



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 119789859 A

(43) 申请公布日 2025.04.08

(21) 申请号 202380045597.9

(22) 申请日 2023.04.07

(30) 优先权数据

63/329,081 2022.04.08 US

63/401,858 2022.08.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.12.06

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2023/065487 2023.04.07

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/196941 EN 2023.10.12

(71) 申请人 箭头药业股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·C·哈米尔顿 B·D·吉文

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
72001

专利代理师 罗文锋 彭昶

(51) Int.Cl.

A61K 31/713 (2006.01)

A61K 47/54 (2017.01)

A61P 1/16 (2006.01)

权利要求书4页 说明书34页
序列表(电子公布) 附图14页

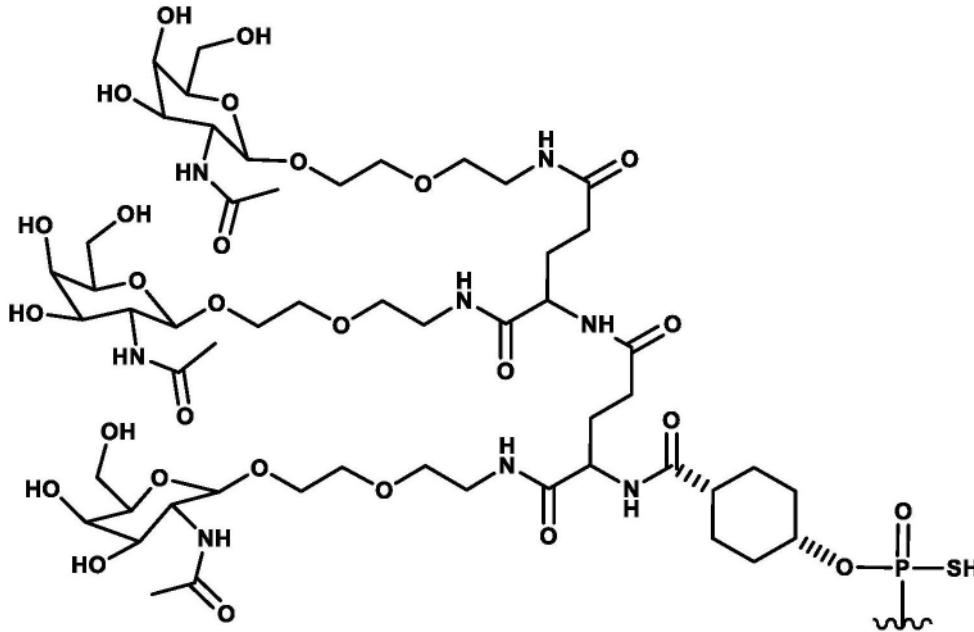
(54) 发明名称

非酒精性脂肪肝病的治疗

(57) 摘要

描述了经由降低需要治疗的人类受试者中HSD17B13的表达来治疗非酒精性脂肪肝病的方法。

1. 治疗有此需要的人类受试者中的非酒精性脂肪肝病的方法,其包括以约25至约200mg的剂量将化合物或其药学上可接受的盐施用于所述受试者,其中所述剂量基于所述化合物的游离酸形式计算,其中所述化合物包含与配体连接的双链寡核苷酸,其中所述双链寡核苷酸降低HSD17 β 13在所述人类受试者中的表达,并且其中所述配体包含以下化学结构:



(NAG37)_s、其立体异构体或其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述施用是单剂量。
3. 根据权利要求1所述的方法,其中以剂量之间约28天、约12周或约3个月的间隔重复所述施用,任选地持续约52周或约1年。
4. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述剂量为约50mg至约100mg。
5. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述剂量为约100mg至约200mg。
6. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述剂量为约50mg至约200mg。
7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述化合物呈钠盐形式。
8. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述化合物通过注射施用。
9. 根据权利要求8所述的方法,其中所述注射是皮下注射。
10. 根据权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述化合物以单个单位剂型存在。
11. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述非酒精性脂肪肝病是非酒精性脂性肝炎 (NASH)。
12. 根据权利要求1-11中任一项所述的方法,其中所述人类受试者具有HSD17 β 13rs72613567突变、PNPLA3 rs738409 (I148M) 突变或其组合。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述双链寡核苷酸包含反义链,所述反义链包含与以下序列(5'→3')之一相差0或1个核苷酸的修饰核苷酸序列:

- usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:1);
 usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:5);
 usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc(核苷酸序列SEQ ID NO:6);或

usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc (核苷酸序列SEQ ID NO:7);

并且其中a、c、g和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;且s代表硫代磷酸键。

14. 根据权利要求1-13中任一项所述的方法,其中所述双链寡核苷酸包含有义链,所述有义链包含与以下序列(5'→3')之一相差0或1个核苷酸的经修饰的核苷酸序列:

cguaagaaGfuCfuGfauagauga (核苷酸序列SEQ ID NO:3);

cguaagaaGfUfCfugauagauga (核苷酸序列SEQ ID NO:8);

gccuaggaCfAfUfuuuugiauca (核苷酸序列SEQ ID NO:9);或

gccuaggaCfaUfuUfuugiauca (核苷酸序列SEQ ID NO:10);

并且其中a、c、g、i和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷、2'-0-甲基肌苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;且s代表硫代磷酸键。

15. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述双链寡核苷酸包含反义链和有义链,所述反义链包含序列(5'→3'):

usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg (核苷酸序列SEQ ID NO:1),而所述有义链包含序列(5'→3'):

(NAG37)s(invAb)scguaagaaGfuCfuGfauagaugas(invAb) (核苷酸序列SEQ ID NO:11),

并且其中a、c、g和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;s代表硫代磷酸键;且(invAb)表示反向无碱基脱氧核糖残基。

16. 根据权利要求1-15中任一项所述的方法,其中与所述施用前相比,所述方法将所述人类受试者中HSD17β13mRNA的表达降低了至少约50%,如通过定量逆转录酶聚合酶链式反应(qRT-PCR)用来自所述人类受试者的肝活检样本测量的。

17. 根据权利要求1-16中任一项所述的方法,其中与所述施用前相比,所述方法将所述人类受试者中HSD17β13蛋白的表达降低了至少约30%,如通过蛋白质印迹用来自所述人类受试者的肝活检样本测量的。

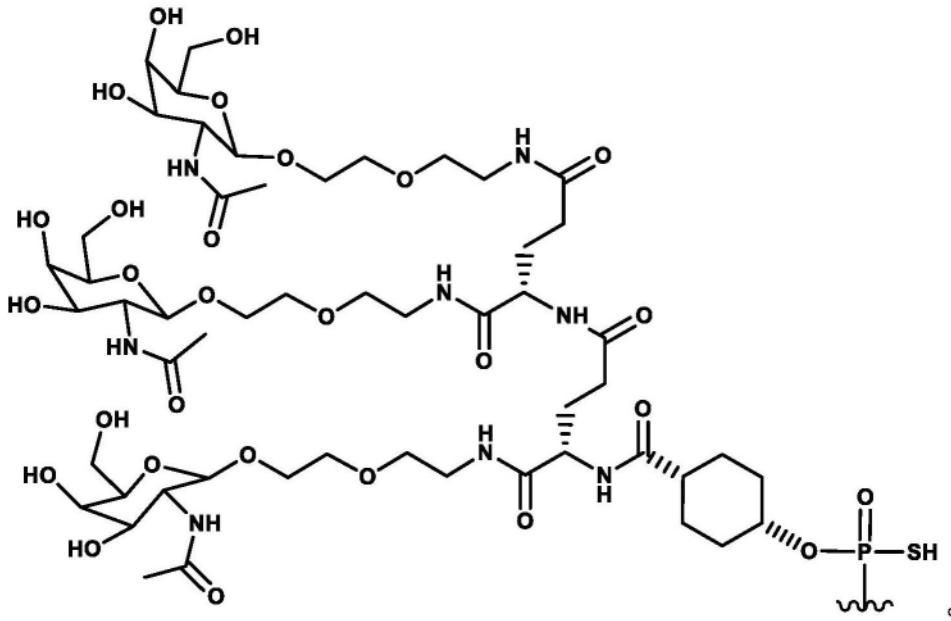
18. 根据权利要求1-17中任一项所述的方法,其中与所述施用前相比,所述方法将所述人类受试者的ALT(丙氨酸氨基转移酶)水平降低了至少约40%,如在所述人体受试者的血清中测量的。

19. 根据权利要求1-18中任一项所述的方法,其中与所述施用前相比,所述方法将所述人类受试者中的AST(天冬氨酸氨基转移酶)水平降低了至少约20%,如在所述人体受试者的血清中测量的。

20. 根据权利要求1-19中任一项所述的方法,其中与所述施用前相比,所述方法降低或减缓了所述人类受试者肝脏脂肪分数的增加,如通过磁共振成像测量的。

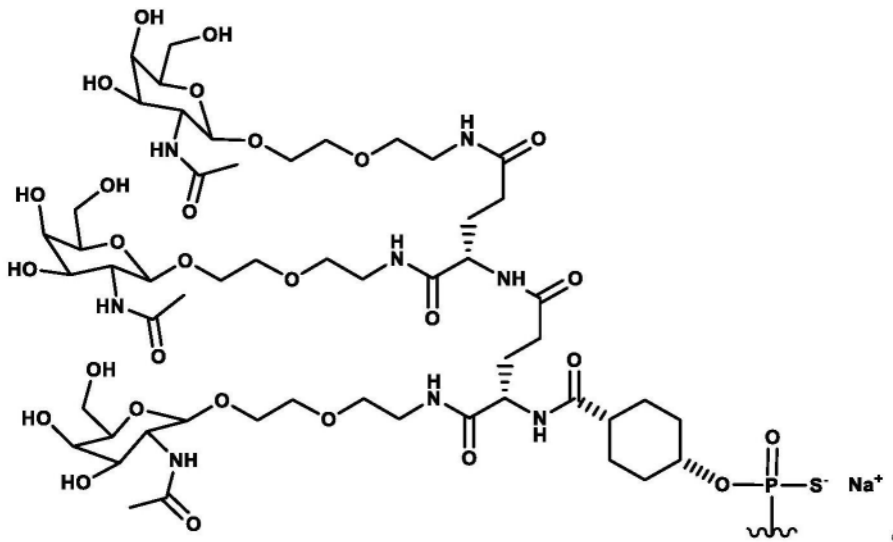
21. 根据权利要求1-20中任一项所述的方法,其中与所述施用前相比,所述方法降低或减缓所述人类受试者肝硬度的增加,如通过瞬态弹性成像测量的。

22. 根据权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述配体的化学结构包括:



23. 根据权利要求22所述的方法,其中所述化合物呈具有如图5A至5D所示的化学结构的游离酸形式。

24. 根据权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述配体的化学结构包括:



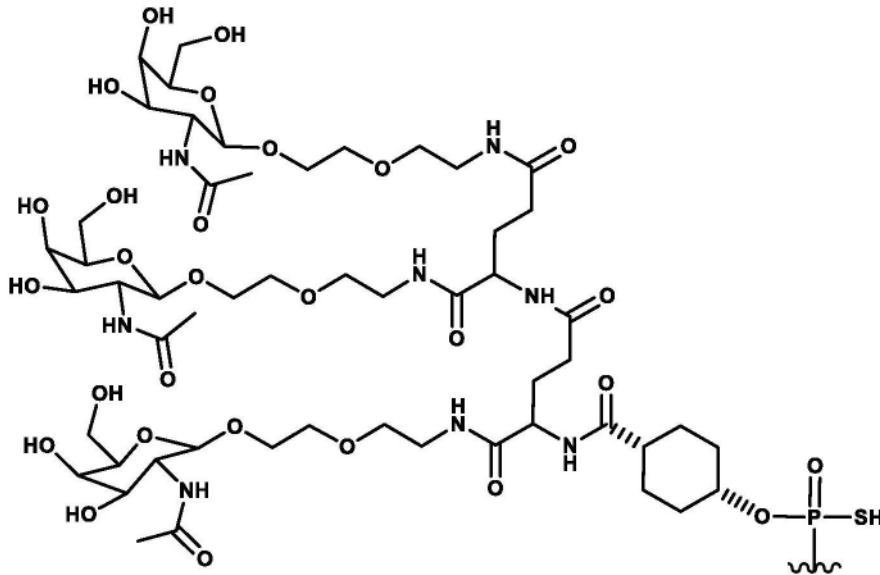
25. 根据权利要求24所述的方法,其中所述化合物呈具有如图6A至6D所示的化学结构的钠盐形式。

26. 根据权利要求1-3和7-25中任一项所述的方法,其中所述剂量为约50mg。

27. 根据权利要求1-3和7-25中任一项所述的方法,其中所述剂量为约100mg。

28. 根据权利要求1-3和7-25中任一项所述的方法,其中所述剂量为约200mg。

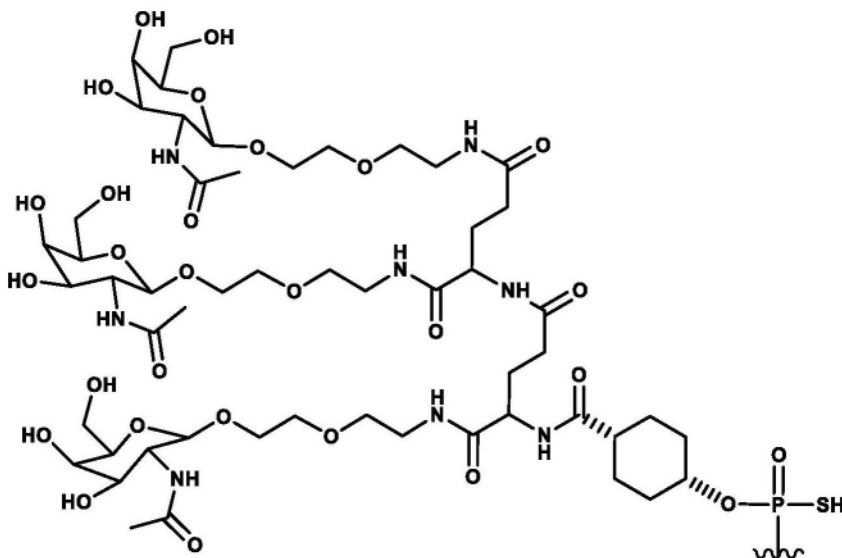
29. 用于治疗人类受试者中非酒精性脂肪肝病的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述用途包括以约25至约200mg的剂量将所述化合物或其药学上可接受的盐施用于所述受试者,其中所述剂量基于所述化合物的游离酸形式计算,其中所述化合物包含与配体连接的双链寡核苷酸,其中所述双链寡核苷酸降低HSD17 β 13在所述人类受试者中的表达,并且其中所述配体包含以下化学结构:



(NAG37)_s、其立体异构体或其药学上可接受的盐。

30. 根据权利要求29所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物呈具有如图5A至5D所示的化学结构的游离酸形式,或呈具有如图6A至6D所示的化学结构的钠盐形式。

31. 化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗非酒精性脂肪肝病的药物中的用途,其中所述化合物或其药学上可接受的盐以约25至约200mg的剂量使用,其中所述剂量基于所述化合物的游离酸形式计算,其中所述化合物包含与配体连接的双链寡核苷酸,其中所述双链寡核苷酸降低HSD17β13在所述人类受试者中的表达,并且其中所述配体包含以下化学结构:



(NAG37)_s、其立体异构体或其药学上可接受的盐。

32. 根据权利要求31所述的用途,其中所述化合物呈具有如图5A至5D所示的化学结构的游离酸形式,或呈具有如图6A至6D所示的化学结构的钠盐形式。

非酒精性脂肪肝病的治疗

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2022年4月8日提交的美国临时申请号63/329,081和2022年8月29日提交的美国临时申请号63/401,858的权益,其每一个的全部内容通过引用并入本文。

[0003] 序列表

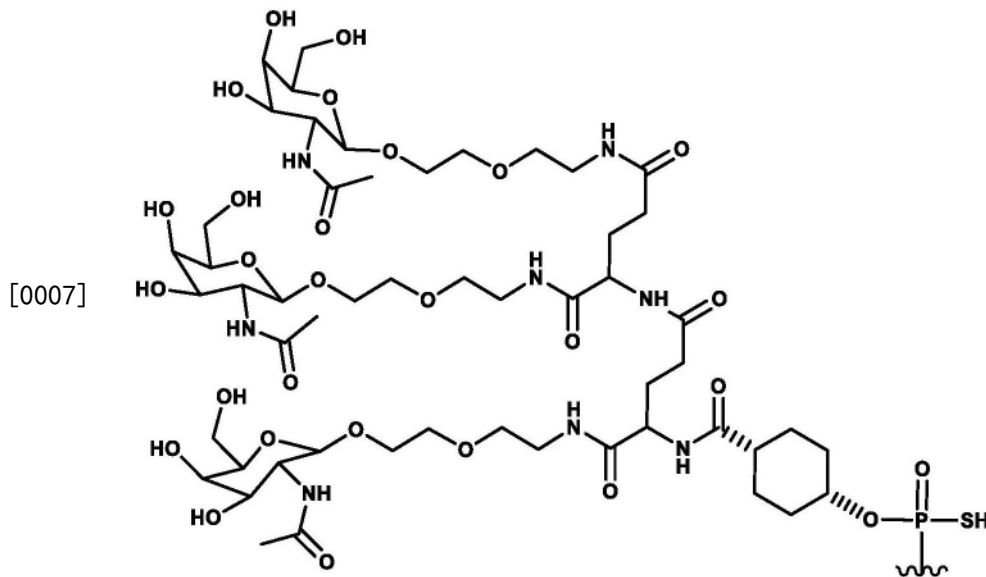
[0004] 本申请包含已以XML格式提交的序列表,且特此将其全部内容通过引用并入本文。XML副本名为70162W001_SL.XML,大小约为115,715字节,创建于2023年3月7日。

技术领域

[0005] 本文公开了治疗非酒精性脂肪肝病 (NAFLD) 的方法,其可以降低 (例如抑制或沉默) 肝脂滴蛋白17 β -羟基类固醇脱氢酶13型 (也被称为HSD17B13、17 β -HSD13、HSD17 β 13、17beta-HSD13、17beta-HSD 13型或17 β -HSD13) 基因表达及其蛋白表达。

发明内容

[0006] 在一些方面,本公开提供了用于治疗人类受试者中的非酒精性脂肪肝病的方法,其包括以约25至约200mg的剂量将化合物或其药学上可接受的盐施用于人类受试者,所述剂量基于化合物的游离酸形式计算,其中化合物包含与配体连接的双链寡核苷酸,其中双链寡核苷酸降低HSD17 β 13在人类受试者中的表达,并且其中所述配体包含以下化学结构:



[0008] (NAG37)_s、其立体异构体或其药学上可接受的盐。

附图说明

[0009] 图1显示了第71天时测试化合物在NASH (非酒精性脂肪性肝炎) 或NAFLD患者中对HSD17 β 13mRNA表达相对于基线的影响。箱显示Q1、中位数和Q3。十字标记显示平均值,而须延伸到最小值和最大值。

[0010] 图2A和图2B显示了测试化合物分别对NASH或NAFLD患者的肝酶ALT (丙氨酸氨基转

移酶)和AST(天冬氨酸氨基转移酶)的影响。

[0011] 图3A和图3B显示了第71天时测试化合物在具有HSD17 β 13rs72613567(图3A,箱显示Q1、中位数和Q3,十字标记显示平均值,而须延伸到最小值和最大值)和PNPLA3 rs738409(图3B,箱显示Q1、中位数和Q3,菱形显示平均值,且须延伸到最小值和最大值)的NASH或NAFLD患者中按基因分型对信使RNA敲低相对于基线的影响。

[0012] 图4显示了测试化合物的临床研究设计和给药方案。

[0013] 图5A至5D显示了呈游离酸形式的实施例2中描述的测试化合物的化学结构。圆圈中的数字表示由于长度而分为四页的结构部分的连接点。

[0014] 图6A至6D显示了呈钠盐形式的实施例2中描述的测试化合物的化学结构。圆圈中的数字表示由于长度而分为四页的结构部分的连接点。

[0015] 图7显示了基于实施例2中的临床结果的靶标参与模拟,以进一步支持每12周或3个月200mg的剂量。

具体实施方式

[0016] 在一些情况下,本文公开的治疗可以降低HSD17 β 13的肝细胞产生,并在患有或疑似NAFLD和潜在的其他慢性肝病的人类受试者中提供治疗和/或保护作用。在患有NASH或疑似NASH(例如ALT高的NAFLD)的人类患者的一些情况下,基于给药后第71天的活检,治疗可在约25至约200mg剂量水平下导致HSD17 β 13mRNA表达降低,例如接近最大降低(例如至少降低约90%)。对于本文公开的剂量,例如100和200mg,治疗抑制了携带PNPLA3 rs738409CG或GG基因型的受试者中的HSD17 β 13,这些基因型与NASH肝硬化风险增加有关,且与缺乏PNPLA3突变的受试者相比,此种抑制作用可为基本相同的。在一些情况下,HSD17 β 13表达降低可导致或伴随ALT和AST的降低,所述ALT和AST是NASH中的肝脏炎症的替代标志物。

[0017] 除非另有说明,否则本文使用的术语“约”意指所指涉数字的正负5%。

[0018] 除非另有说明,否则术语“一个(a)”、“一种(an)”和“所述(the)”包括单数和复数引用。

[0019] 使用的化合物

[0020] 本文公开的被用于治疗人类受试者的化合物可以包括例如降低HSD17B13表达的RNA干扰(RNAi)剂“HSD17B13 RNAi剂”。在一些情况下,化合物包含靶向HSD17 β 13的双链寡核苷酸,所述寡核苷酸与含半乳糖的配体连接,可优先被肝细胞摄取以促进肝脏特异性,随后所述化合物将接合细胞的RNAi机制,以靶向HSD17 β 13mRNA进行降解,从而减少用于翻译的游离HSD17 β 13mRNA的量。这些因素可以使化合物的脱靶效应或肝外抑制最小化,并有助于化合物可接受的安全性概况。在一些情况下,本文的化合物靶向与HSD17 β 13的敲低有关,模拟NASH中的LOF(功能丧失)突变。

[0021] 如本文所使用的,当提及HSD17B13的表达时,术语“降低”、“沉默”、“抑制”、“下调”或“敲低”可以意指在基因于其中转录的细胞、细胞群、组织、器官或受试者中,当用RNAi剂处理该细胞、细胞群、组织、器官或受试者时,该基因的表达与未被这样处理的第二细胞、细胞组、组织、器官或受试者相比降低,如通过从基因转录的mRNA(信使RNA)的水平或从mRNA翻译的蛋白质(或蛋白质亚基)的水平测量的。HSD17B13的降低可以通过本领域已知的任何适当的测定或方法来测量。非限制性示例测定包括用于HSD17B13基因定量的微阵列、

Affymetrix基因芯片和qRT-PCR(定量逆转录酶聚合酶链式反应),以及用于HSD17B13蛋白测量的凝胶电泳(比如蛋白质印迹)和质谱,以及国际专利申请公开号WO 2020/061177(专利申请号PCT/US2019/051707)中所述的那些测定,其全部内容通过引用并入本文。正常人的参考HSD17B13 mRNA基因转录本可以是转录本变体A,GenBank NM_178135.4。在一些情况下,通过将本文公开的治疗前人类受试者中HSD17B13 mRNA或HSD17B13蛋白的基线水平与施用化合物后的HSD17B13mRNA或HSD17B13蛋白水平进行比较来测量基因表达的降低。

[0022] 本文公开的化合物可以含有一个或多个不对称中心(也被称为手性中心),且因此可以作为单独的对映异构体、非对映异构物或其他形式的立体异构体或者作为其混合物存在。手性中心,比如手性碳原子,也可能存在于取代基比如烷基中。在本文所示的任何化学结构中的手性中心的立体化学没有具体说明的情况下,该结构预期涵盖任何立体异构体及其所有混合物。在一些情况下,本文公开的含有一个或多个手性中心的化合物可以被用作外消旋修饰,包括外消旋混合物和外消旋物、对映体富集的混合物,或用作对映体纯的单独的立体异构体。在一些情况下,本文中的化合物以盐、混合盐或游离酸的形式提供。

[0023] 含有一个或多个不对称中心的单独的立体异构体可以通过本领域技术人员已知的方法分辨。例如,此类分辨可以(1)通过形成非对映异构体盐、复合物或其他衍生物;(2)通过与立体异构体特异性试剂的选择性反应,例如通过酶氧化或还原;或(3)通过在手性环境中,例如在具有结合的手性配体的手性支撑体比如二氧化硅上或在手性溶剂的存在下,通过气液或液相色谱法来进行。将理解的是,在期望的立体异构体通过上述分离程序之一转化为另一种化学实体的情况下,需要进一步的步骤来释放期望的形式。备选地,特定的立体异构体可以通过使用光学活性试剂、底物、催化剂或溶剂的不对称合成,或者通过由不对称转化将一种对映异构体转化为另一种来合成。在一些情况下,本文使用的化合物包括退火以形成双链的有义链(也被称为乘客链)和反义链(也称为引导链)。

[0024] 在一些情况下,化合物包含双链寡核苷酸,例如包含RNA、化学修饰的RNA、DNA或化学修饰的DNA寡核苷酸分子,其中任何一种都可以具有两条互补序列。在一些情况下,双链寡核苷酸能够以序列特异性方式降解或抑制HSD17B13 mRNA的信使RNA(mRNA)转录本的翻译。在一些情况下,本文公开的化合物可以通过RNA干扰机制(即通过与哺乳动物细胞的RNA干扰途径机制(RNA诱导沉默复合物或RISC)相互作用来诱导RNA干扰)或通过任何备选的(一种或多种)机制或途径运行。虽然据信HSD17B13 RNAi剂(如本文使用的术语)主要通过RNA干扰机制运行,但所公开的RNAi剂不受任何特定途径或作用机制的约束或限制。在一些情况下,化合物包含短或小干扰RNA(siRNA)、双链RNA(dsRNA)、微RNA(miRNA)、短发夹RNA(shRNA)或切丁酶(dicer)底物。在一些情况下,本文使用的化合物包括反义链,其具有与HSD17B13 mRNA的至少一部分互补的区域。

[0025] 在一些情况下,本文使用的化合物具有长度为15至49个核苷酸的有义链和长度为18至49个核苷酸的反义链。在一些情况下,有义链和反义链的长度独立地为18至26个核苷酸。在一些情况下,有义链和反义链的长度独立地为21至26个核苷酸。在一些情况下,有义链和反义链的长度独立地为21至24个核苷酸。在一些情况下,有义链的长度为15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸。在一些情况下,反义链的长度为18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸。在一些情况下,有义链和反义链的长度都是21个核苷酸。有义链和反义链可以是相同长度或不同长度。有义链和反义链也可

以在核苷酸链的一端或两端形成悬垂核苷酸。

[0026] 适用于本文的化合物可以共价连接到包括一个或多个N-乙酰基半乳糖胺部分的配体上。N-乙酰基半乳糖胺部分可以促进HSD17B13 RNAi剂靶向肝细胞表面容易存在的去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR),这导致HSD17B13-RNAi剂通过内吞或其他方式内化。

[0027] 修饰的核苷酸和修饰的核苷间链

[0028] 本文公开的化合物,例如HSD17B13 RNAi剂,可以包含修饰的核苷酸,这可以保持RNAi剂的活性,同时提高血清稳定性,并使在人类中激活干扰素活性的可能性最小化。如本文所使用的,“修饰的核苷酸”是除核糖核苷酸(2'-羟基核苷酸)之外的核苷酸。在一些情况下,至少50%(例如至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%)的核苷酸是修饰的核苷酸。如本文所使用的,修饰的核苷酸包括但不限于脱氧核糖核苷酸、核苷酸模拟物、2'-修饰的核苷酸、反向核苷酸、包含修饰的核碱基的核苷酸、桥接核苷酸、肽核酸(PNA)、2',3'-开环核苷酸模拟物(未锁核碱基类似物)、锁核苷酸、3'-O-甲氧基(2'-核苷间连接的)核苷酸、2'-F-阿拉伯核苷酸、5'-Me、2'-氟核苷酸、吗啉代核苷酸、含膦酸乙烯酯的核苷酸和含膦酸环丙酯的核苷酸。在一些情况下,HSD17B13 RNAi剂的修饰的核苷酸是2'修饰的核苷酸(即在五元糖环的2'位置处具有羟基以外的基团的核苷酸)。2'-修饰的核苷酸包括但不限于2'-O-甲基核苷酸、2'-脱氧-2'-氟核苷酸(通常被简称为2'-氟核苷酸)、2'-脱氧核苷酸、2'-甲氧基乙基(2'-O-2-甲氧基乙基)核苷酸、2'-氨基核苷酸和2'-烷基核苷酸。可能不需要对给定RNAi剂中的所有核苷酸进行均匀修饰。在一些情况下,可以在单个HSD17B13RNAi剂中,甚至在其单个核苷酸中掺入多于一个修饰。HSD17B13RNAi剂的有义链和反义链可以通过本领域已知的方法合成和/或修饰。一个核苷酸上的修饰可以独立于另一个核苷酸的修饰。

[0029] 在一些情况下,本文公开的核碱基(通常被简称为“碱基”)可为修饰的。天然核碱基可以包括基础嘌呤碱基腺嘌呤和鸟嘌呤,以及基础嘧啶碱基胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶。核碱基可以被修饰为包括但不限于通用碱基、疏水碱基、混杂碱基、尺寸膨胀碱基和氟化碱基。此类修饰的核碱基(包括含有修饰核碱基的亚磷酰胺化合物)的合成在本领域中是已知的。

[0030] 修饰的核碱基包括例如5-取代嘧啶、6-氮杂嘧啶和N-2、N-6和O-6取代嘌呤(例如2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶或5-丙炔基胞嘧啶)、5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羟甲基胞嘧啶、肌苷、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、腺嘌呤和鸟嘌呤的6-烷基(例如6-甲基、6-乙基、6-异丙基或6-正丁基)衍生物、腺嘌呤和鸟嘌呤的2-烷基(例如2-甲基、2-乙基、2-异丙基或2-正丁基)以及其他烷基衍生物,2-硫代尿嘧啶、2-硫代胸腺嘧啶、2-硫代胞嘧啶、5-卤代尿嘧啶、胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫代尿嘧啶,8-卤代、8-氨基、8-巯基、8-硫代烷基、8-羟基和其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤,5-卤(如5-溴)、5-三氟甲基和其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶,7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤、7-脱氮杂鸟嘌呤、7-脱氮杂腺嘌呤、3-脱氮杂鸟嘌呤和3-脱氮杂腺嘌呤。

[0031] 在一些情况下,本文公开的化合物(例如HSD17B13 RNAi剂)的所有或基本所有核苷酸都是修饰的核苷酸。如本文所使用的,其中基本上所有核苷酸都是修饰的核苷酸的RNAi剂是在有义链和反义链中都具有四个或更少个(即0、1、2、3或4个)核苷酸为核糖核苷

酸(即未修饰的)的RNAi剂。如本文所使用的,其中基本上所有核苷酸都是修饰的核苷酸的有义链是在有义链中具有两个或更少个(即0、1或2个)核苷酸为核糖核苷酸的有义链。如本文所使用的,其中基本上所有核苷酸都是修饰的核苷酸的反义链是在有义链中具有两个或更少个(即0、1或2个)核苷酸为核糖核苷酸的反义链。

[0032] 在一些情况下,本文公开的化合物(例如HSD17B13 RNAi剂)的一个或多个核苷酸通过非标准键或骨架(即修饰的核苷间键或修饰的骨架)连接。修饰的核苷间键或骨架包括但不限于硫代磷酸酯(phosphorothioate)基团、手性硫代磷酸酯、硫代磷酸酯(thiophosphate)、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、烷基磷酸酯(例如甲基磷酸酯或3'-亚烷基磷酸酯)、手性磷酸酯、次磷酸酯、磷酰胺酯(例如3'-氨基磷酰胺酯、氨基烷基磷酰胺酯或硫代磷酰胺酯)、硫代烷基磷酸酯、硫代烷基磷酸三酸酯、吗啉代键、具有正常3'-5'键的硼烷磷酸酯、2'-5'连接的硼烷磷酸酯类似物,或具有倒转极性的硼烷磷酸酯,其中相邻的核苷单元对连接为3'-5'至5'-3'或2'-5'至5'-2'。在一些情况下,修饰的核苷间键或骨架缺少磷原子。缺少磷原子的修饰的核苷键包括但不限于短链烷基或环烷基糖间键,混合杂原子和烷基或环烷基糖间键,或一个或多个短链杂原子或杂环糖间键。在一些情况下,修饰的核苷间骨架包括但不限于硅氧烷骨架、硫化物骨架、亚砷骨架、砷骨架、乙酰基和硫代乙酰基骨架、亚甲基乙酰基和硫代乙酰基骨架、含烯烃骨架、氨基磺酸盐骨架、亚甲基亚氨基和亚甲基胍基骨架、磺酸盐和磺酰胺骨架、酰胺骨架以及具有混合N、O、S和CH₂组分的其他骨架。

[0033] 在一些情况下,本文公开的化合物(例如HSD17B13 RNAi剂)的有义链可以含有1、2、3、4、5或6个硫代磷酸酯键,HSD17B13-RNAi剂的反义链可以含有1、2、3、4、5、6个硫代硫酸键,或者有义链和反义链都可以独立地含有1、2、3、4、5或6个硫代磷酸键。在一些情况下,HSD17B13 RNAi剂的有义链可以含有1、2、3或4个硫代磷酸酯键,HSD17B13 RNAi剂的反义链可以包含1、2、3或4个硫代磷酸酯键,或者有义链和反义链都可以独立地含有1、2、3或4个硫代磷酸酯键。

[0034] 在一些情况下,本文公开的化合物(例如HSD17B13 RNAi剂)的有义链含有至少两个硫代磷酸酯核苷间键。在一些情况下,至少两个硫代磷酸酯核苷间键位于有义链3'端1-3位的核苷酸之间。在一些情况下,至少两个硫代磷酸酯核苷间键位于有义链5'端起1-3、2-4、3-5、4-6、4-5或6-8位的核苷酸之间。在一些情况下,硫代磷酸酯核苷间键被用于将有义链中的末端核苷酸连接到核苷酸序列5'端、3'端或5'和3'端二者的加帽残基。在一些情况下,硫代磷酸酯核苷间键被用于将配体连接到有义链上。

[0035] 在一些情况下,本文公开的化合物(例如HSD17B13 RNAi剂)的反义链含有三个或四个硫代磷酸酯核苷间键。在一些情况下,反义链包含三个硫代磷酸酯核苷间键。在一些情况下,三个硫代磷酸酯核苷间键位于反义链5'端起1-3位的核苷酸之间,以及5'端起19-21、20-22、21-23、22-24、23-25或24-26位的核苷酸间。在一些情况下,化合物在有义链中至少含有两个硫代磷酸酯核苷间键,而在反义链中含有三个或四个硫代磷酸酯核苷间键。

[0036] 在一些情况下,本文公开的化合物(例如HSD17B13 RNAi剂)含有一个或多个修饰的核苷酸和一个或多个修饰的核苷间键。在一些情况下,2'修饰的核苷与修饰的核苷间键结合。

[0037] 表1A. 示例性反义链序列

SEQ ID NO.	反义链(修饰的) (5' → 3')	SEQ ID NO.	基础碱基序列 (5' → 3')
[0038] 1	usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg	2	UCAUCUAUCAGACUUCUACG

[0039] 表1B. 示例性有义链核苷酸序列(显示为没有反向无碱基残基或NAG配体的修饰版本)

SEQ ID NO.	有义链(修饰的) (5' → 3')	SEQ ID NO.	基础碱基序列 (5' → 3')
[0040] 3	cguaagaaGfuCfuGfauagauga	4	CGUAAGAAGUCUGAUAGAUGA

[0041] 如本文表1A、1B和2中使用的,以下符号被用于指示修饰的核苷酸、配体基团和连接基团:A、C、G和U分别代表腺苷、胞苷、鸟苷和尿苷;a、c、g和u分别代表2'-O-甲基腺苷、胞苷、鸟苷和尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、胞苷、鸟苷和尿苷;s代表硫代磷酸酯键;(invAb)表示反向的无碱基脱氧核糖残基(见表2);以及(NAG37) s表示下表3所示的结构。

[0042] 除非序列另外指明(例如通过硫代磷酸酯键“s”),否则当单体存在于链中时,单体可以通过5'-3'-磷酸二酯键相互连接。在一些情况下,本文公开的修饰核苷酸序列中所示的硫代磷酸酯键取代了寡核苷酸中通常存在的磷酸二酯键。在一些情况下,给定寡核苷酸序列3'末端的末端核苷酸将通常在给定单体的相应3'位置具有羟基(-OH),而不是离体磷酸酯部分。在一些情况下,当5'→3'观察相应的链时,插入反向的无碱基残基,使得脱氧核糖的3'位置连接在相应链上先前单体的3'端。此外,本领域普通技术人员将容易理解和认识到,虽然本文所述的硫代磷酸酯化学结构通常显示硫原子上的阴离子,但本公开包括硫代磷酸酯互变异构体(例如其中硫原子具有双键,且阴离子在氧原子上)。在一些情况下,每条有义链和/或反义链可以具有本文公开的任何连接基团,连接到序列的5'和/或3'端。

[0043] 加帽残基

[0044] 在一些情况下,本文公开的有义链可能包括一个或多个加帽残基,有时称为“帽”、“末端帽”或“加帽残基”。如本文所使用的,“加帽残基”是非核苷酸化合物或其他部分,其可以掺入本文公开的RNAi剂的核苷酸序列的一个或多个末端。加帽残基可以为RNAi剂提供某些有益的特性,例如防止核酸外切酶降解。在一些情况下,反向无碱基残基(invAb)(也被称为“反向无碱基位点”)被添加为加帽残基(见表2)。加帽残基包括例如反向的无碱基残基以及碳链比如末端C₃H₇(丙基)、C₆H₁₃(己基)或C₁₂H₂₅(十二烷基)基团。在一些情况下,加帽残基存在于有义链的5'末端、3'末端或5'和3'末端两者。在一些情况下,有义链的5'端和/或3'端可能包含多于一个的反向无碱基脱氧核糖部分作为加帽残基。

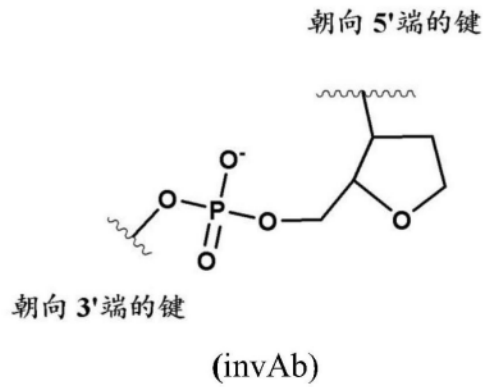
[0045] 在一些情况下,一个或多个反向无碱基残基(invAb)被添加到有义链的3'末端。在一些情况下,一个或多个反向无碱基残基(invAb)被添加到有义链的5'端。在一些情况下,一个或多个反向无碱基残基或反向无碱基位点被插入到配体和RNAi剂有义链的核苷酸序列之间。在一些情况下,在RNAi剂的有义链的一个或两个末端处或末端附近包含一个或多个反向无碱基残基或反向无碱基位点允许RNAi剂增强的活性或其他期望的特性。

[0046] 在一些情况下,一个或多个反向无碱基残基(invAb)被添加到有义链的5'端。在一些情况下,一个或多个反向的无碱基残基可以被插入到配体和RNAi剂有义链的核苷酸序列

之间。反向的无碱基残基可以经由磷酸酯、硫代磷酸酯(例如本文中显示为(invAb)s)或其他核苷间键连接。反向无碱基脱氧核糖残基的化学结构显示于以下表2中以及图5A至5D和图6A至6D所示的化学结构中。

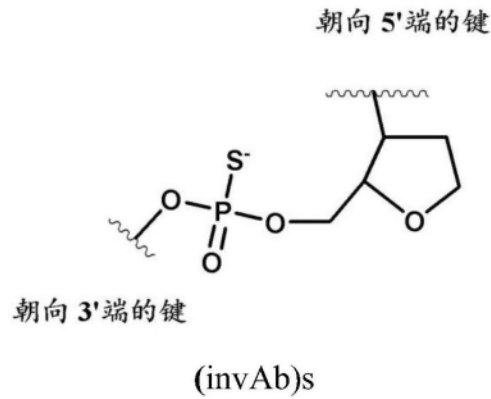
[0047] 表2. 反向无碱基(脱氧核糖)化学结构

当位于内部时:



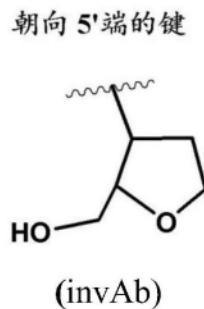
[0048]

当位于内部时:



当位于 3'末端时:

[0049]



[0050] 连接配体

[0051] 在一些情况下,本文使用的化合物可以包括RNA分子,比如HSD17B13 RNAi剂,其为一个或多个非核苷酸基团连接,比如可以增强RNAi剂靶向或递送的配体。实例包括本公开中描述的三个N-乙酰基半乳糖胺部分。配体可以与有义链和/或反义链的3'和/或5'端共价连接。在一些情况下,化合物含有与有义链的3'和/或5'端连接的配体。在一些情况下,配体连接到有义链的5'端。在一些情况下,配体包含结构(NAG37)s、基本上由其组成或由其组成,并连接到有义链的5'端。配体可以经由接头/连接基团直接或间接连接到RNAi剂。在一些情况下,配体经由不稳定、可切割或可逆的键或接头与RNAi剂连接。在一些情况下,配体与有义链5'端的反向无碱基残基连接。

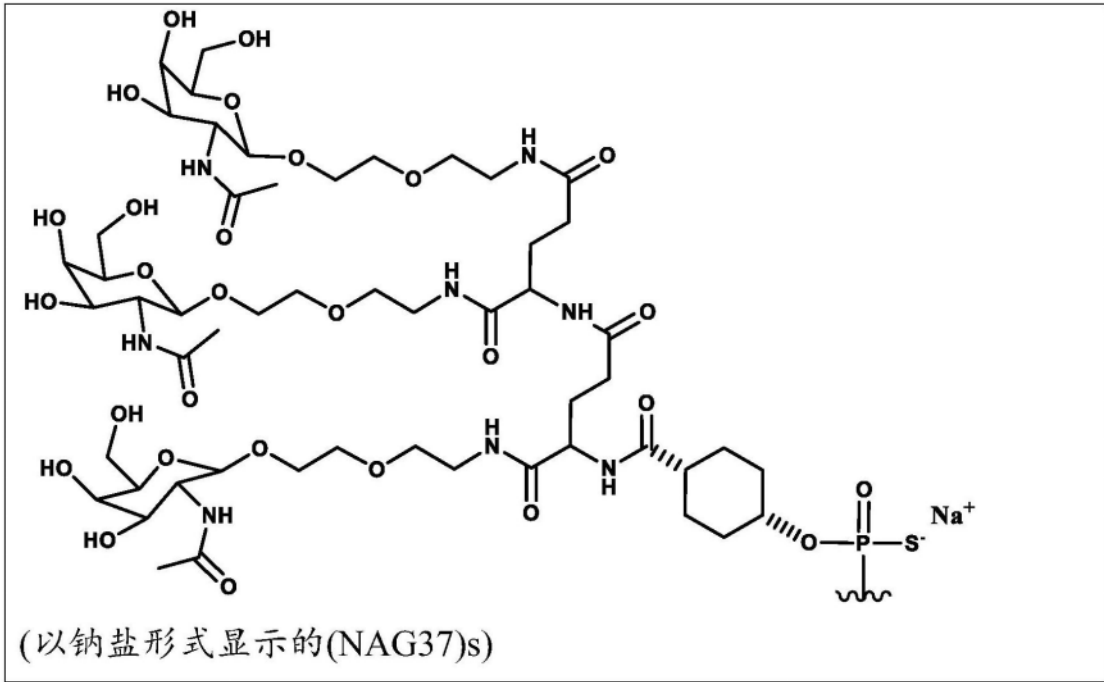
[0052] 本文公开的配体可以增强它们所附接的RNAi剂的药代动力学或生物分布特性,以改善RNAi剂的细胞特异性分布和细胞特异性摄取。在一些情况下,配体增强RNAi剂的内吞作用。在一些情况下,配体对其所针对的靶标可以是单价、二价、三价、四价,或者具有更高的价态。代表性配体包括但不限于与细胞表面分子具有亲和力的化合物、细胞受体配体、半抗原、抗体、单克隆抗体、抗体片段和与细胞表面分子具有亲和力的抗体模拟物。

[0053] 配体的制备,例如包括N-乙酰基半乳糖胺的半乳糖衍生物簇,在例如国际专利申请公开号W0 2018/044350(专利申请号PCT/US2017/021147)和国际专利申请公布号W0 2017/156012(专利申请号PCT/US2017/021175)中描述,两者的全部内容通过引用并入本文。

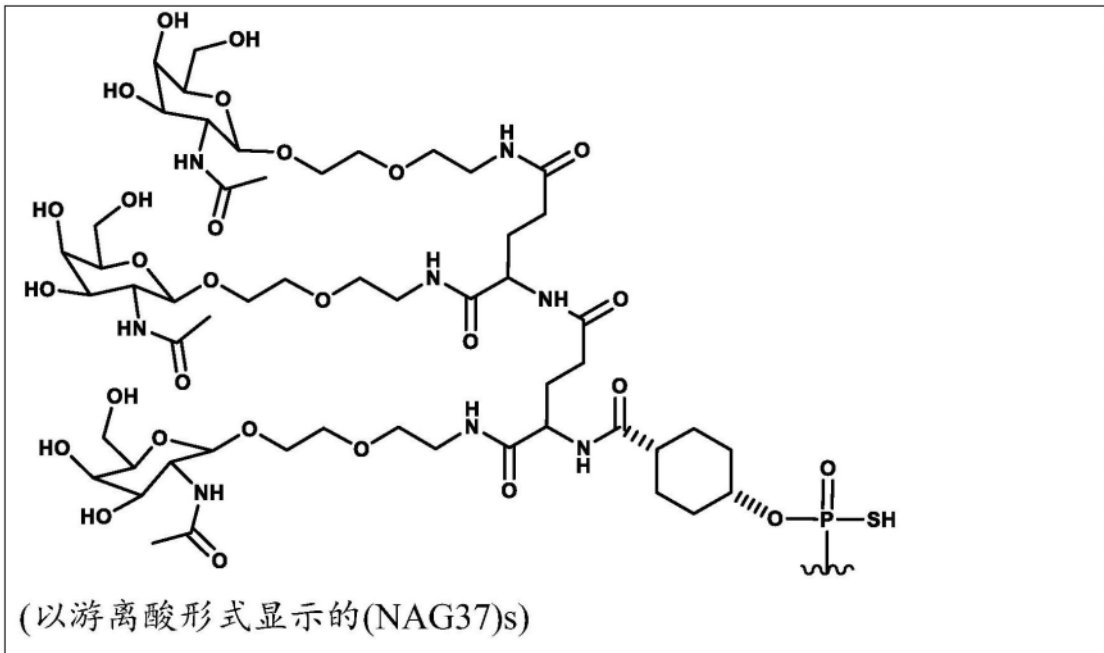
[0054] 例如,与表1A和1B中描述的HSD17B13 RNAi剂连接的配体可以具有(NAG37)s的化学结构,如表3所示。

[0055] 表3. (NAG37)s的化学结构。

[0056]



[0057]



[0058] 药物组分

[0059] 适用于本文的化合物,例如HSD17B13 RNAi剂,可以被配制为药物组合物,用于施用给人类受试者。药物组合物可被用于治疗或预防患有疾病或病症的受试者,所述疾病或病症将受益于抑制HSD17B13 mRNA的表达或降低HSD17B13蛋白的水平,例如患有非酒精性脂肪肝的人类受试者。在一些情况下,将一种或多种药学上可接受的赋形剂(包括媒介物、载体、稀释剂和/或递送聚合物)添加到包含HSD17B13 RNAi剂的药物组合物中,从而形成适合体内递送至人类受试者的药物制剂。

[0060] 如本文所使用的,“药理学有效量”、“治疗有效量”或简称为“有效量”是指产生药理学、治疗或预防结果的活性剂的量。在一些情况下,向有需要的受试者施用治疗或预防有效量的一种或多种药物组合物,以减少受试者疾病症状的数量、严重程度和/或频率。

[0061] 如本文所使用的, 药物组合物或药物包括药理学有效量的至少一种本文公开的化合物和一种或多种药学上可接受的赋形剂。赋形剂是除活性药物成分 (API, 治疗产品, 例如 HSD17B13 RNAi 剂) 之外的物质, 其被有意包括在药物递送系统中。赋形剂在预期剂量下不起或预期不起治疗作用。赋形剂可起到以下作用: a) 在制造过程中有助于药物递送系统的加工, b) 保护、支持或增强 API 的稳定性、生物利用度或患者可接受性, c) 有助于产品鉴定, 和/或 d) 增强在储存或使用过程中 API 递送的总体安全性、有效性的任何其他属性。

[0062] 赋形剂可能包括但不限于: 吸收增强剂、抗粘附剂、消泡剂、抗氧化剂、粘合剂、缓冲剂、载体、涂层剂、着色剂、递送增强剂、递送聚合物、葡聚糖、葡萄糖、稀释剂、崩解剂、乳化剂、增量剂、填充剂、风味剂、助流剂、保湿剂、润滑剂、油、聚合物、防腐剂、盐水、盐、溶剂、糖、悬浮剂、缓释基质、甜味剂、增稠剂、张力剂、媒介物、防水剂和润湿剂。

[0063] 适用于注射的药物组合物包括无菌水溶液 (在水溶性的情况下)。对于皮下或静脉内或肌肉内施用, 合适的载体可包括生理盐水、抑菌水、**Cremophor® ELTM** (BASF, Parsippany, NJ) 或磷酸盐缓冲液。它在制造和储存条件下应为稳定的, 并应防止诸如细菌和真菌等微生物的污染作用。载体可以是溶剂或分散介质, 其包含例如水、乙醇、多元醇 (例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇) 及其合适的混合物。

[0064] 无菌可注射溶液可以通过将所需量的活性化合物与上述一种或多种成分按要求掺入适当的溶剂中, 然后进行过滤消毒来制备。在一些情况下, 分散体是通过将活性化合物掺入无菌媒介物中制备的, 所述媒介物含有基础分散介质和来自上述的那些的所需的其他成分。

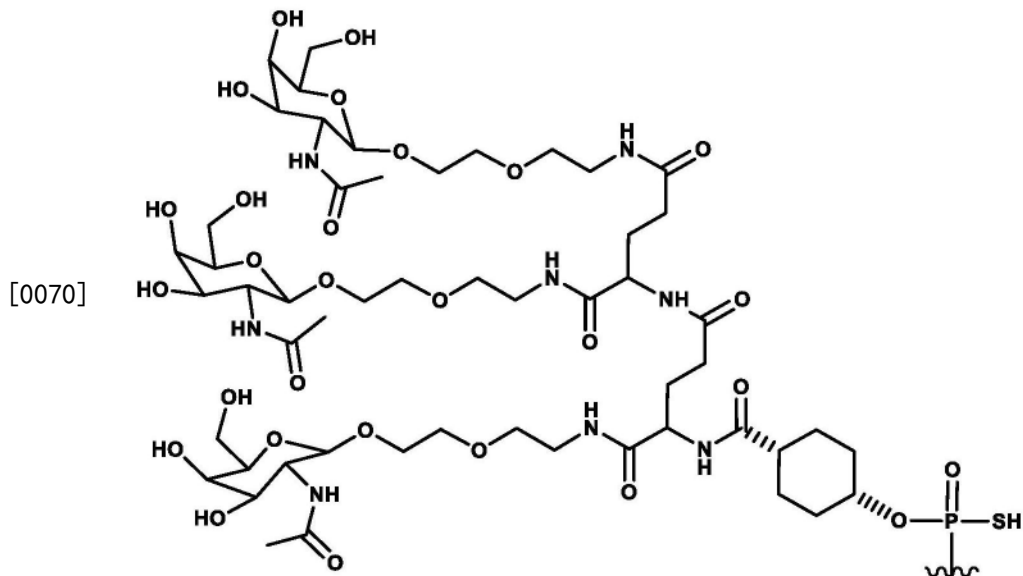
[0065] 药物组合物可以含有药物组合物中常见的其他附加组分。此类附加成分选自活性剂, 比如止痒剂、止血剂、局部麻醉剂、抗炎剂或抗组胺药。

[0066] 所述药学上可接受的制剂可以被包装至试剂盒、容器、包装或分配器内。本文所述的药物组合物可以被包装在预填充的注射器或小瓶中。

[0067] 治疗方法

[0068] 如本文所使用的, 术语“治疗 (treat)”、“治疗 (treatment)”和“治疗 (treating)”等可以包括预防、管理、预防性治疗、降低和/或抑制受试者中疾病和/或疾病的一种或多种症状的数量、严重程度和/或频率。在一些情况下, 术语“治疗 (treat)”、“治疗 (treatment)”和“治疗 (treating)”等意指管理、降低和/或抑制受试者中疾病和/或疾病的一种或多种症状的数量、严重程度和/或频率。除非另有明确说明, 否则治疗还可以包括缓解或减轻疾病的潜在条件和/或症状。

[0069] 实施方案1: 治疗有此需要的人类受试者的非酒精性脂肪肝病的方法, 其包括将化合物或其药学上可接受的盐以约25至约200mg的剂量施用给受试者, 其中剂量基于化合物的游离酸形式计算, 其中化合物包含与配体连接的双链寡核苷酸, 其中双链寡核苷酸降低了人类受试者中HSD17 β 13的表达, 并且其中配体包含以下化学结构:



[0071] (NAG37)_s、其立体异构体或其盐(例如药学上可接受的盐)。

[0072] 实施方案2:实施方案1的方法,其中施用为单剂量。

[0073] 实施方案3:实施方案1的方法,其中重复施用一次,例如以剂量之间约28天(即4周)、约12周或约3个月的间隔,例如每4周约100mg,或每12周约200mg,任选地持续约52周或约1年。在一些情况下,每4周重复施用一次,例如以100mg的剂量。在一些情况下,每12周重复施用一次,例如以200mg的剂量。

[0074] 实施方案4:实施方案1-3中任一项的方法,其中剂量为约50mg至约100mg,例如约50mg。

[0075] 实施方案5:实施方案1-3中任一项的方法,其中剂量为约100mg至约200mg,例如约100mg。

[0076] 实施方案6:实施方案1-3中任一项的方法,其中剂量为约50mg至约200mg,例如约200mg。

[0077] 实施方案7:实施方案1-6中任一项的方法,其中所述化合物为钠盐形式。

[0078] 实施方案8:实施方案1-7中任一项的方法,其中所述化合物通过注射施用,例如以200mg/ml的浓度。

[0079] 实施方案9:根据实施方案8所述的方法,其中所述注射为皮下注射。

[0080] 实施方案10:实施方案1-9中任一项的方法,其中所述化合物以单位剂型存在,例如包括单个(单位)剂型。

[0081] 实施方案11:实施方案1-10中任一项的方法,其中所述非酒精性脂肪肝病是非酒精性脂肪性肝炎(NASH),例如肝硬化前非酒精性肝炎、NASH-F3、伴有桥接纤维化的NASH或经活检证实的NASH。

[0082] 实施方案12:实施方案1-11中任一项的方法,其中所述人类受试者具有HSD17β13rs72613567突变、PNPLA3 rs738409(I148M)突变或其组合。在一些情况下,人类受试者具有HSD17β13rs72613567突变。在一些情况下,人类受试者具有PNPLA3 rs738409(I148M)突变。

[0083] 实施方案13:实施方案1-12中任一项的方法,其中所述双链寡核苷酸包含反义链,

所述反义链包含与以下序列(5'→3')之一相差0或1个核苷酸的修饰的核苷酸序列:

[0084] usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:1);

[0085] usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:5);

[0086] usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc(核苷酸序列SEQ ID NO:6);或

[0087] usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc(核苷酸序列SEQ ID NO:7);

[0088] 并且其中a、c、g和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;且s代表硫代磷酸键。

[0089] 实施方案14:实施方案1-13中任一项的方法,其中所述双链寡核苷酸包含有义链,所述有义链包含与以下序列(5'→3')之一相差0或1个核苷酸的修饰的核苷酸序列:

[0090] cguaagaaGfuCfuGfauagauga(核苷酸序列SEQ ID NO:3);

[0091] cguaagaaGfUfCfugauagauga(核苷酸序列SEQ ID NO:8);

[0092] gccuaggaCfAfUfuuuugiauca(核苷酸序列SEQ ID NO:9);或

[0093] gccuaggaCfaUfuUfuugiauca(核苷酸序列SEQ ID NO:10);

[0094] 并且其中a、c、g、i和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷、2'-0-甲基肌苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;且s代表硫代磷酸键。

[0095] 实施方案15:实施方案1-14中任一项的方法,其中所述双链寡核苷酸包含反义链和有义链,所述反义链包含序列:usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:1),而所述有义链包含序列:

[0096] (NAG37)s(invAb)scguaagaaGfuCfuGfauagaugas(invAb)(核苷酸序列

[0097] SEQ ID NO:11),

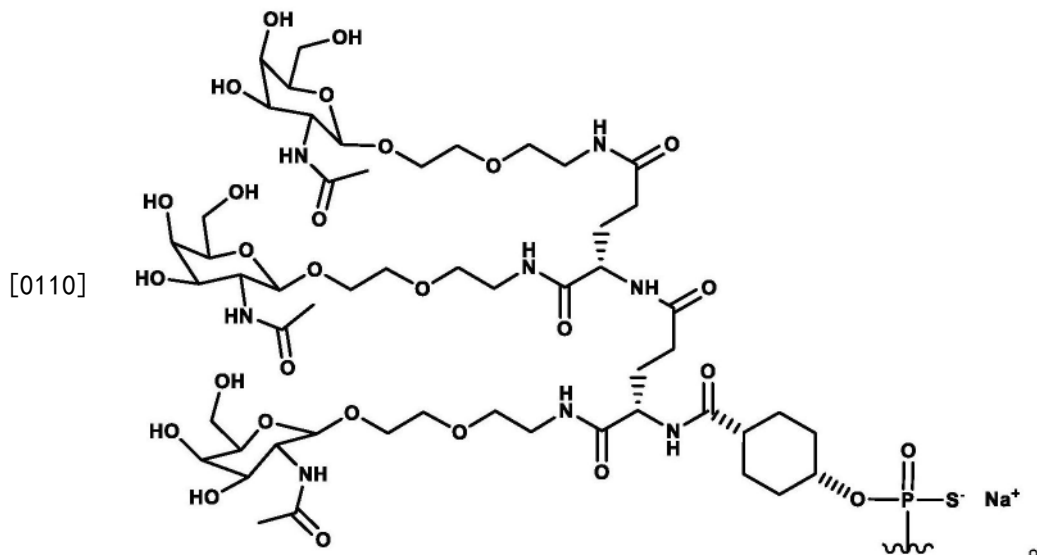
[0098] 并且其中a、c、g和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;s代表硫代磷酸键;且(invAb)表示反向无碱基脱氧核糖残基。

[0099] 实施方案16:实施方案1-15中任一项的方法,其中与施用前相比,所述方法在例如从第一次施用起约第71或113天时将人类受试者中HSD17 β 13mRNA的表达水平降低了至少约50%(例如至少约62%、至少约79%、至少约84%、至少约90%或至少约96%),如通过定量逆转录酶聚合酶链式反应(qRT-PCR)用来自人类受试者的肝活检样品测量的。

[0100] 实施方案17:实施方案1-16中任一项的方法,其中与施用前相比,所述方法在例如从第一次施用起约第71或113天时将人类受试者中HSD17 β 13蛋白的表达降低了至少约30%(例如至少约50%、至少约60%、至少约83%、至少约92%或至少约97%),如通过蛋白质印迹用来自人类受试者的肝活检样品测量的。

[0101] 实施方案18:实施方案1-17中任一项的方法,其中与施用前相比,所述方法在例如从第一次施用起约第71或113天时将人类受试者的ALT(丙氨酸氨基转移酶)水平降低了至少约7.7%(例如至少约14%、至少约26%、至少约36%或至少约39%),或至少约40%(例如至少约51%、至少约53%或至少约60%),如在人类受试者的血清中测量的。

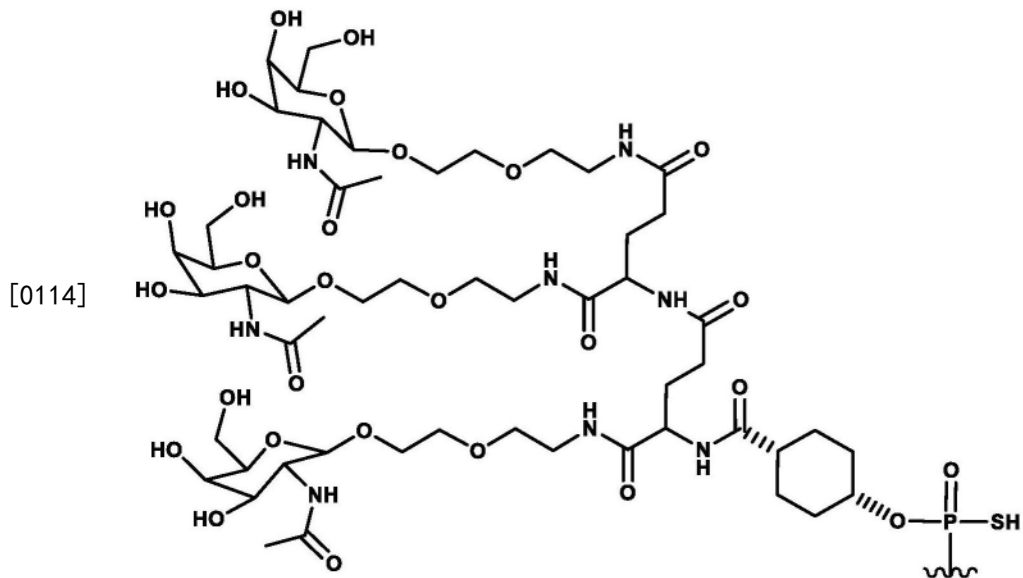
[0102] 实施方案19:实施方案1-18中任一项的方法,其中与施用前相比,所述方法在例如从第一次施用起约第71或113天时将人类受试者的AST(天冬氨酸氨基转移酶)水平降低了



[0111] 实施方案25:实施方案24的方法,其中所述化合物呈具有如图6A至6D所示的化学结构的钠盐形式。

[0112] 实施方案26:实施方案1-25中任一项的方法,其中与施用前相比,所述方法在例如从第一次使用起约第71或113天时将人类受试者的GGT(γ -谷氨酰转移酶)水平降低了至少约1.4%或至少8.3%或至少9%,如在人类受试者的血清中测量的。

[0113] 实施方案27:用于治疗人类受试者中非酒精性脂肪肝病的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述用途包括以约25至约200mg的剂量将所述化合物或其药学上可接受的盐施用于所述受试者,其中所述剂量基于所述化合物的游离酸形式计算,其中所述化合物包含与配体连接的双链寡核苷酸,其中所述双链寡核苷酸降低HSD17 β 13在所述人类受试者中的表达,并且其中所述配体包含以下化学结构:



[0115] (NAG37)_s、其立体异构体或其盐(例如药学上可接受的盐)。

[0116] 实施方案28:根据实施方案27所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中施用为单剂量。

[0117] 实施方案29:根据实施方案28所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中重

复施用一次,例如以剂量之间约28天(即4周)、约12周或约3个月的间隔,例如每4周约100mg,或每12周约200mg,任选地持续约52周或约1年。实施方案29a:根据实施方案28所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中每4周施用药约100mg,持续约52周。实施方案29b:根据实施方案28所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中每12周施用药约200mg,持续约52周。

[0118] 实施方案30:根据实施方案27-29中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中剂量为约50mg至约100mg,例如约50mg。

[0119] 实施方案31:根据实施方案27-29中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中剂量为约100mg至约200mg,例如约100mg。

[0120] 实施方案32:根据实施方案27-29中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中剂量为约50mg至约200mg,例如约200mg。

[0121] 实施方案33:根据实施方案27-32中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物呈钠盐形式。

[0122] 实施方案34:根据实施方案27-33中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物通过注射施用,例如以200mg/ml的浓度。

[0123] 实施方案35:根据实施方案34所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述注射是皮下的。

[0124] 实施方案36:根据实施方案27-35中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物以单位剂型施用,例如以单个单位剂型存在。

[0125] 实施方案37:根据实施方案27-36中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述非酒精性脂肪肝病是非酒精性脂肪性肝炎(NASH),例如肝硬化前非酒精性肝炎、NASH-F3、伴有桥接纤维化的NASH或经活检证实的NASH。

[0126] 实施方案38:根据实施方案27-37中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述人类受试者具有HSD17 β 13rs72613567突变、PNPLA3 rs738409(I148M)突变或其组合。

[0127] 实施方案39:根据实施方案27-38中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述双链寡核苷酸包含反义链,所述反义链包含与以下序列(5'→3')之一相差0或1个核苷酸的修饰的核苷酸序列:

[0128] usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:1);

[0129] usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:5);

[0130] usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc(核苷酸序列SEQ ID NO:6);或

[0131] usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc(核苷酸序列SEQ ID NO:7);

[0132] 并且其中a、c、g和u分别代表2'-O-甲基腺苷、2'-O-甲基胞苷、2'-O-甲基鸟苷和2'-O-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;且s代表硫代磷酸键。

[0133] 实施方案40:根据实施方案27-39中任一项所述的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述双链寡核苷酸包含有义链,所述有义链包含与以下序列(5'→3')之一相差0或1个核苷酸的修饰的核苷酸序列:

[0134] cguaagaaGfuCfuGfauagauga(核苷酸序列SEQ ID NO:3);

[0135] cguaagaaGfUfCfugauagauga(核苷酸序列SEQ ID NO:8);

[0136] gccuaggaCfAfUfuuuugiauca(核苷酸序列SEQ ID NO:9);或

[0137] gccuaggaCfaUfuUfuugiauca(核苷酸序列SEQ ID NO:10);

[0138] 并且其中a、c、g、i和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷、2'-0-甲基肌苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;且s代表硫代磷酸键。

[0139] 实施方案41:根据实施方案27-40中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,所述双链寡核苷酸包含反义链和有义链,所述反义链包含序列:usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:1),而所述有义链包含序列:

[0140] (NAG37)s(invAb)scguaagaaGfuCfuGfauagaugas(invAb)(核苷酸序列

[0141] SEQ ID NO:11),

[0142] 并且其中a、c、g和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;s代表硫代磷酸键;且(invAb)表示反向无碱基脱氧核糖残基。

[0143] 实施方案42:根据实施方案27-41中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中与施用前相比,所述用途在例如从第一次施用起约第71或113天时将人类受试者中HSD17 β 13mRNA的表达水平降低了至少约50%(例如至少约62%、至少约79%、至少约84%、至少约90%或至少约96%),如通过定量逆转录酶聚合酶链式反应(qRT-PCR)用来自人类受试者的肝活检样品测量的。

[0144] 实施方案43:根据实施方案27-42中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中与施用前相比,所述用途在例如从第一次施用起约第71或113天时将人类受试者中HSD17 β 13蛋白的表达降低了至少约30%(例如至少约50%、至少约60%、至少约83%、至少约92%或至少约97%),如通过蛋白质印迹用来自人类受试者的肝活检样品测量的。

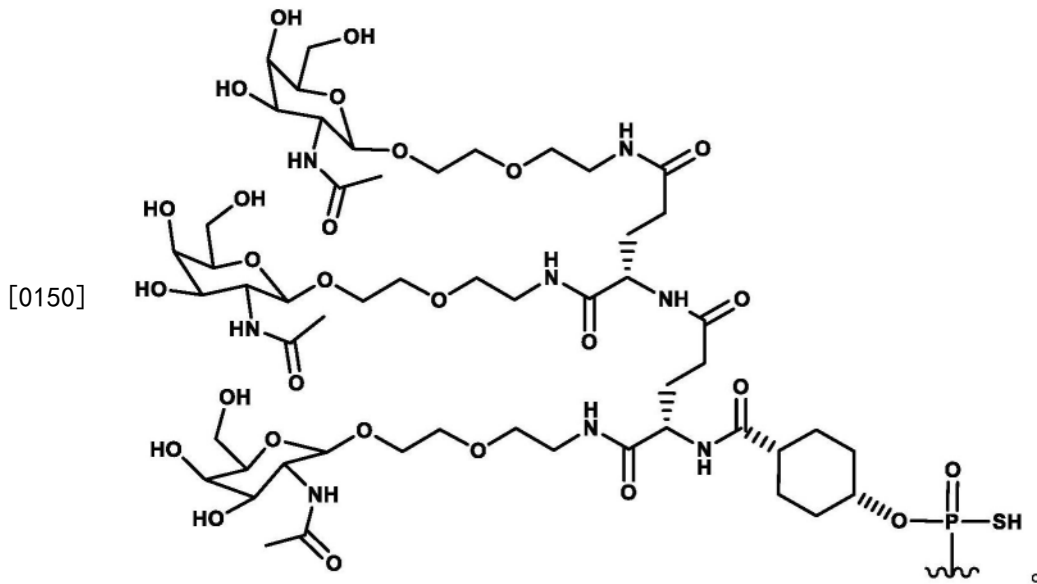
[0145] 实施方案44:根据实施方案27-43中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中与施用前相比,所述用途在例如从第一次施用起约第71或113天时将人类受试者的ALT(丙氨酸氨基转移酶)水平降低了至少约7.7%(例如至少约14%、至少约26%、至少约36%或至少约39%),或至少约40%(例如至少约51%、至少约53%或至少约60%),如在人类受试者的血清中测量的。

[0146] 实施方案45:根据实施方案27-44中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中与施用前相比,所述用途在例如从第一次施用起约第71或113天时将人类受试者的AST(天冬氨酸氨基转移酶)水平降低了至少约7.5%(例如至少约15%),或至少约20%(例如至少约24%,或至少约28%),如在人类受试者的血清中测量的。

[0147] 实施方案46:根据实施方案27-45中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中与施用前相比,所述用途在例如从第一次施用起约第71或113天时降低或减缓了人类受试者肝脏脂肪分数的增加(例如降低至少4-41%或至少约7-8%),如通过磁共振成像测量的。

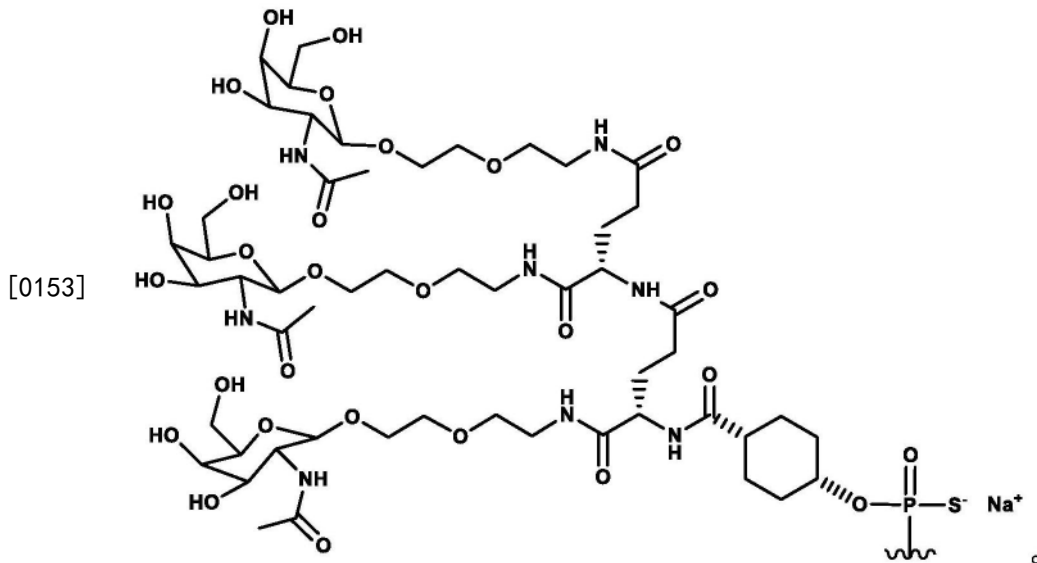
[0148] 实施方案47:根据实施方案27-46中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中与施用前相比,所述用途在例如从第一次施用起约第71或113天时降低或减缓了人类受试者肝硬度的增加(例如降低至少4-37%),如通过瞬态弹性成像测量的。

[0149] 实施方案48:根据实施方案27-47中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中配体的化学结构包括:



[0151] 实施方案49:根据实施方案48所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物呈具有如图5A至5D所示的化学结构的游离酸形式。

[0152] 实施方案50:根据实施方案27-47中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中配体的化学结构包括:

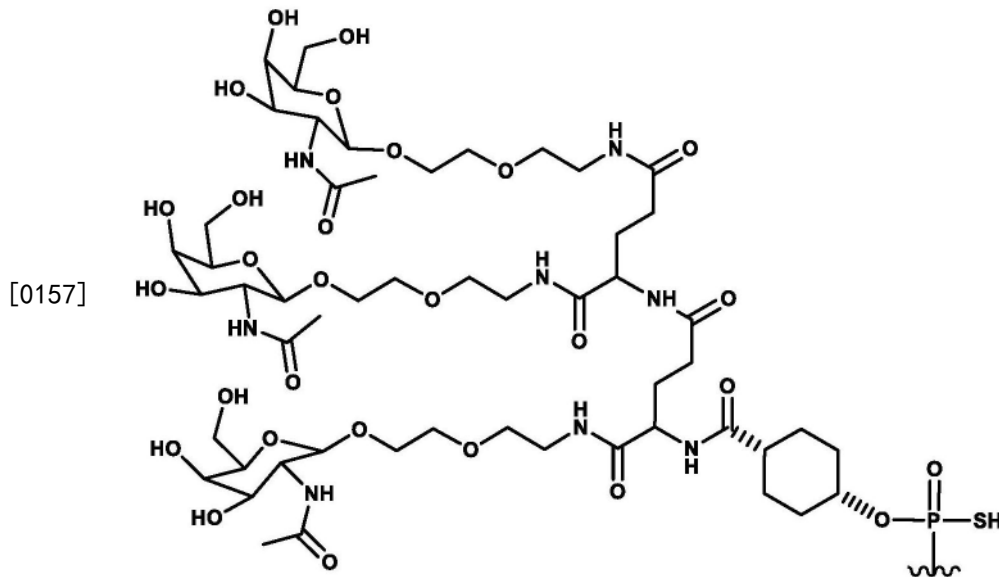


[0154] 实施方案51:根据实施方案50所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中所述化合物呈具有如图6A至6D所示的化学结构的钠盐形式。

[0155] 实施方案52:根据实施方案27-51中任一项所述使用的化合物或其药学上可接受的盐,其中与施用前相比,所述用途在例如从第一次使用起约第71或113天时将人类受试者的GGT(γ -谷氨酰转移酶)水平降低了至少约1.4%或至少8.3%或至少9%,如在人类受试者的血清中测量的。

[0156] 实施方案53:化合物或其药学上可接受的盐在制备用于治疗非酒精性脂肪肝病的药物中的用途,其中所述化合物或其药学上可接受的盐以约25至约200mg的剂量使用,其中

所述剂量基于所述化合物的游离酸形式计算,其中所述化合物包含与配体连接的双链寡核苷酸,其中所述双链寡核苷酸降低HSD17 β 13的表达,并且其中所述配体包含以下化学结构:



[0158] (NAG37)_s、其立体异构体或其药学上可接受的盐。

[0159] 实施方案54:实施方案53的用途,其中剂量为单剂量。

[0160] 实施方案55:实施方案53的用途,其中重复施用一次,例如以剂量之间约28天(即4周)、约12周或约3个月的间隔,例如每4周约100mg,或每12周约200mg,任选地持续约52周或约1年。实施方案55a:实施方案53的用途,其中每4周施用约100mg,持续52周。实施方案55b:实施方案53的用途,其中每12周施用约200mg,持续52周。

[0161] 实施方案56:实施方案53-55中任一项的用途,其中剂量为约50mg至约100mg,例如约50mg。

[0162] 实施方案57:实施方案53-55中任一项的用途,其中剂量为约100mg至约200mg,例如约100mg。

[0163] 实施方案58:实施方案53-55中任一项的用途,其中剂量为约50mg至约200mg,例如约200mg。

[0164] 实施方案59:实施方案53-58中任一项的用途,其中所述化合物呈钠盐形式。

[0165] 实施方案60:实施方案53-59中任一项的用途,其中所述化合物通过注射使用,例如以200mg/ml的浓度使用。

[0166] 实施方案61:实施方案60的用途,其中注射是皮下的。

[0167] 实施方案62:实施方案53-61中任一项的用途,其中所述化合物呈单位剂型。

[0168] 实施方案63:实施方案53-62中任一项的用途,其中所述非酒精性脂肪肝病是非酒精性脂性肝炎(NASH),例如肝硬化前非酒精性肝炎、NASH-F3、伴有桥接纤维化的NASH或经活检证实的NASH。

[0169] 实施方案64:实施方案53-63中任一项的用途,其中所述治疗针对具有HSD17 β 13rs72613567突变、PNPLA3 rs738409(I148M)突变或其组合的受试者。

[0170] 实施方案65:实施方案53-64中任一项的用途,其中所述双链寡核苷酸包含反义链,所述反义链包含与以下序列(5'→3')之一相差0或1个核苷酸的修饰的核苷酸序列:

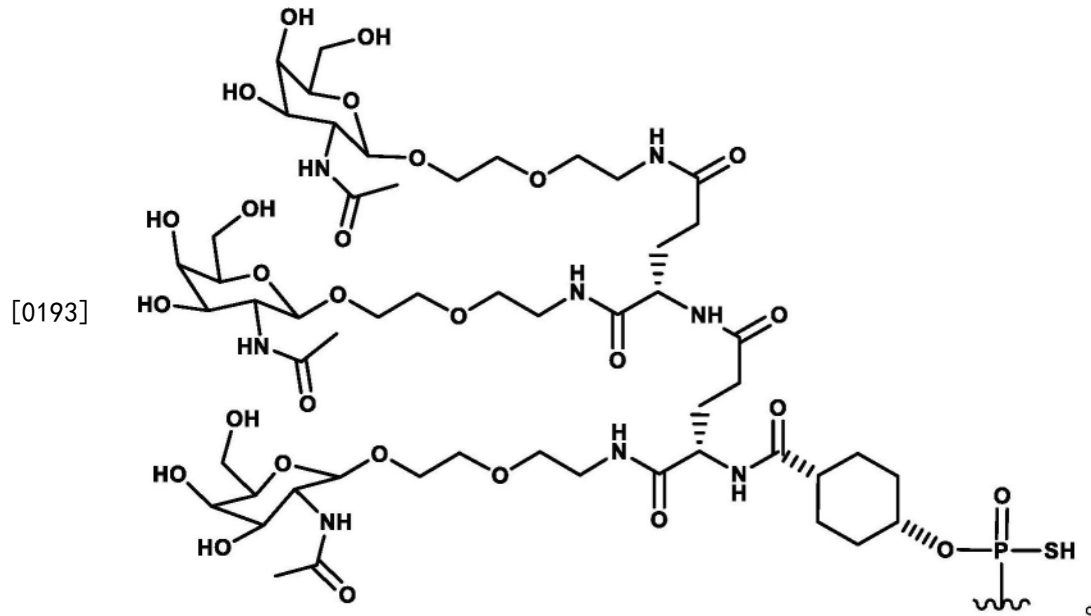
[0171] usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:1);

- [0172] usCfsasUfcUfaUfcAfgAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:5);
- [0173] usGfsasUfcCfaAfaAfaUfgUfcCfuAfgGfsc(核苷酸序列SEQ ID NO:6);或
- [0174] usGfsasUfcCfaaaaaUfgUfcCfuAfgGfsc(核苷酸序列SEQ ID NO:7);
- [0175] 并且其中a、c、g和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;且s代表硫代磷酸键。
- [0176] 实施方案66:实施方案53-65中任一项的用途,其中所述双链寡核苷酸包含有义链,所述有义链包含与以下序列(5'→3')之一相差0或1个核苷酸的修饰的核苷酸序列:
- [0177] cguaagaaGfuCfuGfauagauga(核苷酸序列SEQ ID NO:3);
- [0178] cguaagaaGfUfCfugauagauga(核苷酸序列SEQ ID NO:8);
- [0179] gccuaggaCfAfUfuuuugiauca(核苷酸序列SEQ ID NO:9);或
- [0180] gccuaggaCfaUfuUfuugiauca(核苷酸序列SEQ ID NO:10);
- [0181] 并且其中a、c、g、i和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷、2'-0-甲基肌苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;且s代表硫代磷酸键。
- [0182] 实施方案67:实施方案53-66中任一项的用途,其中所述双链寡核苷酸包含反义链和有义链,所述反义链包含序列:usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg(核苷酸序列SEQ ID NO:1),而所述有义链包含序列:
- [0183] (NAG37)s(invAb)scguaagaaGfuCfuGfauagaugas(invAb)(核苷酸序列
- [0184] SEQ ID NO:11),
- [0185] 并且其中a、c、g和u分别代表2'-0-甲基腺苷、2'-0-甲基胞苷、2'-0-甲基鸟苷和2'-0-甲基尿苷;Af、Cf、Gf和Uf分别代表2'-氟腺苷、2'-氟胞苷、2'-氟鸟苷和2'-氟尿苷;s代表硫代磷酸键;且(invAb)表示反向无碱基脱氧核糖残基。
- [0186] 实施方案68:实施方案53-67中任一项的用途,其中与使用前相比,所述用途在例如从第一次使用起约第71或113天时将HSD17 β 13mRNA的表达水平降低了至少约50%(例如至少约62%、至少约79%、至少约84%、至少约90%或至少约96%),如通过定量逆转录酶聚合酶链式反应(qRT-PCR)用肝活检样品测量的。
- [0187] 实施方案69:实施方案53-68中任一项的用途,其中与使用前相比,所述用途在例如从第一次使用起约第71或113天时将HSD17 β 13蛋白的表达降低了至少约30%(例如至少约50%、至少约60%、至少约83%、至少约92%或至少约97%),如通过蛋白质印迹用肝活检样品测量的。
- [0188] 实施方案70:实施方案53-69中任一项的用途,其中与使用前相比,所述用途在例如从第一次使用起约第71或113天时将ALT(丙氨酸氨基转移酶)水平降低了至少约7.7%(例如至少约14%、至少约26%、至少约36%或至少约39%),或至少约40%(例如至少约51%、至少约53%或至少约60%),如在血清中测量的。
- [0189] 实施方案71:实施方案53-70中任一项的用途,其中与使用前相比,所述用途在例如从第一次使用起约第71或113天时将AST(天冬氨酸氨基转移酶)水平降低了至少约7.5%(例如至少约15%),或至少约20%(例如至少约24%,或至少约28%),如在血清中测量的。
- [0190] 实施方案72:实施方案53-71中任一项的用途,其中与使用前相比,所述用途在例

如从第一次使用起约第71或113天时降低或减缓了肝脏脂肪分数的增加(例如降低至少4-41%或至少7-8%),如通过磁共振成像测量的。

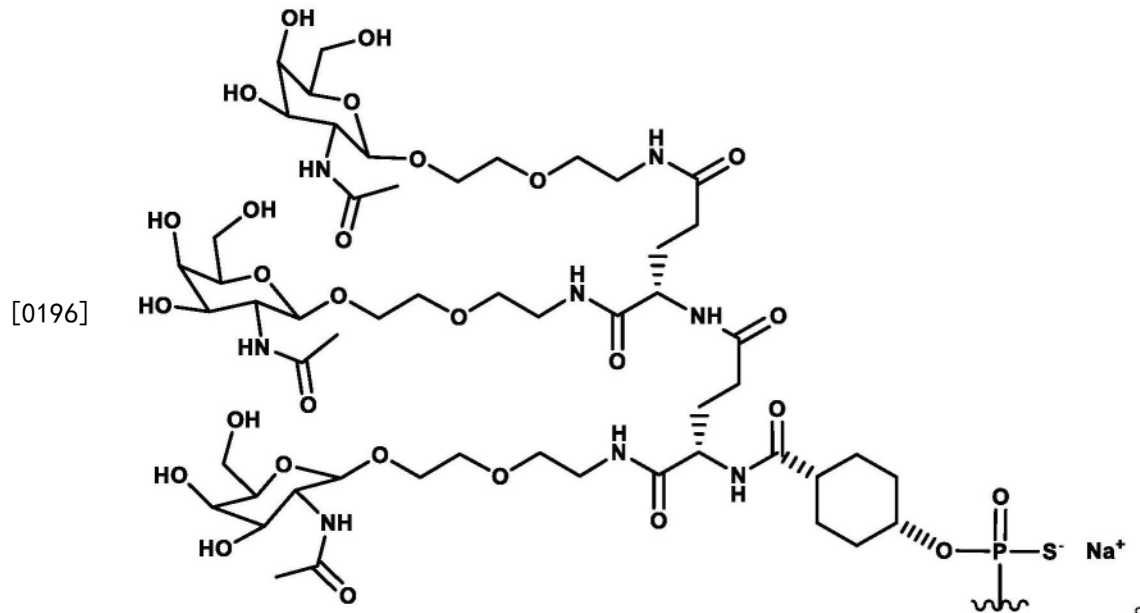
[0191] 实施方案73:实施方案53-72中任一项的使用,其中与使用前相比,所述用途在例如从第一次使用起约第71或113天时降低或减缓了肝硬度的增加(例如减少至少4-37%),如通过瞬态弹性成像测量的。

[0192] 实施方案74:实施方案53-73中任一项的用途,其中配体的化学结构包括:



[0194] 实施方案75:实施方案74的用途,其中化合物呈具有如图5A至5D所示的化学结构的游离酸形式。

[0195] 实施方案76:实施方案53-73中任一项的用途,其中配体的化学结构包括:



[0197] 实施方案77:实施方案76的用途,其中化合物呈具有如图6A-6D所示的化学结构的钠盐形式。

[0198] 实施方案78:实施方案53-77中任一项的用途,其中与使用前相比,所述用途在例

如从第一次使用开始的第71或113天时将GGT(γ -谷氨酰转移酶)水平降低了至少约1.4%或至少8.3%或至少9%,如在血清中测量的。

[0199] 在一些情况下,例如在治疗开始后的第52周,用本文所述方法治疗的一个或多个人类受试者在组织纤维化方面实现了 ≥ 1 个阶段(即等于或大于1个阶段)的改善,而无NASH恶化。在一些情况下,组织纤维化的改善用临床研究网络(CRN)评分来评估。在一些情况下,无NASH恶化被定义为关于脂肪变性、气球样变或炎症的NAFLD活动评分(NAS)没有增加。

[0200] 在一些情况下,例如在治疗开始后的第52周,用本文所述方法治疗的一个或多个人类受试者实现了NASH消退,而无纤维化恶化。在一些情况下,NASH消退被定义为气球样变评分为0和炎症评分为0-1。在一些情况下,无纤维化恶化被定义为CRN纤维化评分没有增加。

[0201] 在一些情况下,用本文所述方法治疗的一个或多个人类受试者实现了在治疗开始后第24周和第52周时肝脏脂肪距基线相对降低 $\geq 30\%$,例如通过MRI-PDFF测量。

[0202] 实施例

[0203] 实施例1.HSD17B13 RNAi剂的合成和配制

[0204] 适用于本文的RNAi剂的化合物可使用本领域已知标准亚磷酰胺技术在固相寡核苷酸合成上合成。可以使用市售的寡聚核苷酸合成仪(例如MerMade96E®(Bioautomation)或MerMade12®(Bioautomation))。可以在由可控孔度玻璃(CPG, 500 Å或600 Å, 得自Prime Synthesis, Aston, PA, USA)制成的固体支撑体上进行合成。位于相应链的3'端的单体可以附着到固体支撑体上作为合成的起点。所有2'-修饰的RNA亚磷酰胺和反向无碱基亚磷酰胺均可商购。可以合成适于添加到有义链的5'末端的含配体的亚磷酰胺。可以利用如本领域已知的标准裂解、脱保护、纯化和退火步骤。与HSD17B13RNAi剂的合成相关的进一步描述可以在例如国际专利申请公开号WO 2020/061177(专利申请号PCT/US2019/051707)和WO

[0205] 2018/044350(PCT/US2017/021147)中找到,其每一个的全部内容通过引用并入本文。然后通过溶解在合适的药学上可接受的赋形剂中来配制HSD17B13 RNAi剂。

[0206] 实施例2.在正常健康志愿者以及NASH或NAFLD患者中评价HSD17B13 RNAi剂的安全性、耐受性、药代动力学和药效学作用的1/2a期研究。

[0207] 本文例示的测试化合物降低了肝细胞中HSD17 β 13信使RNA(mRNA)的表达。其序列显示于表4,而物理性质列于表5:

[0208] 表4. 测试化合物

有义和反义链(有义和反义链退火形成双链):		
[0209] 有义链(修饰的序列)(5'→3'):	(NAG37)s(invAb)scguaagaaGfuCfuGfauagaugas(invAb)	(SEQ ID NO:11)
反义链(修饰的序列)(5'→3'):	usCfsasUfcUfaucagAfcUfuCfuUfaCfsg	(SEQ ID NO:1)

[0210] 表5. 测试化合物的性质

[0211]	化学式:	$C_{493}H_{610}F_{11}N_{163}Na_{43}O_{311}P_{43}S_7$ (Na ⁺ 形式)
		$C_{493}H_{653}F_{11}N_{163}O_{311}P_{43}S_7$ (H ⁺ 形式)
	分子量:	16548.9Da (Na ⁺ 形式)
		15309.7Da (H ⁺ 形式)
	物理外观:	白色至米白色粉末

[0212] 完整的化学结构显示于图5A至5D (游离酸形式) 和图6A至6D (钠盐形式)。

[0213] 这项临床研究评估了测试化合物在32名正常健康志愿者 (NHV) 和18名患NASH或疑似NASH的患者 (例如丙氨酸氨基转移酶 [ALT] 高的非酒精性脂肪肝病 [NAFLD]) 中的安全性、耐受性和药效学。双盲NHV队列在第1天接受皮下注射 (SC) 的单剂量的25mg、50mg、100mg或200mg测试化合物或者安慰剂。开放标签患者队列在第1和29天接受了25mg、100mg或200mg SC的测试化合物。在给药前和第71天对患者进行肝活检, 以评估HSD17β13mRNA和蛋白的表达水平。

[0214] 在NHV和患者中, 测试化合物治疗均耐受良好, 研究中没有与治疗相关的严重不良事件 (SAE) 或药物中断。最常报告的治疗中出现的不良事件 (TEAE) 是轻度注射部位反应, 严重程度轻微, 持续时间短。在第71天, 25mg (-57%)、100mg (-86%) 和200mg (-93%) 剂量后, 观察到肝脏HSD17β13mRNA的降低。在所有剂量水平下, 肝脏HSD17β13蛋白水平同样降低。在患者中, 在剂量≥100mg下, ALT和AST的平均最大下降范围分别为-42%至-44%和-24%至-28%。

[0215] 测试化合物在第1天 (NHV) 或第1天和第29天 (NASH或NAFLD患者) 于给药至高200mg的剂量下具有耐受良好, 研究中没有与治疗相关的SAE或药物中断。在NHV中, 测试化合物组和安慰剂组的TEAE发生率相似, 且在患者组中总体保持一致。这项概念验证研究表明, 测试化合物降低了肝脏中的HSD17β13mRNA和蛋白质, 伴随着ALT和AST的降低。

[0216] 方法

[0217] 参与者和研究设计

[0218] 这是一项多中心1/2a期临床研究, 来评估正常健康志愿者 (NHV) 和患NASH或疑似NASH的患者 (例如丙氨酸氨基转移酶 [ALT] 高的NAFLD) 中测试化合物注射的安全性、耐受性、药代动力学和药效学作用。NAFLD标准基于磁共振成像质子密度脂肪分数 (MRI-PDF) > 8% 和ALT > 正常上限 (ULN) (男性ULN = 30U/L, 而女性ULN = 19U/L)。研究在18至55岁、体重指数 (BMI) < 35kg/m² (NHV) 或19至65岁、BMI ≤ 40.0kg/m² (NASH或NAFLD患者) 的成年男性和女性中进行。

[0219] 在NASH或NAFLD患者的筛查中进行基因分型, 以确定HSD17β13rs72613567和含patatin样磷脂酶结构域3 (PNPLA3) rs738409 (I148M) 变体的突变状态。根据HSD17β13rs72613567基因型将个体分为T/T (纯合野生型或无突变) 或T/TA (杂合突变) 组。作为rs72613567:TA纯合子的个体被排除在研究之外。同样, 根据PNPLA3基因型将个体分为C/C (纯合野生型或无突变)、C/G (杂合突变) 或G/G (纯合突变) 组。

[0220] 受试者以双盲 (NHV队列1 [25mg]、2 [50mg]、3 [100mg]、4 [200mg]) 或开放标签 (患者队列1b [25mg]、3b [100mg]、4b [200mg]) 方式纳入研究 (表6)。NHV受试者是在第1天以4:4的比例 (活性:安慰剂) 随机化, 接受单次皮下 (SC) 注射测试化合物 (25、50、100或200mg) 或安慰剂 (队列1至4)。NASH或NAFLD患者是在第1和29天接受了开放标签的测试化合物 (队列1b、3b和

4b分别为25、100或200mg)。研究设计汇总于图4和表6。

[0221] 表6:队列汇总

队列	人群	盲法	受试者数量	给药时间表
1	NHV	双盲	8名(4名活性:4名安慰剂)	仅第1天25mg
1b	NAFLD患者(筛查和第71天活检)	开放标签	至多6名(全部活性)	第1、29天25mg
2	NHV	双盲	8名(4名活性:4名安慰剂)	仅第1天50mg
3	NHV	双盲	8名(4名活性:4名安慰剂)	仅第1天≤100mg
4	NHV	双盲	8名(4名活性:4名安慰剂)	仅第1天≤200mg
3b	NAFLD患者(筛查和第71天活检)	开放标签	至多6名(全部活性)	第1、29天≤100mg
4b	NAFLD患者(筛查和第71天活检)	开放标签	至多6名(全部活性)	第1、29天≤200mg

[0223] NASH=非酒精性脂肪性肝炎;NHV=正常健康志愿者。

[0224] 对于队列1至4,将测试化合物或安慰剂施用于2名哨兵受试者(1名测试化合物,1名安慰剂)。在第3天对这些受试者进行评估后,队列中的其余受试者接受治疗,间隔至少30分钟,使得没有2名受试者同时给药。队列1至4按顺序纳入,患者队列以逐步方式开放纳入。患者队列中不需要哨兵给药。表6概述了按队列划分的剂量水平。NHV在临床机构停留3天,在第1天进行剂量施用(队列1、2、3和4)。NHV返回临床机构进行门诊就诊。在给药日(第1天和第29天),队列1b、3b和4b的患者在临床机构停留大约4小时(给药前2小时和给药后2小时)。

[0225] 研究治疗

[0226] 纳入50名受试者(32名NHV和18名患者)。在筛查的58名NHV中,8名筛查失败(主要是由于不符合入选或排除标准),18名未分配(由于COVID-19全球大流行导致筛查期延误45天)。对于NHV队列1至4,每个双盲队列纳入了8名受试者(4名活性:4名安慰剂)。所有NHV队列在第1天接受单剂量的25mg(队列1)、50mg(队列2)、100mg(队列3)和200mg(队列4)剂量水平的测试化合物或安慰剂。

[0227] 在筛查的34名NASH或NAFLD患者中,16名筛查失败(由于不符合纳入或排除标准)(表6)。对于纳入开放标签队列1b、3b和4b的18名患者,每个队列纳入了6名患者。所有患者队列在第1天和第29天接受了25mg(队列1b)、100mg(队列3b)或200mg(队列4b)剂量水平的测试化合物。患者随访至第113天(第16周)。

[0228] 研究评估和程序

[0229] 在NASH或NAFLD患者中,通过筛选时和第71天从配对肝活检中提取以测量测试化

合物对HSD17 β 3的活性的肝HSD17 β 13mRNA (qRT-PCR) 和蛋白质(蛋白质印迹) 表达, 来测量测试化合物的药效。对于通过qRT-PCR、HSD17B13和内源性对照进行的基因表达测量, 在第71天和筛查活检中测量了 β -肌动蛋白(ACTB) 和mRNA。使用2^(-delta C[T])归一化方法计算相对表达。HSD17B13蛋白表达的变化被评估为第71天时HSD17B13/纽带蛋白与给药前基线水平的比值。从筛查到第113天, 测量了肝损伤的标志物, 比如ALT和AST。在筛选时和第71天, 使用MRI - PDFF进行肝脏成像以评估肝脏脂肪分数的变化, 并使用瞬时弹性成像(FibroScan, kPa) 评估肝硬度。通过实时PCR在全血中检测到HSD17B13 rs72613567和含patatin样磷脂酶结构域3 (PNPLA3) rs738409单核苷酸多态性(SNP), 并在筛查时使用Sanger测序确认结果。

[0230] 安全性评估包括确定不良事件(AE)/严重不良事件(SAE) 的发生率, 进行体检, 并记录生命体征测量值(血压、心率、体温和呼吸频率)、心电图(ECG)、临床实验室检查(血液和尿液)、伴随药物/治疗, 并记录NHV和患者队列中治疗中断的原因。

[0231] 统计分析

[0232] 所有安全性结果、人口统计和基线特征数据以及药效学结果均基于从接受至少一剂活性药物或安慰剂的所有入组受试者收集的数据进行汇总。使用《监管活动医学词典(Medical Dictionary for Regulatory Activities)》(MedDRA, 24.0版) 对治疗中出现的不良事件进行编码。

[0233] 为了分析药效学参数, 提供了HSD1713 mRNA和蛋白质的描述性统计摘要和从基线得出的敲低数据。进行非参数Wilcoxon符号秩检验, 以检验第71天距基线变化的显著性。此外, 对于肝酶参数比如ALT和AST, 提供了描述性统计摘要, 以及从基线得出的变化和与基线摘要的百分比变化。还进行了非参数Wilcoxon符号秩检验, 以检验ALT和AST在第29、71和113天距基线变化的显著性。对于肝脏成像(MRI - PDFF和FibroScan), 提供了描述性统计摘要和从基线得出的百分比变化。基线值被定义为每个受试者在给予研究药物之前(即第1天注射开始) 的最后一次非缺失观察值(最接近第一剂的给药前值)。使用SAS软件9.4版分析数据, 使用GraphPad Prism软件8.3.0版生成数据。

[0234] 研究监督

[0235] 每个参与中心的伦理委员会都批准了该方案。研究是根据赫尔辛基宣言、良好临床实践国际协调会议指南(International Conference on Harmonisation Good Clinical Practice guidelines) 和适用的监管要求进行的。所有受试者在纳入前均提供了书面知情同意书。

[0236] 结果

[0237] 患者特征和处置

[0238] 健康志愿者的人口统计特征显示于表7。所有纳入的NHV都完成了所有计划的评估。

[0239] 表7: 人口统计数据汇总——健康志愿者队列

参数; 统计值	队列 1 (25 mg, 第 1 天) (N=4)	队列 2 (50 mg, 第 1 天) (N=4)	队列 3 (100 mg, 第 1 天) (N=4)	队列 4 (200 mg, 第 1 天) (N=4)
年龄(岁); 平均值(最小, 最大)	23.5 (19, 31)	31.0 (24, 50)	32.3 (20, 45)	33.0 (22, 41)
男; n (%)	3 (75.0%)	2 (50.0%)	3 (75.0%)	1 (25.0%)
种族; n (%)				
西班牙裔或拉丁裔	0	0	2 (50.0%)	0
非西班牙裔或拉丁裔	4 (100.0%)	3 (75.0%)	2 (50.0%)	4 (100.0%)
未报告	0	1 (25.0%)	0	0
人种; n (%)				
亚裔	2 (50.0%)	0	1 (25.0%)	1 (25.0%)
夏威夷原住民或其他太平洋岛民	0	0	0	1 (25.0%)
白人	2 (50.0%)	3 (75.0%)	2 (50.0%)	2 (50.0%)
其他	0	0	1 (25.0%)	0
报告多于一个种族	0	1 (25.0%)	0	0
体重(kg); 平均值(最小, 最大)	63.2 (53.2, 68.8)	72.8 (58.3, 88.6)	76.1 (64.0, 89.1)	78.5 (56.5, 93.0)
BMI (kg/cm ²); 平均值(最小, 最大)	22.55 (21.9, 24.1)	23.78 (20.2, 27.3)	24.98 (20.6, 28.1)	28.40 (21.0, 31.5)

[0241] BMI = 体重指数。

[0242] NASH或NAFLD患者: 平均(SD)年龄为44.5(9.9)岁。4名受试者(22.2%)为女性, 而14名(77.8%)为男性。13名(72.2%)受试者是亚裔, 3名(16.7%)受试者是白人, 1名(5.6%)是非裔美国人, 而1名受试者其他(5.6%)。基线时, MRI-PDFF的范围为10.34%至30.73%, 而ALT的范围为28U/L(对于女性受试者)至144U/L。疑似NASH(例如ALT高的NAFLD)被定义为MRI-PDFF>8%, 且ALT>ULN(对于男性ULN=30U/L, 对于女性为19U/L。备选地, 筛查访视后1年内经活检证实的NASH也可以纳入。)这些患者表现出典型的NAFLD合并症, 其中50%(n=9)、44.4%(n=8)和44.4%

[0243] (n=8)分别患有高脂血症、2型糖尿病和高血压。

[0244] 表8提供了按队列划分的NAFLD患者基因分型结果汇总。对于HSD17β13rs72613567变体, 12名受试者(67%)未检测到突变(T/T), 而6名受试者(33%)为杂合(T/TA)。对于PNPLA3 rs738409变体, 11名受试者(61%)未检测到突变(C/C), 4名受试者(22%)为杂合(C/G), 而3名受试者(17%)为纯合(G/G)。在临床研究中, NASH或NAFLD患者服用的基线合并药物包括他汀类(HMG COA还原酶抑制剂)(39%的受试者)、双胍类(二甲双胍)(33%的受试者)、ACE抑制剂(28%的受试者)、血管紧张素II受体阻滞剂(22%的受试者)、钙通道阻滞剂(二氢吡啶衍生物)(22%的受试者)、胰高血糖素样肽-1(GLP-1)类似物(5.6%的受试者)和钠葡萄糖共转运子2(SGLT2)抑制剂(5.6%的受试者)。所有受试者都完成了研究, 没有提前

终止。

[0245] 表8:NASH或NAFLD患者的人口统计和病史汇总

参数; 统计值	队列 1b (25 mg, 第 1、29 天) (N=6)	队列 3b (100 mg, 第 1、29 天) (N=6)	队列 4b (200 mg, 第 1、29 天) (N=6)
人口统计			
年龄(岁); 平均值(最小, 最大)	46 (32,56)	45 (40,50)	43 (22,61)
男(%)	5 (83%)	5 (83%)	4 (67%)
种族 - n (%)			
非西班牙裔或拉丁裔	6 (100.0)	6 (100.0)	6 (100.0)
人种 - n (%)			
亚裔	4 (66.7)	5 (83.3)	4 (66.7)
夏威夷原住民或其他太平洋岛民	0	1 (16.7)	0
白人	2 (33.3)	0	1 (16.7)

[0246]

参数; 统计值	队列 1b (25 mg, 第 1、29 天) (N=6)	队列 3b (100 mg, 第 1、29 天) (N=6)	队列 4b (200 mg, 第 1、29 天) (N=6)
其他	0	0	1 (16.7)
体重(kg); 平均值(最小, 最大)	96.4 (68, 119.7)	87.2 (65.8, 115.7)	97.5 (74, 117.4)
BMI (kg/cm ²); 平均值(最小, 最大)	32.17 (25.7,41.1)	29.1 (25.1, 36.5)	33.7 (28.2,39.2)
基线实验室结果, ALT 和 AST			
基线 ALT (U/L), 平均值(最小, 最大)	45.7 (28, 69)	68.3 (30, 144)	76 (28, 100)
基线 AST (U/L), 平均值(最小, 最大)	21.7 (17, 27)	33.5 (22, 63)	50.3 (18, 131)
基因分型			
<i>HSD17B13</i> rs72613567, n (%)			
T/T	5 (83)	4 (67)	3 (50)
T/TA	1 (17)	2 (33)	3 (50)
<i>PNPLA3</i> rs738409, n (%)			
C/C	3 (50)	5 (83)	3 (50)
C/G	2 (33)	0	2 (33)
G/G	1 (17)	1 (17)	1 (17)

[0248] ALT=丙氨酸氨基转移酶;AST=天冬氨酸氨基转移酶;BMI=体重指数;C/C=无突变;C/G=杂合;G/G=纯合;max=最大值;min=最小值;NASH=非酒精性脂肪性肝炎;SD=标准偏差;T/T=无突变;T/TA=杂合。

[0249] ^a使用《监管活动医学词典》23.0版编码。

[0250] 药效学

[0251] 肝HSD17B13蛋白和mRNA

[0252] 在第71天,25mg、100mg和200mg剂量队列中,测试化合物分别将编码HSD17β13蛋白的肝脏mRNA从治疗前基线降低了56.9% (50.7%-60.5%)、85.5% (61.6%-96.1%)和93.4% (90.8%-98.6%)的平均(最小-最大)值(图1)。总体合并受试者HSD17β13mRNA降低78.6% (50.7%-98.6%, p值<0.0001)。在200mg剂量队列中,所有6名受试者的肝脏HSD17β13mRNA表达均降低大于90%。在25mg、100mg和200mg剂量队列中,肝脏HSD17β13蛋白水平类似地分别平均降低了>34%、>86%和83%,而合并队列HSD17β3蛋白距基线的平均变化为63% (范围为-97.8%至53.8%, p=0.0017),多次测量(基线时3名患者,而第71天6名患者)均低于测定的定量水平(表9)。

[0253] 表9:NASH或NAFLD患者中测试化合物的HSD17β13mRNA和蛋白敲低汇总

	%距基线变化的平均值(最小值, 最大值)	25 mg (N=6)	100 mg (N=6)	200 mg (N=6)	合并
[0254] 第 71 天肝脏 HSD17β13 mRNA		-56.9% (-60.5%, -50.7%)	-85.5% (-96.1%, -61.6%)	-93.4% (-98.6%, -90.8%)	-78.6% (-98.6%, -50.7%) p<0.0001
第 71 天肝脏 HSD17β13 蛋白		<-33.8% (<-92.4%, 53.8%)	<-86% (-97.8%, <-63.0%)	-83% (-85.2%, -80.8%) ^b	-63.2% (-97.8%, 53.8%) p=0.0017

[0255] LLOQ=定量下限;mRNA=信使RNA;NASH=非酒精性脂肪性肝炎。

[0256] ^a 多名患者在第71天时HSD17β13蛋白水平低于LLOQ,在这种情况下,LLOQ被用于计算平均值。

[0257] ^b n=2(3个样本的基线HSD17β13低于LLOQ,1个样本未通过检测验收标准)。

[0258] HSD17B13 mRNA降低的观察数据表明,肝脏中实现了稳健的命中(on-target)药理学反应,在100和200mg剂量水平下呈剂量依赖性趋势,在25和100mg剂量水平下具有明显的剂量依赖性。观察到的药效作用不受HSD17β13(rs72613567,T>TA)和/或PNPLA3(rs738409,C>G)突变的影响。在每个单独的剂量水平下,与rs72613567剪接变体杂合患者相比,没有突变的患者的HSD17β13mRNA观察到相似的降低(图3A)。同时,在每个剂量水平下,与PNPLA3 rs738409多态性的杂合或纯合患者相比,没有突变的患者HSD17β13mRNA观察到相似的降低(图3B)。因此,无论基因型或突变状态如何,HSD17β13的敲低在本研究中都是一致的。

[0259] ALT、AST和GGT

[0260] 在NASH或NAFLD患者中,用测试化合物治疗后,肝损伤的血清生物标志物下降,表明在25至100mg剂量水平之间ALT降低。100和200mg剂量水平显示ALT也有类似的降低。第71天(与活检同时)时,ALT距基线的平均百分比变化范围为-7.7%(25mg剂量组)至-39.3%(100mg)和-42.2%(200mg)(对于合并队列P<0.001)(图2A)。在第113天或研究结束时,25、100和200mg剂量水平的ALT距基线的平均百分比变化分别为-14%、-36%和-39%(对于合并队列P<0.01)(图2A)。与ALT相似,AST在25至100mg剂量水平之间降低,在100至200mg剂量之间也观察到类似的降低。25、100和200mg剂量水平的AST在第71天时距基线的平均百分比变化分别为4%、-24%和-28%(对于合并队列P<0.01)(图2B)。在第113天时,25、100和200mg剂量水平的AST距基线的平均百分比变化分别为-7.5%、-14.7%和-19.7%(图2B)。在第1天和第29天给予患者两剂25、100或200mg的测试化合物,并直到研究结束或第113天时测量安全性和药效学参数。对于100和200mg剂量水平,ALT降低的持续时间持续到第85天,或最后一次给药后8周。对于100和200mg剂量水平,AST降低的持续时间持续到第71天或给药后6周。***P<0.001;**P<.01,*<.01是合并队列的p值(使用非参数检验(Wilcoxon符号秩检验)在指定时间点的25、100和200mg剂量水平)。在研究期间,每个剂量组的平均体重保持稳定。两名受试者在研究期间体重减轻,显示在其剂量组中ALT距基线下降的百分比最大。到第71天,这些受试者的体重分别下降了4.6kg(25mg剂量组)和2.2kg(100mg组),相应地ALT分别降低了60%和51%。所有其他受试者在整个研究过程中保持了稳定的体重;因此,观察到肝脏酶的所有其他下降与体重变化无关。与施用前相比,25mg、100mg和250mg患者队列的GGT水平分别降低了约1.4%、8.3%和9%,如血清中测量的。

[0261] 肝脏脂肪分数与肝硬度

[0262] 在25、100和200mg剂量下,到第71天,肝脏脂肪分数MRI-PDFF距基线的平均相对变化分别为14.4%、-7.6%和-7.3% (表10)。

[0263] 表10:NASH或NAFLD患者的肝脏脂肪分数 (MRI-PDFF) 和肝硬度 (FibroScan) 汇总

%距基线变化的平均值 (最小值, 最大值)	25 mg (N=6)	100 mg (N=6)	200 mg (N=6)
肝脏脂肪分数			
基线	17.25 (13.85, 19.95)	16.95 (10.34, 25.17)	25.42 (15.10, 30.73)
[0264] 第 71 天	14.41% (-36.0%, 87.9%)	-7.56% (-40.7%, 23.6%)	-7.33% (-24.1%, 5.9%)
肝硬度(kPa)			
基线	5.47 (3.8, 9.9)	8.42 (5.3, 13.9)	8.30 (7.3, 9.0)
第 71 天	16.70% (-5.3%, 37.5%)	2.18% (-16.5%, 33.9%)	4.18% (-36.8%, 54.4%)

[0265] kPa=千帕;MRI-PDFF=磁共振成像质子密度脂肪分数

[0266] 在25、100和200mg剂量下,第71天肝硬度距基线的平均百分比变化(单位为kPa)分别为+16.7%、+2.2%和+4.2% (表10)。

[0267] 与25mg剂量水平相比,在100mg和200mg两者剂量水平下,肝硬度的增加不太明显,且肝脏脂肪分数下降,如第71天距基线的平均变化所示。

[0268] 安全性

[0269] NHV和NASH或NAFLD患者对测试化合物良好耐受(表11和表12),没有AE相关研究或药物中断,没有剂量限制性中毒或死亡。没有表明终末器官毒性的不良实验发现复发模式。最常报告的TEAE是注射部位反应(注射部位瘀伤、注射部位红斑和注射部位肿胀),其严重程度轻微,持续时间短。这些事件发生在接受测试化合物的16名NHV中的5名,且没有NASH或NAFLD患者。其余的TEAE是临床研究中常见的TEAE(表12)。200mg队列中报告了一例软组织损伤的治疗中出现的SAE,需要住院治疗。受试者在工作中发生事故(与注射时间和地点无关)后因右臂软组织损伤入院,2天后出院。受试者从事件中恢复并继续进行研究。SAE被认为与研究药物无关。

[0270] 结论

[0271] 测试化合物在一次(NHV)或两次(NASH或NAFLD患者)给药至高200mg的剂量下耐受良好,没有与治疗相关的严重不良事件,没有与药物相关的不良实验室发现模式,也没有在研究中药物中断。在NHV中,测试化合物组和安慰剂组的TEAE发生率相似,且在患者队列中总体保持一致。在所有剂量水平下,肝脂肪没有平均增加,且肝损伤的生物标志物也没有不良变化。观察到肝脏HSD17 β 13mRNA和蛋白的降低,并与ALT和AST的降低相对应,这是肝损伤减少的具有临床意义的信号。25、100和200mg剂量的AST浓度分别平均下降了7.5%、24.5%和28.3%,100和200mg剂量持续了12周。同样,25、100和200mg剂量的ALT水平也分别降低了

14.1%、43.6%和42.3%，且在第1天和第29天施用100和200mg剂量的组中持续了12周。肝HSD17B13 mRNA和HSD17B13蛋白的降低表明，在100和200mg剂量下，肝脏中的命中药理学反应稳健。因此，数据至少支持每4周(Q4W) 100mg的给药方案。

[0272] HSD17β13蛋白敲低和ALT的药代动力学/药效学(PK/PD)建模预测200mg剂量保持HSD17β3蛋白和ALT的降低持续90天，进一步支持每3个月或12周200mg的测试给药方案。如图7所示，100mg和200mg的剂量可使HSD17β13蛋白距基线下降>80%，持续3个月或更长。由于该蛋白的 $T_{1/2}$ 为10.6天，假设在30天内完全敲低，例如减少约87%，推断200mg的剂量可诱导HSD17β13蛋白的完全敲低。

[0273] 表11:不良事件总体汇总(单剂量健康志愿者队列)

[0274]

	单剂量(第 1 天)				
	正常健康志愿者				
	测试化合物				合并安慰剂 (N=16) n (%) #
	队列 1 (25 mg, 第 1 天) (N=4) n (%) #	队列 2 (50 mg, 第 1 天) (N=4) n (%) #	队列 3 (100 mg, 第 1 天) (N=4) n (%) #	队列 4 (200 mg, 第 1 天) (N=4) n (%) #	
任何 AE	4 (100) 6	1 (25.0) 2	4 (100) 10	3 (75.0) 7	10 (62.5) 14
任何 TEAE	4 (100) 6	1 (25.0) 2	4 (100) 9	3 (75.0) 6	10 (62.5) 14
任何与治疗相关的 TEAE	0	0	1 (25.0) 1	3 (75.0) 5	0
任何 3+级(严重)TEAE	0	0	0	0	0
注射部位的任何 TEAE	1 (25.0) 1	0	1 (25.0) 1	3 (75.0) 3	0
与 LISR 相关的任何的 TEAE	0	0	0	2 (50.0) 2	0
任何 SAE	0	0	0	0	0
任何导致研究药物停药、研究中断或死亡的 AE	0	0	0	0	0
	重复给药(第 1 天和第 29 天)				
	NASH/NAFLD				
	测试化合物				总体 (N=18)n (%) #
	队列 1b (25 mg, 第 1、29 天) (N=6) n (%) #	队列 3b (100 mg, 第 1、29 天) (N=6) n (%) #	队列 4b (200 mg, 第 1、29 天) (N=6) n (%) #		
任何 AE	3 (50.0) 9	2 (33.3) 6	4 (66.7) 11	9 (50.0) 26	
任何 TEAE	3 (50.0) 8	2 (33.3) 5	4 (66.7) 10	9 (50.0) 23	
任何与治疗相关的 TEAE	1 (16.7) 1	1 (16.7) 2	2 (33.3) 4	4 (22.2) 7	
任何 3+级(严重)TEAE	0	0	0	0	
注射部位的任何 TEAE	0	0	0	0	

[0275]	与 LISR 相关的任何 TEAE	0	0	0	0
	任何 SAE	0	0	1 (16.7) 1	1 (5.6) 1
	任何 TESAE	0	0	1 (16.7) 1	1 (5.6) 1
	任何与治疗相关的 TESAE	0	0	0	0
	任何导致研究药物停药、研究中断或死亡的 AE	0	0	0	0

[0276] AE=不良事件,NA=不适用;NASH=非酒精性脂肪性肝炎;TEAE=治疗中出现的不良事件,LISR=局部注射部位反应,SAE=严重不良事件;TESAE=治疗中出现的严重不良事件。

[0277] 注意:类别并不相互排斥.n(%)#分别表示每个类别中的受试者数量、受试者百分比和事件数量。

[0278] 表12:队列中2名或更多受试者(NHV和NASH或NAFLD)按首选术语报告的TEAE汇总

	单剂量(第 1 天)					
	正常健康志愿者					
	测试化合物					
首选术语(PT)	队列 1 (25 mg) (N=4) n (%) #	队列 2 (50 mg) (N=4) n (%) #	队列 3 (100 mg) (N=4) n (%) #	队列 4 (200 mg) (N=4) n (%) #	合并 安慰剂 (N=16) n (%) #	
[0279]	任何 TEAE	4 (100) 6	1 (25.0) 2	4 (100) 10	3 (75.0) 7	10 (62.5) 14
	头痛	0	0	1 (25.0) 1	0	2 (12.5) 2
	皮炎	0	0	0	0	2 (12.5) 2
	注射部位红斑	0	0	0	2 (12.5) 2	0
	重复给药(第 1 天和第 29 天)					
	NASH/NAFLD					
	测试化合物					
首选术语(PT)	队列 1b (N=6) n (%) #	队列 3b (N=6) n (%) #	队列 4b (N=6) n (%) #			
[0280]	任何 TEAE	3 (50.0) 8	2 (33.3) 5	4 (66.7) 10		
	2 个或多个受试者的 TEAE ^a	--	--	--		

[0281] NASH=非酒精性脂肪性肝炎;NHV=正常健康志愿者;TEAE=治疗中出现的不良事件。

[0282] ^a所有报告的TEAE都是不同系统器官类别的单事件术语。

[0283] 注:使用监管活动医学词典23.0版编码。受试者在每个首选术语内计算一次。事件按其发生的次数进行计数。n(%)#分别表示每个类别中的受试者数量、受试者百分比和事件数量。

[0284] 实施例3.用于治疗NASH的HSD17B13最小化:一项双盲、安慰剂对照的2b期研究,评估HSD17B13 RNAi剂在患肝硬化前非酒精性脂肪性肝炎的成人中的疗效和安全性

[0285] 这是一项双盲、随机、安慰剂对照的2b期多中心研究,设计为评估测试化合物在成人NASH和桥接(F3)纤维化患者中的疗效和安全性(表4)。

[0286] 研究包括3个治疗臂,包括2个接受2种不同给药方案的测试化合物的治疗臂和一个安慰剂臂。经过至多70天的筛选期,符合条件的参与者被随机分到3个治疗臂之一:

[0287] 每4周一次(Q4W)100mg测试化合物,持续52周

[0288] 每12周一次(Q12W)200mg测试化合物,持续52周,或

[0289] 每4周一次(Q4W)安慰剂,持续52周。

[0290] 计划约246名参与者参与研究。各治疗组中约82名参与者平行纳入剂量队列,并以1:1:1的比例随机分配。

[0291] 纳入标准包括但不限于

[0292] • 体重指数(BMI) ≥ 25 千克每平方米(kg/m^2) (所有种族血统),但亚裔参与者除外,他们在筛选时BMI $\geq 23\text{kg}/\text{m}^2$ 符合研究。

[0293] • 研究人员认为,具有代谢综合征的特征,且NAFLD是肝病最可能的原因。

[0294] ● 基线时的肝活检显示NAFLD活动评分(NAS) ≥ 4 ,脂肪变性、炎症和气球样变各至少1分,纤维化CRN评分为3分。

[0295] • 能够并愿意遵守所有研究评估,包括在第52周进行肝活检。

[0296] 排除标准包括但不限于:

[0297] • 肝硬化(基于筛查活检或显示明确肝硬化的历史活检)。

[0298] • 女性目前每周饮酒量 ≥ 14 标准杯(24单位,196g乙醇),男性目前饮酒量 ≥ 21 标准杯(37单位,294g乙醇)。

[0299] • 筛查1后2年内进行减肥手术(包括胃束带和胃内球囊插入)。

[0300] • 筛查1前2年内癌症病史,但经充分切除的非黑色素瘤皮肤癌除外。

[0301] 表13:主要结果量度

结果量度	时间框架	说明
[0302] 在组织学纤维化方面达到 $\Rightarrow 1$ 阶段改善且无 NASH 恶化的参与者百分比	第 52 周	使用临床研究网络(CRN)评分评估组织纤维化的改善情况,且无 NASH 恶化被定义为脂肪变性、气球样变或炎症的 NAFLD 活动评分(NAS)没有增加。
达到 NASH 消退且无纤维化恶化的参与者百分比	第 52 周	NASH 消退被定义为气球样变评分为 0, 且炎症评分为 0-1, 而无纤维化恶化被定义为 CRN 纤维化评分无增加。

[0303] 次要结果量度至少包括使用磁共振成像比如MRI-PDFF在第24周和第52周达到肝脏脂肪距基线相对降低 $\geq 30\%$ 的参与者百分比,通过瞬时弹性成像比如振动控制瞬时弹性成像(VCTE)的肝硬度测量(LSM)距基线的变化,以及丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)和 γ -谷氨酰转移酶(GGT)(单位/升)距基线的变化[时间范围:基线(第1天)和第24和52周]。

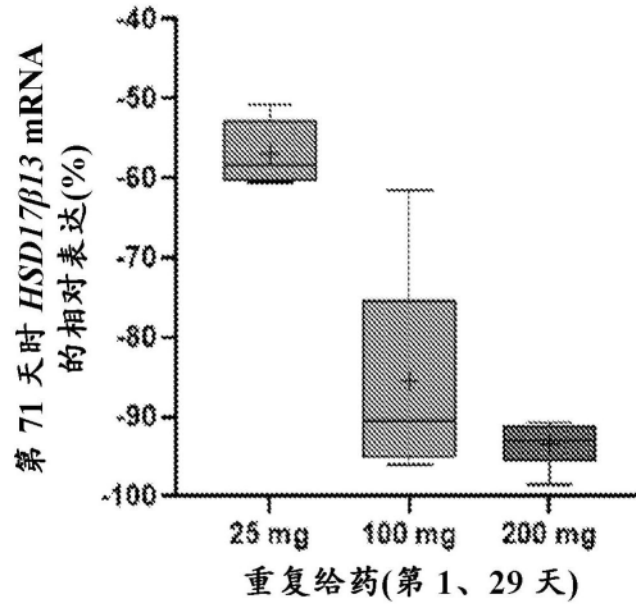
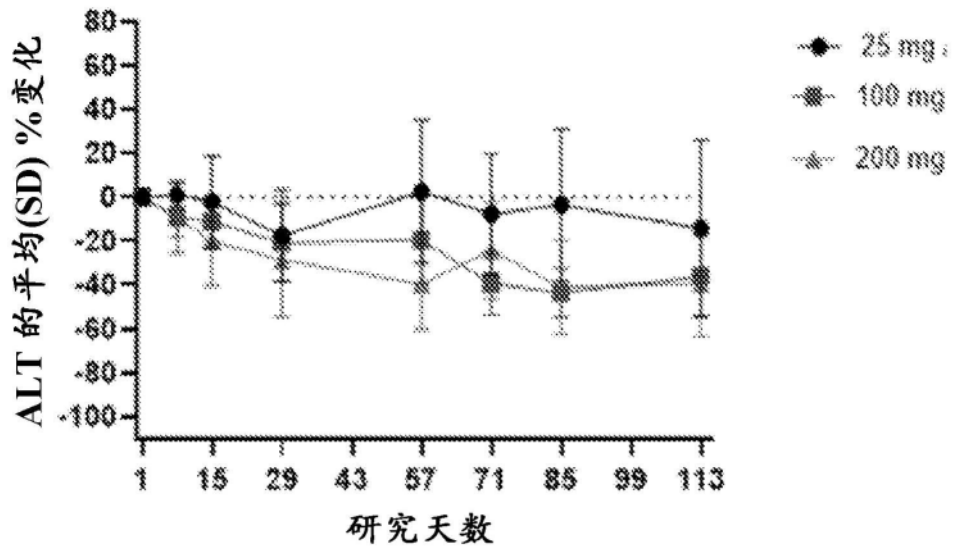


图1

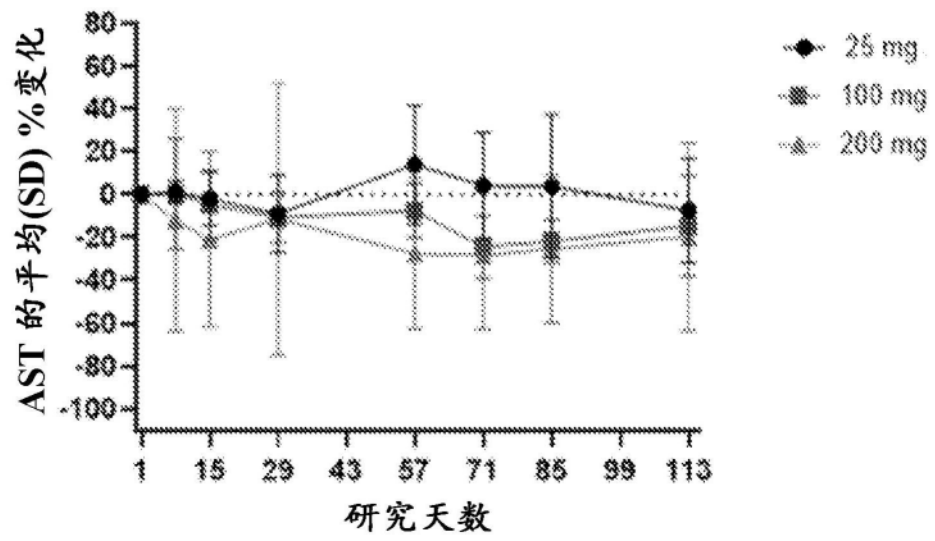
重复给药(第 1、29 天)



ALT=丙氨酸氨基转移酶; SD=标准偏差。

图2A

重复给药(第 1、29 天)



AST=天冬氨酸氨基转移酶; SD=标准偏差。

图2B

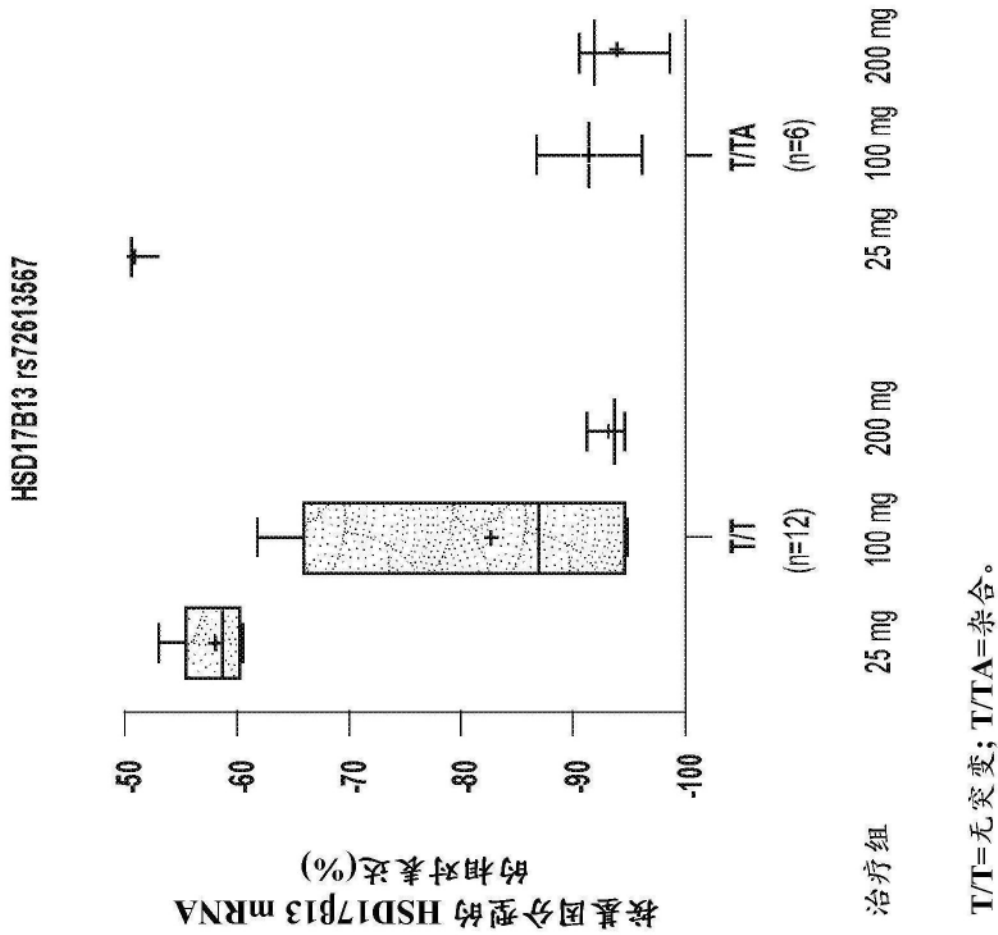
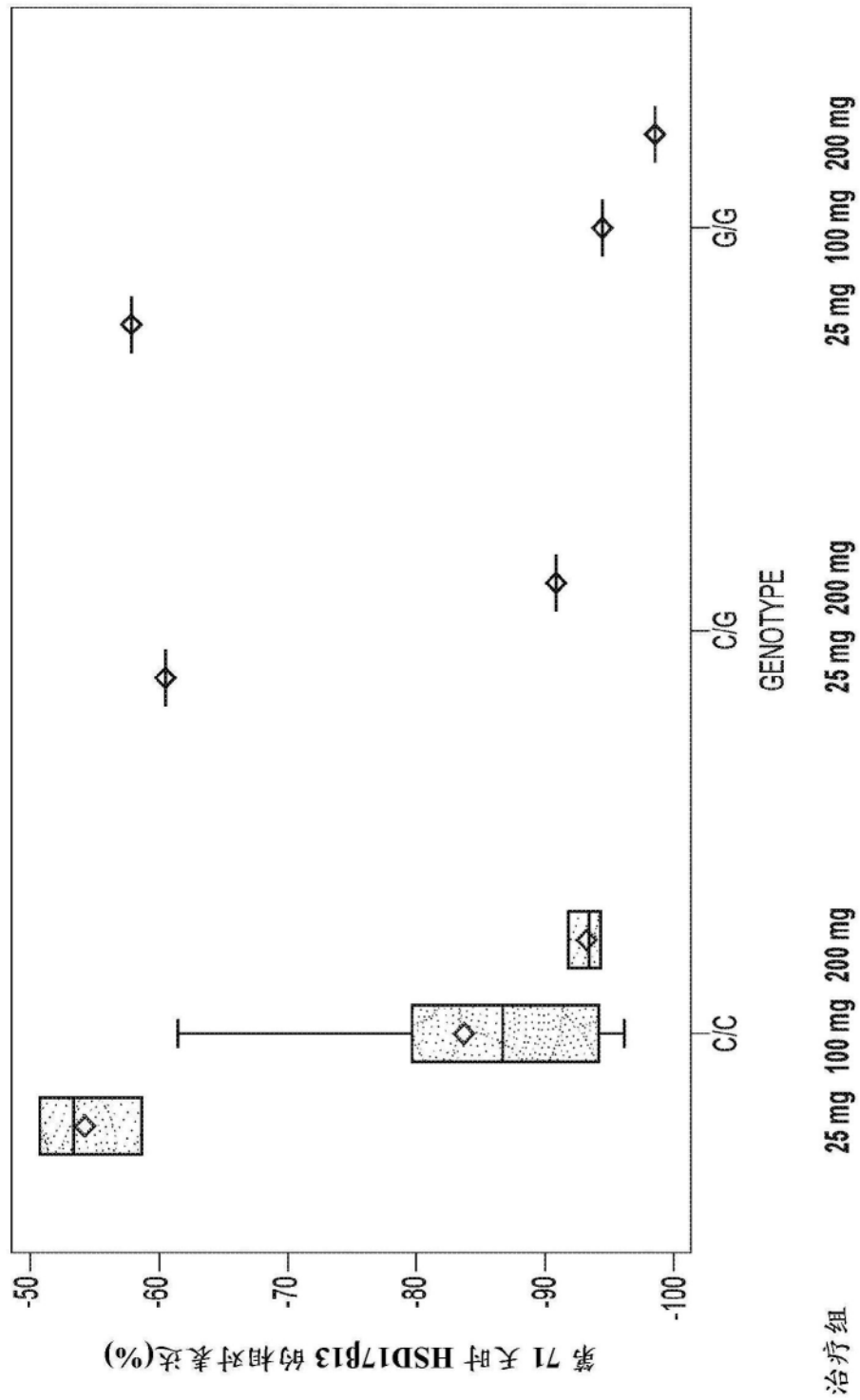


图3A



C/C=野生型纯合或无突变; C/G=杂合突变; G/G=纯合突变。

图3B

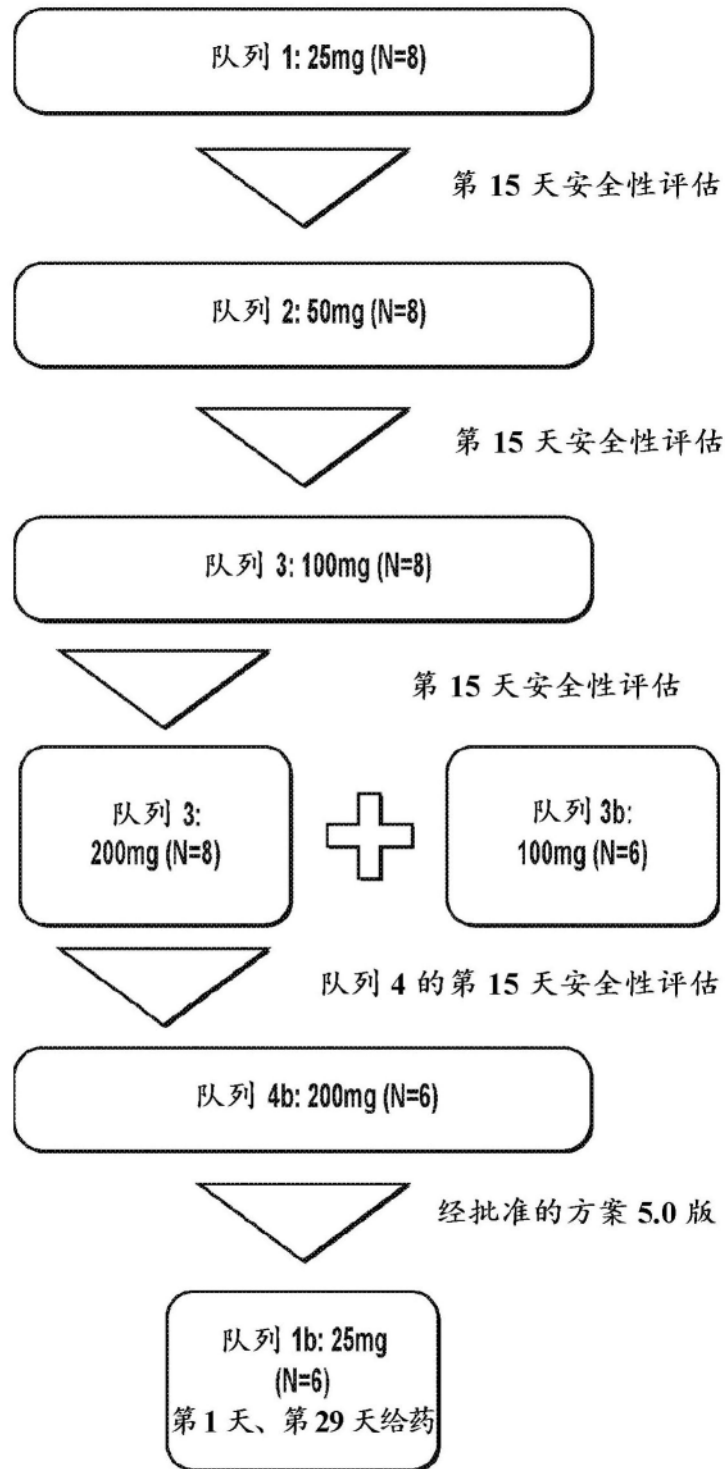


图4

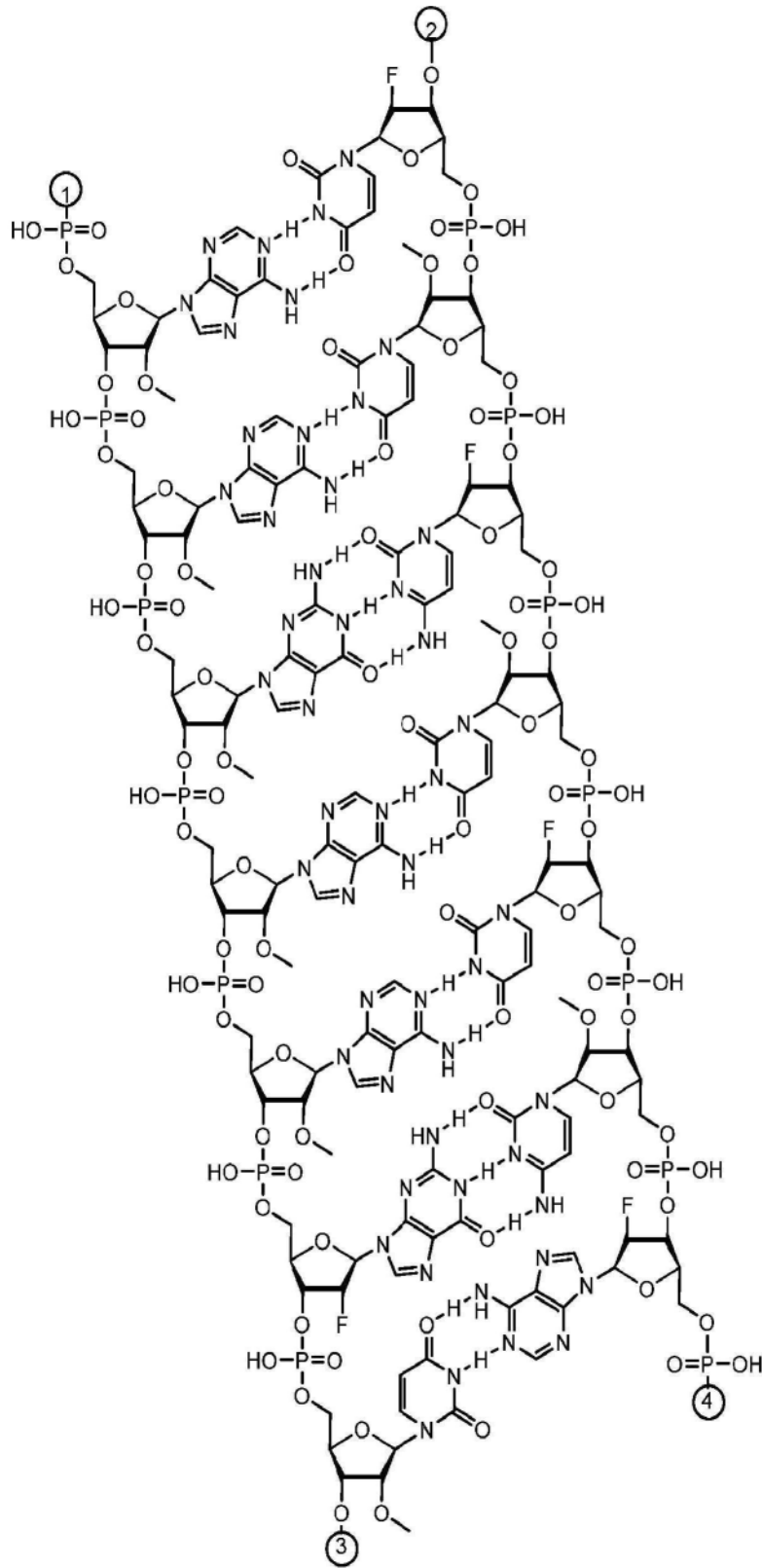


图5B

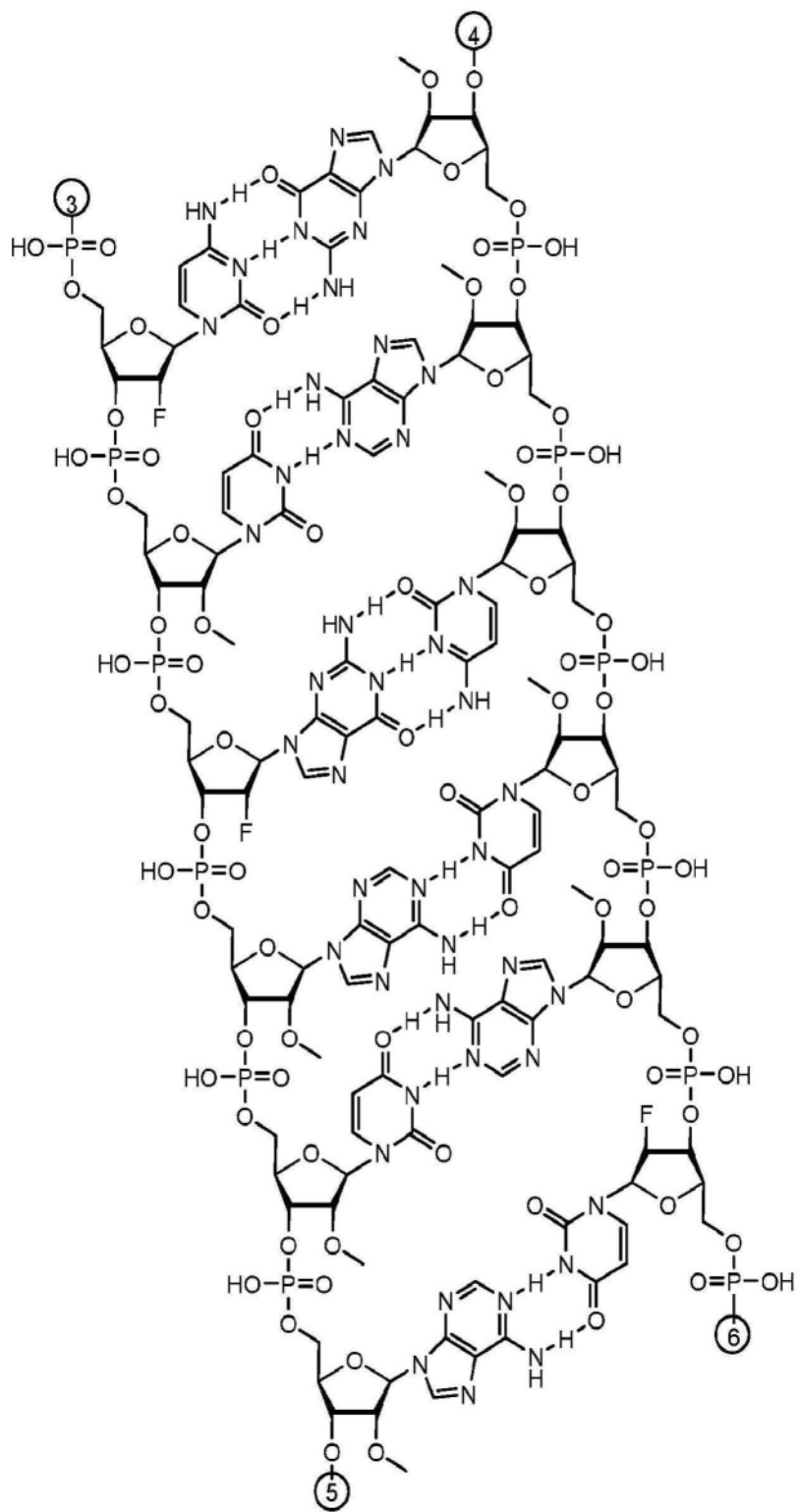


图5C

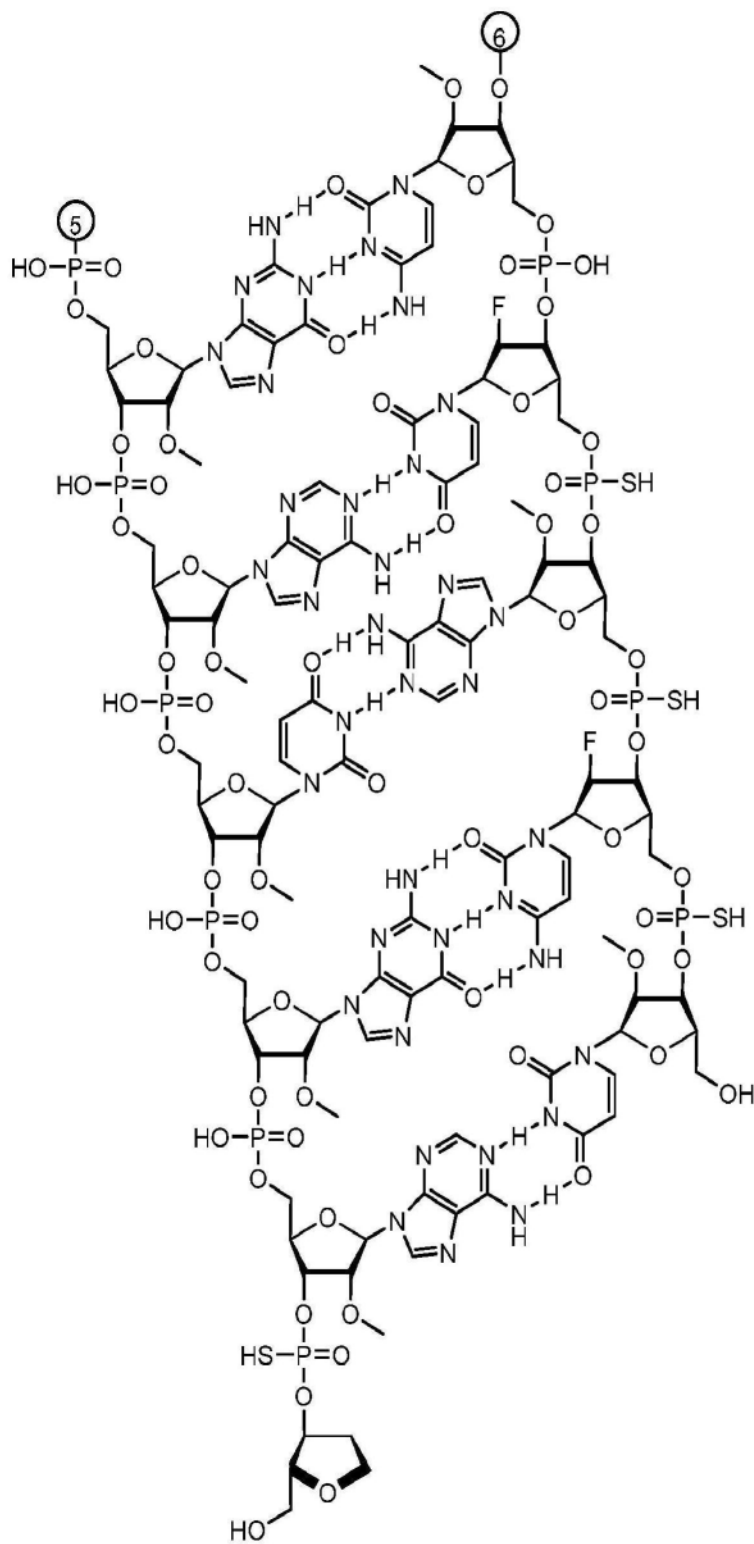


图5D

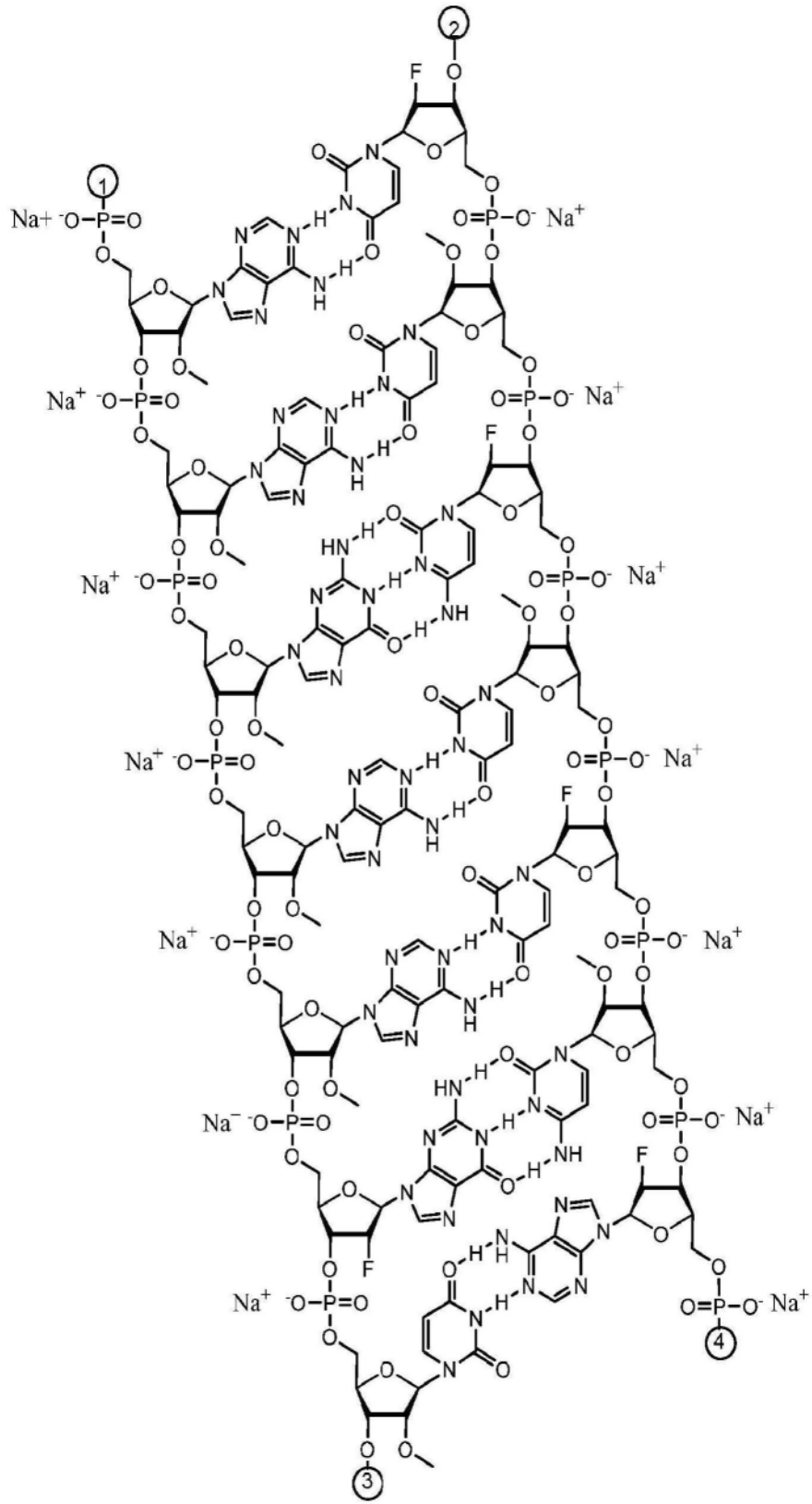


图6B

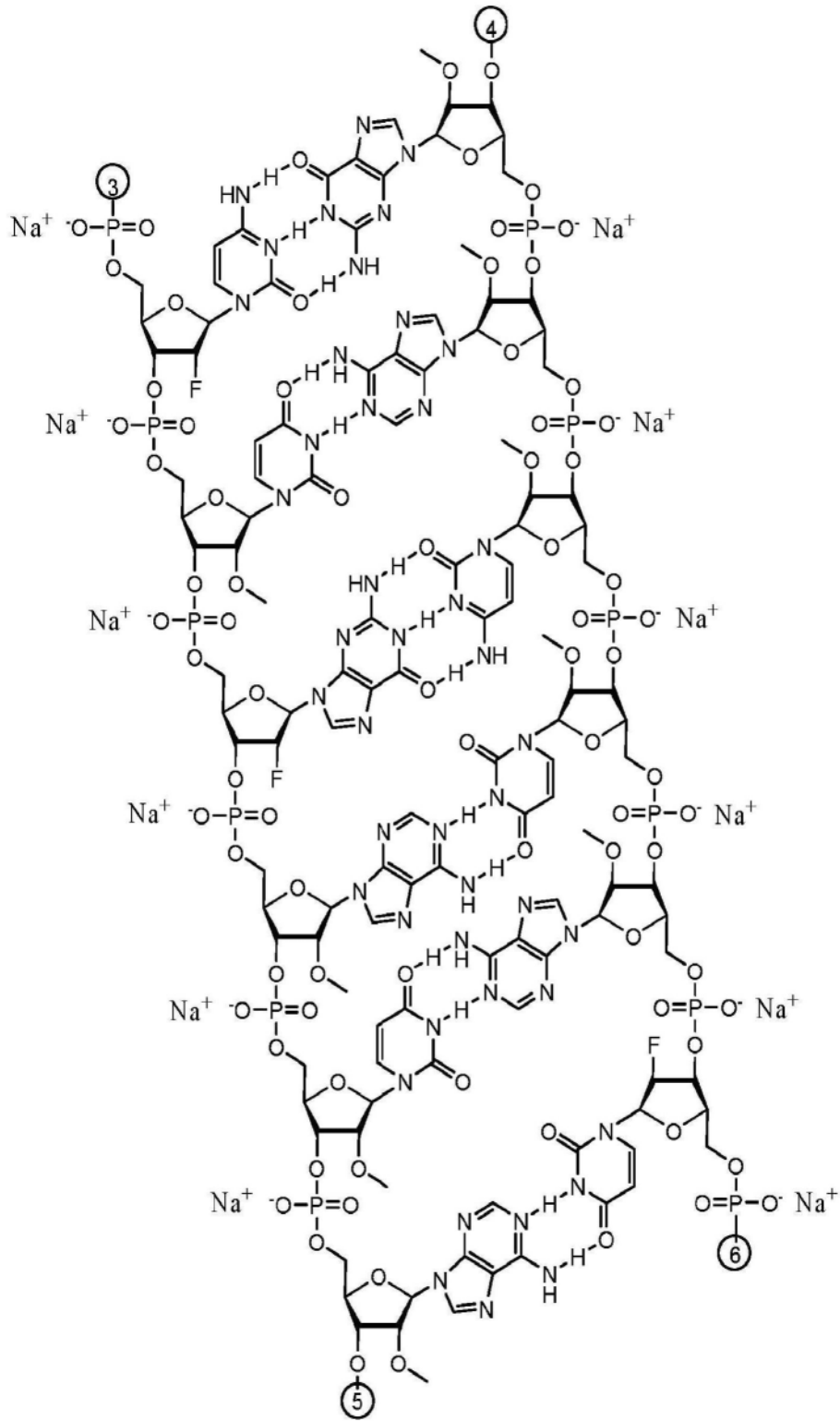


图6C

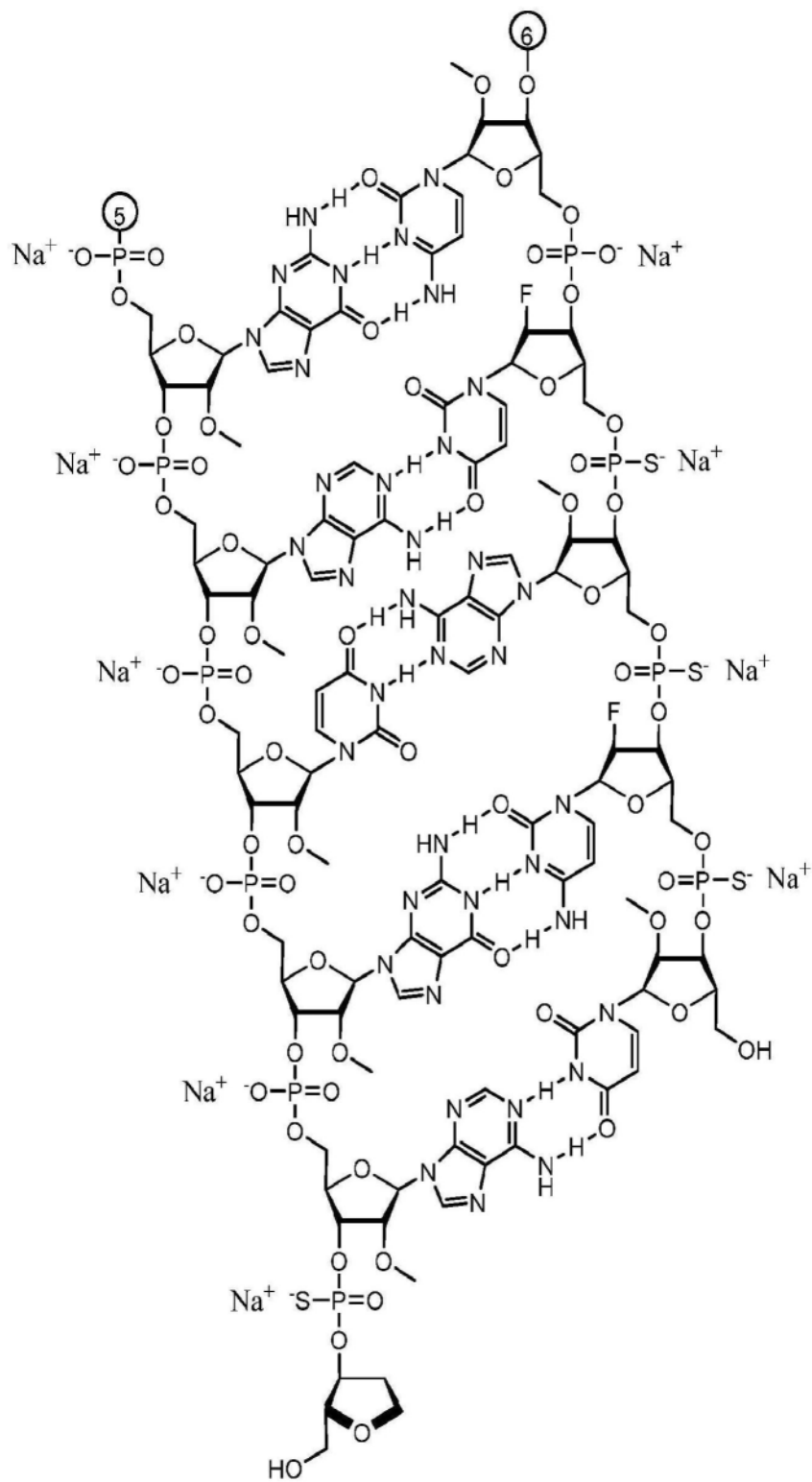


图6D

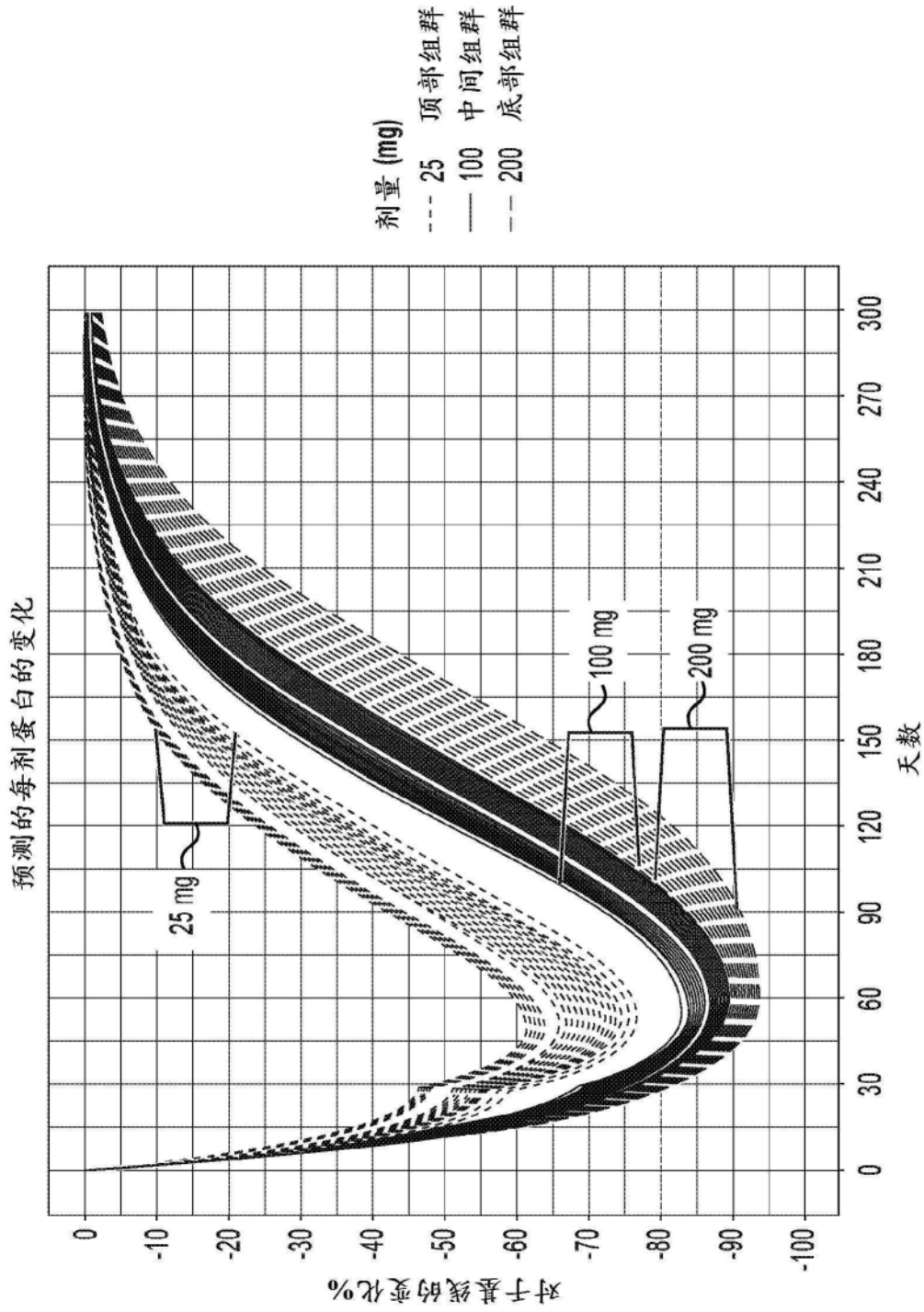


图7