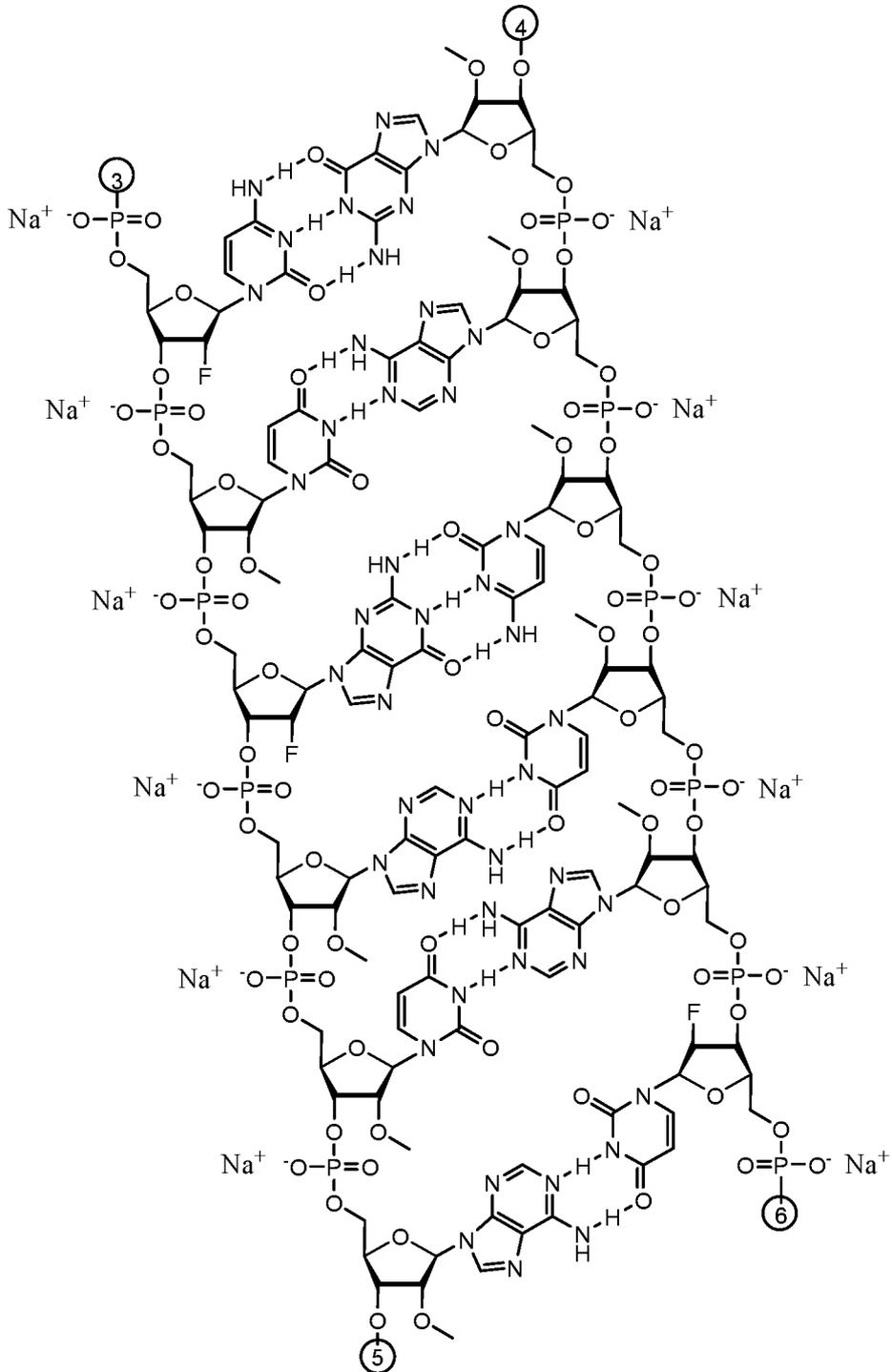
ФИГ.7А



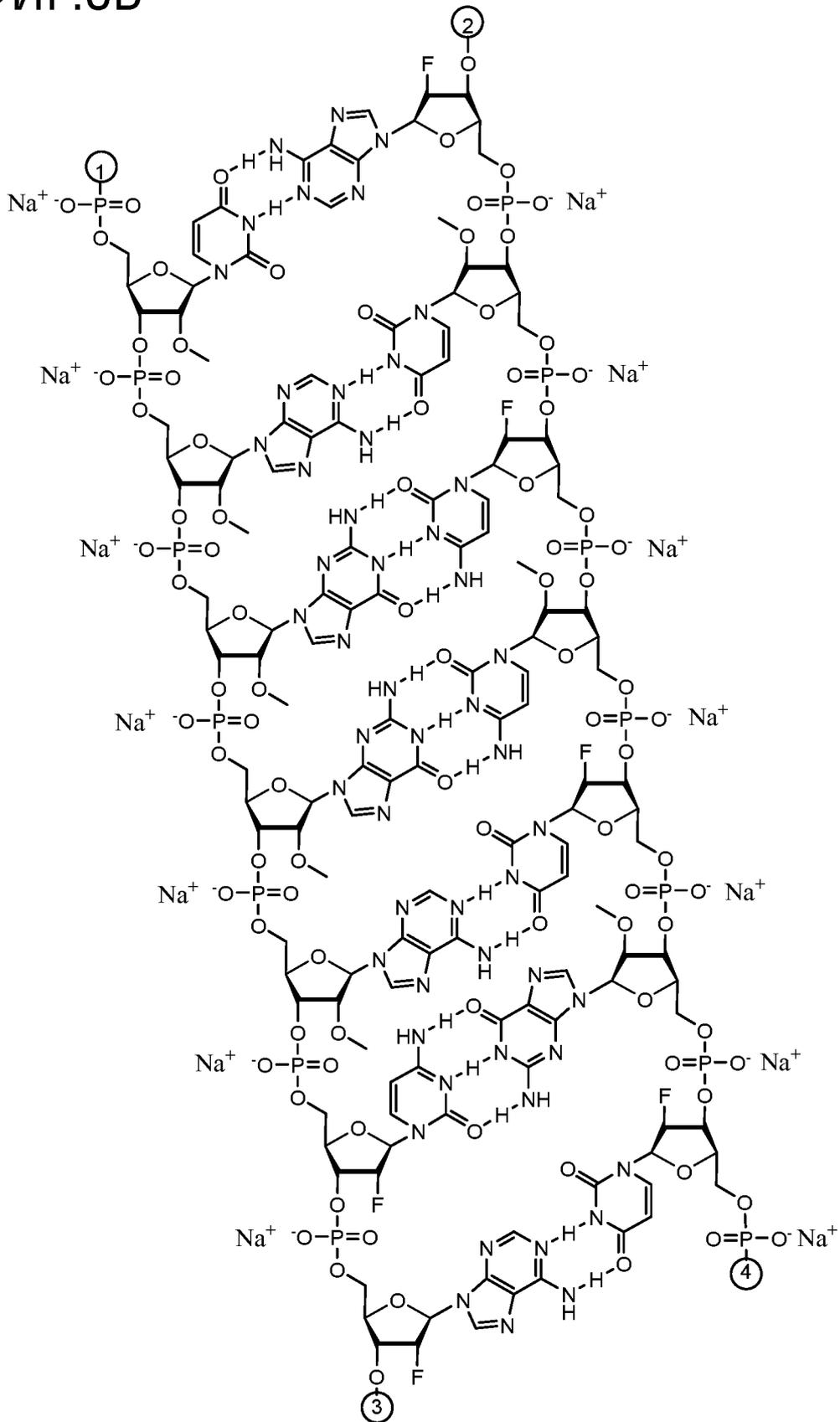
ФИГ.7В



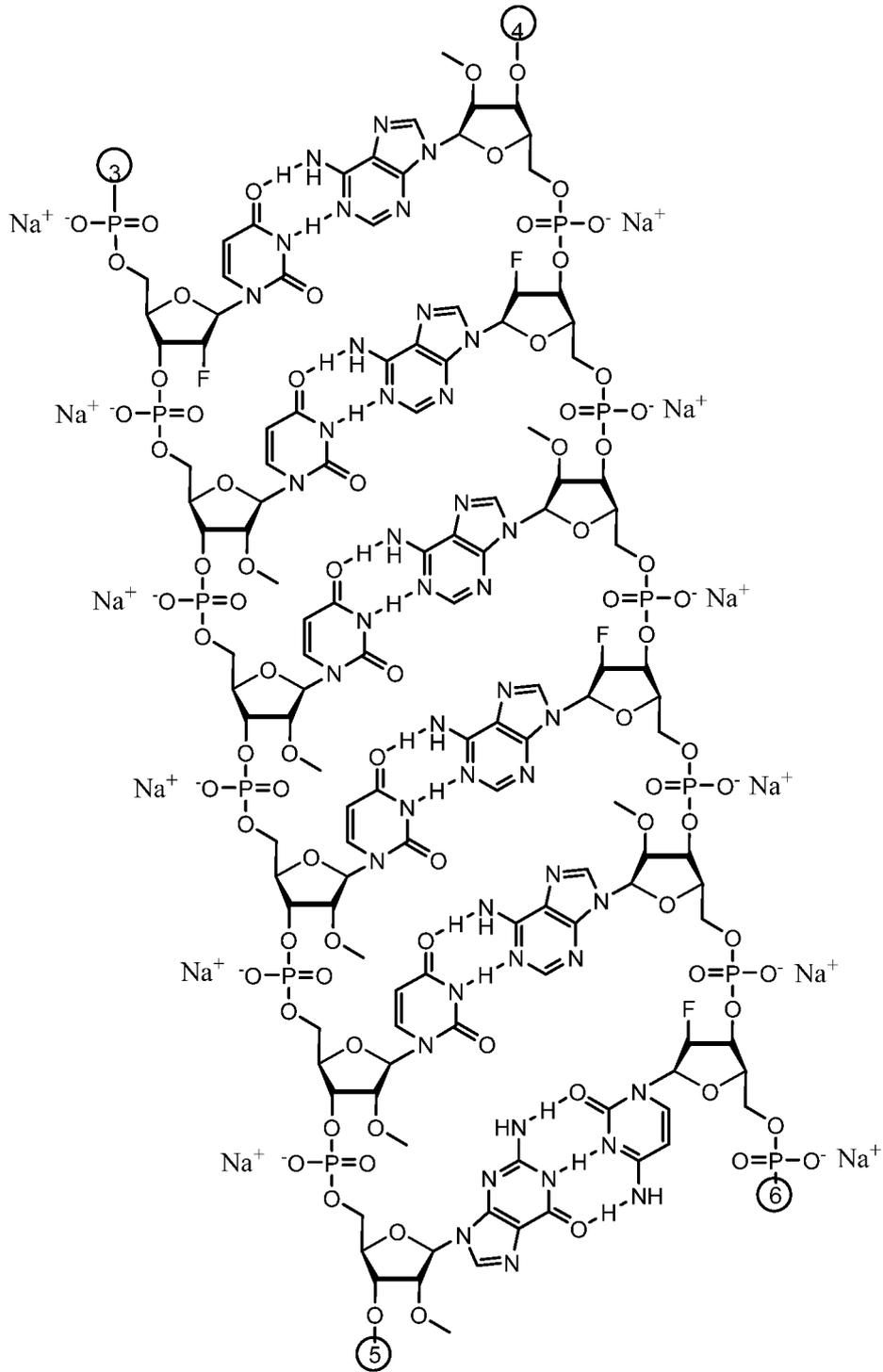
ФИГ.7С



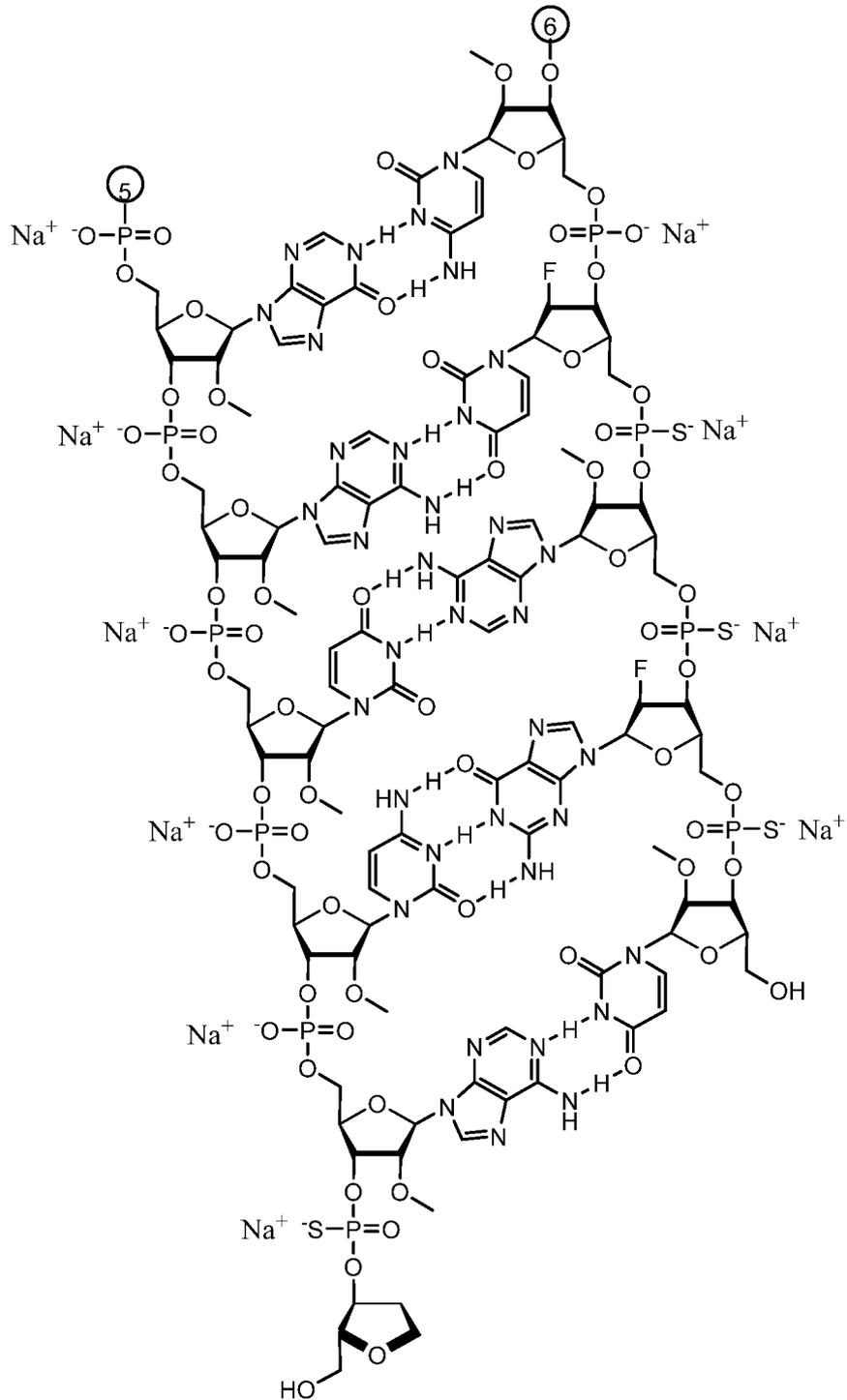
ФИГ.8В



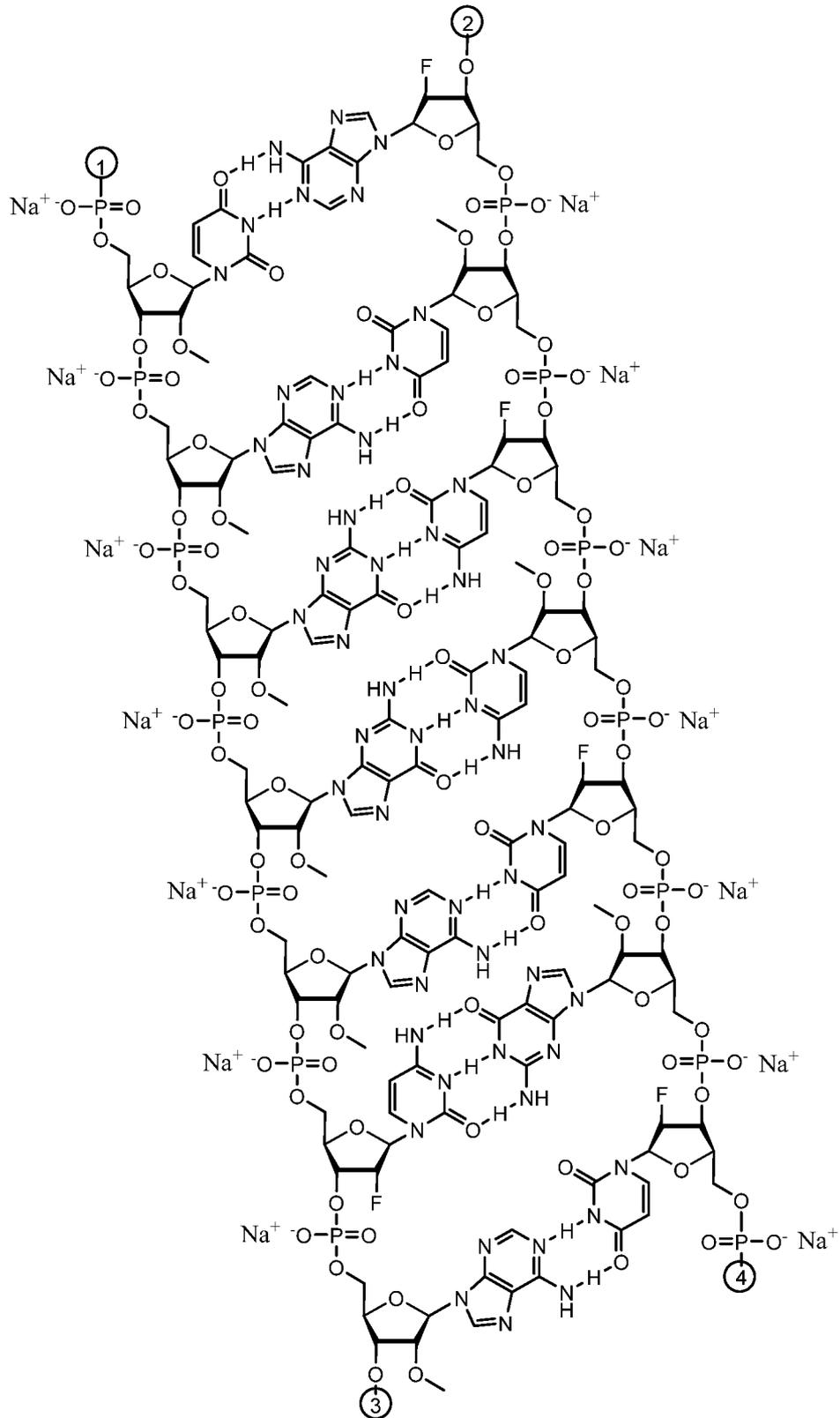
ФИГ.8С



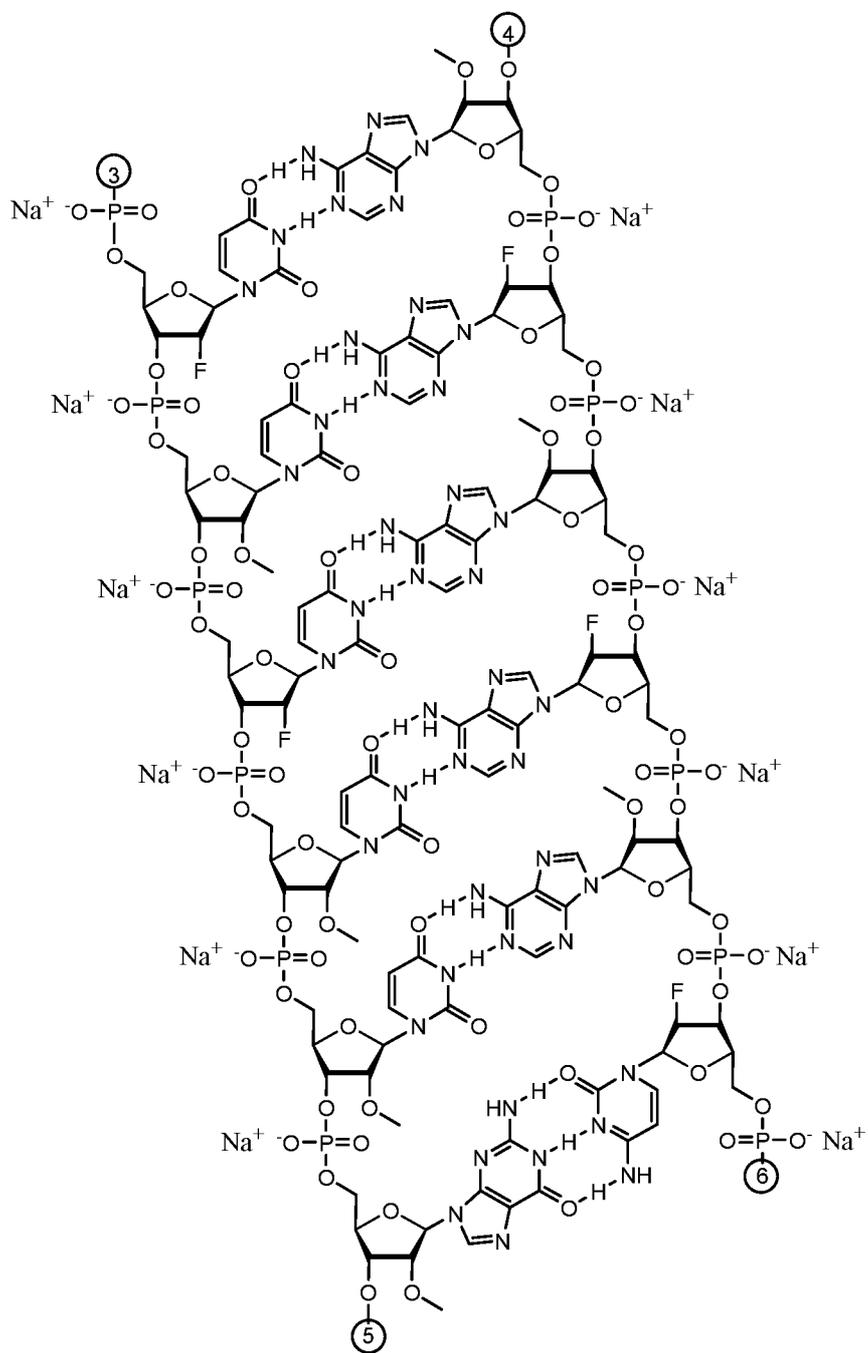
ФИГ.8D



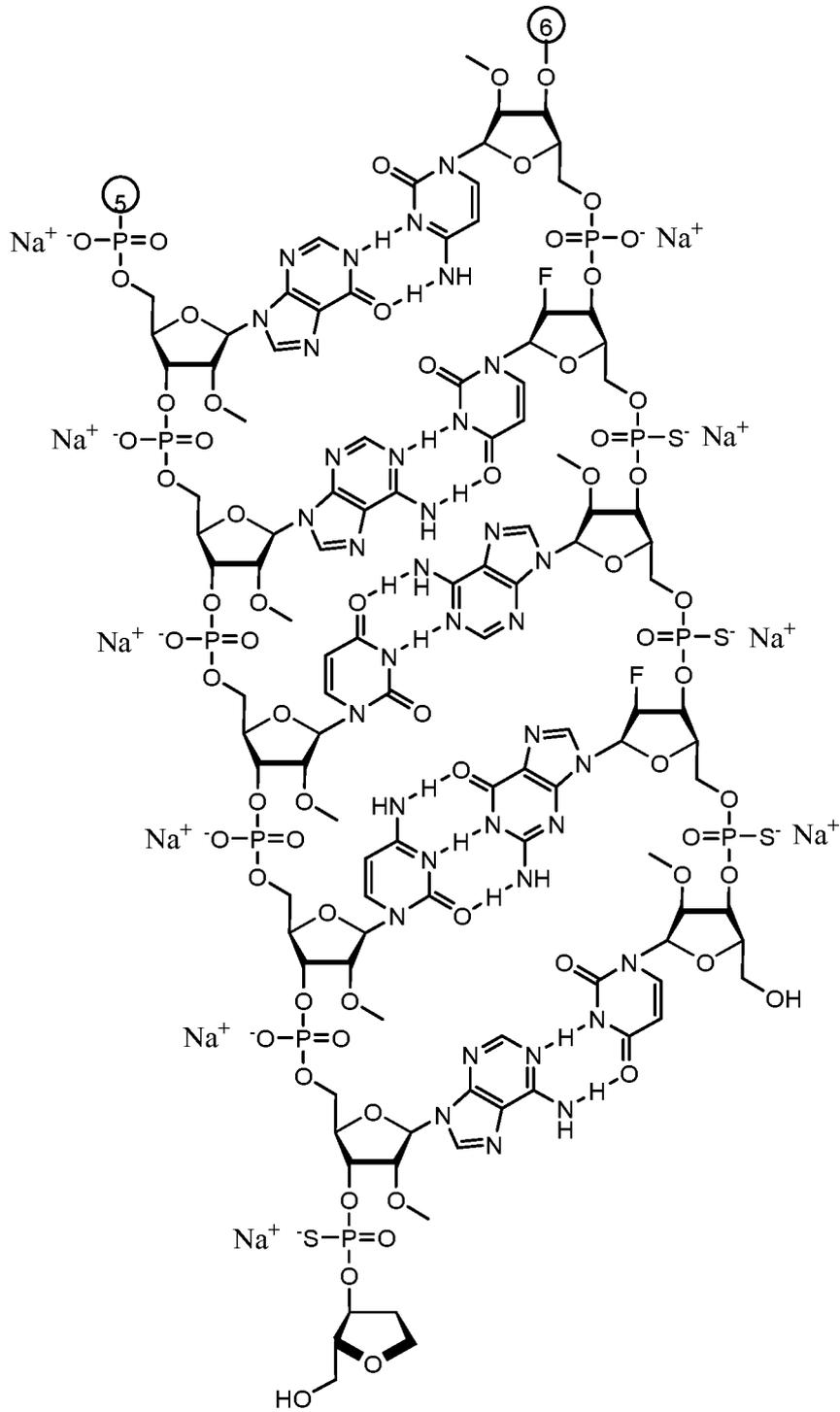
ФИГ.9В



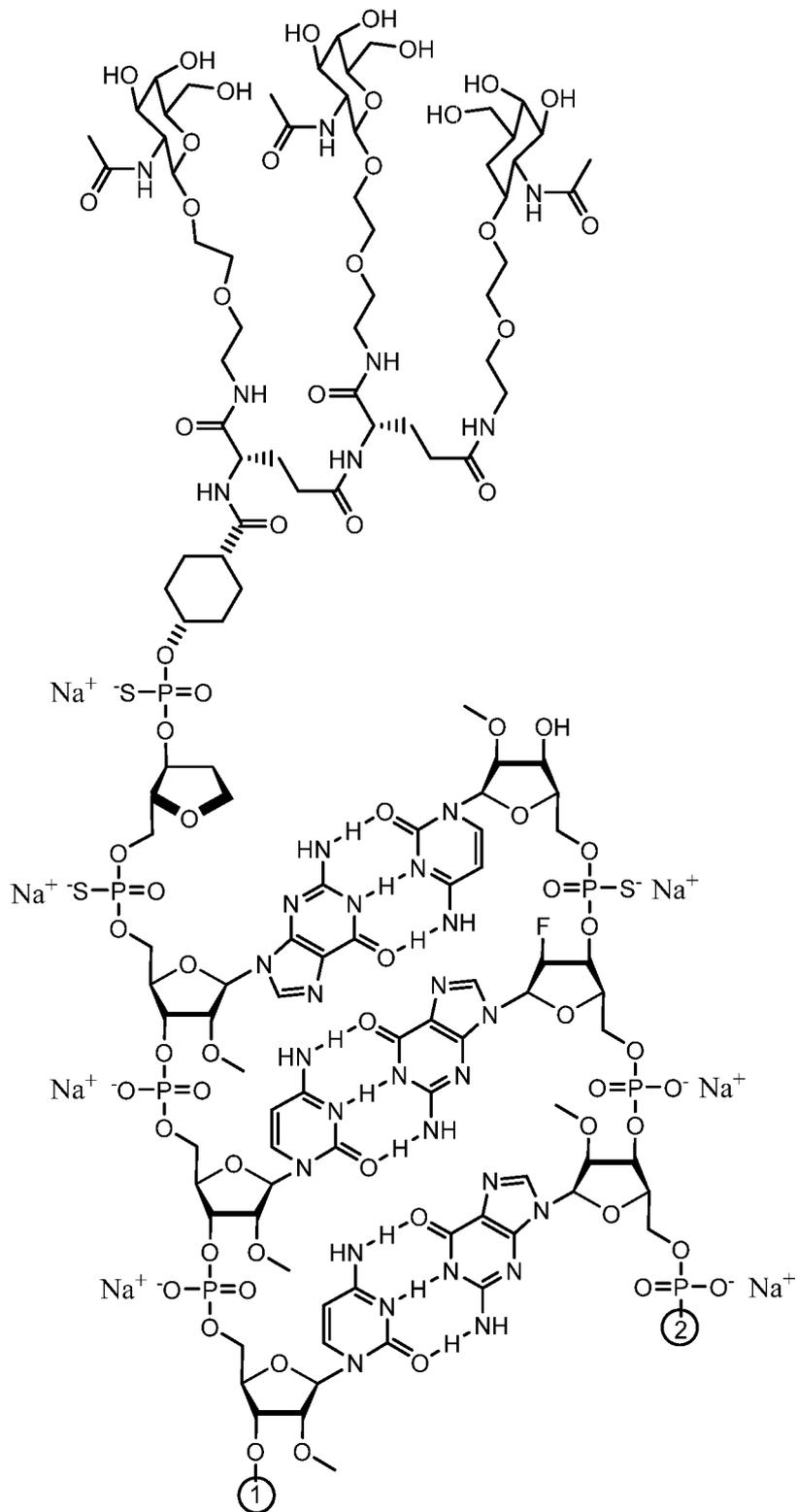
ФИГ.9С



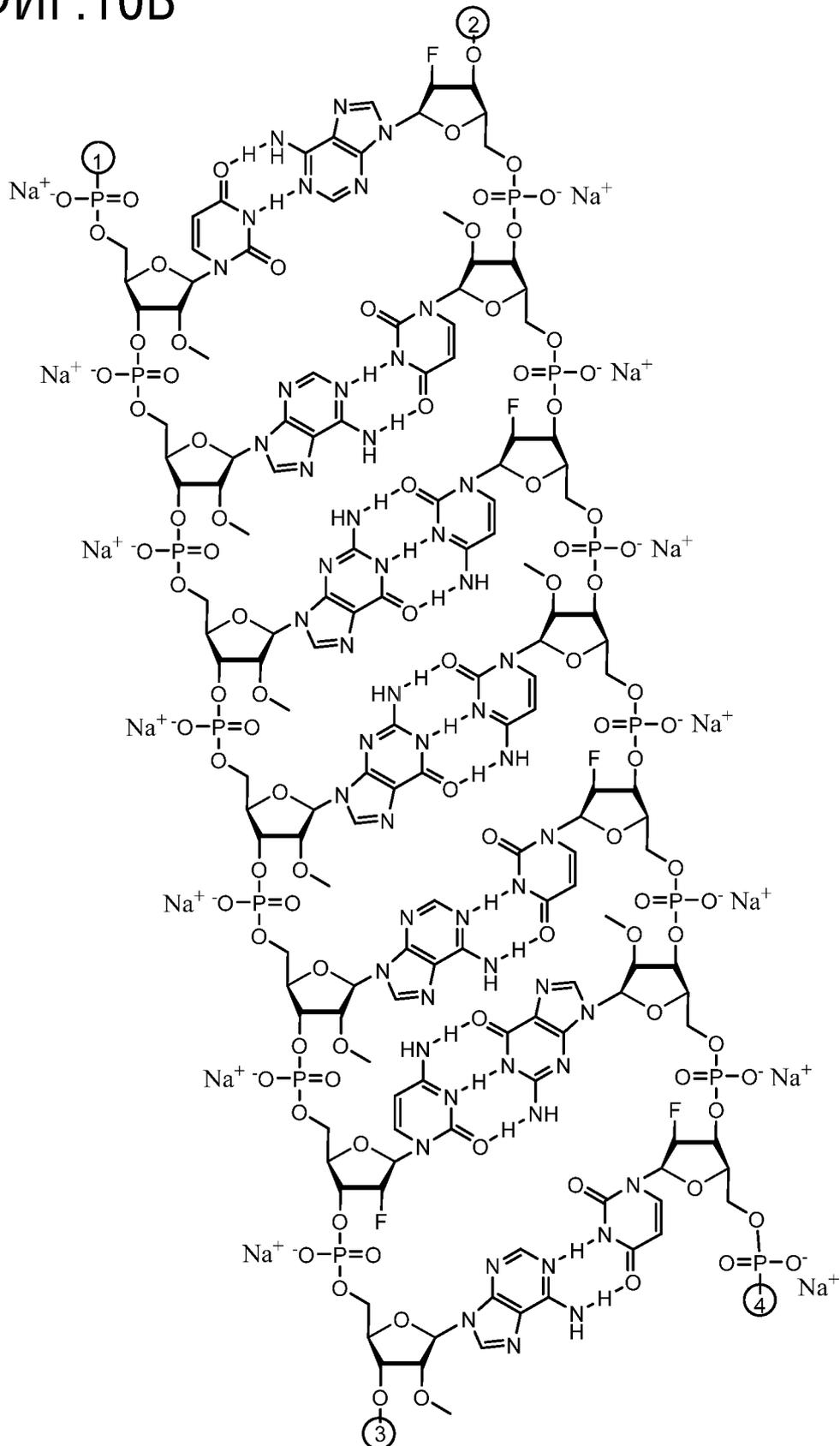
ФИГ.9D



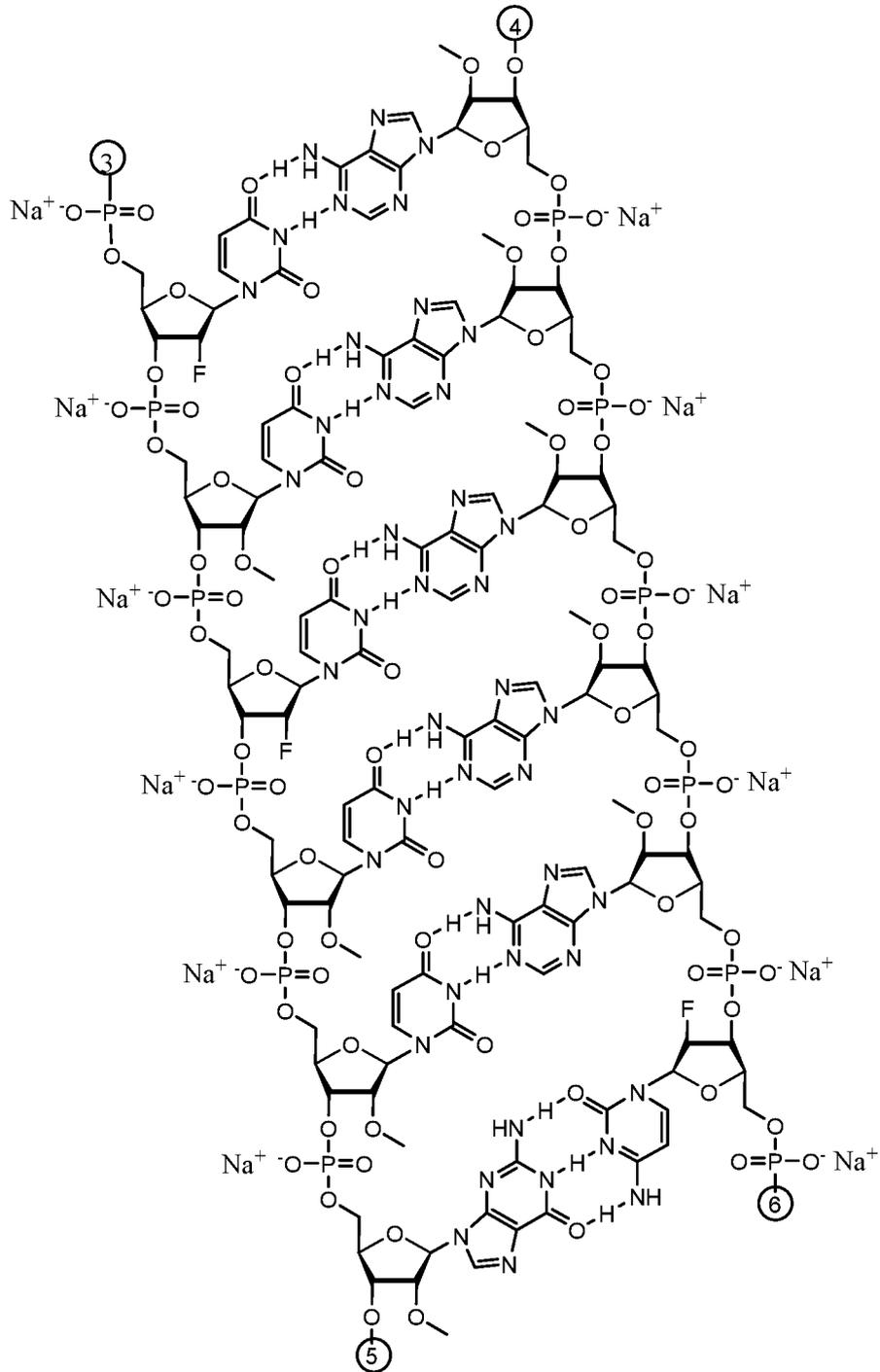
ФИГ.10А



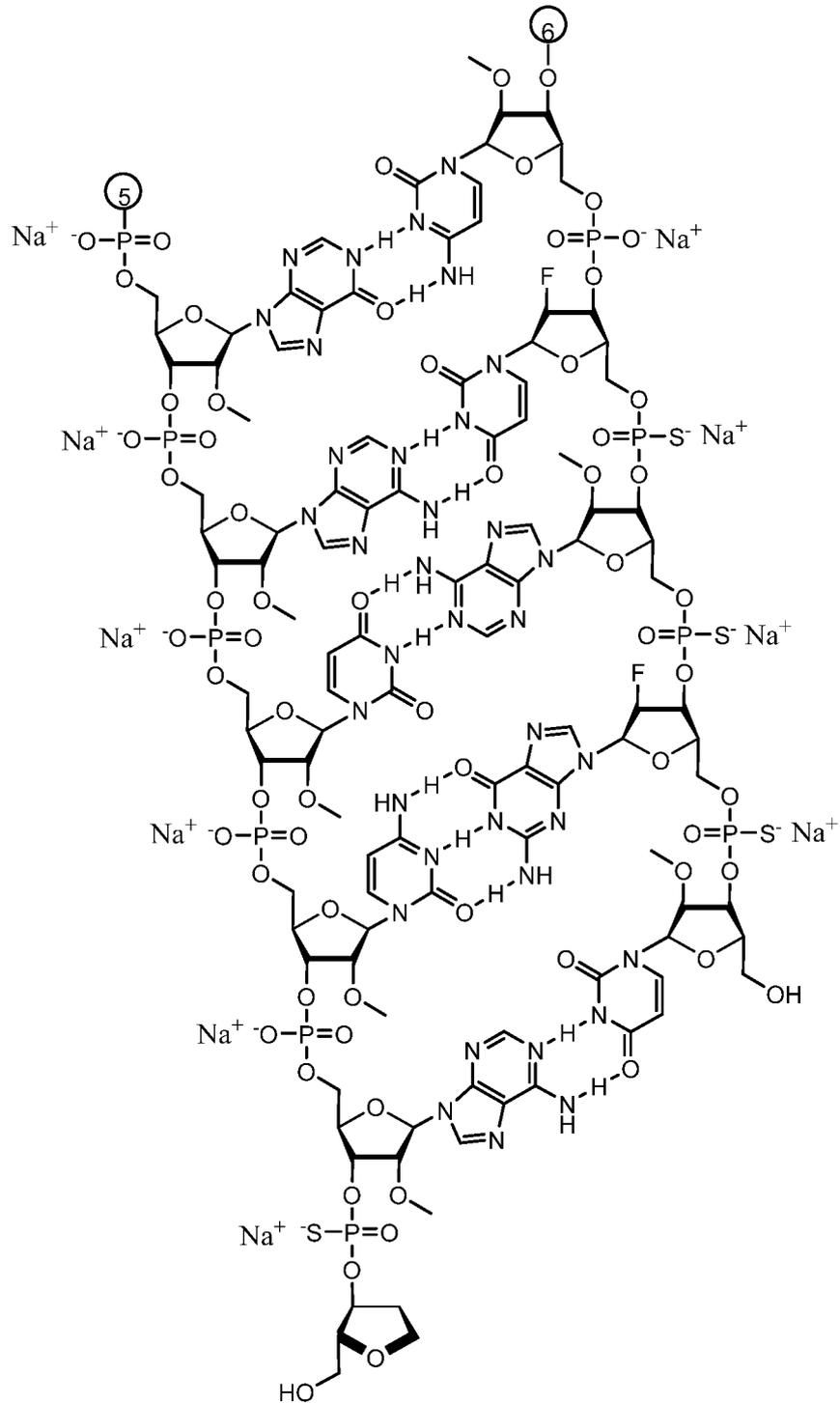
ФИГ.10В



ФИГ.10С



ФИГ.10D



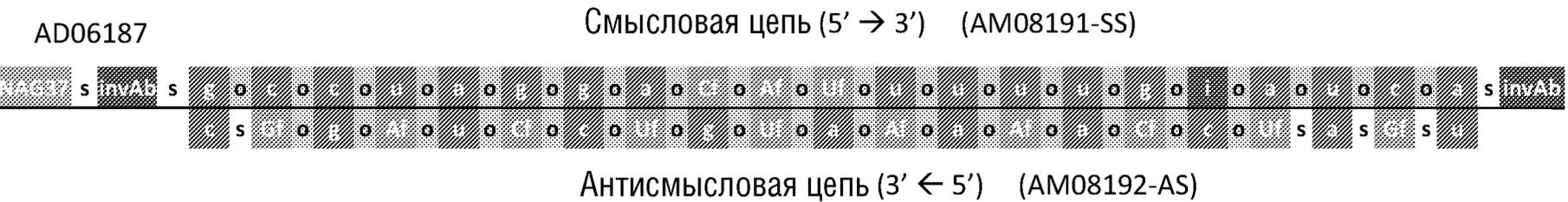
ФИГ.11А



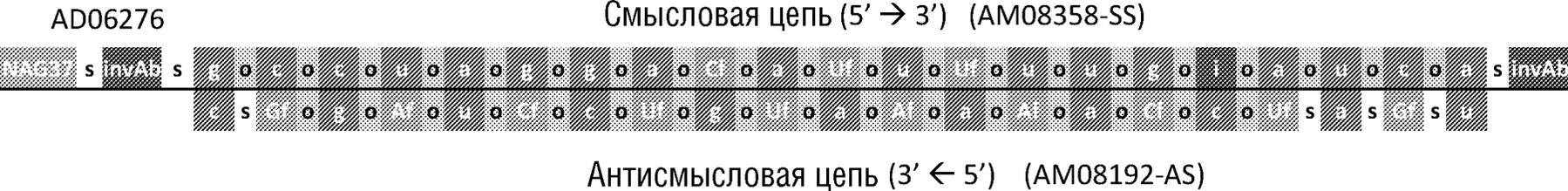
ФИГ.11В



ФИГ.11С



ФИГ.11D



ФИГ.11E

