Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

P-2019/16739

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2019/0002017**
Solicitud de patente a nombre de **ARROWHEAD PHARMACEUTICALS, INC.**

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, obrando como apoderada de la sociedad ARROWHEAD PHARMACEUTICALS, INC., domiciliada en Pasadena, California, Estados unidos de América, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al oficio No. **7845** notificado electrónicamente el 25 de mayo de 2022, relacionado con los requerimientos de fondo de la solicitud, atentamente me permito presentar la siguiente información:

1. Título

El examinador indica que el título no se relaciona con el objeto de la solicitud contenido en la descripción y las reivindicaciones. En vista de lo anterior, el solicitante desea modificar el título `:

"AGENTES DE INTERFERENCIA ARN (IARN) PARA INHIBICIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB), COMPOSICIONES QUE LOS CONTIENEN Y MÉTODOS PARA LA PREPARACIÓN DE LOS MISMOS"

El cual se relaciona de manera directa y clara con el objeto reclamado. En vista de lo anterior, la objeción en este sentido ha sido superada.

2. Modificación a las Reivindicaciones

Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto a este memorial un nuevo capítulo reivindicatorio, el cual consta de sesenta (60) reivindicaciones y reemplaza completamente el presentado el 26 de diciembre de 2019. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

2.1. Se modificó la redacción de la reivindicación 1 con el fin de definir de manera concreta las secuencias de nucleobases comprendidas en las cadenas codificante y no codificante.

En particular, la nueva reivindicación 1 señala que la cadena no codificante (antisentido) comprende una secuencia seleccionada de las SEQ ID Nos: 160, 168, 170, 171, 174, 175, y 179 a 181; y que la cadena codificante (sentido) comprende una secuencia seleccionada de las SEQ ID Nos: 289, 300, 302, 306-309, 319, y 321.

2.2. Se modificó la redacción de las antiguas reivindicaciones 3, 34, y 46 (nuevas reivindicaciones 2, 38 y 51), con el fin de superar las objeciones relacionadas con el rango mencionado previamente.

2.3. Se modificó la redacción de la antigua reivindicación 4 (nueva reivindicación 3) de modo que ahora establece de manera más clara las características de la modalidad preferida que allí se reclama.

2.4. Se incluyó la sigla NAG en las antiguas reivindicaciones 6 y 49 (nuevas reivindicaciones 5 y 54).

2.5. Se restringió el alcance de las antiguas reivindicaciones 15, 16, (nuevas reivindicaciones 14, 15), mediante la selección de un grupo mas limitado de secuencias.

2.6. Se corrigió la redacción de la antigua reivindicación 17 (nueva reivindicación 16) sustituyendo la expresión "*codificadas y no codificadas*" por "*codificantes y no codificantes*".

2.7. Se modificó la redacción de las antiguas reivindicaciones 18, 19, 21 a 25 (nuevas reivindicaciones 17, 18, 23 a 27) para sustituir las referencias a los códigos de la descripción por las secuencias que conforman los iARN de estructura dúplex reclamados.

2.8. Se incluyeron las nuevas reivindicaciones 19 a 21, dirigidas a modalidades preferidas de la invención. La nueva reivindicación 19 encuentra soporte en la reivindicación 16 originalmente presentada y en las tablas 2 a 5. Por su parte, las nuevas reivindicaciones 20 y 21 encuentran soporte en la página 94, líneas 28 a 30 de la solicitud PCT correspondiente.

2.9. Se modificó la redacción de las antiguas reivindicaciones 20, 28, 29 (nuevas reivindicaciones 22, 30, 31) para mejorar su claridad.

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

2.10. Se incluyeron las nuevas reivindicaciones 32 y 33 dirigidas a composiciones que incluyen agentes terapéuticos adicionales específicamente definidos. Estas nuevas reivindicaciones encuentran soporte en la reivindicación original 30 y en la página 82, líneas 4-5 de la solicitud PCT correspondiente.

2.11. Se modificó el encabezado de las antiguas reivindicaciones 33 a 39 (nuevas reivindicaciones 37 a 43) de modo que ahora se refieren a una composición en lugar de a una combinación.

2.12. Se incluyeron las nuevas reivindicaciones 44 y 45 que se refieren a las modalidades preferidas en las que los agentes de iARN están en forma de sal. Estas reivindicaciones encuentran soporte en la página 94, líneas 28 a 30, de la solicitud PCT correspondiente.

2.13. Se eliminaron las antiguas reivindicaciones 2, 40, 56 y 57, sin perjuicio de que el solicitante pueda buscar la protección de la materia allí contenida por medio de una solicitud divisional.

2.14. Se modificó la redacción de la antigua reivindicación 53 (nueva reivindicación 58) de modo que ahora define las características estructurales de los agentes de iARN incluidos.

2.15. Se ajustó la numeración, la dependencia y el lenguaje empleado en las reivindicaciones a luz de las modificaciones señaladas anteriormente.

Al respecto, me permito señalar que dichas modificaciones no amplían de ninguna manera la materia objeto de la presente solicitud, pues se realizan con el fin de definir la materia reclamada de forma clara y superar las objeciones planteadas por el examinador en su concepto técnico.

3. Excepciones de patentabilidad

El examinador señala que la antigua reivindicación 40 no sería patentable porque su alcance podría abarcar cualquier ser vivo, incluso una célula vegetal, lo cual corresponde a materia exceptuada de patentabilidad de acuerdo con lo establecido en el Art. 20 literal (c) de la Decisión 486.

En relación con lo anterior, me permito resaltar que, a pesar de que el solicitante no comparte la opinión del examinador, únicamente con el fin de avanzar en el trámite de

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

la presente solicitud, la antigua reivindicación 40 fue eliminada del capítulo reivindicatorio. Por lo tanto, la objeción al respecto ha sido superada.

4. Pago de tasas

Considerando que el presente memorial se presenta junto con modificaciones a las reivindicaciones, se adjunta recibo por concepto de pago de tasa de modificación a la solicitud, según lo establecido en la **Resolución 59669 de 2020.**

Ahora, en relación con el número de reivindicaciones, atentamente me permito resaltar que junto a la presente respuesta no se realiza el pago de la tasa por concepto de reivindicaciones adicionales, toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio tiene un número de cláusulas menor que el presentado inicialmente ante su Despacho, para el cual se realizó el pago de las tasas correspondientes.

5. Claridad y concisión de las reivindicaciones

El solicitante manifiesta que mediante la presentación del nuevo capítulo reivindicatorio quedan subsanadas la totalidad de las objeciones presentadas por el examinador en su concepto técnico, de modo tal que las nuevas reivindicaciones reclaman de manera clara y concisa la invención descrita. Con respecto a las objeciones específicas del examinador, me permito manifestar lo siguiente:

4.1. El examinador indica que la antigua reivindicación 1 no sería clara porque presenta errores de redacción y no menciona las secuencias características de la cadena codificante.

Al respecto, respetuosamente me permito resaltar que, tal como se mencionó previamente, la reivindicación 1 fue modificada de modo que ahora señala las secuencias de las cadenas codificante y no codificante. Asimismo, la expresión objetada por el examinador ya no hace parte de la reivindicación 1.

Por lo tanto, amablemente solicito que se de por superada la objeción al respecto.

4.2. El examinador señala que las antiguas reivindicaciones 3, 34 y 46 no serían claras porque el rango reclamado da lugar a interpretar que el agente de iARN comprende únicamente un nucleótido.

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

En este sentido, me permito señalar el desacuerdo del solicitante con la posición del examinador, puesto que, contrario a lo señalado por el examinador, las reivindicaciones objetadas no abarcan un agente de ARNi que incluye un solo nucleótido, toda vez que dichas reivindicaciones dependen (es decir, incluyen todas las características) de las nuevas reivindicaciones 1, 37, y 50, respectivamente, las cuales citan secuencias de bases nitrogenadas o de nucleótidos.

No obstante, con el fin de superar esta objeción y continuar con el trámite de la solicitud, el solicitante ha decidido modificar la redacción de las reivindicaciones. De esta manera, las nuevas reivindicaciones 2, 38 y 51 establecen que cada una de las cadenas que forman el agente de iARN tiene al menos un nucleótido modificado o al menos un enlace internucleosídico modificado. En otras palabras, las reivindicaciones abarcan agentes de iARN que incluyen una mezcla de nucleótidos modificados y no modificados, así como una mezcla de enlaces internucleosídicos modificados y no modificados.

En consecuencia, dado que la persona normalmente versada en la materia estaría en capacidad de comprender el alcance de la materia reclamada, las reivindicaciones son claras.

En vista de lo anterior, respetuosamente solicito que se retire dicha objeción.

4.3. El examinador indica que la antigua reivindicación 8 no sería clara porque se emplea la sigla "NAG" pero no menciona a que se refiere, de esta forma, el examinador sugiere citar dicha sigla en la reivindicación 6.

En este sentido, me permito señalar que, siguiendo las amables sugerencias del señor examinador, se han realizado las modificaciones correspondientes en la nueva reivindicación 5 (basada en la antigua reivindicación 6). En consecuencia, la objeción ha sido superada.

4.4. El examinador señala que la reivindicación 14 no sería clara porque no indica cuales son los nucleósidos abásicos ni tampoco la posición que ocupan en la cadena codificante.

Con respecto a esta objeción, me permito señalar que el desacuerdo del solicitante con la opinión del examinador.

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

La nueva reivindicación 13 (basada en la antigua reivindicación 14) se refiere a una modalidad preferida de la invención en la que la cadena codificante comprende uno o dos nucleósidos abásicos invertidos. Tal como lo entendería la persona normalmente versada en la materia, el término *nucleósido abásico* hace referencia a un nucleósido que carece de una nucleobase, por lo que no es necesario definir más específicamente el nucleósido abásico. Ahora bien, el nucleósido abásico es un componente adicional del iARN citado en cualquiera de las reivindicaciones 1-12, los cuales han sido adecuadamente definidos en términos de su secuencia. Por lo tanto, para que la persona normalmente versada en la materia pueda comprender el alcance de la reivindicación, no es necesario indicar la posición específica en la cadena y la SEQ ID NO correspondiente para el nucleósido abásico, toda vez que es un componente adicional del agente de iARN.

Teniendo en cuenta lo anterior, respetuosamente solicito que se reconsidere la objeción al respecto.

4.5. El examinador menciona que la reivindicación 17 contiene errores de redacción.

Frente a lo anterior me permito resaltar que la antigua reivindicación 17 (nueva reivindicación 16) ha sido modificada siguiendo las amables sugerencias del examinador. De este modo, la objeción ha quedado superada.

4.6. El examinador indica que la reivindicación 18, 19, y 21 a 25 no serían claras porque definen los dúplex reclamados empleando números de referencia arbitrarios y no incluyen los números de secuencia de las cadenas que los conforman.

Al respecto me permito resaltar que las antiguas reivindicaciones 18, 19, y 21 a 25 (nuevas reivindicaciones 17, 18, y 23 a 27) fueron modificadas de acuerdo con las sugerencias del examinador, de modo que ahora definen las secuencias de cada una de las cadenas de los dúplex seleccionados. En consecuencia, amablemente solicito que se de por superada la objeción.

4.7. El examinador asegura que las reivindicaciones 33 a 39 no serían claras porque el encabezado "*combinación*" no se refiere a un producto o procedimiento, por lo cual sugiere sustituirlo por "*composición*".

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

Con el fin de superar esta objeción, el solicitante ha decidido modificar el encabezado de las antiguas reivindicaciones 33 a 39 (nuevas reivindicaciones 37 a 43) para que se refieran a composiciones, de acuerdo con la sugerencia del examinador.

4.8. Por último, el examinador menciona que las reivindicaciones 28, 29, 31 y 32 no serían claras porque el término "*terapéutico*" hace referencia implícita a métodos de tratamiento, los cuales están exceptuados de patentabilidad.

Al respecto me permito resaltar mi desacuerdo con la opinión del examinador. Tal como lo comprendería la persona normalmente versada en la materia, las antiguas reivindicaciones 28, 29, 31 y 32 (nuevas reivindicaciones 30, 31, 35 y 36) se dirigen a composiciones, es decir, a productos. No obstante, con el fin de mejorar la claridad de la materia reclamada, se sustituyó el término "*terapéutico*" por "*agente terapéutico*", de modo que se aún más evidente que se definen allí componentes adicionales de las composiciones reclamadas.

Es pertinente señalar, además, que las reivindicaciones objetadas no hacen mención a ninguna característica relacionada con un método de tratamiento, como lo podrían ser las referencias a enfermedades, condiciones o trastornos, regímenes de administración o similares. Por lo tanto, la persona normalmente versada en la materia no tendría motivos para considerar que estas reivindicaciones se refieren a materia no patentable. Por lo tanto, amablemente solicito que se de por superada la objeción al respecto.

Teniendo en cuenta lo mencionado previamente, las objeciones relacionadas con la claridad, la concisión y el soporte en la descripción del capítulo reivindicatorio, han quedado completamente superadas.

6. Descripción

El examinador indica que la descripción no divulga la materia reclamada de manera clara y completa para que una persona normalmente versada en la materia pueda ejecutarla o reproducirla, por lo que no cumpliría con las disposiciones del Art. 28 de la Decisión Andina 486.

En particular, el examinador ha señalado que la descripción presenta errores tipográficos en los términos "*antígeno s*", "*HBV*" y "*sec. con núm. de ident*", por lo que sugiere hacer las modificaciones correspondientes.

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

Al respecto, me permito resaltar que junto al presente memorial se presenta una nueva descripción en la que se han realizado las correcciones de redacción solicitadas por el examinador. Por lo tanto, amablemente solicito que se de por superada a objeción en relación con la descripción.

7. Unidad de Invención

El examinador manifiesta que la solicitud no cumpliría con el requisito de unidad de invención e indica que la presente invención se refiere a 16 grupos inventivos distintos.

No obstante, el examinador no proporciona ninguna explicación o argumento que soporte dicha objeción. Además, el examinador no incluye todas las secuencias reclamadas en los grupos inventivos señalados.

Ahora bien, como se ha mencionado previamente, la reivindicación 1 fue modificada de modo que ahora se refiere a "*Una composición que comprende un agente de iARN, en donde el agente de iARN comprende una cadena no codificante que comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NOs: 160, 168, 170, 171, 174, 175, y 179 a 181 (…)*". Dichas secuencias comparten un concepto común, esto es, la secuencia de nucleobases: AUUGAGAGAAGUCCAC.

Por lo tanto, los agentes de iARN de la solicitud reivindicados comparten un concepto común inventivo que no había sido revelado previamente en los documentos del arte previo, y, por lo tanto, la solicitud cumple con los requerimientos según el Artículo 25 de la Decisión 486.

De esta manera, respetuosamente solicito que se retire la objeción a este respecto.

8. Nivel inventivo

El examinador establece en su concepto técnico que las antiguas reivindicaciones 1 a 32, 56 y 57 no cumplirían con el requisito de nivel inventivo a la luz de la combinación de las enseñanzas de los documentos **D1** (WO2016077321A1) y **D2** (US8809293B2).

Con respecto, a lo anterior, me permito resaltar las disposiciones del artículo 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, que establecen que "*se considerará que la invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio*

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica".

Lo anterior significa que el análisis de nivel inventivo **NO** es simplemente una comparación de los objetos de las anterioridades y la solicitud en estudio. Por el contrario, el análisis de nivel inventivo **debe demostrar** la obviedad de la invención y establecer cómo ésta no contiene un salto cualitativo que demuestre su altura inventiva. Es decir, para concluir que la materia reclamada no es inventiva, el análisis debe **necesariamente demostrar** que la invención estudiada hubiese sido obvia para una persona versada en la materia en vista del estado de la técnica.

Características de la materia reclamada

Tal como se mencionó previamente, la reivindicación 1 del capítulo reivindicatorio presentado junto a este memorial se refiere a:

Una composición que comprende un agente de iARN, en donde el agente de iARN comprende:

- una cadena no codificante que comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NOs: 160, 168, 170, 171, 174, 175, y 179 a 181, y
- una cadena codificante que comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nos: 289, 300, 302, 306-309, 319, y 321.

De esta manera, las reivindicaciones se refieren a un grupo reducido de iARNs que no han sido anticipadas por el estado de la técnica.

Sobre los documentos D1 y D2

El Examinador señala que D1 divulga agentes de iARN de doble cadena dirigidos al genoma del VHB, métodos para usar dichos agentes de iARN que inhiben la expresión de uno o más genes de HBV, y métodos para tratar sujetos que tienen una infección viral por HBV y/o un trastorno asociado con HBV.

De otro lado, el examinador cita el documento D2 señalando que divulga una composición que comprende una molécula de ácido ribonucleico de doble cadena

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

capaz de inhibir la expresión del gen del virus HBV *in vitro*, en donde dicha molécula de ácido ribonucleico de doble cadena comprende una cadena codificante y una cadena no codificante que es complementaria a la cadena codificante, y métodos que inhiben la expresión de un gen HBV.

No obstante, estas enseñanzas sobre agentes de iARN que inhiben el VHB no son suficientes para considerar que todos los posibles agentes de iARN que inhiben el VHB estarían divulgados o sugeridos.

Específicamente, ninguno de los documentos citados, D1 o D2, enseña o sugiere un agente de iARN que tenga una cadena no codificante que comprenda una secuencia de nucleobase de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NO: 160, 168, 170, 171, 174, 175 y 179-181, y una cadena codificante que comprende una secuencia de nucleobase según cualquiera de las SEQ ID NO: 289, 300, 302, 306-309, 319 y 321, como se indica en la reivindicación 1.

En consecuencia, los agentes de iARN de la presente solicitud no podrían ser derivados de la divulgación del arte previo, y cumplen a cabalidad con el requisito de nivel inventivo.

Por tanto, respetuosamente solicito tener en cuenta los argumentos aquí presentados donde se demuestra que la invención de la presente solicitud es novedosa y no se habría derivado de manera obvia del estado de la técnica, por lo que cumple con los requisitos de los artículos 14, 16 y 18 de la Decisión 486 de 2000.

9. Conclusión

Con las modificaciones introducidas y los argumentos presentados puede concluirse que:

i) El nuevo título de la solicitud es claro y se relaciona con el objeto reclamado;
ii) El nuevo pliego reivindicatorio se ajusta a las disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486/00;
iii) La invención de la presente solicitud es clara y cuenta con el debido sustento en el capítulo descriptivo, a la vez que se encuentra divulgada de manera suficientemente completa, cumpliendo así con los requerimientos de los Artículos 30 y 28 de la Decisión 486;

Clarke Modet

Carrera 11 No. 86-53, Piso 3
Edificio Segovia
110221 Bogotá, **Colombia**
T (+57) 1 618 10 88
F (+57) 1 635 08 24

iv) La presente invención no se relaciona con materia exceptuada de patentabilidad de acuerdo a lo establecido en el Artículo 20(d) de la Decisión 486,

v) La presente invención se relaciona con un único concepto inventivo, cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 25 de la Decisión 486;y

vi) La invención de la presente solicitud no resulta obvia ni se derivada de manera evidente del estado de la técnica, cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 18 de la Decisión 486.

Por tanto, atentamente me permito solicitar a ese Despacho otorgar el privilegio de patente solicitado a la solicitud en estudio, toda vez que cumple a cabalidad con los requerimientos de la Decisión 486 de 2000.

Asimismo, respetuosamente solicito a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

10. Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por sesenta (60) reivindicaciones.
- Nuevo capítulo descriptivo.
- Recibo de pago por concepto de modificaciones voluntarias.

Señora Directora,

CAROLINA DAZA MONTALVO
C.C. 66.783.790 de Palmira Valle
TP-141563 CSJ
notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende un agente de iARN, en donde el agente de iARN comprende una cadena no codificante que comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID NOs: 160, 168, 170, 171, 174, 175, y 179 a 181, y una cadena codificante que comprende una secuencia de nucleobases de acuerdo con cualquiera de las SEQ ID Nos: 289, 300, 302, 306-309, 319, y 321.

2. La composición de la reivindicación 1, en donde la cadena codificante y/o la cadena no codificante del agente de iARN comprende al menos un nucleótido modificado y/o al menos un enlace inter-nucleósido modificado.

3. La composición de la reivindicación 2, en donde sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena codificante del agente de iARN son nucleótidos modificados y/o en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena no codificante del agente de iARN son nucleótidos modificados.

4. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el agente de iARN comprende además un ligando dirigido que se conjuga con el agente de iARN.

5. La composición de la reivindicación 4, en donde el ligando dirigido comprende N-acetil-galactosamina (NAG).

6. La composición de la reivindicación 5, en donde el ligando dirigido comprende un trímero N-acetil-galactosamina o un tetrámero de N-acetil-galactosamina.

7. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, en donde el ligando dirigido es seleccionado del grupo que consiste en (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), y (NAG39)s.

8. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 4-7, en donde el ligando dirigido está conjugado con la cadena codificante del agente de iARN.

9. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 4-7, en donde el ligando dirigido está conjugado con la cadena no codificante del agente de iARN.

10. La composición de la reivindicación 8, en donde el ligando dirigido está conjugado con el extremo 5´ de la cadena codificante del agente de iARN.

11. La composición de la reivindicación 8, en donde el ligando dirigido está conjugado con el extremo 3´ de la cadena codificante del agente de iARN.

12. La composición de la reivindicación 9, en donde el ligando dirigido está conjugado con el extremo 3´ de la cadena no codificante del agente de iARN.

13. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde la cadena codificante comprende además uno o dos nucleósidos abásicos invertidos.

14. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la cadena codificante comprende la secuencia de nucleótidos modificados seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 211, 226, 229, 234-238, 244, 245, 252, 253, 255, y 273.

15. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la cadena no codificante comprende la secuencia de nucleótidos modificados seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 93-95, 98-100, 108-113, 119-122, 124, 126-128, y 130.

16. La composición de la reivindicación 1, en donde el agente de iARN comprende un par de secuencias codificantes y no codificantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NO: 307 y SEQ ID NO: 175; SEQ ID NO: 302 y SEQ ID NO: 171; SEQ ID NO: 319 y SEQ ID NO: 180; SEQ ID NO: 302 y SEQ ID NO: 179; y SEQ ID NO: 307 y SEQ ID NO: 162.

17. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el agente de iARN comprende una estructura dúplex seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 211 y SEQ ID NO: 79; SEQ ID NO: 226 y SEQ ID NO: 98; SEQ ID NO: 226 y SEQ ID NO: 99; SEQ ID NO: 229 y SEQ ID NO: 100; SEQ ID NO: 211 y SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 234 y SEQ ID NO: 109; SEQ ID NO: 234 y SEQ ID NO: 110; SEQ ID NO: 235 y SEQ ID NO: 111; SEQ ID NO: 235 y SEQ ID NO: 112; SEQ ID NO: 236 y SEQ ID NO: 109; SEQ ID NO: 237 y SEQ ID NO: 110; SEQ ID NO: 211 y SEQ ID NO: 113; SEQ ID NO: 238 y SEQ ID NO: 108; SEQ ID NO: 235 y SEQ ID NO: 119; SEQ ID NO: 244 y SEQ ID NO: 120; SEQ ID NO: 245 y SEQ ID NO: 121; SEQ ID NO: 244 y SEQ ID NO: 122; SEQ ID NO: 244 y SEQ ID NO: 124; SEQ ID NO: 252 y SEQ ID NO: 126; SEQ ID NO: 252 y SEQ ID NO: 127; SEQ ID NO: 253 y SEQ ID NO: 128; SEQ ID NO: 255 y SEQ ID NO: 130; SEQ ID NO: 244 y SEQ ID NO: 111; o SEQ ID NO: 273 y SEQ ID NO: 126;.

18. La composición de la reivindicación 17, en donde el agente de iARN comprende una estructura dúplex seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 235 y SEQ ID NO: 111; SEQ ID NO: 252 y SEQ ID NO: 126; SEQ ID NO: 244 y SEQ ID NO: 111; SEQ ID NO: 253 y SEQ ID NO:128; y SEQ ID NO: 273 y SEQ ID NO: 126.

19. La composición de la reivindicación 18, en donde el agente iARN comprende una cadena codificante unida en el extremo 5' terminal a NAG37s y que tiene la estructura (NAG37)s(invAb) sguggacuuCfUfCf ucaauuuuucus(invAb) (SEQ ID NO: 252) y una cadena no codificante que tiene la estructura asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (SEQ ID NO: 126).

20. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-19, en donde el agente de iARN está en forma de sal.

21. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-20, en donde el agente iARN está en forma de sal de sodio.

22. Una composición que comprende un primer agente de iARN de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, y un segundo agente de iARN.

23. La composición de loa reivindicación 22, en donde el segundo agente de iARN comprende una cadena no codificante y una cadena codificante que tienen secuencias de nucleótido modificadas, en donde el segundo agente de iARN tiene una estructura dúplex de SEQ ID NO: 61 y SEQ ID NO: 196; SEQ ID NO: 62 y SEQ ID NO: 195; SEQ ID NO: 63 y SEQ ID NO: 195; SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 195; SEQ ID NO: 66 y SEQ ID NO: 197; SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 197; SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 198; SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 198; SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 199; SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 203; SEQ ID NO: 69 y SEQ ID NO: 199; SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 200; SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 201; SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 202; SEQ ID NO: 70 y SEQ ID NO: 199; SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 203; SEQ ID NO: 70 y SEQ ID NO: 201; SEQ ID NO: 70 y SEQ ID NO: 195; SEQ ID NO: 80 y SEQ ID NO: 213; SEQ ID NO: 64 y SEQ ID NO: 214; SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 214; SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 215; SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 216; SEQ ID NO: 81 y SEQ ID NO: 215; SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 217; SEQ ID NO: 82 y SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 84 y SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 85 y SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 86 y SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 87 y SEQ ID NO: 218; SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 230; SEQ ID NO: 101 y SEQ ID NO: 230; SEQ ID NO: 102 y SEQ ID NO: 230; SEQ ID NO: 103 y SEQ ID NO: 231; SEQ ID NO: 104 y SEQ ID NO: 231; SEQ ID NO: 105 y SEQ ID NO: 232; SEQ ID NO: 106 y SEQ ID NO: 232; SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 233; SEQ ID NO: 102 y SEQ ID NO: 232; SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 214; SEQ ID NO: 107 y SEQ ID NO: 214; SEQ ID NO: 102 y SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 106 y SEQ ID NO: 249; SEQ ID NO: 106 y SEQ ID NO: 250; SEQ ID NO: 82 y SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 131 y SEQ ID NO: 256; SEQ ID NO: 132 y SEQ ID NO: 257; SEQ ID NO: 133 y SEQ ID NO: 258; SEQ ID NO: 134 y SEQ ID NO: 259; SEQ ID NO: 135 y SEQ ID NO: 260; SEQ ID NO: 107 y SEQ ID NO: 216; SEQ ID NO: 136 y SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 137 y SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 138 y SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 139 y SEQ ID NO: 261; SEQ ID NO: 140 y SEQ ID NO: 262; SEQ ID NO: 141 y SEQ ID NO: 263; SEQ ID NO: 68 y SEQ ID NO: 264; SEQ ID NO: 142 y SEQ ID NO: 265; SEQ ID NO: 143 y SEQ ID NO: 248; SEQ ID NO: 144 y SEQ ID NO: 266; SEQ ID NO: 145 y SEQ ID NO: 267; SEQ ID NO: 146 y SEQ ID NO: 268; SEQ ID NO: 147 y SEQ ID NO: 269; SEQ ID NO: 148 y SEQ ID NO: 270; SEQ ID NO: 140 y SEQ ID

NO: 271; SEQ ID NO: 148 y SEQ ID NO: 272; SEQ ID NO: 140 y SEQ ID NO: 274.

24. La composición de la reivindicación 23, en donde:

el primer agente de iARN comprende una cadena codificante unida en el extremo terminal 5' a NAG37s y tiene la estructura (NAG37)s (invAb)sguggacuuCfUfCfucaauuuuucus(invAb) (SEQ ID NO: 252) y una cadena no codificante que tiene la estructura asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (SEQ ID Nº: 126), y

el segundo agente de iARN comprende una cadena codificante unida en el extremo terminal 5' a NAG37s y tiene la estructura (NAG37)s (invAb)scgcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb) (SEQ ID NO: 262) y una cadena no codificante que tiene la estructura usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg (SEQ ID NO: 140).

25. La composición de la reivindicación 23, en donde:

el primer agente de iARN comprende una cadena codificante unida en el extremo terminal 5' a NAG37s y tiene la estructura (NAG37)s (invAb)sguggacuuCfUfCfucaauuuuucus(invAb) (SEQ ID NO: 252) y una cadena no codificante que tiene la estructura asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (SEQ ID NO: 126), y

el segundo agente de iARN comprende una cadena codificante unida en el extremo terminal 5' a NAG37s y tiene la estructura (NAG37)s-(invAb)sggcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb) (SEQ ID NO: 248) y una cadena no codificante que tiene la estructura usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (SEQ ID NO: 137).

26. La composición de la reivindicación 23, en donde:

el primer agente de IARN comprende una cadena codificante unida en el extremo terminal 5' a NAG37s y tiene la estructura (NAG37)s (invAb)sguggacuuCfUfCfucaauuuuucus(invAb) (SEQ ID NO: 252) y una cadena no codificante que tiene la estructura asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (SEQ ID Nº: 126), y

el segundo agente de IARN comprende una cadena codificante unida en el extremo terminal 5' a NAG37s y tiene la estructura (NAG37)s-(invAb)sggcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb) (SEQ ID NO: 248) y una cadena no codificante que tiene la estructura usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcsc (SEQ ID NO: 102).

27. La composición de la reivindicación 23, en donde:

el primer agente de IARN comprende una cadena codificante unida en el extremo terminal 5' a NAG25s y tiene la estructura (NAG25)s-(invAb)sgugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb) (SEQ ID NO: 235) y una cadena no codificante que tiene la estructura usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu (SEQ ID NO: 111), y

el segundo agente de IARN comprende una cadena codificante unida en el extremo terminal 5' a NAG31s y tiene la estructura (NAG31)s-(invAb)scuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb) (SEQ ID NO: 214) y una cadena no codificante que tiene la estructura cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (SEQ ID NO: 107).

28. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 21 a 27, en donde la relación del primer agente de iARN al segundo agente de iARN en peso está en el rango de 1:2 a 5:1.

29. La composición de la reivindicación 28, en donde la relación del primer agente de iARN al segundo agente de iARN en peso es de 2:1 o 3:1.

30. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, que comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales.

31. La composición de la reivindicación 30, en donde el uno o más agentes terapéuticos adicionales son seleccionados del grupo que consiste en lamivudina, tenofovir, tenofovir alafenamida, tenofovir disoproxil, y entecavir, o una mezcla de los mismos.

32. La composición de la reivindicación 30, en donde el agente terapéutico adicional es interferón.

33. La composición de la reivindicación 30, en donde el uno o más agentes terapéuticos adicionales es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en un fármaco de molécula pequeña, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo y una vacuna.

34. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 33, que comprende además un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

35. La composición de la reivindicación 30, en donde el agente terapéutico adicional es tenofovir disoproxil.

36. La composición de la reivindicación 30, en donde el agente terapéutico adicional es entecavir.

37. Una composición que comprende un primer agente de iARN y un segundo agente de iARN, en donde:
(a) el primer agente de iARN comprende: una cadena no codificante que comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:179, y SEQ ID NO:180, y una cadena codificante que comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:229, SEQ ID NO:252, SEQ ID NO:253, SEQ ID NO:273, SEQ ID NO:302, y SEQ ID NO:319; y
(b) el segundo agente de iARN comprende: una cadena no codificante que comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:140, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:137, SEQ ID NO:162 y SEQ ID NO:188, y una cadena codificante que comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:248, SEQ ID NO:294, SEQ ID NO:262, SEQ ID NO:271, SEQ ID NO:274, y SEQ ID NO:328.

38. La composición de la reivindicación 37, en donde la cadena codificante y/o la cadena no codificante del primer o el segundo agente de iARN comprende al menos un nucleótido modificado y/o al menos un enlace inter-nucleósido modificado.

39. La composición de la reivindicación 37, en donde el primer o el segundo agente de iARN comprende además un ligando dirigido que se conjuga con el primer o el segundo agente de iARN.

40. La composición de la reivindicación39, en donde el ligando dirigido es seleccionado del grupo que consiste en (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), y (NAG39)s.

41. La composición de la reivindicación 39, en donde el ligando dirigido está conjugado con el extremo 5´ de la cadena codificante del primer o el segundo agente de iARN.

42. La composición de la reivindicación 37, en donde la cadena codificante en el primer o el segundo agente de iARN comprende además uno o dos nucleósidos abásicos invertidos.

43. La composición de la reivindicación 37, en donde la relación del primer agente de iARN al segundo agente de iARN en peso está en el rango de 1:2 a 5:1.

44. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 37-43, en donde el primer agente de iARN y el segundo agente de iARN están cada uno en forma de sal.

45. La composición de una cualquiera de las reivindicaciones 37-44, en la que el primer agente de iARN y el segundo agente de iARN están cada uno en forma de sal de sodio.

46. Un método para preparar un agente de iARN que comprende conjugar un grupo de direccionamiento a un grupo reactivo en el extremo 5'- o 3'- de una cadena codificante o una cadena no codificante, en donde:
la una cadena no codificante comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:179, y SEQ ID NO:180, y la cadena codificante comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:229, SEQ ID NO:252, SEQ ID NO:253, SEQ ID NO:273, SEQ ID NO:302, y SEQ ID NO:319;
el grupo reactivo está presente en el extremo 5'- o 3'- de la cadena codificante o la cadena no codificante, y el grupo reactivo es seleccionado del grupo que consiste en amina, alquino, alquilo, nucleósido abásico, ribitol y PEG; y
el grupo de direccionamiento comprende N-acetil-galactosamina.

47. El método de la reivindicación 46, en donde el grupo reactivo es un nucleósido abásico.

48. El método de la reivindicación 46, en donde el grupo de direccionamiento es seleccionado del grupo que consiste en (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), y (NAG39)s.

49. El método de la reivindicación 46, en donde la cadena codificante comprende además uno o dos nucleósidos abásicos invertidos.

50. Una composición que comprende un agente de iARN, en donde el agente de iARN comprende:
    (a) una cadena no codificante que comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:100, SEQ ID NO:126, SEQ ID NO:127, SEQ ID NO:128, SEQ ID NO:171, SEQ ID NO:179, y SEQ ID NO:180, y
    (b) una cadena codificante que comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:229, SEQ ID NO:252, SEQ ID NO:253, SEQ ID NO:273, SEQ ID NO:302, y SEQ ID NO:319.

51. La composición de la reivindicación 50, en donde la cadena codificante y/o la cadena no codificante del agente de iARN comprende al menos un nucleótido modificado y/o al menos un enlace inter-nucleósido modificado.

52. La composición de la reivindicación 51, en donde sustancialmente todos los nucleótidos en el agente de iARN son nucleótidos modificados.

53. La composición de la reivindicación 50, en donde el agente de iARN comprende además un ligando dirigido que se conjuga con el agente de iARN.

54. La composición de la reivindicación 53, en donde el ligando dirigido comprende N-acetil-galactosamina (NAG).

55. La composición de la reivindicación 54, en donde el ligando dirigido es seleccionado del grupo que consiste en (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), y (NAG39)s.

56. La composición de la reivindicación 53, en donde el ligando dirigido está conjugado con el extremo 5´ de la cadena codificante del agente de iARN.

57. La composición de la reivindicación 50, que comprende además un agente de iARN adicional, en donde el agente de iARN adicional comprende: una cadena no codificante que comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:140, SEQ ID NO:137, SEQ ID NO:102, SEQ ID NO:162 y SEQ ID NO:188, y una cadena codificante que comprende una secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las siguientes: SEQ ID NO:248, SEQ ID NO:294, SEQ ID NO:262, SEQ ID NO:271, SEQ ID NO:274, y SEQ ID NO:328.

58. La composición de la reivindicación 57, en donde la composición comprende un primer agente de iARN independientemente seleccionados del grupo que consiste en: AD04872 (SEQ ID NO: 126 y SEQ ID NO:252), AD04873 (SEQ ID NO: 127 y SEQ ID NO:252), AD04874 (SEQ ID NO: 128 y SEQ ID NO:253), y AD05164 (SEQ ID NO:126 y SEQ ID NO:273); y

el agente de iARN adicional se selecciona independientemente seleccionado del grupo que consiste en: AD0457l (SEQ ID NO: 100 y SEQ ID NO:229), AD04776 (SEQ ID NO: 102 y SEQ ID NO:248), AD04982 (SEQ ID NO: 137 y SEQ ID NO:248), AD05070 (SEQ ID NO:140 y SEQ ID NO:262), AD05148 (SEQ ID NO:140 y SEQ ID NO:271), y AD05165 (SEQ ID NO:140 y SEQ ID NO:274).

59. La composición de la reivindicación 58, en donde la relación del agente de iARN al agente de iARN adicional en peso está en el rango de 1:2 a 5:1.

60. Una composición farmacéutica que comprende la composición de la reivindicación 50 y un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

AGENTES DE IARN PARA INFECCIÓN CAUSADA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos con núm. de serie 62/540.639, presentada el 3 de agosto de 2017, la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos con núm. de serie 62/534.733, presentada el 20 de julio de 2017 y la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos con núm. de serie 62/370.754, presentada el 4 de agosto de 2016, cuyos contenidos se incorporan en la presente descripción como referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

En la presente descripción se describen agentes de interferencia por ARN (iARN) para inhibición de la expresión génica del virus de la hepatitis B, composiciones que incluyen agentes de iARN del VHB y métodos para usarlos.

ANTECEDENTES

El virus de la hepatitis B (VHB) es un virus hepatotrófico estricto, compuesto por ADN de doble cadena. Si bien el ADN es el material genético, el ciclo de replicación implica una etapa de transcripción inversa para copiar un ARN pregenómico en el ADN. El virus de la hepatitis B se clasifica como un miembro de los virus hepadnavirus y pertenece a la familia de hepadnaviridae. La infección primaria en humanos adultos con el virus de la

hepatitis B causa hepatitis aguda con síntomas de inflamación de los órganos, fiebre, ictericia y aumento de las transaminasas hepáticas en la sangre. Aquellos pacientes que no son capaces de contrarrestar la infección por el virus sufren una progresión de la enfermedad por muchos años con un mayor riesgo de desarrollar hígado cirrótico o cáncer de hígado. La transmisión perinatal de madres infectadas por el virus de la hepatitis B a los recién nacidos también conduce a la hepatitis crónica.

Tras la captación por los hepatocitos, la nucleocápside se transfiere al núcleo y se libera el ADN. Allí, se completa la síntesis de la cadena de ADN y los espacios se reparan para proporcionar el ADN superenrollado circular (ccc, por sus siglas en inglés) covalentemente cerrado de 3,2 kb. El ADNccc sirve como una plantilla para la transcripción de cinco ARNm virales principales, que tienen 3,5, 3,5, 2,4, 2,1 y 0,7 kb de largo. Todos los ARNm están con una caperuza en el extremo 5′ y poliadenilados en el extremo 3′. Hay una superposición de secuencias en el extremo 3′ entre los cinco ARNm.

Un ARNm de 3,5 kb sirve como plantilla para la producción de proteína básica y polimerasa. Además, la misma transcripción sirve como un intermediario de replicación pregenómica y permite que la polimerasa viral inicie la transcripción inversa en el ADN. La proteína del núcleo es necesaria para la formación de nucleocápside. El otro ARNm de 3,5 kb codifica el antígeno e de secreción del prenúcleo (HBeAg). En ausencia de inhibidores de replicación, la abundancia de antígeno e en la sangre se correlaciona con

la replicación del virus de la hepatitis B en el hígado y sirve como un importante marcador de diagnóstico para monitorear la progresión de la enfermedad.

Los ARNm 2,4 y 2,1 kb llevan los marcos de lectura abiertos (ORF, por sus siglas en inglés) pre-S1, pre-S2 y S para la expresión del antígeno viral de superficie grande, mediano y pequeño. El antígeno S se asocia con partículas infecciosas, completas. Además, la sangre de los pacientes infectados también contiene partículas no infecciosas derivadas de un antígeno S solo, libre de ADN genómico o polimerasa. La función de estas partículas no se comprende completamente. El agotamiento completo y duradero del antígeno S detectable en la sangre se considera un indicador fiable para la eliminación del virus de la hepatitis B.

El ARNm de 0,7 kb codifica la proteína X. Este producto génico es importante para la transcripción eficiente de genes virales y también actúa como un transactivador en la expresión génica del huésped. Esta última actividad parece ser importante para la transformación de hepatocitos durante el desarrollo del cáncer de hígado.

A los pacientes con antígeno S detectable, antígeno e y/o ADN viral en la sangre durante más de 6 meses se les considera infectados de manera crónica. Los análogos de nucleósido como inhibidores de la actividad de la transcriptasa inversa suelen ser la primera opción de tratamiento para muchos pacientes. Se ha demostrado que la administración de lamivudina, de tenofovir y/o entecavir suprime la replicación del virus

de la hepatitis B, a veces a niveles indetectables, con mejoría de la función hepática y reducción de la inflamación del hígado, que en general, se consideran los beneficios más importantes. Sin embargo, solo pocos pacientes logran una remisión completa y duradera después de terminar el tratamiento. Además, el virus de la hepatitis B desarrolla resistencia al fármaco, con el aumento de la duración del tratamiento. Esto es especialmente difícil para pacientes coinfectados con hepatitis B y virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Ambos virus son susceptibles a los fármacos análogos de nucleósido y pueden desarrollar resistencia.

Una segunda opción de tratamiento es la administración de interferón alfa. En este caso, los pacientes reciben dosis altas de interferón alfa durante un período de 6 meses. El genotipo asiático B produce tasas de respuesta muy bajas. Se ha demostrado que la coinfección con el virus de la hepatitis D (VHD) o virus de inmunodeficiencia humana hace que el tratamiento con interferón alfa sea completamente ineficaz. Los pacientes con insuficiencia hepática fuerte y condiciones fibróticas pesadas no están calificados para el tratamiento con interferón alfa.

Se ha demostrado previamente que ciertos agentes de interferencia por ARN (iARN) específicos del virus de la hepatitis B inhiben la expresión de la expresión génica del VHB. Por ejemplo, la publicación de solicitud de patente núm. 2013/0005793, a Chin et al., incorporada en el presente documento como referencia en su totalidad, describe

ciertas moléculas de ácido ribonucleico de doble cadena (ARNdc) para inhibir la expresión del gen del virus de la hepatitis B.

SUMARIO

Existe la necesidad de nuevos agentes de interferencia por ARN (iARN) específicos para el virus de la hepatitis B (VHB) (también aquí denominado agente de iARN o disparador de iARN) que sean capaces de inhibir de manera selectiva y eficaz la expresión de un gen del virus de la hepatitis B (VHB). Además, existe la necesidad de combinaciones de nuevos agentes de iARN específicos para el tratamiento de la infección causada por el VHB y la prevención de enfermedades asociadas con el VHB.

En este documento se describen los agentes de iARN específicos del gen del VHB que pueden reducir de manera selectiva y eficiente la expresión de un gen del VHB. Los agentes de iARN del VHB descritos pueden usarse en métodos para el tratamiento terapéutico y/o prevención de síntomas y enfermedades asociadas con la infección causada por el VHB, que incluyen, pero no se limitan a, enfermedades y trastornos hepáticos crónicos, inflamaciones, afecciones fibróticas, trastornos proliferativos (incluidos cánceres, como carcinoma hepatocelular), infección causada por el virus de la hepatitis D (VHD) e infección aguda causada por el VHB. En algunas modalidades, los agentes de iARN del VHB pueden usarse en métodos para el tratamiento terapéutico y/o prevención de síntomas y enfermedades asociados con la infección crónica causada por el VHB y/o la infección causada por el VHD. Estos métodos comprenden la administración de uno o

más agentes de iARN del VHB como se describe en la presente descripción a un sujeto, por ejemplo, un sujeto humano o animal.

Además, en la presente descripción se describen composiciones que comprenden uno o más de los agentes de iARN descritos que pueden disminuir de manera selectiva y eficaz la expresión de un gen del VHB. Las composiciones que comprenden uno o más agentes de iARN del VHB pueden administrarse a un sujeto, ya sea un sujeto humano o animal, para el tratamiento y/o prevención de síntomas y enfermedades asociados con la infección causada por el VHB.

Cada agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción incluye al menos una cadena codificante y una cadena no codificante. La cadena codificante y la cadena no codificante pueden ser parcialmente, sustancialmente o totalmente complementarias entre sí. La longitud de las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes del agente de iARN descritas en la presente descripción pueden tener de 16 a 30 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen independientemente de 17 a 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen independientemente de 19 a 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen independientemente de 21 a 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen independientemente de 21 a 24 nucleótidos de longitud. Las cadenas codificantes y las

cadenas no codificantes pueden tener la misma longitud o longitudes diferentes. Los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción han sido diseñados para incluir secuencias de cadena no codificante que sean al menos parcialmente complementarias a una secuencia en el genoma del VHB que se conserva a través de la mayoría de los serotipos conocidos del VHB. Los agentes de iARN descritos en la presente descripción, cuando se suministran a una célula que expresa el VHB, inhiben la expresión de uno o más genes del VHB *in vivo* o *in vitro*.

Un agente de iARN del VHB incluye una cadena codificante (también denominada cadena codificante) que incluye una primera secuencia y una cadena no codificante (también denominada cadena no codificante) que incluye una segunda secuencia. Una cadena codificante de los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción incluye un tramo del núcleo que tiene al menos aproximadamente 85 % de identidad con una secuencia de nucleótidos de al menos 16 nucleótidos consecutivos en un ARNm del VHB. En algunas modalidades, el tramo de nucleótidos del núcleo de la cadena codificante que tiene al menos aproximadamente 85 % de identidad con una secuencia en un ARNm del VHB tiene 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 nucleótidos de longitud. Una cadena no codificante de un agente de iARN del VHB comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos aproximadamente 85 % de complementariedad sobre un tramo del núcleo de al menos 16 nucleótidos consecutivos con una secuencia en un ARNm del VHB y la cadena codificante correspondiente. En algunas modalidades, la secuencia de nucleótidos del núcleo de la cadena no codificante que tiene al menos aproximadamente 85 % de complementariedad

con una secuencia en un ARNm del VHB o la cadena codificante correspondiente tiene 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 nucleótidos de longitud.

En las Tablas 3 y 4 se proporcionan ejemplos de cadenas codificantes y cadenas no codificantes del agente de iARN del VHB y cadenas no codificantes que pueden usarse en agentes de iARN del VHB. En la Tabla 5 se proporcionan ejemplos de dúplex de agentes de iARN del VHB. En la Tabla 2 se proporcionan ejemplos de secuencias de tramo del núcleo de 19 nucleótidos que consisten en o están incluidas en las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes de los agentes de iARN del VHB descritos en este documento.

En algunas modalidades, uno o más agentes de iARN del VHB se suministran a células o tejidos objetivo usando cualquier tecnología de suministro de oligonucleótidos conocida en la técnica. Los métodos de suministro de ácido nucleico incluyen, pero no se limitan a, los métodos por encapsulación en liposomas, por iontoforesis o por incorporación en otros vehículos, tales como hidrogeles, ciclodextrinas, nanocápsulas biodegradables y microesferas bioadhesivas, vectores proteicos o policonjugados dinámicos (DPC), (ver, por ejemplo, los documentos WO 2000/053722, WO 2008/0022309, WO 2011/104169 y WO 2012/083185, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia). En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB se suministra a células o tejidos objetivo mediante el enlace covalente del agente de iARN con un grupo de direccionamiento. En algunas modalidades, el grupo de direccionamiento puede incluir un ligando de receptor

celular, tal como un ligando de receptor de asialoglicoproteínas (ASGPr). En algunas modalidades, un ligando ASGPr incluye o consiste en un grupo de derivados de galactosa. En algunas modalidades, un grupo de derivados de galactosa incluye un trímero de N-acetil-galactosamina o un tetrámero de N-acetil-galactosamina. En algunas modalidades, un grupo de derivados de galactosa es un trímero de N-acetil-galactosamina o un tetrámero de N-acetil-galactosamina.

Un grupo de direccionamiento puede estar enlazado con los extremos 3′ o 5′ de una cadena codificante o una cadena no codificante de un agente de iARN del VHB. En algunas modalidades, un grupo de direccionamiento está enlazado con los extremos 3′ o 5′ de la cadena codificante. En algunas modalidades, un grupo de direccionamiento está enlazado con el extremo 5' de la cadena codificante. En algunas modalidades, un grupo de direccionamiento está enlazado con el agente de iARN a través de un enlazador.

Un grupo de direccionamiento, con o sin un enlazador, puede enlazarse con los extremos 5′ o 3′ de cualquiera de las cadenas codificantes y/o las cadenas no codificantes descritas en las Tablas 2, 3 y 4. Un enlazador, con o sin un grupo de direccionamiento, puede enlazarse con los extremos 5′ o 3′ de cualquiera de las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes descritas en las Tablas 2, 3 y 4.

En algunas modalidades, las composiciones descritas en la presente son composiciones que incluyen uno o más agentes de iARN del VHB que tienen las secuencias dúplex descritas en la Tabla 5.

En algunas modalidades, las composiciones descritas en la presente son composiciones que incluyen una combinación o un cóctel de por lo menos dos agentes de iARN del VHB que tienen diferentes secuencias de nucleótidos. En algunas modalidades, los dos o más agentes de iARN diferentes están cada uno por separado e independientemente enlazados con los grupos de direccionamiento. En algunas modalidades, los dos o más agentes de iARN del VHB diferentes están cada uno enlazado con los grupos de direccionamiento que comprenden N-acetil-galactosaminas. En algunas modalidades, cuando dos o más agentes de iARN se incluyen en una composición, cada uno de los agentes de iARN está enlazado con el mismo grupo de direccionamiento. En algunas modalidades, cuando dos o más agentes de iARN se incluyen en una composición, cada uno de los agentes de iARN se enlaza con grupos de direccionamiento diferentes, tales como grupos de direccionamiento que tienen diferentes estructuras químicas.

En algunas modalidades, los grupos de direccionamiento están enlazados con los agentes de iARN del VHB sin el uso de un enlazador adicional. En algunas modalidades, el grupo de direccionamiento está diseñado con un enlazador fácilmente presente para facilitar el enlace con un agente de iARN del VHB. En algunas modalidades, cuando dos o más agentes de iARN se incluyen en una composición, los dos o más agentes de iARN pueden

estar enlazados con los grupos de direccionamiento mediante el uso de los mismos enlazadores. En algunas modalidades, cuando dos o más agentes de iARN se incluyen en una composición, los dos o más agentes de iARN están enlazados con los grupos de direccionamiento mediante el uso de diferentes enlazadores.

En algunas modalidades, las composiciones descritas en la presente descripción son composiciones que incluyen una combinación de al menos dos agentes de iARN del VHB que tienen secuencias diferentes, en donde cada agente de iARN del VHB se dirige a una ubicación diferente o región diferente de un gen del VHB. En algunas modalidades, en el presente documento se describen composiciones que incluyen una combinación de al menos dos agentes de iARN del VHB, en donde cada agente de iARN del VHB está diseñado para dirigirse a una transcripción del VHB diferente (por ejemplo, una composición que incluye dos agentes de iARN del VHB, en donde el primer agente de iARN del VHB incluye una cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria a una secuencia de nucleótidos localizada en el ORF S de un gen del VHB, mientras que el segundo agente de iARN del VHB incluye una cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria a una secuencia de nucleótidos ubicada en el ORF X de un gen del VHB). Como se usa en la presente descripción, un agente de iARN que incluye una cadena no codificante al menos parcialmente complementaria a una secuencia de nucleótidos ubicada en el ORF S se dirige a una porción del genoma del VHB de la SEQ ID NO: 1 entre las posiciones 1-1307 y 3185-3221. Como se usa en la presente, un agente de iARN que incluye una

cadena no codificante al menos parcialmente complementaria a una secuencia de nucleótidos ubicada en el ORF X se dirige a una porción del genoma del VHB de la SEQ ID NO: 1 entre las posiciones 1308-1930.

Se sabe que el ARNm del VHB es policistrónico, lo que resulta en la traslación de múltiples polipéptidos, y los iARN separados se superponen a la secuencia ARN, por lo tanto un solo agente de iARN que se dirige a un gen del VHB puede dar como resultado la inhibición de la mayoría o todas las transcripciones del VHB. Sin embargo, y si bien no es el deseo estar limitados a ninguna teoría, se hipotetiza que una composición que incluye dos o más agentes de iARN del VHB que se dirigen a diferentes ubicaciones o regiones de un gen del VHB (y, en particular, dos o más agentes de iARN del VHB en donde un agente de iARN del VHV se dirige al ORF S y un segundo agente de iARN del VHB se dirige al ORF X) pueden proporcionar ventajas adicionales sobre una composición que incluye solamente un único agente de iARN del VHB, como la de (a) asegurar que todas las transcripciones virales del VHB sean elegidas como objetivo (es decir, ARN pregenómico de 3,5 kb; ARNm prenúcleo de 3,5 kb; ARNm pre-S1 de 2,4 kb; ARNm pre-S2/S de 2,1 kb; ARNm X de 0,7 kb; así como cualquier antígeno S que expresa ARNm producidos a partir de ADN del VHB); (b) expandir la cobertura de genotipos para tratar potencialmente una población más grande de pacientes; y/o (c) reducir potencialmente la resistencia viral debido a mutaciones en el sitio de unión de iARNp.

En algunas modalidades, se describe en el presente documento composiciones que incluyen una combinación de un agente de iARN del VHB que se dirige al ORF S de un ARN del VHB (es decir, que tiene una cadena no codificante que se dirige a las transcripciones S (S, pre-S1 y pre-S2), el ARN pregenómico (núcleo y polimerasa) y las transcripciones prenúcleo (HBeAg) de un genoma del VHB), y un agente de iARN del VHB que se dirige al ORF X de un ARN del VHB (es decir, tiene una cadena no codificante que se dirige a la transcripción X de un genoma del VHB, las transcripciones S (S, pre-S1 y pre-S2), el ARN pregenómico (núcleo y polimerasa) y las transcripciones del núcleo (HBeAg) de un genoma del VHB). En algunas modalidades, las composiciones descritas en la presente descripción incluyen al menos un agente de iARN del VHB que contiene una secuencia que se dirige al ORF S de un gen del VHB, y un segundo agente de iARN del VHB que contiene una secuencia que se dirige al ORF X de un gen del VHB.

En la presente descripción se describen métodos para inhibir la expresión de un gen del VHB, el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del VHB que tienen una cadena no codificante que comprende la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3.

En la presente descripción se describen métodos para inhibir la expresión de un gen del VHB, el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del VHB que tienen una cadena codificante que comprende la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 4.

En la presente descripción se describen métodos para inhibir la expresión de un gen del VHB; el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del VHB que tienen una cadena no codificante que comprende la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3 y una cadena codificante que comprende la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 4 que es al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante.

En la presente descripción se describen métodos para inhibir la expresión de un gen del VHB, el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del VHB que tienen una cadena no codificante que consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3 y una cadena codificante que consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 4 que es al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante.

En la presente descripción se describen métodos para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del VHB que tienen la estructura dúplex de la Tabla 5.

En la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del

VHB que tienen una cadena no codificante que comprende la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3.

En la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del VHB que tienen una cadena codificante que comprende la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 4.

En la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del VHB que tienen una cadena no codificante que comprende la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3 y una cadena codificante que comprende la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 4 que es al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante.

En la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del VHB que tienen una cadena no codificante que consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3 y una cadena codificante que consiste en

la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 4 que es al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante.

En la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar uno o más agentes de iARN del VHB que tienen la estructura dúplex de la Tabla 5.

En la presente descripción se describen métodos para inhibir la expresión de un gen del VHB, el método comprende administrar (i) un agente de iARN del VHB que tiene una cadena codificante que comprende o consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 3 y (ii) un segundo agente de iARN del VHB que tiene una cadena no codificante que comprende o consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 3.

En la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar (i) un agente de iARN del VHB que tiene una cadena no codificante que comprende o consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 3 y (ii) un segundo agente de iARN del VHB que tiene una cadena no codificante que comprende o consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 3.

En la presente descripción se describen métodos para inhibir la expresión de un gen del VHB, el método comprende administrar (i) un primer agente de iARN del VHB que tiene una cadena no codificante que comprende o consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 3 y una cadena codificante que comprende o consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 4 que es al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante del primer agente de iARN del VHB, y (ii) un segundo agente de iARN del VHB que tiene una cadena no codificante que comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 3 y una cadena codificante que comprende o consiste en cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 4 que es al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante del segundo agente de iARN del VHB.

En la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar (i) un primer agente de iARN del VHB que tiene una cadena no codificante que comprende o consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 3 y una cadena codificante que comprende o consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 4 que es al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante del primer agente de iARN del VHB, y (ii) un segundo agente de iARN del VHB que tiene una cadena no codificante que comprende o consiste en la

secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 3 y una cadena codificante que comprende o consiste en la secuencia de cualquiera de las secuencias de la Tabla 2 o la Tabla 4 que es al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante del segundo agente de iARN del VHB.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente comprende:

a. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AUUGAGAGAAGUCCACCAC (SEQ ID NO: 7), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAU (SEQ ID NO: 34); o

b. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UUUGAGAGAAGUCCACCAC (SEQ ID NO: 8), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAA (SEQ ID NO: 35); o

c. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AAUUGAGAGAAGUCCACCA (SEQ ID NO: 12), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3

nucleobases de la secuencia (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUU (SEQ ID NO: 39); o

d. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCA (SEQ ID NO: 13), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUA (SEQ ID NO: 40). o

e. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCC (SEQ ID NO: 17), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGACUUCUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 44). o

f. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGAAAAUUGAGAGAAGUCC (SEQ ID NO: 18), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGACUUCUCUCUCAAUUUUCA (SEQ ID NO: 45); o

g. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3')

ACCAAUUUAUGCCUACAGC (SEQ ID NO: 22), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 49); o

h. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGC (SEQ ID NO: 23), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUUGGA (SEQ ID NO: 50); o

i. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencian por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 27), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUC (SEQ ID NO: 54); o

j. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 28), y una cadena codificante que comprende la secuencia nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUU (SEQ ID NO: 55); o

k. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 29), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 56).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones que inhiben la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende un agente de iARN del VHB.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos o más agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende:

i) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AAUUGAGAGAAGUCCACCA (SEQ ID NO: 12), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUU (SEQ ID NO: 39); o

ii) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencian por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3')

UAUUGAGAGAAGUCCACCA (SEQ ID NO: 13), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUA (SEQ ID NO: 40).

y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende:

i) una cadena no CODIFICANTE que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 27), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUC (SEQ ID NO: 54); o

ii) una CADENA no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 28), y una cadena codificante que comprende la secuencia nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUU (SEQ ID NO: 55); o

iii) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 NUCLEOBASES de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 29), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3

nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 56).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos o más agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende:

i) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCC (SEQ ID NO: 17), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGACUUCUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 44). o

ii) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGAAAAUUGAGAGAAGUCC (SEQ ID NO: 18), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGACUUCUCUCUCAAUUUUCA (SEQ ID NO: 45);

y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende:

i) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 27), y una cadena codificante que

comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUC (SEQ ID NO: 54); o

ii) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 28), y una cadena codificante que comprende la secuencia nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUU (SEQ ID NO: 55); o

iii) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 29), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 56).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos o más agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende:

i) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AAUUGAGAGAAGUCCACCA (SEQ ID NO: 12), y una cadena codificante que

comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUU (SEQ ID NO: 39); o

ii) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencian por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCA (SEQ ID NO: 13), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUA (SEQ ID NO: 40).

y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que tiene una secuencia que es al menos parcialmente complementaria a una porción del ORF X de un ARNm del VHB.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos o más agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende:

i) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCC (SEQ ID NO: 17), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGACUUCUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 44). o

ii) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGAAAAUUGAGAGAAGUCC (SEQ ID NO: 18), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGACUUCUCUCUCAAUUUUCA (SEQ ID NO: 45);

y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que tiene una secuencia que es al menos parcialmente complementaria a una porción del ORF X de un ARNm del VHB:

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos o más agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que tiene una secuencia que es al menos parcialmente complementaria a una porción del ORF de un ARNm del VHB, y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende:

i) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 27), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUC (SEQ ID NO: 54); o

ii) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 28), y una cadena codificante que comprende la secuencia nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUU (SEQ ID NO: 55); o

iii) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAG (SEQ ID NO: 29), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 56).

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente comprende:

a. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUUAU (SEQ ID NO: 149); o

b. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGGCCU (SEQ ID NO: 150); o

c. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGGC (SEQ ID NO: 151); o

d. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGAAAAUUGAGAGAAGUCCUU (SEQ ID NO: 152); o

e. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGUU (SEQ ID NO: 154); o

f. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACG (SEQ ID NO: 160); o

g. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162); o

h. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUU (SEQ ID NO: 163); o

i. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5 '→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACGA (SEQ ID NO: 170); o

j. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171); o

k. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCUU (SEQ ID NO: 172); o

l. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCCU (SEQ ID NO: 173); o

m. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCAUU (SEQ ID NO: 174); o

n. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU (SEQ ID NO: 175); o

o. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCUU (SEQ ID NO: 178); o

p. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCACUU (SEQ ID NO: 179); o

q. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCACC (SEQ ID NO: 180); o

r. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 181); o

s. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCUU (SEQ ID NO: 182); o

t. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCUU (SEQ ID NO: 183); o

u. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5 '→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCUC (SEQ ID NO: 184); o

v. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCUU (SEQ ID NO: 185); o

w. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCUU (SEQ ID NO: 186); o

x. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCU (SEQ ID NO: 187); o

y. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCG (SEQ ID NO: 188); o

z. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 189); o

aa. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCU (SEQ ID NO: 190); o

bb. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCU (SEQ ID NO: 191); o

cc. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCG (SEQ ID NO: 192); o

dd. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCG (SEQ ID NO: 193); o

ee. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGGG (SEQ ID NO: 194);

y en donde el agente de iARN del VHB comprende, además, una cadena codificante al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante respectiva.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente comprende:

a. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUUAU (SEQ ID NO: 149); o

b. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGGCCU (SEQ ID NO: 150); o

c. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGGC (SEQ ID NO: 151); o

d. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGAAAAUUGAGAGAAGUCCUU (SEQ ID NO: 152); o

e. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGUU (SEQ ID NO: 154); o

f. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencian por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACG (SEQ ID NO: 160); o

g. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162); o

h. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUU (SEQ ID NO: 163); o

i. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACGA (SEC ID NO: 170); o

j. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171); o

k. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCUU (SEQ ID NO: 172); o

l. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCCU (SEQ ID NO: 173); o

m. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCAUU (SEQ ID NO: 174); o

n. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencian por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU (SEQ ID NO: 175); o

o. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencian por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCUU (SEQ ID NO: 178); o

p. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCACUU (SEQ ID NO: 179); o

q. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCACC (SEQ ID NO: 180); o

r. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 181); o

s. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCUU (SEQ ID NO: 182); o

t. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencian por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCUU (SEQ ID NO: 183); o

u. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5 '→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCUC (SEQ ID NO: 184); o

v. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCUU (SEQ ID NO: 185); o

w. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCUU (SEQ ID NO: 186); o

x. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCU (SEQ ID NO: 187); o

y. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCG (SEQ ID NO: 188); o

z. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 189); o

aa. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCU (SEQ ID NO: 190); o

bb. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCU (SEQ ID NO: 191); o

cc. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCG (SEQ ID NO: 192); o

dd. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCG (SEQ ID NO: 193); o.

ee. una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGGG (SEQ ID NO: 194);

y en donde el agente de iARN del VHB comprende, además, una cadena codificante al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante respectiva.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente comprende:

i. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsusuAu (SEQ ID NO: 61); o

ii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfcscsu (SEQ ID NO: 62); o

iii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsu (SEQ ID NO: 63); o

iv. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc (SEQ ID NO: 64); o

v. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (SEQ ID NO: 68); o

vi. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagcsc (SEQ ID NO: 85); o

vii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfsusugagAfgAfaGfuCfcaccacsg (SEQ ID NO: 94); o

viii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfgsa (SEQ ID NO: 98); o

ix. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcsc (SEQ ID NO: 102); o

x. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcusu (SEQ ID NO: 103); o

xi. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccsu (SEQ ID NO: 104); o

xii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccusu (SEQ ID NO: 105); o

xiii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (SEQ ID NO: 107); o

xiv. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') cPrpusAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg (SEQ ID NO: 108); o

xv. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfausu (SEQ ID NO: 109); o

xvi. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsg (SEQ ID NO: 110); o

xvii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu (SEQ ID NO: 111); o

xviii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsgsa (SEQ ID NO: 112); o

xix. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacusu (SEQ ID NO: 120); o

xx. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu (SEQ ID NO: 125);

xxi. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (SEQ ID NO: 126); o

xxii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacusu (SEQ ID NO: 127); o

xxiii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacsc (SEQ ID NO: 128); o

xxiv. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu (SEQ ID NO: 129); o

xxv. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (SEQ ID NO: 130); o

xxvi. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (SEQ ID NO: 131); o

xxvii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (SEQ ID NO: 132); o

xxviii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusc (SEQ ID NO: 133); o

xxix. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (SEQ ID NO: 134); o

xxx. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (SEQ ID NO: 135); o

xxxi. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (SEQ ID NO: 136); o

xxxii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (SEQ ID NO: 137); o

xxxiii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (SEQ ID NO: 138); o

xxxiv. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsu (SEQ ID NO: 139); o

xxxv. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg (SEQ ID NO: 140); o

xxxvi. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (SEQ ID NO: 141); o

xxxvii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfUfAfuGfcCfuAfcAfgusu (SEQ ID NO: 142); o

xxxviii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfsc (SEQ ID NO: 143); o

xxxixi. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (SEQ ID NO: 144); o

xl. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (SEQ ID NO: 145); o

xli. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (SEQ ID NO: 146); o

xlii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5'→3') usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (SEQ ID NO: 147); o

xliii. una cadena no codificante que comprende la secuencia que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos de la secuencia (5 '→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsg (SEQ ID NO: 148);

en donde a, g, c y u son nucleótidos modificados de 2'-O metilo (2'-OMe); Af, Cf, Gf y Uf son nucleótidos modificados de 2' fluoro; s es un enlace internucleósido de fosforotioato y los monómeros de nucleótidos restantes están unidos por enlaces fosfodiéster; y cPrpu es un nucleótido modificado de 5'-ciclopropil fosfonato-2'-O-metilo; y en donde el agente de iARN del VHB comprende, además, una cadena codificante al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante respectiva.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente comprende:

i. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsusuAu (SEQ ID NO: 61); o

ii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfcscsu (SEQ ID NO: 62); o

iii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsu (SEQ ID NO: 63); o

iv. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc (SEQ ID NO: 64); o

v. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (SEQ ID NO: 68); o

vi. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagcsc (SEQ ID NO: 85); o

vii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfsusugagAfgAfaGfuCfcaccacsg (SEQ ID NO: 94); o

viii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfgsa (SEQ ID NO: 98); o

ix. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcsc (SEQ ID NO: 102); o

x. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcusu SEQ ID NO: 103); o

xi. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccsu (SEQ ID NO: 104); o

xii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccusu (SEQ ID NO: 105); o

xiii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (SEQ ID NO: 107); o

xiv. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') cPrpusAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg (SEQ ID NO: 108); o

xv. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfausu (SEQ ID NO: 109); o

xvi. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsg (SEQ ID NO: 110); o

xvii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu (SEQ ID NO: 111); o

xviii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsgsa (SEQ ID NO: 112); o

xix. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacusu (SEQ ID NO: 120); o

xx. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5 '→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu (SEQ ID NO: 125);

xxi. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (SEQ ID NO: 126); o

xxii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacusu (SEQ ID NO: 127); o

xxiii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacsc (SEQ ID NO: 128); o

xxiv. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu (SEQ ID NO: 129); o

xxv. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (SEQ ID NO: 130); o

xxvi. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (SEQ ID NO: 131); o

xxvii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (SEQ ID NO: 132); o

xxviii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusc (SEQ ID NO: 133); o

xxix. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (SEQ ID NO: 134); o

xxx. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (SEQ ID NO: 135); o

xxxi. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (SEQ ID NO: 136); o

xxxii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (SEQ ID NO: 137); o

xxxiii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (SEQ ID NO: 138); o

xxxiv. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsu (SEQ ID NO: 139); o

xxxv. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg (SEQ ID NO: 140); o

xxxvi. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') asAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (SEQ ID NO: 141); o

xxxvii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfUfAfuGfcCfuAfcAfgusu (SEQ ID NO: 142); o

xxxviii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfsc SEQ ID NO: 143); o

xxxixi. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (SEQ ID NO: 144); o

xl. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (SEQ ID NO: 145); o

xli. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (SEQ ID NO: 146); o

xlii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') uscfandaufuufaufgcfcufacfagfccsg (SEQ ID NO: 147); o

xliii. una cadena no codificante que consiste en la secuencia (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsg (SEQ ID NO: 148);

en donde a, g, c y u son nucleótidos modificados de 2'-O metilo (2'-OMe); Af, Cf, Gf y Uf son nucleótidos modificados de 2' fluoro; s es un enlace internucleósido de fosforotioato y los monómeros de nucleótidos restantes están unidos por enlaces fosfodiéster; y cPrpu es un nucleótido modificado de 5'-ciclopropil fosfonato-2'-O-metilo; y en donde el agente de iARN del VHB comprende, además, una cadena codificante al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante respectiva.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente comprende:

a. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUT (SEQ ID NO: 275); o

b. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUAUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 276); o

c. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU (SEQ ID NO: 278); o

d. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5 '→3') CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU (SEQ ID NO: 285); o

e. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CGUGGUGGACUUCUCUCAAUA (SEQ ID NO: 289); o

f. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 292); o

g. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 294); o

h. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UCGUGGUGGACUUCUCUCAAUU (SEQ ID NO: 300); o

i. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); o

j. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU (SEQ ID NO: 303); o

k. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU (SEQ ID NO: 304); o

l. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 306); o

m. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307); o

n. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AAUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 308); o

o. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGACUUCUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 318); o

p. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 319); o

q. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGACUUCUCUCAAUUUUCA (SEQ ID NO: 320); o

r. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCA (SEQ ID NO: 321); o

s. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 322); o

t. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 323); o

u. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GAGGCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 324); o

v. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUUGGA (SEQ ID NO: 325); o

w. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGA (SEQ ID NO: 326); o

x. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 327); o

y. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 328); o

z. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUU (SEQ ID NO: 329); o

aa. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGGCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 330); o

bb. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGGCUGUAGGCAUAAAUUGGA (SEQ ID NO: 331); o

cc. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CGGCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 332); o

dd. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CGGCUGUAGGCAUAAAUUGGA (SEQ ID NO: 333); o

ee. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 334);

y en donde el agente de iARN del VHB comprende, además, una cadena no codificante al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante respectiva.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente comprende:

a. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') UUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUT (SEQ ID NO: 275); o

b. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') UAUAUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 276); o

c. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU (SEQ ID NO: 278); o

d. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU (SEQ ID NO: 285); o

e. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CGUGGUGGACUUCUCUCAAUA (SEQ ID NO: 289); o

f. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 292); o

g. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 294); o

h. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') UCGUGGUGGACUUCUCUCAAUU (SEQ ID NO: 300); o

i. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GUGGACUUCUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); o

j. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU (SEQ ID NO: 303); o

k. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU (SEQ ID NO: 304); o

l. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 306); o

m. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307); o

n. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') AAUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 308); o

o. una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases (5'→3') GGACUUCUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 318); o

p. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GGUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 319); o

q. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GGACUUCUCUCUCAAUUUUCA (SEQ ID NO: 320); o

r. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GUGGACUUCUCUCUCAAUUUUCA (SEQ ID NO: 321); o

s. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 322); o

t. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 323); o

u. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GAGGCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 324); o

v. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUUGGA (SEQ ID NO: 325); o

w. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGA (SEQ ID NO: 326); o

x. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') AGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 327); o

y. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 328); o

z. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUU (SEQ ID NO: 329); o

aa. una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases (5'→3') AGGCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 330); o

bb. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') AGGCUGUAGGCAUAAAUUGGA (SEQ ID NO: 331); o

cc. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CGGCUGUAGGCAUAAAUUGGU (SEQ ID NO: 332); o

dd. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CGGCUGUAGGCAUAAAUUGGA (SEQ ID NO: 333); o

ee. una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 334);

y en donde el agente de iARN del VHB comprende, además, una cadena no codificante al menos parcialmente complementaria a la cadena no codificante respectiva.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende una secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU (SEQ ID NO: 175), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307); y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende: una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGUU (SEQ ID NO: 154), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 292).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos

agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU (SEQ ID NO: 175), y una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307); y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGUU (SEQ ID NO: 154), y una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA SEQ ID NO: 292).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCG (SEQ ID NO: 188), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 328).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCG (SEQ ID NO: 188), y una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 328).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases

de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 294).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162), y una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 294).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que comprende

la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde un primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde un segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162), y una cadena codificante que consiste en la secuencia de nucleobases (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos

agentes de iARN del VHB, en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena codificante están modificados y/o todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena no codificante en el primer y/o segundo agente de iARN del VHB son nucleótidos modificados, y en donde el primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU (SEQ ID NO: 175), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307); y en donde el segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGUU (SEQ ID NO: 154), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 292).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena codificante están modificados y/o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena no codificante en el primer y/o segundo agente de iARN del VHB son nucleótidos modificados, y en donde el primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no

codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde el segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCG (SEQ ID NO: 188), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 328).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena codificante están modificados y/o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena no codificante en el primer y/o segundo agente de iARN del VHB son nucleótidos modificados, y en donde el primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde el segundo agente de iARN del VHB comprende una

cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 294).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena codificante están modificados y/o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena no codificante en el primer y/o segundo agente de iARN del VHB son nucleótidos modificados, y en donde el primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde el segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307).

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena codificante están modificados y/o todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena no codificante en el primer y/o segundo agente de iARN del VHB son nucleótidos modificados, y en donde el primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU (SEQ ID NO: 175), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307); y en donde el segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGUU (SEQ ID NO: 154), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 292), y en donde la cadena codificante del primer agente de iARN del VHB y el segundo agente de iARN del VHB se conjugan con un ligando objetivo que comprende N-acetilgalactosamina.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena codificante están modificados y/o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena no codificante en el primer y/o segundo agente de iARN del VHB son nucleótidos modificados, y en donde el primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde el segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCG (SEQ ID NO: 188), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 328), y en donde la cadena codificante del primer agente de iARN del VHB y el segundo agente de iARN del VHB se conjugan con un ligando de direccionamiento que comprende N-acetilgalactosamina.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos

agentes de iARN del VHB, en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena codificante están modificados y/o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena no codificante en el primer y/o segundo agente de iARN del VHB son nucleótidos modificados, y en donde el primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde el segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA (SEQ ID NO: 294), y en donde la cadena codificante del primer agente de iARN del VHB y el segundo agente de iARN del VHB se conjugan con un ligando de direccionamiento que comprende N-acetil-galactosamina.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para inhibir la expresión de un gen del VHB en una célula, la composición comprende dos agentes de iARN del VHB, en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en la cadena codificante están modificados y/o sustancialmente todos los nucleótidos en la

cadena no codificante en el primer y/o segundo agente de iARN del VHB son nucleótidos modificados, y en donde el primer agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') AGAAAAUUGAGAAGUCCAC (SEQ ID NO: 171), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (SEQ ID NO: 302); y en donde el segundo agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCC (SEQ ID NO: 162), y una cadena codificante que comprende la secuencia de nucleobases que se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleobases de la secuencia (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (SEQ ID NO: 307), y en donde la cadena codificante del primer agente de iARN del VHB y el segundo agente de iARN del VHB se conjugan con un ligando de direccionamiento que comprende N-acetil-galactosamina.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de AD04872 y una cantidad eficaz de AD05070. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD05070 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 2:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD05070 que se administra a un

sujeto que lo necesita es de aproximadamente 3:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD05070 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 1:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD05070 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 4:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD05070 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 5:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD05070 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 1:2.

En algunas modalidades, se administra aproximadamente 1 mg/kg (mpk) de AD04872 y aproximadamente 1 mg/kg de AD05070 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 1,5 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,5 mg/kg de AD05070 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 2,0 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,0 mg/kg de AD05070 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 3,0 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,0 mg/kg de AD05070 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 3,2 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 0,8 mg/kg de AD05070 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administran aproximadamente 2,7 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,3 mg/kg de AD05070 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administran aproximadamente 4,0 mg/kg de AD04872 y

aproximadamente 1,0 mg/kg de AD05070 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 3,3 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,7 mg/kg de AD05070 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 5 mg/kg de AD04872 y entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 5 mg/kg de AD05070 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, una cantidad de aproximada de AD04872 y una cantidad aproximada de AD05070 se administran por separado (p. ej., en inyecciones separadas). En algunas modalidades, la dosis respectiva de AD04872 y la dosis respectiva de AD05070 se administran juntas (p. ej., en la misma inyección). En algunas modalidades, la dosis respectiva de AD04872 y la dosis respectiva de AD05070 se preparan en una sola composición farmacéutica.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de AD04872 y una cantidad eficaz de AD04776. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04776 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 2:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04776 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 3:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04776 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 4:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a

AD04776 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 1:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04776 que se administra a un sujeto que lo necesita es 5:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04776 que se administra a un sujeto que lo necesita es 1:2.

En algunas modalidades, se administra aproximadamente 1 mg/kg (mpk) de AD04872 y aproximadamente 1 mg/kg de AD04776 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 1,5 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,5 mg/kg de AD04776 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 2,0 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,0 mg/kg de AD04776 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 3,0 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,0 mg/kg de AD04776 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 3,2 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 0,8 mg/kg de AD04776 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 2,7 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,3 mg/kg de AD04776 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 4,0 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,0 mg/kg de AD04776 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 3,3 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,7 mg/kg de AD04776 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 5 mg/kg

de AD04872 y entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 5 mg/kg de AD04776 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, las dosis respectivas de AD04872 y AD04776 se administran por separado (p. ej., en inyecciones separadas). En algunas modalidades, las respectivas dosis de AD04872 y AD04776 son administra juntas (p. ej., en la misma inyección). En algunas modalidades, las dosis respectivas de AD04872 y AD04776 se preparan en una sola composición farmacéutica.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de AD04872 y una cantidad eficaz de AD04982. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04982 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 2:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04982 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 3:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04982 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 4:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04982 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 1:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04982 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 5:1. En algunas modalidades, la relación de AD04872 con respecto a AD04982 que se administra a un sujeto que lo necesita es 1:2.

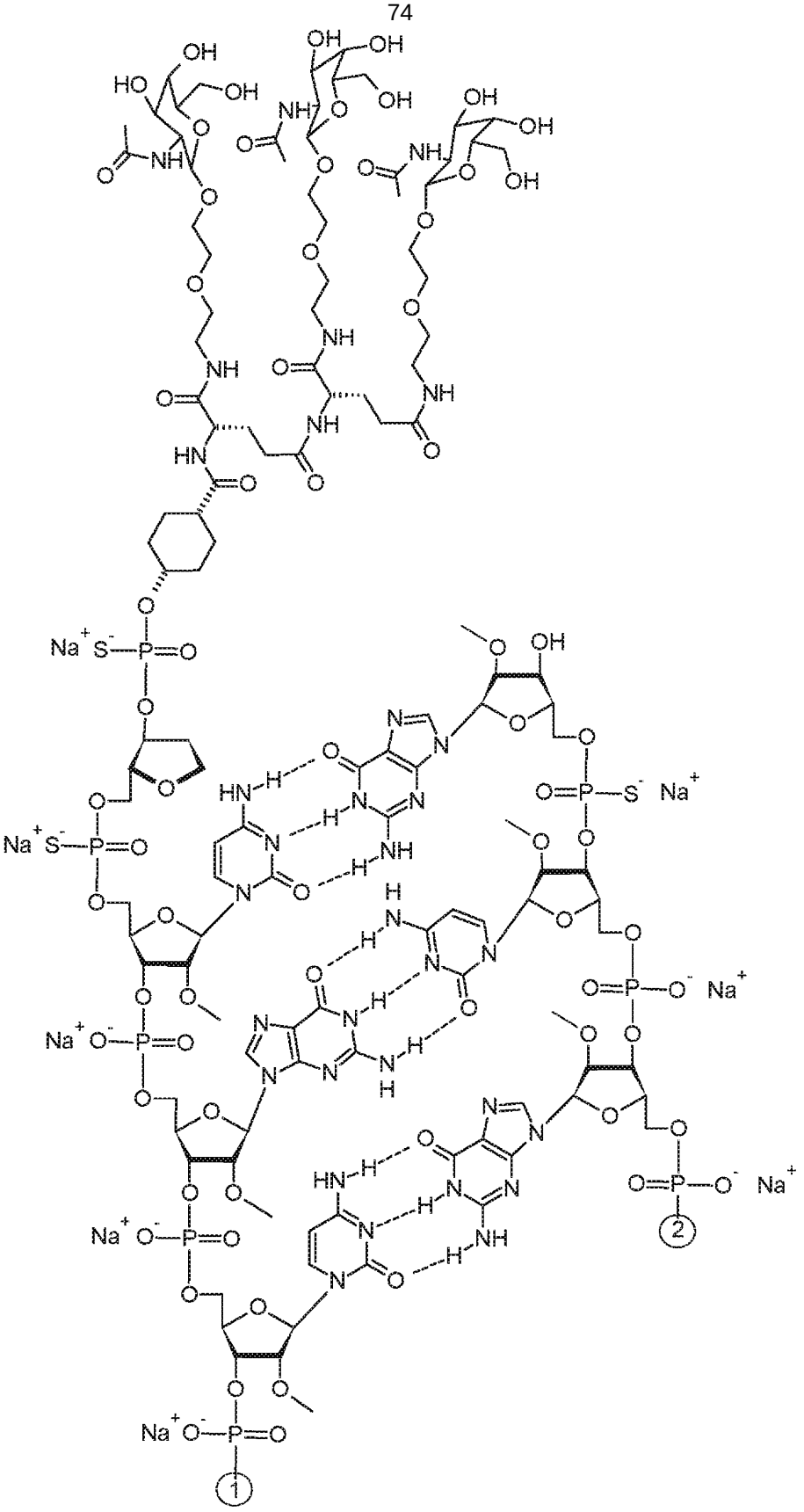
En algunas modalidades, se administra aproximadamente 1 mg/kg (mpk) de AD04872 y aproximadamente 1 mg/kg de AD04982 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 1,5 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,5 mg/kg de AD04982 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 2,0 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,0 mg/kg de AD04982 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 3,0 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,0 mg/kg de AD04982 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 3,2 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 0,8 mg/kg de AD04982 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 2,7 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,3 mg/kg de AD04982 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 4,0 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,0 mg/kg de AD04982 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 3,3 mg/kg de AD04872 y aproximadamente 1,7 mg/kg de AD04982 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 5 mg/kg de AD04872 y entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 5 mg/kg de AD04982 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, las dosis respectivas de AD04872 y AD04982 se administran por separado (p. ej., en inyecciones separadas). En algunas modalidades, las respectivas dosis de AD04872 y AD04982 son administra juntas (p. ej.,

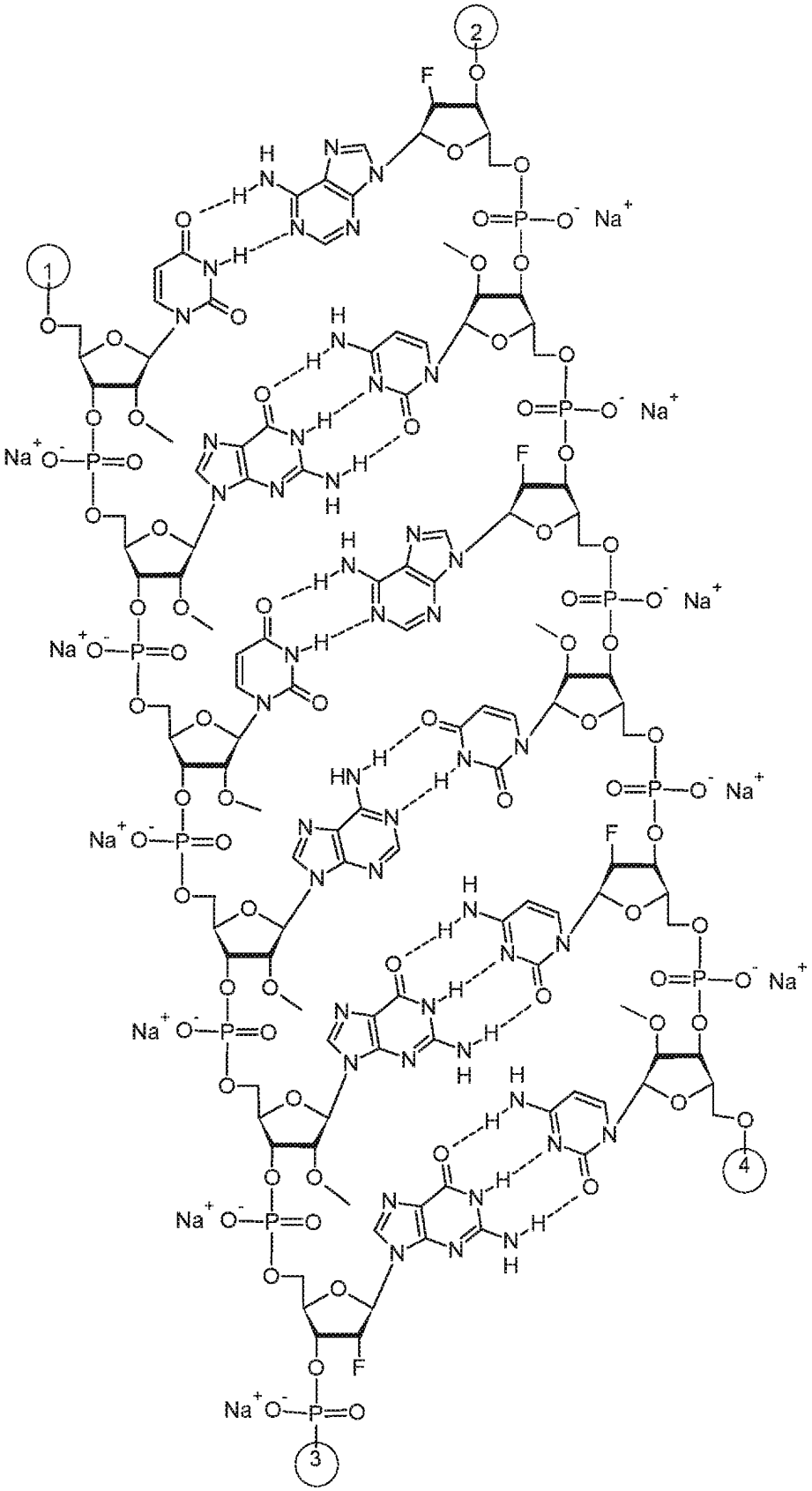
en la misma inyección). En algunas modalidades, las dosis respectivas de AD04872 y AD04982 se preparan en una sola composición farmacéutica.

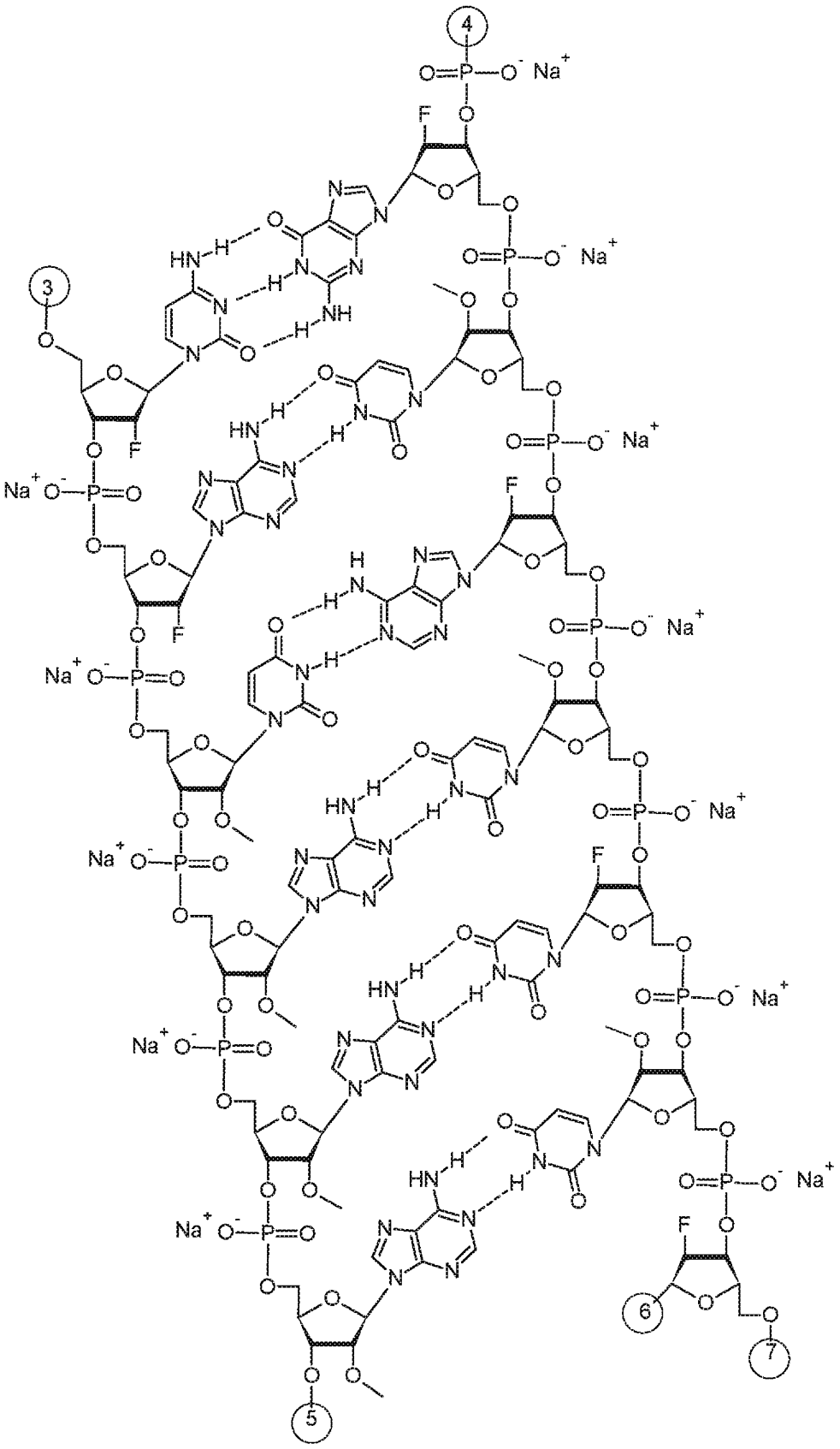
En algunas modalidades, en la presente descripción se describen métodos para el tratamiento de una infección causada por el VHB o prevención de enfermedades o síntomas causados por una infección por el VHB, el método comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de AD04580 y una cantidad eficaz de AD04585. En algunas modalidades, la relación de AD04580 con respecto a AD04585 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 2:1. En algunas modalidades, la relación de AD04580 con respecto a AD04585 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 3:1. En algunas modalidades, la relación de AD04580 con respecto a AD04585 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 4:1. En algunas modalidades, la relación de AD04580 con respecto a AD04585 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 5:1. En algunas modalidades, la relación de AD04580 con respecto a AD04585 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 1:1. En algunas modalidades, la relación de AD04580 con respecto a AD04585 que se administra a un sujeto que lo necesita es de aproximadamente 1:2. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 1 mg/kg (mpk) de AD04580 y aproximadamente 1 mg/kg de AD04585 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra aproximadamente 1,5 mg/kg de AD04580 y aproximadamente 1,5 mg/kg de AD04585 a un sujeto que lo necesita. En algunas modalidades, se administra entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 5 mg/kg de AD04580 y entre

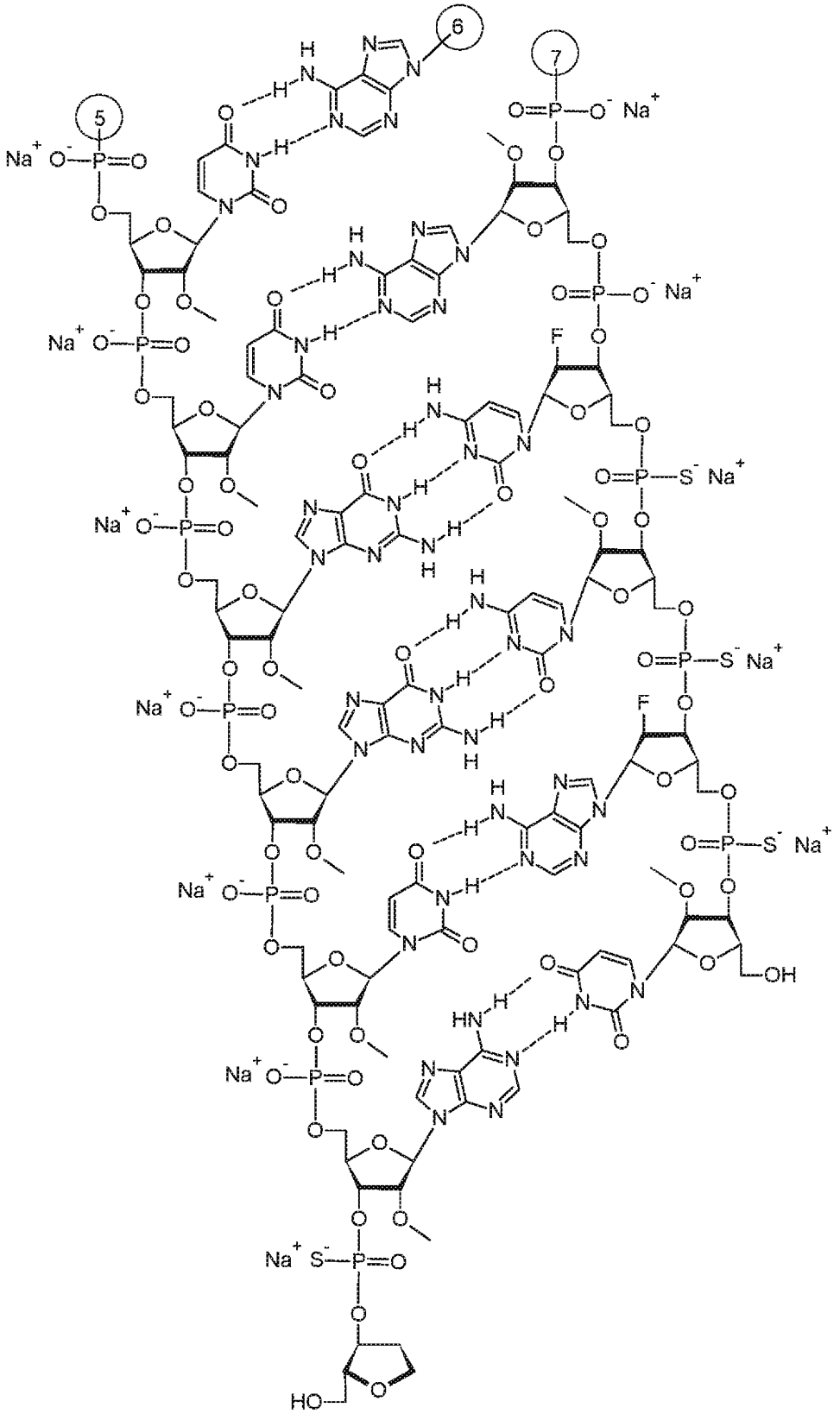
aproximadamente 0,05 y aproximadamente 5 mg/kg de AD04585 a un sujeto que lo necesita.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción consiste en o comprende AD05070 unido a (NAG37)s que se muestra como una sal sódica que tiene la estructura representada por lo siguiente:

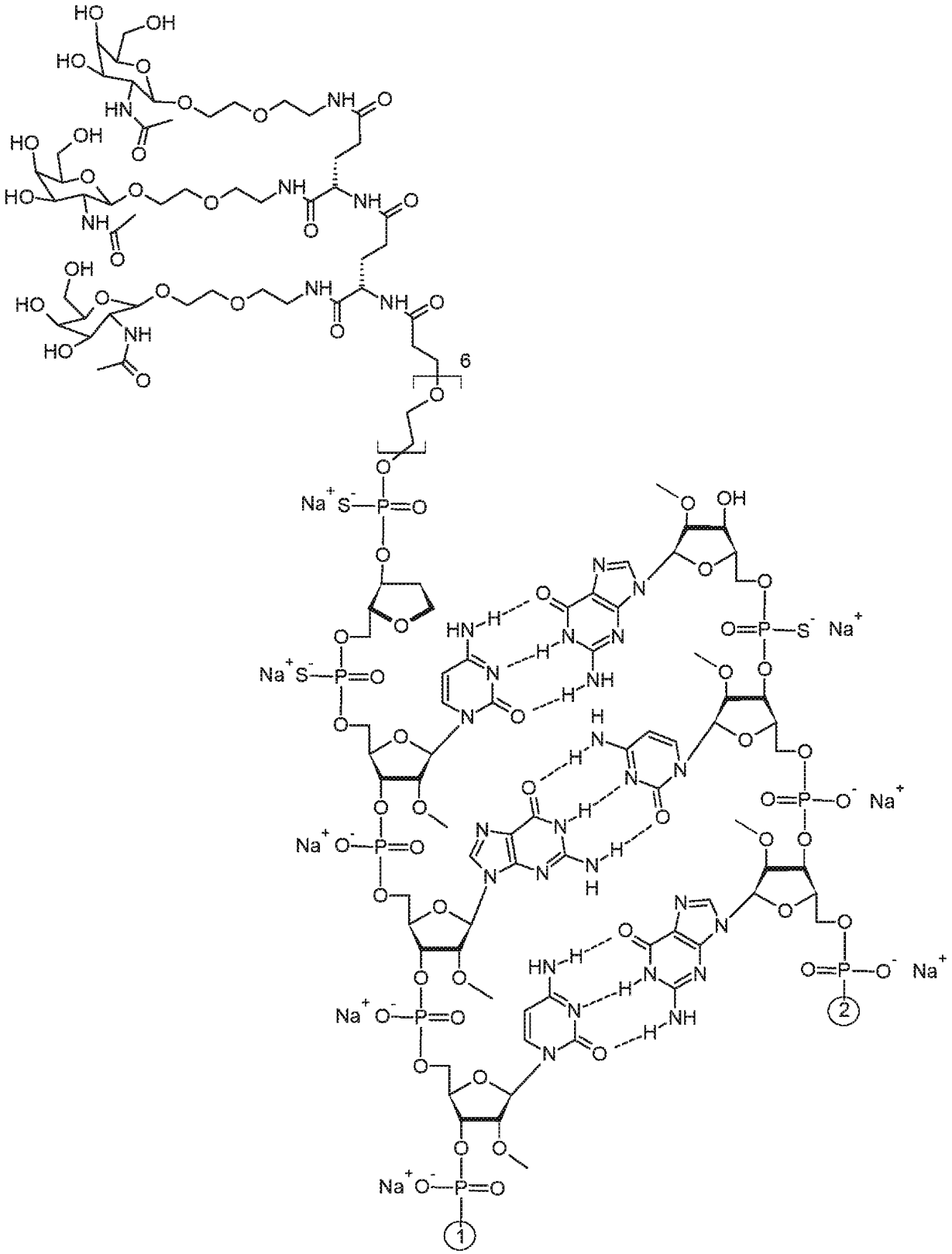



1
2
3
4
F
O
N
H
Na+
O-
P=O

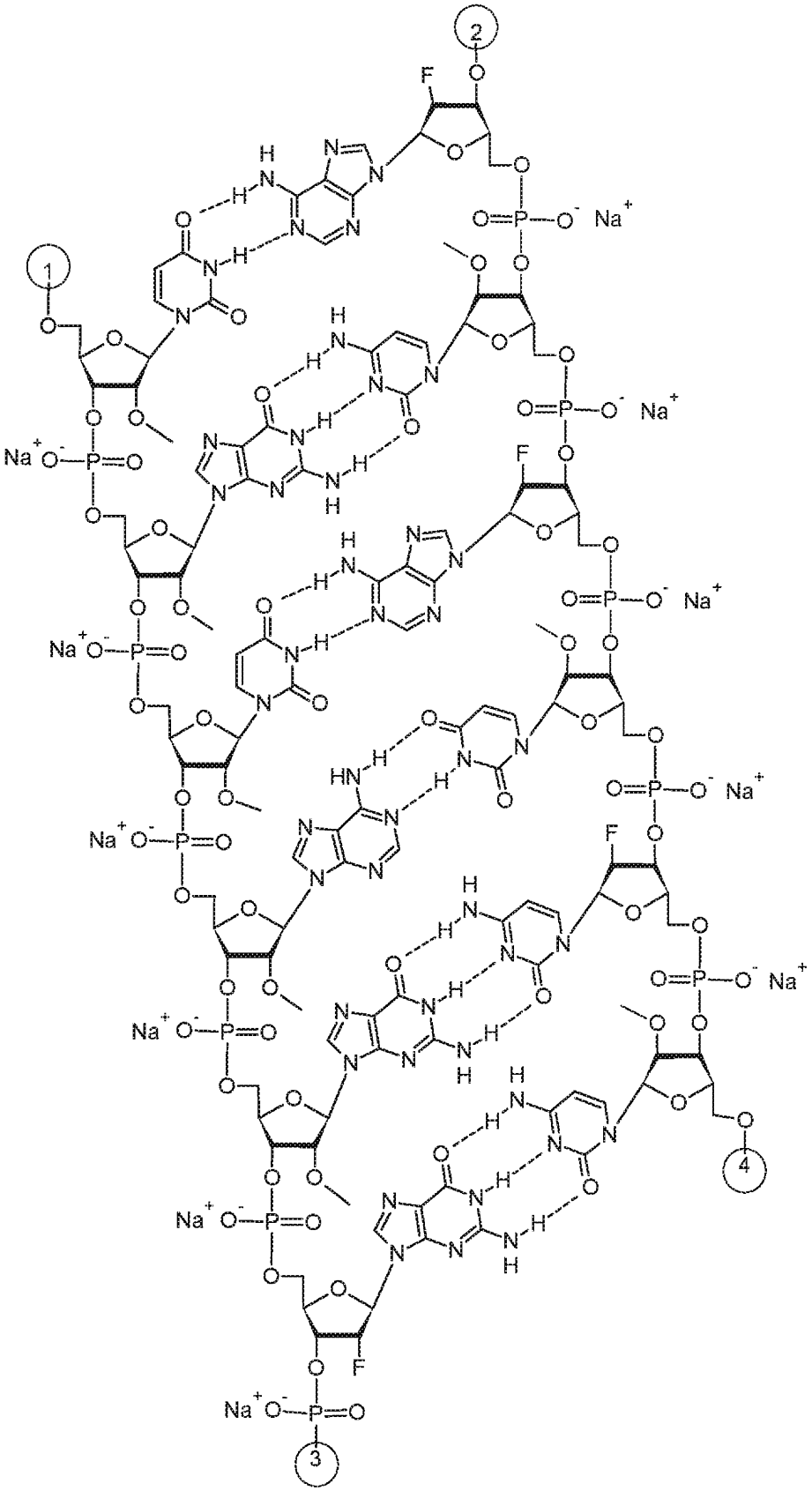

4
3
5
6
7
Na+
F

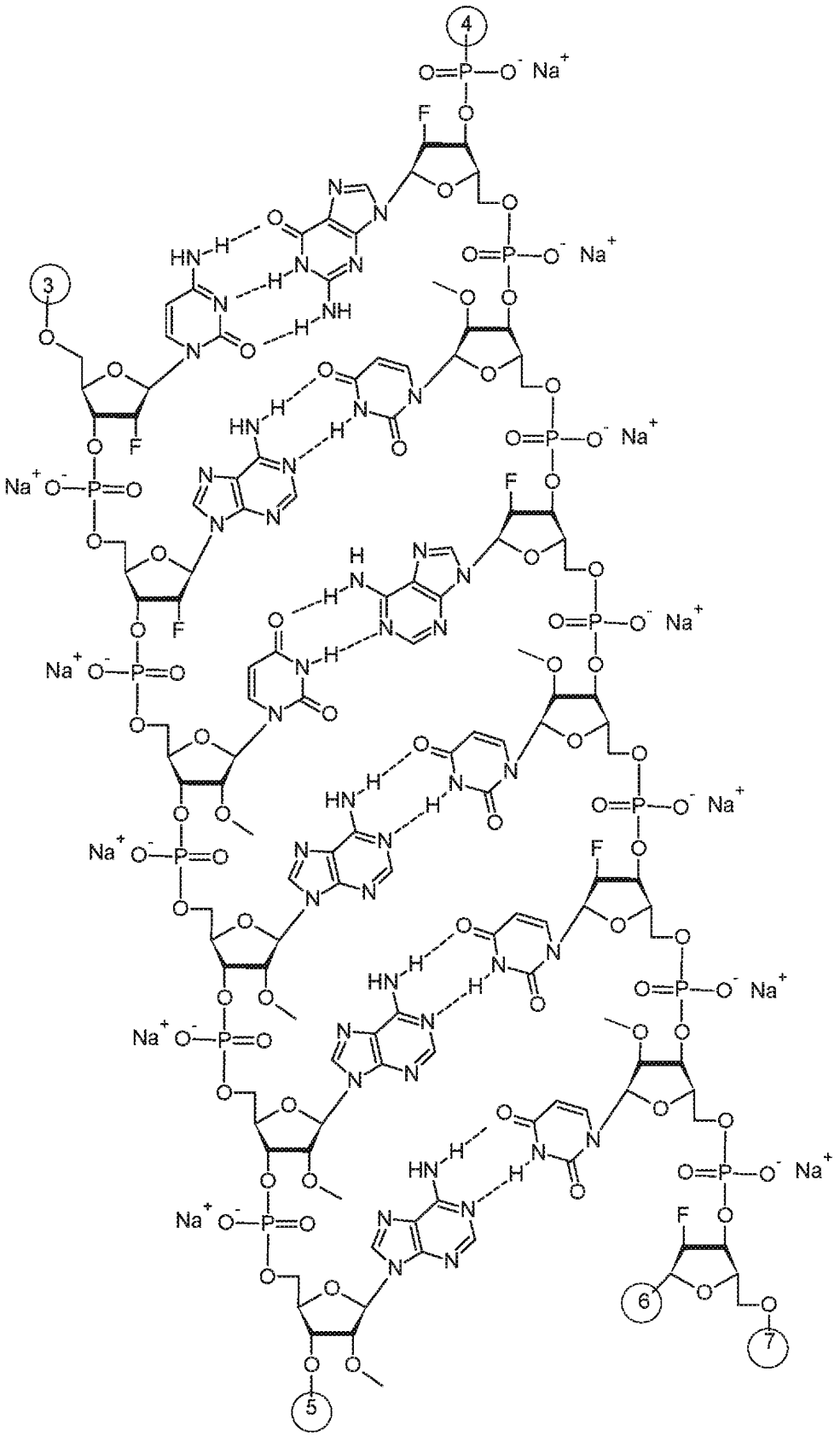

5
6
7
Na+ O- P=O
O=P—O- Na+
O=P—S- Na+
F
OH
HO
Na+ S- P=O

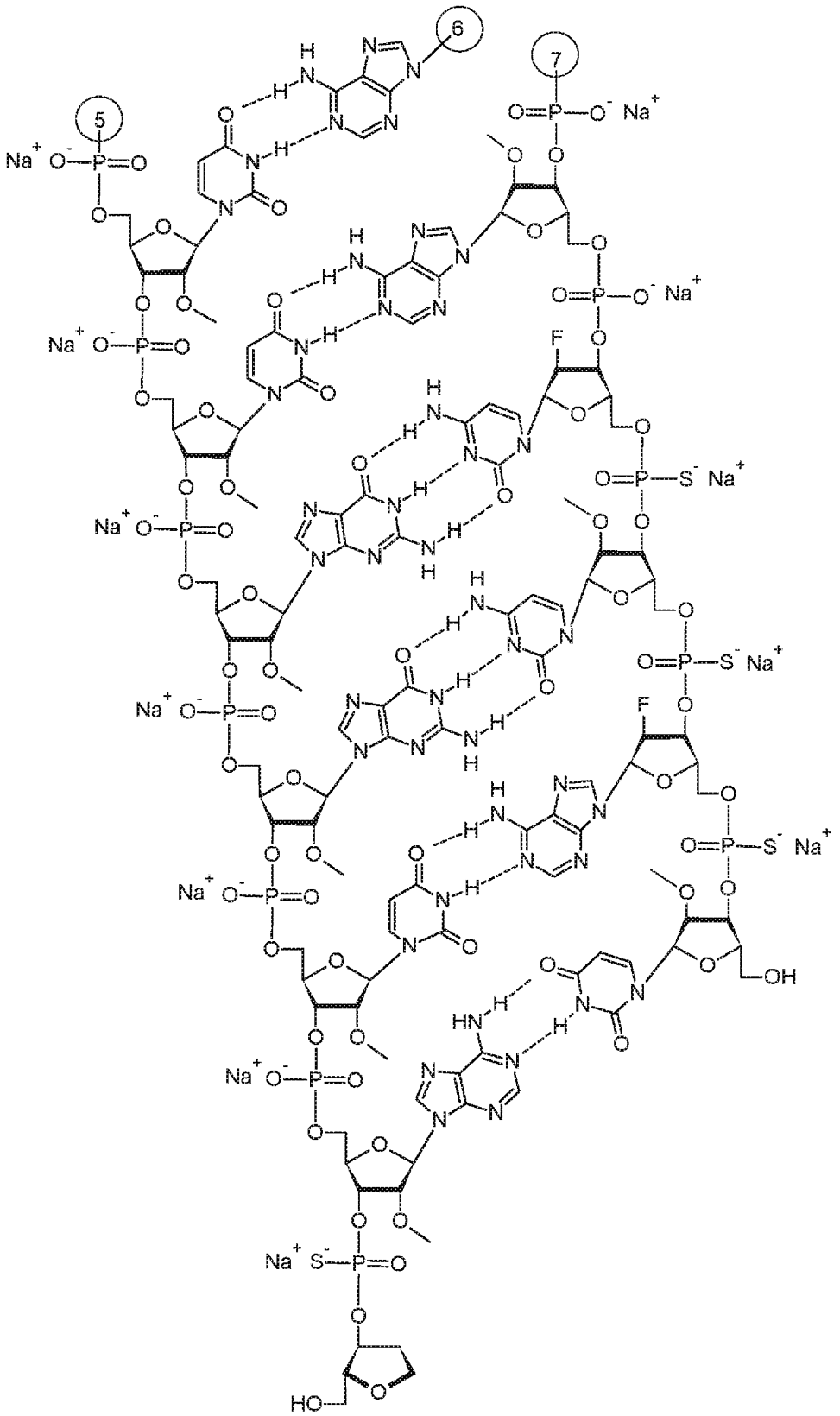
En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción consiste en o comprende AD05070 unido a (NAG25)s que se muestra como una sal sódica que tiene la estructura representada por lo siguiente:



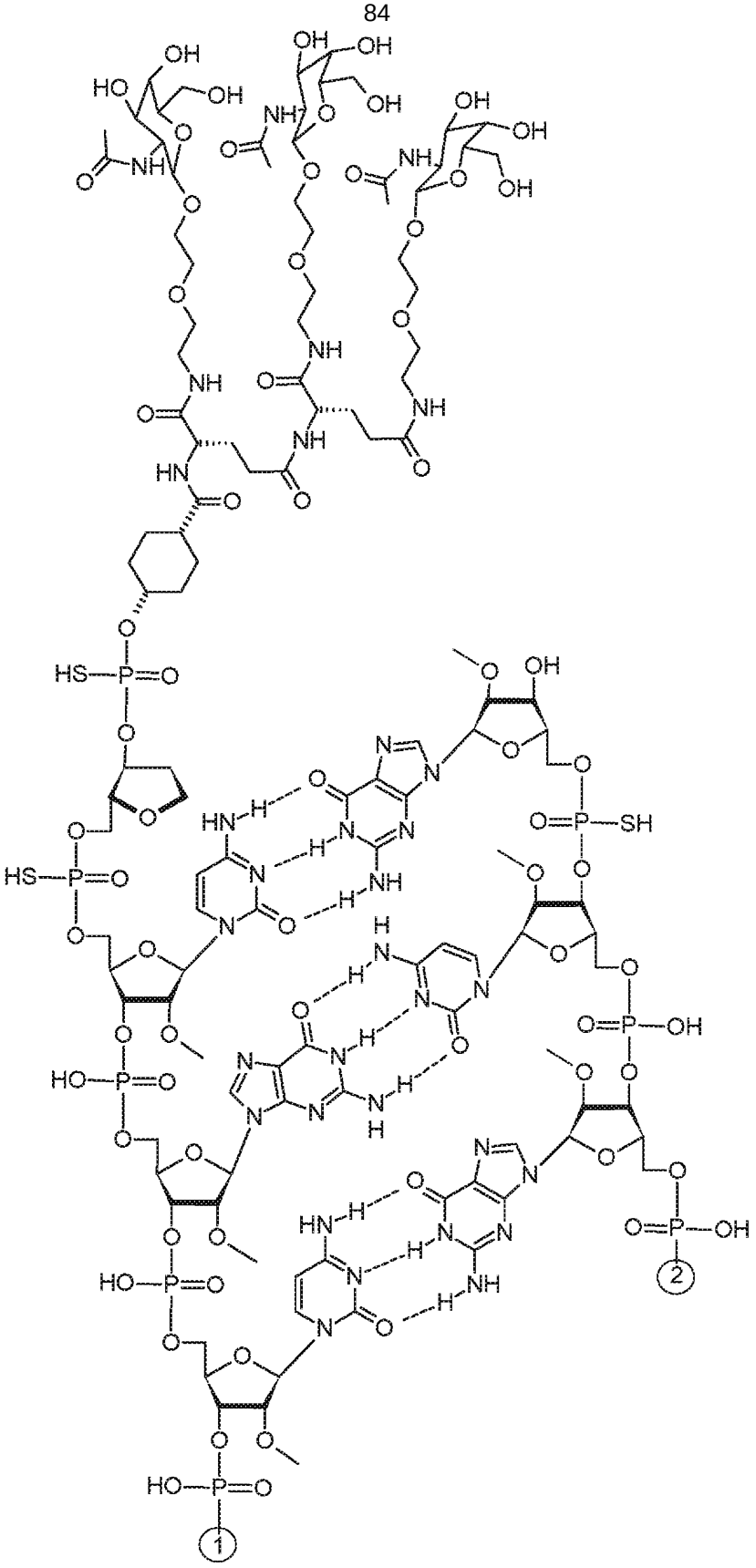
80

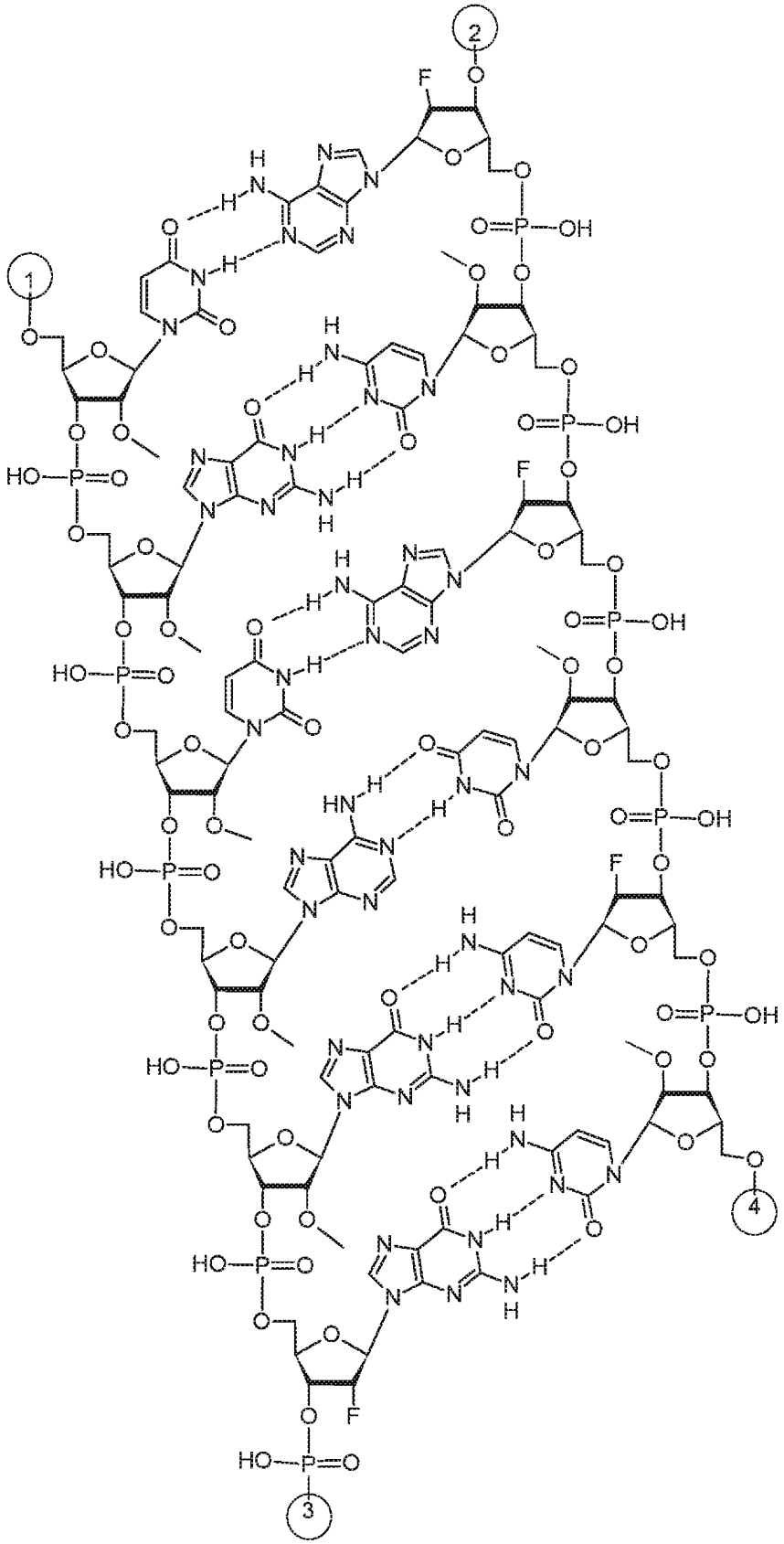


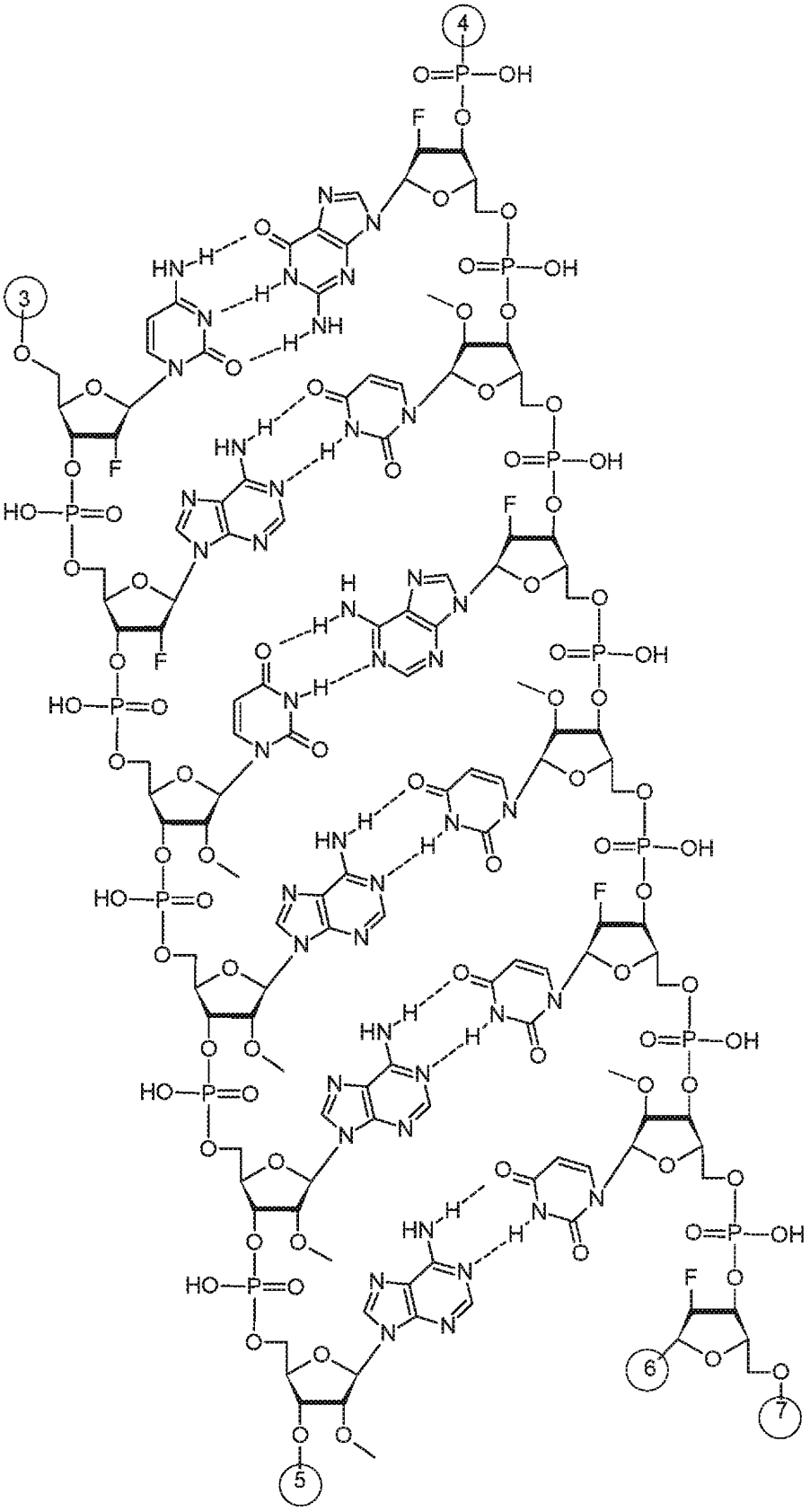

4
3
5
6
7
F
Na+ O- P=O
O=P-O- Na+
HN
NH

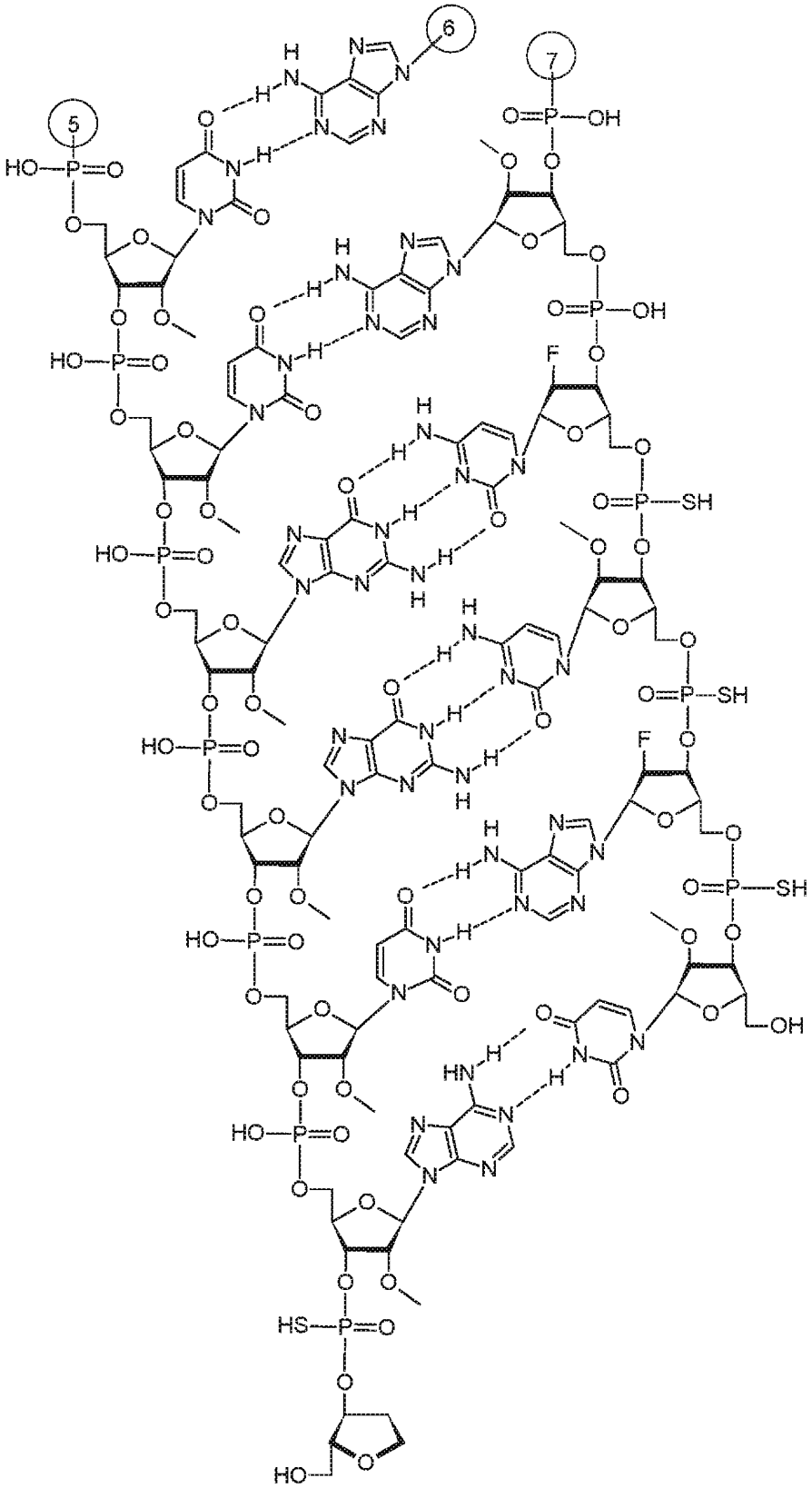

5
6
7
Na+ O- P=O
O=P-O- Na+
O=P-S- Na+
F
OH
HO
Na+ S- P=O

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción consiste en o comprende AD05070 unido a (NAG37)s que se muestra como un ácido libre que tiene la estructura representada por lo siguiente:

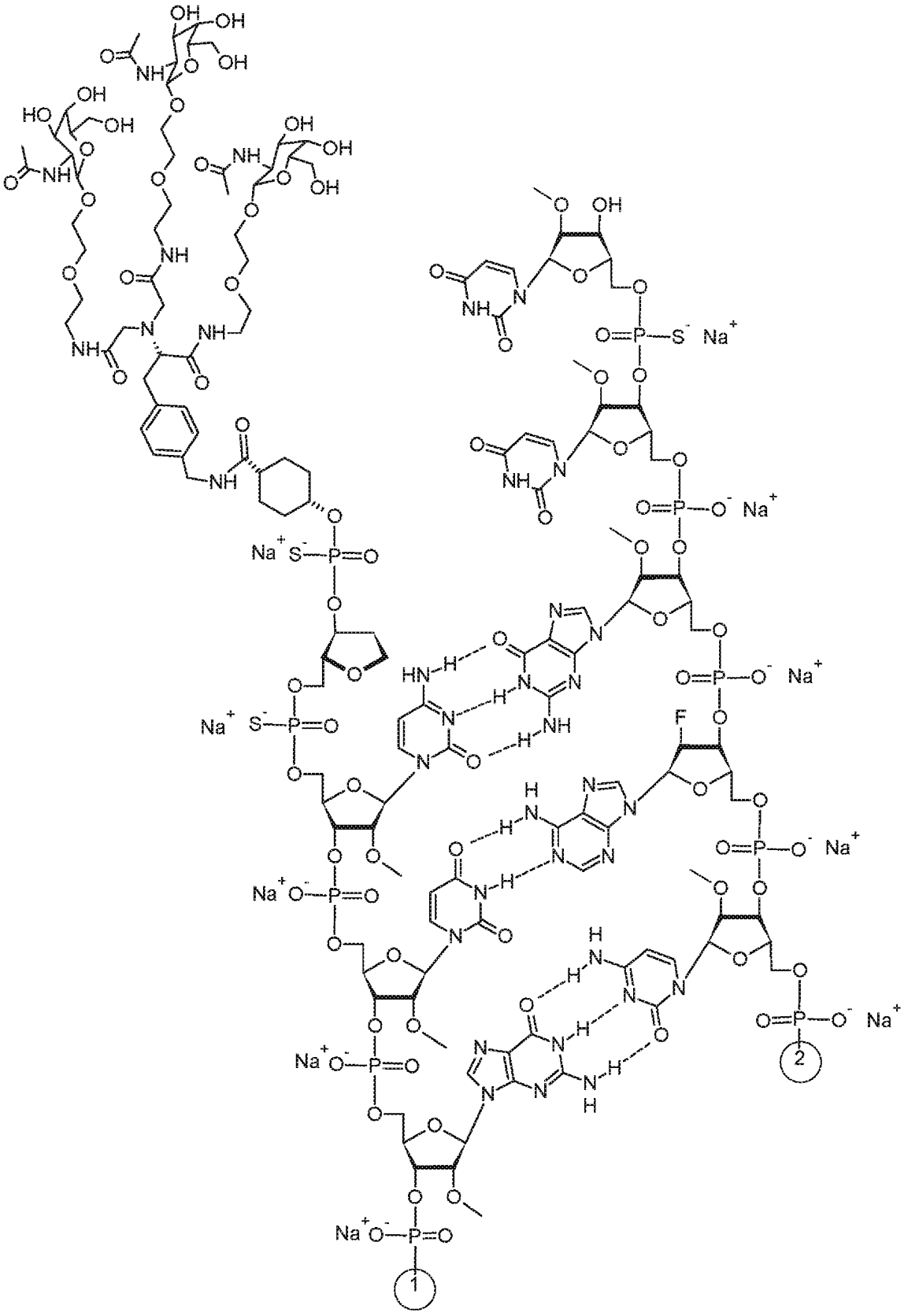


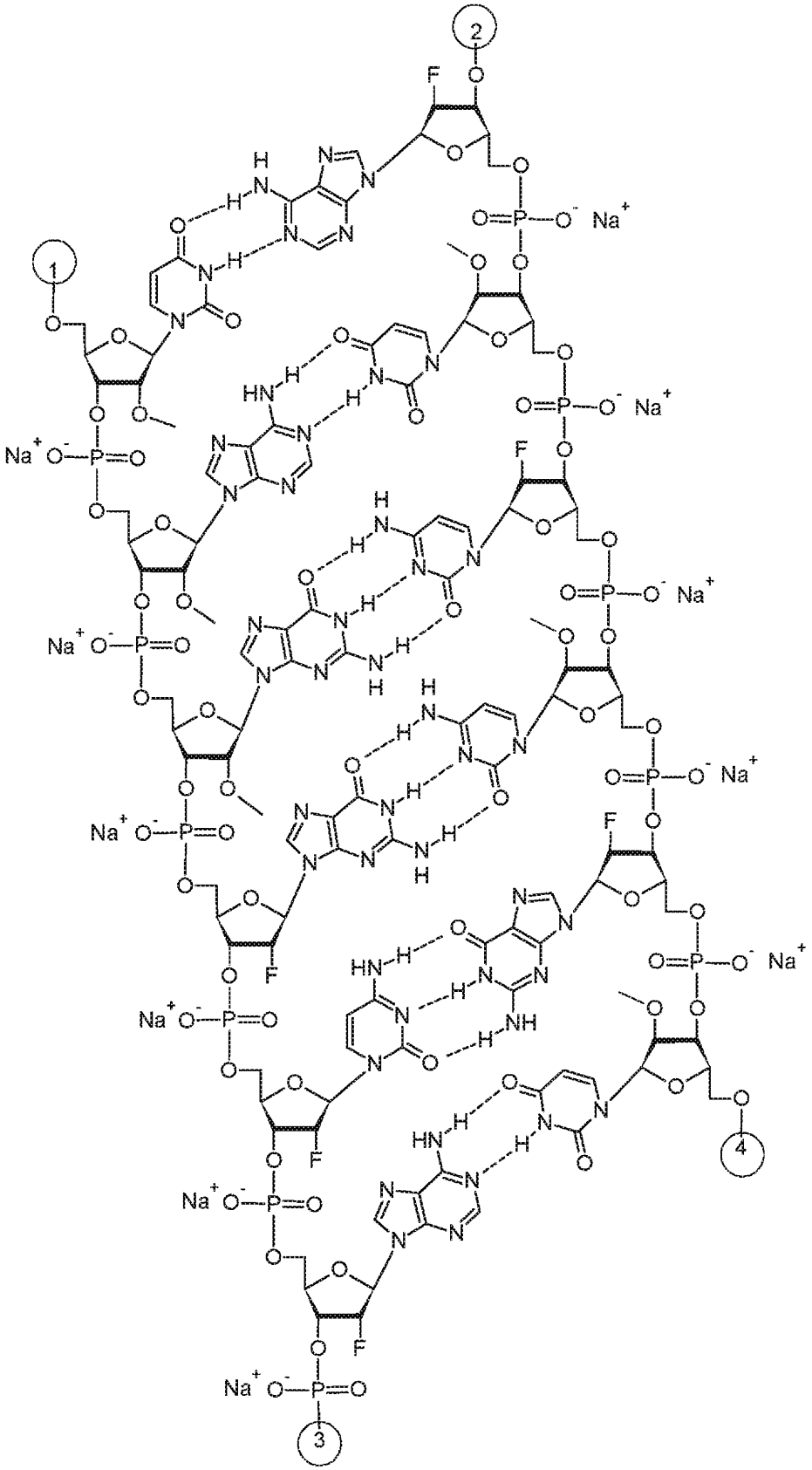

1
2
3
4
F
HO—P=O
O=P—OH

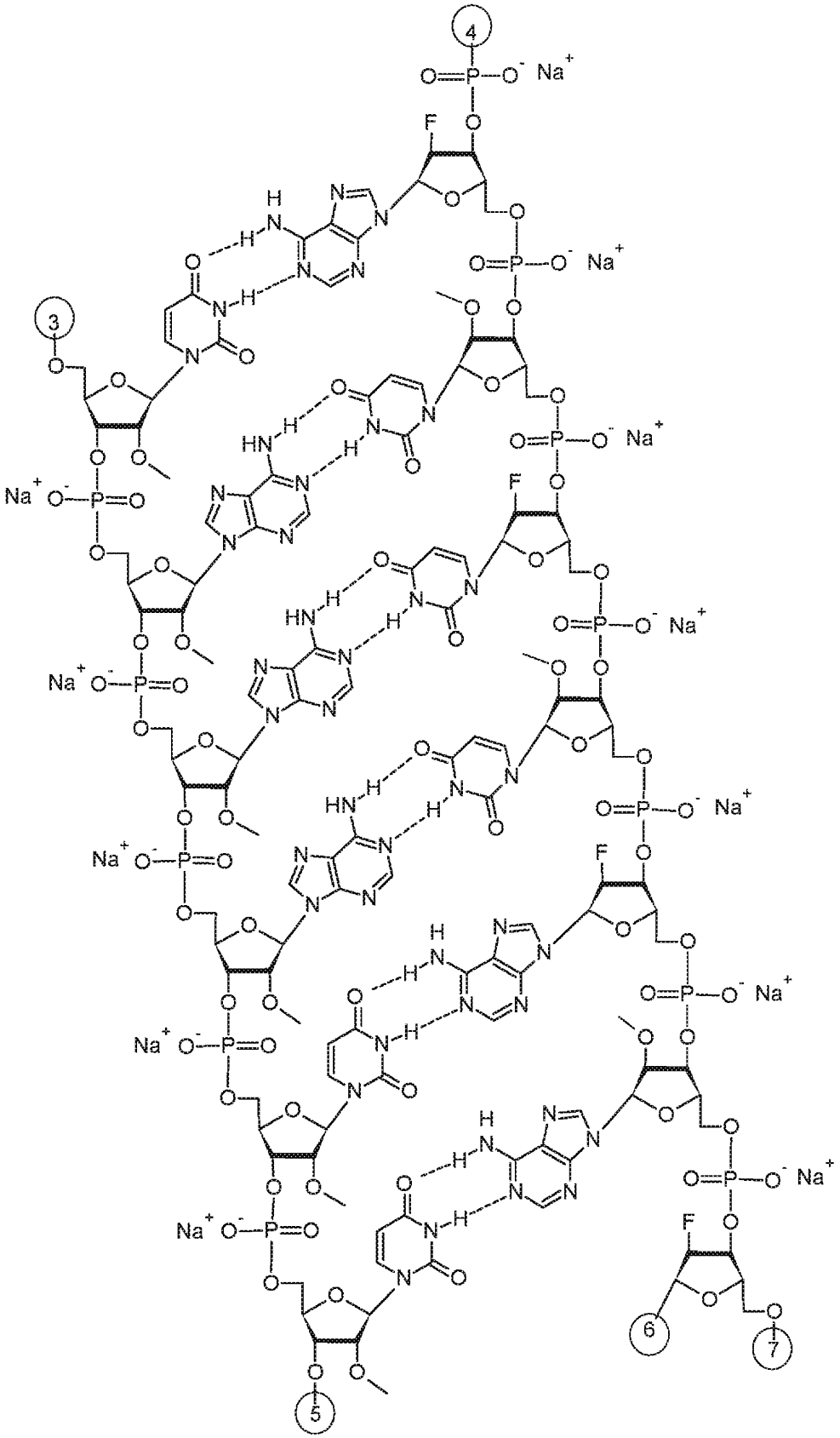

4
O=P—OH
F
O
N
N
O
HN
H
N
N
O
H
N
NH
O
N
O
3
O
O
F
O=P—OH
O
O
HO—P=O
O
HN
H
N
N
O
H
N
O
F
O
O=P—OH
N
N
N
H
N
N
O
F
O
O=P—OH
HO—P=O
O
O
O
N
H
N
N
O
O
O
O
O=P—OH
HO—P=O
O
O
HN
H
N
N
O
H
N
O
O
O=P—OH
F
HO—P=O
O
O
HN
H
N
N
O
H
N
O
O=P—OH
HO—P=O
O
O
HN
H
N
N
O
H
N
O
O=P—OH
F
O
6
O
7
O
5

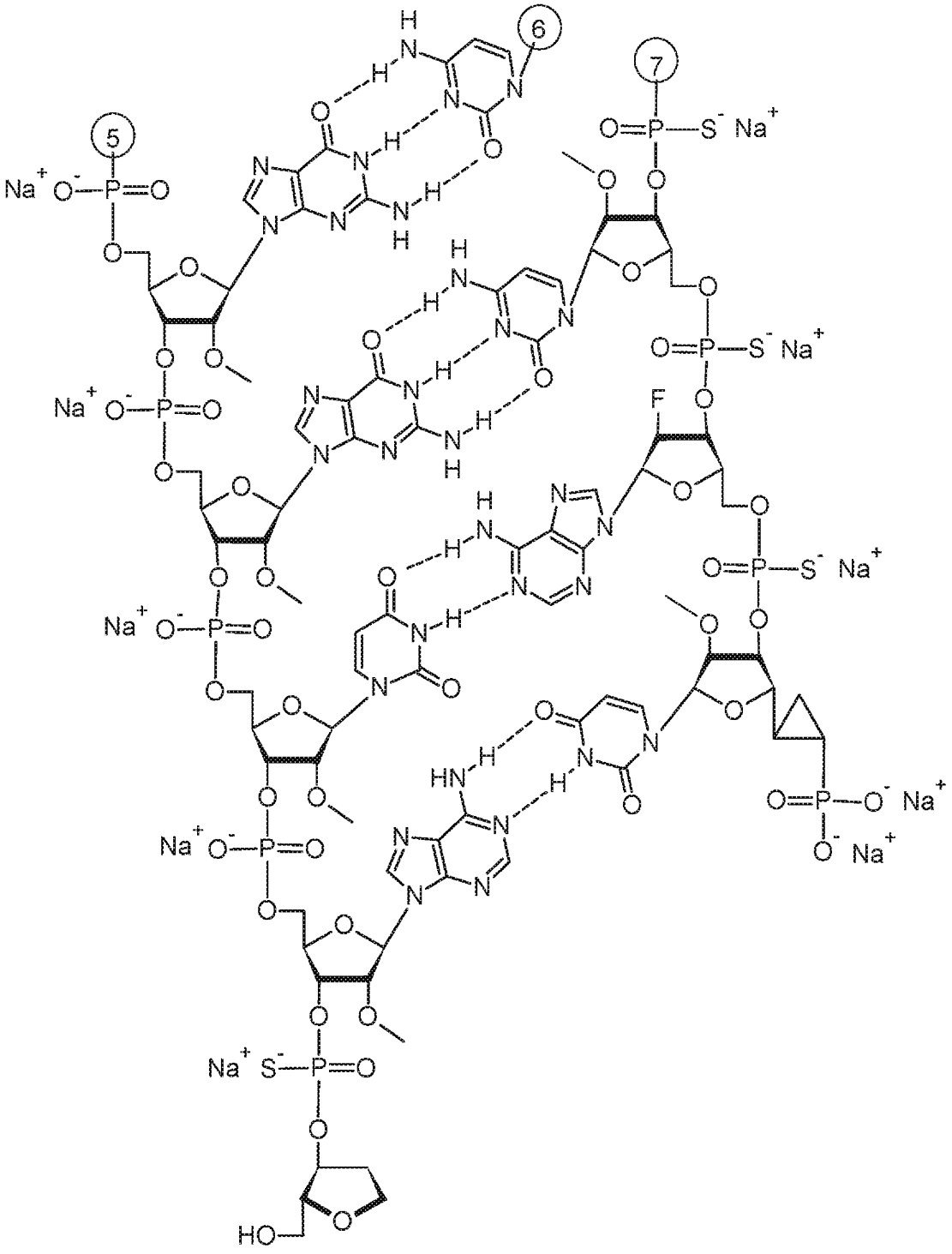

5
6
7
HO—P=O
O=P—OH
O=P—SH
F
HS—P=O
HN
OH
HO

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción consiste en o comprende AD04580 unido a (NAG31)s que se muestra como una sal sódica que tiene la estructura representada por lo siguiente:

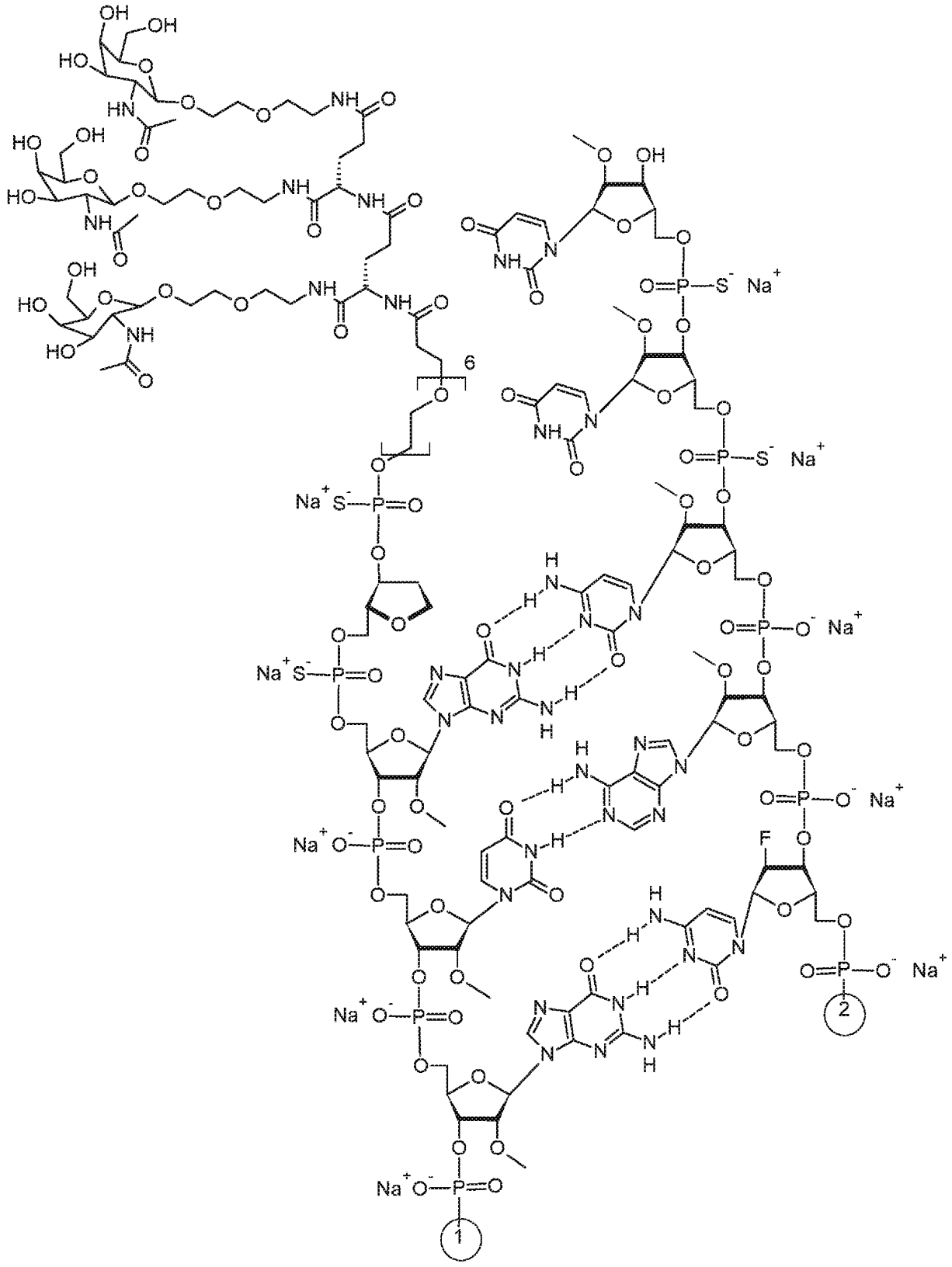


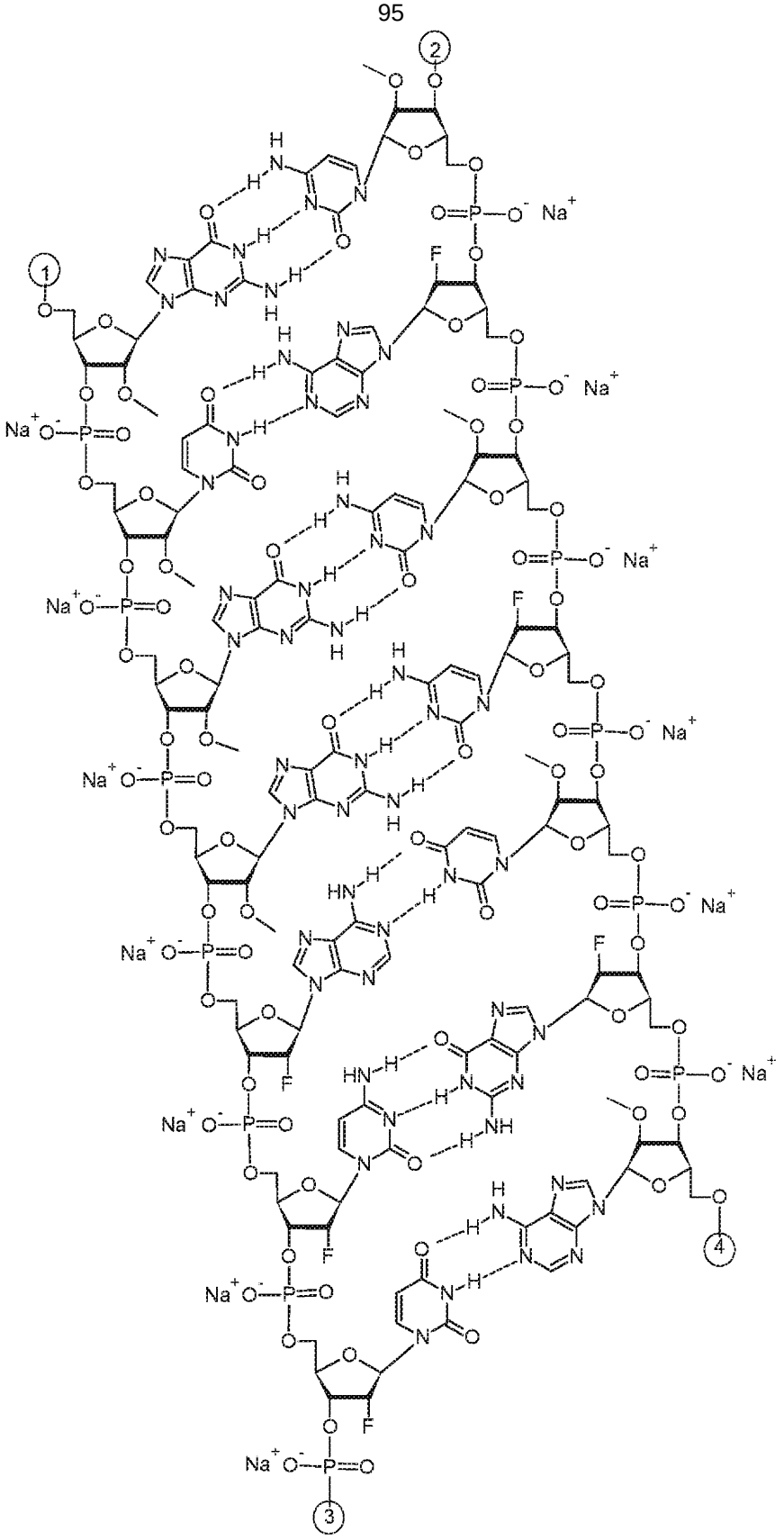


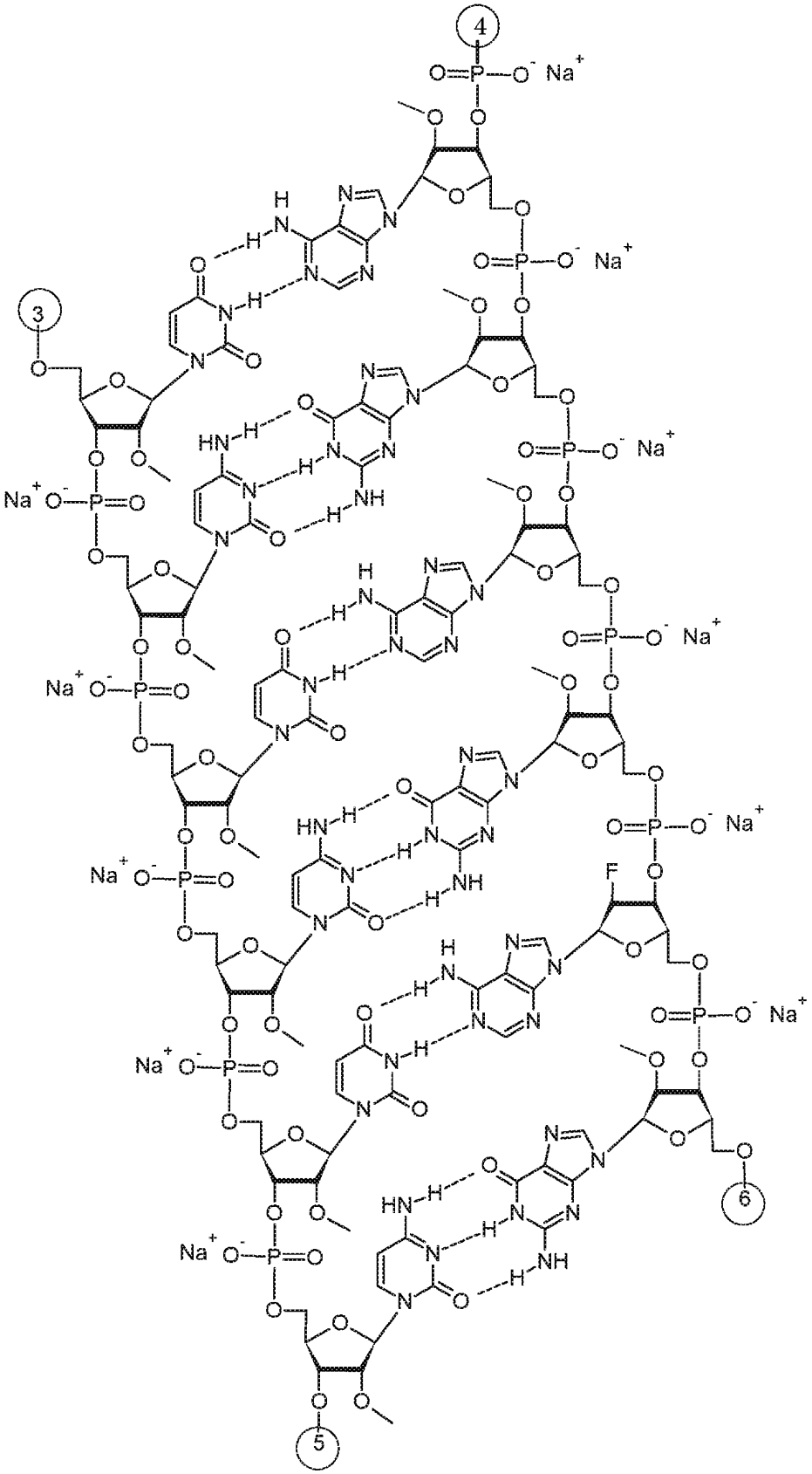

4
3
5
6
7
F
Na+

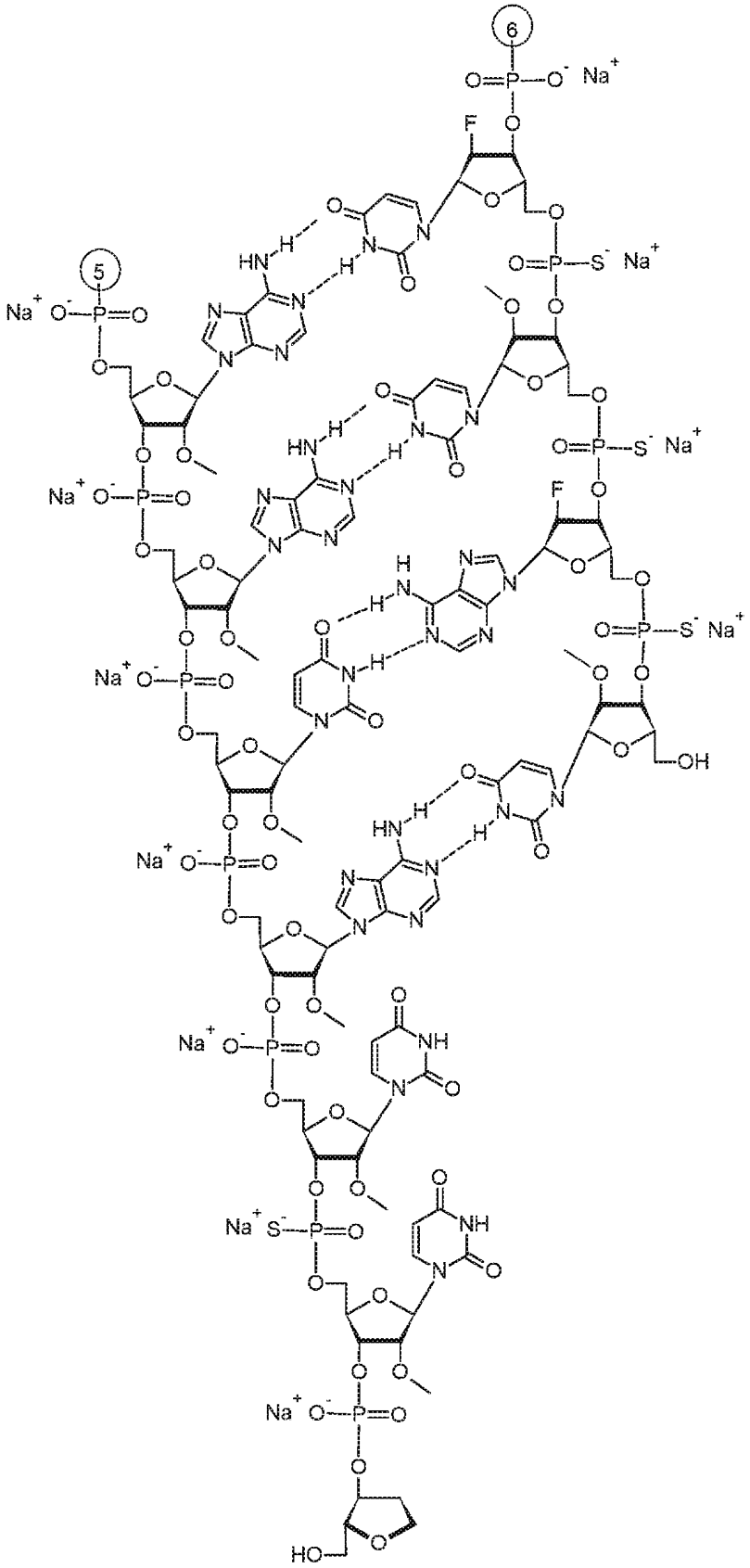

5
6
7
Na+ O- P=O
O=P—S- Na+
F
HO

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción consiste en o comprende AD04585 unido a (NAG25)s que se muestra como una sal sódica que tiene la estructura representada por lo siguiente:

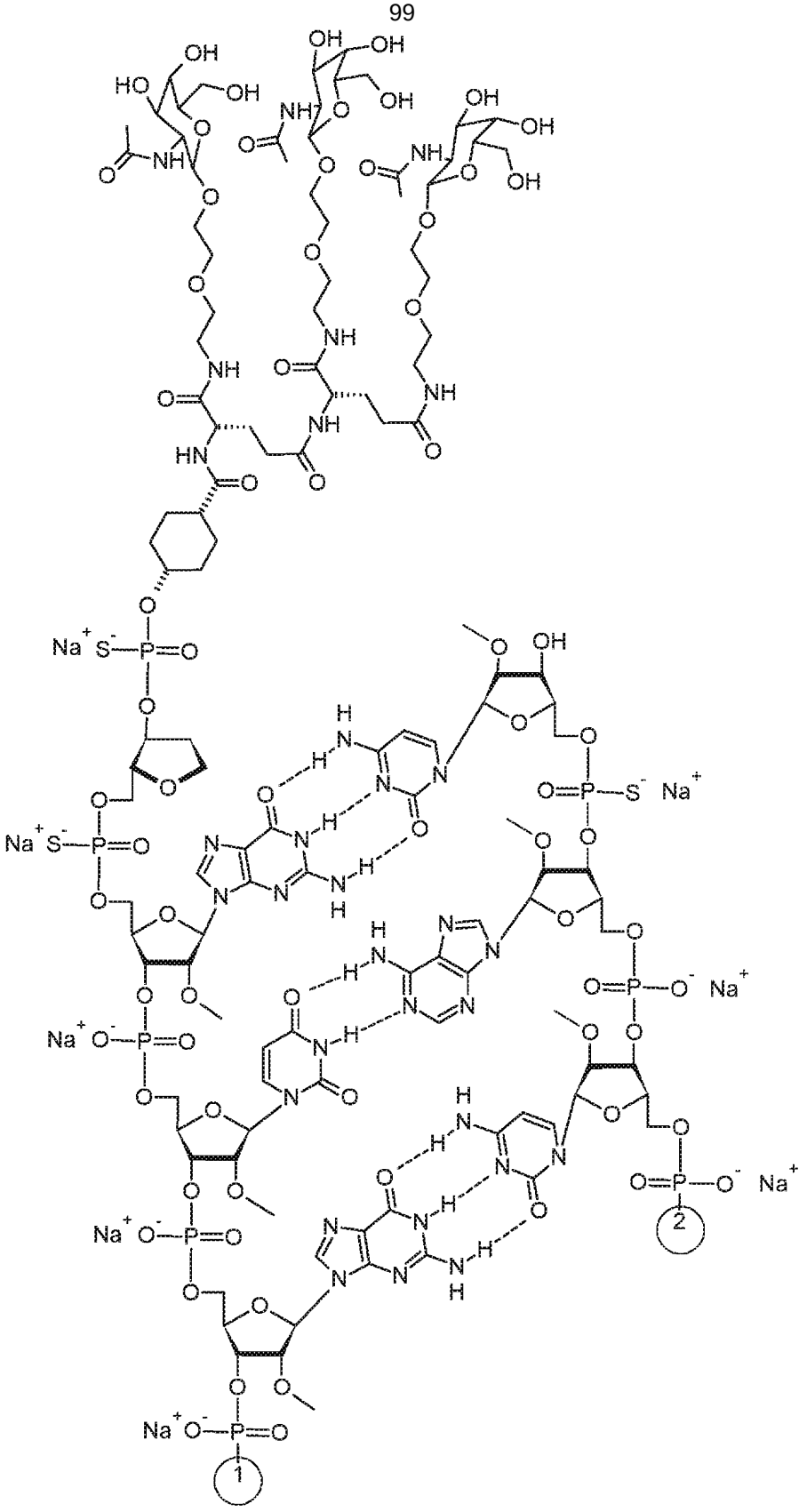




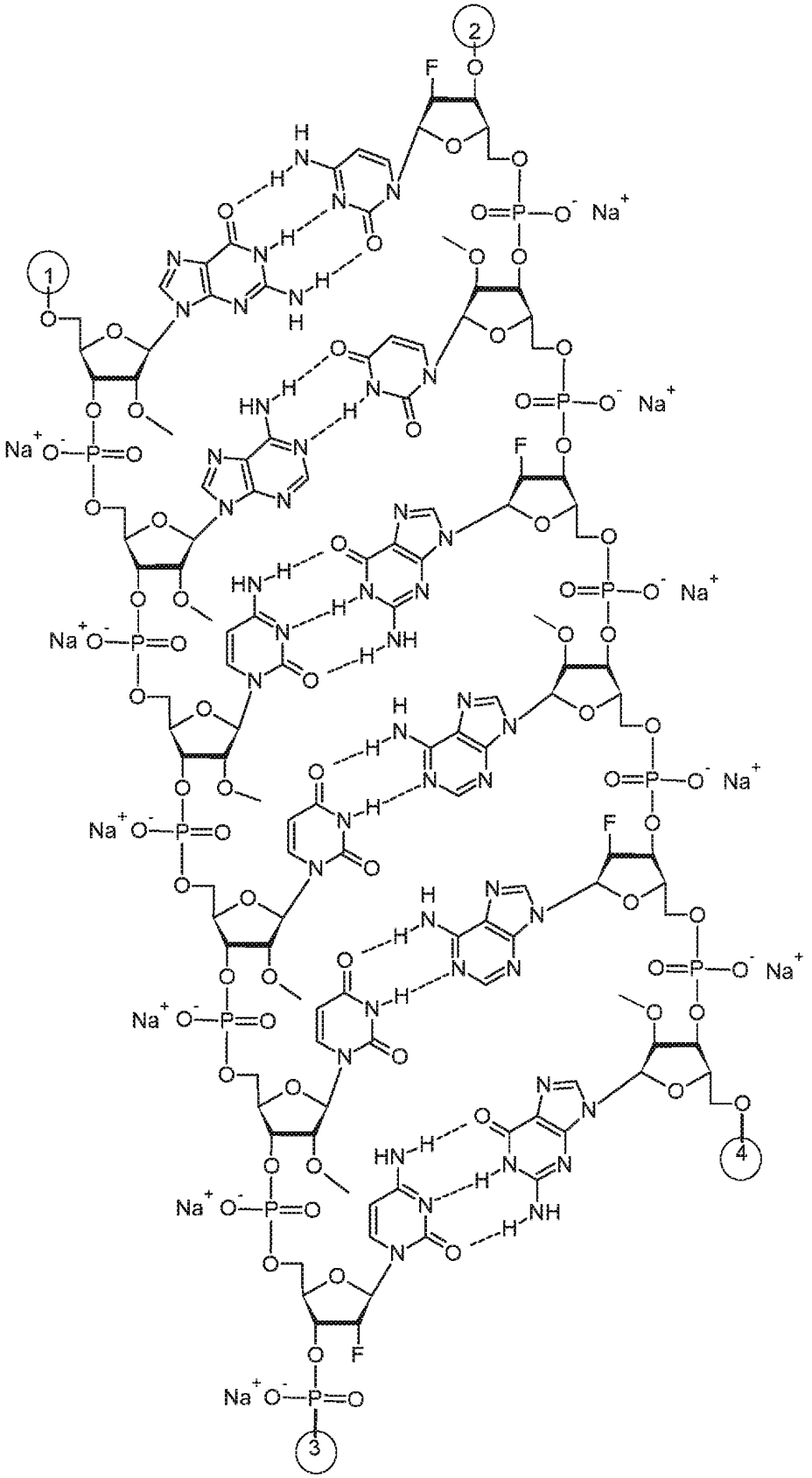

4
3
5
6
F
Na+ O- P=O
O=P-O- Na+



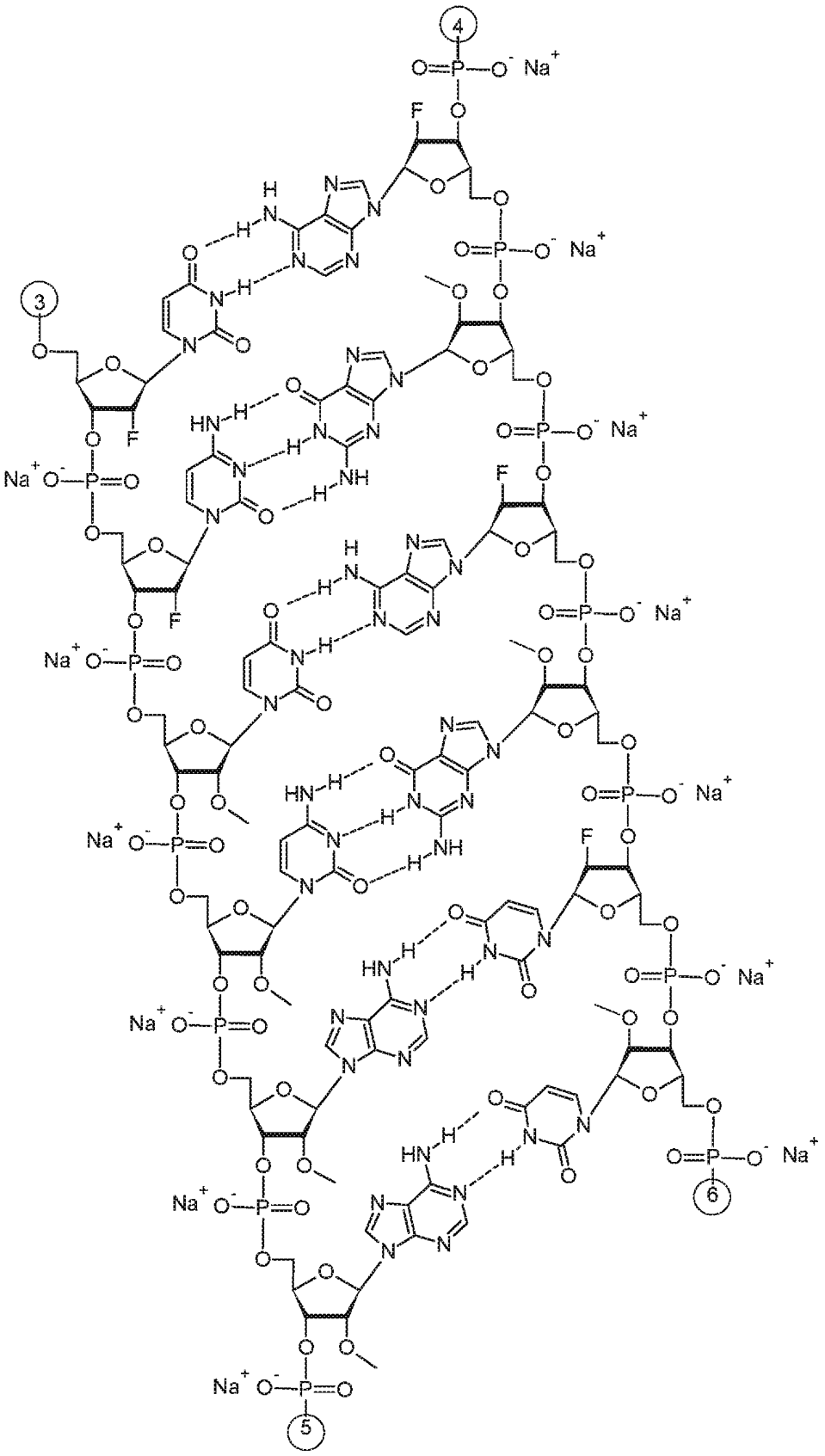
En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción consiste en o comprende AD04872 unido a (NAG37)s que se muestra como una sal sódica que tiene la estructura representada por lo siguiente:

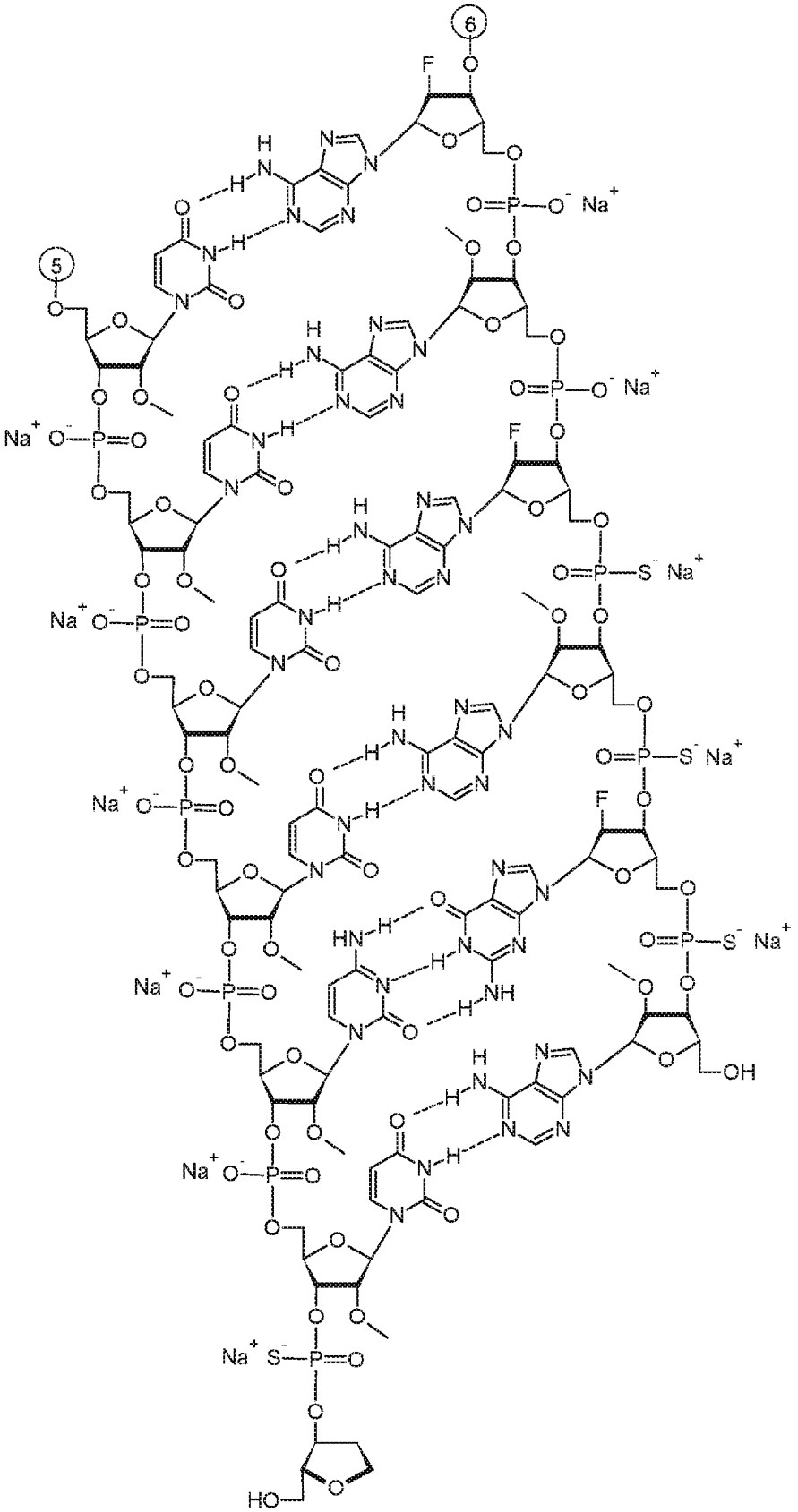


100

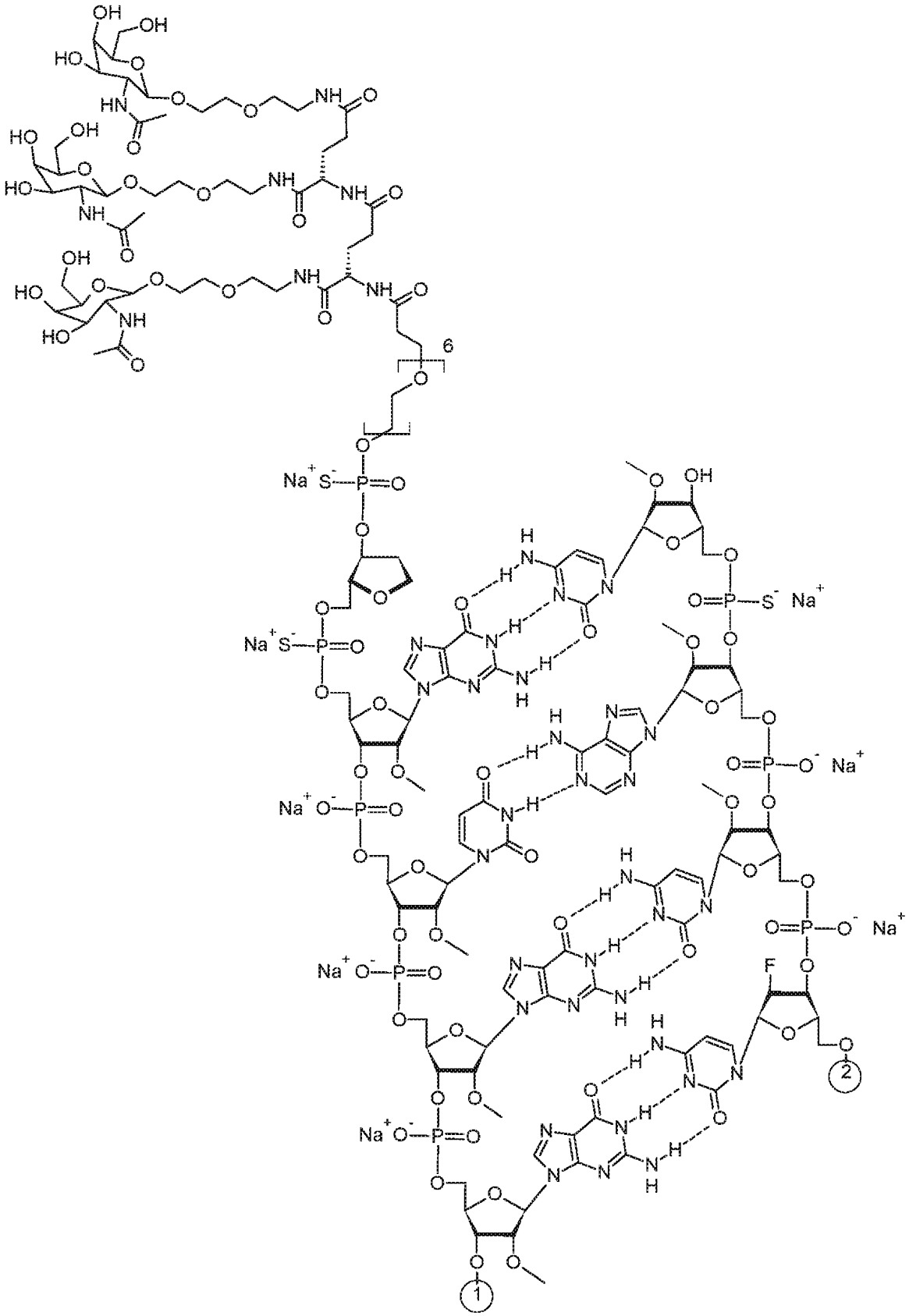


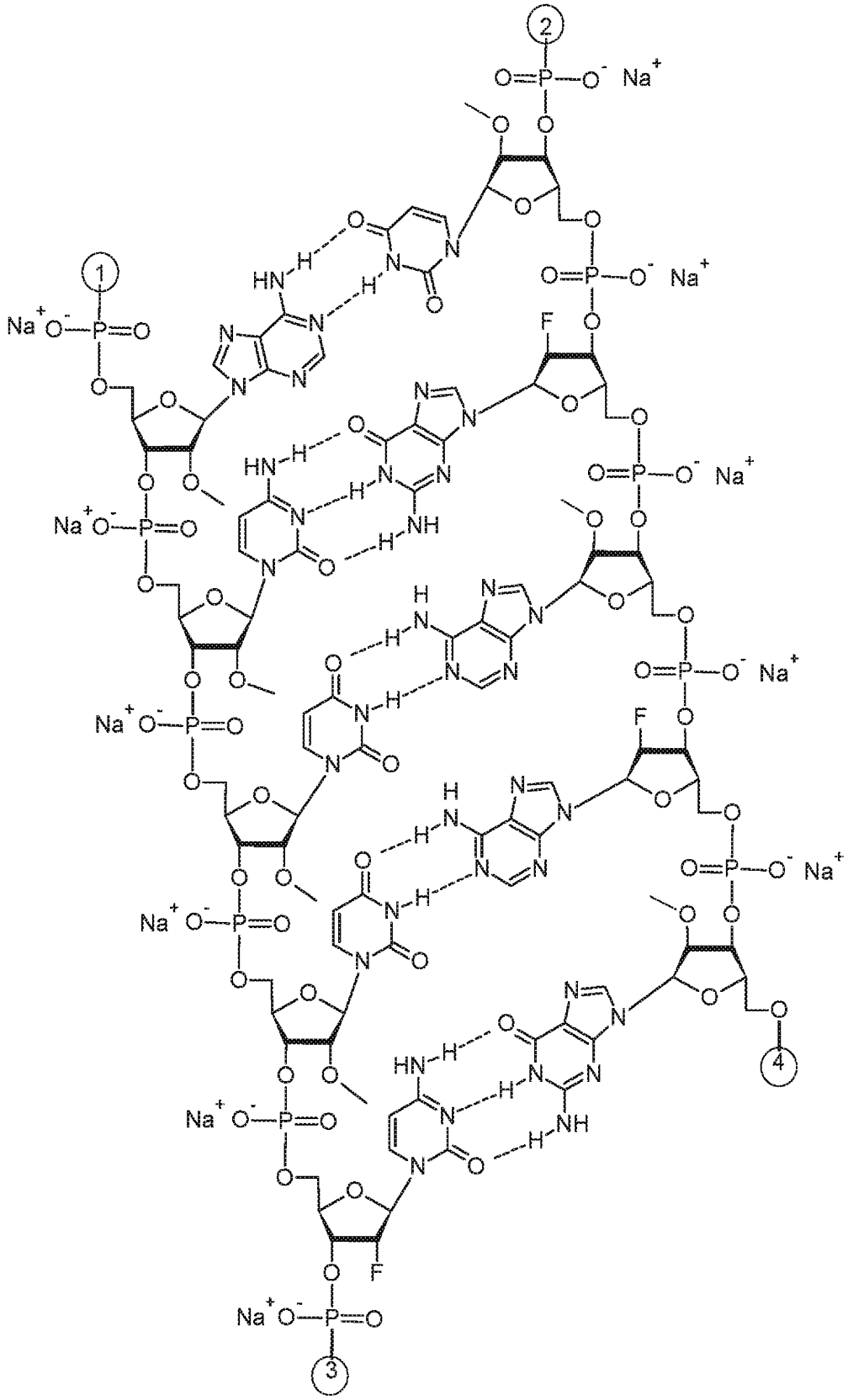
101



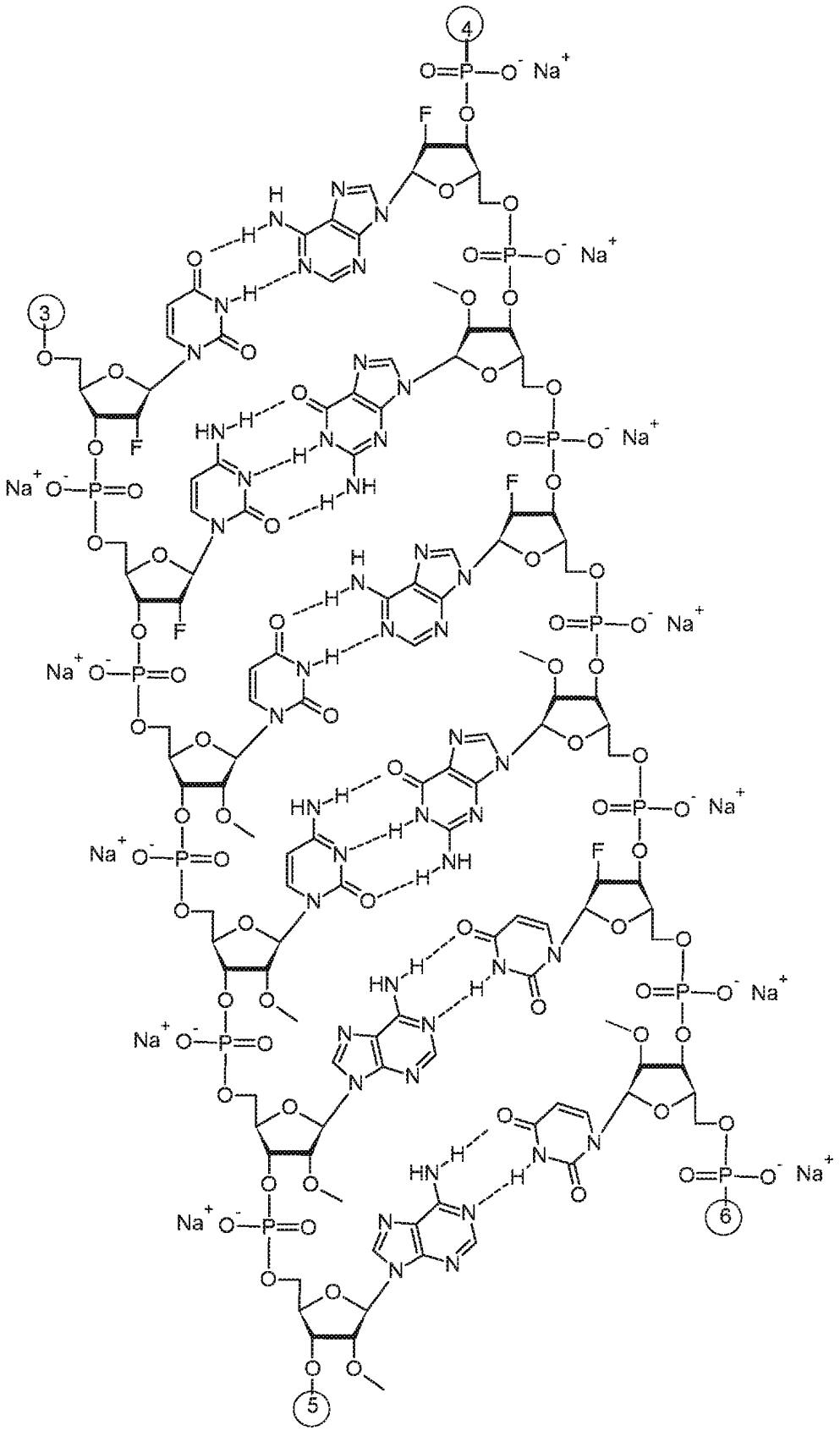


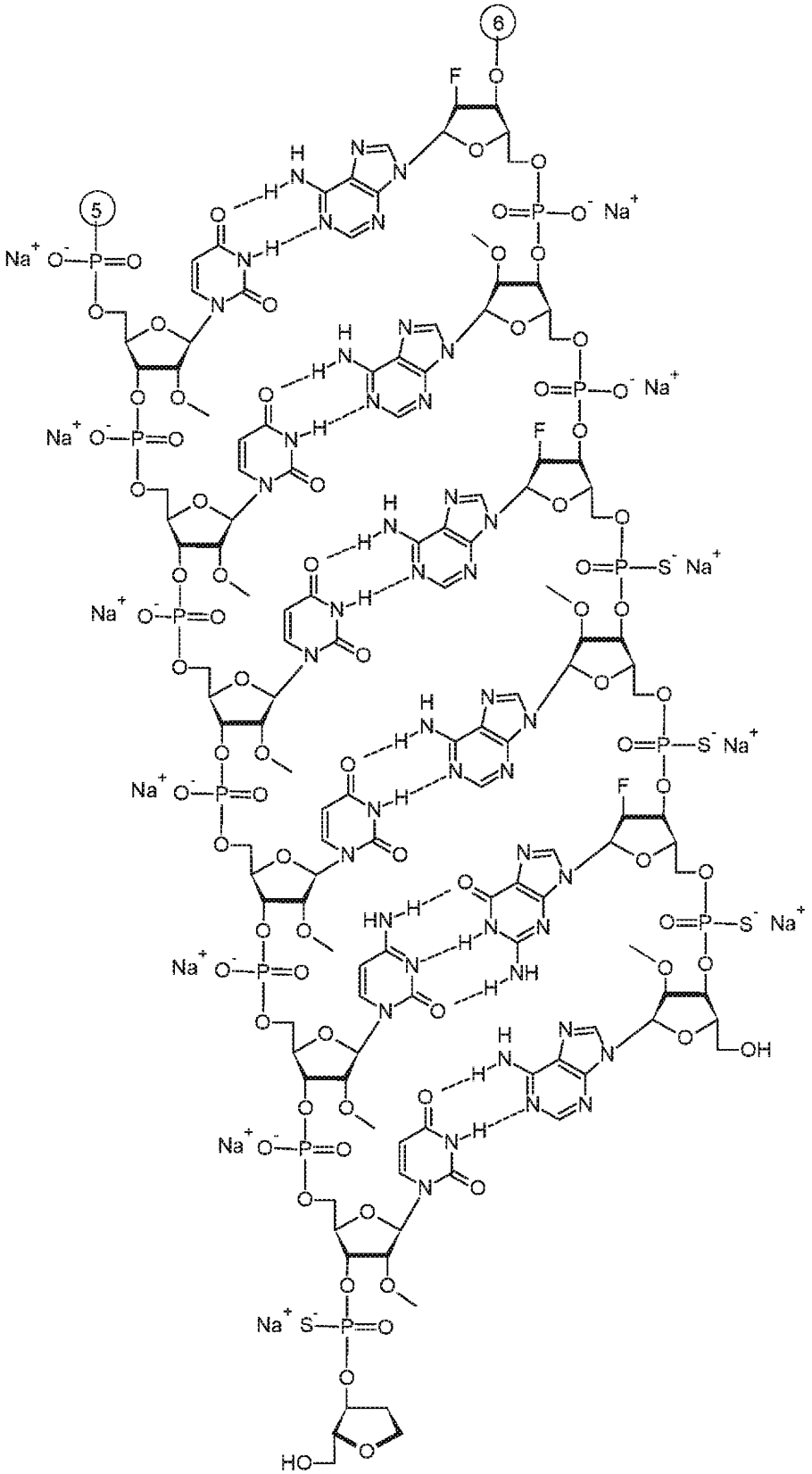
En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción consiste en o comprende AD04872 unido a (NAG25)s que se muestra como una sal sódica que tiene la estructura representada por lo siguiente:





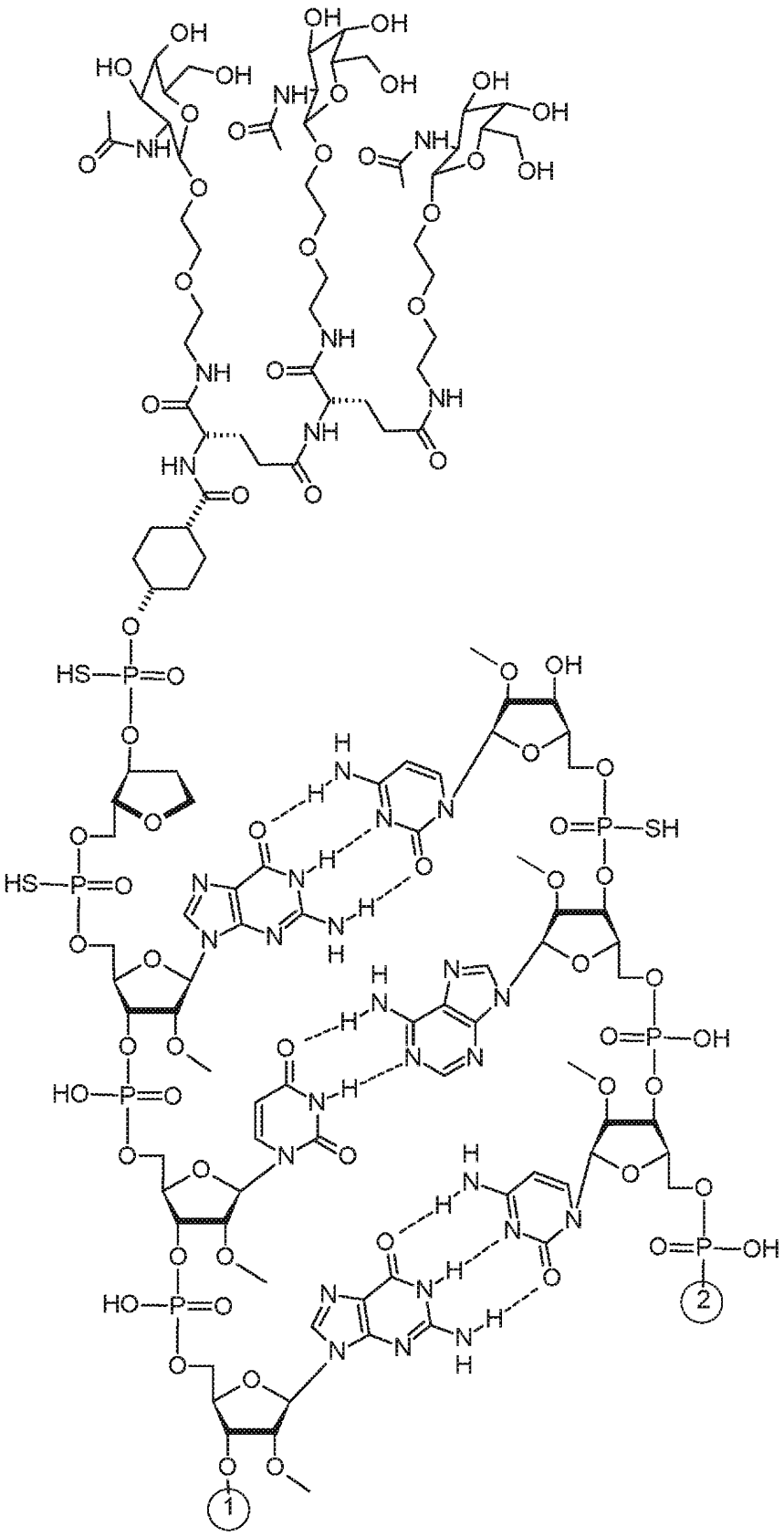
106



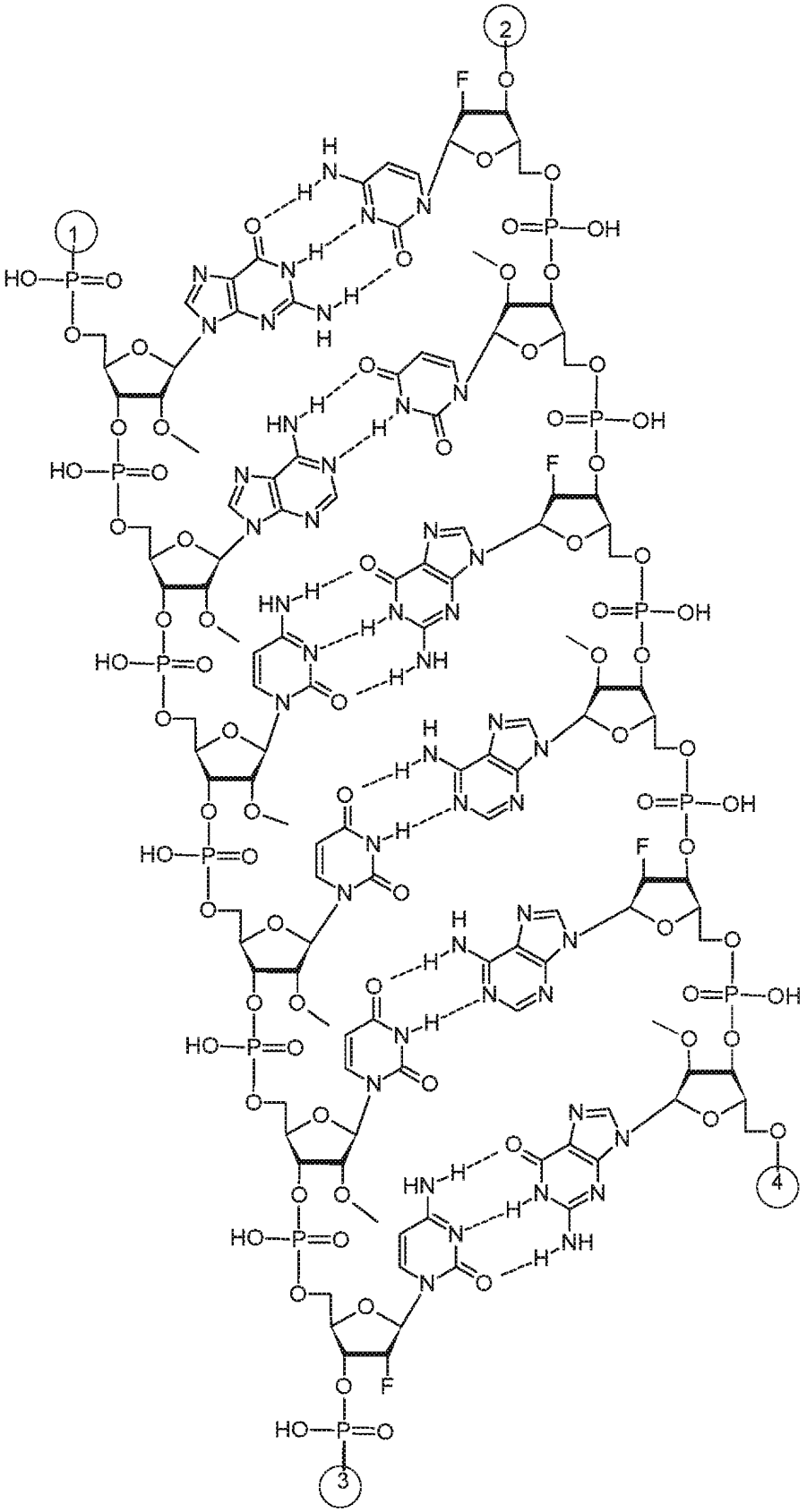


En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción consiste en o comprende AD04872 unido a (NAG37)s que se muestra como un ácido libre que tiene la estructura representada por lo siguiente:

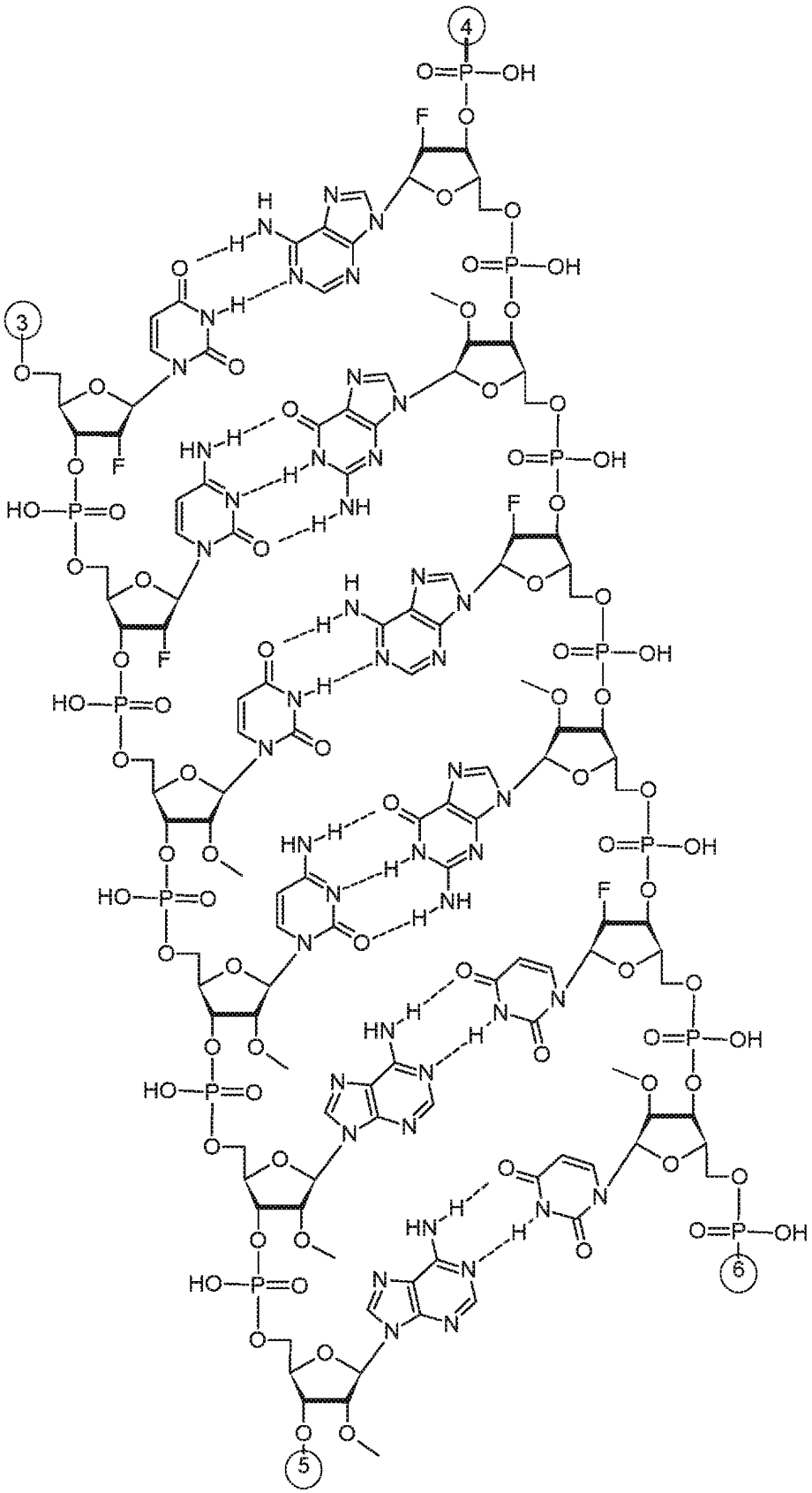
109

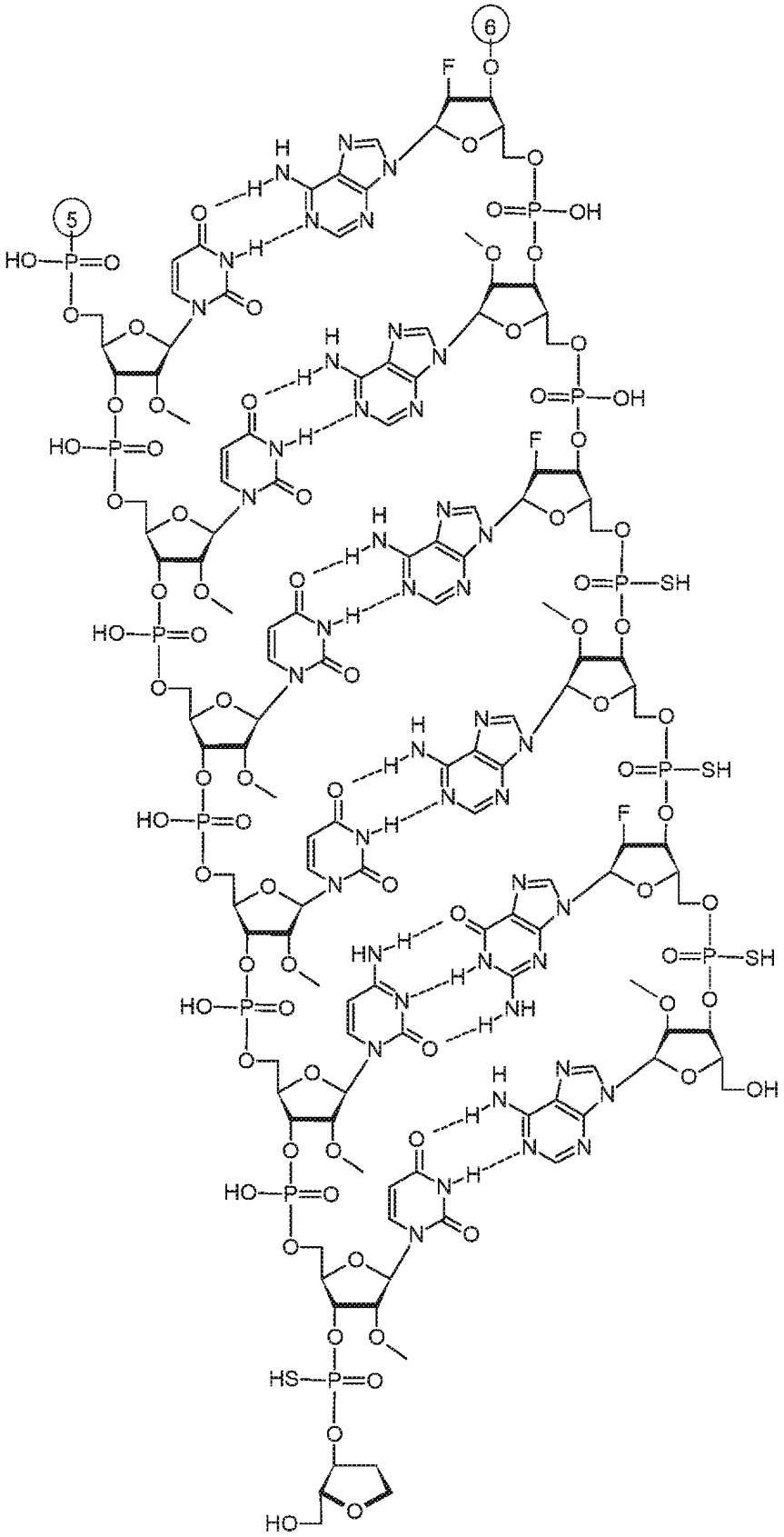


110



111





En algunas modalidades, el o los agentes de iARN del VHB descritos están opcionalmente combinados con uno o más agentes terapéuticos adicionales (es decir, segundo, tercero, etc.). Un segundo agente terapéutico puede ser otro agente de iARN del VHB (p. ej., un agente de iARN del VHB que se dirige a una secuencia diferente dentro de un genoma del VHB). Un agente terapéutico adicional puede ser, además, un fármaco de molécula pequeña, anticuerpo, fragmento de anticuerpo y/o vacuna. Los agentes de iARN del VHB, con o sin uno o más agentes terapéuticos adicionales, pueden combinarse con uno o más excipientes para formar composiciones farmacéuticas.

En algunas modalidades, el o los agentes de iARN descritos se combinan, opcionalmente, con uno o más agentes terapéuticos adicionales, en donde el agente terapéutico adicional es un inhibidor nucleótido o inhibidor de nucleótido. En algunas modalidades, el o los agentes de iARN del VHB descritos se combinan, opcionalmente, con uno o más agentes terapéuticos adicionales, en donde el agente terapéutico adicional es entecavir, tenofovir, tenofovir alafenamida, tenofovir disoproxil, lamivudina u otro medicamento antirretroviral. En algunas modalidades, el o los agentes de iARN del VHB descritos se combinan, opcionalmente, con uno o más agentes terapéuticos adicionales, en donde el agente terapéutico adicional es un interferón. En algunas modalidades, el o los agentes de iARN del VHB descritos se combinan, opcionalmente, con uno o más agentes terapéuticos adicionales, en donde el agente terapéutico adicional es interferón alfa. En algunas modalidades, el o los agentes de ARN del VHB

descritos se combinan, opcionalmente, con uno o más agentes terapéuticos adicionales del VHB, en donde el agente terapéutico adicional es una vacuna del VHB.

En algunas modalidades, el o los agentes de iARN del VHB descritos se combinas, opcionalmente, con uno o más agentes terapéuticos adicionales en una sola forma de dosificación (es decir, un cóctel incluido en una sola inyección). En algunas modalidades, el o los agentes de iARN del VHB descritos pueden administrarse por separado de uno o más agentes terapéuticos adicionales opcionales. En algunas modalidades, el o los agentes de iARN del VHB descritos se administran a un sujeto que los necesita mediante una inyección subcutánea, y uno o más agentes terapéuticos adicionales opcionales se administran por vía oral, los que juntos proporcionan un régimen de tratamiento para enfermedades y afecciones asociadas con la infección causada por el VHB. En algunas modalidades, el o los agentes de iARN del VHB descritos se administran a un sujeto que los necesita mediante una inyección subcutánea, y uno o más agentes terapéuticos adicionales opcionales se administran por medio de una inyección subcutánea separada.

En algunas modalidades, en la presente descripción se describen composiciones para suministrar un agente de iARN del VHB a una célula hepática *in vivo*; la composición incluye un agente de iARN del VHB conjugado o enlazado con un grupo de direccionamiento. En algunas modalidades, el grupo de direccionamiento es un ligando de receptor de asialoglicoproteína. En algunas modalidades, se describen composiciones para suministrar un agente de iARN del VHB a una célula hepática *in*

vivo; la composición incluye un agente de iARN del VHB enlazado con un ligando de direccionamiento N-acetil-galactosamina.

En algunas modalidades, uno o más de los agentes de iARN descritos anteriormente se administran a un mamífero en un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, el mamífero es un ser humano.

El uso del o de los agentes de iARN del virus de la hepatitis B proporciona métodos para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de enfermedades o trastornos relacionados con la infección causada por el VHB. Los agentes de iARN del VHB aquí descritos median en la interferencia por ARN para inhibir la expresión de uno o más genes necesarios para la replicación y/o patogénesis del virus de la hepatitis B. Particularmente, por ejemplo, los agentes de iARN del VHB pueden inhibir la polimerasa viral, proteína del núcleo, antígeno de superficie, antígeno e y/o la proteína X, en una célula, tejido humano o mamífero. Los agentes de iARN del VHB pueden usarse para tratar la infección causada por el VHB. Los agentes de iARN del VHB pueden usarse, además, para tratar o prevenir enfermedades o trastornos hepáticos crónicos, inflamaciones, afecciones fibróticas y trastornos proliferativos, como los cánceres, asociados con la infección causada por el VHB. En algunas modalidades, los métodos comprenden, además, el tratamiento del virus de la hepatitis D (VHD) en el sujeto. Estos métodos comprenden la administración del agente de iARN del VHB a un ser humano o animal infectado por el VHB. Además, se describen composiciones para el suministro de agentes de iARN del VHB a células hepáticas *in vivo*.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más agentes de iARN del VHB pueden administrarse de varias maneras dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico. La administración puede ser, pero no se limita a, intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal, subdérmica (p. ej., mediante un dispositivo implantado) e intraparenquimatosa. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente descripción se administran por inyección subcutánea.

Los agentes y/o composiciones de iARN del VHB descritos pueden usarse en métodos para el tratamiento terapéutico de la infección causada por el VHB o enfermedades o afecciones causadas por la infección por el VHB. Estos métodos incluyen la administración de un agente de iARN del VHB, como se describe en la presente descripción, a un sujeto, ya sea un sujeto humano o animal.

Como se usa en la presente descripción, los términos "oligonucleótidos" y "polinucleótido" se refieren a un polímero de nucleósidos unidos cada uno de los cuales puede ser modificado o no modificado de manera independiente.

Como se usa en la presente descripción, un "agente de iARN" o "disparador de iARN" significa una composición que contiene un ARN o una molécula de oligonucleótido similar al ARN (p. ej., ARN modificado químicamente) que es capaz de degradar o inhibir la traslación de transcripciones del ARN mensajero (ARNm) de un ARNm

objetivo de una manera específica de secuencia. Como se usa en la presente descripción, los agentes de iARN pueden operar a través del mecanismo de interferencia por ARN (es decir, inducir la interferencia por ARN a través de la interacción con el mecanismo de vía de interferencia por ARN (complejo de silenciamiento inducido por el ARN o RISC) de células de mamífero), o mediante cualquier mecanismo o vía alternativos. Si bien se cree que los agentes de iARN, como se usa en la presente descripción, operan principalmente a través del mecanismo de interferencia por ARN, los agentes de iARN descritos no están atados ni limitados por ninguna vía o mecanismo de acción en particular. Los agentes de iARN descritos en la presente descripción comprenden una cadena codificante y una cadena no codificante e incluyen, pero no se limitan a: interferencia por ARN corto o pequeño (iARNp), ARN de doble cadena (ARNdc), micro ARN (miARN), ARN de horquilla pequeño (ARNhp) y sustratos de dícer. La cadena no codificante de los agentes de iARN descritos en la presente descripción es al menos parcialmente complementaria al ARNm objetivo. Los agentes de iARN pueden estar compuestos por nucleótidos modificados y/o uno o más enlaces no fosfodiéster.

Como se usa en la presente descripción, los términos ‘‘silenciar’’, ‘‘reducir’’, ‘‘inhibir’’, ‘‘regular por disminución’’ o ‘‘atenuar’’ cuando se refieren a la expresión de un determinado gen, significan que la expresión del gen, medida por el nivel de ARN transcrito del gen o el nivel de polipéptido, proteína o subunidad de proteína trasladada desde el ARNm en una célula, grupo de células, tejido, órgano o sujeto en el que se

transcribe el gen, se reduce cuando se trata la célula, grupo de células, tejido, órgano o sujeto con compuestos oligoméricos, tales como los agentes de iARN, descritos aquí en comparación con una segunda célula, grupo de células, tejido, órgano o sujeto que no ha (o no han) sido tratados así.

Como se usa en la presente descripción, el término ‘‘secuencia’’ o ‘‘secuencia de nucleótidos’’ significa una sucesión u orden de nucleobases o nucleótidos que se describen con una sucesión de letras usando la nomenclatura estándar.

Como se usa en la presente descripción, una ‘‘base de nucleótidos’’ o ‘‘nucleobase’’ es un compuesto heterocíclico de pirimidina o purina, que es un constituyente estándar de todos los ácidos nucleicos, e incluye las bases que forman los nucleótidos adenina (A), guanina (G), citosina (C), timina (T) y uracilo (U). Una nucleobase puede modificarse adicionalmente para incluir, sin limitarse a, bases universales, bases hidrófobas, bases promiscuas, bases de tamaño expandible y bases fluoradas.

Como se usa en la presente descripción, y a menos que se indique lo contrario, el término ‘‘complementario’’, cuando se usa para describir una primera secuencia de nucleótidos (*p. ej*., cadena codificante del agente de iARN o ARNm objetivo) en relación con una segunda secuencia de nucleótidos (*p. ej*. cadena no codificante del agente de iARN o un oligonucleótido no codificante de cadena simple), significa la capacidad de un oligonucleótido o polinucleótido que incluye la primera secuencia de nucleótidos

para hibridar (formar enlaces de hidrógenos de par de bases en condiciones fisiológicas de mamíferos (o condiciones similares *in vitro*)) y formar una estructura dúplex o de doble hélice en ciertas condiciones con un oligonucleótido o polinucleótido que incluye la segunda secuencia de nucleótidos. Las secuencias complementarias incluyen pares de bases de Watson-Crick o pares de bases que no son de Watson-Crick, e incluyen nucleótidos naturales o modificados o imitadores de nucleótidos, al menos en la medida en que se cumplan los requisitos de hibridación anteriores. La identidad o complementariedad de secuencias es independiente de la modificación. Por ejemplo, a y Af son complementarias a U (o T) e idénticas a A con el fin de determinar la identidad o complementariedad.

Como se usa en la presente descripción, ‘‘perfectamente complementaria’’ o ‘‘totalmente complementaria’’ significa que todo (100 %) de las bases en una secuencia contigua de un primer polinucleótido se hibridará con el mismo número de bases en una secuencia contigua de un segundo polinucleótido. La secuencia contigua puede comprender todo o una parte de una primera o segunda secuencia de nucleótidos.

Como se usa en la presente descripción, ‘‘parcialmente complementaria’’ significa que en un par hibridado de secuencias de nucleobases, al menos el 70 %, pero no todo, de las bases en una secuencia contigua de un primer polinucleótido se hibridará con el mismo número de bases en una secuencia contigua de un segundo polinucleótido.

Como se usa en la presente descripción, “sustancialmente complementaria” significa que en un par hibridado de secuencias de nucleobases, al menos aproximadamente el 85 %, pero no todo, de las bases en una secuencia contigua de un primer polinucleótido se hibridará con el mismo número de bases en una secuencia contigua de un segundo polinucleótido. Los términos “complementarias”, “totalmente complementarias” y “sustancialmente complementarias” en la presente descripción pueden usarse con respecto a la coincidencia de base entre la cadena codificante y la cadena no codificante de un agente de iARN de doble cadena, entre la cadena no codificante de un agente de iARN y una secuencia de un ARNm objetivo, o entre un oligonucleótido no codificante de cadena simple y una secuencia de un ARNm objetivo.

Como se usa en la presente descripción, el término “sustancialmente idénticas”, cuando se usa con la secuencia de ácido nucleico, significa que una secuencia de ácido nucleico comprende una secuencia que tiene al menos aproximadamente el 85 % de identidad de secuencia o más, preferiblemente al menos el 90 %, al menos el 95 %, o al menos el 99 %, en comparación con una secuencia de referencia. El porcentaje de identidad de secuencia se determina comparando dos secuencias alineadas óptimamente sobre una ventana de comparación. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las que se produce la base de ácido nucleico idéntica en ambas secuencias para producir el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100 para producir el porcentaje de identidad de secuencia. Las invenciones descritas en la presente

descripción abarcan secuencias de nucleótidos sustancialmente idénticas a las descritas, p. ej., en las Tablas 2, 3 y 4. En algunas modalidades, las secuencias descritas en la presente descripción son exactamente idénticas, o al menos aproximadamente 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idénticas a las descritas, p. ej., en las Tablas 1, 2, 3 y 4.

Como se usa en la presente descripción, los términos "tratar", "tratamiento" y similares significan los métodos o etapas adoptados para proporcionar alivio o disminuir el número, la gravedad y/o frecuencia de uno o más síntomas de una enfermedad o afección en un sujeto.

Como se usa en la presente descripción, la frase "introducir en una célula," cuando se refiere a un compuesto oligomérico, significa funcionalmente suministrar el compuesto oligomérico en una célula. La frase "suministro funcional" significa que se suministra el compuesto oligomérico a la célula de una manera que permite que el compuesto oligomérico tenga la actividad biológica esperada, por ejemplo, la inhibición de la secuencia específica de la expresión génica.

A menos que se indique de otra manera, el uso del símbolo  como se usa en esta descripción significa que cualquier grupo o grupos pueden estar vinculados con éste, lo que está de acuerdo con el alcance de las invenciones descritas en la presente descripción.

Como se usa en la presente descripción, el término ‘‘isómeros’’ se refiere a compuestos que tienen fórmulas moleculares idénticas, pero que difieren en la naturaleza o la secuencia de unión de sus átomos o en la disposición de sus átomos en el espacio. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan ‘‘estereoisómeros’’. Los estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí se denominan ‘‘diastereómeros,’’ y los estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles se denominan ‘‘enantiómeros’’, o a veces isómeros ópticos. Un átomo de carbono unido a cuatro sustituyentes no idénticos se denomina ‘‘centro quiral’’.

Como se usa en la presente descripción, a menos que se identifique específicamente en una estructura que tenga una conformación particular, para cada estructura en la que estén presentes centros asimétricos y, por lo tanto, den lugar a enantiómeros, diastereómeros u otras configuraciones estereoisoméricas, cada estructura descrita en la presente descripción pretende representar todos estos isómeros posibles, incluyendo sus formas ópticamente puras y racémicas. Por ejemplo, las estructuras descritas en la presente descripción pretenden abarcar mezclas de diastereómeros, así como estereoisómeros individuales.

Como se usa en una reivindicación en la presente descripción, la frase ‘‘que consiste en’’ excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado en la reivindicación. Cuando se usa en una reivindicación en la presente descripción, la frase ‘‘que consiste esencialmente en’’ limita el alcance de una reivindicación a los materiales

o etapas especificados y a aquellos que no afectan materialmente a la o las características básicas y novedosas de la invención reivindicada.

El experto en la técnica comprenderá fácilmente y se dará cuenta de que los compuestos y composiciones descritos en la presente descripción pueden tener ciertos átomos (p. ej., átomos N, O o S) en un estado protonado o desprotonado, dependiendo del entorno en el cual se coloca el compuesto o composición. En consecuencia, tal como se usa en la presente descripción, las estructuras descritas en la presente descripción prevén que ciertos grupos funcionales, tales como, por ejemplo, OH, SH o NH, puedan protonarse o desprotonarse. La descripción de la presente descripción pretende abarcar los compuestos y composiciones descritos independientemente de su estado de protonación basado en el medio ambiente (tal como el pH), como lo comprenderá fácilmente el experto en la técnica.

A menos que se definan de otra forma, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente descripción tienen el mismo significado tal como lo suele entender el experto en la técnica. Si bien en la práctica o pruebas de la presente invención se pueden usar métodos o materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente descripción, a continuación se describen métodos y materiales apropiados. Todas las publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en la presente descripción se incorporan en su totalidad como referencia. En caso de conflicto, prevalecerá la presente

especificación, incluidas las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solamente ilustrativos y no pretenden ser limitativos.

Otras características y ventajas de la invención resultarán evidentes en la siguiente descripción detallada y en las reivindicaciones.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

En la presente descripción se describen los agentes de iARN para inhibir la expresión del virus de la hepatitis B (VHB) (mencionados en la presente descripción como agentes de iARN del VHB o disparadores de iARN del VHB). Cada agente de iARN del VHB comprende una cadena codificante y una cadena no codificante. la cadena codificante y la cadena no codificante cada una puede tener 16 a 30 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes cada una puede tener 17 a 26 nucleótidos de longitud. Las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes pueden tener la misma longitud o pueden ser de diferentes longitudes. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen independientemente 17 a 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen independientemente 17-21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, tanto las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen cada una de 21-26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la cadena codificante tiene aproximadamente 19 nucleótidos de longitud mientras que la cadena no codificante tiene aproximadamente 21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la cadena codificante tiene aproximadamente 21 nucleótidos de longitud mientras que la cadena no

codificante tiene aproximadamente 23 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, tanto las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen cada una 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes del agente de iARN tienen independientemente 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un agente de iARN de doble cadena tiene una longitud dúplex de aproximadamente 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 o 24 nucleótidos. Esta región de complementariedad perfecta o sustancial entre la cadena codificante y la cadena no codificante tiene, típicamente, 15-25 (p. ej., 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, o 25) nucleótidos de longitud y ocurre en o cerca del extremo 5’ de la cadena no codificante (p. ej., esta región puede separarse del extremo 5' de la cadena no codificante por 0, 1, 2, 3 o 4 nucleótidos que no son perfectamente o sustancialmente complementarios).

La cadena codificante y la cadena no codificante contienen, cada una, una secuencia núcleo de estiramiento que tiene 16 a 23 nucleobases de longitud. Una secuencia núcleo de estiramiento de la cadena no codificante es 100 % (perfectamente) complementaria o al menos aproximadamente 85 % (sustancialmente) complementaria a una secuencia de nucleótidos (a veces denominada secuencia objetivo) presente en el ARNm del VHB objetivo. Una secuencia de tramo del núcleo de una cadena codificante es 100 % (perfectamente) complementaria o al menos aproximadamente 85 % (sustancialmente) complementaria a una secuencia de tramo del núcleo en la cadena no codificante y, por lo tanto, la secuencia de tramo del núcleo de la cadena codificante es perfectamente

idéntica o al menos aproximadamente 85 % idéntica a una secuencia nucleótida (secuencia objetivo) presente en el ARNm del VHB objetivo. Una secuencia de tramo del núcleo de la cadena codificante puede tener la misma longitud que una secuencia del núcleo de la cadena no codificante correspondiente o puede tener una longitud diferente. En algunas modalidades, la secuencia de tramo del núcleo de la cadena no codificante tiene 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, la secuencia de tramo del núcleo de la cadena codificante tiene 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 nucleótidos de longitud.

Ilustraciones de secuencias de nucleótidos de la cadena codificante y no codificante usadas en la formación de agentes de iARN del VHB se proporcionan en las Tablas 3 y 4. Ilustraciones de dúplex de agentes de iARN, que incluyen las secuencias de nucleótidos de las Tablas 3 y 4, se proporcionan en la Tabla 5.

Las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes del agente de iARN del VHB se hibridan para formar un dúplex. Una cadena codificante y una cadena no codificante de un agente de iARN del VHB pueden ser parcialmente, sustancialmente o totalmente complementarias entre sí. Dentro de la región dúplex complementaria, la secuencia de tramo del núcleo de la cadena codificante es al menos aproximadamente 85 % complementaria o 100 % complementaria a la secuencia de tramo del núcleo de la cadena no codificante. En algunas modalidades, la secuencia de tramo del núcleo de la cadena codificante contiene una secuencia de al menos 16, al menos 17, al menos 18,

al menos 19, al menos 20 o al menos 21 nucleótidos que es al menos aproximadamente 85 % o 100 % complementaria a una secuencia correspondiente de 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos de la secuencia de tramo del núcleo de la cadena no codificante (es decir, la secuencia de tramo del núcleo de la cadena codificante y no codificante del agente de iARN del VHB tiene una región de al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20 o al menos 21 nucleótidos que tienen al menos 85 % de bases emparejadas o 100 % de bases emparejadas).

En algunas modalidades, la cadena no codificante de un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos con respecto a cualquiera de las secuencias de la cadena no codificante en la Tabla 2 o la Tabla 3. En algunas modalidades, la cadena codificante de un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos con respecto a cualquiera de las secuencias de la cadena codificante en la Tabla 2 o la Tabla 4.

La longitud de las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes del agente de iARN del VHB descritas en la presente descripción tienen, independientemente, de 16 a 30 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen independientemente de 17 a 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes tienen de 19-26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes del agente de iARN del VHB descritas tienen, independientemente, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 o 26 nucleótidos de longitud. Las

cadenas codificantes y las cadenas no codificantes pueden tener la misma longitud o pueden ser de diferentes longitudes. En algunas modalidades, una cadena codificante y una cadena no codificante tienen cada una 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, una cadena codificante tiene 23 nucleótidos de longitud y una cadena no codificante tiene 21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, una cadena codificante tiene 22 nucleótidos de longitud y una cadena no codificante tiene 21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, una cadena codificante tiene 21 nucleótidos de longitud y una cadena no codificante tiene 21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, una cadena codificante tiene 19 nucleótidos de longitud y una cadena no codificante tiene 21 nucleótidos de longitud.

La cadena codificante y/o la cadena no codificante pueden contener, opcionalmente e independientemente, un adicional de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 nucleótidos (extensión) en el extremo 3′, el extremo 5′ o en ambos extremos 3′ y 5′ de las secuencias de núcleo. Los nucleótidos adicionales de la cadena no codificante, si están presentes, pueden o no ser complementarios a la secuencia correspondiente en un ARNm del VHB. Los nucleótidos adicionales de la cadena codificante, si están presentes, pueden o no ser idénticos a la secuencia correspondiente en un ARNm del VHB. Los nucleótidos adicionales de la cadena no codificante, si están presentes, pueden o no ser complementarios a los nucleótidos adicionales de la cadena codificante correspondiente, si están presentes.

Como se usa en la presente descripción, una extensión comprende 1, 2, 3, 4, 5, o 6 nucleótidos en el extremo 5’ y/o 3' de la secuencia de tramo del núcleo de la cadena codificante y/o de la secuencia de tramo del núcleo de la cadena no codificante. Los nucleótidos de extensión en una cadena codificante pueden o no ser complementarios a los nucleótidos, ya sean nucleótidos de la secuencia de tramo del núcleo o nucleótidos de extensión, en la cadena no codificante correspondiente. A la inversa, los nucleótidos de extensión en una cadena no codificante pueden o no ser complementarios de nucleótidos, ya sean nucleótidos de la secuencia núcleo de estiramiento o nucleótidos de extensión, en la cadena codificante correspondiente. En algunas modalidades, tanto la cadena codificante como la cadena no codificante de un agente de iARN contienen extensiones 3′ y 5′. En algunas modalidades, uno o más de los nucleótidos de extensión 3′ de una cadena forma pares de base con uno o más nucleótidos de extensión 5′ de la otra cadena. En otras modalidades, uno o más nucleótidos de extensión 3′ de una cadena no forma pares de base con uno o más nucleótidos de extensión 5′ de la otra cadena. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB tiene una cadena no codificante que tiene una extensión 3′ y una cadena codificante que tiene una extensión 5′.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que tiene una extensión 3′ de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 nucleótidos de longitud. En otras modalidades, un agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que tiene una extensión 3′ de 1, 2 o 3 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, uno o más nucleótidos de extensión de la cadena no codificante comprenden nucleótidos

de uracilo o de timidina o nucleótidos que son complementarios a una secuencia de ARNm del VHB correspondiente. En algunas modalidades, una extensión 3′ de la cadena no codificante incluye o consiste en, pero no se limita a: AUA, UGCUU, CUG, UG, UGCC, CUGCC, CGU, CUU, UGCCUA, CUGCCU, UGCCU, UGAUU, GCCUAU, T, TT, U, UU (cada una enumerada de 5′ a 3′).

En algunas modalidades, el extremo 3′ de la cadena no codificante puede incluir nucleósidos abásicos adicionales (Ab). En algunas modalidades, Ab o AbAb pueden agregarse al extremo 3′ de la cadena no codificante.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que tiene una extensión 5′ de 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos de longitud. En otras modalidades, un agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que tiene una extensión 5′ de 1 o 2 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, uno o más nucleótidos de extensión de una cadena no codificante comprende nucleótidos de uracilo o de timidina o nucleótidos que son complementarios a una secuencia de ARNm del VHB correspondiente. En algunas modalidades, la extensión 5′ de una cadena no codificante incluye o consiste en, pero no se limita a, UA, TU, U, T, UU, TT, CUC (cada una enumerada de 5′ a 3′). Una cadena no codificante puede tener cualquiera de las extensiones 3' descritas anteriormente en combinación con cualquiera de las extensiones 5′ de una cadena no codificante descritas, si están presentes.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante que tiene una extensión 3′ de 1, 2, 3, 4 o 5 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, uno o más nucleótidos de extensión de una cadena codificante comprenden los nucleótidos de adenosina, uracilo o timidina, dinucleótido AT o nucleótidos que corresponden a los nucleótidos en la secuencia de ARNm del VHB. En algunas modalidades, la extensión 3′ de una cadena codificante incluye o consiste en, pero no se limita a: T, UT, TT, UU, UUT, TTT o TTTT (cada una enumerada de 5′ a 3′).

En algunas modalidades, el extremo 3′ de la cadena codificante puede incluir nucleósidos abásicos adicionales. En algunas modalidades, UUAb, UAb o Ab puede agregarse al extremo 3′ de la cadena codificante. En algunas modalidades, uno o más nucleósidos abásicos agregados al extremo 3′ de la cadena codificante pueden invertirse (invAb). En algunas modalidades, uno o más nucleósidos abásicos invertidos pueden insertarse entre el ligando de direccionamiento y la secuencia nucleobase de la cadena codificante del agente de iARN. En algunas modalidades, la inclusión de uno o más nucleósidos abásicos invertidos en o cerca del extremo terminal o extremos terminales de la cadena codificante de un agente de iARN puede permitir una actividad mejorada u otras propiedades deseadas de un agente de iARN.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende una cadena codificante que tiene una extensión 5′ de 1, 2, 3, 4, 5 o 6 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, uno o más nucleótidos de extensión de la cadena codificante comprenden

nucleótidos de uracilo o de adenosina que corresponden a los nucleótidos en la secuencia de ARNm del VHB. En algunas modalidades, la extensión 5′ de la cadena codificante puede ser, pero no se limita a: CA, AUAGGC, AUAGG, AUAG, AUA, A, AA, CA, GCA, GGCA, GGC, UAUCA, UAUC, UCA, UAU, U, UU (cada una enumerada de 5′ a 3′). Una cadena codificante puede tener una extensión 3′ o una extensión 5'.

En algunas modalidades, el extremo 5′ de la cadena codificante puede incluir un nucleósido (Ab) o nucleósidos (AbAb) abásicos adicionales. En algunas modalidades, uno o más nucleósidos abásicos agregados al extremo 5′ de la cadena codificante pueden invertirse (invAb). En algunas modalidades, uno o más nucleósidos abásicos invertidos pueden insertarse entre el ligando de direccionamiento y la secuencia nucleobase de la cadena codificante del agente de iARN. En algunas modalidades, la inclusión de uno o más nucleósidos abásicos invertidos en o cerca del extremo terminal o extremos terminales de la cadena codificante de un agente de iARN puede permitir una actividad mejorada u otras propiedades deseadas de un agente de iARN.

Ilustraciones de secuencias de nucleótidos usadas en la formación de agentes de iARN del VHB se proporcionan en las Tablas 3 y 4. En algunas modalidades, una cadena no codificante del agente de iARN del VHB incluye una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3. En algunas modalidades, una cadena no codificante del agente de iARN del VHB incluye la secuencia de nucleótidos 1-17, 2-15, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21, 2-21, 1-22, 2-22, 1-23, 2-23, 1-24, 2-

24, 1-25, 2-25, 1-26, o 2-26 de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3. En algunas modalidades, una cadena codificante del agente de iARN del VHB incluye la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las secuencias de la Tabla 4. En algunas modalidades, una cadena codificante del agente de iARN del VHB incluye la secuencia de nucleótidos 1-18, 1-19, 1-20, 1-21, 1-22, 1-23, 1-24, 1-25, 1-26, 2-19, 2-20, 2-21, 2-22, 2-23, 2-24, 2-25, 2-26, 3-20, 3-21, 3-22, 3-23, 3-24, 3-25, 3-26, 4-21, 4-22, 4-23, 4-24, 4-25, 4-26, 5-22, 5-23, 5-24, 5-25, 5-26, 6-23, 6-24, 6-25, 6-26, 7-24, 7-25, 7-25, 8-25, 8-26 de cualquier secuencias de la Tabla 4.

En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes de los agentes de iARN descritos en la presente descripción contienen el mismo número de nucleótidos. En algunas modalidades, las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes de los agentes de iARN descritos en la presente descripción contienen diferentes números de nucleótidos. En algunas modalidades, el extremo 5′ de la cadena codificante y el extremo 3′ de la cadena no codificante de un agente de iARN forman un extremo romo. En algunas modalidades, el extremo 3′ de la cadena codificante y el extremo 5′ de la cadena no codificante de un agente de iARN forman un extremo romo. En algunas modalidades, ambos extremos de un agente de iARN forman extremos romos. En algunas modalidades, ninguno de los extremos de un agente de iARN tiene extremos romos. Como se usa en la presente descripción, un extremo romo se refiere a un extremo de un agente de iARN de doble cadena en el cual los nucleótidos terminales de las dos cadenas hibridadas son complementarios (forman un par base complementario). En

algunas modalidades, el extremo 5′ de la cadena codificante y el extremo 3′ de la cadena no codificante de un agente de iARN forman un extremo deshilachado. En algunas modalidades, el extremo 3′ de la cadena codificante y el extremo 5′ de la cadena no codificante de un agente de iARN forman un extremo deshilachado. En algunas modalidades, ambos extremos de un agente de iARN forman un extremo deshilachado. En algunas modalidades, ningún extremo de un agente de iARN es un extremo deshilachado. Como se usa en la presente descripción, un extremo deshilachado se refiere a un extremo de un agente de iARN de doble cadena en el cual los nucleótidos terminales de las dos cadenas hibridadas de un par (es decir, no forman un saliente) no son complementarios (es decir, forman un par no complementario). Como se usa en la presente descripción, un saliente es un tramo de uno o más nucleótidos no emparejados en el extremo de una cadena de un agente de iARN de doble cadena. Los nucleótidos no emparejados pueden estar en la cadena codificante o en la cadena no codificante, lo que crea las salientes 3’ o 5'. En algunas modalidades, el agente de iARN contiene: un extremo romo y un extremo deshilachado, un extremo romo y un extremo saliente 5′, un extremo romo y un extremo saliente 3′, un extremo deshilachado y un extremo saliente 5′, un extremo deshilachado y un extremo saliente 3′, dos extremos salientes 5′, dos extremos salientes 3′, un extremo saliente 5′ y un extremo saliente 3′, dos extremos deshilachados o dos extremos romos.

Una base de nucleótidos (o nucleobase) es un compuesto heterocíclico de pirimidina o purina que es un constituyente de todos los ácidos nucleicos e incluye adenina (A), guanina

(G), citosina (C), timina (T) y uracilo (U). Como se usa en la presente descripción, el término "nucleótido" puede incluir un nucleótido modificado (como, por ejemplo, una imitación de nucleótido, un sitio abásico (Ab) o un resto de reemplazo sustituto). Los nucleótidos modificados, cuando se usan en varias construcciones de polinucleótidos o de oligonucleótidos, pueden conservar la actividad del compuesto en las células mientras que al mismo tiempo aumentan la estabilidad sérica de estos compuestos, y también pueden minimizar la posibilidad de activar la actividad del interferón en humanos al administrar la construcción de polinucleótidos o de oligonucleótidos.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB se prepara o proporciona como sal, sal mixta o un ácido libre. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB se prepara como una sal sódica. Dichas formas están dentro del alcance de las invenciones descritas en la presente descripción.

Nucleótidos modificados

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB contiene uno o más nucleótidos modificados. Como se usa en la presente descripción, un "nucleótido modificado" es un nucleótido distinto de un ribonucleótido (2′-hidroxil nucleótido). En algunas modalidades, al menos el 50 % (p. ej., al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o 100 %) de los nucleótidos son nucleótidos modificados. Como se usa en la presente descripción, los nucleótidos modificados incluyen, pero no se limitan a, desoxirribonucleótidos, imitadores

de nucleótidos, nucleótidos abásicos (representados aquí como Ab), nucleótidos modificados-2', enlaces (invertidos) de nucleótidos 3' a 3' (representados aquí como invdN, invN, invN, invAb), nucleótidos que comprenden bases no naturales, nucleótidos puenteados, ácidos nucleicos peptídicos (PNA, por sus siglas en inglés), imitadores de nucleótidos seco-2',3' (análogos de nucleobase desbloqueada, representados aquí como N_{UNA} o NUNA), nucleótidos cerrados (representados aquí como N_{LNA} o NLNA), nucleótidos 3'-O-metoxi (unidos a internucleósidos-2') (representados aquí como 3'-OMen), nucleótidos 2'-F-arabino (representados aquí como NfANA o Nf_{ANA}), 5'-Me, 2'-fluoro nucleótido (representado aquí como 5Me-Nf), nucleótidos morfolino, vinil fosfonato de desoxirribonucleótidos (representado aquí como vpdN), vinil fosfonato que contiene nucleótidos y ciclopropil fosfonato que contiene nucleótidos (cPrpN). Los nucleótidos modificados-2′ (es decir, un nucleótido con un grupo distinto de un grupo hidroxilo en la posición-2′ del anillo de azúcar de cinco miembros) incluyen, pero no se limitan a, 2′-O-nucleótidos de metilo (representados aquí como la letra minúscula 'n' en una secuencia de nucleótidos), 2′-desoxi-2′-fluoro nucleótidos (representados aquí como Nf, también representados aquí como 2'-fluoro nucleótido), 2′-desoxi nucleótidos (representados aquí como dN), 2'-metoxietil (2'-O-2-metoxiletil) nucleótidos (representados aquí como NM o 2'-MOE), 2'-amino nucleótidos y 2'-alquil nucleótidos. No es necesario para todas las posiciones en un compuesto dado que se modifiquen de manera uniforme. Por el contrario, más de una modificación puede incorporarse en un solo agente de iARN del VHB o incluso en un solo nucleótido de este. las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes del agente de iARN del VHB pueden sintetizarse y/o modificarse mediante métodos conocidos

en la técnica. La modificación en un nucleótido es independiente de la modificación en otro nucleótido.

Las nucleobases modificadas incluyen nucleobases naturales y sintéticas, tales como 5-piramidinas sustituidas, 6-azapirimidinas y purinas N-2, N-6 y O-6 sustituidas, (p. ej., 2-aminopropiladenina, 5-propiniluracilo o 5-propinilcitosina), 5-metilcitosina (5-me-C), 5-hidroximetilcitosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-alquilo (p. ej., 6-metil, 6-etilo, 6-isopropilo o 6-n-butil) derivados de adenina y guanina, 2 alquilo (p. ej., 2-metilo, 2-etilo, 2- isopropilo o 2-n-butilo) y otros derivados de alquilo de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina, 2-tiocitosina, 5-halouracilo, citosina, 5-propiniluracilo, 5-propinilcitosina, 6-azouracilo, 6-azo citosina, 6-azo-timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo, 8-amino, 8-sulfhidrilo, 8-tioalquilo, 8-hidroxilo y otras 8-adeninas y guaninas sustituidas, 5-halo (p. ej., 5-bromo), 5-trifluorometilo y otros 5-uracilos y citosinas sustituidos, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-desazaguanina, 7-deazaadenina, 3-deazaguanina y 3-deazaadenina.

En algunas modalidades, todos o sustancialmente todos los nucleótidos de un agente de iARN son nucleótidos modificados. Como se usa en la presente descripción, un agente de iARN en donde sustancialmente todos los nucleótidos presentes son nucleótidos modificados es un agente de iARN que tiene cuatro o menos (es decir, 0, 1, 2, 3 o 4) nucleótidos tanto en la cadena codificante como en la cadena no codificante que son ribonucleótidos. Como se usa en la presente descripción, una cadena codificante en donde

sustancialmente todos los nucleótidos presentes son nucleótidos modificados es una cadena codificante que tiene dos o menos nucleótidos (es decir, 0, 1 o 2) en la cadena codificante que son ribonucleótidos. Como se usa en la presente descripción, una cadena codificante no codificante en donde sustancialmente todos los nucleótidos presentes son nucleótidos modificados es una cadena no codificante que tiene dos o menos (es decir, 0, 1 o 2) nucleótidos en la cadena codificante que son ribonucleótidos. En algunas modalidades, uno o más nucleótidos de un agente de iARN es un ribonucleótido.

Enlaces internucleosídicos modificados

En algunas modalidades, uno o más nucleótidos de un agente de iARN del VHB están unidos por enlaces o esqueletos no estándar (es decir, enlaces internucleósidos modificados o cadenas principales modificadas). En algunas modalidades, un enlace internucleósido modificado es un enlace internucleosídico covalente que no contiene fosfato. Los enlaces o cadenas principales de internucleósidos modificados incluyen, pero no se limitan a, grupos 5'-fosforotioato (representados en esta descripción como una “s” minúscula), fosforotioatos quirales, tiofosfatos, fosforoditioatos, fosfotriésteres, aminoalquilo-fosfotriésteres, alquilo fosfonatos (p. ej., fosfonatos de metilo o 3'-alquileno-fosfonatos), fosfonatos quirales, fosfinatos, fosforamidatos (p. ej., 3'-amino fosforamidato, aminoalquilfosforamidatos o tionofosforamidatos), tionoalquil-fosfonatos, tioalquilfosfotriésteres, enlaces morfolino, boranofosfatos que tienen enlaces normales 3'-5', análogos enlazados 2′-5′ de boranofosfatos o boranofosfatos que tienen polaridad invertida en donde los pares adyacentes de unidades de nucleósidos están enlazados 3'-5' a 5'-3’ o

2'-5' a 5'-2'. En algunas modalidades, un enlace o cadena principal de internucleósido modificado carece de un átomo de fósforo. Los enlaces internucleósidos modificados que carecen de un átomo de fósforo incluyen, pero no se limitan a, enlaces entre azúcares de alquilo o cicloalquilo de cadena corta, heteroátomo mixto y enlaces entre azúcares de alquilo o cicloalquilo, o uno o más enlaces entre azúcares heteroatómicos o heterocíclicos de cadena corta. En algunas modalidades, las cadenas principales de internucleósidos modificados incluyen, pero no se limitan a, cadenas principales de siloxano, cadenas principales de sulfuro, cadenas principales de sulfóxido, cadenas principales de sulfona, cadenas principales de formacetilo y tioformacetilo, cadenas principales de metileno, formacetilo y tioformacetilo, cadenas principales que contienen alquenos, cadenas principales de sulfamato, cadenas principales de metilenimino y metilenhidracino, cadenas principales de sulfonato y sulfonamida, cadenas principales de amida y otras cadenas que tienen componentes N, O, S y CH_2 mezclados.

En algunas modalidades, una cadena codificante de un agente de iARN del VHB puede contener 1, 2, 3, 4, 5 o 6 enlaces de fosforotioato, una cadena no codificante de un agente de iARN del VHB puede contener 1, 2, 3, 4, 5 o 6 enlaces de fosforotioato, o tanto la cadena codificante como la cadena no codificante pueden contener, independientemente, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 enlaces de fosforotioato. En algunas modalidades, una cadena codificante de un agente de iARN del VHB puede contener 1, 2, 3 o 4 enlaces de fosforotioato, una cadena no codificante de un agente de iARN del VHB puede contener 1, 2, 3 o 4 enlaces de

fosforotioato, o tanto la cadena codificante como la cadena no codificante, independientemente, pueden contener 1, 2, 3 o 4 enlaces de fosforotioato.

En algunas modalidades, una cadena codificante del agente de iARN del VHB contiene al menos dos enlaces internucleósidos de fosforotioato. En algunas modalidades, al menos dos enlaces internucleósidos de fosforotioato se encuentran entre los nucleótidos en las posiciones 1-3 del extremo 3' de la cadena codificante. En algunas modalidades, al menos dos enlaces internucleósidos de fosforotioato se encuentran entre los nucleótidos en las posiciones 1-3, 2-4, 3-5, 4-6, 4-5 o 6-8 del extremo 5' de la cadena codificante. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB de la cadena no codificante contiene cuatro enlaces internucleósidos de fosforotioato. En algunas modalidades, los cuatro enlaces internucleósidos de fosforotioato se encuentran entre los nucleótidos en las posiciones 1-3 del extremo 5’ de la cadena codificante y entre los nucleótidos en las posiciones 19-21, 20-22, 21-23, 22-24, 23-25 o 24-26 del extremo 5'. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB contiene al menos dos enlaces internucleósidos de fosforotioato en la cadena codificante y tres o cuatro enlaces internucleósidos de fosforotioato en la cadena no codificante.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB contiene uno o más nucleótidos modificados y uno o más enlaces internucleósidos modificados. En algunas modalidades, un nucleósido 2′-modificado se combina con un enlace internucleósido modificado.

Agentes de iARN del VHB

En algunas modalidades, los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción se dirigen a un gen del VHB en o cerca de las posiciones del genoma del VHB que se muestran en la siguiente Tabla 1. En algunas modalidades, la cadena no codificante de un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción incluye una secuencia de tramo del núcleo que es completamente, sustancialmente o al menos parcialmente complementaria a una secuencia objetivo 19-mer del VHB descrita en la Tabla 1.

Tabla 1. Ilustración de las secuencias objetivo del ADNc del VHB de 19-mer para agentes de iARN del VHB (tomados del virus de la Hepatitis B (subtipo ADW2), genotipo A, genoma completo GenBank AM282986.1 (SEQ ID NO: 1)).

Sec. con núm. de ident.	**Secuencias objetivo 19-mer del VHB (5' → 3')**	**Posición del genoma de la SEQ ID NO: 1**	**Región del gen VHB objetivo**
2	GTGGTGGACTTCTCTCAAT	256-274	ORF S
3	TGGTGGACTTCTCTCAATT	257-275	ORF S
4	GGACTTCTCTCAATTTTCT	261-279	ORF S
5	GCTGTAGGCATAAATTGGT	1780-1798	ORF X
6	CTGTAGGCATAAATTGGTC	1781-1799	ORF X

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB incluye una cadena no codificante en donde la posición 19 de la cadena no codificante (5'→3') es capaz de formar un par de bases con la posición 1 de una secuencia objetivo 19-mer descrita en la Tabla 1. En algunas

modalidades, un agente de iARN del VHB incluye una cadena no codificante en donde la posición 1 de la cadena no codificante (5' → 3') es capaz de formar un par de bases con la posición 19 de la secuencia objetivo 19-mer descrita en la Tabla 1.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB incluye una cadena no codificante en donde la posición 2 de la cadena no codificante (5' → 3') es capaz de formar un par de bases con la posición 18 de la secuencia objetivo 19-mer descrita en la Tabla 1. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB incluye una cadena no codificante en donde las posiciones 2 a 18 de la cadena no codificante (5' → 3') son capaces de formar pares de bases con cada una de las bases complementarias respectivas ubicadas en las posiciones 18 a 2 de la secuencia objetivo 19-mer descrita en la Tabla 1.

En algunas modalidades, los agentes de iARN del VHB incluyen secuencias de núcleo 19-mer de nucleótidos mostradas en la siguiente Tabla 2.

Tabla 2. Secuencias de tramo del núcleo de la cadena codificante y cadena no codificante del agente de iARN del VHB (N=cualquier nucleótido).

Sec. con núm. de ident.:	Secuencia no codificante (5' → 3') (19-mer)	Sec. con núm. de ident.:	Secuencia codificante (5' → 3') (19-mer)	Posición del genoma de la SEQ ID NO: 1
7	AUUGAGAGAAGUCCACCAC	34	GUGGUGGACUUCUCUCAAU	256-274
8	UUUGAGAGAAGUCCACCAC	35	GUGGUGGACUUCUCUCAAA	256-274
9	AUUGAGAGAAGUCCACCAN	36	NUGGUGGACUUCUCUCAAU	256-274
10	UUUGAGAGAAGUCCACCAN	37	NUGGUGGACUUCUCUCAAA	256-274
11	NUUGAGAGAAGUCCACCAN	38	NUGGUGGACUUCUCUCAAN	256-274
12	AAUUGAGAGAAGUCCACCA	39	UGGUGGACUUCUCUCAAUU	257-275
13	UAUUGAGAGAAGUCCACCA	40	UGGUGGACUUCUCUCAAUA	257-275
14	AAUUGAGAGAAGUCCACCN	41	NGGUGGACUUCUCUCAAUU	257-275
15	UAUUGAGAGAAGUCCACCN	42	NGGUGGACUUCUCUCAAUA	257-275
16	NAUUGAGAGAAGUCCACCN	43	NGGUGGACUUCUCUCAAUN	257-275
17	AGAAAAUUGAGAGAAGUCC	44	GGACUUCUCUCAAUUUUCU	261-279
18	UGAAAAUUGAGAGAAGUCC	45	GGACUUCUCUCAAUUUUCA	261-279
19	AGAAAAUUGAGAGAAGUCN	46	NGACUUCUCUCAAUUUUCU	261-279
20	UGAAAAUUGAGAGAAGUCN	47	NGACUUCUCUCAAUUUUCA	261-279

Sec. con núm. de ident.:	Secuencia no codificante (5' → 3') (19-mer)	Sec. con núm. de ident.:	Secuencia codificante (5' → 3') (19-mer)	Posición del genoma de la SEQ ID NO: 1
21	NGAAAAUUGAGAGAAGUCN	48	NGACUUCUCUCAAUUUUCN	261-279
22	ACCAAUUUAUGCCUACAGC	49	GCUGUAGGCAUAAAUUGGU	1780-1798
23	UCCAAUUUAUGCCUACAGC	50	GCUGUAGGCAUAAAUUGGA	1780-1798
24	ACCAAUUUAUGCCUACAGN	51	NCUGUAGGCAUAAAUUGGU	1780-1798
25	UCCAAUUUAUGCCUACAGN	52	NCUGUAGGCAUAAAUUGGA	1780-1798
26	NCCAAUUUAUGCCUACAGN	53	NCUGUAGGCAUAAAUUGGN	1780-1798
27	GACCAAUUUAUGCCUACAG	54	CUGUAGGCAUAAAUUGGUC	1781-1799
28	AACCAAUUUAUGCCUACAG	55	CUGUAGGCAUAAAUUGGUU	1781-1799
29	UACCAAUUUAUGCCUACAG	56	CUGUAGGCAUAAAUUGGUA	1781-1799
30	GACCAAUUUAUGCCUACAN	57	NUGUAGGCAUAAAUUGGUC	1781-1799
31	AACCAAUUUAUGCCUACAN	58	NUGUAGGCAUAAAUUGGUU	1781-1799
32	UACCAAUUUAUGCCUACAN	59	NUGUAGGCAUAAAUUGGUA	1781-1799
33	NACCAAUUUAUGCCUACAN	60	NUGUAGGCAUAAAUUGGUN	1781-1799

Las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes del agente de iARN del VHB que comprenden o consisten en las secuencias de nucleótidos de la Tabla 2 pueden ser nucleótidos modificados o nucleótidos no modificados. En algunas modalidades, los agentes de iARN del VHB tienen secuencias de cadena codificante y no codificante que comprenden o consisten en secuencias de nucleótidos en la Tabla 2, todos o sustancialmente todos son nucleótidos modificados.

En algunas modalidades, la cadena no codificante de un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos con respecto a cualquiera de las secuencias de la cadena no codificante en la Tabla 2. En algunas modalidades, la cadena codificante de un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos con respecto a cualquiera de las secuencias de la cadena codificante en la Tabla 2.

Las secuencias de cadena no codificante del agente de iARN del VHB modificadas, así como sus secuencias no modificadas subyacentes, se proporcionan en la Tabla 3. Las cadenas codificantes del agente de iARN del VHB modificadas, así como sus secuencias no modificadas subyacentes, se proporcionan en la Tabla 4. En la formación de agentes de iARN del VHB, cada uno de los nucleótidos en cada una de las secuencias no modificadas enumeradas en las Tablas 3 y 4 puede ser un nucleótido modificado.

Como se usa en la presente descripción (incluidas en las Tablas 3 y 4), las notaciones siguientes se usan para indicar nucleótidos modificados, grupos de direccionamiento y grupos de enlace. Como lo comprenderá fácilmente un experto en la técnica, a menos que la secuencia indique lo contrario, cuando está presente en un oligonucleótido, los monómeros se unen mutuamente mediante enlaces fosfodiéster 5'-3':

A	=	adenosina-3′-fosfato;
C	=	cicltidina-3′-fosfato;
G	=	guanosina-3′-fosfato;
U	=	uridina-3′-fosfato
n	=	cualquier 2′-OMe nucleótidos modificados
a	=	2′-O-metiladenosina-3′-fosfato
as	=	2′-O-metiladenosina-3′-fosforotioato
c	=	2′-O-metilcitidina-3′-fosfato
cs	=	2′-O-metilcitidina-3′-fosforotioato
g	=	2′-O-metilguanosina-3′-fosfato
gs	=	2′-O-metilguanosina-3′-fosforotioato
t	=	2′-O-metil-5-metiluridina-3′-fosfato
ts	=	2′-O-metil-5-metiluridina-3′-fosforotioato
u	=	2′-O-metiluridina-3′-fosfato
us	=	2′-O-metiluridina-3′-fosforotioato
Nf	=	cualquier nucleótido 2′-fluoro modificado
Af	=	2′-fluoroadenosina-3′-fosfato
Afs	=	2′-fluoroadenosina-3′-fosporioato
Cf	=	2′-fluorocitidina-3′-fosfato
Cfs	=	2′-fluorocitidina-3′-fosforotioato
Gf	=	2′-fluoroguanosina-3′-fosfato
Gfs	=	2′-fluoroguanosina-3′-fosforotioato
Tf	=	2′-fluoro-5′-metiluridina-3′-fosfato

Tfs	=	2′-fluoro-5′-metiluridina-3′-fosforotioato
Uf	=	2′-fluorouridina-3′-fosfato
Ufs	=	2′-fluorouridina-3′-fosforotioato
dN	=	cualquier 2′-desoxirribonucleótido
dT	=	2′-desoxitimidina-3′-fosfato
N_{UNA}	=	2′, 3′-seco imitadores de nucleótido (análogos de nucleobase desbloqueados)
N_{LNA}	=	nucleótido bloqueado
Nf_{ANA}	=	2'-F-arabino nucleótido
NM	=	2′-metoxietilo nucleótido
AM	=	2′-metoxietilo adenosina-3′-fosfato
AMs	=	2′-metoxietiladenosina-3′-fosforotioato
TM	=	2′-metoxietiltimidina-3′-fosfato
TMs	=	2′-metoxietiltimidina-3′-fosforotioato
R	=	ribitol
(invdN)	=	cualquier desoxirribonucleótido invertido (3′-3′ nucleótido enlazado)
(invAb)	=	desoxirribonucleótido invertido (3′-3′ enlazado) abásico, ver la Tabla 6
(invAb)s	=	desoxirribonucleótido-5′-fosforotioato invertido (3′-3′ enlazado) abásico, ver la Tabla 6
(invn)	=	cualquier nucleótido invertido 2′-OMe (3′-3′ nucleótido enlazado)
s	=	enlace de fosforotioato
vpdN	=	fosfato de vinilo desoxirribonucleótido
(5Me-NF)	=	5'-Me, 2'-fluoro nucleótido
cPrp	=	fosfonato de ciclopropilo, ver la Tabla 6
epTcPr	=	ver la Tabla 6
epTM	=	ver la Tabla 6

El experto en la técnica comprenderá fácilmente que el nucleótido terminal en el extremo 3’ de una secuencia de oligonucleótidos dada tendría, típicamente, un grupo hidroxilo (-OH) en la posición 3' respectiva del monómero dado en lugar de un resto fosfato *ex vivo*. Así, por ejemplo, como se muestra anteriormente en la representación de la estructura de AD05070, el nucleótido modificado “g” en el extremo 3' terminal de la cadena no codificante de AM06606-AS tiene un grupo hidroxilo posicionado en su posición 3'. A menos que se indique expresamente lo contrario en la presente descripción, se usan los conocimientos del experto en la técnica al describir los agentes y las composiciones de los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción.

Los grupos de direccionamiento y los grupos de enlace incluyen los siguientes, de los cuales se proporciona sus estructuras químicas a continuación en la Tabla 6: (PAZ), (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. Cada cadena codificante y/o cadena no codificante puede tener cualquier grupo de direccionamiento o grupos de enlace enumerados arriba, así como otros grupos de direccionamiento o de enlace, conjugados con los extremos 5′ y/o 3′ de la secuencia.

Tabla 3. Secuencias de cadena no codificante del agente de iARN del VHB.

Ident. de la cadena S/A	Secuencia modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.	Secuencia no modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.
AM03508-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsusuAu	61	UACCAAUUUAUGCCUACAGGCCUUAU	149
AM04441-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfcscsu	62	UACCAAUUUAUGCCUACAGGCCU	150
AM04442-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsu	63	UACCAAUUUAUGCCUACAGGCCU	150
AM04443-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc	64	UACCAAUUUAUGCCUACAGGC	151
AM04661-AS	usGfsugaAfgCfGfaaguGfcAfcacsusu	65	UGUGAAGCGAAGUGCACACUU	152
AM04768-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfcsusccgc	66	UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUCCGC	153
AM04769-AS	vpusAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfcsusccgc	67	UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUCCGC	153
AM05011-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu	68	UACCAAUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05012-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsc	69	UACCAAUUUAUGCCUACAGGC	151
AM05013-AS	vpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc	70	UACCAAUUUAUGCCUACAGGC	151
AM05014-AS	vpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu	71	UACCAAUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05052-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcGfsa	72	AUUGAGAGAAGUCCACCACGA	155
AM05053-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcgsa	73	AUUGAGAGAAGUCCACCACGA	155
AM05054-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcusu	74	AUUGAGAGAAGUCCACCACUU	156
AM05055-AS	vpusUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcGfsa	75	UUUGAGAGAAGUCCACCACGA	157
AM05056-AS	asAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg	76	AAUUGAGAGAAGUCCACCACG	158
AM05057-AS	asAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfacsg	77	AAUUGAGAGAAGUCCACCACG	158
AM05058-AS	asAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfausu	78	AAUUGAGAGAAGUCCACCAUU	159
AM05060-AS	vpusAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg	79	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160

AM05351-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsu	80	UACCAAUUUAUGCCUACAGGU	161
AM05608-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgsusu	81	UACCAAUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05609-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc	82	UACCAAUUUAUGCCUACAGCC	162
AM05610-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusu	83	UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUU	163
AM05611-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusc	84	UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUC	164
AM05612-AS	usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagcsc	85	UACCAAUUUAUGCCUACAGCC	162
AM05613-AS	usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagccusu	86	UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUU	163
AM05614-AS	usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagccusc	87	UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUC	164
AM05618-AS	asUfsusgagaGfaAfgUfcCfaccacusu	88	AUUGAGAGAAGUCCACCACUU	156
AM05621-AS	usUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcusu	89	UUUGAGAGAAGUCCACCACUU	165
AM05623-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcggusu	90	AUUGAGAGAAGUCCACCACGGUU	166
AM05626-AS	asUfsusgagaGfaAfgUfcCfaccacggusu	91	AUUGAGAGAAGUCCACCACGGUU	166
AM05628-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcgagsu	92	AUUGAGAGAAGUCCACCACGAGU	167
AM05631-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg	93	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05632-AS	usAfsusugagAfgAfaGfuCfcaccacsg	94	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05633-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfgusu	95	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGUU	168
AM05634-AS	usAfsusugagAfgAfaGfuCfcaccacgasg	96	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	169
AM05635-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfgasg	97	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	169
AM05637-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfgsa	98	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGA	170
AM05638-AS	usAfsusugagAfgAfaGfuCfcaccacgsa	99	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGA	170
AM05747-AS	asGfsasAfaAfuugagAfgAfaGfuCfcAfsc	100	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC	171
AM05849-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgusu	101	UACCAAUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05850-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcsc	102	UACCAAUUUAUGCCUACAGCC	162

AM05851-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcusu	103	UACCAAUUUAUGCCUACAGCUU	172
AM05852-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccsu	104	UACCAAUUUAUGCCUACAGCCU	173
AM05853-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccusu	105	UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUU	163
AM05854-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccusc	106	UACCAAUUUAUGCCUACAGCCUC	164
AM05855-AS	cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu	107	UACCAAUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05860-AS	cPrpusAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg	108	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05862-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfausu	109	UAUUGAGAGAAGUCCACCAUU	174
AM05863-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsg	110	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05864-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu	111	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175
AM05865-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsgsa	112	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGA	170
AM05867-AS	vpusAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfaCfsg	113	UAUUGAGAGAAGUCCACCACG	160
AM05873-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcCfaCfcAfcusu	114	UUUGAGAGAAGUCCACCACUU	165
AM05874-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcCfaCfcAfcgsa	115	UUUGAGAGAAGUCCACCACGA	157
AM05875-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcCfaCfcAfcgusu	116	UUUGAGAGAAGUCCACCACGUU	176
AM05876-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcCfaCfcAfcgasg	117	UUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	177
AM05877-AS	cPrpusUfsusGfaGfaGfaAfgUfcCfaCfcAfcusu	118	UUUGAGAGAAGUCCACCACUU	165
AM06074-AS	cPrpusAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu	119	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175
AM06142-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacusu	120	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175
AM06143-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacgusu	121	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGUU	168
AM06144-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacuus (invAb)	122	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175
AM06145-AS	usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacgasg	123	UAUUGAGAGAAGUCCACCACGAG	169
AM06222-AS	usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfacusu	124	UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU	175
AM06281-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu	125	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCUU	178

AM06282-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc	126	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC	171
AM06283-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacusu	127	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCACUU	179
AM06284-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacsc	128	AGAAAAUUGAGAGAAGUCCACC	180
AM06285-AS	usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu	129	UGAAAAUUGAGAGAAGUCCUU	152
AM06286-AS	usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc	130	UGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC	181
AM06299-AS	asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu	131	ACCAAUUUAUGCCUACAGCUU	182
AM06300-AS	asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu	132	ACCAAUUUAUGCCUACAGCCUU	183
AM06301-AS	asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusc	133	ACCAAUUUAUGCCUACAGCCUC	184
AM06302-AS	usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu	134	UCCAAUUUAUGCCUACAGCUU	185
AM06303-AS	usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu	135	UCCAAUUUAUGCCUACAGCCUU	186
AM06463-AS	cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc	136	UACCAAUUUAUGCCUACAGCC	162
AM06464-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc	137	UACCAAUUUAUGCCUACAGCC	162
AM06465-AS	cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc	138	UACCAAUUUAUGCCUACAGCC	162
AM06604-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsu	139	UACCAAUUUAUGCCUACAGCU	187
AM06606-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg	140	UACCAAUUUAUGCCUACAGCG	188
AM06608-AS	asAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc	141	AACCAAUUUAUGCCUACAGCC	189
AM06611-AS	usAfscsCfaAfuUfUfAfuGfcCfuAfcAfgusu	142	UACCAAUUUAUGCCUACAGUU	154
AM06612-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfsc	143	UACCAAUUUAUGCCUACAGCC	162
AM06614-AS	asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu	144	ACCAAUUUAUGCCUACAGCCU	190
AM06616-AS	usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu	145	UCCAAUUUAUGCCUACAGCCU	191
AM06618-AS	asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg	146	ACCAAUUUAUGCCUACAGCCG	192
AM06620-AS	usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg	147	UCCAAUUUAUGCCUACAGCCG	193
AM06751-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsg	148	UACCAAUUUAUGCCUACAGGG	194

Tabla 4. Secuencias de la cadena codificante del agente de iARN del VHB.

Ident. de la cadena	Secuencia modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.	Secuencia no modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.
AM04444-SS	(NAG25)uusgsccuguagGfCfAfuaaauugguaus(invdT)	195	UUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUT	275
AM04445-SS	(NAG25)uusgsccuguagGfCfAfuaaauugguaus(invdA)	196	UAUAUGCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	276
AM04767-SS	(NAG25)gcggagsgcuguagGfCfAfuaaauuggTM(invdA)	197	GCGGAGGCUGUAGGCAUAAAUUGGTA	277
AM05010-SS	(NAG25)scsuguagGfCfAfuaaauugguauus(invAb)	198	CUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	278
AM05015-SS	(NAG25)sgsccuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	199	GCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	279
AM05016-SS	(NAG25)sgsccuguagGfCfAfuaaauuggus(invdA)	200	GCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	279
AM05017-SS	(NAG25)sgsccuguagGfCfAfuaaauugguAMs(invAb)	201	GCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	279
AM05018-SS	(NAG25)sgsccuguagGfCfAfuaaauuggTMAMs(invAb)	202	GCCUGUAGGCAUAAAUUGGTA	280
AM05019-SS	(NAG25)sasacuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	203	AACUGUAGGCAUAAAUUGGUA	281
AM05034-SS	(NAG25)suscguggugGfAfCfuucucucaaus(invAb)	204	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAU	282
AM05046-SS	(NAG25)sasaguggugGfAfCfuucucucaaus(invAb)	205	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAU	283
AM05047-SS	(NAG25)suscguggugGfAfCfuucucucaAMTMs(invAb)	206	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAT	284
AM05048-SS	(NAG25)scsgugguggAfCfUfucucucaauus(invAb)	207	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUU	285
AM05049-SS	(NAG25)sasaugguggAfCfUfucucucaauus(invAb)	208	AAUGGUGGACUUCUCUCAAUU	286
AM05050-SS	(NAG25)scsgugguggAfCfUfucucucaaTMTMs(invAb)	209	CGUGGUGGACUUCUCUCAATT	287
AM05051-SS	(NAG25)sgsgacuucuCfUfCfaauuuucuaas(invAb)	210	GGACUUCUCUCAAUUUUCUAA	288
AM05063-SS	(NAG25)scsgugguggAfCfUfucucucaauas(invAb)	211	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUA	289
AM05064-SS	(NAG25)suscguggugGfAfCfuucucucaaas(invAb)	212	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAA	290

Ident. de la cadena	Secuencia modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.	Secuencia no modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.
AM05346-SS	(NAG31)sasccuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	213	ACCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	291
AM05347-SS	(NAG31)s(invAb)scuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	214	CUGUAGGCAUAAAUUGGUA	292
AM05606-SS	(NAG25)s(invAb)scuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	215	CUGUAGGCAUAAAUUGGUA	292
AM05607-SS	(NAG37)s(invAb)scuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	216	CUGUAGGCAUAAAUUGGUA	292
AM05615-SS	(NAG25)s(invAb)sacuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	217	ACUGUAGGCAUAAAUUGGUA	293
AM05616-SS	(NAG25)sgsgcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	218	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	294
AM05617-SS	(NAG37)sasaguggugGfAfCfuucucucaaus(invAb)	219	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAU	283
AM05620-SS	(NAG25)sasaguggugGfAfCfuucucucaaas(invAb)	220	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAA	295
AM05622-SS	(NAG25)scscguggugGfAfCfuucucucaaus(invAb)	221	CCGUGGUGGACUUCUCUCAAU	296
AM05624-SS	(NAG25)s(invAb)sccguggugGfAfCfuucucucaaus(invAb)	222	CCGUGGUGGACUUCUCUCAAU	296
AM05627-SS	(NAG25)scsucguggugGfAfCfuucucucaaus(invAb)	223	CUCGUGGUGGACUUCUCUCAAU	297
AM05629-SS	(NAG25)s(invAb)sguggugGfAfCfuucucucaaus(invAb)	224	GUGGUGGACUUCUCUCAAU	298
AM05630-SS	(NAG25)s(invAb)sguggugGfAfCfuucucucaauusu(invAb)	225	GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU	299
AM05636-SS	(NAG25)suscgugguggAfCfUfucucucaauus(invAb)	226	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAUU	300
AM05639-SS	(NAG25)s(invAb)sugguggAfCfUfucucucaauus(invAb)	227	UGGUGGACUUCUCUCAAUU	301
AM05640-SS	(NAG37)s(invAb)sugguggAfCfUfucucucaauus(invAb)	228	UGGUGGACUUCUCUCAAUU	301
AM05746-SS	(NAG25)sgsuggacuuCfUfCfucaauuuucus(invAb)	229	GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU	302
AM05856-SS	(NAG25)s(invAb)scuguagGfCfAfuaaauugguausu(invAb)	230	CUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	278
AM05857-SS	(NAG25)s(invAb)sgcuguagGfCfAfuaaauugguausu(invAb)	231	GCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	303
AM05858-SS	(NAG25)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaaauugguausu(invAb)	232	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	304

Ident. de la cadena	Secuencia modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.	Secuencia no modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.
AM05859-SS	(NAG25)s(invAb)saacuguagGfCfAfuaaauugguausu(invAb)	233	AACUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	305
AM05868-SS	(NAG25)s(invAb)ugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb)	234	UGGUGGACUUCUCUCAAUAUU	306
AM05869-SS	(NAG25)s(invAb)sgugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb)	235	GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU	307
AM05870-SS	(NAG25)sasaugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb)	236	AAUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU	308
AM05871-SS	(NAG25)scsgugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb)	237	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU	309
AM05872-SS	(NAG31)scsgugguggAfCfUfucucucaauas(invAb)	238	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUA	289
AM05879-SS	(NAG25)s(invAb)saaguggugGfAfCfuucucucaaus(invAb)	239	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAU	283
AM05880-SS	(NAG25)s(invAb)sguggugGfAfCfuucucucaaausu(invAb)	240	GUGGUGGACUUCUCUCAAAUU	310
AM05881-SS	(NAG25)s(invAb)scguggugGfAfCfuucucucaaausu(invAb)	241	CGUGGUGGACUUCUCUCAAAUU	311
AM05882-SS	(NAG25)sasaguggugGfAfCfuucucucaaausu(invAb)	242	AAGUGGUGGACUUCUCUCAAAUU	312
AM05883-SS	(NAG25)suscguggugGfAfCfuucucucaaausu(invAb)	243	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAAUU	313
AM06146-SS	(NAG37)s(invAb)sgugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb)	244	GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU	307
AM06147-SS	(NAG37)s(invAb)scgugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb)	245	CGUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU	309
AM06148-SS	(NAG37)s(invAb)scucgugguggAfCfUfucucucaauas(invAb)	246	CUCGUGGUGGACUUCUCUCAAUA	314
AM06149-SS	(NAG37)s(invAb)scucgugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb)	247	CUCGUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU	315
AM06150-SS	(NAG37)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	248	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	294
AM06151-SS	(NAG37)s(invAb)sgaggcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	249	GAGGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	316
AM06152-SS	(NAG37)s(invAb)sgaggcuguagGfCfAfuaaauugguausu(invAb)	250	GAGGCUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	317
AM06287-SS	(NAG37)s(invAb)sggacuuCfUfCfucaauuuucus(invAb)	251	GGACUUCUCUCAAUUUUCU	318
AM06288-SS	(NAG37)s(invAb)sguggacuuCfUfCfucaauuuucus(invAb)	252	GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU	302

Ident. de la cadena	Secuencia modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.	Secuencia no modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.
AM06289-SS	(NAG37)s(invAb)sgguggacuuCfUfCfucaauuuucus(invAb)	253	GGUGGACUUCUCUCAAUUUUCU	319
AM06290-SS	(NAG37)s(invAb)sggacuuCfUfCfucaauuuucas(invAb)	254	GGACUUCUCUCAAUUUUCA	320
AM06291-SS	(NAG37)s(invAb)sguggacuuCfUfCfucaauuuucas(invAb)	255	GUGGACUUCUCUCAAUUUUCA	321
AM06304-SS	(NAG37)s(invAb)sgcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb)	256	GCUGUAGGCAUAAAUUGGU	322
AM06305-SS	(NAG37)s(invAb)sggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb)	257	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGU	323
AM06306-SS	(NAG37)s(invAb)sgaggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb)	258	GAGGCUGUAGGCAUAAAUUGGU	324
AM06307-SS	(NAG37)s(invAb)sgcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb)	259	GCUGUAGGCAUAAAUUGGA	325
AM06308-SS	(NAG37)s(invAb)sggcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb)	260	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGA	326
AM06603-SS	(NAG37)s(invAb)sagcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	261	AGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	327
AM06605-SS	(NAG37)s(invAb)scgcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	262	CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	328
AM06607-SS	(NAG37)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaaauugguus(invAb)	263	GGCUGUAGGCAUAAAUUGGUU	329
AM06609-SS	(NAG37)s(invAb)scuguagGfCfAfuaaauugguasuus(invAb)	264	CUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	278
AM06610-SS	(NAG37)s(invAb)scuGfuAfgGfCfAfuAfaAfuUfgGfuasuus(invAb)	265	CUGUAGGCAUAAAUUGGUAUU	278
AM06613-SS	(NAG37)s(invAb)saggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb)	266	AGGCUGUAGGCAUAAAUUGGU	330
AM06615-SS	(NAG37)s(invAb)saggcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb)	267	AGGCUGUAGGCAUAAAUUGGA	331
AM06617-SS	(NAG37)s(invAb)scggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb)	268	CGGCUGUAGGCAUAAAUUGGU	332
AM06619-SS	(NAG37)s(invAb)scggcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb)	269	CGGCUGUAGGCAUAAAUUGGA	333
AM06750-SS	(NAG37)s(invAb)scccuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	270	CCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	334
AM06752-SS	(NAG37)csgcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	271	CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	328
AM06753-SS	(NAG37)csccuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	272	CCCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	334

Ident. de la cadena	Secuencia modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.	Secuencia no modificada (5 ′→ 3')	SEC. CON NÚM. DE IDENT.
AM06776-SS	(NAG25)s(invAb)sguggacuuCfUfCfucaauuuucus(invAb)	273	GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU	302
AM06777-SS	(NAG25)s(invAb)scgcuguagGfCfAfuaaauugguas(invAb)	274	CGCUGUAGGCAUAAAUUGGUA	328

Los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción se forman al hibridarse una cadena no codificante con una cadena codificante. Una cadena codificante que contiene una secuencia enumerada en la Tabla 4 puede hibridarse con cualquier cadena no codificante que contenga una secuencia enumerada en la Tabla 3, siempre que las dos secuencias tengan una región de al menos aproximadamente el 85 % de complementariedad sobre una secuencia contigua de 16, 17, 18, 19, 20 o 21 nucleótidos.

En algunas modalidades, la cadena no codificante de un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos con respecto a cualquiera de las secuencias de la cadena no codificante de la Tabla 3. En algunas modalidades, la cadena codificante de un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción se diferencia por 0, 1, 2 o 3 nucleótidos con respecto a cualquiera de las secuencias de la cadena codificante de la Tabla 4.

En algunas modalidades, una cadena no codificante del agente de iARN del VHB comprende una secuencia de nucleótidos de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3. En algunas modalidades, una cadena no codificante del agente de iARN del VHB comprende la secuencia de nucleótidos (del extremo 5' → al extremo 3') 1-17, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21, 2-21, 1-22, 2-22, 1-23, 2-23, 1-24, 2-24, 1-25, 2-25, 1-26, o 2-26 de cualquiera de las secuencias de la Tabla 3.

En algunas modalidades, una cadena codificante del agente de iARN del VHB comprende la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las secuencias de la Tabla 4. En algunas modalidades, la cadena codificante del agente de iARN del VHB comprende la secuencia de nucleótidos (del extremo 5' → al extremo 3') 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, 4-21, 1-22, 2-22, 3-22, 4-22, 1-23, 2-23, 3-23, 4-23, 1-24, 2-24, 3-24, 4-24, 1-25, 2-25, 3-25, 4-25, 1-26, 2-26, 3-26 o 4-26 de cualquier secuencias de la Tabla 4.

Para los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción, el nucleótido en la posición 1 de la cadena no codificante (del extremo 5' → al extremo 3') puede ser perfectamente complementario a un gen del VHB, o puede no ser complementario a un gen del VHB. En algunas modalidades, el nucleótido en la posición 1 de la cadena no codificante (del extremo 5' → al extremo 3') es una U, A o dT. En algunas modalidades, el nucleótido en la posición 1 de la cadena no codificante (del extremo 5' → al extremo 3') forma un par de bases A:U o U:A con la cadena codificante.

En algunas modalidades, una cadena no codificante del agente de iARN del VHB comprende la secuencia de nucleótidos (del extremo 5' → al extremo 3') 2-18 o 2-19 de cualquiera de las secuencias de cadena no codificante de la Tabla 3. En algunas modalidades, una cadena codificante del agente de iARN del VHB comprende la secuencia de nucleótidos (del extremo 5' → al extremo 3') 1-17 o 1-18 de cualquiera de las secuencias de la cadena codificante de la Tabla 4.

En algunas modalidades, una agente de iARN del VHB incluye (i) una cadena no codificante que comprende la secuencia de nucleótidos (del extremo 5' → al extremo 3') 2-18 o 2-19 de cualquiera de las secuencias de la cadena no codificante de la Tabla 3 y (ii) una cadena codificante que comprende la secuencia → de nucleótidos (del extremo 5’ al extremo 3') 1-17 o 1-18 de cualquiera de las secuencias de la cadena codificante de la Tabla 4.

Una cadena codificante que contiene una secuencia enumerada en la Tabla 4 puede hibridarse con cualquier cadena no codificante que contiene una secuencia enumerada en la Tabla 3 siempre que las dos secuencias tengan una región de al menos aproximadamente 85 % de complementariedad sobre una secuencia contigua de 16, 17, 18, 19, 20 o 21 de nucleótidos. Los pares de secuencias representativas se ilustran con los núms. de ident. de los dúplex que se muestran en la Tabla 5.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende cualquiera de los núms. de ident. de los dúplex que se muestran en la presente descripción. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB consiste en cualquiera de los núms. de ident. de los dúplex que se muestran en la presente descripción. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende las secuencias de nucleótidos de la cadena codificante y/o cadena no codificante de cualquiera de los núms. de ident. de los dúplex que se muestran en la presente descripción. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB

comprende las secuencias de nucleótidos de la cadena codificante y la cadena no codificante de cualquiera de los núms. de ident. De los dúplex que se muestran en la presente descripción y un grupo de direccionamiento y/o grupo de enlace en donde el grupo de direccionamiento y/o grupo de enlace está enlazado covalentemente (es decir, conjugado) con la cadena codificante o la cadena no codificante. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende las secuencias de nucléotidos modificadas de la cadena codificante y la cadena no codificante de cualquiera de los núms. de ident. de los dúplex que se muestran en la presente descripción. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende las secuencias de nucleótidos modificadas de la cadena codificante y la cadena no codificante de cualquiera de los núms. de ident. de los dúplex que se muestran en la presente descripción y un grupo de direccionamiento y/o grupo de enlace en donde el grupo de direccionamiento y/o grupo de enlace está enlazado covalentemente con la cadena codificante o a la cadena no codificante.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende una cadena codificante y una cadena no codificante que tiene las secuencias de nucleótidos de cualquiera de los dúplex de cadena codificante/cadena no codificante de la Tabla 5, y comprende, además, un grupo de direccionamiento de ligando de receptor de asialoglicoproteína.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende una secuencia de nucleótidos de la cadena codificante y la cadena no codificante de cualquiera de las secuencias de nucleótidos de la cadena codificante y la cadena no codificante de

cualquiera de los dúplex de la Tabla 5, y comprende además un grupo de direccionamiento seleccionado del grupo que consiste en: (PAZ), (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.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende secuencias de nucleótidos modificadas de una cadena codificante y una cadena no codificante de cualquiera de las secuencias de nucleótidos de la cadena codificante y/o cadena no codificante de cualquiera de los dúplex de la Tabla 5.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende una cadena no codificante y una cadena codificante que tienen las secuencias de nucleótidos modificadas de cualquiera de las secuencias de nucleótidos de la cadena codificante y/o cadena no codificante de cualquiera de los dúplex de la Tabla 5 y comprende, además, un grupo de direccionamiento de ligandos de receptor de asialoglicoproteína.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB comprende cualquiera de los dúplex de la Tabla 5.

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB consiste en cualquiera de los dúplex de la Tabla 5.

Tabla 5. Ejemplos de dúplex del agente de iARN del VHB.

Dúplex con ident.	Ident. de cadena no codificante	Ident. de cadena codificante
AD03498	AM03508-AS	AM04445-SS
AD03499	AM04441-AS	AM04444-SS
AD03500	AM04442-AS	AM04444-SS
AD03501	AM04443-AS	AM04444-SS
AD03738	AM04768-AS	AM04767-SS
AD03739	AM04769-AS	AM04767-SS
AD03967	AM04443-AS	AM05010-SS
AD03968	AM05011-AS	AM05010-SS
AD03969	AM04443-AS	AM05015-SS
AD03970	AM05011-AS	AM05019-SS
AD03971	AM05012-AS	AM05015-SS
AD03972	AM04443-AS	AM05016-SS
AD03973	AM04443-AS	AM05017-SS
AD03974	AM04443-AS	AM05018-SS
AD03975	AM05013-AS	AM05015-SS
AD03976	AM05014-AS	AM05019-SS
AD03977	AM05013-AS	AM05017-SS
AD03978	AM05013-AS	AM04444-SS
AD04001	AM05052-AS	AM05034-SS
AD04002	AM05053-AS	AM05034-SS
AD04003	AM05054-AS	AM05046-SS
AD04004	AM05052-AS	AM05047-SS
AD04005	AM05055-AS	AM05064-SS
AD04006	AM05056-AS	AM05048-SS
AD04007	AM05057-AS	AM05048-SS
AD04008	AM05058-AS	AM05049-SS
AD04009	AM05056-AS	AM05050-SS
AD04010	AM05060-AS	AM05063-SS
AD04176	AM05351-AS	AM05346-SS
AD04177	AM04443-AS	AM05347-SS
AD04178	AM05011-AS	AM05347-SS
AD04412	AM05011-AS	AM05606-SS
AD04413	AM05011-AS	AM05607-SS
AD04414	AM05608-AS	AM05606-SS
AD04415	AM05011-AS	AM05615-SS
AD04416	AM05609-AS	AM05616-SS
AD04417	AM05610-AS	AM05616-SS
AD04418	AM05611-AS	AM05616-SS
AD04419	AM05612-AS	AM05616-SS
AD04420	AM05613-AS	AM05616-SS
AD04421	AM05614-AS	AM05616-SS
AD04422	AM05054-AS	AM05617-SS

Dúplex con ident.	Ident. de cadena no codificante	Ident. de cadena codificante
AD04423	AM05618-AS	AM05046-SS
AD04425	AM05621-AS	AM05620-SS
AD04426	AM05623-AS	AM05622-SS
AD04427	AM05623-AS	AM05624-SS
AD04428	AM05626-AS	AM05622-SS
AD04429	AM05626-AS	AM05624-SS
AD04430	AM05628-AS	AM05627-SS
AD04431	AM05054-AS	AM05629-SS
AD04432	AM05054-AS	AM05630-SS
AD04433	AM05631-AS	AM05048-SS
AD04434	AM05632-AS	AM05048-SS
AD04435	AM05633-AS	AM05048-SS
AD04436	AM05635-AS	AM05048-SS
AD04437	AM05634-AS	AM05048-SS
AD04438	AM05637-AS	AM05636-SS
AD04439	AM05638-AS	AM05636-SS
AD04440	AM05058-AS	AM05639-SS
AD04441	AM05057-AS	AM05639-SS
AD04442	AM05057-AS	AM05640-SS
AD04511	AM05747-AS	AM05746-SS
AD04570	AM05011-AS	AM05856-SS
AD04571	AM05849-AS	AM05856-SS
AD04572	AM05850-AS	AM05856-SS
AD04573	AM05851-AS	AM05857-SS
AD04574	AM05852-AS	AM05857-SS
AD04575	AM05853-AS	AM05858-SS
AD04576	AM05854-AS	AM05858-SS
AD04577	AM05011-AS	AM05859-SS
AD04578	AM05850-AS	AM05858-SS
AD04579	AM05014-AS	AM05347-SS
AD04580	AM05855-AS	AM05347-SS
AD04581	AM05860-AS	AM05063-SS
AD04583	AM05862-AS	AM05868-SS
AD04584	AM05863-AS	AM05868-SS
AD04585	AM05864-AS	AM05869-SS
AD04586	AM05865-AS	AM05869-SS
AD04587	AM05862-AS	AM05870-SS
AD04588	AM05863-AS	AM05871-SS
AD04590	AM05867-AS	AM05063-SS
AD04591	AM05860-AS	AM05872-SS
AD04592	AM05054-AS	AM05879-SS
AD04593	AM05873-AS	AM05880-SS

Dúplex con ident.	Ident. de cadena no codificante	Ident. de cadena codificante
AD04594	AM05874-AS	AM05880-SS
AD04595	AM05875-AS	AM05881-SS
AD04596	AM05876-AS	AM05881-SS
AD04597	AM05873-AS	AM05882-SS
AD04598	AM05874-AS	AM05883-SS
AD04599	AM05877-AS	AM05620-SS
AD04734	AM06074-AS	AM05869-SS
AD04771	AM06142-AS	AM06146-SS
AD04772	AM06143-AS	AM06147-SS
AD04773	AM06144-AS	AM06146-SS
AD04774	AM06145-AS	AM06148-SS
AD04775	AM06145-AS	AM06149-SS
AD04776	AM05850-AS	AM06150-SS
AD04777	AM05854-AS	AM06151-SS
AD04778	AM05854-AS	AM06152-SS
AD04822	AM06222-AS	AM06146-SS
AD04823	AM05609-AS	AM06150-SS
AD04871	AM06281-AS	AM06287-SS
AD04872	AM06282-AS	AM06288-SS
AD04873	AM06283-AS	AM06288-SS
AD04874	AM06284-AS	AM06289-SS
AD04875	AM06285-AS	AM06290-SS
AD04876	AM06286-AS	AM06291-SS
AD04881	AM06299-AS	AM06304-SS
AD04882	AM06300-AS	AM06305-SS
AD04883	AM06301-AS	AM06306-SS
AD04884	AM06302-AS	AM06307-SS
AD04885	AM06303-AS	AM06308-SS
AD04962	AM05864-AS	AM06146-SS
AD04963	AM05855-AS	AM05607-SS
AD04981	AM06463-AS	AM06150-SS
AD04982	AM06464-AS	AM06150-SS
AD04983	AM06465-AS	AM06150-SS
AD05069	AM06604-AS	AM06603-SS
AD05070	AM06606-AS	AM06605-SS
AD05071	AM06608-AS	AM06607-SS
AD05072	AM05011-AS	AM06609-SS
AD05073	AM06611-AS	AM06610-SS
AD05074	AM06612-AS	AM06150-SS
AD05075	AM06614-AS	AM06613-SS
AD05076	AM06616-AS	AM06615-SS
AD05077	AM06618-AS	AM06617-SS
AD05078	AM06620-AS	AM06619-SS
AD05147	AM06751-AS	AM06750-SS
AD05148	AM06606-AS	AM06752-SS
AD05149	AM06751-AS	AM06753-SS
AD05164	AM06282-AS	AM06776-SS
AD05165	AM06606-AS	AM06777-SS

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB se prepara o proporciona como sal, sal mixta o un ácido libre. Los agentes de iARN descritos en la presente descripción, después de su suministro a una célula que expresa un gen del VHB, inhiben o atenúan la expresión de uno o más genes del VHB *in vivo*.

Grupos de direccionamiento, grupos de enlace y vehículos de suministro

En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB se conjuga con uno o más grupos no nucleótidos que incluyen, pero no se limitan a, un grupo de direccionamiento, grupo de enlace, polímero de suministro o un vehículo de suministro. El grupo no nucleótido puede mejorar el direccionamiento, el suministro o la unión del agente de iARN. En la Tabla 6 se proporcionan ejemplos de grupos de direccionamiento y grupos de enlace. El grupo no nucleótido puede estar enlazado covalentemente con los extremos 3′ y/o 5′ de la cadena codificante y/o cadena no codificante. En algunas modalidades, un agente de iARN del VHB contiene un grupo no nucleótido enlazado con los extremos 3′ y/o 5′ de la cadena codificante. En algunas modalidades, un grupo no nucleótido está enlazado con el extremo 5′ de una cadena codificante del agente de iARN del VHB. Un grupo no nucleótido puede estar enlazado directa o indirectamente con el agente de iARN a través de un grupo enlazante/enlazador. En algunas modalidades, un grupo no nucleótido está enlazado al agente de iARN a través de un enlazador o enlace lábil, escindible o reversible.

En algunas modalidades, un grupo no nucleótido mejora las propiedades farmacocinéticas o de biodistribución de un agente de iARN o conjugado al que está unido para mejorar la distribución específica de células o tejidos y la captación específica de células del conjugado. En algunas modalidades, un grupo no nucleótido mejora la endocitosis del agente de iARN.

Los grupos de direccionamiento o restos de direccionamiento mejoran las propiedades farmacocinéticas o de biodistribución de un conjugado al que están unidos para mejorar la distribución específica de células y la captación específica de células del conjugado. Un grupo de direccionamiento puede ser monovalente, divalente, trivalente, tetravalente o tener una valencia más alta. Los grupos de direccionamiento representativos incluyen, sin limitación, compuestos con afinidad a la molécula de la superficie celular, ligandos de receptor de célula, hapteno, anticuerpos, anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos e imitadores de anticuerpos con afinidad a las moléculas de la superficie celular. En algunas modalidades, un grupo de direccionamiento está enlazado con un agente de iARN mediante un enlazador, tales como un enlazador PEG o uno, dos o tres grupos abásicos y/o ribitol (ribosa abásica). En algunas modalidades, un grupo de direccionamiento comprende un grupo de derivados de galactosa.

Los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción pueden sintetizarse teniendo un grupo reactivo, tal como un grupo amina, en el extremo 5′. El grupo reactivo

puede usarse para unir posteriormente un resto de direccionamiento mediante métodos típicos en la técnica.

En algunas modalidades, un grupo de direccionamiento comprende un ligando de receptor de asialoglicoproteína. En algunas modalidades, un ligando de receptor de asialoglicoproteína incluye o consiste en uno o más derivados de galactosa. Como se usa en la presente descripción, el término derivado de galactosa incluye tanto la galactosa como los derivados de galactosa que tienen afinidad por el receptor de asialoglicoproteína que es igual o mayor que el de la galactosa. Los derivados de galactosa incluyen, pero no se limitan a: galactosa, galactosamina, N-formilgalactosamina, N-acetil-galactosamina, N-propionil-galactosamina, N-n-butanoil-galactosamina y N-iso-butanoilgalactosamina (ver, por ejemplo: Iobst, S.T. and Drickamer, K. *J.B.C.* 1996, 271, 6686); Los derivados de galactosa y los compuestos de derivados de galactosa, que son útiles para el direccionamiento in vivo de oligonucleótidos y otras moléculas al hígado, son conocidos en la técnica (ver, por ejemplo, Baenziger and Fiete, 1980, Cell, 22, 611-620; Connolly et al., 1982, J. Biol. Chem., 257, 939-945). Se han usado derivados de galactosa para dirigirse a moléculas a hepatocitos *in vivo* a través de su unión al receptor de asialoglicoproteína (ASGPr) expresado en la superficie de los hepatocitos. La unión de los ligandos ASGPr a los ASGPr(s) facilita el direccionamiento específico de células a hepatocitos y endocitosis de la molécula en los hepatocitos. Los ligandos ASGPr pueden ser monoméricos (p. ej., tener un solo derivado de galactosa) o multiméricos (p. ej., tener múltiples derivados

de galactosa). El derivado de galactosa o grupo de derivados de galactosa puede unirse al extremo 3′ o 5′ del polinucleótido de iARN usando métodos conocidos en la técnica. La preparación de grupos de direccionamiento, tales como compuestos derivados de galactosa, se describe, por ejemplo, en la solicitud de patente de los EE. UU. núms. de serie 15/452.324 y 15/452.423, cuyos contenidos se incorpora en la presente descripción en su totalidad.

Como se usa en la presente descripción, un grupo de derivados de galactosa comprende una molécula que tiene dos a cuatro derivados de galactosa terminal. Un derivado de galactosa terminal se une a una molécula a través de su carbono C-1. En algunas modalidades, el grupo de derivados de galactosa es un trímero derivado de galactosa (también conocido como derivado de galactosa tri-antenario o derivado de galactosa trivalente). En algunas modalidades, el grupo de derivados de galactosa comprende N-acetil-galactosaminas. En algunas modalidades, el grupo de derivados de galactosa comprende tres N-acetil-galactosaminas. En algunas modalidades, el grupo de derivados de galactosa es un tetrámero derivado de galactosa (también conocido como derivado de galactosa tetraantenaria o derivado de galactosa tetravalente). En algunas modalidades, el grupo derivado de galactosa comprende cuatro N-acetil-galactosaminas.

Como se usa en la presente descripción, un trímero derivado de galactosa contiene tres derivados de galactosa, cada uno enlazado con un punto de ramificación central. Como se usa en la presente descripción, un tetrámero derivado de galactosa contiene cuatro

derivados de galactosa, cada uno enlazado con un punto central de ramificación. Los derivados de galactosa pueden unirse al punto de ramificación central a través de los carbonos C-1 de los sacáridos. En algunas modalidades, los derivados de galactosa están enlazados con el punto de ramificación a través de enlazadores o separadores. En algunas modalidades, el enlazador o espaciador es un espaciador hidrófilo flexible, tal como un grupo PEG (ver, por ejemplo, la patente de los EE. UU. núm. 5.885.968; Biessen et al. J. Med. Chem. 1995 Vol. 39 págs. 1538-1546). En algunas modalidades, el espaciador PEG es un espaciador PEG_3. El punto de ramificación puede ser cualquier molécula pequeña que permita la unión de tres derivados de galactosa y permita, además, la unión del punto de ramificación con el agente de iARN. Un ejemplo de grupo de punto de ramificación es una di-lisina o di-glutamato. La unión del punto de ramificación con el agente de iARN puede ocurrir a través de un enlazador o espaciador. En algunas modalidades, el enlazador o espaciador comprende un espaciador hidrófilo flexible, tal como, pero no se limita a, un espaciador PEG. En algunas modalidades, el enlazador comprende un enlazador rígido, tal como un grupo cíclico. En algunas modalidades, un derivado de galactosa comprende o consiste en N-acetil-galactosamina. En algunas modalidades, el grupo de derivados de galactosa consiste en un tetrámero derivado de galactosa, que puede, por ejemplo, ser un tetrámero de N-acetil-galactosamina.

En algunas modalidades, se describen composiciones farmacéuticas para suministrar un agente de iARN del VHB a una célula hepática *in vivo*. Estas composiciones farmacéuticas pueden incluir, por ejemplo, un agente de iARN del VHB conjugado con

un grupo de derivados de galactosa. En algunas modalidades, el grupo de derivados de galactosa está compuesto de un trímero derivado de galactosa, que puede ser, por ejemplo, un trímero N-acetil-galactosamina o un trímero derivado de galactosa, que puede ser, por ejemplo, un trímero N-acetil-galactosamina.

Los grupos de direccionamiento incluyen, pero no se limitan a, (PAZ), (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) y (NAG39)s. En la técnica se conocen otros grupos de direccionamiento, que incluyen ligandos de direccionamiento de grupos de galactosa.

En algunas modalidades, un grupo de enlace se conjuga con el agente de iARN. El grupo de enlace facilita el enlace covalente del agente con un grupo de direccionamiento o un polímero de suministro o vehículo de suministro. El grupo de enlace puede estar enlazado con el extremo 3′ o extremo 5′ de la cadena codificante o no codificante del agente de iARN. En algunas modalidades, el grupo de enlace está enlazado con la cadena codificante del agente de iARN. En algunas modalidades, el grupo de direccionamiento está conjugado con el extremo 5′ o 3′ de una cadena codificante del agente de iARN. En algunas modalidades, un grupo de enlace se conjuga con el extremo 5′ de una cadena codificante del agente de iARN. Los ejemplos de grupos de enlace incluyen, pero no se

limitan a: grupos reactivos, tales como aminas primarias y alquinos, grupos alquilo, nucleósidos abásicos, ribitol (ribosa abásica) y/o grupos PEG.

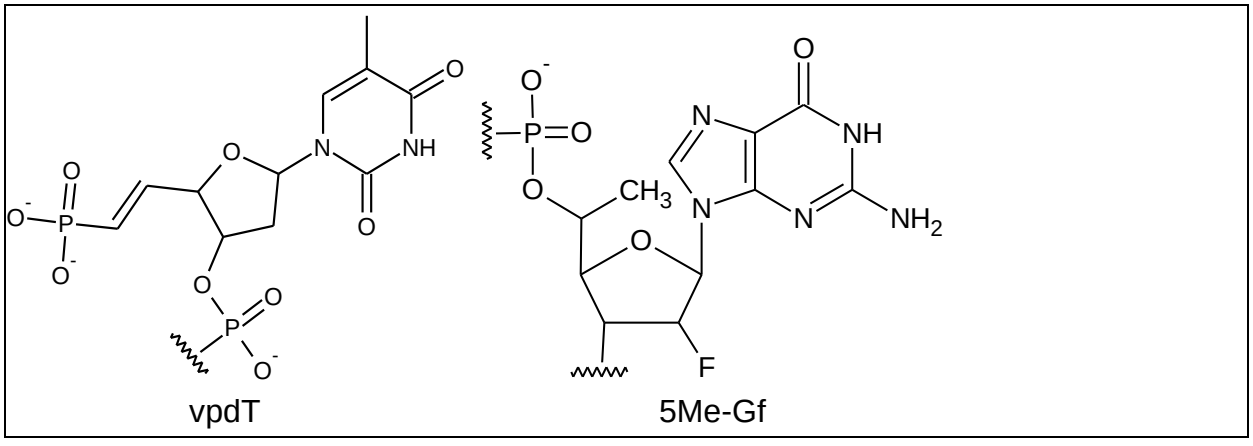
Un enlazador o grupo de enlace es una conexión entre dos átomos que enlazan un grupo químico (tal como un agente de iARN) o segmento de interés con otro grupo químico (tal como un grupo de direccionamiento o polímero de suministro) o segmento de interés por medio de uno o más enlaces covalentes. Un enlace lábil contiene una ligadura lábil. Un enlace puede incluir, opcionalmente, un espaciador que aumente la distancia entre los dos átomos unidos. Un espaciador puede agregar, además, flexibilidad y/o longitud al enlace. Los espaciadores pueden incluir, pero no se limitan a, grupos alquilo, grupos alquenilo, grupos alquinilo, grupos arilo, grupos aralquilo, grupos aralquenilo y grupos aralquinilo; cada uno de los cuales puede contener uno o más heteroátomos, heterociclos, aminoácidos, nucleótidos y sacáridos. Los grupos espaciadores son bien conocidos en la técnica y la lista anterior no pretende limitar el alcance de la descripción.

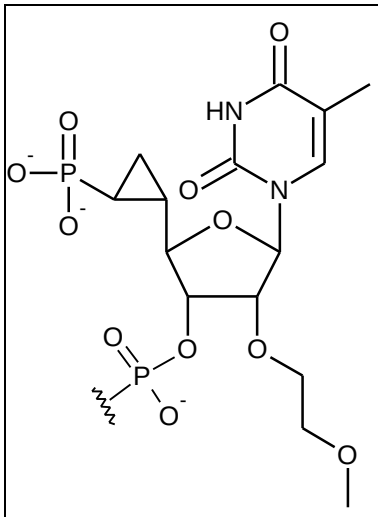
Cualquiera de las secuencias de nucleótidos del agente de iARN del VHB que se enumeran en las Tablas 3 y 4, ya sea modificadas o sin modificar, pueden contener un grupo de direccionamiento y/o grupo de enlace 3′ o 5′. Cualquiera de las secuencias del agente de iARN del VHB que se enumeran en la Tabla 3 y 4 y que contienen un grupo de direccionamiento y/o grupo de enlace 3′ o 5′, puede no contener, alternativamente, un grupo de direccionamiento y/o grupo de enlace 3′ o 5′, o puede contener un grupo de direccionamiento y/o de enlace diferente de 3′ o 5 que incluye, pero no se limita a, los

representados en la Tabla 3. Cualquiera de los dúplex del agente de iARN del VHB enumerados en la Tabla 5, ya sean modificados o no modificados, pueden comprender, además, un grupo de direccionamiento y/o un grupo de enlace, que incluye, pero sin limitarse a, los representados en la Tabla 3, y el grupo de direccionamiento o grupo de enlace puede unirse a los extremos 3′ o 5′ de la cadena codificante o la cadena no codificante del dúplex del agente de iARN del VHB.

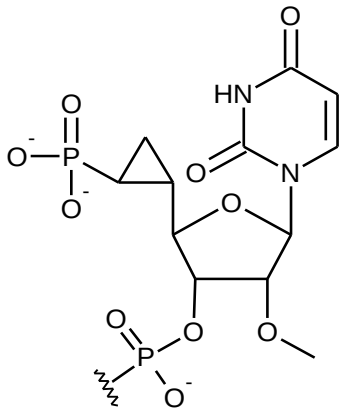
En la Tabla 6 se proporcionan ejemplos de grupos de direccionamiento y grupos de enlace. En la Tabla 4 se proporcionan varias modalidades de las cadenas codificantes del agente de iARN del VHB que tienen un grupo de direccionamiento o grupo de enlace enlazado con los extremos 5′ o 3′.

Tabla 6. Estructuras que representan varios nucleótidos modificados, grupos de direccionamiento y grupos de enlace.

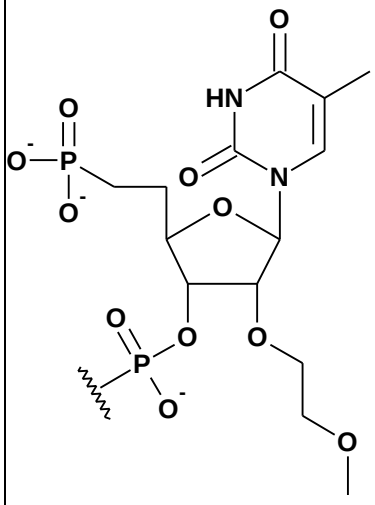




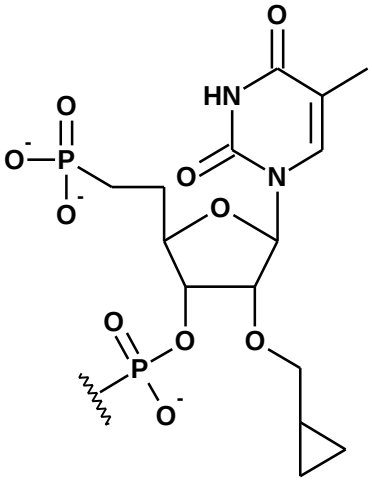
cPrpTM



cPrpu



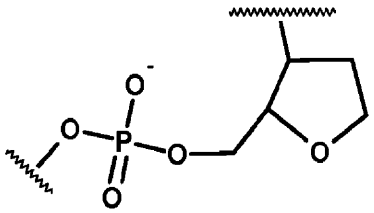
epTM



epTcPr

Cuando se coloca internamente en el oligonucleótido:

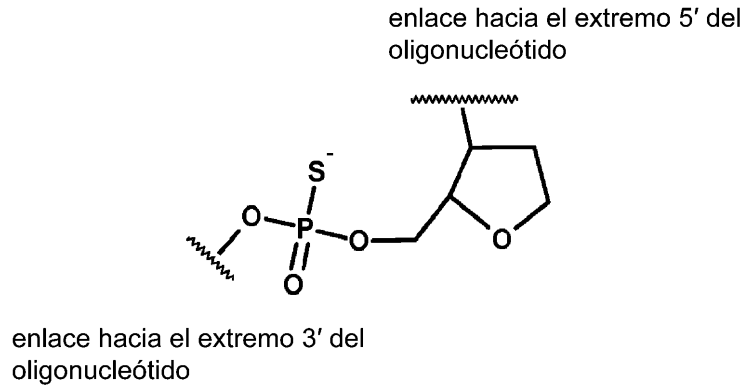
enlace hacia el extremo 5′ del oligonucleótido



enlace hacia el extremo 3′ del oligonucleótido

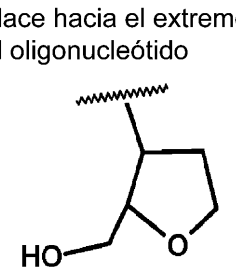
(invAb)

Cuando se coloca internamente en el oligonucleótido:

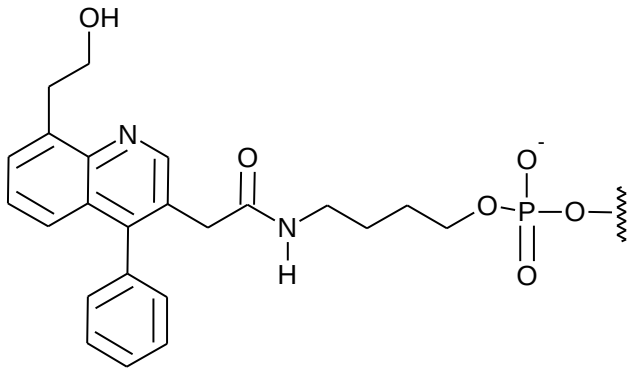


(invAb)s

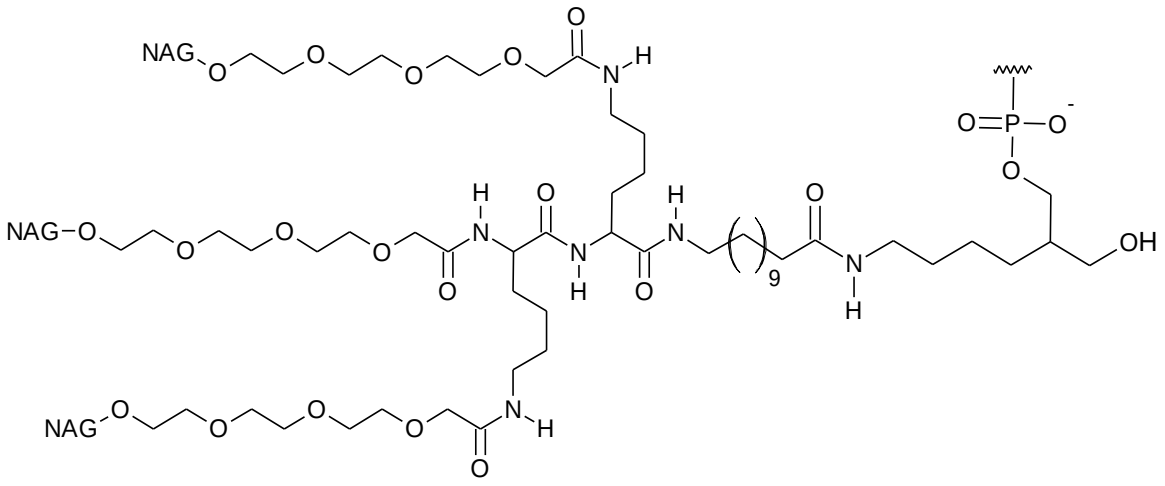
Cuando se coloca en el extremo terminal 3′ del oligonucleótido:



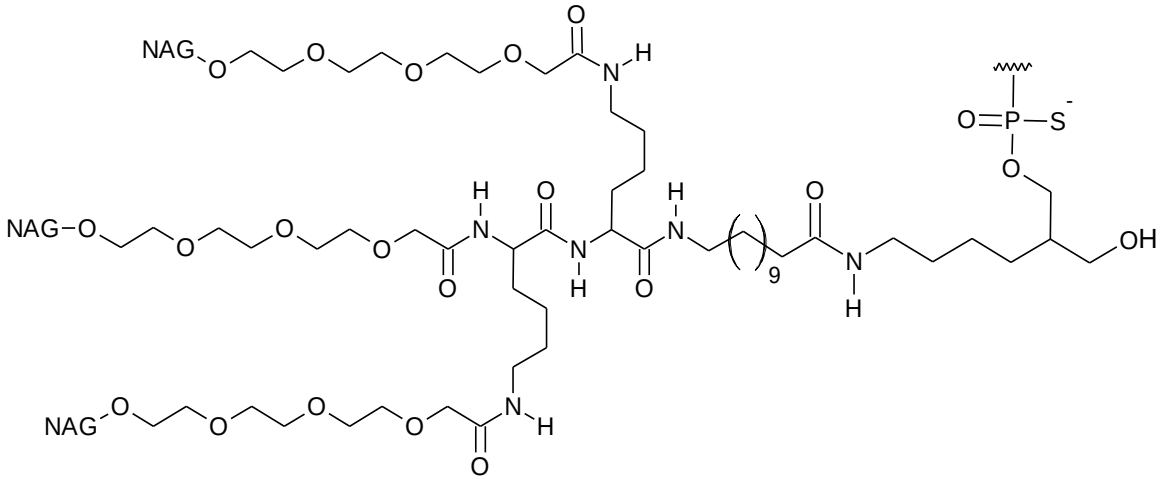
(invAb)



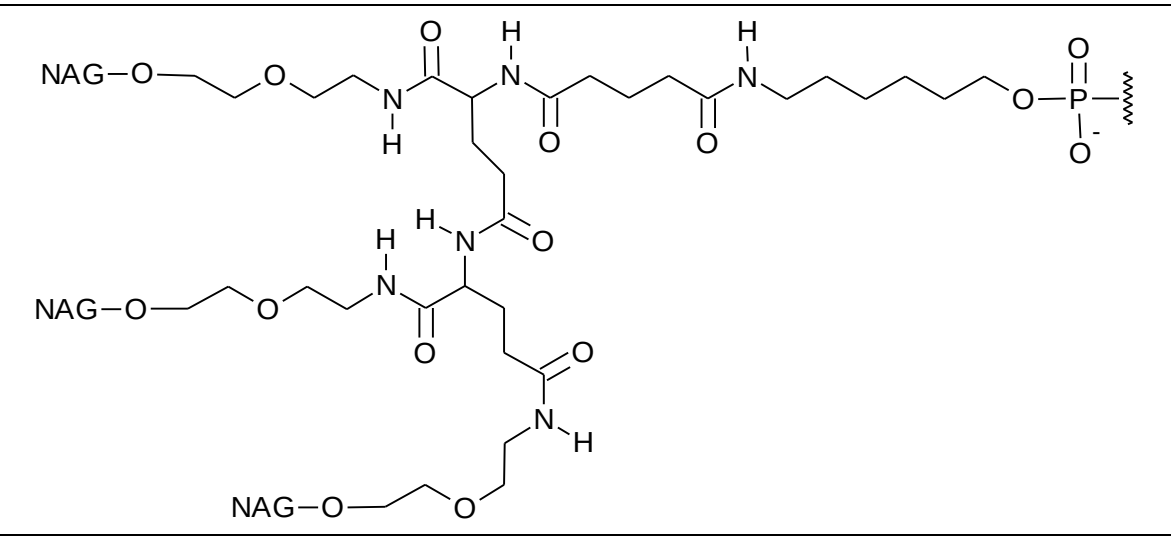
(PAZ)



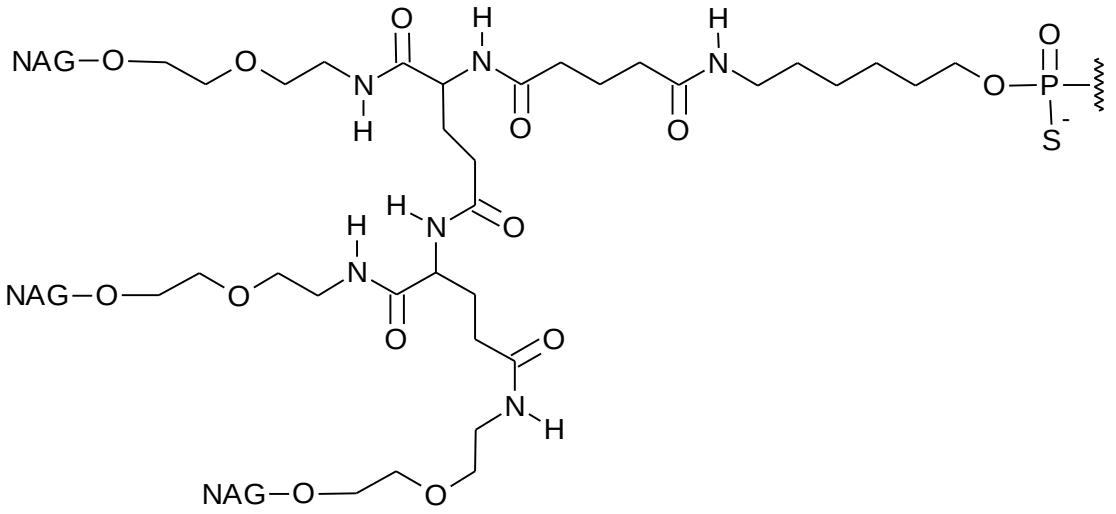
(NAG13)



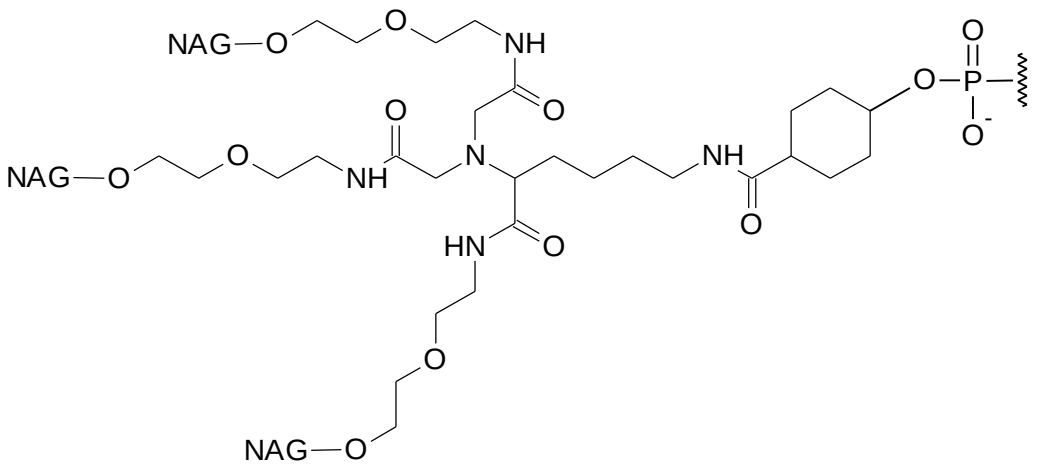
(NAG13)s



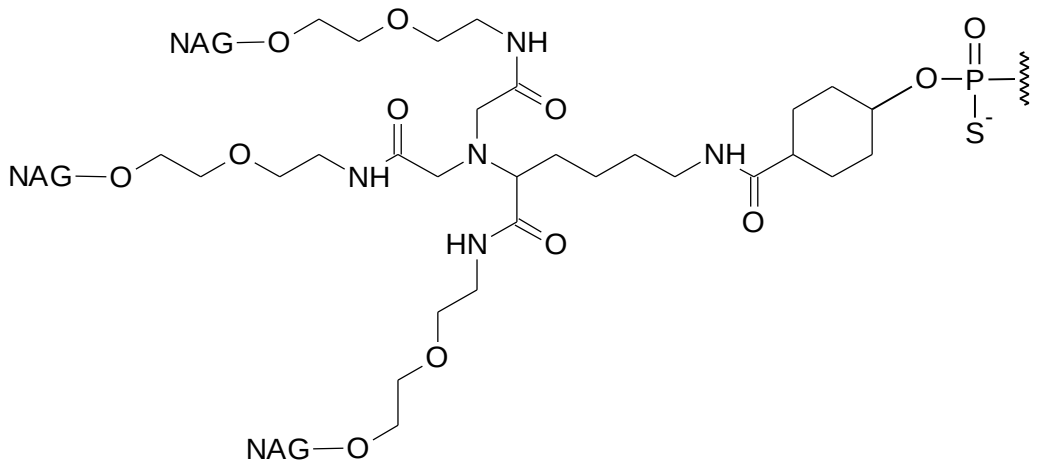
(NAG18)



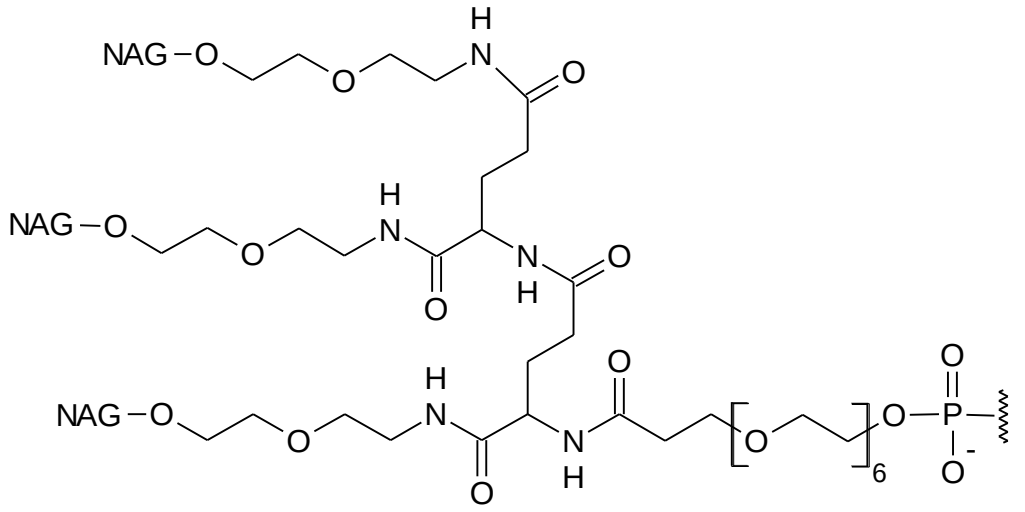
(NAG18)s



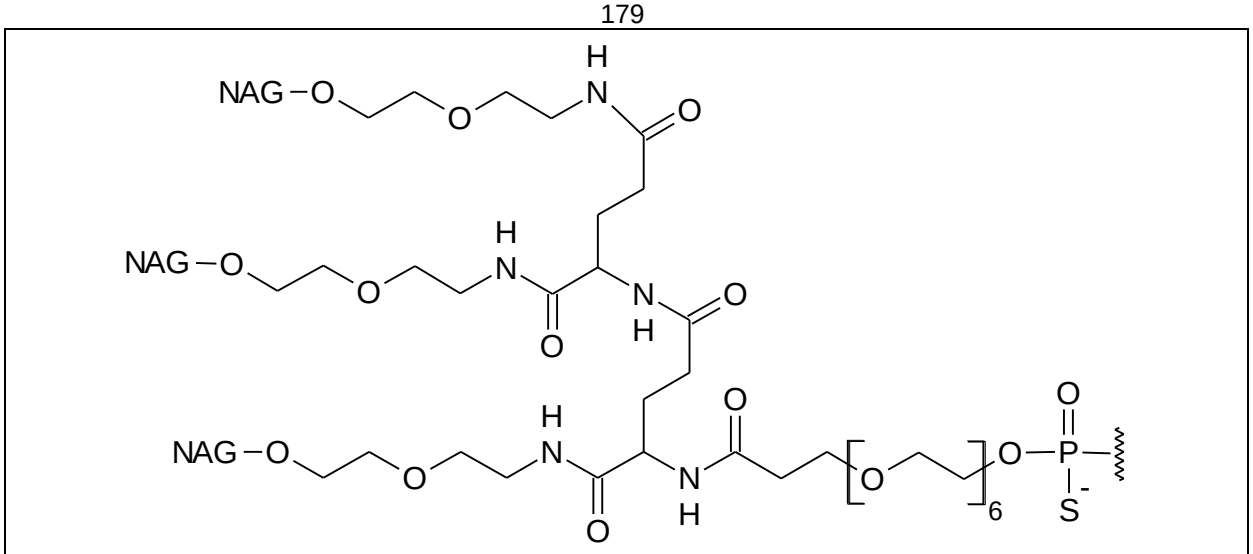
(NAG24)



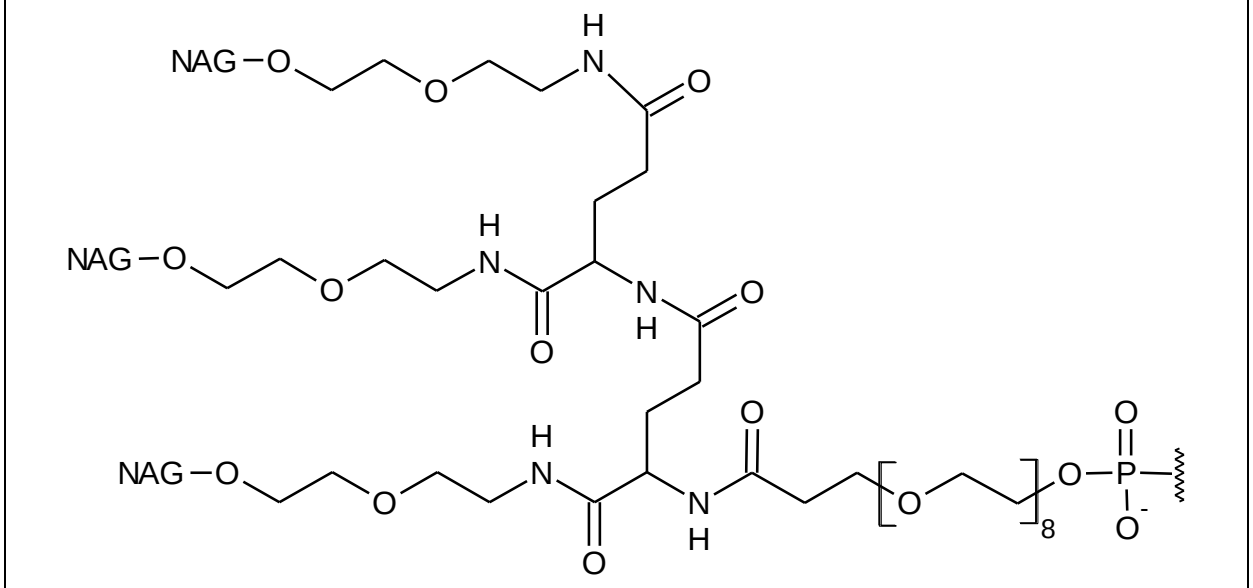
(NAG24)s



(NAG25)

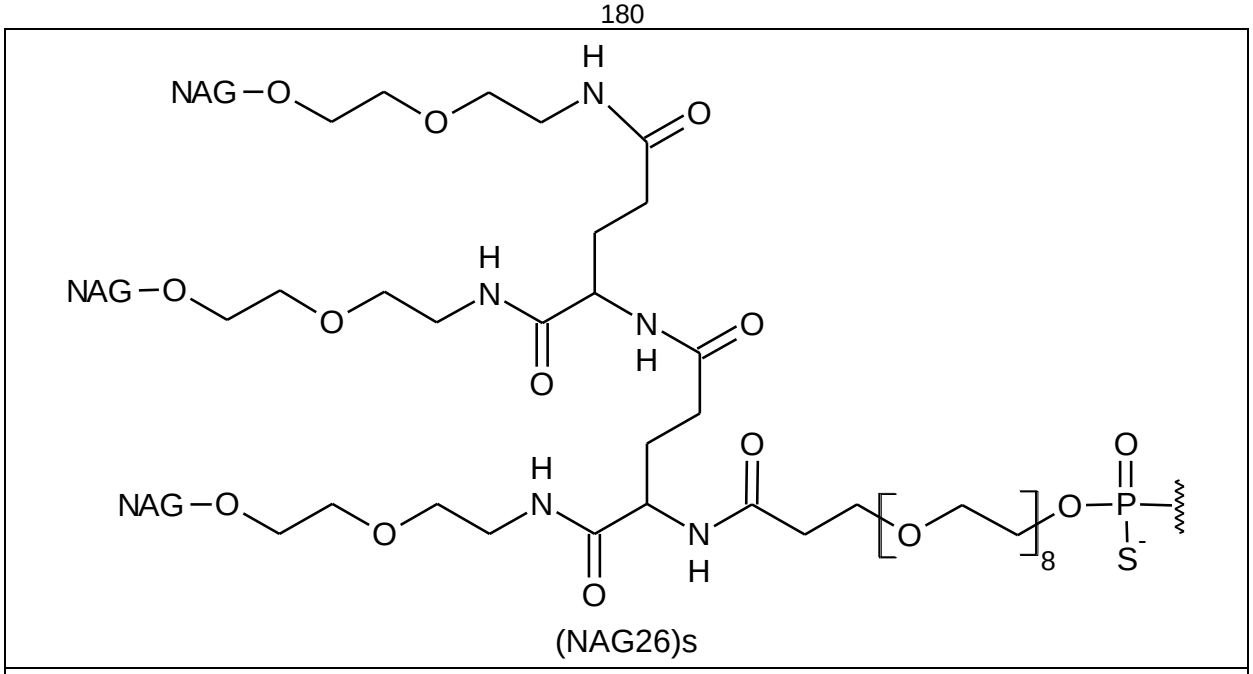


(NAG25)s

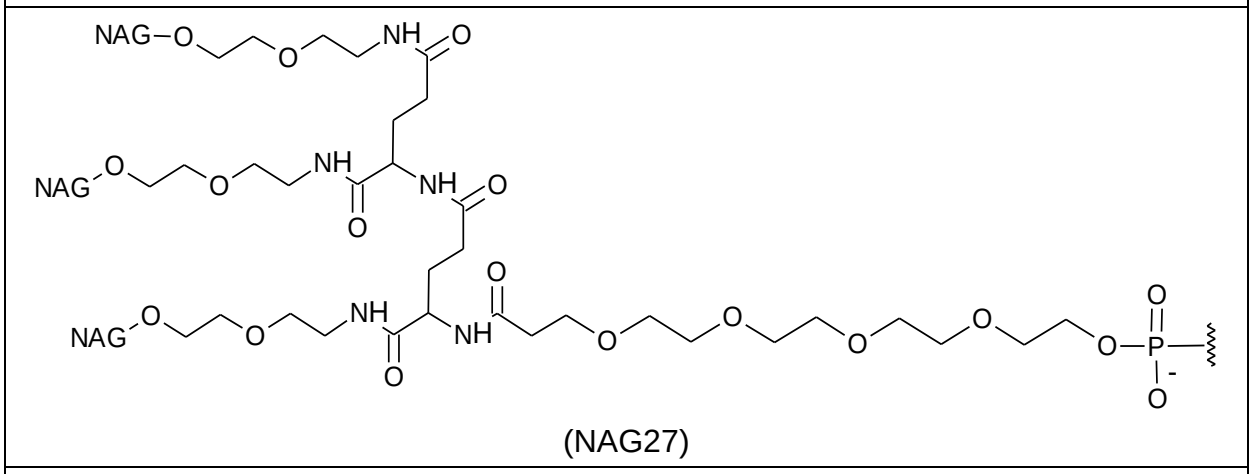


(NAG26)

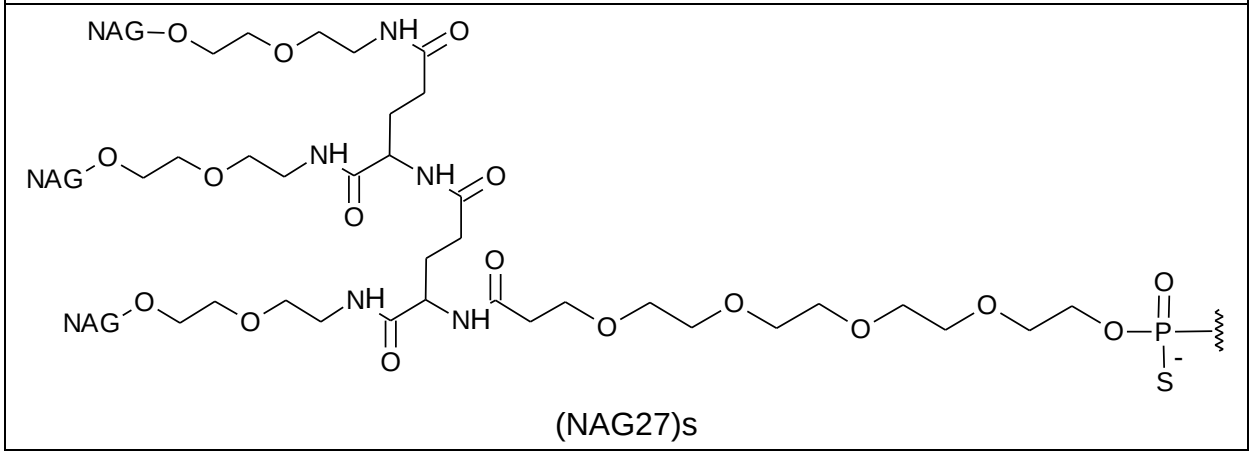
180



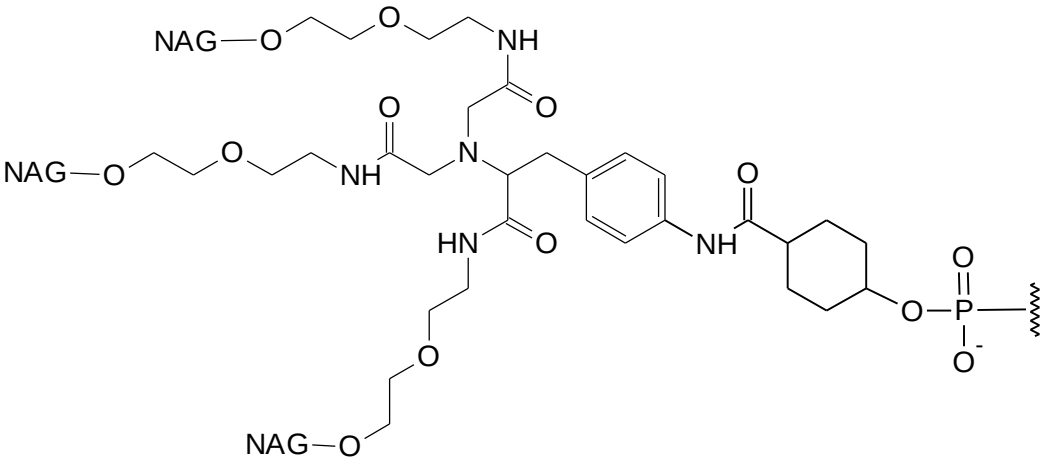
(NAG26)s



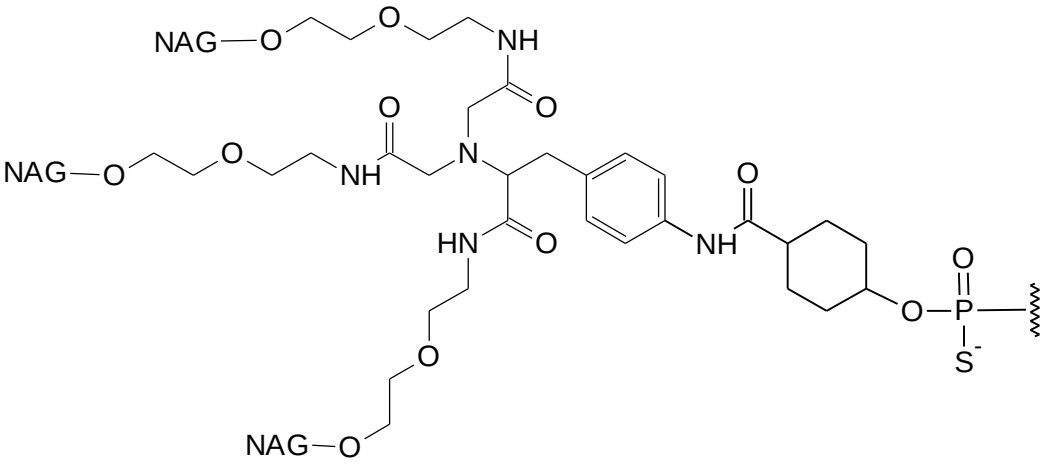
(NAG27)



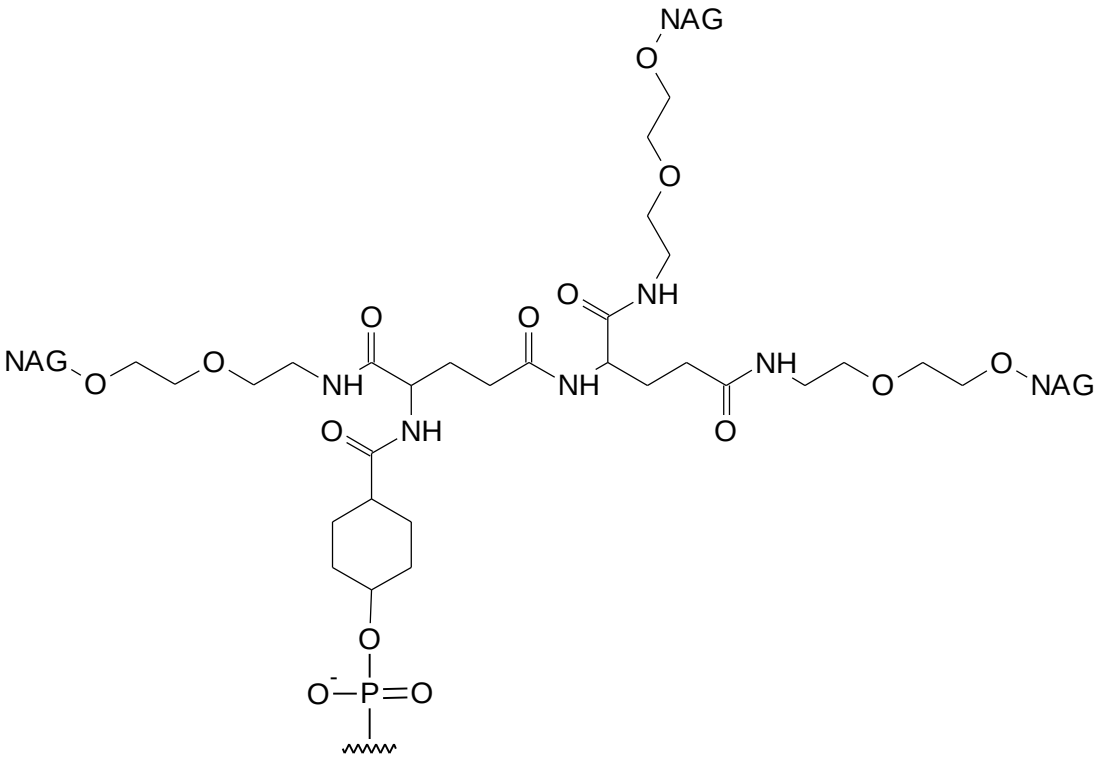
(NAG27)s



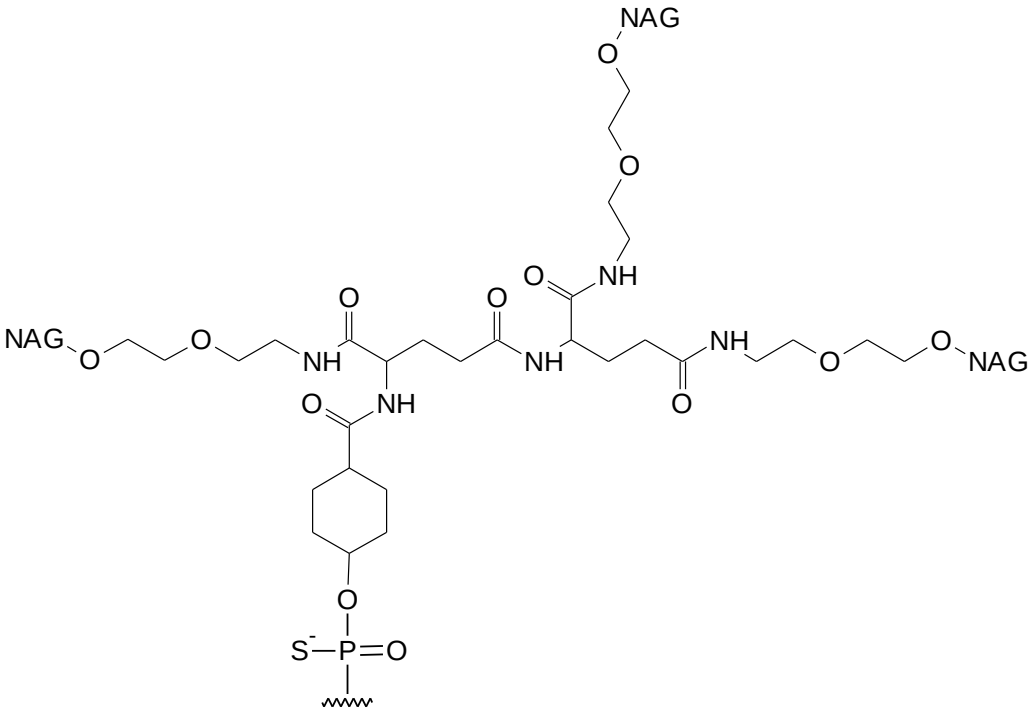
(NAG28)



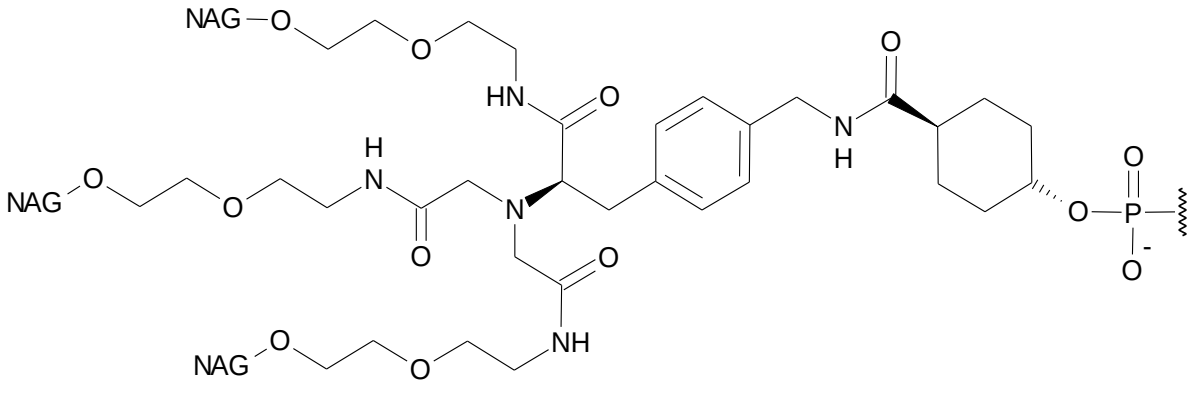
(NAG28)s



(NAG29)



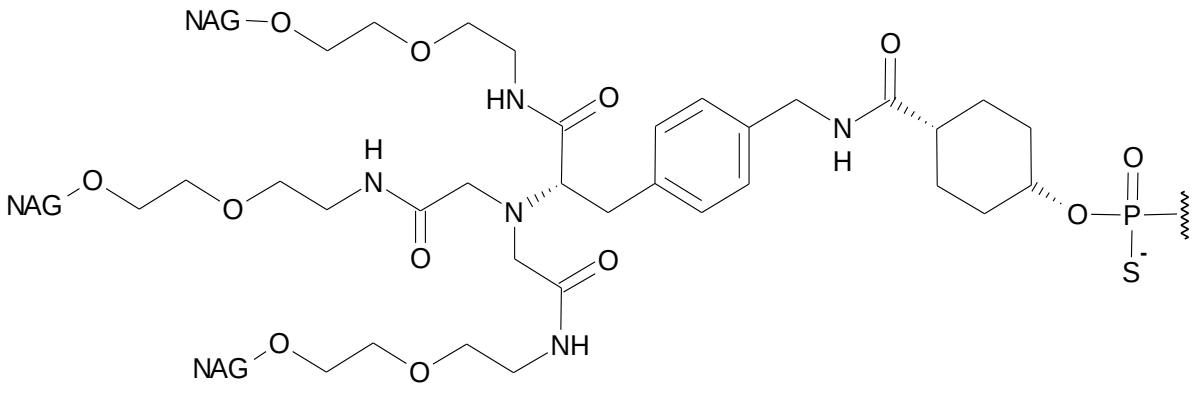
(NAG29)s



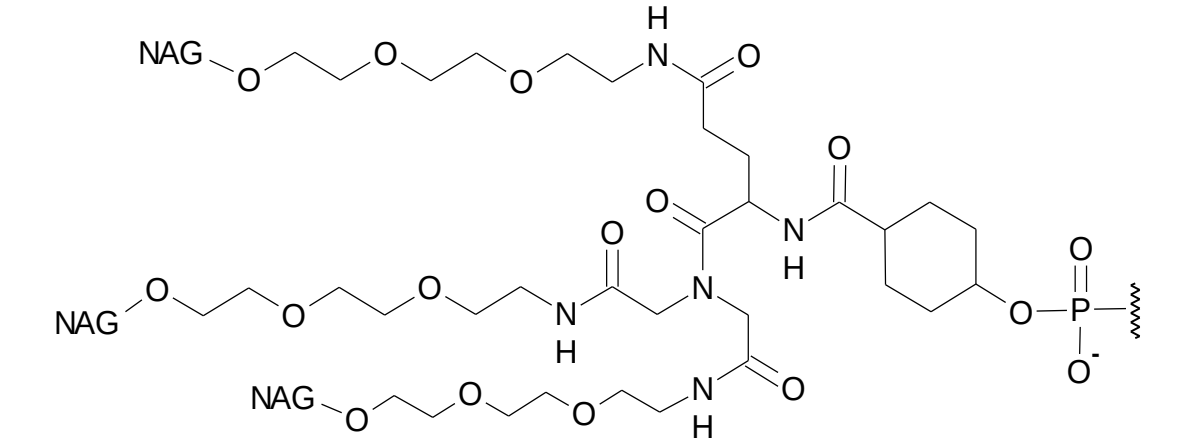
(NAG30)

(NAG30)s

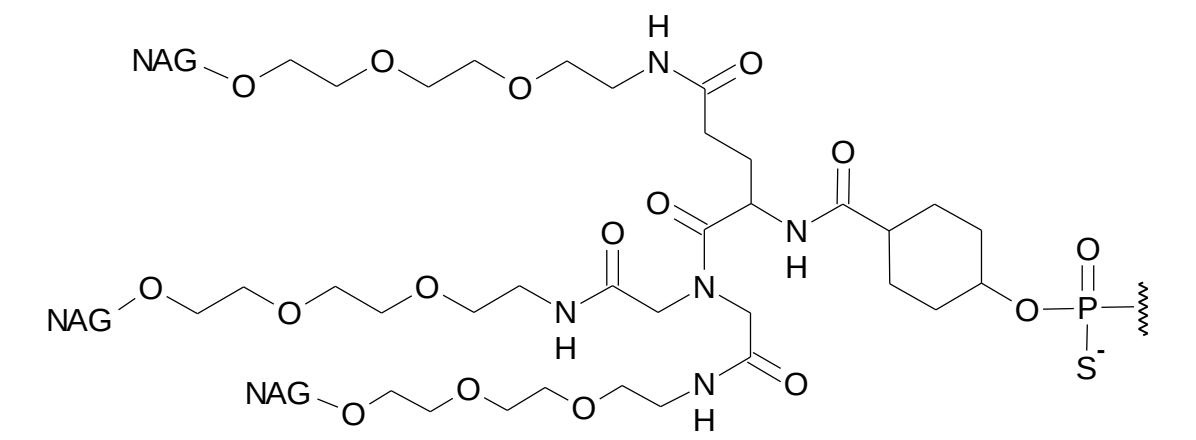
(NAG31)



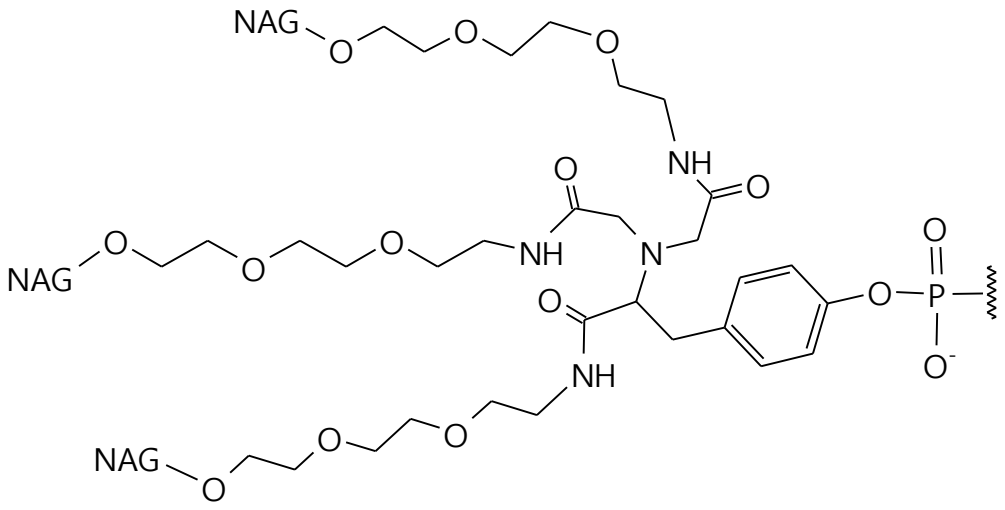
(NAG31)s



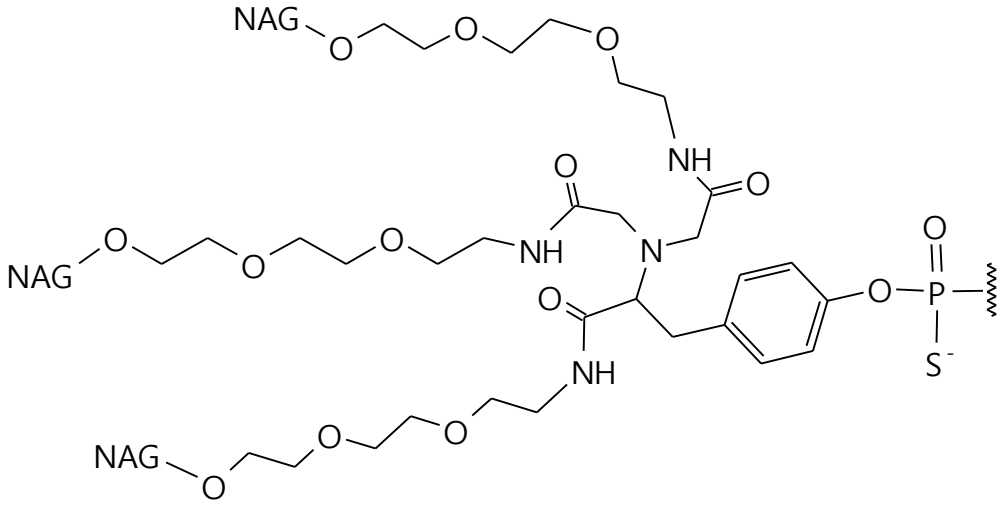
(NAG32)



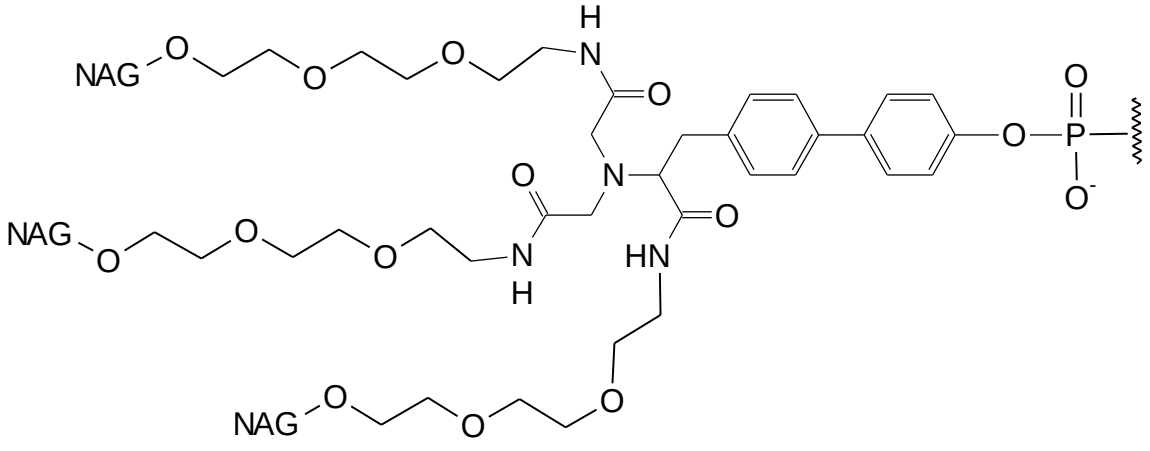
(NAG32)s



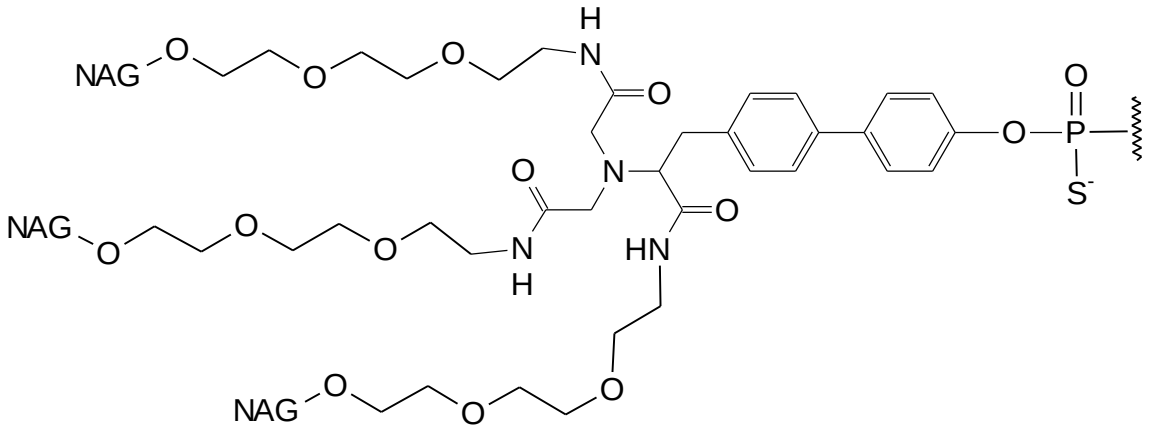
(NAG33)



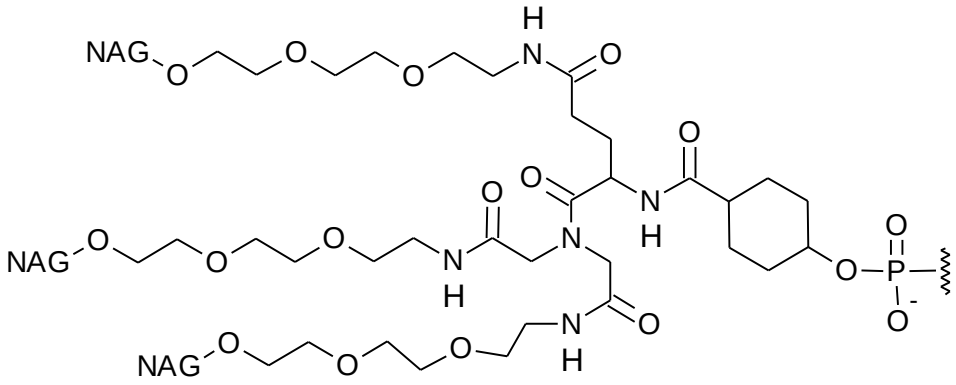
(NAG33)s



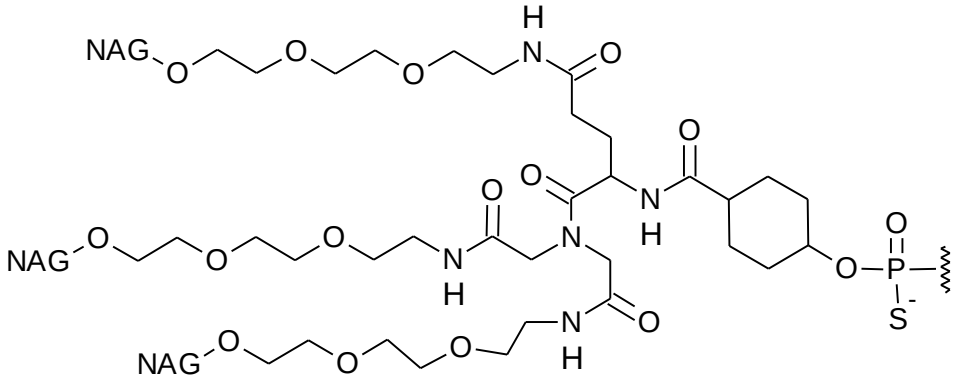
(NAG34)



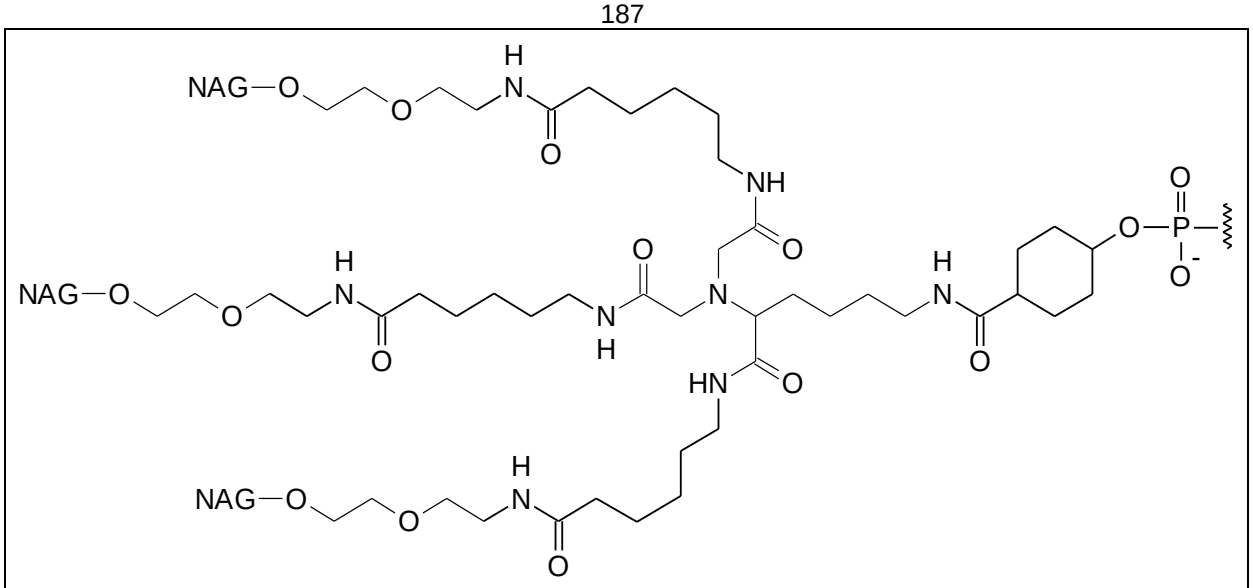
(NAG34)s



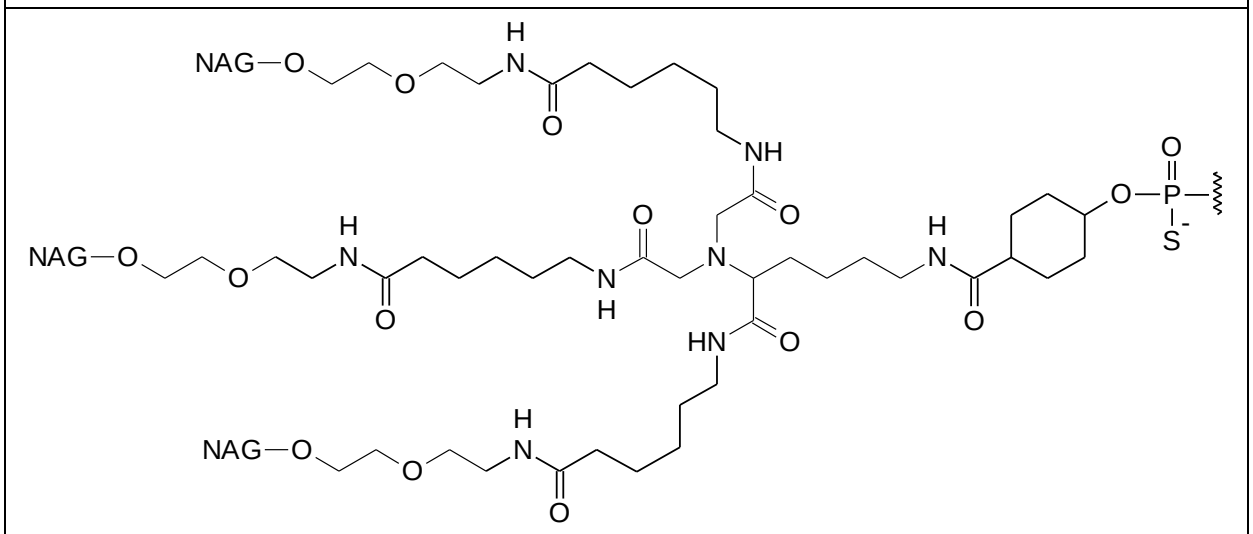
(NAG35)



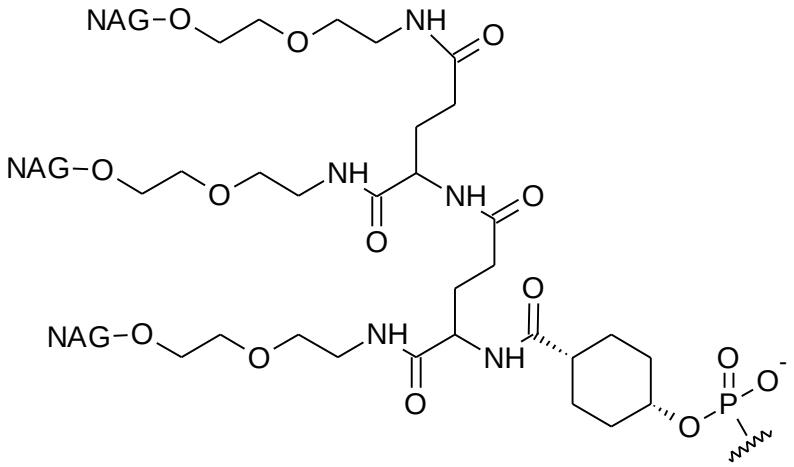
(NAG35)s



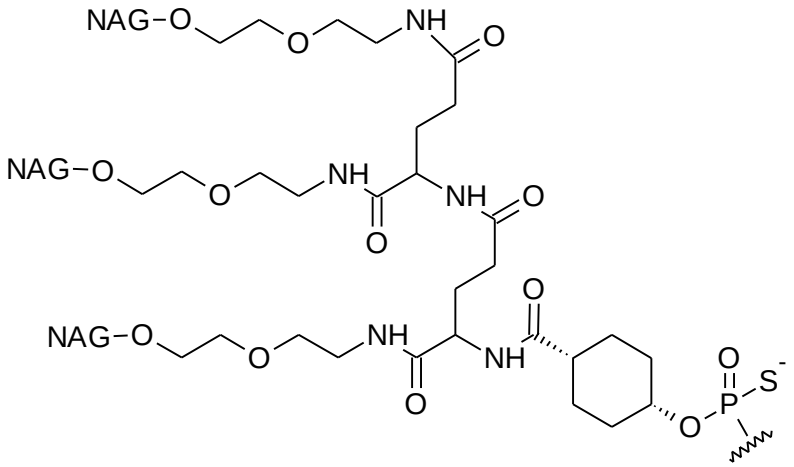
(NAG36)



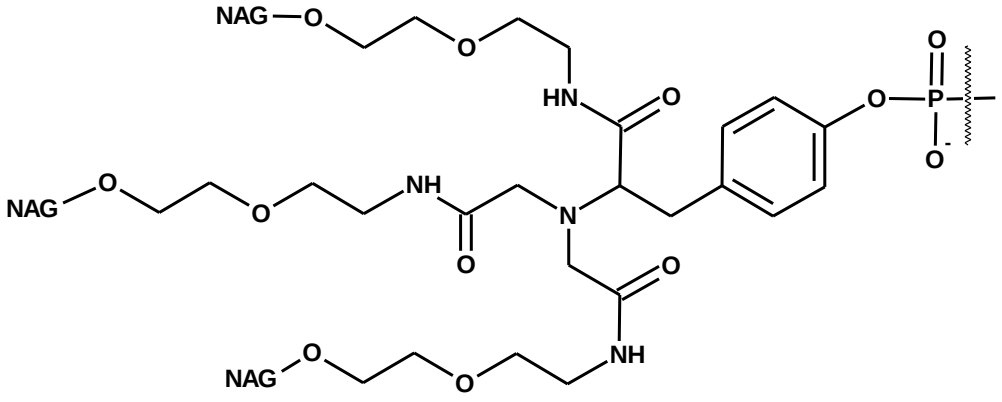
(NAG36)s



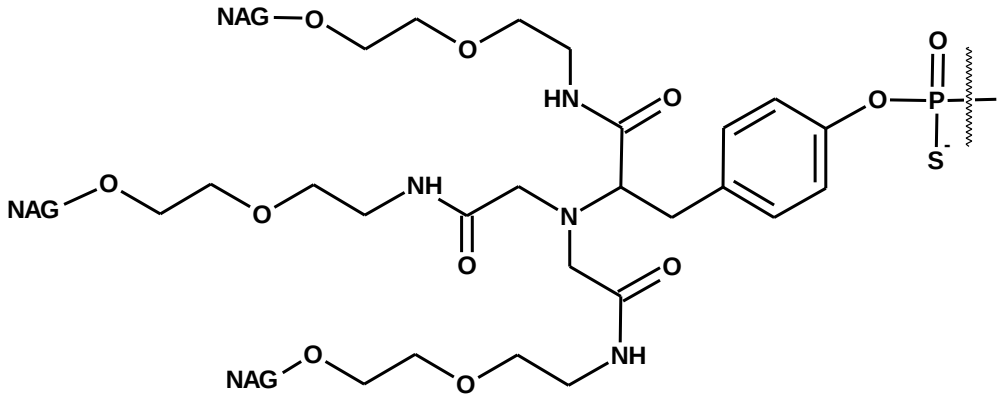
(NAG37)



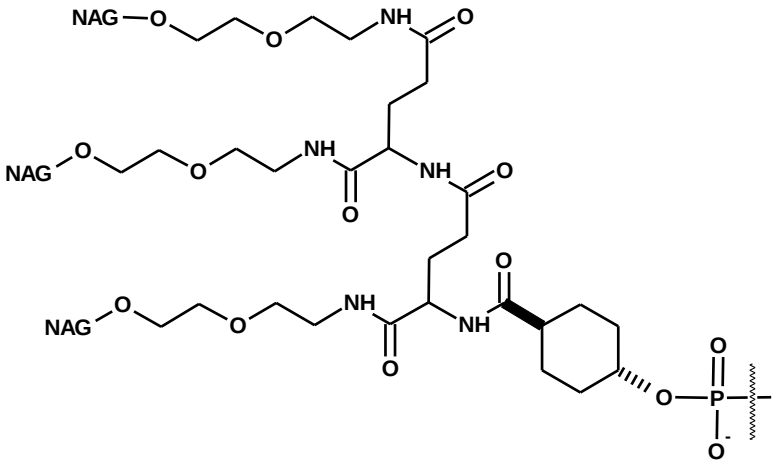
(NAG37)s



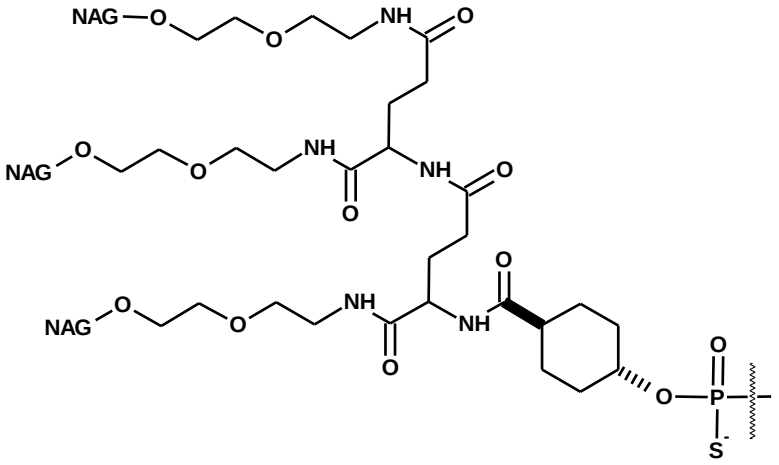
(NAG 38)



(NAG 38)s

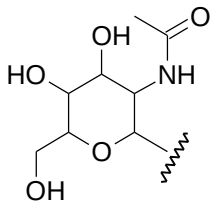


(NAG39)



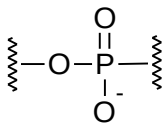
(NAG39)s

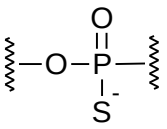
En cada una de las estructuras anteriores de la Tabla 6, NAG comprende un N-acetil-galactosamina u otro ligando ASGPr, como lo comprenderá un experto en la técnica teniendo en cuenta las estructuras anteriores y la descripción proporcionada en la presente descripción. Por ejemplo, en algunas modalidades, NAG en las estructuras proporcionadas en la Tabla 6 se representa mediante la siguiente estructura:



(N-acetil-galactosamina)

Cada uno (NAGx) puede unirse a un agente de iARN del VHB a través de un grupo fosfato (como en (NAG25), (NAG30) y (NAG31)), o un grupo de fosforotioato, (como en (NAG25)s, (NAG29)s, (NAG30)s, (NAG31)s o (NAG37)s), u otro grupo de enlace.





Grupo de fosfato Grupo de fosforotioato

Pueden usarse otros grupos de enlace conocidos en la técnica.

Vehículos de suministro

En algunas modalidades, un vehículo de suministro puede usarse para suministrar un agente de iARN a una célula o tejido. Un vehículo de suministro es un compuesto que mejora el suministro del agente de iARN a una célula o tejido. Un vehículo de suministro puede incluir, o consistir en, pero no se limita a: un polímero, tales como un polímero anfipático, un polímero activo en la membrana, un péptido, un péptido melitina, un péptido similar a la melitina (MLP), un lípido, un polímero o péptido modificado reversiblemente o una poliamina activa de membrana modificada reversiblemente.

En algunas modalidades, los agentes de iARN pueden combinarse con lípidos, nanopartículas, polímeros, liposomas, micelas, DPC u otros sistemas de suministro disponibles en la técnica. Los agentes de iARN también pueden conjugarse químicamente con los grupos de direccionamiento, los lípidos (que incluyen, pero no se limitan a, colesterol y derivados de colesterol), nanopartículas, polímeros, liposomas, micelas, DPC (ver, por ejemplo, WO 2000/053722, WO 2008/0022309, WO 2011/104169 y WO 2012/083185, WO 2013/032829, WO 2013/158141, cada uno de los cuales se incorpora a la presente como referencia) u otros sistemas de suministro disponibles en la técnica.

Composiciones y formulaciones farmacéuticas

Los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción pueden prepararse como composiciones o formulaciones farmacéuticas. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas incluyen al menos un agente de iARN del VHB. Estas composiciones

farmacéuticas son particularmente útiles en la inhibición de la expresión del ARNm objetivo en una célula objetivo, un grupo de células, un tejido o un organismo. Las composiciones farmacéuticas pueden usarse para tratar a un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno que se beneficiaría con la reducción del nivel del ARNm objetivo o la inhibición de la expresión del gen objetivo. Las composiciones farmacéuticas pueden usarse para tratar a un sujeto en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno que se beneficiaría con la reducción del nivel del ARNm objetivo o con la inhibición de la expresión del gen objetivo. En una modalidad, el método incluye administrar un agente de iARN del VHB enlazado con un ligando de direccionamiento como se describe en la presente descripción, a un sujeto que se deberá tratar. En algunas modalidades, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables (que incluyen vehículos, portadores, diluyentes y/o polímeros de suministro) se agregan a las composiciones farmacéuticas que incluyen un agente de iARN del VHB, formando así una formulación farmacéutica adecuada para el suministro *in vivo* a un ser humano.

Las composiciones farmacéuticas que incluyen un agente de iARN del VHB y métodos descritos en la presente descripción pueden disminuir el nivel del ARNm objetivo en una célula, grupo de células, tejido o sujeto, e incluyen: administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de iARN descrito en la presente descripción, inhibiendo así la expresión de un ARNm objetivo en el sujeto.

En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas descritas que incluyen un agente de iARN del VHB se usan para tratar o controlar cuadros clínicos asociadas con la infección causada por el VHB. En algunas modalidades, una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de una o más de las composiciones farmacéuticas se administra a un sujeto que necesita dicho tratamiento, prevención o control. En algunas modalidades, la administración de cualquiera de los agentes de iARN descritos anteriormente puede usarse para reducir el número, gravedad y/o frecuencia de los síntomas de una enfermedad en un sujeto.

Las composiciones farmacéuticas descritas que incluyen un agente de iARN del VHB pueden usarse para tratar por lo menos un síntoma en un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno que se beneficiaría con la reducción o inhibición de la expresión del ARNm del VHB. En algunas modalidades, al sujeto se le administra una cantidad terapéuticamente eficaz de una o más composiciones farmacéuticas que incluyen un agente de iARN del VHB, para así tratar el síntoma. En otras modalidades, al sujeto se le administra una cantidad profilácticamente eficaz de uno o más agentes de iARN del VHB, evitando así al menos un síntoma.

La vía de administración es la vía por la cual un agente de iARN del VHB se pone en contacto con el cuerpo. En general, los métodos para administrar fármacos y ácidos nucleicos para el tratamiento de un mamífero son bien conocidos en la técnica y pueden aplicarse a la administración de las composiciones descritas en la presente descripción.

Los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción pueden administrarse por cualquier vía adecuada en una preparación adaptada de manera adecuada a la vía específica. Por lo tanto, en la presente descripción se describen composiciones farmacéuticas que pueden administrarse por inyección, por ejemplo, por vía intravenosa, intramuscular, intradérmica, subcutánea, intraarticular o intraperitoneal. En algunas modalidades, se describen en la presente descripción composiciones farmacéuticas mediante inyección subcutánea.

Las composiciones farmacéuticas que incluyen un agente de iARN del VHB descritas en la presente descripción pueden suministrarse a una célula, grupo de células, tumor, tejido o sujeto con tecnologías de suministro de oligonucleótidos conocidas en la técnica. En general, cualquier método adecuado reconocido en la técnica para suministrar una molécula de ácido nucleico (*in vitro* o *in vivo*) puede adaptarse para usarse con una composición descrita en la presente descripción. Por ejemplo, el suministro puede ser por administración local (p. ej., inyección directa, implantación o administración tópica), administración sistémica o por vía subcutánea, intravenosa, intraperitoneal o parenteral, incluida la intracraneal (p. ej., intraventricular, intraparenquimática e intratecal), intramuscular, administración transdérmica, por vía aérea (aerosol), nasal, bucal, rectal o tópica (incluidas bucal y sublingual). En ciertas modalidades, las composiciones se administran por infusión o inyección subcutánea o intravenosa.

En consecuencia, en algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente descripción pueden comprender uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente descripción pueden formularse para la administración a un sujeto.

Como se usa en la presente descripción, una composición farmacéutica o medicamento incluye una cantidad farmacológicamente eficaz de al menos uno de los compuestos terapéuticos descritos y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes farmacéuticamente aceptables (excipientes) son sustancias distintas del ingrediente farmacéutico activo (API, producto terapéutico, p. ej., agente de iARN del VHB) que se incluyen intencionalmente en el sistema de suministro de fármacos. Los excipientes no ejercen o no pretenden ejercer un efecto terapéutico en la dosificación prevista. Los excipientes pueden actuar para a) ayudar en el procesamiento del sistema de suministro de fármacos durante la fabricación, b) proteger, soportar o mejorar la estabilidad, biodisponibilidad o aceptabilidad del paciente de la API, c) ayudar en la identificación del producto y/o d) mejorar cualquier otro atributo de la seguridad, eficacia o suministro de la API durante el almacenamiento o uso. Un excipiente farmacéuticamente aceptable puede o no ser una sustancia inerte.

Los excipientes incluyen, pero no se limitan a: potenciadores de absorción, antiadherentes, agentes antiespumantes, antioxidantes, aglutinantes, agentes de regulación, portadores, agentes de recubrimiento, colores, potenciadores de suministro,

polímeros de suministro, dextrano, dextrosa, diluyentes, desintegrantes, emulsionantes, extensores, rellenos, sabores, deslizantes, humectantes, lubricantes, aceites, polímeros, conservantes, salinos, sales, solventes, azúcares, agentes de suspensión, matrices de liberación sostenida, edulcorantes, agentes espesantes, agentes de tonicidad, vehículos, agentes repelentes al agua y agentes humectantes.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (cuando son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los portadores adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática Cremophor ELTM (BASF, Parsippany, NJ) o solución salina regulada con fosfato. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido) y mezclas adecuadas de éstos. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de surfactantes. En muchos casos, se prefiere incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol y cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede

producir incluyendo en la composición un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en un solvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de la esterilización del filtro. Generalmente, las dispersiones se preparan al incorporar el compuesto activo en un vehículo estéril que contenga un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación incluyen secado al vacío y liofilización que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional de una solución previamente esterilizada y filtrada de este.

Las formulaciones adecuadas para la administración intraarticular pueden estar en la forma de una preparación acuosa estéril del fármaco que puede estar en forma microcristalina, por ejemplo, en forma de una suspensión microcristalina acuosa. Las formulaciones liposomales o los sistemas poliméricos biodegradables pueden usarse, además, para presentar el fármaco para la administración intraarticular y oftálmica.

Los compuestos activos se pueden preparar con portadores destinados a proteger el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de suministro

microencapsulados. Los polímeros biodegradables y biocompatibles pueden usarse, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de dichas formulaciones resultarán evidentes a los expertos en la técnica. Las suspensiones liposomales pueden usarse, además, como portadores farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse siguiendo métodos conocidos para los expertos en la técnica, por ejemplo, como el que se describe en la patente de los EE. UU. núm. 4.522.811.

Los agentes de iARN del VHB pueden formularse en composiciones en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación se refiere a unidades diferenciadas físicamente adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación para las formas de unidad de dosificación de la descripción está dictada por y depende directamente de las características únicas del compuesto activo y del efecto terapéutico que se pueda lograr, y de las limitaciones inherentes a la técnica de composición de dicho compuesto activo para el tratamiento de las personas.

Una composición farmacéutica puede contener otros componentes adicionales comúnmente encontrados en las composiciones farmacéuticas. Tales componentes adicionales incluyen, pero no se limitan a: antiprurícticos, astringentes, anestésicos

locales o agentes antiinflamatorios (p. ej., antihistamínico, difenhidramina, etc.). También se contempla que las células, tejidos u órganos aislados que expresan o comprenden los agentes de iARN definidos en la presente descripción pueden usarse como "composiciones farmacéuticas". Como se usa en la presente descripción, "cantidad farmacológicamente eficaz", "cantidad terapéuticamente eficaz" o simplemente "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un agente de iARN para producir un resultado farmacológico, terapéutico o preventivo.

Generalmente, una cantidad eficaz de un compuesto activo estará en el rango de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal/día, p. ej., de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal/día. En algunas modalidades, una cantidad eficaz de un compuesto activo estará en el rango de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal por dosis. En algunas modalidades, una cantidad eficaz de un ingrediente activo estará en el rango de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 3 mg/kg de peso corporal por dosis. La cantidad administrada también dependerá probablemente de variables tales como el estado general de salud del paciente, la eficacia biológica relativa del compuesto suministrado, la formulación del fármaco, la presencia y los tipos de excipientes en la formulación y la vía de administración. También, debe entenderse que la dosis inicial administrada puede aumentarse más allá del nivel superior para alcanzar rápidamente el nivel deseado de sangre o nivel de sangre o tejido deseado, o la dosis inicial puede ser menor que la óptima.

Para el tratamiento de la enfermedad o para la formación de un medicamento o composición para el tratamiento de una enfermedad, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente descripción que incluyen un agente de iARN del VHB pueden combinarse con un excipiente o con un segundo agente terapéutico o tratamiento que incluye, pero no se limitan a: un segundo u otro agente de iARN, un fármaco de molécula pequeña, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo y/o una vacuna.

Los agentes de iARN descritos anteriormente, cuando se agregan a los excipientes o adyuvantes farmacéuticamente aceptables, pueden envasarse en kits, envases, cajas o dispensadores. Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente descripción pueden envasarse en jeringas o viales precargadas.

Métodos de tratamiento e inhibición de la expresión

Los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción pueden usarse para tratar a un sujeto (p. ej., un ser humano o mamífero) que tiene una enfermedad o trastorno que se beneficiaría con la administración del compuesto. En algunas modalidades, los agentes de iARN descritos en la presente descripción pueden usarse para tratar a un sujeto (p. ej., un ser humano) que tiene una enfermedad o trastorno que se beneficiaría con la reducción o inhibición de la expresión del ARNm del VHB. Se administrará al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera o más agentes de iARN. El sujeto puede ser un humano, un paciente o un paciente humano.

El sujeto puede ser un adulto, adolescente, niño o bebé. Las composiciones farmacéuticas descritas que incluyen un agente de iARN del VHB pueden usarse para proporcionar métodos para el tratamiento terapéutico de enfermedades. Dichos métodos incluyen la administración de una composición farmacéutica descrita en la presente descripción para un ser humano o animal.

En algunas modalidades, los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción se usan para tratar a un sujeto infectado con el VHB. En algunas modalidades, los agentes de iARN del VHB descritos anteriormente se usan para tratar por lo menos un síntoma en un sujeto que tiene una infección causada por el VHB. Se administrará al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de uno de los agentes de iARN descritos.

En algunas modalidades, el sujeto tiene una infección causada por el VHB y una infección causada por el VHD. En algunas modalidades, los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción se usan para tratar a un sujeto infectado con el VHB y el VHD. En algunas modalidades, los agentes de iARN descritos anteriormente se usan para tratar por lo menos un síntoma en un sujeto que tiene una infección causada por el VHB o por el VHD. Se administrará al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de uno de los agentes de iARN descritos.

En algunas modalidades, los agentes de iARN del VHB se usan para tratar o controlar un cuadro clínico en donde un sujeto está infectado con el VHB. Se administrará al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más de uno de los agentes de iARN del VHB que contienen las composiciones descritas en la presente descripción. En algunas modalidades, el método incluye administrar una composición que comprende un agente de iARN del VHB descrito en la presente descripción a un sujeto que debe tratarse.

En algunas modalidades, el nivel de expresión génica y/o el nivel de ARNm de un gen del VHB en un sujeto al que se administra un agente de iARN del VHB descrito se reduce en al menos aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más del 99 % en relación con el sujeto antes de que se le administre el agente de iARN del VHB o con un sujeto que no ha recibido el agente de iARN del VHB. El nivel de expresión génica y/o nivel de ARNm en el sujeto puede reducirse en una célula, grupo de células y/o tejido del sujeto. En algunas modalidades, el nivel de proteína expresada de un gen del VHB en un sujeto a quien se le ha administrado el agente de iARN del VHB descrito se reduce en al menos aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más del 99 % en relación con el sujeto antes de que se le administre el agente de iARN del VHB o con un sujeto que no ha recibido el agente de iARN del VHB. El nivel de proteína en el sujeto puede reducirse en una célula, un grupo de células, tejido, sangre y/u otro fluido del sujeto. Por ejemplo, en algunas modalidades, la cantidad o nivel de antígeno de superficie

de la hepatitis B (AgsHB) en un sujeto a quien se le administra el agente de iARN del VHB descrito se reduce en al menos aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de 99 % en relación con el sujeto antes de que se le administre el agente de iARN del VHB o con un sujeto que no ha recibido el agente de iARN del VHB. En algunas modalidades, la cantidad o nivel de antígeno e de la hepatitis B (HBeAg) en un sujeto a quien se le administra el agente de iARN del VHB descrito se reduce en al menos aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de 99 % en relación con el sujeto antes de que se le administre el agente de iARN del VHB o con un sujeto que no ha recibido el agente de iARN del VHB. En algunas modalidades, la cantidad o nivel de ADN del VHB en suero en un sujeto a quien se le administra el agente de iARN del VHB descrito se reduce en al menos aproximadamente el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más de 99 % en relación con el sujeto antes de que se le administre el agente de iARN del VHB o con un sujeto que no ha recibido el agente de iARN del VHB. Se puede evaluar una reducción en presencia de ADN del VHB en suero, de expresión génica del VHB, del ARNm del VHB o de cantidades o niveles de proteína del VHB mediante métodos conocidos en la técnica. La reducción o disminución de la cantidad o nivel del ARNm del VHB, de la cantidad o nivel de proteína expresada y/o de la cantidad o nivel de ADN del VHB en suero, se mencionan colectivamente en la presente descripción como una reducción o disminución del VHB o que inhiben o reducen la expresión del VHB.

Células y tejidos y organismos no humanos

Se contemplan células, tejidos y organismos no humanos que incluyen al menos uno de los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción. La célula, tejido o el organismo no humano se elabora mediante el suministro del agente de iARN a la célula, tejido u organismo no humano.

Las modalidades y los elementos proporcionados anteriormente se ilustran ahora con los siguientes ejemplos no limitantes.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Síntesis de agentes de iARN del VHB.

Los dúplex del agente de iARN del VHB que se muestran en la Tabla 5 se sintetizaron de acuerdo con lo siguiente:

A. *Síntesis*. Las cadenas codificantes y las cadenas no codificantes de los agentes de iARN del VHB se sintetizaron de acuerdo con la tecnología de fosforamidita en fase sólida usada en la síntesis de oligonucleótidos. Dependiendo de la escala, se usó un MerMade96E® (Bioautomation), un MerMade12® (Bioautomation) o un OP Pilot 100 (GE Healthcare). Las síntesis se realizaron en un soporte sólido fabricado en vidrio poroso controlado (CPG, 500 Å o 600 Å, obtenido de Prime Synthesis, Aston, PA, EE. UU.). Todos los ARN y 2’-fosforamiditas modificadas se adquirieron en Thermo Fisher

Scientific (Milwaukee, WI, EE. UU.). Específicamente, se usaron los siguientes 2′-O-metilfosforamiditas: (5'-O-dimetoxitritil-N^6-(benzoil)-2'-O-metil-adenosina-3'-O-(2-cianoetil-N, N-diisopropilamino) fosforamidita, 5'-O-dimetoxi-tritil-N^4-(acetil)-2'-O-metil-citidina-3'-O- (2-cianoetil-N, N-diisopropil-amino) fosforamidita, (5'-O-dimetoxitritil-N^2-(isobutirilo)-2'-O-metil-guanosina-3'-O-(2-cianoetil-N, N-diisopropilamino) fosforamidita y 5'-O-dimetoxitritil-2'-O-metil-uridina-3'-O-(2-cianoetil-N, N-diisopropilamino) fosforamidita. Las 2'-desoxi-2'-fluoro-fosforamiditas portaban los mismos grupos protectores que las 2'-O-metil-amiditas. Las (3'-O-dimetoxitritil-2'-desoxirribosa-5'-O-(2-cianoetil-N, N-diisopropilamino) fosforamiditas abásicas se adquirieron a ChemGenes (Wilmington, MA, EE. UU.). Se disolvieron ligandos de direccionamiento que contenían fosforamiditas en diclorometano anhidro o acetonitrilo anhidro (50 mM), mientras que todas las demás amiditas se disolvieron en acetonitrilo anhidro (50 mM) y se agregaron tamices moleculares (3 Å). Como solución activadora se usó 5-benciltio-1H-tetrazol (BTT, 250 mM en acetonitrilo) o 5-etiltio-1H-tetrazol (ETT, 250 mM en acetonitrilo). Los tiempos de acoplamiento fueron 12 min (ARN), 15 min (ligando de direccionamiento), 90 s (2′OMe) y 60 s (2′F). Para introducir los enlaces de fosforotioato, se empleó una solución de 100 mM de 3-fenil 1,2,4-ditiazolina-5-one (POS, obtenida en PolyOrg, Inc., Leominster, MA, EE. UU.) en acetonitrilo anhidro.

B. Escisión y desprotección del oligómero unido al soporte. Después de finalizar la síntesis de la fase sólida, el soporte sólido seco se trató con una solución de volumen 1:1 de 40 % en peso de metilamina en agua y 28 % de solución de hidróxido de amonio

(Aldrich) durante 1.5 horas a 30 °C. La solución se evaporó y el residuo sólido se reconstituyó en agua (ver más abajo).

C. Purificación. Los oligómeros crudos se purificaron mediante la cromatografía líquida de alta resolución de intercambio iónico (HPLC, por sus siglas en inglés) usando una columna TSKgel SuperQ-5PW 13 µm y un sistema Shimadzu LC-8. El regulador A era Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 9,0 y contenía 20 % de acetonitrilo y el regulador B era igual que el regulador A con la adición de cloruro sódico 1,5 M. Se registraron trazas UV a 260 nm. Las fracciones adecuadas se agruparon y después se ejecutaron en HPLC de exclusión de tamaño usando una columna GE Healthcare de tipo XK 26/40 envasada con Sephadex G 25 fino con un regulador de migración de agua desionizada filtrada o bicarbonato de amonio 100 mm, pH 6,7 y 20 % de acetonitrilo.

D. Hibridación. Las cadenas complementarias se mezclaron combinando soluciones de ARN equimolares (cadena codificante y no codificante) en una solución salina 1x regulada con fosfato (Corning, Cellgro) para formar los agentes de iARN. Algunos agentes de iARN se liofilizaron y almacenaron a -15 a -25 °C. La concentración dúplex se determinó midiendo la absorbancia de la solución en un espectrómetro de UV-Vis en una solución salina 1x regulada con fosfato. La absorbancia de la solución a 260 nm se multiplicó mediante un factor de conversión y el factor de dilución para determinar la concentración dúplex. A menos que se indique lo contrario, todo el factor de conversión fue de 0,037 mg/(mL·cm). Para

algunos experimentos, se calculó un factor de conversión a partir de un coeficiente de extinción determinado experimentalmente.

Ejemplo 2. Ratones modelo pVHB.

Los ratones NOD.CB17-Prkdscid /NcrCrl (NOD-SCID) hembra de seis a ocho semanas de edad se transfectaron transitoriamente *in vivo* con MC-HBV1.3 mediante inyección hidrodinámica en la vena de la cola (Yang PL et al. "Hydrodynamic injection of viral DNA: a mouse model of acute hepatitis B virus infection" *PNAS USA* 2002 Vol. 99: p. 13825-13830), se les administró 30 a 45 días antes de la administración de un agente o control de iARN del VHB. El MC HBV1.3 es un minicírculo derivado de plásmido que contiene la misma secuencia del virus de la hepatitis B humana terminalmente redundante HBV1.3 que en el plásmido pHBV1.3 y en los ratones transgénicos HBV1.3.32 (GenBank número de acceso V01460) (Guidotti LG et al., "High-level hepatitis B virus replication in transgenic mice", J Virol 1995 Vol. 69, p6158-6169). Se inyectaron 5 o 10 µg de MC-HBV1.3 en solución de Ringer en un volumen total de 10 % del peso del cuerpo del animal a ratones en la vena de la cola para crear un modelo de pVHB de infección crónica causada por el VHB. La solución se inyectó a través de una aguja de calibre 27 en 5-7 segundos, como se describió anteriormente (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). En la predosis (ya sea predosis del día 1, día -1 o día -2), se midieron los niveles de expresión del antígeno de superficie de la hepatitis B

(AgsHB) en suero mediante ELISA y los ratones se agruparon según los niveles medios de expresión del AgsHB.

Análisis: En diversos momentos, antes y después de la administración de agentes de iARN del VHB, se pueden medir el AgsVHB en suero, el ADN del VHB en suero o el ARN del VHB en el hígado. Los niveles de expresión del VHB se normalizaron a los niveles de expresión previos a la administración y los de los ratones de control inyectados con salina regulada con fosfato (PBS, por sus siglas en inglés).

i) Recolección de suero: Los ratones se anestesiaron con 2-3 % de isoflurano y se recolectaron muestras de sangre del área submandibular en tubos de separación de suero (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Alemania). Se dejó que la sangre coagule a temperatura ambiente durante 20 min. Los tubos se centrifugaron a 8000 x g durante 3 min para separar el suero y se almacenaron a 4 °C.

ii) Niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B en suero (AgsHB): Se recolectó el suero y se diluyó de 10 a 8000 veces en PBS que contenía un 5 % de leche en polvo descremada. Se prepararon patrones secundarios de AgsHB diluidos en la solución de leche descremada a partir de suero de ratones ICR (Harlan Sprague Dawley) que se habían transfectado con 10 µg de plásmido pRc/CMV-HB (Aldevron, Fargo, ND) que expresa el AgsHB. Los niveles de AgsHB se determinaron con un kit GS HBsAg EIA 3.0 (Bio-Rad Laboratories, Inc., Redmond, WA) de acuerdo a lo descrito por el fabricante.

La proteína AgsHB recombinante, el subtipo ayw, también se diluyó en leche descremada en PBS, se usó como un estándar primario (Aldevron).

La expresión del AgsHB para cada animal se normalizó a los niveles del grupo de control de ratones inyectados con PBS para dar cuenta de la disminución no relacionada con el tratamiento en la expresión de MC-HBV1.3. Primera, el nivel de AgsHB para cada animal en un punto de tiempo se dividió por el nivel de expresión previo al tratamiento en el animal para determinar la relación de expresión "normalizado a los valores previos al tratamiento". La expresión en un punto de tiempo específico se normalizó después a los niveles del grupo de control al dividir la relación "normalizado a los niveles previos al tratamiento" para un individuo animal por la relación promedio "normalizado a los niveles previos al tratamiento" de todos los ratones en el grupo de control con PBS normal.

iii) Niveles del antígeno e de la Hepatitis B (HBeAg) en suero: El análisis del HBeAg se realizó con el ensayo inmunosorbente vinculado con la enzima HBeAg (ELISA) según lo descrito por el fabricante (DiaSorin) usando suero diluido de 4 a 20 veces en 5 % de leche en polvo descremada. La cantidad de antígeno Se determinó en el rango lineal del ensayo y se cuantificó frente a los estándares de proteína HBeAg (Fitzgerald Industries International, catálogo núm. 30-AH18, Acton, MA).

La expresión del HBeAg para cada animal se normalizó a los niveles del grupo de control de ratones inyectados con PBS para dar cuenta de la disminución no relacionada

con el tratamiento en la expresión de MC-HBV1.3. Para la evaluación del HBeAg en suero, se analiza el HBeAg a partir de muestras de suero agrupadas en grupos o subgrupos. Primero, el nivel de HBeAg para cada grupo o subgrupo agrupado se dividió por el nivel de expresión previo al tratamiento en el mismo grupo o subgrupo para determinar la relación de expresión "normalizado a los niveles previos al tratamiento". La expresión en un punto de tiempo específico se normalizó después a los niveles del grupo de control al dividir la relación "normalizado a los niveles previos al tratamiento" para un grupo o subgrupo por la relación promedio "normalizado a los valores previos al tratamiento" de todas las muestras del grupo de control de PBS normal.

iv) Niveles de ADN del VHB en suero: Se agruparon volúmenes iguales de suero de ratones en un grupo o subgrupo hasta un volumen final de 100 µL. Se aisló ADN de las muestras de suero utilizando el Kit QIAamp MinElute Virus Spin (Qiagen, Valencia, CA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se agregó solución salina estéril al 0,9 % a cada muestra hasta un volumen final de 200 µl. Las muestras de suero se agregaron a tubos que contenían regulador y proteasa. El ARN portador se agregó para ayudar en el aislamiento de pequeñas cantidades de ADN. 1 ng de ADN plásmido pHCR/UBC-SEAP (Wooddell CI, et al., "Long-term RNA interferencia from optimized siRNA expression constructs in adult mice". *Biochem Biophys Res commun* (2005) *334*, 117-127) se agregó como control de recuperación. Después de incubar 15 min a 56 °C, los ácidos nucleicos se precipitaron de los lisados con etanol y toda la solución se aplicó a una columna. Después del lavado, las muestras se eluyeron en un volumen de 50 µL de regulador AVE.

El número de copias de genomas del VHB en ADN aislado del suero del ratón modelo pVHB se determinó mediante qPCR. El plásmido pSEAP-HBV353-777, que codifica un segmento corto del genoma del VHB dentro del gen S (bases 353-777 de GenBank número de acceso V01460), se usó para crear una curva estándar de seis logaritmos. Se omitieron las muestras con recuperación de ADN por debajo de 2 desviaciones estándar de la media, sobre la base de la detección de pHCR/UbC-SEAP. Se usaron cebadores y sondas de base química de TaqMan con flúor/ZEN/IBFQ.

Los análisis de qPCR se realizaron en un sistema de PCR en tiempo real 7500 Fast o StepOne Plus (Life Technologies). Para la evaluación del ADN del VHB en suero, el ADN se aisló de las etapas de purificación singletes o duplicadas de muestras de suero del grupo agrupado. Las cuantificaciones de ADN del VHB y plásmido de control de recuperación se determinaron mediante reacciones por qPCR realizadas por triplicado. Las sondas para cuantificar el VHB y pHCR/UbC-SEAP se incluyeron en cada reacción.

Ejemplo 3*. Agentes de iARN del VHB en ratones modelo pHBV.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. En el día 1, a cada ratón se le administró una sola inyección subcutánea de 200 µl que contenía 2 mg/kg (MPK) de un agente de iARN del VHB formulado en una solución salina regulada con fosfato (PBS), o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN

del VHB, para usarse como un control. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Los agentes de iARN del VHB probados incluían los que tienen los números dúplex que se muestran en la Tabla 7, más abajo. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

Se recolectó suero el día 8, día 15, día 22 y día 29, y los niveles del antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 7. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de los agentes de iARN del VHB del Ejemplo 3 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	**Día 8**	**Día 15**	**Día 22**	**Día 29**
PBS	1,000 ± 0,185	1,000 ± 0,288	1,000 ± 0,540	1,000 ± 0,326
AD04178	0,164 ± 0,043	0,206 ± 0,044	0,293 ± 0,050	0,348 ± 0,099
AD04579	0,083 ± 0,028	0,099 ± 0,022	0,112 ± 0,022	0,138 ± 0,056
AD04580	0,048 ± 0,007	0,073 ± 0,012	0,085 ± 0,012	0,126 ± 0,014
AD04570	0,241 ± 0,076	0,294 ± 0,071	0,276 ± 0,068	0,474 ± 0,092

AD04572	0,190 ± 0,040	0,279 ± 0,011	0,323 ± 0,049	0,441 ± 0,046
AD04573	0,333 ± 0,143	0,505 ± 0,106	0,361 ± 0,060	0,444 ± 0,068
AD04574	0,291 ± 0,032	0,650 ± 0,056	0,388 ± 0,048	0,485 ± 0,070
AD04575	0,397 ± 0,189	0,514 ± 0,234	0,574 ± 0,204	0,689 ± 0,207
AD04419	0,262 ± 0,038	0,174 ± 0,042	0,258 ± 0,064	0,311 ± 0,089
AD04578	0,210 ± 0,056	0,235 ± 0,033	0,298 ± 0,035	0,336 ± 0,049

Los agentes de iARN AD04178, AD04579, AD04580, AD04570, AD04572, AD04573, AD04574, AD04575, AD04419 y AD04578 se diseñaron cada uno para que tengan secuencias de cadena codificante al menos parcialmente complementarias al marco de lectura abierto X en las posiciones 1781-1789 del genoma del VHB que se muestra en las Tablas 1 y 2, más arriba. Cada uno de los agentes de iARN del VHB mostró una reducción sustancial en el AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos. Por ejemplo, AD04580 mostró una reducción de más del 95 % en los niveles de antígeno S el día 8 (0,048 ± 0,007 nivel AgsHB) cuando se normalizó al nivel previo al tratamiento y al del control con PBS.

Adicionalmente, los niveles de ADN del VHB en suero se determinaron para los grupos PBS, AD04579 y AD04580 a partir de muestras de suero recolectado los días 8, 15, 22, 29, 36, 43 y 50, conforme el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. El suero de cada grupo se agrupó y después se aisló el ADN del suero en aislamientos duplicados. Los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 8. Los niveles promedio de ADN del VHB en suero se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 3 (desviación estándar reflejada como (+ / -)).

Grupo	**Día 8**	**Día 15**	**Día 22**	**Día 29**
PBS	1,0000 ±0,1185	1,0000 ± 0,0591	1,0000 ± 0,0322	1,0000 ± 0,0597
AD04579	0,1541 ±0,0070	0,1776 ± 0,0027	0,1810 ± 0,0450	0,3738 ± 0,0302
AD04580	0,0921 ±0,0253	0,0869 ± 0,0117	0,1444 ± 0,0755	0,0950 ± 0,0026

Grupo	**Día 36**	**Día 43**	**Día 50**
PBS	1,0000 ± 0,1625	1,0000 ± 0,0055	1,0000 ± 0,1484
AD04579	0,9670 ± 0,1247	0,7643 ± 0,1334	0,6299 ± 0,1319
AD04580	0,4949 ± 0,0096	0,4350 ± 0,0344	0,6819 ± 0,0266

Los datos de la Tabla 8 indican que los dos agentes de iARN examinados proporcionaron una reducción sustancial de los niveles de ADN del VHB en comparación con el grupo PBS, con el AD04580 se alcanzó ligeramente más de 1 log de atenuación (*knockdown*) en el nadir (p. ej., 0,0869 ± 0,0117 promedio de ADN en suero el día 15).

Ejemplo 4*. Agentes de iARN del VHB en ratones modelo pHBV.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. El día 1, a cada ratón se le suministró una única administración subcutánea de 200 µl que contenía 2 mg/kg (mpk) de un agente de iARN del VHB formulado en una solución salina regulada con fosfato, o

200 µl de una solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB para usar como control. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Los agentes de iARN del VHB administrados incluían los enumerados en la Tabla 9, más abajo. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

Se recolectó suero el día 8, día 15, día 22 y día 29, y los niveles del antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 9. Los niveles promedio de los AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 4 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	**Día 8**	**Día 15**	**Día 22**	**Día 29**
PBS	1,000 ± 0,085	1,000 ± 0,235	1,000 ± 0,171	1,000 ± 0,099
AD04010	0,229 ± 0,141	0,165 ± 0,091	0,142 ± 0,085	0,116 ± 0,076
AD04581	0,379 ± 0,042	0,221 ± 0,066	0,135 ± 0,040	0,112 ± 0,050
AD04591	0,285 ± 0,101	0,145 ± 0,064	0,086 ± 0,024	0,081 ± 0,026
AD04434	0,295 ± 0,041	0,191 ± 0,008	0,147 ± 0,016	0,187 ± 0,049
AD04583	0,488 ± 0,018	0,545 ± 0,037	0,511 ± 0,086	0,663 ± 0,112
AD04584	0,392 ± 0,136	0,337 ± 0,073	0,364 ± 0,075	0,515 ± 0,155

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
AD04585	0,099 ± 0,016	0,042 ± 0,014	0,030 ± 0,009	0,044 ± 0,014
AD04586	0,222 ± 0,056	0,107 ± 0,034	0,074 ± 0,016	0,106 ± 0,039
AD04588	0,255 ± 0,065	0,205 ± 0,021	0,185 ± 0,021	0,207 ± 0,024
AD04438	0,265 ± 0,106	0,113 ± 0,045	0,091 ± 0,031	0,130 ± 0,038

Los agentes de iARN AD04010, AD04581, AD04591, AD04434, AD04583, AD04584, AD04585, AD04586, AD04588 y AD04438 se diseñaron para que tengan secuencias de cadena no codificante que sean al menos parcialmente complementarias al marco de lectura abierto S en las posiciones 257-275 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2. Los agentes de iARN del VHB que se muestran en la Tabla 9, inmediatamente arriba, cada uno mostró una reducción sustancial en AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos. Por ejemplo, el AD04585 mostró aproximadamente un 90 % de reducción del AgsHB el día 8, un 95 % de reducción el día 15, un 97 % de reducción el día 22 y un 95 % de reducción el día 29.

Adicionalmente, se determinaron los niveles de ADN del VHB en suero para los grupos PBS, AD04585 a partir de muestras de suero recolectadas los días 8, 15, 22, 29, 36, 43 y 50, de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. El suero de cada grupo se agrupó y después se aisló el ADN del suero en aislamientos duplicados. Los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 10. Los niveles promedio de ADN del VHB en suero se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en ratones pHBV después de la administración de los agentes de iARN del VHB del Ejemplo 4 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	**Día 8**	**Día 15**	**Día 22**	**Día 29**
PBS	1,000 ± 0,248	1,000 ± 0,089	1,000 ± 0,195	1,000 ± 0,180
AD04585	0,901 ± 0,183	0,225 ± 0,003	0,187 ± 0,023	0,191 ± 0,004

Grupo	**Día 36**	**Día 43**	**Día 50**
PBS	1,000 ± 0,018	1,000 ± 0,033	1,000 ± 0,778
AD04585	0,209 ± 0,017	0,171 ± 0,019	0,305 ± 0,010

Los datos de la Tabla 10 indican que el agente de iARN del VHB AD04585 proporcionó una reducción en los niveles de ADN del VHB en comparación con el grupo PBS.

Ejemplo 5*. Respuesta a la dosis y combinaciones de agentes de iARN del VHB en ratones modelo pHBV.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos que incluyen los expuestos en la Tabla 11, más abajo, y a los ratones se les administró inyecciones subcutáneas 200 µl de acuerdo con el régimen de dosis expuesto en la Tabla 11:

Tabla 11. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el Ejemplo 5.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación
A	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1
B	3,0 mg/kg de AD04585	Inyección única en el día 1
C	3,0 mg/kg de AD04585	Inyección el día 1, día 8 y día 15 (es decir, tres inyecciones semanales)
D	3,0 mg/kg de AD04580	Inyección única en el día 1
E	3,0 mg/kg de AD04580	Inyección el día 1, día 8 y día 15 (es decir, tres inyecciones semanales)
F	1,0 mg/kg de AD4585 + 1,0 mg/kg de AD04580	Inyección el día 1 y otra inyección el día 22
G	1,0 mg/kg de AD4585 + 1,0 mg/kg de AD04580	Inyección el día 1, día 8, día 15 y día 43
H	1,5 mg/kg de AD4585 + 1,5 mg/kg de AD04580	Inyección el día 1, día 22 y día 43
I	1,5 mg/kg de AD4585 + 1,5 mg/kg de AD04580	Inyección el día 1, día 8, día 15 y día 43

A cada ratón se le suministró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulados en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 11. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

Se recolectó el suero el día 8, día 15, día 22, día 29, día 36, día 43, día 50 y día 57, y los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 12. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de los agentes de iARN del VHB del Ejemplo 5 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
A	1,000 ± 0,162	1,000 ± 0,138	1,000 ± 0,083	1,000 ± 0,204
B	0,060 ± 0,015	0,010 ± 0,003	0,006 ± 0,002	0,007 ± 0,002
C	0,087 ± 0,014	0,004 ± 0,001	0,001 ± 0,0003	0,0002 ± 0,0001
D	0,026 ± 0,009	0,035 ± 0,013	0,037 ± 0,014	0,046 ± 0,006
E	0,023 ± 0,005	0,002 ± 0,001	0,001 ± 0,0003	0,001 ± 0,0004
F	0,063 ± 0,046	0,083 ± 0,051	0,086 ± 0,016	0,027 ± 0,006
G	0,062 ± 0,011	0,022 ± 0,008	0,009 ± 0,003	0,008 ± 0,002
H	0,055 ± 0,015	0,062 ± 0,002	0,072 ± 0,013	0,011 ± 0,001
I	0,031 ± 0,006	0,008 ± 0,001	0,003 ± 0,0004	0,003 ± 0,0003
Grupo	**Día 36**	**Día 43**	**Día 50**	**Día 57**
A	1,000 ± 0,211	1,000 ± 0,189	1,000 ± 0,179	1,000 ± 0,062
B	0,013 ± 0,005	0,027 ± 0,004	0,026 ± 0,004	0,057 ± 0,012
C	0,001 ± 0,0002	0,002 ± 0,001	0,008 ± 0,004	0,020 ± 0,015
D	0,116 ± 0,019	0,214 ± 0,056	0,263 ± 0,046	0,404 ± 0,030
E	0,003 ± 0,0001	0,007 ± 0,001	0,012 ± 0,002	0,033 ± 0,011
F	0,029 ± 0,003	0,065 ± 0,005	0,064 ± 0,004	0,161 ± 0,033

G	0,014 ± 0,008	0,039 ± 0,011	0,018 ± 0,008	0,046 ± 0,008
H	0,017 ± 0,005	0,039 ± 0,008	0,007 ± 0,001	0,013 ± 0,003
I	0,007 ± 0,001	0,020 ± 0,002	0,005 ± 0,001	0,011 ± 0,002

Los agentes de iARN del VHB AD04580 y AD04585 cada uno individualmente mostró una reducción en el AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos. Además, el tratamiento de combinación de AD04585 y AD04580, que como se observó en los ejemplos anteriores se dirige a diferentes regiones del genoma del VHB, también mostró una reducción en el AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos.

Adicionalmente, los niveles de ADN del VHB en suero se determinaron para cada uno de los grupos de la Tabla 11 a partir de muestras de suero recolectado los días 8, 15, 22, 29, y 36, de acuerdo con el procedimiento mostrado en el Ejemplo 2, más arriba. Se agrupó el suero de cada grupo y después se aisló el ADN del suero en reacciones por duplicado. Los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 13. Los niveles promedio de ADN del VHB en suero se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 5 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	**Día 8**	**Día 15**	**Día 22**	**Día 29**
A	1,000 ± 0,063	1,000 ± 0,059	1,000 ± 0,372	1,000 ± 0,237

B	0,267 ± 0,003	0,043 ± 0,016	0,038 ± 0,008	0,044 ± 0,004
C	0,236 ± 0,016	0,023 ± 0,001	0,004 ± 0,001	0,002 ± 0,000
D	0,058 ± 0,016	0,085 ± 0,017	0,252 ± 0,071	0,217 ± 0,009
E	0,056 ± 0,002	0,0009 ± 0,0004	0,0005 ± 0,0002	0,003 ± 0,002
F	0,298 ± 0,013	0,351 ± 0,032	0,823 ± 0,127	0,217 ± 0,007
G	0,276 ± 0,035	0,112 ± 0,020	0,061 ± 0,002	0,073 ± 0,002
H	0,232 ± 0,012	0,213 ± 0,028	0,403 ± 0,047	0,079 ± 0,005
I	0,092 ± 0,026	0,055 ± 0,000	0,002 ± 0,003	0,010 ± 0,004

Grupo	**Día 36**
A	1,000 ± 0,024
B	0,046 ± 0,007
C	0,003 ± 0,000
D	0,319 ± 0,034
E	0,002 ± 0,000
F	0,122 ± 0,004
G	0,047 ± 0,006
H	0,056 ± 0,003
I	0,021 ± 0,007

Los datos de la Tabla 13 indican que los agentes de iARN examinados, tanto individualmente como combinados, proporcionaron una reducción en los niveles de ADN del VHB en comparación con el grupo PBS. La redosificación o el aumento de la dosis produjo reducciones adicionales en el ADN del VHB.

Ejemplo 6*. Los agentes de iARN del VHB en los ratones pHBV: respuesta a la dosis y estudios de combinación.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos como se muestra en la Tabla 14, a continuación, y a cada ratón se le administró a una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación descrito en la Tabla 14:

Tabla 14. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el ejemplo 6.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación
A	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1
B	4,0 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1
C	1,0 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1
D	2,0 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1
E	1,0 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
F	2,0 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
G	3,0 mg/kg de AD04872	Inyección única en el día 1
H	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1
I	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
J	3,0 mg/kg de AD04872 + 2,0 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulada en una solución salina regulada con fosfato, o de 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 14. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían

ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

El suero se recolectó el día -1 antes de la administración y, después, el día 8, día 15, día 22, día 29 y día 36, y los niveles de AgsHB en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 2, anterior. Los datos del experimento se muestran en la siguiente Tabla 15, con el promedio de AgsHB que refleja el valor promedio normalizado de AgsHB:

Tabla 15. Los niveles promedio de AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 6 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22
A	1,000 ± 0,068	1,000 ± 0,183	1,000 ± 0,181
B	0,085 ± 0,020	0,068 ± 0,005	0,089 ± 0,014
C	0,283 ± 0,039	0,343 ± 0,055	0,436 ± 0,004
D	0,161 ± 0,052	0,137 ± 0,036	0,190 ± 0,068
E	0,182 ± 0,040	0,233 ± 0,023	0,436 ± 0,029
F	0,078 ± 0,024	0,093 ± 0,015	0,167 ± 0,028
G	0,066 ± 0,030	0,013 ± 0,002	0,010 ± 0,002
H	0,033 ± 0,012	0,016 ± 0,005	0,020 ± 0,005
I	0,040 ± 0,011	0,028 ± 0,003	0,032 ± 0,007

J	0,035 ± 0,010	0,019 ± 0,002	0,021 ± 0,001

Grupo	**Día 29**	**Día 36**
A	1,000 ± 0,032	1,000 ± 0,141
B	0,148 ± 0,016	0,194 ± 0,047
C	0,622 ± 0,041	0,741 ± 0,132
D	0,234 ± 0,055	0,280 ± 0,071
E	0,623 ± 0,116	0,782 ± 0,114
F	0,259 ± 0,014	0,368 ± 0,068
G	0,010 ± 0,003	0,009 ± 0,004
H	0,022 ± 0,005	0,024 ± 0,009
I	0,065 ± 0,014	0,087 ± 0,015
J	0,031 ± 0,0001	0,044 ± 0,002

Los agentes de iARN probados mostraron una reducción en AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos. Además, el tratamiento de combinación de AD04872 (que incluye una secuencia de cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria a ORF S en las posiciones 261-279 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2) y AD04981 o AD04963 (los cuales incluyen secuencias de cadena no codificante que son al menos parcialmente complementarias al ORF X en las posiciones 1781-1799 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2), que se muestran en los grupos H, I y J del Ejemplo 6, ilustran que el tratamiento de combinación de dos agentes de direccionamiento de iARN, uno de los cuales se dirige al ORF S y el otro se dirige al ORF X del genoma del VHB, mostró una reducción similar en el AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos.

Además, también se evaluaron los niveles de antígeno e de la hepatitis B (HBeAg) en suero. Las muestras de los ratones en cada grupo respectivo se agruparon primero, y las muestras de suero resultantes se analizaron en singlete. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 16. Los niveles promedio del HBeAg se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 6.

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29	Día 36
A	1,000	1,000	1,000	0,183	1,000
B	0,138	0,180	0,274	0,005	0,089
C	0,316	0,376	0,588	0,055	0,436
D	0,167	0,250	0,262	0,036	0,190
E	0,301	0,327	0,447	0,023	0,436
F	0,167	0,172	0,305	0,015	0,167
G	0,275	0,135	0,158	0,002	0,010
H	0,080	0,053	0,094	0,005	0,020
I	0,165	0,124	0,185	0,003	0,032
J	0,120	0,057	0,101	0,002	0,021

Como se muestra en la Tabla 16, la combinación de AD04872 (que se dirige al ORF S del genoma del VHB) con el AD04981 o el AD04963 (los cuales se dirigen al ORF X del genoma del VHB) mostró una mayor reducción en los niveles de HBeAg en relación con la administración de AD04872 solo.

Ejemplo 7*. Agentes de iARN del VHB en ratones pHBV: respuesta a la dosis adicional y estudios de combinación.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos como se muestra en la Tabla 17, a continuación, y a cada ratón se le administró a una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación que se muestra en la Tabla 17:

Tabla 17. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el Ejemplo 7.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación
A	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1
B	4,0 mg/kg de AD04776	Inyección única en el día 1
C	1,0 mg/kg de AD04982	Inyección única en el día 1
D	2,0 mg/kg de AD04982	Inyección única en el día 1
E	1,0 mg/kg de AD04776	Inyección única en el día 1
F	2,0 mg/kg de AD04776	Inyección única en el día 1
G	3,0 mg/kg de AD04872	Inyección única en el día 1
H	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD04982	Inyección única en el día 1
I	3,0 mg/kg de AD04872 + 2,0 mg/kg de AD04982	Inyección única en el día 1

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulados en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de

iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 17. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Cuatro (4) ratones en cada grupo se probaron el día -1 y día 8 (n=4) y, después, se sacrificó a un ratón por grupo para la evaluación histológica. Tres (3) ratones en cada grupo se probaron al día 22 y día 29 (n=3).

Se recolectó suero el día -1 antes de la administración, y después el día 8, día 15, día 22 y día 29, y los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente Tabla 18:

Tabla 18. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento (día -1) y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de los agentes de iARN del VHB del Ejemplo 7 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
A	1,000 ± 0,347	1,000 ± 0,278	1,000 ± 0,194	1,000 ± 0,318
B	0,117 ± 0,069	0,085 ± 0,039	0,148 ± 0,045	0,198 ± 0,049
C	0,519 ± 0,058	0,375 ± 0,012	0,422 ± 0,046	0,525 ± 0,037
D	0,342 ± 0,062	0,255 ± 0,046	0,272 ± 0,122	0,314 ± 0,068

E	0,279 ± 0,057	0,245 ± 0,032	0,374 ± 0,121	0,304 ± 0,035
F	0,224 ± 0,018	0,161 ± 0,009	0,310 ± 0,016	0,482 ± 0,053
G	0,029 ± 0,010	0,005 ± 0,001	0,004 ± 0,001	0,006 ± 0,001
H	0,016 ± 0,005	0,004 ± 0,001	0,010 ± 0,006	0,015 ± 0,008
I	0,026 ± 0,012	0,008 ± 0,001	0,010 ± 0,002	0,015 ± 0,005

Los agentes de iARN probados mostraron una reducción en AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos.

Además, también se evaluaron los niveles de antígeno e de la hepatitis B (HBeAg) en suero. Las muestras de los ratones en cada grupo respectivo se agruparon primero, y las muestras de suero resultantes se analizaron en singlete. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 19. Los niveles promedio de HBeAg se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 7.

Grupo	**Día 8**	**Día 15**	**Día 22**	**Día 29**	**Día 36**
A	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
B	0,193	0,213	0,260	0,307	0,464
C	0,471	0,424	0,562	0,513	0,705
D	0,335	0,310	0,411	0,442	0,500
E	0,381	0,368	0,355	0,564	0,483
F	0,275	0,255	0,370	0,495	0,449
G	0,323	0,218	0,205	0,250	0,190
H	0,124	0,102	0,099	0,156	0,156

I	0,081	0,059	0,045	0,063	0,086

Tabla 19-1. La atenuación en veces promedio en el HBeAg se normalizó a los valores previos al tratamiento y los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de iARN del VHB del Ejemplo 7.

Grupo	**Día 8 (Reducción en veces)**	**Día 15 (Reducción en veces)**	**Día 22 (Reducción en veces)**	**Día 29 (Reducción en veces)**	**Día 36 (Reducción en veces)**
A	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
B	5,2	4,7	3,8	3,3	2,2
C	2,1	2,4	1,8	2,0	1,4
D	3,0	3,2	2,4	2,3	2,0
E	2,6	2,7	2,8	1,8	2,1
F	3,6	3,9	2,7	2,0	2,2
G	3,1	4,6	4,9	4,0	5,3
H	8,1	9,8	10,1	6,4	6,4
I	12,3	17,0	22,3	15,7	11,6

La Tabla 19-1 refleja la relación de atenuación en veces en el HBeAg en comparación con el control, que se calculó como nivel del HBeAg normalizado del grupo de control (PBS)/nivel del HBeAg normalizado del grupo o grupos de los respetados agentes de iARN (es decir, nivel 1000/HBeAg). Los datos de la Tabla 19-1 indican que la combinación de AD04872 (que, como se indicó anteriormente, incluye una secuencia de cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria al ORF S en las posiciones 261-279 del genoma del VHB) con AD04982 (que incluye una secuencia de cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria al ORF X en

las posiciones 1781-1799 del genoma del VHB) mostró una reducción adicional en los niveles del HBeAg en relación con la administración de los agentes de iARN de manera individual (ver, por ejemplo, las Tablas 19 y 19-1 para los grupos H e I). Además, los datos de este ejemplo también muestran que la combinación de AD04872 con AD04982 dio como resultado una reducción en veces mayor del HBeAg que la suma de la reducción en veces del HBeAg en AD04872 y AD04982 administrados de manera individual. Por ejemplo, el grupo I (al que se le administró de 3,0 mg/kg de AD04872 + 2,0 mg/kg de AD04982) dio como resultado una reducción en veces del HBeAg el día 15 de 17,0, que es mayor que la suma de la reducción en veces para el grupo G (3,0 mg/kg de AD04872) de 4,6 más que la reducción en veces para el grupo D (2,0 mg/kg de AD04982) de 3,2.

Además, los niveles del ADN del VHB en suero se determinaron para cada grupo de la Tabla 17 a partir de las muestras de suero recolectado los días -1, 8, 15, 22, 29 y 36, de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. El ADN del VHB en suero se aisló de cada animal en cada punto de tiempo. Los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 20. Los niveles promedio de ADN del VHB en suero se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 7 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
A	1,000 ± 0,493	1,000 ± 0,358	1,000 ± 0,424	1,000 ± 0,387
B	0,224 ± 0,150	0,263 ± 0,185	0,335 ± 0,204	0,449 ± 0,108
C	0,358 ± 0,207	0,428 ± 0,073	0,433 ± 0,220	0,474 ± 0,090
D	0,516 ± 0,163	0,523 ± 0,264	0,244 ± 0,123	0,241 ± 0,085
E	0,601 ± 0,388	0,319 ± 0,125	0,279 ± 0,138	0,506 ± 0,525
F	0,363 ± 0,128	0,374 ± 0,197	0,275 ± 0,146	0,385 ± 0,141
G	0,071 ± 0,032	0,022 ± 0,009	0,015 ± 0,015	0,025 ± 0,005
H	0,069 ± 0,070	0,018 ± 0,014	0,019 ± 0,020	0,022 ± 0,001
I	0,044 ± 0,024	0,033 ± 0,016	0,017 ± 0,012	0,022 ± 0,014

Grupo	Día 36
A	1,000 ± 0,326
B	0,603 ± 0,068
C	0,509 ± 0,163
D	0,543 ± 0,079
E	0,444 ± 0,407
F	0,721 ± 0,043
G	0,058 ± 0,030
H	0,047 ± 0,021
I	0,058 ± 0,051

Los datos de la Tabla 20 indican que los agentes de iARN examinados, tanto individualmente como en combinación, proporcionan una reducción en los niveles de ADN del VHB en comparación con el grupo PBS, y muestran, además, que la combinación de AD04872 (que se dirige al ORF S) y AD04982 (que se dirige al ORF X) reduce el ADN del VHB en suero en un grado similar a una cantidad igual de AD04872 solo.

Ejemplo 8*. Los agentes de iARN del VHB en ratones pHBV: respuesta a la dosis adicional y estudios de combinación.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos como se muestra en la Tabla 21, a continuación, y a cada ratón se le administró una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación descrito en la Tabla 21:

Tabla 21. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el Ejemplo 8.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación	Número de animales (n)
1	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1	4
2A	4,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
2B	4,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
3A	3,3 mg/kg de AD04872 + 1,7 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
3B	3,3 mg/kg de AD04872 + 1,7 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
4A	3,2 mg/kg de AD04872 + 0,8 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
4B	3,2 mg/kg de AD04872 + 0,8 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
5A	2,7 mg/kg de AD04872 + 1,3 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4

5B	2,7 mg/kg de AD04872 + 1,3 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
6A	4,0 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
6B	4,0 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
7A	1,7 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
7B	1,7 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
8A	0,8 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
8B	0,8 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	4
9	1,7 mg/kg de AD05148	Inyección única en el día 1	4
10	2,7 mg/kg de AD04872	Inyección única en el día 1	3
11	1,7 mg/kg de AD05147	Inyección única en el día 1	3
12	4,0 mg/kg de AD04872	Inyección única en el día 1	3
13	1,7 mg/kg de AD05149	Inyección única en el día 1	3

Además, se contempló que se sacrificara a los ratones de acuerdo con la siguiente programación:

- Día 11: Sacrificar 2 ratones de los grupos 2A, 3A, 4A, 5A, 6A, 7A y 8A, y sacrificar a un ratón del grupo 9.
- Día 14: Sacrificar 2 ratones de los grupos 2A, 3A, 4A, 5A, 6A, 7A y 8A.
- Día 21: Sacrificar 2 ratones de los grupos 2B, 3B, 4B, 5B, 6B, 7B y 8B.

- Día 28: Sacrificar 2 ratones de los grupos 1, 2B, 3B, 4B, 5B, 6B, 7B y 8B, y a todos los ratones (4) de los grupos 10 y 12.

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulados en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 21. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Como se muestra en la Tabla 14 anterior, se probaron cuatro (4) ratones en cada grupo (n=4), excepto para los grupos 10, 11, 12 y 13, en los que se probaron tres ratones (n=3).

Se recolectó suero el día -1 antes de la administración, y los días 8, 14, 21 y 28, y los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 22. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración del agente de iARN del VHB del Ejemplo 8 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Número de grupo	Día 8	Día 14	Día 21	Día 28
1	1,000 ± 0,089	1,000 ± 0,087	1,000 ± 0,132	1,000 ± 0,138
2A	0,009 ± 0,003	0,005 ± 0,001		
2B	0,006 ± 0,003	0,002 ± 0,001	0,004 ± 0,001	0,005 ± 0,001
3A	0,032 ± 0,021	0,009 ± 0,004		
3B	0,028 ± 0,027	0,008 ± 0,006	0,012 ± 0,005	0,015 ± 0,005
4A	0,036 ± 0,020	0,012 ± 0,006		
4B	0,029 ± 0,025	0,010 ± 0,008	0,015 ± 0,005	0,022 ± 0,004
5A	0,027 ± 0,014	0,008 ± 0,002		
5B	0,027 ± 0,013	0,007 ± 0,003	0,019 ± 0,004	0,031 ± 0,005
6A	0,058 ± 0,035	0,069 ± 0,039		
6B	0,117 ± 0,058	0,079 ± 0,047	0,145 ± 0,082	0,135 ± 0,061
7A	0,189 ± 0,100	0,084 ± 0,029		
7B	0,099 ± 0,010	0,147 ± 0,025	0,267 ± 0,048	0,345 ± 0,063
8A	0,355 ± 0,099	0,366 ± 0,069		
8B	0,271 ± 0,058	0,334 ± 0,060	0,464 ± 0,055	0,624 ± 0,053
9	0,239 ± 0,148	0,179 ± 0,127	0,309 ± 0,213	0,345 ± 0,225
10	0,018 ± 0,009	0,005 ± 0,003	0,005 ± 0,002	0,007 ± 0,003
11	0,129 ± 0,068	0,138 ± 0,060	0,239 ± 0,092	0,315 ± 0,119
12	0,033 ± 0,022	0,002 ± 0,001	0,002 ± 0,001	0,002 ± 0,0004
13	0,200 ± 0,093	0,239 ± 0,114	0,367 ± 0,123	0,477 ± 0,125

Los agentes de iARN del VHB probados, tanto solos como en combinación, mostraron una reducción sustancial en el AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos.

Ejemplo 9*. Suministro del Agente de iARN.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. El día 1, a cada ratón se le administró una sola inyección subcutánea de 200 µl que contenía 10 mg/kg (MPK) de un agente de iARN del VHB formulado en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, para usarse como un control. Los agentes de iARN del VHB probados incluyeron los que tenían los números dúplex que se muestran en la Tabla 23, a continuación, cada uno de los cuales incluía ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

El suero se recolectó antes de la administración, y después el día 8, día 15, día 22 y día 29, y los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 23. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de los agentes de iARN del VHB del Ejemplo 9 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Agente de iARN	AgsHB en suero en el nadir (fracción norm.)	% Reducción en el nadir	Día de nadir
PBS	1,000	N/A	N/A
AD03498	0,087 ± 0,016	91,3 %	8
AD03499	0,069 ± 0,011	93,1 %	15
AD03500	0,095 ±0,031	90,5 %	8
AD03501	0,046 ± 0,020	95,4 %	15

Cada uno de los agentes de iARN del VHB que se muestran en la Tabla 23, más arriba, incluye una secuencia de cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria al ORF X en las posiciones 1781-1799 del genoma del VHB. Cada uno de los agentes de iARN mostró una atenuación significativa en comparación con el control con PBS.

Ejemplo 10*. Los agentes de iARN del VHB en ratones pHBV: otros estudios de combinación.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos como se muestra en la Tabla 24, a continuación, y a cada ratón se le administró una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación descrito en la Tabla 24:

Tabla 24. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el ejemplo 10.

Grupo	**Agente de iARN y dosis**	**Régimen de dosificación**

A	Grupo PBS I (sin agente de iARN)	Inyección única el día 1 y día 22
B	Grupo II PBS (sin agente de iARN)	Inyección única el día 1 y día 22
C	3,0 mg/kg de AD04585	Inyección única el día 1, día 22, día 50 y día 64
D	3,0 mg/kg de AD04771	Inyección única el día 1 y día 22
E	3,0 mg/kg de AD04580	Inyección única el día 1, día 22, día 50 y día 64
F	3,0 mg/kg de AD04776	Inyección única el día 1 y día 22
G	1,5 mg/kg de AD04585 + 1,5 mg/kg de AD04580	Inyección única el día 1, día 22, día 50 y día 64
H	1,5 mg/kg de AD04771 + 1,5 mg/kg de AD04776	Inyección única el día 1 y día 22
I	2,0 mg/kg de AD04771 + 1,0 mg/kg de AD04776	Inyección única el día 1 y día 22
J	2,25 mg/kg de AD04771 + 0,75 mg/kg de AD04776	Inyección única el día 1 y día 22

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulado en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 24. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

El suero se recolectó antes de la administración y, después, el día -1, día 8, día 15, día 22, día 29, día 36, día 43, día 50, día 57 y día 64. Los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran a continuación:

Tabla 25. Los niveles promedio del AgHBs se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS (Grupo A usado como control) en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 10 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22
A	1,000 ± 0,146	1,000 ± 0,095	1,000 ± 0,202
B	0,931 ± 0,161	1,091 ± 0,156	1,132 ± 0,259
C	0,071 ± 0,050	0,031 ± 0,022	0,024 ± 0,013
D	0,134 ± 0,035	0,130 ± 0,024	0,119 ± 0,028
E	0,015 ± 0,001	0,041 ± 0,012	0,087 ± 0,015
F	0,197 ± 0,081	0,308 ± 0,138	0,476 ± 0,156
G	0,029 ± 0,015	0,069 ± 0,029	0,094 ± 0,016
H	0,191 ± 0,057	0,315 ± 0,094	0,420 ± 0,126
I	0,153 ± 0,050	0,194 ± 0,076	0,233 ± 0,116
J	0,155 ± 0,059	0,177 ± 0,067	0,316 ± 0,117
Grupo	**Día 29**	**Día 36**	**Día 43**
A	1,000 ± 0,182	1,000 ± 0,287	1,000 ± 0,298
B	1,417 ± 0,414	1,166 ± 0,248	
C	0,007 ± 0,005	0,004 ± 0,003	0,006 ± 0,001

D	0,048 ± 0,023	0,036 ± 0,020	0,052 ± 0,027
E	0,014 ± 0,006	0,021 ± 0,011	0,026 ± 0,011
F	0,246 ± 0,081	0,244 ± 0,097	0,179 ± 0,061
G	0,023 ± 0,009	0,027 ± 0,009	0,037 ± 0,013
H	0,200 ± 0,080	0,185 ± 0,081	0,194 ± 0,055
I	0,141 ± 0,082	0,133 ± 0,051	0,151 ± 0,082
J	0,133 ± 0,064	0,102 ± 0,039	0,129 ± 0,050
Grupo	**Día 50**	**Día 57**	**Día 64**
A	1,000 ± 0,296	1,000 ± 0,394	1,000 ± 0,395
B			
C	0,015 ± 0,0001	0,002 ± 0,001	0,004 ± 0,001
D			
E	0,052 ± 0,015	0,009 ± 0,002	0,018 ± 0,007
F			
G	0,076 ± 0,020	0,012 ± 0,003	0,020 ± 0,007
H			
I			
J			

Los agentes de iARN del VHB AD04585 y AD04771 se diseñaron para que tengan secuencias de cadena no codificante que sean al menos parcialmente complementarias al marco de lectura abierto S en las posiciones 257-275 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2. Los agentes de iARN del VHB AD04580 y AD04776 se diseñaron para que tengan secuencias de cadena no codificante que sean al menos parcialmente complementarias al marco de lectura abierto X en las posiciones 1781-1799 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2. Los

agentes de iARN del VHB probados, tanto solos como en combinación, mostraron una reducción en el AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos. Cada dosis posterior redujo aún más el nadir de la reducción del AgsHB.

Adicionalmente, los niveles de ADN del VHB en suero se determinaron para el grupo C (3,0 mg/kg de AD04585), grupo E (3,0 mg/kg de AD04580) y grupo G (1,5 mg/kg de AD04585 + 1,5 mg/kg de AD04580) en la Tabla 24, a partir de las muestras de suero recolectado los -1, 8, 15, 22, 29 y 36, 43 y 50 de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. El ADN del VHB en suero se aisló para cada animal en cada uno de estos puntos de tiempo. Los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 26. Los niveles promedio de ADN del VHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y los del control con PBS (Grupos A y B, ambos PBS) en ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del ejemplo 10 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
A/B (PBS)	1,000 ± 0,316	1,000 ± 0,427	1,000 ± 0,428	1,000 ± 0,475
C	0,172 ± 0,151	0,142 ± 0,079	0,252 ± 0,132	0,072 ± 0,086
E	0,024 ± 0,015	0,042 ± 0,037	0,449 ± 0,184	0,053 ± 0,048
G	0,093 ± 0,053	0,083 ± 0,037	0,370 ± 0,153	0,211 ± 0,060

Grupo	Día 36	Día 43	Día 50

A/B (PBS)	1,000 ± 0,623	1,000 ± 0,532	1,000 ± 0,532
C	0,044 ± 0,020	0,104 ± 0,033	0,156 ± 0,016
E	0,012 ± 0,004	0,061 ± 0,031	0,161 ± 0,019
G	0,048 ± 0,022	0,147 ± 0,010	0,295 ± 0,041

Los datos de la Tabla 26 indican que los agentes de iARN del VHB examinados, tanto individualmente como en combinación, proporcionaron una reducción en los niveles de ADN del VHB en comparación con el grupo PBS.

Ejemplo 11*. Los agentes de iARN del VHB en ratones pHBV: estudios en combinación.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos como se muestra en la Tabla 27, a continuación, y a cada ratón se le administró a una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación que se muestra en la Tabla 27:

Tabla 27. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el Ejemplo 11.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación
A	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1
B	3,0 mg/kg de AD04962	Inyección única en el día 1
C	3,0 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
D	1,5 mg/kg de AD04962 + 1,5 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
E	2,0 mg/kg de AD04962 +	Inyección única en el día 1

	1,0 mg/kg de AD04963	
F	2,25 mg/kg de AD04962 + 0,75 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
G	1,5 mg/kg de AD04962 + 1,5 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
H	3,0 mg/kg de AD04962 + 3,0 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
I	1,5 mg/kg de AD04962 + 1,5 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
J	4,5 mg/kg de AD04962 + 4,5 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
K	3,0 mg/kg de AD04872	Inyección única en el día 1
L	3,0 mg/kg de AD04882	Inyección única en el día 1
M	3,0 mg/kg de AD04885	Inyección única en el día 1

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulado en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 24. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

El suero se recolectó el día -1 antes de la administración, y después el día 8, día 15, día 22, día 29 y día 36 (excepto para el Grupo L (AD04882) y Grupo M (AD04885), y los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 28. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 11 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22
A	1,000 ± 0,048	1,000 ± 0,144	1,000 ± 0,083
B	0,125 ± 0,025	0,083 ± 0,014	0,063 ± 0,016
C	0,019 ± 0,005	0,035 ± 0,008	0,052 ± 0,009
D	0,054 ± 0,013	0,079 ± 0,009	0,108 ± 0,021
E	0,099 ± 0,025	0,098 ± 0,053	0,142 ± 0,050
F	0,070 ± 0,015	0,103 ± 0,036	0,140 ± 0,020
G	0,041 ± 0,021	0,012 ± 0,008	0,021 ± 0,013
H	0,020 ± 0,006	0,044 ± 0,010	0,062 ± 0,019
I	0,077 ± 0,017	0,019 ± 0,004	0,004 ± 0,001
J	0,012 ± 0,002	0,021 ± 0,001	0,032 ± 0,002
K	0,045 ± 0,014	0,013 ± 0,005	0,008 ± 0,005
L	0,106 ± 0,020	0,176 ± 0,044	0,215 ± 0,082
M	0,275 ± 0,029	0,378 ± 0,080	0,572 ± 0,043

Grupo	Día 29	Día 36
A	1,000 ± 0,209	1,000 ± 0,270

B	0,079 ± 0,020	0,096 ± 0,007
C	0,087 ± 0,014	0,164 ± 0,026
D	0,176 ± 0,014	0,292 ± 0,030
E	0,223 ± 0,082	0,373 ± 0,150
F	0,213 ± 0,020	0,328 ± 0,034
G	0,031 ± 0,013	0,078 ± 0,064
H	0,97 ± 0,028	0,160 ± 0,060
I	0,008 ± 0,001	0,002 ± 0,0003
J	0,044 ± 0,008	0,069 ± 0,009
K	0,011 ± 0,007	0,011 ± 0,009
L	0,299 ± 0,009	
M	0,792 ± 0,057	

El agente de iARN AD04962 se diseñó para que tenga una secuencia de cadena no codificante que sea al menos parcialmente complementaria al marco de lectura abierto S en las posiciones 257-275 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2. El agente de iARN AD04872 se diseñó para que tenga una secuencia de cadena no codificante que sea al menos parcialmente complementaria al marco de lectura abierto S en las posiciones 261-279 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2. El agente de iARN AD04963 se diseñó para que tenga una secuencia de cadena no codificante que sea al menos parcialmente complementaria al marco de lectura abierto X en las posiciones 1781-1799 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2. Los agentes de iARN AD04882 y AD04885 se diseñaron para que tengan secuencias de cadena no codificante que sean al menos parcialmente complementarias al marco de lectura abierto X en las posiciones 1780-1798 del

genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2. Los agentes de iARN del VHB que se muestran en la Tabla 9, inmediatamente anteriores, mostraron cada uno una reducción en el AgsHB en comparación con el control con PBS en todos los puntos de tiempo medidos, tanto individualmente como en combinación. La redosificación produjo una reducción adicional del AgsHB.

Además, se evaluaron los niveles del antígeno e de la hepatitis B (HBeAg) en suero para todos los grupos excepto para los grupos L y M. Las muestras de los ratones en cada grupo respectivo se agruparon primero, y las muestras de suero resultantes se analizaron en singlete. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 29. Los niveles promedio del HBeAg se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 11.

Grupo	Día 8	Día 22	Día 29	Día 36
A	1,000	1,000	1,000	1,000
B	0,425	0,291	0,371	0,365
C	0,152	0,170	0,328	0,356
D	0,266	0,249	0,456	0,440
E	0,278	0,295	0,589	0,561
F	0,306	0,291	0,718	0,522
G	0,183	0,138	0,291	0,249
H	0,091	0,131	0,315	0,238
I	0,183	0,052	0,069	0,036

J	0,089	0,114	0,190	0,236
K	0,458	0,172	0,322	0,207

Además, los niveles de ADN del VHB en suero se determinaron para cada grupo de la Tabla 27 a partir de muestras de suero recolectado los días 8, 15, 22, y 29, de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. El ADN del VHB en suero se aisló de cada animal en cada punto de tiempo. Los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 30. Los niveles promedio de ADN del VHB en suero se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 7 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
A	1,000 ± 0,232	1,000 ± 0,463	1,000 ± 0,272	1,000 ± 0,205
B	0,577 ± 0,219	0,222 ± 0,064	0,196 ± 0,055	0,261 ± 0,117
C	0,165 ± 0,051	0,070 ± 0,042	0,142 ± 0,105	0,228 ± 0,174
D	0,343 ± 0,125	0,307 ± 0,091	0,300 ± 0,092	0,356 ± 0,032
E	0,262 ± 0,033	0,216 ± 0,018	0,227 ± 0,028	0,279 ± 0,090
F	0,320 ± 0,134	0,332 ± 0,208	0,344 ± 0,209	0,338 ± 0,211
G	0,231 ± 0,036	0,034 ± 0,024	0,069 ± 0,039	0,077 ± 0,020
H	0,229 ± 0,101	0,155 ± 0,121	0,148 ± 0,079	0,215 ± 0,035
I	0,281 ± 0,129	0,109 ± 0,071	0,023 ± 0,019	0,011 ± 0,009
J	0,078 ± 0,050	0,061 ± 0,020	0,074 ± 0,029	0,056 ± 0,030
K	0,314 ± 0,064	0,119 ± 0,043	0,076 ± 0,067	0,078 ± 0,095

L	0,295 ± 0,077	0,305 ± 0,101	0,213 ± 0,088	0,186 ± 0,084
M	0,515 ± 0,247	0,505 ± 0,293	0,488 ± 0,318	0,478 ± 0,267

Los datos de la Tabla 30 indican que los agentes de iARN examinados, tanto individualmente como en combinación, proporcionaron una reducción en los niveles de ADN del VHB en comparación con el grupo PBS. La redosificación produjo la reducción por adición del ADN del VHB.

Ejemplo 12*. Agentes de iARN del VHB en ratones pHBV.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos como se muestra en la Tabla 31, a continuación, y a cada ratón se le administró a una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación mostrado en la Tabla 31:

Tabla 31. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el Ejemplo 12.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación
A	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1
B	2,0 mg/kg de AD04871	Inyección única en el día 1
C	2,0 mg/kg de AD04872	Inyección única en el día 1
D	2,0 mg/kg de AD04874	Inyección única en el día 1
E	2,0 mg/kg de AD04875	Inyección única en el día 1
F	2,0 mg/kg de AD04876	Inyección única en el día 1
G	2,0 mg/kg de AD04881	Inyección única en el día 1
H	2,0 mg/kg de AD04883	Inyección única en el día 1
I	2,0 mg/kg de AD04884	Inyección única en el día 1

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente de iARN del VHB formulado en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 24. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

El suero se recolectó antes de la administración y, después, el día 8, día 15 y día 22. Del grupo A (PBS), grupo B (2,0 mg/kg de AD04871), grupo C (2,0 mg/kg AD04872), grupo D (2,0 mg/kg de AD04874), grupo E (2,0 mg/kg AD04875) y grupo F (2,0 mg/kg de AD04876) también se recolectó suero el día 29, día 36, día 43 y día 50. Los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 32. El nivel promedio del AgsHB se normalizó al nivel previo al tratamiento y al del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de los agentes de iARN del VHB del Ejemplo 12 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
A	1,000 ± 0,132	1,000 ± 0,089	1,000 ± 0,080	1,000 ± 0,098

B	0,102 ± 0,034	0,041 ± 0,021	0,049 ± 0,033	0,048 ± 0,031
C	0,153 ± 0,064	0,064 ± 0,032	0,063 ± 0,034	0,042 ± 0,017
D	0,123 ± 0,022	0,049 ± 0,017	0,039 ± 0,010	0,023 ± 0,001
E	0,190 ± 0,075	0,094 ± 0,038	0,107 ± 0,061	0,081 ± 0,051
F	0,190 ± 0,031	0,076 ± 0,035	0,084 ± 0,038	0,049 ± 0,024
G	0,159 ± 0,047	0,216 ± 0,057	0,235 ± 0,151	
H	0,508 ± 0,078	0,666 ± 0,131	0,543 ± 0,048	
I	0,279 ± 0,087	0,357 ± 0,078	0,614 ± 0,156	

Grupo	**Día 36**	**Día 43**	**Día 50**
A	1,000 ± 0,065	1,000 ± 0,242	1,000 ± 0,224
B	0,054 ± 0,038	0,064 ± 0,030	0,092 ± 0,025
C	0,049 ± 0,017	0,054 ± 0,015	0,085 ± 0,010
D	0,037 ± 0,004	0,037 ± 0,010	0,065 ± 0,012
E	0,126 ± 0,077	0,125 ± 0,063	0,170 ± 0,079
F	0,089 ± 0,044	0,082 ± 0,034	0,115 ± 0,028
G			
H			
I			

Los agentes de iARN del VHB AD04871, AD04874, AD04872, AD04875 y AD04876 se diseñaron para que tengan secuencias de cadena no codificante que sean al menos parcialmente complementarias al marco de lectura abierto en las posiciones 261-279 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2. Cada uno de estos agentes de iARN del VHB mostró una reducción sustancial en el AgsHB en comparación con el control PBS. Por ejemplo, una sola dosis de 2 mg/kg de cada AD04871 (grupo B), AD04872 (grupo C) y AD04874 (grupo D) y AD04876 (grupo F) mostró una reducción de

más del 90 % en el AgsHB para cada uno de los puntos de tiempo medidos del día 15 al día 43 en comparación con el control. Los agentes de iARN AD04881, AD04883 y AD04884 se diseñaron para que tengan secuencias de cadena no codificante que sean al menos parcialmente complementarias al marco de lectura abierto X en las posiciones 1780-1798 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2.

Ejemplo 13*. Respuesta a la dosis y combinaciones de agentes de iARN del VHB en ratones modelo knockout de la región X.*

Como un medio alternativo para evaluar los efectos de la combinación de un agente de iARN que incluye una secuencia de cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria a una región ubicada en el ORF S de un ARNm del VHB y un segundo agente de iARN que incluye una secuencia de cadena no codificante que es parcialmente complementaria a la región ubicada en el ORF X de un ARNm del VHB, se generó un plásmido que incluía el genoma del VHB con una inactivación del sitio de unión para los agentes de iARN del VHB que se dirigen a las posiciones 1780 y 1781, como se muestra en las Tablas 1 y 2 (en adelante, ratones knockout de la región X). Este modelo se generó mediante la mutación de diez (10) bases en el plásmido pHBV1.3 dentro del sitio de unión de estos agentes de iARN. El resto del ARNm del VHB, incluida la región S, permaneció funcional. Por lo tanto, en este modelo de ratón VHB, se esperaba que la inclusión de un agente de iARN del VHB que tiene una cadena no codificante que se dirige a las posiciones 1780 y 1781 del genoma del VHB descrito en la presente descripción fuera ineficaz para silenciar la expresión.

Los ratones se dividieron en varios grupos que incluían los que se muestran en la Tabla 33, abajo, y a los ratones se les administró una inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación que se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 33. Grupos de dosificación de los ratones knockout de la región X para el Ejemplo 13.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación	**Número de animales (n)**
1	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1	4
2	2,0 mg/kg de AD04585 + 1,0 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1	4
3	2,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1	4
4	2,5 mg/kg de AD04585 + 0,5 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1	4
5	2,5 mg/kg de AD04872 + 0,5 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1	4
6	3,0 mg/kg de AD04963	Una sola inyección el día 15	1

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulados en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 33. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones

subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

El suero se recolectó el día 5, día 8, día 15, día 22 y Día 29 y los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. El suero se recolectó, además, para los grupos 1 a 5 los días 36 y 43. Los datos del experimento se muestran en la siguiente Tabla 34:

Tabla 34. El nivel promedio de AgsHB se normalizó al nivel previo al tratamiento y al del control con PBS en los ratones knockout de la región X después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 13 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	**Día 8**	**Día 15**	**Día 22**
1	1,000 ± 0,186	1,000 ± 0,165	1,000 ± 0,132
2	0,061 ± 0,034	0,041 ± 0,035	0,030 ± 0,015
3	0,020 ± 0,011	0,007 ± 0,003	0,003 ± 0,002
4	0,063 ± 0,039	0,022 ± 0,011	0,029 ± 0,013
5	0,027 ± 0,014	0,003 ± 0,003	0,001 ± 0,001
6	0,948	1,360	1,652
	Día 29	**Día 36**	**Día 43**
1	1,000 ± 0,059	1,000 ± 0,044	1,000 ± 0,045
2	0,051 ± 0,029	0,062 ± 0,029	
3	0,004 ± 0,003	0,008 ± 0,003	0,018 ± 0,007
4	0,040 ± 0,022	0,061 ± 0,030	

5	0,002 ± 0,001	0,003 ± 0,002	0,014 ± 0,006
6	1,831		

Como se esperaba, el grupo 6, que fue una dosis única de 3,0 mg/kg de agente de iARN del VHB AD04963 e incluía una cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria al marco de lectura abierto X en las posiciones 1781-1799 del genoma del VHB, no pudo proporcionar la atenuación del AgsHB. Además, cada uno de los grupos 2 a 5 proporcionó una sustancial atenuación del AgsHB en comparación con el control con PBS, y tanto el grupo 3 como el grupo 5 mostraron una reducción de más de 2 logaritmos en el AgsHB en el nadir (día 22).

Ejemplo 14*. Respuesta a la dosis y combinaciones de agentes de iARN del VHB en ratones modelo knockout de la región X.*

Se usó el modelo de ratón knockout de la región X descrito en el ejemplo 13, más arriba. Los ratones se dividieron en varios grupos que incluían los que se muestran en la Tabla 31, a continuación, y a cada ratón se le administró a una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación mostrado en la Tabla 35:

Tabla 35. Grupos de dosificación de ratones knockout de la región X para el Ejemplo 14.

Grupo	**Agente de iARN y dosis**	**Régimen de dosificación**
1	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1
2	2,0 mg/kg de AD04872	Inyección única en el día 1
3	2,0 mg/kg de AD04872 +	Inyección única en el día 1

	0,7 mg/kg de AD05070	
4	2,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1
5	2,0 mg/kg de AD04872 + 2,0 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulados en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 35. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo mostrado en la Tabla 35 (n=3).

El suero se recolectó el día 1 (pre-dosis), día 8, día 15, día 22 y día 29, y los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 36. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones knockout de la región X del Ejemplo 14.

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
1	1,000 ± 0,120	1,000 ± 0,255	1,000 ± 0,224	1,000 ± 0,143
2	0,104 ± 0,104	0,009 ± 0,009	0,005 ± 0,004	0,005 ± 0,003
3	0,076 ± 0,041	0,010 ± 0,009	0,006 ± 0,005	0,005 ± 0,005
4	0,036 ± 0,008	0,002 ± 0,001	0,001 ± 0,001	0,002 ± 0,001
5	0,019 ± 0,017	0,003 ± 0,002	0,003 ± 0,001	0,004 ± 0,000

La Tabla 36 muestra que el agente de iARN del VHB AD04872 se administró solo, y que la combinación de AD04872 (que incluye una cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria a la lectura abierta S en las posiciones 261-279 del genoma del VHB) y AD05070 (que incluye una cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria al marco de lectura abierto X en las posiciones 1781-1799 del genoma del VHB) proporcionó una atenuación significativa de AgsHB en comparación con el control con PBS en cada uno de los puntos de tiempo medidos.. La adición de 0,7 mg/kg a 2 mg/kg del agente de iARN del VHB AD05070 para el que había un sitio objetivo mutado en este modelo knockout de la región X no disminuyó la actividad del agente de iARN del VHB AD04872 de 2 mg/kg.

Adicionalmente, los niveles de ADN del VHB en suero se determinaron a partir de muestras de suero recolectado los días 8, 15 y 22 de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Se agrupó el suero de cada grupo y después se aisló el ADN del suero en singlete. Los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 37. Los niveles promedio de ADN del VHB en suero se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones knockout de la región X después de la administración de los agentes de iARN del VHB del Ejemplo 14 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22
1	1,000 ± 0,007	1,000 ± 0,011	1,000 ± 0,066
2	0,225 ± 0,019	0,022 ± 0,001	0,036 ± 0,001
3	0,151 ± 0,002	0,029 ± 0,001	0,042 ± 0,003
4	0,140 ± 0,006	0,016 ± 0,000	0,018 ± 0,000
5	0,069 ± 0,002	0,018 ± 0,003	0,043 ± 0,002

La adición de 0,7 mg/kg a 2 mg/kg del agente de iARN del VHB AD05070 para el que había un sitio objetivo mutado en este modelo knockout de la región X no disminuyó la actividad del agente de iARN del VHB AD04872 de 2 mg/kg.

Ejemplo 15*. Agentes de iARN del VHB en ratones pHBV.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos que incluyen los que se muestra en la Tabla 38, a continuación, y a cada ratón se le administró a una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación mostrado en la Tabla 38:

Tabla 38. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el ejemplo 15.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación
1	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1
2	2,0 mg/kg de AD04776	Inyección única en el día 1

3	2,0 mg/kg de AD05069	Inyección única en el día 1
4	2,0 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1
5	2,0 mg/kg de AD05071	Inyección única en el día 1
6	2,0 mg/kg de AD05073	Inyección única en el día 1
7	2,0 mg/kg de AD05074	Inyección única en el día 1
8	2,0 mg/kg de AD05075	Inyección única en el día 1
9	2,0 mg/kg de AD05076	Inyección única en el día 1
10	2,0 mg/kg de AD05077	Inyección única en el día 1
11	2,0 mg/kg de AD05078	Inyección única en el día 1
12	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD04776	Inyección única en el día 1
13	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05069	Inyección única en el día 1
14	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1
15	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05071	Inyección única en el día 1
16	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05073	Inyección única en el día 1
17	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05074	Inyección única en el día 1
18	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05075	Inyección única en el día 1
19	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05076	Inyección única en el día 1
20	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05077	Inyección única en el día 1
21	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05078	Inyección única en el día 1

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulados en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 38. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

El suero se recolectó el día -1 antes de la administración y, después, el día 8, día 15, día 22, día 29, día 36, día 43 y día 50. Los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente Tabla 39, con el promedio de AgsHB que refleja el valor promedio normalizado de AgsHB:

Tabla 39. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 15.

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
1	1,000 ± 0,119	1,000 ± 0,047	1,000 ± 0,080	1,000 ± 0,027
2	0,339 ± 0,076	0,414 ± 0,126	0,385 ± 0,067	0,450 ± 0,075
3	0,240 ± 0,096	0,361 ± 0,078	0,446 ± 0,073	0,508 ± 0,114
4	0,081 ± 0,026	0,127 ± 0,031	0,223 ± 0,057	0,330 ± 0,112

5	0,452 ± 0,020	0,431 ± 0,126	0,373 ± 0,079	0,383 ± 0,080
6	0,375 ± 0,181	0,632 ± 0,192	0,463 ± 0,117	0,567 ± 0,159
7	0,325 ± 0,032	0,438 ± 0,125	0,393 ± 0,056	0,443 ± 0,096
8	0,155 ± 0,031	0,322 ± 0,019	0,333 ± 0,077	0,463 ± 0,043
9	0,245 ± 0,063	0,467 ± 0,090	0,477 ± 0,045	0,562 ± 0,049
10	0,120 ± 0,062	0,173 ± 0,029	0,289 ± 0,019	0,331 ± 0,042
11	0,128 ± 0,042	0,172 ± 0,046	0,179 ± 0,015	0,215 ± 0,049
12	0,040 ± 0,015	0,014 ± 0,004	0,014 ± 0,006	0,015 ± 0,004
13	0,050 ± 0,020	0,015 ± 0,011	0,017 ± 0,008	0,022 ± 0,009
14	0,020 ± 0,011	0,011 ± 0,006	0,015 ± 0,006	0,023 ± 0,004
15	0,043 ± 0,005	0,013 ± 0,005	0,010 ± 0,002	0,011 ± 0,004
16	0,021 ± 0,017	0,008 ± 0,004	0,012 ± 0,003	0,011 ± 0,001
17	0,032 ± 0,011	0,009 ± 0,003	0,007 ± 0,002	0,008 ± 0,0003
18	0,023 ± 0,014	0,010 ± 0,006	0,009 ± 0,006	0,009 ± 0,004
19	0,025 ± 0,006	0,010 ± 0,004	0,009 ± 0,002	0,010 ± 0,003
20	0,061 ± 0,013	0,027 ± 0,006	0,020 ± 0,003	0,029 ± 0,006
21	0,061 ± 0,050	0,013 ± 0,010	0,012 ± 0,005	0,018 ± 0,006

Grupo	**Día 36**	**Día 43**	**Día 50**
1	1,000 ± 0,031	1,000 ± 0,114	1,000 ± 0,112
2	0,617 ± 0,116	0,643 ± 0,154	0,665 ± 0,199
3	0,638 ± 0,067	0,743 ± 0,015	0,792 ± 0,115
4	0,472 ± 0,121	0,515 ± 0,126	0,689 ± 0,167
5	0,591 ± 0,159	0,604 ± 0,086	0,709 ± 0,115
6	0,717 ± 0,136	0,686 ± 0,194	0,781 ± 0,301
7	0,586 ± 0,069	0,775 ± 0,143	0,747 ± 0,095
8	0,666 ± 0,066	0,803 ± 0,096	0,856 ± 0,180
9	0,801 ± 0,047	0,667 ± 0,055	0,765 ± 0,208
10	0,640 ± 0,059	0,667 ± 0,034	0,742 ± 0,133

11	0,429 ± 0,063	0,383 ± 0,005	0,497 ± 0,060
12	0,037 ± 0,013	0,044 ± 0,012	0,056 ± 0,014
13	0,046 ± 0,011	0,055 ± 0,010	0,070 ± 0,010
14	0,054 ± 0,016	0,070 ± 0,018	0,096 ± 0,012
15	0,029 ± 0,011	0,032 ± 0,015	0,051 ± 0,020
16	0,033 ± 0,005	0,038 ± 0,007	0,062 ± 0,004
17	0,021 ± 0,002	0,031 ± 0,004	0,061 ± 0,005
18	0,034 ± 0,014	0,047 ± 0,016	0,079 ± 0,017
19	0,028 ± 0,005	0,037 ± 0,006	0,060 ± 0,011
20	0,070 ± 0,009	0,063 ± 0,018	0,097 ± 0,018
21	0,040 ± 0,012	0,066 ± 0,007	0,120 ± 0,036

Los agentes de iARN AD04776, AD05069, AD05070, AD05071, AD05073 y AD05074 se diseñaron cada uno para que tengan una secuencia de cadena no codificante que sea al menos parcialmente complementaria al marco de lectura abierto X en las posiciones 1781-1799 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2. Los agentes de iARN AD05075, AD05076, AD05077 y AD05078 se diseñaron cada uno para que tengan secuencias de cadena no codificante que sean al menos parcialmente complementarias al marco de lectura abierto X en las posiciones 1780-1798 del genoma del VHB, como se muestra en las Tablas 1 y 2.

La Tabla 39 muestra que los agentes de iARN del VHB AD04776, AD05069, AD05070, AD05071, AD05073 y AD05074 se administraron solos o en combinación AD04872 (que incluye una cadena no codificante que es al menos parcialmente complementaria al marco de lectura abierto S desde las posiciones 261-279 del genoma del VHB)

proporcionaron una significativa atenuación del AgsHB en comparación con el control con PBS en cada uno de los puntos de tiempo medidos.

Ejemplo 16. ***Los agentes de iARN del VHB en ratones pHBV: respuesta a la dosis y estudios de combinación.***

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos como se muestra en la Tabla 40, a continuación, y a cada ratón se le administró una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación mostrado en la Tabla 40:

Tabla 40. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el Ejemplo 16.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación
1	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1
2	3,2 mg/kg de AD04872	Inyección única en el día 1
3	3,2 mg/kg de AD04872	Inyección única el día 1 y día 22
4	3,0 mg/kg de AD04872 + 0,8 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1
5	3,0 mg/kg de AD04872 + 0,8 mg/kg de AD05070	Inyección única el día 1 y día 22
6	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1
7	3,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD05070	Inyección única el día 1 y día 22
8	2,7 mg/kg de AD04872 + 1,3 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1
9	2,7 mg/kg de AD04872 + 1,3 mg/kg de AD05070	Inyección única el día 1 y día 22

10	2,0 mg/kg de AD04872 + 2,0 mg/kg de AD04776	Inyección única el día 1 y día 22
11	0,8 mg/kg de AD05070	Inyección única el día 1 y día 22
12	1,3 mg/kg de AD05070	Inyección única el día 1 y día 22

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulados en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 40. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron seis (6) ratones en cada grupo (n=6).

El suero se recolectó antes de la administración, y después el día 8, día 15, día 22 y día 29, y los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgsHB) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente Tabla 41:

Tabla 41. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 16 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
1	1,000 ± 0,117	1,000 ± 0,213	1,000 ± 0,169	1,000 ± 0,130
2	0,050 ± 0,018	0,015 ± 0,007	0,011 ± 0,005	0,009 ± 0,006
3	0,051 ± 0,037	0,014 ± 0,011	0,010 ± 0,006	0,002 ± 0,001
4	0,029 ± 0,018	0,010 ± 0,006	0,011 ± 0,006	0,010 ± 0,005
5	0,022 ± 0,003	0,007 ± 0,001	0,009 ± 0,003	0,001 ± 0,001
6	0,027 ± 0,012	0,007 ± 0,004	0,008 ± 0,005	0,011 ± 0,005
7	0,028 ± 0,012	0,010 ± 0,005	0,009 ± 0,005	0,001 ± 0,000
8	0,033 ± 0,016	0,016 ± 0,008	0,020 ± 0,009	0,021 ± 0,011
9	0,034 ± 0,025	0,015 ± 0,011	0,018 ± 0,013	0,003 ± 0,002
10	0,038 ± 0,021	0,015 ± 0,005	0,019 ± 0,004	0,003 ± 0,001
11	0,446 ± 0,143	0,376 ± 0,120	0,474 ± 0,149	0,338 ± 0,123
12	0,307 ± 0,111	0,257 ± 0,122	0,236 ± 0,057	0,138 ± 0,031

Los agentes de iARN del VHB probados, tanto individualmente como en combinación, mostraron una reducción en el AgsHB en comparación con el control de PBS en todos los puntos de tiempo medidos. La expresión del AgsHB se redujo adicionalmente en todos los grupos que se volvieron a dosificar el día 22.

Además, también se evaluaron los niveles de antígeno e de la hepatitis B (HBeAg) en suero. Para la medición del día 8, las muestras de suero de los seis ratones en cada grupo se agruparon, y las muestras resultantes se analizaron en singlete. Para las mediciones del día -1, día 15, día 22 y día 29, los seis ratones de cada grupo se emparejaron dentro de cada grupo y sus respectivas muestras de suero se agruparon, formando tres subgrupos para cada grupo. Las muestras de suero para cada uno de

los tres subgrupos para cada grupo se analizaron después. Los datos del experimento se muestran en la siguiente Tabla 42:

Tabla 42. Los niveles promedio del HBeAg se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del ejemplo 16 (desviación estándar para días 15, 22 y 29 se reflejan como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29
1	1,000	1,000 ±0,011	1,000 ±0,170	1,000 ±0,173
2	0,510	0,308 ± 0,031	0,217 ± 0,021	0,226 ± 0,035
3	0,488	0,301 ± 0,065	0,283 ± 0,081	0,147 ± 0,030
4	0,213	0,216 ± 0,067	0,192 ± 0,029	0,141 ± 0,048
5	0,192	0,211 ± 0,053	0,216 ± 0,088	0,047 ± 0,016
6	0,176	0,163 ± 0,022	0,238 ± 0,069	0,117 ± 0,011
7	0,165	0,175 ± 0,046	0,215 ± 0,061	0,028 ± 0,012
8	0,128	0,166 ± 0,065	0,386 ± 0,284	0,167 ± 0,118
9	0,172	0,171 ± 0,037	0,244 ± 0,052	0,032 ± 0,010
10	0,180	0,211 ± 0,012	0,283 ± 0,034	0,034 ± 0,001
11	0,634	0,594 ± 0,082	0,840 ± 0,152	0,271 ± 0,029
12	0,486	0,441 ± 0,066	0,804 ± 0,096	0,214 ± 0,039

Los agentes de iARN del VHB probados, tanto individualmente como combinados, mostraron una reducción en el HBeAg en comparación con el control salino en todos los puntos de tiempo medidos. La expresión del HBeAg se redujo aún más en todos los grupos que se volvieron a dosificar el día 22.

Además, los niveles de ADN del VHB en suero se determinaron para cada uno de los grupos de la Tabla 40 a partir de muestras de suero recolectado los días -1, 8, 15, y 22, de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Se agrupó el suero de cada par de ratones y después se aisló el ADN de cada grupo de suero en un único aislamiento. Los datos se presentan en la siguiente tabla:

Tabla 43. Los niveles promedio de ADN del VHB en suero se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 16 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22
1	1,000 ± 0,122	1,000 ± 0,299	1,000 ± 0,241
2	0,312 ±0,016	0,126 ± 0,008	0,087 ± 0,018
3	0,264 ± 0,065	0,081 ± 0,023	0,073 ± 0,028
4	0,321 ± 0,254	0,120 ± 0,066	0,134 ± 0,101
5	0,319 ± 0,081	0,108 ± 0,038	0,098 ± 0,051
6	0,260 ± 0,095	0,068 ± 0,010	0,076 ± 0,031
7	0,170 ± 0,028	0,082 ± 0,013	0,062 ± 0,018
8	0,188 ± 0,020	0,192 ± 0,160	0,307 ± 0,309
9	0,242 ± 0,003	0,100 ± 0,042	0,075 ± 0,028
10	0,322 ± 0,028	0,159 ± 0,025	0,086 ± 0,016
11	1,124 ± 0,142	0,742 ± 0,127	0,807 ± 0,192
12	1,004 ± 0,144	0,541 ± 0,340	0,569 ± 0,060

Los agentes de iARN del VHB probados, tanto individualmente como combinados, mostraron una reducción en el ADN del VHB en suero en comparación con el control salino en todos los puntos de tiempo medidos, excepto en los grupos 11 y 12 que no habían demostrado diminución en el ADN del VHB en suero el día 8.

Ejemplo 17*. Agentes de iARN del VHB en ratones pHBV.*

Se usó el modelo de ratón pHBV descrito en el ejemplo 2, anterior. Los ratones se dividieron en varios grupos como se muestra en la Tabla 44, a continuación, y a cada ratón se le administró una sola inyección subcutánea de 200 µl de acuerdo con el régimen de dosificación que se muestra en la Tabla 44:

Tabla 44. Grupos de dosificación de ratones pHBV para el Ejemplo 17.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación
1	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1
2	5 mg/kg de AD04585 + 1 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
3	5 mg/kg de AD04872 + 1 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
4	5 mg/kg de AD04585 + 1 mg/kg de AD04963	Inyección única el día 1 y día 8
5	5 mg/kg de AD04872 + 1 mg/kg de AD04963	Inyección única el día 1 y día 8
6	2,5 mg/kg de AD04585 + 0,5 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
7	2,0 mg/kg de AD04585 +	Inyección única en el día 1

	1,0 mg/kg de AD04963	
8	2,5 mg/kg de AD04872 + 0,5 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
9	2,0 mg/kg de AD04872 + 1,0 mg/kg de AD04963	Inyección única en el día 1
10	5 mg/kg de AD04872 + 1 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1
11	2,5 mg/kg de AD04872 + 0,5 mg/kg de AD04981	Inyección única el día 1 y día 8
12	2,5 mg/kg de AD04872 + 0,5 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1
13	2 mg/kg de AD04872 + 1 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1
14	2,5 mg/kg de AD04585 + 0,5 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1
15	2 mg/kg de AD04585 + 1 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1
16	0,5 mg/kg de AD04981	Inyección única en el día 1

A cada ratón se le administró una inyección subcutánea de 200 µl que contenía la cantidad de agentes de iARN del VHB formulados en una solución salina regulada con fosfato, o 200 µl de solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, como se muestra en la Tabla 44. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro. Se probaron tres (3) ratones en cada grupo (n=3).

Se recolectó suero antes de la administración, y después el día 8, día 14, día 21 y día 29 y día 36, y los niveles del antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente Tabla 45:

Tabla 45. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en los ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 17 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 14	Día 21	Día 29
1	1,000 ± 0,068	1,000 ± 0,125	1,000 ± 0,152	1,000 ± 0,110
2	0,058 ± 0,033	0,059 ± 0,022	0,085 ± 0,023	0,158 ± 0,021
3	0,025 ± 0,009	0,014 ± 0,006	0,015 ± 0,008	0,026 ± 0,015
4	0,032 ± 0,007	0,005 ± 0,001	0,006 ± 0,002	0,014 ± 0,002
5	0,024 ± 0,009	0,003 ± 0,001	0,001 ± 0,0004	0,001 ± 0,0005
6	0,063 ± 0,020	0,077 ± 0,013	0,131 ± 0,011	0,214 ± 0,026
7	0,041 ± 0,018	0,059 ± 0,017	0,091 ± 0,016	0,140 ± 0,045
8	0,070 ± 0,008	0,046 ± 0,016	0,043 ± 0,009	0,055 ± 0,012
9	0,043 ± 0,006	0,027 ± 0,003	0,064 ± 0,017	0,064 ± 0,014
10	0,015 ± 0,008	0,005 ± 0,003	0,005 ± 0,003	0,005 ± 0,003
11	0,047 ± 0,014	0,005 ± 0,003	0,003 ± 0,002	0,003 ± 0,003
12	0,062 ± 0,006	0,025 ± 0,007	0,027 ± 0,005	0,033 ± 0,005
13	0,092 ± 0,029	0,050 ± 0,021	0,050 ± 0,022	0,054 ± 0,0019
14	0,310 ± 0,180	0,056 ± 0,010	0,081 ± 0,010	0,112 ± 0,0018
15	0,304 ± 0,044	0,083 ± 0,021	0,115 ± 0,013	0,165 ± 0,025
16	1,667 ± 0,217	0,416 ± 0,163	0,341 ± 0,179	0,511 ± 0,0011

Grupo	Día 36

1	1,000 ± 0,225
2	
3	0,049 ± 0,019
4	
5	0,004 ± 0,0004
6	
7	
8	0,081 ± 0,010
9	0,108 ± 0,026
10	0,009 ± 0,004
11	0,005 ± 0,003
12	0,060 ± 0,014
13	0,094 ± 0,027
14	
15	
16	0,634 ± 0,005

Las combinaciones de agentes de iARN del VHB probadas mostraron una reducción en el AgsHB en comparación con el control con solución salina en todos los puntos de tiempo medidos. Las combinaciones que contenían AD04872 mostraron mayores reducciones que las combinaciones equivalentes con AD04585 en lugar de AD04872.

Adicionalmente, los niveles de ADN del VHB en suero se determinaron para muestras recolectadas los días 8, 14, 21 y 29 de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. El ADN del VHB en suero se aisló de cada animal en cada punto de tiempo. Los datos se presentan en la siguiente Tabla 46:

Tabla 46. Los niveles promedio de ADN del VHB en suero se normalizaron a los niveles previos al tratamiento y a los del control con PBS en ratones pHBV después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 17 (desviación estándar reflejada como (+/-)).

Grupo	Día 8	Día 14	Día 21	Día 29
1	1,000 ± 0,280	1,000 ± 0,269	1,000 ± 0,418	1,000 ± 0,383
2	0,136 ± 0,068	0,192 ± 0,071	0,173 ± 0,032	0,292 ± 0,039
3	0,097 ± 0,034	0,068 ± 0,016	0,076 ± 0,034	0,131 ± 0,061
4	0,061 ± 0,039	0,002 ± 0,001	0,003 ± 0,001	0,019 ± 0,013
5	0,068 ± 0,025	0,003 ± 0,002	0,0009 ± 0,0003	0,0009 ± 0,0003
6	0,354 ± 0,299	0,345 ± 0,187	0,522 ± 0,234	0,509 ± 0,106
7	0,103 ± 0,064	0,291 ± 0,025	0,203 ± 0,043	0,203 ± 0,015
8	0,336 ± 0,142	0,185 ± 0,071	0,183 ± 0,065	0,162 ± 0,064
9	0,198 ± 0,055	0,093 ± 0,023	0,118 ± 0,054	0,143 ± 0,032
10	0,122 ± 0,071	0,024 ± 0,026	0,023 ± 0,020	0,014 ± 0,017
11	0,160 ± 0,069	0,016 ± 0,023	0,003 ± 0,001	0,005 ± 0,004
12	0,158 ± 0,039	0,120 ± 0,044	0,100 ± 0,049	0,091 ± 0,034
13	0,190 ± 0,038	0,169 ± 0,025	0,066 ± 0,015	0,081 ± 0,015
14	0,434 ± 0,136	0,318 ± 0,104	0,144 ± 0,094	0,240 ± 0,029
15	0,358 ± 0,185	0,287 ± 0,108	0,279 ± 0,080	0,303 ± 0,038
16	0,713 ± 0,085	0,674 ± 0,140	0,496 ± 0,128	0,590 ± 0,093

Las combinaciones de agentes de iARN del VHB probadas mostraron una reducción del ADN del VHB en suero en comparación con el control con solución salina en todos los puntos de tiempo medidos. Las combinaciones que contenían AD04872 mostraron

mayores reducciones que las combinaciones equivalentes con AD04585 en lugar de AD04872. Estas mayores reducciones se observaron el día 22 y día 29.

Ejemplo 18. Los agentes de iARN del VHB en un modelo de ratón humanizado infectado con el VHB.

Para este estudio, los ratones knockout machos FRG® (genotipo Fah -/-/ Rag2 -/-/ Il2rg-/- triple en un fondo C57BL/6 (Yecuris)) fueron trasplantados con hepatocitos humanos cuando tenían 1-2 meses de edad. Se permitió que los hepatocitos humanos repoblaran el hígado durante aproximadamente 6 meses con un tratamiento periódico con NTBC para desalentar el crecimiento de los hepatocitos de ratón. A los 9 meses de edad, los ratones recibieron una inoculación intravenosa de 4×10^8 genomas/kg de genotipo C del VHB, que infectó a los hepatocitos humanos. Después de 2-3 meses, los niveles de ADN del VHB en suero alcanzaron su techo, lo que indicó que los hepatocitos humanos fueron infectados al máximo (los hepatocitos de ratón no pueden ser infectados por el VHB). Los ratones tenían un año de edad al inicio del tratamiento con agentes de iARN del VHB, por lo que se acercaban al final de su tramo de vida.

Las muestras de suero previas al tratamiento se tomaron el día -10 y día -3. A partir del día 1, a cada ratón se le administró una sonda oral diaria con 0,01 mg/kg de Entecavir disuelto en agua para inhibir la replicación del VHB. La dosis diaria de Entecavir continuó hasta que se sacrificó a los ratones. Se esperaba que la administración de Entecavir redujera el ADN del VHB en suero en pacientes humanos con infección crónica, pero no redujo el AgsHB.

Los ratones se dividieron en varios grupos que incluían los que se muestran en la Tabla 47, a continuación:

Tabla 47. Grupos de dosificación de ratones modelo humanizado FRG infectados con el VHB para el Ejemplo 18.

Grupo	Agente de iARN y dosis	Régimen de dosificación	Día terminal
A- Ratón 1	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única en el día 1	Sacrificio día 21 (animales saludables)
A- Ratón 2	PBS (sin agente de iARN)	Inyección única el día 1 y día 29	Sacrificio día 36
B- Ratón 1	4,0 mg/kg de AD04872 + 2,0 mg/kg de AD05070	Inyección única el día 1 y día 29	Sacrificio día 36
B- Ratón 2	4,0 mg/kg de AD04872 + 2,0 mg/kg de AD05070	Inyección única el día 1 y día 29	Sacrificio día 40
C- Ratón 1	4,5 mg/kg de AD04872 + 1,5 mg/kg de AD05070	Inyección única en el día 1	Sacrificio día 15
C- Ratón 2	4,5 mg/kg de AD04872 + 1,5 mg/kg de AD05070	Inyección única el día 1 y día 29	Sacrificio día 36
C- Ratón 3	4,5 mg/kg de AD04872 + 1,5 mg/kg de AD05070	Inyección única el día 1 y día 29	Sacrificio día 40

Cada ratón también recibió la administración subcutánea de 100 µl por 20 gramos de peso corporal que contenía la cantidad de agente o agentes de iARN del VHB formulados en una solución salina regulada con fosfato, o un volumen igual de una solución salina regulada con fosfato sin un agente de iARN del VHB, el día 1 y el día 29 (si aún está vivo el día 29), de acuerdo con la programación indicada en la Tabla 47, inmediatamente anterior. Cada uno de los agentes de iARN del VHB incluían

ligandos de direccionamiento de N-acetil-galactosamina conjugados con el extremo terminal 5' de la cadena codificante, como se muestra en las Tablas 4 y 5. Las inyecciones se realizaron entre la piel y el músculo (es decir, inyecciones subcutáneas) en la piel suelta sobre el cuello y el área del hombro.

Se recolectó suero el día 8, día 15, día 22, día 29, día 36 y día 40 y los niveles de antígeno de superficie de la hepatitis B (AgHBs) en suero se determinaron de acuerdo con el procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos del experimento se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 48. Los niveles promedio del AgsHB se normalizaron a los niveles previos al tratamiento (día -3) para cada ratón modelo humanizado FRG infectado con el VHB del Ejemplo 18.

Grupo	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29	Día 36	Día 40
A-1	0,830	0,828	0,932	0,858	1,107	
A-2	1,303	1,328				
B-1	0,548	0,314	0,272	0,207	0,138	
B-2	0,592	0,337	0,243	0,215	0,160	0,175
C-1	0,643	0,460	0,415	0,251	0,164	
C-2	0,353	0,228	0,182	0,172	0,224	0,216
C-3	0,814	0,674				

Además, los niveles de ADN del VHB en suero se determinaron a partir de muestras de suero recolectado los días -10, -3, 8, 15, 22, 29, 36, y 40 de acuerdo con el

procedimiento que se muestra en el Ejemplo 2, más arriba. Los datos se presentan en la siguiente Tabla 49:

Tabla 49. Los niveles de ADN del VHB se normalizaron al nivel promedio previo al tratamiento del día -10 y día -3 para cada ratón humanizado FRG infectado con el VHB después de la administración de agentes de iARN del VHB del Ejemplo 14.

Grupo	Día -10	Día -3	Día 8	Día 15	Día 22	Día 29	Día 36	Día 40
A-1	0,883	1,117	0,072	0,038	0,015	0,027	0,060	
A-2	1,070	0,930	0,130	0,075				
B-1	1,538	0,462	0,032	0,017	0,011	0,006	0,010	
B-2	1,350	0,650	0,042	0,018	0,012	0,007	0,008	0,007
C-1	1,348	0,652	0,041	0,020	0,016	0,005	0,004	
C-2	1,030	0,970	0,031	0,015	0,006	0,011	0,008	0,008

Como se esperaba, la administración de Entecavir redujo la replicación viral tanto en ausencia como en presencia de agentes de iARN del VHB.

OTRAS MODALIDADES

Debe entenderse que si bien la invención se ha descrito junto con la descripción detallada de la misma, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones anexas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

Reivindicaciones:

1. Un agente de iARN para inhibir la expresión de un gen del virus de la hepatitis B que comprende una cadena no codificante y una cadena codificante, en donde la cadena no codificante comprende una secuencia que tiene al menos aproximadamente 85 % de identidad con cualquiera de las secuencias de cadena no codificante proporcionadas en la Tabla 2 o la Tabla 3.

2. El agente de iARN de la reivindicación 1, en donde la cadena no codificante comprende al menos 16 nucleótidos contiguos de cualquiera de las secuencias no codificantes proporcionadas en la Tabla 2 o la Tabla 3.

3. La composición de la reivindicación 1, en donde la cadena no codificante comprende los nucleótidos en las posiciones 2 a 18 (5'→3') de cualquiera de las secuencias de cadena no codificante proporcionadas en la Tabla 2 o la Tabla 3.

4. El agente de iARN de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde al menos un nucleótido de la cadena codificante y/o al menos un nucleótido de la cadena no codificante del agente de iARN es un nucleótido modificado y/o tiene un enlace internucleósido modificado.

5. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la cadena codificante y la cadena no codificante tiene cada una 17 a 30 nucleótidos de longitud.

6. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la cadena codificante comprende al menos 16 nucleótidos contiguos de cualquiera de las

secuencias de cadena codificante proporcionadas en la Tabla 2 o la Tabla 4, y en donde la cadena codificante tiene una región de al menos aproximadamente 85 % de complementariedad sobre los 16 nucleótidos contiguos a la cadena no codificante.

7. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde todos o sustancialmente todos los nucleótidos en ambas la cadena codificante y la cadena no codificante del agente de iARN son nucleótidos modificados.

8. El agente de iARN de la reivindicación 1, en donde la cadena no codificante comprende la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las secuencias modificadas proporcionadas en la Tabla 3.

9. El agente de iARN de la reivindicación 1 o la reivindicación 8, en donde la cadena codificante comprende la secuencia de nucleótidos de cualquiera de las secuencias codificantes modificadas proporcionadas en la Tabla 4.

10. Una composición para inhibir la expresión de un gen del VHB que comprende un agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en donde el agente de iARN se conjuga con un ligando dirigido.

11. La composición de la reivindicación 10, en donde el ligando dirigido comprende N-acetil-galactosamina.

12. La composición de la reivindicación 11, donde el ligando dirigido es (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), o (NAG39)s.

13. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 10-12, en donde el ligando dirigido está conjugado con la cadena codificante del agente de iARN.

14. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 10-13, en donde la composición comprende, además, un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 10-14, en donde el agente de iARN tiene la estructura dúplex de AD03498; AD03499; AD03500; AD03501; AD03738; AD03739; AD03967; AD03968; AD03969; AD03970; AD03971; AD03972; AD03973; AD03974; AD03975; AD03976; AD03977; AD03978; AD04001; AD04002; AD04003; AD04004; AD04005; AD04006; AD04007; AD04008; AD04009; AD04010; AD04176; AD04177; AD04178; AD04412; AD04413; AD04414; AD04415; AD04416; AD04417; AD04418; AD04419; AD04420; AD04421; AD04422; AD04423; AD04425; AD04426; AD04427; AD04428; AD04429; AD04430; AD04431; AD04432; AD04433; AD04434; AD04435; AD04436; AD04437; AD04438; AD04439; AD04440; AD04441; AD04442; AD04511; AD04570; AD04571; AD04572; AD04573; AD04574; AD04575; AD04576; AD04577; AD04578; AD04579; AD04580; AD04581; AD04583; AD04584; AD04585; AD04586; AD04587; AD04588; AD04590; AD04591; AD04592; AD04593; AD04594; AD04595; AD04596; AD04597; AD04598; AD04599; AD04734; AD04771; AD04772; AD04773; AD04774; AD04775; AD04776; AD04777; AD04778; AD04822; AD04823; AD04871;

AD04872; AD04873; AD04874; AD04875; AD04876; AD04881; AD04882; AD04883; AD04884; AD04885; AD04962; AD04963; AD04981; AD04982; AD04983; AD05069; AD05070; AD05071; AD05072; AD05073; AD05074; AD05075; AD05076; AD05077; AD05078; AD05147; AD05148; AD05149; AD05164; o AD05165.

16. La composición de la reivindicación 15, en donde el agente de iARN tiene la estructura dúplex de AD04580; AD04585; AD04776; AD04872; AD04962; AD04963; AD04982; o AD05070.

17. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 10-16, en donde la composición comprende, además, un segundo agente de iARN que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante para inhibir la expresión de un gen del virus de la hepatitis B.

18. La composición de la reivindicación 17, en donde el segundo agente de iARN comprende una secuencia no codificante que tienen al menos aproximadamente 85 % de identidad con cualquiera de las secuencias de cadena no codificante proporcionadas en la Tabla 2 o la Tabla 3.

19. La composición de la reivindicación 18, en donde la cadena no codificante del segundo agente de iARN comprende al menos 16 nucleótidos contiguos de cualquiera de las secuencias no codificantes proporcionadas en la Tabla 2 o la Tabla 3.

20. La composición de la reivindicación 19, en donde la cadena no codificante del segundo agente de iARN comprende los nucleótidos en las posiciones 2 a 18

(5'→3') de cualquiera de las secuencias de cadena no codificante proporcionadas en la Tabla 2 o la Tabla 3.

21. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 17-20, en donde el primer agente de iARN se dirige al marco de lectura abierta S (ORF) de un gen del VHB, y el segundo agente de iARN se dirige al marco de lectura abierta X (ORF) de un gen del VHB.

22. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 17-20, en donde el primer agente de iARN se dirige al X ORF de un gen del VHB, y el segundo agente de iARN se dirige al ORF S de un gen del VHB.

23. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 17-21, en donde el primer agente de iARN se selecciona del grupo que consiste en: AD04001; AD04002; AD04003; AD04004; AD04005; AD04006; AD04007; AD04008; AD04009; AD04010; AD04422; AD04423; AD04425; AD04426; AD04427; AD04428; AD04429; AD04430; AD04431; AD04432; AD04433; AD04434; AD04435; AD04436; AD04437; AD04438; AD04439; AD04440; AD04441; AD04442; AD04511; AD04581; AD04583; AD04584; AD04585; AD04586; AD04587; AD04588; AD04590; AD04591; AD04592; AD04593; AD04594; AD04595; AD04596; AD04597; AD04598; AD04599; AD04734; AD04771; AD04772; AD04773; AD04774; AD04775; AD04822; AD04871; AD04872; AD04873; AD04874; AD04875; AD04876; AD04962; y AD05164; y el segundo agente de iARN se selecciona del grupo que consiste en: AD03498; AD03499; AD03500; AD03501; AD03738; AD03739; AD03967; AD03968; AD03969; AD03970;

AD03971; AD03972; AD03973; AD03974; AD03975; AD03976; AD03977; AD03978; AD04176; AD04177; AD04178; AD04412; AD04413; AD04414; AD04415; AD04416; AD04417; AD04418; AD04419; AD04420; AD04421; AD04570; AD04571; AD04572; AD04573; AD04574; AD04575; AD04576; AD04577; AD04578; AD04579; AD04580; AD04776; AD04777; AD04778; AD04823; AD04881; AD04882; AD04883; AD04884; AD04885; AD04963; AD04981; AD04982; AD04983; AD05069; AD05070; AD05071; AD05072; AD05073; AD05074; AD05075; AD05076; AD05077; AD05078; AD05147; AD05148; AD05149; y AD05165.

24. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 17-21 o 23, en donde el primer agente de iARN es AD04872 y el segundo agente de iARN es AD05070.

25. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 17-21 o 23, en donde el primer agente de iARN es AD04872 y el segundo agente de iARN es AD04982.

26. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 17-21 o 23, en donde el primer agente de iARN es AD04872 y el segundo agente de iARN es AD04776.

27. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 17-21, en donde el primer agente de iARN es AD04585 y el segundo agente de iARN es AD04580.

28. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 10-27, que comprende, además, uno o más terapéuticos adicionales.

29. La composición de la reivindicación 28, en donde el terapéutico adicional es lamivudina, tenofovir, tenofovir alafenamida, tenofovir disoproxil, o entecavir.

30. La composición de la reivindicación 28, en donde el terapéutico adicional es interferón.

31. Un método para inhibir la expresión de un gen del virus de la hepatitis B en un sujeto, que comprende administrar al sujeto el agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-9.

32. Un método para inhibir la expresión de un gen del virus de la hepatitis B en un sujeto, que comprende administrar al sujeto la composición de cualquiera de las reivindicaciones 10-30.

33. El método de la reivindicación 31 o la reivindicación 32, en donde el sujeto tiene o está en riesgo de tener una infección causada por el VHB.

34. Un método para tratar la infección causada por el VHB y/o una enfermedad, trastorno o afección asociada con la infección por VHB en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz del agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-9.

35. Un método para tratar infección por VHB y/o una enfermedad, trastorno o condición asociada con la infección causada por el VHB en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de la composición de cualquiera de las reivindicaciones 10-30.

36. El método de la reivindicación 32, 33 o 35, en donde la composición comprende una cantidad eficaz de dos agentes de iARN para inhibir la expresión de un gen del virus de la Hepatitis B.

37. El método de cualquiera de cualquiera de las reivindicaciones 32, 33, 35 o 36, en donde la cantidad eficaz de la composición es suficiente para reducir el nivel de HBsAg en un sujeto por al menos aproximadamente 40 % en relación con el nivel de expresión de HBsAg del sujeto antes de la administración de la composición.

38. El método de cualquiera de cualquiera de las reivindicaciones 32, 33, 35, o 36, en donde la cantidad eficaz de la composición es suficiente para reducir el nivel de HBeAg en un sujeto por al menos aproximadamente 40 % en relación con el nivel de expresión de HBeAg del sujeto antes de la administración de la composición.

39. El método de cualquiera de cualquiera de las reivindicaciones 32, 33, 35 o 36, en donde la cantidad eficaz de la composición es suficiente para reducir el nivel de ADN del VHB en suero en un sujeto por al menos aproximadamente 40 % en relación con el nivel de ADN del VHB en suero del sujeto antes de la administración de la composición.

40. El método de las reivindicaciones 34 o 35, en donde la enfermedad, trastorno o condición asociada con la infección causada por el VHB es una enfermedad o trastorno hepático crónico, inflamación hepática, afección fibromática, un trastorno proliferativo, carcinoma hepatocelular, infección causada por el virus de la Hepatitis D o infección aguda causada por el VHB.

41. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39 o 40, en donde el primer agente de iARN y el segundo agente de iARN se administran en una relación de aproximadamente 1:1.

42. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39 o 40, en donde el primer agente de iARN y el segundo agente de iARN se administran en una relación de aproximadamente 2:1.

43. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39 o 40, en donde el primer agente de iARN y el segundo agente de iARN se administran en una relación de aproximadamente 3:1.

44. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39 o 40, en donde el primer agente de iARN y el segundo agente de iARN se administran en una relación de aproximadamente 4:1.

45. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39 o 40, en donde el primer agente de iARN y el segundo agente de iARN se administran en una relación de aproximadamente 5:1.

46. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39 o 40, en donde la cantidad eficaz del primer agente de iARN está entre aproximadamente 0,5 mg/kg y aproximadamente 5 mg/kg y la cantidad eficaz del segundo agente de iARN está entre aproximadamente 0,5 mg/kg y aproximadamente 5 mg/Kg.

47. El método de la reivindicación 31, en donde la cantidad eficaz del agente de iARN está entre aproximadamente 0,5 mg/kg y aproximadamente 5 mg/kg.

48. Uso del agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 para el tratamiento de la infección causada por el VHB.

49. Uso de la composición de cualquiera de las reivindicaciones 10-30 para el tratamiento de la infección causada por el VHB.

50. Uso de la composición de cualquiera de las reivindicaciones 10-30 para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de la infección causada por el VHB.

51. Un agente de iARN para inhibir la expresión de un gen del virus de la hepatitis B que comprende una cadena no codificante y una cadena codificante, en donde el agente de iARN tiene una estructura dúplex que comprende una cadena codificante o una cadena no codificante que es idéntica o sustancialmente idéntica a la cadena codificante o no codificante respectiva en la estructura dúplex del grupo que consiste en: AD03498; AD03499; AD03500; AD03501; AD03738; AD03739; AD03967; AD03968; AD03969; AD03970; AD03971; AD03972; AD03973; AD03974; AD03975; AD03976; AD03977; AD03978; AD04001; AD04002; AD04003; AD04004; AD04005; AD04006; AD04007; AD04008; AD04009; AD04010; AD04176; AD04177; AD04178; AD04412; AD04413; AD04414; AD04415; AD04416; AD04417; AD04418; AD04419; AD04420; AD04421; AD04422; AD04423; AD04425; AD04426; AD04427; AD04428; AD04429; AD04430; AD04431; AD04432; AD04433; AD04434; AD04435; AD04436; AD04437; AD04438; AD04439; AD04440; AD04441; AD04442; AD04511; AD04570; AD04571; AD04572; AD04573; AD04574; AD04575; AD04576; AD04577; AD04578; AD04579; AD04580; AD04581; AD04583; AD04584; AD04585; AD04586; AD04587; AD04588; AD04590; AD04591; AD04592; AD04593; AD04594; AD04595; AD04596; AD04597; AD04598; AD04599; AD04734; AD04771; AD04772; AD04773; AD04774; AD04775; AD04776; AD04777; AD04778; AD04822; AD04823; AD04871; AD04872; AD04873; AD04874; AD04875; AD04876; AD04881; AD04882; AD04883; AD04884;

AD04885; AD04962; AD04963; AD04981; AD04982; AD04983; AD05069; AD05070; AD05071; AD05072; AD05073; AD05074; AD05075; AD05076; AD05077; AD05078; AD05147; AD05148; AD05149; AD05164; o AD05165.

52. El agente de iARN de la reivindicación 51, en donde el agente de iARN tiene una estructura dúplex que comprende una cadena codificante que es idéntica o sustancialmente idéntica a la codificante respectiva en la estructura dúplex del grupo que consiste en: AD03498; AD03499; AD03500; AD03501; AD03738; AD03739; AD03967; AD03968; AD03969; AD03970; AD03971; AD03972; AD03973; AD03974; AD03975; AD03976; AD03977; AD03978; AD04001; AD04002; AD04003; AD04004; AD04005; AD04006; AD04007; AD04008; AD04009; AD04010; AD04176; AD04177; AD04178; AD04412; AD04413; AD04414; AD04415; AD04416; AD04417; AD04418; AD04419; AD04420; AD04421; AD04422; AD04423; AD04425; AD04426; AD04427; AD04428; AD04429; AD04430; AD04431; AD04432; AD04433; AD04434; AD04435; AD04436; AD04437; AD04438; AD04439; AD04440; AD04441; AD04442; AD04511; AD04570; AD04571; AD04572; AD04573; AD04574; AD04575; AD04576; AD04577; AD04578; AD04579; AD04580; AD04581; AD04583; AD04584; AD04585; AD04586; AD04587; AD04588; AD04590; AD04591; AD04592; AD04593; AD04594; AD04595; AD04596; AD04597; AD04598; AD04599; AD04734; AD04771; AD04772; AD04773; AD04774; AD04775; AD04776; AD04777; AD04778; AD04822; AD04823; AD04871; AD04872; AD04873; AD04874; AD04875; AD04876; AD04881; AD04882; AD04883; AD04884; AD04885; AD04962; AD04963; AD04981; AD04982; AD04983; AD05069;

AD05070; AD05071; AD05072; AD05073; AD05074; AD05075; AD05076; AD05077; AD05078; AD05147; AD05148; AD05149; AD05164; o AD05165.

53. El agente de iARN de la reivindicación 52, en donde el agente de iARN tiene una estructura dúplex que comprende una cadena no codificante que es idéntica o sustancialmente idéntica a la cadena no codificante respectiva en la estructura dúplex del grupo que consiste en: AD03498; AD03499; AD03500; AD03501; AD03738; AD03739; AD03967; AD03968; AD03969; AD03970; AD03971; AD03972; AD03973; AD03974; AD03975; AD03976; AD03977; AD03978; AD04001; AD04002; AD04003; AD04004; AD04005; AD04006; AD04007; AD04008; AD04009; AD04010; AD04176; AD04177; AD04178; AD04412; AD04413; AD04414; AD04415; AD04416; AD04417; AD04418; AD04419; AD04420; AD04421; AD04422; AD04423; AD04425; AD04426; AD04427; AD04428; AD04429; AD04430; AD04431; AD04432; AD04433; AD04434; AD04435; AD04436; AD04437; AD04438; AD04439; AD04440; AD04441; AD04442; AD04511; AD04570; AD04571; AD04572; AD04573; AD04574; AD04575; AD04576; AD04577; AD04578; AD04579; AD04580; AD04581; AD04583; AD04584; AD04585; AD04586; AD04587; AD04588; AD04590; AD04591; AD04592; AD04593; AD04594; AD04595; AD04596; AD04597; AD04598; AD04599; AD04734; AD04771; AD04772; AD04773; AD04774; AD04775; AD04776; AD04777; AD04778; AD04822; AD04823; AD04871; AD04872; AD04873; AD04874; AD04875; AD04876; AD04881; AD04882; AD04883; AD04884; AD04885; AD04962; AD04963; AD04981; AD04982;

AD04983; AD05069; AD05070; AD05071; AD05072; AD05073; AD05074; AD05075; AD05076; AD05077; AD05078; AD05147; AD05148; AD05149; AD05164; o AD05165.

54. El agente de iARN de la reivindicación 53, en donde el agente de iARN tiene una estructura dúplex que comprende una cadena codificante y una cadena no codificante que son idénticas o sustancialmente idénticas a la cadena codificante y no codificante respectiva en la estructura dúplex del grupo que consiste en: AD03498; AD03499; AD03500; AD03501; AD03738; AD03739; AD03967; AD03968; AD03969; AD03970; AD03971; AD03972; AD03973; AD03974; AD03975; AD03976; AD03977; AD03978; AD04001; AD04002; AD04003; AD04004; AD04005; AD04006; AD04007; AD04008; AD04009; AD04010; AD04176; AD04177; AD04178; AD04412; AD04413; AD04414; AD04415; AD04416; AD04417; AD04418; AD04419; AD04420; AD04421; AD04422; AD04423; AD04425; AD04426; AD04427; AD04428; AD04429; AD04430; AD04431; AD04432; AD04433; AD04434; AD04435; AD04436; AD04437; AD04438; AD04439; AD04440; AD04441; AD04442; AD04511; AD04570; AD04571; AD04572; AD04573; AD04574; AD04575; AD04576; AD04577; AD04578; AD04579; AD04580; AD04581; AD04583; AD04584; AD04585; AD04586; AD04587; AD04588; AD04590; AD04591; AD04592; AD04593; AD04594; AD04595; AD04596; AD04597; AD04598; AD04599; AD04734; AD04771; AD04772; AD04773; AD04774; AD04775; AD04776; AD04777; AD04778; AD04822; AD04823; AD04871; AD04872; AD04873; AD04874;

AD04875; AD04876; AD04881; AD04882; AD04883; AD04884; AD04885; AD04962; AD04963; AD04981; AD04982; AD04983; AD05069; AD05070; AD05071; AD05072; AD05073; AD05074; AD05075; AD05076; AD05077; AD05078; AD05147; AD05148; AD05149; AD05164; o AD05165

55. El agente de iARN de las reivindicaciones 51-54, en donde la identidad sustancial es exactamente, al menos, o aproximadamente 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %.

56. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 51-54, en donde la identidad sustancial es al menos, o aproximadamente 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %.

57. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 51-54, en donde la identidad sustancial es aproximadamente 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %.

58. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 51-54, en donde la identidad sustancial es al menos aproximadamente 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 %.

59. Una composición que comprende el agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 51-58.

60. Una composición que comprende al menos dos agentes de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 51-58.

61. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 o 51-58, en donde el agente de iARN comprende al menos un saliente.

62. El agente de iARN de cualquiera de la reivindicación 61, en donde el agente de iARN comprende un saliente en el extremo 3' de la cadena no codificante.

63. El agente de iARN de la reivindicación 62, en donde el agente de iARN comprende un saliente en el extremo 3' de la cadena no codificante y el extremo 3' de la cadena codificante.

64. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 o 51-58, en donde el agente de iARN comprende uno o dos extremos romos.

65. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 o 51-58, en donde el agente de iARN comprende uno o dos extremos deshilachados.

66. El agente de iARN de cualquiera de las reivindicaciones 1-9, 51-58, o 61-65, en donde la cadena codificante comprende al menos un nucleósido abásico invertido.

291

RESUMEN

Se describen composiciones y métodos para la inhibición de la expresión génica del virus de la hepatitis B. Se describen agentes de interferencia por ARN (iARN) para inhibir la expresión génica del virus de la hepatitis B. Los agentes de iARN del VHB descritos en la presente descripción pueden dirigirse a células, tales como hepatocitos, por ejemplo, mediante el uso de ligandos de direccionamiento conjugados. Se describen, además, composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más agentes de iARN del VHB con uno o más terapéuticos adicionales. El suministro de los agentes de iARN del VHB descritos al hígado infectado *in vivo* prevé la inhibición de la expresión génica del VHB y el tratamiento de enfermedades y condiciones asociadas con la infección causada por el VHB.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2019/0002017
Recibo: 22-75405
Fecha: 24/08/2022

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Pago PSE No: 714212
CUS: 1617689203

Patente PCT
AGENTES DE IARN PARA INFECCIÓN CAUSADA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS B

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	$ 176,000	$ 176,000
		TOTAL			$ 176,000

Sede Centro: Carrera 13 No.27-00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá D.C. - Colombia
Web: www.sic.gov.co e-mail:contactenos@sic.gov.co Conmutador:(571)5870000 Contact Center: (571)5920400