

MODIFICACIÓN VOLUNTARIA

1. Un oligonucleótido que comprende una cadena sentido que forma una región dúplex con una cadena antisentido,

en donde:

la cadena sentido consiste en una secuencia como se establece en GACAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC (SEQ ID NO: 8) y que comprende

nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las posiciones 3, 8-10, 12, 13 y 17,
nucleótidos modificados con 2'-O-metilo en las posiciones 1, 2, 4-7, 11, 14-16, 18-26 y 31-36, y
un enlace de fosforotioato entre los nucleótidos en las posiciones 1 y 2,

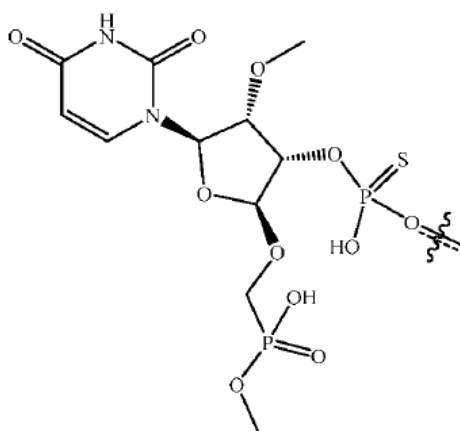
en donde cada uno de los nucleótidos de la secuencia -GAAA- de la cadena sentido está conjugado con una porción GalNac monovalente; y

la hebra antisentido consiste en una secuencia como se establece en UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG (SEQ ID NO: 5.1) y comprende

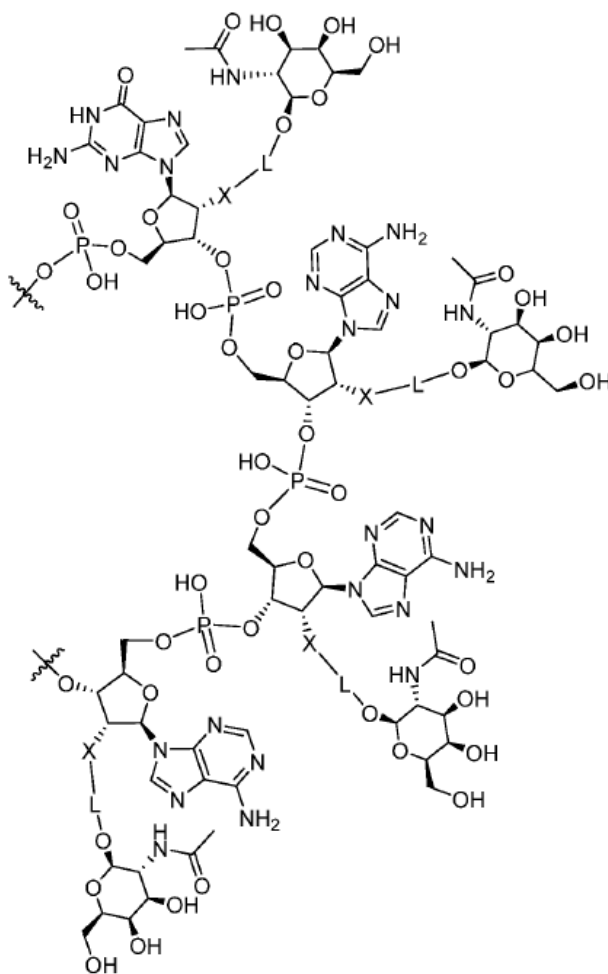
nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las posiciones 2, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 14, 16 y 19,
nucleótidos modificados con 2'-O-metilo en las posiciones 1, 4, 6, 9, 11, 13, 15, 17, 18 y 20-22, y
enlaces de fosforotioato entre los nucleótidos en las posiciones 1 y 2, entre los nucleótidos en las posiciones 2 y 3, entre los nucleótidos en las posiciones 3 y 4, entre los nucleótidos en las posiciones 20 y 21 e entre los nucleótidos en las posiciones 21 y 22,

en donde el 4'-carbono del azúcar del 5'-nucleótido de la cadena antisentido comprende un metoxifosfonato (MOP).

2. El oligonucleótido de la reivindicación 1, en donde el 5'-nucleótido de la cadena antisentido tiene la siguiente estructura:



3. El oligonucleótido de la reivindicación 1 o 2, en donde el motivo -GAAA- comprende la estructura:

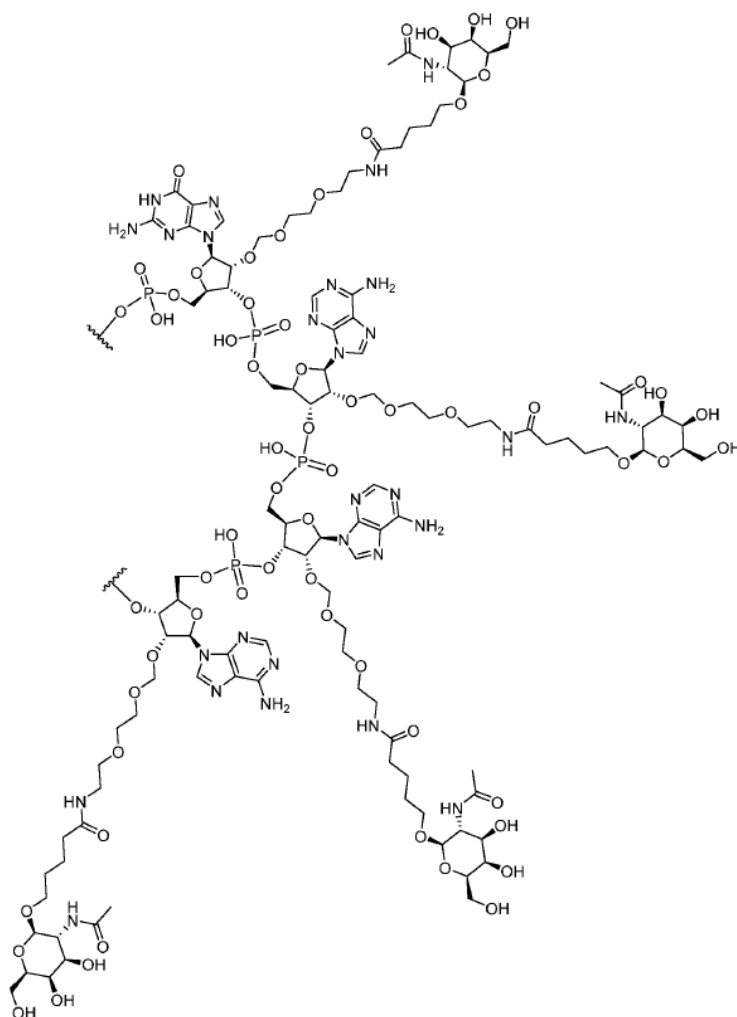


donde:

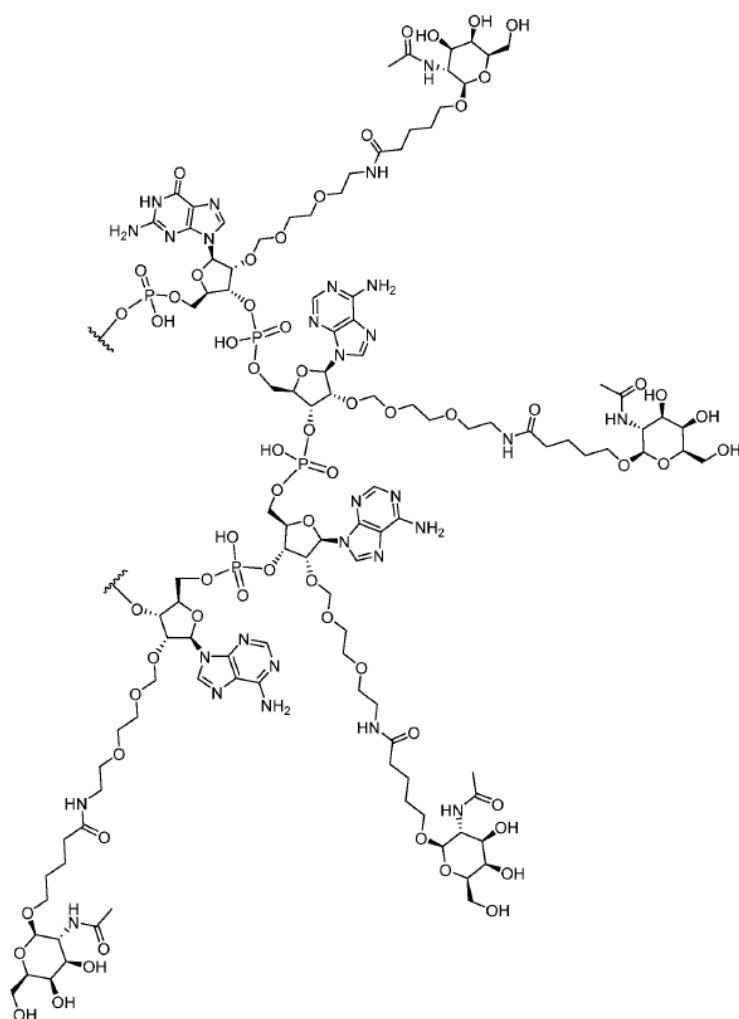
L representa un enlace, manejo de química-click, o un enlazador de 1 a 20, inclusive, átomos de longitud, unidos covalentemente, consecutivos, seleccionados del grupo que consiste en alquileo sustituido y no sustituido, alquenileno sustituido y no sustituido, alquinileno sustituido y no sustituido, heteroalquileo sustituido y no sustituido, heteroalquenileno sustituido y no sustituido, heteroalquinileno sustituido y no sustituido, y combinaciones de los mismos; y

X es un O, S o N.

4. El oligonucleótido de la reivindicación 3, en donde L es un enlazador de acetal.
5. El oligonucleótido de la reivindicación 3 o 4, en donde X es O.
6. El oligonucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la secuencia -GAAA- comprende la estructura:

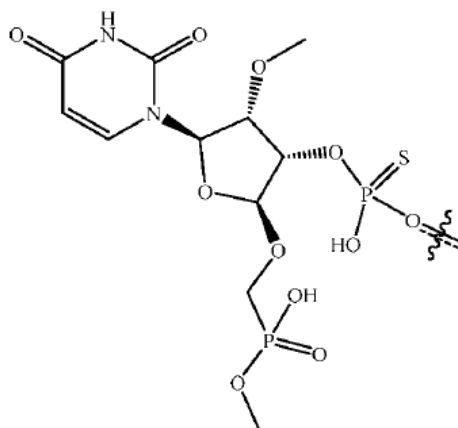


7. Un oligonucleótido que comprende una cadena sentido que forma una región dúplex con una cadena antisentido, donde:
la cadena sentido consiste en una secuencia como se establece en
GACAAAAUCCUCACAAUAAGCAGCCGAAAGGCUGC (SEQ ID NO: 8) y que comprende
nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las posiciones 3, 8-10, 12, 13 y 17,
nucleótidos modificados con 2'-O-metilo en las posiciones 1, 2, 4-7, 11, 14-16, 18-26 y 31-
36, y
un enlace internucleotídico fosforotioato entre los nucleótidos en las posiciones 1 y 2,
donde cada uno de los nucleótidos de la secuencia -GAAA- en la cadena sentido está
conjugado con una porción GalNAc monovalente, donde la secuencia -GAAA- comprende la
estructura:



; y

la cadena antisentido consiste en una secuencia como se establece en UUAUUGUGAGGAUUUUUGUCGG (SEQ ID NO: 5.1) y comprende nucleótidos modificados con 2'-fluoro en las posiciones 2, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 14, 16 y 19, nucleótidos modificados con 2'-O-metilo en las posiciones 1, 4, 6, 9, 11, 13, 15, 17, 18 y 20-22, y enlaces internucleotídicos de fosforotioato entre nucleótidos en las posiciones 1 y 2, entre nucleótidos en las posiciones 2 y 3, entre nucleótidos en las posiciones 3 y 4, entre nucleótidos en las posiciones 20 y 21 y entre nucleótidos en las posiciones 21 y 22, en donde el 4'-carbono del azúcar del 5'-nucleótido de la cadena antisentido tiene la siguiente estructura:



8. Una composición que comprende el oligonucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
9. La composición de la reivindicación 8 que comprende un contraión.
10. La composición de la reivindicación 8 o la reivindicación 9 que comprende un portador farmacéuticamente aceptable.
11. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 que comprende un excipiente.
12. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 11 que comprende solución salina regulada con fosfato.

13. Un oligonucleótido de cadena doble que comprende una cadena sentido:

5'

mG-S-mA-fC-mA-mA-mA-mA-fA-fU-fC-mC-fU-fC-mA-mC-mA-fA-mU-mA-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-[ademG-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC 3', y

una cadena antisentido:

5' [MeFosfonato-4O-

mU]-S-fU-S-fA-S-mU-fU-mG-fU-fG-mA-fG-mG-fA-mU-fU-mU-fU-mU-mG-fU-mC-S-mG-S-mG 3',

donde:

“—” entre nucleótidos representa un enlace internucleótido fosfodiéster;

“-S-” entre nucleótidos representa un enlace internucleótido fosforotioato;

mA representa ribonucleótido de 2'-O-metiladenosina;

mG representa ribonucleótido de 2'-O-metilguanosina;

mC representa ribonucleótido de 2'-O-metilcitidina;

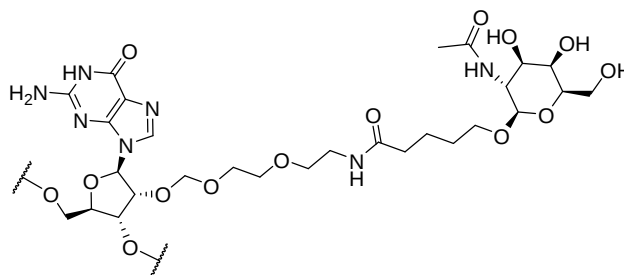
mU representa ribonucleótido de 2'-O-metiluridina;

fA representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoro-adenosina;

fG representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoroguanosina;

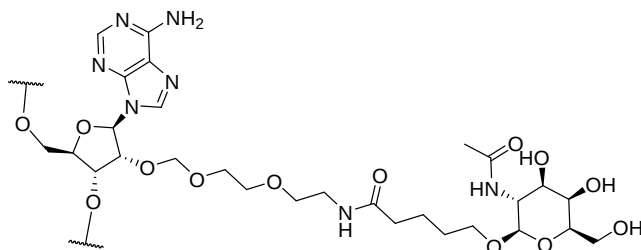
fC representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoro-citidina;

fU representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoro-uridina;



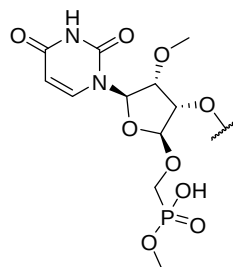
[ademG-GalNAc] representa

;



[ademA-GalNAc] representa

; and



[MePhosphonate-4O-mU] representa

.

14. Una sal de sodio de un oligonucleótido de cadena doble que comprende una cadena sentido:

5'

mG-S-mA-fC-mA-mA-mA-mA-fA-fU-fC-mC-fU-fC-mA-mC-mA-fA-mU-mA-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-[ademG-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC 3', y

una cadena antisentido:

5' [MeFosfonato-4O-

mU]-S-fU-S-fA-S-mU-fU-mG-fU-fG-mA-fG-mG-fA-mU-fU-mU-fU-mU-mG-fU-mC-S-mG-S-mG 3',

donde:

"—" entre nucleótidos representa enlace internucleosídico fosfodiéster;

"-S-" entre nucleósidos representa enlace internucleosídico fosforotioato;

mA representa ribonucleótido de 2'-O-metiladenosina;

mG representa ribonucleótido de 2'-O-metilguanosina;

mC representa ribonucleótido de 2'-O-metilcitidina;

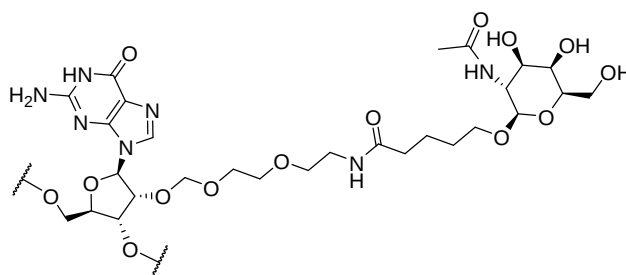
mU representa ribonucleótido de 2'-O-metiluridina;

fA representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoro-adenosina;

fG representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoroguanosina;

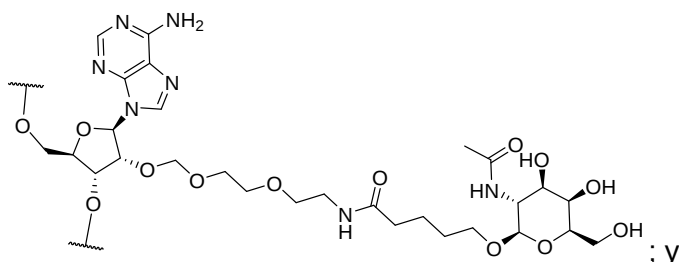
fC representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoro-citidina;

fU representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoro-uridina;



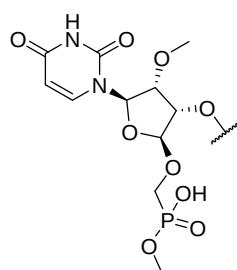
[ademG-GalNAc] representa

;



[ademA-GalNAc] representa

; y



[MePhosphonate-4O-mU] representa

.

15. Una composición que comprende un oligonucleótido de cadena doble, en donde el oligonucleótido de cadena doble comprende una cadena sentido:

5'

mG-S-mA-fC-mA-mA-mA-mA-fA-fU-fC-mC-fU-fC-mA-mC-mA-fA-mU-mA-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-[ademG-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC 3', y

una cadena antisentido:

5' [MeFosfonato-4O-

mU]-S-fU-S-fA-S-mU-fU-mG-fU-fG-mA-fG-mG-fA-mU-fU-mU-fU-mU-mG-fU-mC-S-mG-S-mG 3',

donde:

"—" entre nucleótidos representa enlace internucleosídico fosfodiéster;

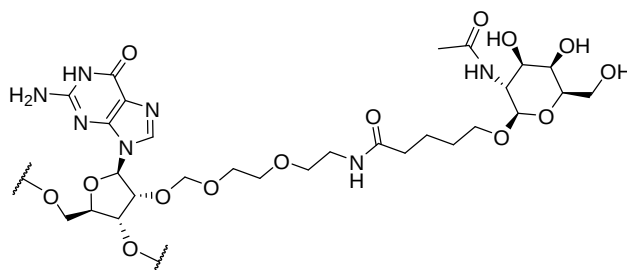
"-S-" entre nucleósidos representa enlace internucleosídico fosforotioato;

mA representa ribonucleótido de 2'-O-metiladenosina;

mG representa ribonucleótido de 2'-O-metilguanosina;

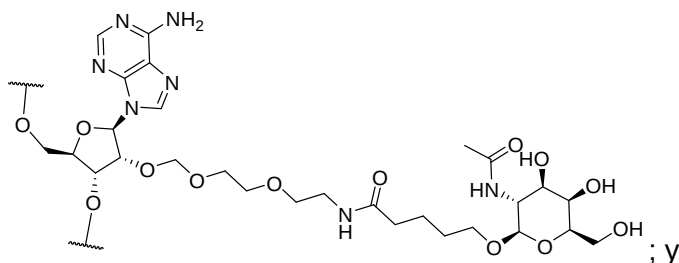
mC representa ribonucleótido de 2'-O-metilcitidina;
 mU representa ribonucleótido de 2'-O-metiluridina;
 fA representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoro-adenosina;
 fG representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoroguanosina;
 fC representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoro-citidina;
 fU representa desoxirribonucleótido de 2'-fluoro-uridina;

[ademG-GalNAc] representa



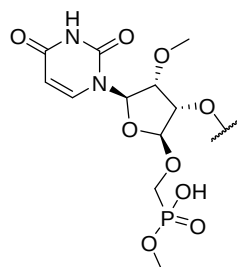
;

[ademA-GalNAc] representa



; y

[MePhosphonate-4O-mU] representa



.

16. La composición de la reivindicación 15, que además comprende contraiones.
17. La composición de la reivindicación 16, en la que los contraiones son contraiones de Na⁺.
18. La composición de la reivindicación 15, que además comprende un portador farmacéuticamente aceptable.
19. La composición de la reivindicación 18, en donde el portador farmacéuticamente aceptable es agua.

20. La composición de la reivindicación 15, que además comprende contraiones de Na⁺ y agua.
21. Un oligonucleótido de cadena doble como se muestra en la FIG. 19A.
22. Una composición que comprende un oligonucleótido de cadena doble como se muestra en la FIG. 19A y un portador farmacéuticamente aceptable.
23. La composición de la reivindicación 22, en donde el portador farmacéuticamente aceptable comprende solución salina regulada con fosfato.
24. Un método *in vitro* para reducir la expresión del antígeno de superficie (HBsAg) del virus de hepatitis B (HBV) en una célula, comprendiendo el método suministrar a la célula el oligonucleótido de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, 13 o 21.
25. El método de la reivindicación 24, en donde la célula es un hepatocito.
26. El método de las reivindicaciones 24 o 25, en donde el oligonucleótido se suministra en forma de un transgén que está diseñado para expresar el oligonucleótido en la célula.