(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202391362 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.08.21

(22) Дата подачи заявки
2021.11.04

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

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ RNAi, НАЦЕЛИВАЮЩИХСЯ НА LPA

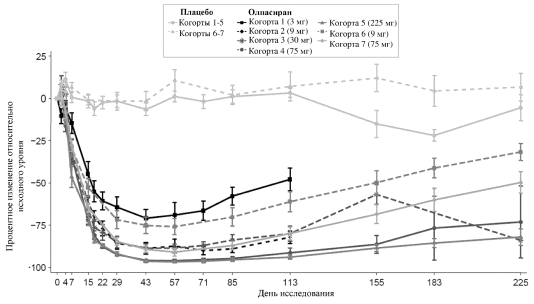
(31) **63/110,309**
(32) **2020.11.05**
(33) **US**
(86) **PCT/US2021/058012**
(87) **WO 2022/098841 2022.05.12**

(71) Заявитель:
ЭМДЖЕН ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Сон Винни, Джонс Закари, Кассахун Хелина (US)

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

(57) Настоящее изобретение относится к способам лечения или предупреждения атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания и других состояний, ассоциированных с повышенными уровнями липопротеина (a) (Lp(a)), с использованием конструкций для RNAi, нацеливающихся на ген LPA, который кодирует аполипопротеин (a), компонент частиц Lp(a). В частности, настоящее изобретение относится к способам снижения уровней Lp(a) в сыворотке крови и снижения риска неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы у пациентов с повышенными уровнями Lp(a), включающим введение конструкции для RNAi, нацеливающейся на LPA, в соответствии с конкретными схемами дозирования. Также раскрыты фармацевтические композиции, содержащие конструкции для RNAi, нацеливающиеся на LPA, для применения в данных способах.



202391362 A1

202391362 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-578003EA/032

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОГО СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ С ПОМОЩЬЮ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ RNAI, НАЦЕЛИВАЮЩИХСЯ НА LPA

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США № 63/110309, поданной 5 ноября 2020 года, которая настоящим включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОПИСАНИЕ ТЕКСТОВОГО ФАЙЛА, ПОДАННОГО В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ

[0002] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и настоящим включен посредством ссылки во всей своей полноте. Копия перечня последовательностей в машиночитаемой форме, которая была создана 1 ноября 2021 года, называется A-2694-WO-PCT_ST25 и имеет размер 3,5 килобайта.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0003] Настоящее изобретение относится к фармацевтическим композициям и способам лечения атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания и других состояний, ассоциированных с повышенным уровнем липопротеина (a) (Lp(a)). В частности, настоящее изобретение относится к способам снижения уровней Lp(a) в сыворотке крови и снижения риска неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы, таких как смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркт миокарда, инсульт и коронарная реваскуляризация, у пациентов с повышенным уровнем Lp(a) путем введения конструкции для RNAi, нацеливающейся на LPA, в соответствии с конкретными схемами дозирования.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0004] Атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания широко распространены и продолжают оставаться наиболее частой причиной смертности во всем мире, несмотря на широкое применение средств терапии, снижающих уровень липопротеинов низкой плотности (LDL). Хотя средства терапии, снижающие уровень LDL, снижают риск серьезных неблагоприятных явлений со стороны сердца, остаточный риск неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы, встречающийся у некоторых пациентов с низкими уровнями LDL, предполагает наличие других механизмов сердечно-сосудистой патологии. За последнее десятилетие убедительные данные эпидемиологических исследований и метаанализов, исследований с применением менделевской рандомизации и исследований с полногеномным поиском ассоциаций продемонстрировали, что повышенная концентрация Lp(a) в сыворотке крови ассоциирована с более высоким риском ишемической болезни сердца и нарушений, связанных с атеросклерозом (Clarke et al., N. Engl. J. Med., Vol. 361:2518-2528, 2009;

Kamstrup et al., JAMA, Vol. 301:2331-2339, 2009; Nordestgaard et al., European Heart Journal, Vol. 31:2844-2853, 2010; Helgadottir et al., J. Am. Coll. Cardiol, Vol. 60:722-729, 2012; Thanassoulis et al., J. Am. Coll. Cardiol., Vol. 55:2491-2498, 2010; Kamstrup et al., J. Am. Coll. Cardiol., Vol. 63:470-477, 2014; Kral et al., Journal of Cardiology, Vol. 118:656-661, 2016; Thanassoulis et al., J. Lipid Res., Vol. 57: 917-924, 2016; Tsimikas et al., J. Am. Coll. Cardiol., Vol. 69:692-711, 2017). В частности, в нескольких генетических и обсервационных исследованиях была описана связь между уровнями Lp(a) и ишемической болезнью сердца, инфарктом миокарда, инсультом, заболеванием периферических сосудов и стенозом аортального клапана (обзор приведен в Schmidt et al., J. Lipid Res., Vol. 57:1339-1359, 2016). Было отмечено, что эта взаимосвязь риска непрерывна и становится пропорционально более значимой при более высоких уровнях Lp(a). Связь сохраняется после корректировки по другим липидным параметрам (Emerging Risk Factors Collaboration, JAMA, Vol. 302:412-423, 2009).

[0005] Lp(a) представляет собой липопротеин низкой плотности, состоящий из частицы LDL и гликопротеина аполипопротеина (a) (apo(a)), который связан с аполипопротеином B частицы LDL посредством дисульфидной связи (Schmidt et al., supra). Apo(a) кодируется геном LPA и экспрессируется почти исключительно у приматов, включая людей. Apo(a) проявляет гомологию с плазминогеном и присутствует в различных изоформах вследствие полиморфизма размера гена, который обусловлен переменным количеством повторов домена kringle-IV типа 2 (KIV-2) (см. Kronenberg and Utermann, J. Intern. Med., Vol. 273:6-30, 2013). Наблюдалась обратная корреляция между размером изоформы apo(a) и уровнями частиц Lp(a) в плазме крови (Sandholzer et al., Hum. Genet., Vol. 86: 607-614, 1991). Lp(a) содержит провоспалительные окисленные фосфолипиды, которые способствуют его атерогенным эффектам (Tsimikas et al., J. Am. Coll. Cardiol., Vol. 63:1724-1734, 2014).

[0006] Высокая концентрация Lp(a) в плазме крови определяется генетически, остается на стабильных уровнях, не может контролироваться модификациями привычек (диетой, физическими упражнениями или другими факторами окружающей среды) и эффективно не контролируется ни одним из доступных в настоящее время лекарственных препаратов, снижающих уровень липидов. В настоящее время не существует одобренных средств терапии, предназначенных для снижения риска неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы за счет снижения уровня Lp(a). Умеренные снижения (на приблизительно 20-30%) уровня Lp(a) наблюдались при применении ингибиторов пропротеинконвертазы субтилизина/кексина типа 9 (PCSK9), ниацина или мипомерсена (Santos et al., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 35:689-699, 2015; Yeang et al., Curr. Opin. Lipidol., Vol. 26:169-178, 2015; и Landray et al., N. Engl. J. Med., Vol. 371:203-212, 2014). Хотя аферез эффективен для снижения уровня Lp(a), в настоящее время он используется только в нескольких странах с ограниченным доступом (Julius, J. Cardiovasc. Dev. Dis., Vol. 5:27-37, 2018). Кроме того, это инвазивная, очень дорогая процедура, требующая частых визитов, что делает ее непригодной для длительного

лечения субъектов, которые нуждаются в пожизненной терапии (Khan et al., Eur. Heart J., Vol. 38:1561-1569, 2017; Roeseler et al., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 36:2019-2027, 2016; Leebmann et al., Circulation, Vol. 128:2567-2576, 2013; Safarova et al., Atheroscler. Suppl., Vol. 14:93-99, 2013).

[0007] Был разработан антисмысловой олигонуклеотид, нацеливающийся на транскрипт матричной РНК apo(a) (AKCEA-APO(a)-LRx; также известный как ISIS 681257 и TQJ230), и в настоящее время проходит клиническое исследование (обзор приведен в Graham et al., J Lipid Res., Vol. 57: 340-351, 2016). Сообщалось, что при введении здоровым субъектам с исходными уровнями Lp(a), составляющими 75 нмоль/л или выше, в дозе 10 мг, 20 мг или 40 мг в дни 1, 3, 5, 8, 15 и 22 эта молекула снижала концентрации Lp(a) в среднем на 66%, 80% и 92% соответственно в день 36 и в среднем на 39%, 53% и 58% соответственно в день 113 (Viney et al., Lancet, Vol. 388:2239-2253, 2016). В последующем исследовании фазы 2 AKCEA-APO(a)-LRx снижал уровни Lp(a) у пациентов с установленным сердечно-сосудистым заболеванием, характеризующихся исходными уровнями Lp(a), составляющими 150 нмоль/л или выше, в среднем на 35%, 56% и 72% на неделе 25 при введении пациентам в дозе 20 мг, 40 мг или 60 мг соответственно один раз в 4 недели (Tsimikas et al., New England Journal of Medicine, Vol. 382:244-255, 2020). В настоящее время продолжается испытание фазы 3 в отношении сердечно-сосудистых исходов, в котором эту молекулу вводят в ежемесячной дозе 80 мг (идентификатор ClinicalTrials.gov NCT04023552).

[0008] Однако в данной области техники сохраняется потребность в новых терапевтических средствах, которые эффективно снижают концентрации Lp(a) в течение длительных периодов времени, чтобы сделать возможными схемы введения низких доз с низкой частотой для лечения и предупреждения атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0009] Настоящее изобретение частично основано на идентификации терапевтических схем с применением конструкции для RNAi, нацеливающейся на LPA, в частности олпасирана, для эффективного снижения уровней Lp(a) в кровотоке для лечения атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы снижения уровней Lp(a) в сыворотке или плазме крови у нуждающегося в этом пациента, включающие введение пациенту конструкции для RNAi LPA, описанной в данном документе, в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель. В некоторых таких вариантах осуществления у пациента, которому вводят конструкцию для RNAi LPA, диагностировано или имеется риск развития такого сердечно-сосудистого заболевания, как ишемическая болезнь сердца, заболевание сонных артерий, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, цереброваскулярное заболевание, инсульт, стеноз аортального клапана, стабильная или нестабильная стенокардия, фибрилляция

предсердий, сердечная недостаточность, гиперлипидемия, гетерозиготная семейная гиперхолестеринемия или гомозиготная семейная гиперхолестеринемия. У пациента может быть в анамнезе или в семейном анамнезе инфаркт миокарда, и/или у него может быть диагностирован острый коронарный синдром. В других вариантах осуществления у пациента, которому вводят конструкцию для RNAi LPA, диагностировано хроническое заболевание почек.

[0010] В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза у нуждающегося в этом пациента или лечения, снижения симптомов или предупреждения сердечно-сосудистого заболевания у нуждающегося в этом пациента. В таких вариантах осуществления способы включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA, описанной в данном документе, в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель. Сердечно-сосудистое заболевание, подлежащее лечению, купированию, снижению симптомов или предупреждению посредством способов по настоящему изобретению, может включать ишемическую болезнь сердца, заболевание сонных артерий, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, цереброваскулярное заболевание, инсульт, стеноз аортального клапана, стабильную или нестабильную стенокардию, фибрилляцию предсердий, сердечную недостаточность, гиперлипидемию, гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию или гомозиготную семейную гиперхолестеринемию.

[0011] Настоящее изобретение также включает способы снижения риска неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы у пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA, описанной в данном документе, в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель. Неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы может представлять собой серьезное неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы, такое как смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, нефатальный инфаркт миокарда, нефатальный инсульт или госпитализация вследствие нестабильной стенокардии. В некоторых вариантах осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы может представлять собой серьезное нежелательное явление со стороны конечностей, такое как острая ишемия конечностей, большая ампутация или периферическая реваскуляризация вследствие ишемии. В определенных вариантах осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркт миокарда, инсульт и/или коронарную реваскуляризацию. У пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, которому будет введена конструкция для RNAi LPA, может быть коронарная реваскуляризация в анамнезе,

аортокоронарное шунтирование в анамнезе, диагноз ишемической болезни сердца, диагноз атеросклеротического цереброваскулярного заболевания, диагноз заболевания периферических артерий и/или инфаркт миокарда в анамнезе. В одном варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA, перенес недавнее неблагоприятное явление, представляющее собой инфаркт миокарда, т. е. пациент перенес инфаркт миокарда в течение 1 года до первого введения конструкции для RNAi LPA. В другом варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA, госпитализирован вследствие острого коронарного синдрома или нестабильной стенокардии.

[0012] Пациенты, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуются повышенными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови. В некоторых вариантах осуществления уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 70 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В других вариантах осуществления уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 150 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В определенных вариантах осуществления уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 175 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В определенных других вариантах осуществления уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 200 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

[0013] В некоторых вариантах осуществления способов по настоящему изобретению пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA, получает средство терапии, снижающее уровень липидов, например, для снижения уровней LDL-C у пациента. Средство терапии, снижающее уровень липидов, может представлять собой ингибитор PCSK9, такой как антагонистическое моноклональное антитело к PCSK9 (например, эволокумаб, алирокумаб), статин (например, аторвастатин, церивастатин, флувастатин, ловастатин, мевастатин, питавастатин, правастатин, розувастатин, симвастатин), ингибитор всасывания холестерина (например, эзетимиб), бемпедоевую кислоту, никотиновую кислоту (например, ниацин), фиброевую кислоту (например, гемфиброзил, фенофибрат), секвестрант желчных кислот (например, холестирамин, колестипол, колесевелам), LDL, аферез или их комбинации. В этих и других вариантах осуществления уровень LDL-C в сыворотке крови пациента может составлять приблизительно 100 мг/дл или меньше или приблизительно 70 мг/дл или меньше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

[0014] В определенных вариантах осуществления способов по настоящему изобретению фиксированную дозу конструкции для RNAi LPA вводят пациенту один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В некоторых таких вариантах осуществления фиксированная доза может составлять от приблизительно 10 мг до приблизительно 225 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 225 мг, от приблизительно 50 мг до

приблизительно 100 мг или от приблизительно 150 мг до приблизительно 225 мг. В одном варианте осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 10 мг, один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В другом варианте осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 75 мг, один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В еще одном варианте осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 150 мг, один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В еще одном варианте осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 225 мг, один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца.

[0015] В определенных других вариантах осуществления способов по настоящему изобретению фиксированную дозу конструкции для RNAi LPA вводят пациенту один раз в 24 недель или один раз в 6 месяца. В некоторых таких вариантах осуществления фиксированная доза может составлять от приблизительно 225 мг до приблизительно 675 мг, от приблизительно 225 мг до приблизительно 450 мг или от приблизительно 200 мг до приблизительно 300 мг. В некоторых вариантах осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 225 мг, один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В других вариантах осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300 мг, один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В определенных вариантах осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 450 мг, один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В определенных других вариантах осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 675 мг, один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев.

[0016] Введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению существенно снижает уровень Lp(a) в плазме или сыворотке крови пациента в течение длительных периодов времени. Например, в некоторых вариантах осуществления способов по настоящему изобретению введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 80% в течение по меньшей мере 12 недель, по меньшей мере 16 недель или по меньшей мере 24 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента. В других вариантах осуществления способов по настоящему изобретению введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 90% в течение по меньшей мере 12 недель, по меньшей мере 16 недель или по меньшей мере 24 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента. В определенных вариантах осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению снижает уровень Lp(a) в плазме или сыворотке крови пациента до приблизительно 100 нмоль/л или меньше. В некоторых вариантах

осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению снижает уровень Lp(a) в плазме или сыворотке крови пациента до приблизительно 75 нмоль/л или меньше. В других вариантах осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению снижает уровень Lp(a) в плазме или сыворотке крови пациента до приблизительно 50 нмоль/л или меньше.

[0017] В любых вариантах осуществления способов, раскрытых в данном документе, конструкция для RNAi LPA, вводимая пациенту, может представлять собой двухнитевую молекулу РНК, такую как молекула siRNA, содержащая смысловую нить и антисмысловую нить, где антисмысловая нить содержит участок, характеризующийся последовательностью, которая комплементарна последовательности мРНК LPA. Предпочтительно, смысловая нить содержит последовательность, которая комплементарна последовательности антисмысловой нити в достаточной степени, чтобы образовать дуплексный участок длиной от приблизительно 15 до приблизительно 30 пар оснований. В определенных вариантах осуществления способов по настоящему изобретению конструкция для RNAi LPA, вводимая пациенту, содержит смысловую нить и антисмысловую нить, длина каждой из которых составляет от приблизительно 19 до приблизительно 23 нуклеотидов, где антисмысловая нить содержит последовательность, которая комплементарна последовательности мРНК LPA, а смысловая нить содержит последовательность, которая комплементарна последовательности антисмысловой нити. В одном таком варианте осуществления длина каждой из смысловой нити и антисмысловой нити конструкции для RNAi LPA может составлять 21 нуклеотид, и они способны гибридизироваться друг с другом с образованием дуплексного участка длиной 21 пара оснований, так что конструкция для RNAi содержит два "тупых" конца. В другом таком варианте осуществления длина каждой из смысловой нити и антисмысловой нити конструкции для RNAi LPA может составлять 19 нуклеотидов, и они способны гибридизироваться друг с другом с образованием дуплексного участка длиной 19 пар оснований, так что конструкция для RNAi содержит два "тупых" конца.

[0018] В некоторых вариантах осуществления способов по настоящему изобретению конструкция для RNAi LPA, вводимая пациенту, дополнительно содержит нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к смысловой нити, например, к 5′-концу смысловой нити. Нацеливающий фрагмент может содержать тривалентный фрагмент GalNAc, такой как фрагмент, характеризующийся структурой согласно структуре 1, описанной в данном документе. В определенных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, вводимая пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению, содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, и антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности

под SEQ ID NO: 3, и антисмысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности под SEQ ID NO: 4. В определенных предпочтительных вариантах осуществления смысловая нить и/или антисмысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит один или несколько модифицированных нуклеотидов. В таких вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с SEQ ID NO: 5, и антисмысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с SEQ ID NO: 6. В предпочтительных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, вводимая пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет собой олпасиран.

[0019] Настоящее изобретение также предусматривает фармацевтические композиции, содержащие конструкцию для RNAi LPA, такую как олпасиран, для применения в способах по настоящему изобретению, описанных в данном документе. Фармацевтические композиции могут содержать один или несколько фармацевтически приемлемых разбавителей, носителей или вспомогательных веществ. В определенных вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат конструкцию для RNAi LPA (например, олпасиран), калий-фосфатный буфер и хлорид натрия, где композиция характеризуется значением pH, составляющим от приблизительно 6,6 до приблизительно 7,0, предпочтительно приблизительно 6,8. Любая из фармацевтических композиций, описанных в данном документе, может быть включена в инъекционные устройства, такие как предварительно заполненные шприцы, автоинъекторы, инъекционные помпы, нательные инъекторы и инъекционные шприц-ручки, для введения (например, подкожного введения) пациенту в соответствии с описанными в данном документе способами. В некоторых вариантах осуществления введение конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана) или фармацевтической композиции, содержащей конструкцию для RNAi LPA (например, олпасиран), пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению осуществляют путем подкожной инъекции. В таких вариантах осуществления объем инъекции составляет приблизительно 2 мл или меньше или приблизительно 1 мл или меньше, например, приблизительно 1 мл.

[0020] Конкретно рассмотрено применение конструкций для RNAi LPA в любом из способов, раскрытых в данном документе, или для получения лекарственных препаратов для введения в соответствии с любым из способов, раскрытых в данном документе. Например, настоящее изобретение включает конструкцию для RNAi LPA для применения в способе лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза или сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, где способ включает введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель. Настоящее изобретение также включает конструкцию для RNAi LPA для применения в способе снижения уровней Lp(a) в сыворотке или плазме крови

пациента, где способ включает введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает конструкцию для RNAi LPA для применения в способе снижения риска неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы у пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, где способ включает введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель.

[0021] Настоящее изобретение также охватывает применение конструкции для RNAi LPA в получении лекарственного препарата для лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза или сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, где лекарственный препарат вводят или составляют для введения в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает применение конструкции для RNAi LPA в получении лекарственного препарата для снижения уровней Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента, где лекарственный препарат вводят или составляют для введения в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель. В других вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает применение конструкции для RNAi LPA в получении лекарственного препарата для снижения риска неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы у пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, где лекарственный препарат вводят или составляют для введения в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0022] На **фигуре 1** схематически изображена структура конструкции для RNAi LPA, олпасирана. Верхняя нить, указанная в направлении от 5′ к 3′, представляет собой смысловую нить (SEQ ID NO: 5), а нижняя нить, указанная в направлении от 3′ к 5′, представляет собой антисмысловую нить (SEQ ID NO: 6). Черные круги представляют нуклеотиды с 2′-O-метил-модификацией, белые круги представляют нуклеотиды с 2′-дезокси-2′-фтор-модификацией, и серый круг представляет дезоксиаденозиновый нуклеотид, связанный с соседним нуклеотидом посредством 3′-3′-связи (т. е. инвертированный). Серые линии, соединяющие круги, представляют фосфодиэфирные связи, тогда как черные линии, соединяющие круги, представляют фосфоротиоатные связи. Тривалентный фрагмент GalNAc, характеризующийся изображенной структурой, представлен как R1 и ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити посредством фосфоротиоатной связи.

[0023] **Фигура 2** представляет собой линейный график, демонстрирующий

процентное изменение относительно исходного значения уровней Lp(a) в плазме крови субъектов-людей после однократного подкожного введения дозы плацебо или олпасирана в указанных дозах в каждой из когорт 1-7 в течение дней исследования. Исходные значения представляли собой среднее значение уровней Lp(a) при скрининге и уровней Lp(a) до введения дозы в день 1. Если было доступно только 1 значение, его использовали в качестве исходного значения.

[0024] На **фигурах 3A-3F** показаны прогностические уровни Lp(a) в виде процента от исходного уровня при ежеквартальном (Q3M) введении олпасирана в дозах, составляющих 10 мг (**фиг. 3A**), 30 мг (**фиг. 3B**), 50 мг (**фиг. 3C**), 75 мг (**фиг. 3D**), 150 мг (фиг**. 3E**) и 225 мг (**фиг. 3F**), для субъектов с исходными уровнями Lp(a) ≥ 150 нмоль/л. Горизонтальная линия на каждом из графиков представляет 80% снижение уровней Lp(a) относительно исходного уровня. Прогностические уровни Lp(a) основаны на симуляциях модели PK/PD для 10000 субъектов. Прогностические данные показаны в виде медианных значений (сплошная линия) с 95% интервалом прогнозирования, представленным затенением. Закрашенные круги на фигуре 3D представляют данные наблюдений для когорты 7, описанной в примере 1.

[0025] На **фигурах 4A-4F** показаны прогностические уровни Lp(a) в виде процента от исходного уровня при введении два раза в год (Q6M) олпасирана в дозах, составляющих 10 мг (**фиг. 4A**), 75 мг (**фиг. 4B**), 150 мг (**фиг. 4C**), 225 мг (**фиг. 4D**), 450 мг (фиг**. 4E**) и 675 мг (**фиг. 4F**), для субъектов с исходными уровнями Lp(a) ≥ 150 нмоль/л. Горизонтальная линия на каждом из графиков представляет 80% снижение уровней Lp(a) относительно исходного уровня. Прогностические уровни Lp(a) основаны на симуляциях модели PK/PD для 10000 субъектов. Прогностические данные показаны в виде медианных значений (сплошная линия) с 95% интервалом прогнозирования, представленным затенением. Закрашенные круги на фигуре 4B представляют данные наблюдений для когорты 7, описанной в примере 1.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0026] Сообщалось, что Lp(a) является причинным фактором риска различных форм сердечно-сосудистых заболеваний, включая инфаркт миокарда, инсульт, заболевание периферических артерий и аортальный стеноз. Концентрации Lp(a) определяется генетически и, в отличие от концентраций холестерина LDL (LDL-C), не могут быть изменены посредством диеты, физических упражнений или других изменений образа жизни. В настоящее время не существует одобренных средств терапии, которые селективно нацеливаются на апо(a) и существенно снижают уровни Lp(a). Настоящее изобретение предусматривает новые схемы дозирования конструкции для RNAi, нацеливающейся на мРНК, транскрибируемую с гена LPA, который кодирует белок апо(a), для устойчивого подавления уровней Lp(a) для лечения или предупреждения атеросклероза и родственных сердечно-сосудистых состояний. Было обнаружено, что конкретная конструкция для RNAi, нацеливающаяся на LPA, олпасиран, снижает концентрации Lp(a) у субъектов-людей с исходными уровнями Lp(a) ≥ 70 нмоль/л на 71-

96% после введения однократных доз со значениями максимального процентного снижения > 90%, и эффекты сохраняются в течение более чем 6 месяцев при введении однократных доз, составляющих 9 мг или выше (см. пример 1). В частности, однократные дозы, составляющие всего 9 мг олпасирана, снижали уровни Lp(a) у субъектов-людей на более чем 80% в течение более чем 3 месяцев, тогда как однократные дозы олпасирана, составляющие 75 мг и 225 мг, подавляли уровни Lp(a) на более чем 80% в течение более чем шести месяцев. Олпасиран также хорошо переносился в этих дозах, и серьезных нежелательных явлений, связанных с лечением, не было (см. пример 1). Надежное и устойчивое подавление Lp(a) в этом диапазоне дозировок было неожиданным, так как прогнозировалось, что потребуются в 8 раз более высокие дозы (например, 75 мг против 9 мг) для снижения уровня Lp(a) на 80% в течение одного месяца, исходя из аллометрического масштабирования доз олпасирана, оцененных у яванских макак.

[0027] Интенсивность и продолжительность подавления Lp(a) у субъектов-людей с помощью олпасирана также были неожиданными, учитывая результаты, полученные у субъектов-людей с применением других терапевтических средств на основе нуклеиновых кислот, нацеливающихся на апо(а). Сообщалось, что AKCEA-APO(a)-LRx, антисмысловой олигонуклеотид, нацеливающийся на апо(а), снижает уровни Lp(a) у субъектов-людей на 35-80% через шесть месяцев лечения. Тем не менее, требовались еженедельные дозы, составляющие 20 мг, или ежемесячные дозы, составляющие 60 мг AKCEA-APO(a)-LRx, для достижения снижения уровней Lp(a) на 80% и 72% соответственно (см. Tsimikas et al., New England Journal of Medicine, Vol. 382:244-255, 2020). Напротив, как описано в данном документе, однократные дозы олпасирана приводили к снижениям уровней Lp(a) на более чем 80% в течение более шести месяцев, что позволяет вводить олпасиран в более низких дозах и при более длительных интервалах между введениями доз, например, один раз в 3 месяца или один раз в 6 месяцев. Таким образом, способы по настоящему изобретению обеспечивают значительные улучшения в лечении людей с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, включая, например, улучшение соблюдения пациентом режима, снижение стоимости лекарственного препарата и уменьшение объема и количества инъекций. Соответственно, в определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения, предупреждения или снижения риска развития сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, включающие введение пациенту эффективного количества конструкции для RNAi LPA в соответствии с конкретными схемами дозирования, описанными в данном документе.

[0028] Атеросклероз представляет собой заболевание, при котором бляшки, состоящие из жировых веществ, холестерина, кальция, фибрина и клеточных продуктов жизнедеятельности, накапливаются в различных артериях организма. Со временем бляшки затвердевают и сужают просвет артерий, тем самым ограничивая приток крови к органам и тканям организма. Атеросклероз может привести к развитию ряда других заболеваний, таких как сердечно-сосудистое заболевание, цереброваскулярное заболевание или хроническое заболевание почек, в зависимости от конкретных артерий,

которые поражены накоплением атеросклеротических бляшек. Например, ишемическая болезнь сердца возникает, когда бляшки накапливаются в коронарных артериях и частично блокируют приток крови к сердцу, что может привести к стенокардии и инфаркту миокарда. Накопление атеросклеротических бляшек в сонных артериях, которые снабжают головной мозг богатой кислородом кровью, приводит к заболеванию сонных артерий и может вызвать транзиторную ишемическую атаку или инсульт, если приток крови снижен или заблокирован. Заболевание периферических артерий возникает, когда бляшки накапливаются в крупных артериях, снабжающих кровью конечности и таз, и может привести к аневризмам брюшной аорты и ишемии конечностей, вызывая онемение и боль. Когда атеросклеротические бляшки накапливаются в почечных артериях, развивается хроническое заболевание почек, которое со временем может привести к снижению функции почек, что может привести к почечной недостаточности. Lp(a) представляет собой атерогенный липопротеин, повышенные уровни которого были ассоциированы, в частности, с повышенным риском ишемической болезни сердца, заболевания периферических артерий, инфаркта миокарда и инсульта. Способы по настоящему изобретению применимы для лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза у пациента путем снижения уровней Lp(a) в кровотоке. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза у пациента, нуждающегося в этом, включающие введение пациенту эффективного количества конструкции для RNAi LPA в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. В одном варианте осуществления настоящее изобретение включает применение любой из конструкций для RNAi LPA, описанных в данном документе, для получения лекарственного препарата для лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза у пациента, нуждающегося в этом, где лекарственный препарат вводят или составляют для введения в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. В другом варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает конструкцию для RNAi LPA, такую как любая из конструкций для RNAi LPA, описанных в данном документе, для применения в способе лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза у пациента, нуждающегося в этом, где способ включает введение конструкции для RNAi LPA в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе.

[0029] В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение также предусматривает способы лечения, снижения симптомов, купирования или предупреждения сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, включающие введение пациенту эффективного количества конструкции для RNAi LPA в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение включает применение любой из конструкций для RNAi LPA, описанных в данном документе, для получения лекарственного препарата для лечения, снижения симптомов или предупреждения

сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, где лекарственный препарат вводят или составляют для введения в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. В других вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает конструкцию для RNAi LPA, такую как любая из конструкций для RNAi LPA, описанных в данном документе, для применения в способе лечения, снижения симптомов или предупреждения сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, где способ включает введение конструкции для RNAi LPA в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. Сердечно-сосудистое заболевание представляет собой класс заболеваний и состояний, которые поражают кровеносные сосуды или сердце и включают без ограничения инфаркт миокарда, сердечную недостаточность, транзиторную ишемическую атаку, инсульт (ишемический и геморрагический), атеросклероз, ишемическую болезнь сердца, заболевание периферических сосудов (например, заболевание периферических артерий), аневризму (например, аневризму брюшной аорты), заболевание сонных артерий, цереброваскулярное заболевание, стабильную или нестабильную стенокардию, фибрилляцию предсердий, гиперлипидемию, семейную гиперхолестеринемию (гетерозиготную и гомозиготную), нестабильную бляшку и стеноз аортального клапана. Таким образом, в определенных вариантах осуществления у пациентов, подлежащих лечению в соответствии со способами по настоящему изобретению, диагностировано сердечно-сосудистое заболевание или имеется риск его развития. Пациент, который подвержен риску развития сердечно-сосудистого заболевания, может иметь семейный анамнез сердечно-сосудистого заболевания и/или может иметь один или несколько факторов риска развития сердечно-сосудистого заболевания. Такие факторы риска включают без ограничения гипертензию, повышенные уровни холестерина, отличного от холестерина HDL, повышенные уровни триглицеридов, диабет, ожирение или употребление табака. Диагностику атеросклероза и сердечно-сосудистого заболевания можно осуществлять с применением различных способов, известных специалистам в данной области техники, и она может включать один или несколько из следующего: медицинский и семейный анамнез пациента, факторы риска пациента, физикальное обследование, анализы крови для измерения уровня различных биомаркеров, таких как уровни липидов (например, LDL-C, триглицеридов, Lp(a), гликированного гемоглобина A1C, С-реактивного белка, аполипопротеина B, сердечного тропонина-T и т. п.), электрокардиограмму, эхокардиограмму, тестирование с нагрузкой, рентгенографию органов грудной клетки, компьютерную томографию (КТ) (например, КТ-сканирование сердца) и ангиографию.

[0030] В некоторых вариантах осуществления сердечно-сосудистое заболевание, подлежащее лечению, снижению симптомов, купированию или предупреждению в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет собой ишемическую болезнь сердца. Признаки и симптомы ишемической болезни сердца могут включать боль в грудной клетке (например, стенокардию), одышку, инфаркт миокарда,

стеноз одной или нескольких коронарных артерий, боль или дискомфорт в руках или плечах, слабость, головокружение, тошноту и аортокоронарное шунтирование и/или чрескожное коронарное вмешательство в анамнезе. В родственных вариантах осуществления сердечно-сосудистое заболевание, подлежащее лечению, снижению симптомов, купированию или предупреждению в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет собой инфаркт миокарда.

[0031] В других вариантах осуществления сердечно-сосудистое заболевание, подлежащее лечению, снижению симптомов, купированию или предупреждению в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет собой цереброваскулярное заболевание, в частности атеросклеротическое цереброваскулярное заболевание. Цереброваскулярное заболевание относится к нарушениям, при которых область головного мозга временно или постоянно поражена ишемией или кровотечением вследствие дисфункции или осложнений, связанных с одним или несколькими из церебральных кровеносных сосудов. Цереброваскулярные заболевания включают без ограничения транзиторную ишемическую атаку, инсульт (ишемический или геморрагический), стеноз сонной артерии, стеноз позвоночной артерии, стеноз внутричерепной артерии, аневризмы и сосудистые мальформации. Признаки и симптомы цереброваскулярного заболевания могут включать головокружение, тошноту, рвоту, необычно сильную головную боль, спутанность сознания, дезориентацию, потерю памяти, онемение или слабость в руке, ноге или лице, особенно с одной стороны, аномальную или невнятную речь, затруднения с пониманием, потерю зрения или нарушение зрения, потерю равновесия, координации или способности ходить, стеноз сонной артерии и транзиторные ишемические атаки и/или случаи реваскуляризации сонных артерий в анамнезе. В одном варианте осуществления сердечно-сосудистое заболевание, подлежащее лечению, снижению симптомов, купированию или предупреждению в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет собой инсульт.

[0032] В определенных других вариантах осуществления сердечно-сосудистое заболевание, подлежащее лечению или предупреждению в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет собой заболевание периферических артерий. Признаки и симптомы заболевания периферических артерий могут включать боль или мышечные судороги в ногах или руках при ходьбе (перемежающаяся хромота), онемение ног или слабость в ногах, ощущение холода в голени или стопе, язвы на пальцах ног, стопах или ногах, которые не заживают, изменение цвета ног, выпадение волос или более медленный рост волос на стопах и ногах, более медленный рост ногтей на пальцах ног, блестящую кожу на ногах, отсутствие пульса или слабый пульс в ногах или стопах, лодыжечно-плечевой индекс $\leq$ 0,90, наличие аневризмы брюшной аорты в анамнезе, лечение брюшной аорты (чрескожное или хирургическое) и/или реваскуляризацию периферических артерий (чрескожную или хирургическую).

[0033] В некоторых вариантах осуществления введение конструкций для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению предназначено для

лечения атеросклероза и других сердечно-сосудистых заболеваний и состояний. Используемый в данном документе термин "лечение" или "лечить" относится к применению или введению конструкции для RNAi LPA пациенту, у которого имеется или диагностирован атеросклероз или другое сердечно-сосудистое заболевание, имеется симптом атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания, имеется риск развития атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания или имеется предрасположенность к развитию атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания, с целью лечения, исцеления, облегчения, ослабления, изменения, купирования или улучшения в отношении атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания, одного или нескольких симптомов атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания, риска развития атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания или предрасположенности к развитию атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания. Термин "лечение" охватывает любое улучшение в отношении заболевания у пациента, включая замедление или остановку прогрессирования атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания у пациента, уменьшение количества или степени тяжести симптомов атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания или увеличение частоты или продолжительности периодов, когда у пациента отсутствуют симптомы атеросклероза или другого сердечно-сосудистого заболевания. Термин "пациент", используемый в данном документе, относится к млекопитающему, в том числе к человеку, и может использоваться взаимозаменяемо с термином "субъект". В предпочтительных вариантах осуществления пациент является пациентом-человеком.

[0034] В определенных предпочтительных вариантах осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии с любым из способов по настоящему изобретению снижает уровни или значения концентрации Lp(a) в кровотоке (например, уровни/значения концентрации Lp(a) в сыворотке или плазме крови) пациента по сравнению с уровнями Lp(a) в кровотоке пациента до введения конструкции для RNAi LPA (например, исходный уровень/концентрация Lp(a)) или по сравнению с уровнем/концентрацией Lp(a) в кровотоке пациента, не получающего конструкцию для RNAi LPA. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способ снижения уровней (или значений концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту конструкции для RNAi LPA в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. В одном варианте осуществления настоящее изобретение включает применение любой из конструкций для RNAi LPA, описанных в данном документе, для получения лекарственного препарата для снижения уровней (или значений концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента, нуждающегося в этом, где лекарственный препарат вводят или составляют для введения в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. В другом варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает конструкцию для RNAi

LPA, такую как любая из конструкций для RNAi LPA, описанных в данном документе, для применения в способе снижения уровней (или значений концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента, нуждающегося в этом, где способ включает введение конструкции для RNAi LPA в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления пациент, нуждающийся в снижении уровней (или значений концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови, представляет собой пациента с диагностированным сердечно-сосудистым заболеванием или с риском развития сердечно-сосудистого заболевания, такого как любое из сердечно-сосудистых заболеваний, описанных выше. В некоторых таких вариантах осуществления сердечно-сосудистое заболевание представляет собой ишемическую болезнь сердца, заболевание сонных артерий, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, цереброваскулярное заболевание, инсульт, стеноз аортального клапана, стабильную или нестабильную стенокардию, фибрилляцию предсердий, сердечную недостаточность, гиперлипидемию, гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию или гомозиготную семейную гиперхолестеринемию. В одном конкретном варианте осуществления у пациента, нуждающегося в снижении уровней (или значений концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови, имеется инфаркт миокарда в анамнезе или имеется инфаркт миокарда в семейном анамнезе.

[0035] В определенных вариантах осуществления у пациента, нуждающегося в снижении уровней (или значений концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови, диагностирован острый коронарный синдром. Острый коронарный синдром относится к состояниям, ассоциированным с внезапным снижением притока крови к сердцу, часто вызванным разрывом атеросклеротической бляшки и частичным или полным тромбозом коронарной артерии. Острые коронарные синдромы включают острую ишемию или инфаркт миокарда, такие как инфаркт миокарда без повышения ST-сегмента (NSTEMI) и MI с повышением ST-сегмента (STEMI), а также нестабильную стенокардию. Даже если острый коронарный синдром изначально не приводит к инфаркту, он является признаком высокого риска возникновения инфаркта и требует безотлагательной диагностики и лечения. Признаки и симптомы острого коронарного синдрома обычно начинаются внезапно и могут включать боль (стенокардию) или дискомфорт в грудной клетке, боль, распространяющуюся от грудной клетки к плечам, рукам, верхней части живота, спине, шее или челюсти, тошноту или рвоту, нарушение пищеварения, одышку, внезапное обильное потоотделение, предобморочное состояние, головокружение или обморок, необычную или необъяснимую усталость и ощущения беспокойства или тревоги.

[0036] В определенных других вариантах осуществления у пациента, нуждающегося в снижении уровней (или значений концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови, диагностировано хроническое заболевание почек. Хроническое заболевание почек обычно относится к постепенному повреждению почек и потере их функции. По мере ухудшения хронического заболевания почек пациент может подвергаться повышенному риску развития других сердечно-сосудистых заболеваний. В одном

варианте осуществления у пациента, подлежащего лечению в соответствии со способами по настоящему изобретению, имеется хроническое заболевание почек 3 стадии. Стадии заболевания почек определяют по расчетной скорости клубочковой фильтрации (eGFR), которая представляет собой значение, основанное на количестве креатинина в крови. Хроническое заболевание почек 3 стадии характеризуется eGFR, составляющей от приблизительно 30 мл/мин/1,73 $м^2$ до приблизительно 59 мл/мин/1,73 $м^2$, и может сопровождаться некоторыми начальными симптомами, такими как отек рук и ног, боль в спине и мочеиспускание больше или меньше, чем обычно. У пациентов с хроническим заболеванием почек 3 стадии также могут быть и другие проблемы со здоровьем, такие как гипертензия, анемия и заболевание костей. В другом варианте осуществления у пациента, подлежащего лечению в соответствии со способами по настоящему изобретению, имеется хроническое заболевание почек 4 стадии. Пациент с хроническим заболеванием почек 4 стадии характеризуется eGFR, составляющей от приблизительно 15 мл/мин/1,73 $м^2$ до приблизительно 29 мл/мин/1,73 $м^2$, и обычно демонстрирует такие симптомы, как отек рук и ног, боль в спине и мочеиспускание больше или меньше, чем обычно.

[0037] В некоторых вариантах осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению снижает уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 55%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 65%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 91%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94% или по меньшей мере приблизительно 95% по сравнению с уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до введения конструкции для RNAi (например исходным уровнем или концентрацией Lp(a)) или по сравнению с уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента, не получающего конструкцию для RNAi. В этих и других вариантах осуществления после введения конструкции для RNAi LPA (например, введения однократной дозы конструкции для RNAi LPA) уровни или значения концентрации Lp(a) в кровотоке снижаются у пациента в течение по меньшей мере 4 недель, по меньшей мере 6 недель, по меньшей мере 8 недель, по меньшей мере 10 недель, по меньшей мере 12 недель, по меньшей мере 14 недель, по меньшей мере 16 недель, по меньшей мере 18 недель, по меньшей мере 20 недель, по меньшей мере 22 недель, по меньшей мере 24 недель, по меньшей мере 26 недель, по меньшей мере 28 недель, по меньшей мере 30 недель, по меньшей мере 32 недель, по меньшей мере 36 недель или по меньшей мере 48 недель.

[0038] В одном варианте осуществления способов по настоящему изобретению

введение конструкции для RNAi LPA (например, однократной дозы конструкции для RNAi LPA) снижает уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 50% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента. Исходные уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови относятся к уровням (или значениям концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до введения конструкции для RNAi LPA (т. е. к уровням или значениям концентрации до лечения). Исходный уровень/концентрация может представлять собой одно измерение, проведенное до того, как пациент получит конструкцию для RNAi LPA, или исходный уровень/концентрация может представлять собой среднее значение двух или более измерений, проведенных до того, как пациент получит конструкцию для RNAi LPA. В другом варианте осуществления способов по настоящему изобретению введение конструкции для RNAi LPA (например, однократной дозы конструкции для RNAi LPA) снижает уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 50% в течение по меньшей мере 24 недель по сравнению с исходными уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента. В еще одном варианте осуществления способов по настоящему изобретению введение конструкции для RNAi LPA (например, однократной дозы конструкции для RNAi LPA) снижает уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 80% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента. В еще одном варианте осуществления способов по настоящему изобретению введение конструкции для RNAi LPA (например, однократной дозы конструкции для RNAi LPA) снижает уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 80% в течение по меньшей мере 24 недель по сравнению с исходными уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента. В определенных вариантах осуществления способов по настоящему изобретению введение конструкции для RNAi LPA (например, однократной дозы конструкции для RNAi LPA) снижает уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 80% в течение по меньшей мере 32 недель по сравнению с исходными уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента. В некоторых вариантах осуществления способов по настоящему изобретению введение конструкции для RNAi LPA (например, однократной дозы конструкции для RNAi LPA) снижает уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 90% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента. В других вариантах осуществления способов по настоящему изобретению введение конструкции для RNAi LPA (например, однократной дозы конструкции для RNAi LPA) снижает уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 90% в

течение по меньшей мере 16 недель по сравнению с исходными уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента.

[0039] В определенных вариантах осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению снижает абсолютные уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 150 нмоль/л или меньше, приблизительно 125 нмоль/л или меньше, приблизительно 100 нмоль/л или меньше, приблизительно 75 нмоль/л или меньше, приблизительно 70 нмоль/л или меньше, приблизительно 65 нмоль/л или меньше, приблизительно 60 нмоль/л или меньше, приблизительно 55 нмоль/л или меньше, приблизительно 50 нмоль/л, приблизительно 45 нмоль/л или меньше, приблизительно 40 нмоль/л или меньше, приблизительно 35 нмоль/л или меньше или приблизительно 30 нмоль/л или меньше. В одном варианте осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению снижает абсолютные уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 125 нмоль/л или меньше. В другом варианте осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению снижает абсолютные уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 100 нмоль/л или меньше. В другом варианте осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению снижает абсолютные уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 75 нмоль/л или меньше. В еще одном варианте осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению снижает абсолютные уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 50 нмоль/л или меньше.

[0040] Хотя предпочтительно измерять уровни/значения концентрации Lp(a) в единицах концентрации частиц (например нмоль/л) (см., например, Wilson et al., Journal of Clinical Lipidology, Vol. 13: 374-392, 2019), уровни Lp(a) можно измерять в единицах массовой концентрации (например мг/дл). В таких вариантах осуществления введение конструкции для RNAi LPA пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению может снизить уровни (или значения концентрации) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 100 мг/дл или меньше, приблизительно 90 мг/дл или меньше, приблизительно 80 мг/дл или меньше, приблизительно 70 мг/дл или меньше, приблизительно 60 мг/дл или меньше, приблизительно 50 мг/дл или меньше, приблизительно 45 мг/дл или меньше, приблизительно 40 мг/дл или меньше, приблизительно 35 мг/дл или меньше, приблизительно 30 мг/дл или меньше, приблизительно 25 мг/дл или меньше, приблизительно 20 мг/дл или меньше или приблизительно 15 мг/дл или меньше.

[0041] Уровни Lp(a) можно измерять в образцах плазмы или сыворотки крови с использованием коммерчески доступных наборов, таких как набор для ELISA-анализа

Lp(a) от Mercodia AB (Уппсала, Швеция), иммунотурбидиметрического анализа Lp(a) от Randox Laboratories Ltd. (Крамлин, Соединенное Королевство) или анализа Lp(a) Tina-quant® Gen. 2 от F. Hoffmann-La Roche Ltd. (Базель, Швейцария), или с использованием других способов, известных из уровня техники, таких как способы, описанные в Marcovina and Albers, J. Lipid Res., Vol. 57:526-537, 2016. В определенных вариантах осуществления уровни Lp(a) измеряют с применением турбидиметрического иммуноанализа, который стандартизирован для выявления и количественного определения частиц Lp(a) независимо от размера изоформы apo(a). В этих и других вариантах осуществления анализ, используемый для измерения уровней Lp(a), стандартизирован относительно эталонного материала IFCC SRM2B для нмоль/л (Marcovina et al., Clin. Chem., Vol. 46: 1946-1967, 2000).

[0042] Как описано выше, повышенные уровни Lp(a) в кровотоке ассоциированы с повышенным риском сердечно-сосудистого заболевания. Таким образом, способы по настоящему изобретению также применимы для снижения риска неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы у пациентов с повышенными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови. Соответственно, в определенных вариантах осуществления настоящее изобретение предусматривает способы снижения риска неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы у пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, включающие введение пациенту эффективного количества конструкции для RNAi LPA в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. В одном варианте осуществления настоящее изобретение включает применение любой из конструкций для RNAi LPA, описанных в данном документе, для получения лекарственного препарата для снижения риска неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы у пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, где лекарственный препарат вводят или составляют для введения в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе. В другом варианте осуществления настоящее изобретение предусматривает конструкцию для RNAi LPA, такую как любая из конструкций для RNAi LPA, описанных в данном документе, для применения в способе снижения риска неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы у пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, где способ включает введение конструкции для RNAi LPA в соответствии с любой из схем дозирования, описанных в данном документе.

[0043] В некоторых вариантах осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой одно или несколько из следующего: смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркт миокарда, инсульт (например, ишемический инсульт), коронарная реваскуляризация, госпитализация вследствие нестабильной стенокардии, госпитализация вследствие сердечной недостаточности, периферическая реваскуляризация, острая ишемия конечностей, транзиторная ишемическая атака, большая ампутация конечности вследствие ишемии,

цереброваскулярная реваскуляризация и смерть по всем причинам. В определенных вариантах осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркт миокарда, инсульт (например, ишемический инсульт) и/или коронарную реваскуляризацию. В некоторых таких вариантах осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркт миокарда и/или коронарную реваскуляризацию. В других таких вариантах осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой инфаркт миокарда и/или коронарную реваскуляризацию. В других вариантах осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой серьезное неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы, выбранное из смерти по причине сердечно-сосудистой патологии, нефатального инфаркта миокарда, нефатального инсульта и госпитализации вследствие нестабильной стенокардии. В еще одних вариантах осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой серьезное нежелательное явление со стороны конечности, выбранное из острой ишемии конечности, большой ампутации и периферической реваскуляризации вследствие ишемии. В одном варианте осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой смерть по причине сердечно-сосудистой патологии. В другом варианте осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой нефатальный инфаркт миокарда. В еще одном варианте осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой нефатальный инсульт (например, ишемический инсульт). В еще одном варианте осуществления неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой коронарную реваскуляризацию.

[0044] В определенных вариантах осуществления у пациента, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, относительное снижение риска любого из неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы, описанных выше, составляет по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25% или по меньшей мере 30% по сравнению с пациентом, не получающим конструкцию для RNAi LPA. В одном варианте осуществления у пациента, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, относительное снижение риска любого из смерти по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркта миокарда и ишемического инсульта составляет от приблизительно 15% до приблизительно 25% по сравнению с пациентом, не получающим конструкцию для RNAi LPA. В другом варианте осуществления у пациента, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, относительное снижение риска любого из смерти по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркта миокарда и ишемического инсульта составляет

от приблизительно 20% до приблизительно 30% по сравнению с пациентом, не получающим конструкцию для RNAi LPA.

[0045] В определенных других вариантах осуществления у пациента, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, абсолютное снижение риска любого из неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы, описанных выше, составляет по меньшей мере 1,5%, по меньшей мере 1,8%, по меньшей мере 2,0%, по меньшей мере 2,2%, по меньшей мере 2,5%, по меньшей мере 2,8%, по меньшей мере 3,0%, по меньшей мере 3,2% или по меньшей мере 3,5%. В одном варианте осуществления у пациента, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, абсолютное снижение риска любого из смерти по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркта миокарда и ишемического инсульта составляет от приблизительно 1,5% до приблизительно 3,0%. В другом варианте осуществления у пациента, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, абсолютное снижение риска любого из смерти по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркта миокарда и ишемического инсульта составляет от приблизительно 2,0% до приблизительно 3,5%. В еще одном варианте осуществления у пациента, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, абсолютное снижение риска любого из смерти по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркта миокарда и ишемического инсульта составляет от приблизительно 2,0% до приблизительно 3,0%.

[0046] В любом из вышеописанных вариантов осуществления у пациента, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению для снижения интенсивности неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы, может быть коронарная реваскуляризация в анамнезе, аортокоронарное шунтирование в анамнезе, диагноз ишемической болезни сердца, диагноз атеросклеротического цереброваскулярного заболевания, диагноз заболевания периферических артерий и/или инфаркт миокарда в анамнезе. В определенных вариантах осуществления пациент, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению для снижения интенсивности неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы, перенес инфаркт миокарда. Например, в некоторых таких вариантах осуществления пациент, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению для снижения интенсивности неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы, перенес инфаркт миокарда в течение одного года, двух лет, трех лет, четырех лет или пяти лет после получения первого введения конструкции для RNAi LPA. В одном таком варианте осуществления пациент, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению для снижения интенсивности неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы, перенес инфаркт миокарда в течение одного года после

получения первого введения конструкции для RNAi LPA. В определенных других вариантах осуществления пациент, которому вводили конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению для снижения интенсивности неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы, госпитализирован или недавно поступил в больницу вследствие острого коронарного синдрома или нестабильной стенокардии.

[0047] В определенных предпочтительных вариантах осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет собой пациента с повышенными уровнями или значениями концентрации Lp(a) в кровотоке (например, повышенными уровнями/значениями концентрации Lp(a) в сыворотке или плазме крови). Пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, может характеризоваться исходными уровнями или значениями концентрации Lp(a) в кровотоке, составляющими приблизительно 50 нмоль/л или больше, приблизительно 55 нмоль/л или больше, приблизительно 60 нмоль/л или больше, приблизительно 65 нмоль/л или больше, приблизительно 70 нмоль/л или больше, приблизительно 75 нмоль/л или больше, приблизительно 100 нмоль/л или больше, приблизительно 125 нмоль/л или больше, приблизительно 150 нмоль/л или больше, приблизительно 175 нмоль/л или больше, приблизительно 200 нмоль/л или больше, приблизительно 225 нмоль/л или больше или приблизительно 250 нмоль/л или больше. В одном варианте осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 70 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В другом варианте осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 100 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В еще одном варианте осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 125 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В еще одном варианте осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 150 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В некоторых вариантах осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 175 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В других вариантах осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi LPA в соответствии со

способами по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 200 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В определенных других вариантах осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 225 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

[0048] В менее предпочтительных вариантах осуществления, в которых уровни (или значения концентрации) Lp(a) в кровотоке измеряют в единицах массовой концентрации, пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, может характеризоваться уровнями (или значениями концентрации) Lp(a) в кровотоке, составляющими приблизительно 30 мг/дл или больше, приблизительно 35 мг/дл или больше, приблизительно 40 мг/дл или больше, приблизительно 45 мг/дл или больше, приблизительно 50 мг/дл или больше, приблизительно 55 мг/дл или больше, приблизительно 60 мг/дл или больше, приблизительно 65 мг/дл или больше, приблизительно 70 мг/дл или больше, приблизительно 75 мг/дл или больше, приблизительно 90 мг/дл или больше или приблизительно 100 мг/дл или больше. В одном варианте осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 50 мг/дл или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В другом варианте осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 60 мг/дл или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В еще одном варианте осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 70 мг/дл или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В еще одном варианте осуществления пациенту вводят конструкцию для RNAi по настоящему изобретению, если уровень (или концентрация) Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 90 мг/дл или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

[0049] Как описано выше, уровни (или значения концентрации) Lp(a) можно измерять в образцах плазмы или сыворотки крови с использованием коммерчески доступных наборов, таких как набор для ELISA-анализа Lp(a) от Mercodia AB (Уппсала, Швеция), иммунотурбидиметрического анализа Lp(a) от Randox Laboratories Ltd. (Крамлин, Соединенное Королевство) или анализа Lp(a) Tina-quant® Gen. 2 от F. Hoffmann-La Roche Ltd. (Базель, Швейцария), или с использованием других способов, известных из уровня техники, таких как способы, описанные в Marcovina and Albers, J. Lipid Res., Vol. 57:526-537, 2016. В определенных вариантах осуществления уровни Lp(a)

измеряют с применением турбидиметрического иммуноанализа, который стандартизирован для выявления и количественного определения частиц Lp(a) независимо от размера изоформы apo(a). В этих и других вариантах осуществления анализ, используемый для измерения уровней Lp(a), стандартизирован относительно эталонного материала IFCC SRM2B для нмоль/л (Marcovina et al., Clin. Chem., Vol. 46: 1946-1967, 2000).

[0050] В некоторых вариантах осуществления у пациентов, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, уровни холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови могут находиться в пределах нормального диапазона или контролироваться в пределах нормального диапазона посредством лечения с помощью одного или нескольких средств терапии, снижающих уровень липидов. Например, в одном варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется уровнем LDL-C в сыворотке крови, составляющим приблизительно 100 мг/дл или меньше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В другом варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется уровнем LDL-C в сыворотке крови, составляющим приблизительно 70 мг/дл или меньше до первого введения конструкции для RNAi LPA. В родственных вариантах осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, получает одно или несколько средств терапии, снижающих уровень липидов. Средства терапии, снижающие уровень липидов, включают без ограничения ингибиторы PCSK9, такие как антагонистическое моноклональное антитело к PCSK9 (например, эволокумаб, алирокумаб) и siRNA, нацеливающаяся на PCSK9 (например, инклисиран), статины (например, аторвастатин, церивастатин, флувастатин, ловастатин, мевастатин, питавастатин, правастатин, розувастатин, симвастатин), ингибиторы всасывания холестерина (например, эзетимиб), бемпедоевую кислоту, никотиновую кислоту (например, ниацин), фиброевую кислоту (например, гемфиброзил, фенофибрат), секвестранты желчных кислот (например, холестирамин, колестипол, колесевелам), аферез LDL или их комбинации. В определенных вариантах осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, получает средство терапии, снижающее уровень липидов, выбранное из группы, состоящей из антагонистического моноклонального антитела к PCSK9, статина, эзетимиба, бемпедоевой кислоты или их комбинаций.

[0051] В определенных вариантах осуществления пациенты, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуются уровнем триглицеридов в сыворотке крови, составляющим менее чем приблизительно 500 мг/дл до первого введения конструкции для RNAi LPA. Например, пациенты могут характеризоваться исходным уровнем триглицеридов в

сыворотке крови (например, до первого введения конструкции для RNAi LPA), составляющим менее чем приблизительно 400 мг/дл, менее чем приблизительно 375 мг/дл, менее чем приблизительно 350 мг/дл, менее чем приблизительно 325 мг/дл, менее чем приблизительно 300 мг/дл, менее чем приблизительно 275 мг/дл, менее чем приблизительно 250 мг/дл, менее чем приблизительно 225 мг/дл, менее чем приблизительно 200 мг/дл, менее чем приблизительно 175 мг/дл или менее чем приблизительно 150 мг/дл. В одном варианте осуществления пациенты, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуются уровнем триглицеридов в сыворотке крови, составляющим менее чем приблизительно 400 мг/дл до первого введения конструкции для RNAi LPA. В другом варианте осуществления пациенты, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуются уровнем триглицеридов в сыворотке крови, составляющим от приблизительно 50 мг/дл до приблизительно 400 мг/дл до первого введения конструкции для RNAi LPA. В еще одном варианте осуществления пациенты, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуются уровнем триглицеридов в сыворотке крови, составляющим от приблизительно 150 мг/дл до приблизительно 375 мг/дл до первого введения конструкции для RNAi LPA.

[0052] Измерение уровня LDL-C, триглицеридов, общего холестерина, холестерина липопротеинов высокой плотности (HDL-C), холестерина липопротеинов очень низкой плотности (VLDL-C) и других липидных биомаркеров, таких как аполипопротеин A1 и аполипопротеин B, можно осуществлять с помощью стандартных липидных панелей с использованием образцов крови пациентов. В некоторых вариантах осуществления пациенты голодают в течение по меньшей мере 9 часов, предпочтительно 12 часов, до взятия образца. Таким образом, уровни/значения концентрации липидных биомаркеров (например, LDL-C, триглицеридов), описанные выше, могут представлять собой уровни, измеренные натощак.

[0053] В некоторых вариантах осуществления у пациентов, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, уровень гликированного гемоглобина A1C не указывает на нелеченный или плохо контролируемый сахарный диабет 2 типа. Например, пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется исходным уровнем гликированного гемоглобина A1C (например, до первого введения конструкции для RNAi LPA), составляющим менее чем приблизительно 10,0%, менее чем приблизительно 9,5%, менее чем приблизительно 9,0%, менее чем приблизительно 8,5%, менее чем приблизительно 8,0%, менее чем приблизительно 7,5%, менее чем приблизительно 7,0%, менее чем приблизительно 6,5%, менее чем приблизительно 6,0% или менее чем приблизительно 5,5%. В одном варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется уровнем

гликированного гемоглобина A1C, составляющим менее чем приблизительно 8,5% до первого введения конструкции для RNAi LPA. В другом варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется уровнем гликированного гемоглобина A1C, составляющим менее чем приблизительно 7,0% до первого введения конструкции для RNAi LPA.

[0054] В других вариантах осуществления у пациентов, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, уровень систолического и/или диастолического кровяного давления не указывает на неконтролируемую гипертензию. Например, пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется исходным средним систолическим кровяным давлением в покое (например, до первого введения конструкции для RNAi LPA), составляющим менее чем приблизительно 180 мм рт. ст., менее чем приблизительно 160 мм рт. ст., менее чем приблизительно 140 мм рт. ст., менее чем приблизительно 135 мм рт. ст., менее чем приблизительно 130 мм рт. ст., менее чем приблизительно 125 мм рт. ст. или менее чем приблизительно 120 мм рт. ст., и исходным средним диастолическим кровяным давлением в покое (например, до первого введения конструкции для RNAi LPA), составляющим менее чем приблизительно 120 мм рт. ст., менее чем приблизительно 110 мм рт. ст., менее чем приблизительно 100 мм рт. ст., менее чем приблизительно 90 мм рт. ст., менее чем приблизительно 85 мм рт. ст. или менее чем приблизительно 80 мм рт. ст. В одном варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется средним систолическим кровяным давлением, составляющим менее чем приблизительно 180 мм рт. ст., и средним диастолическим кровяным давлением, составляющим менее чем приблизительно 110 мм рт. ст. в покое до первого введения конструкции для RNAi LPA. В другом варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется средним систолическим кровяным давлением, составляющим менее чем приблизительно 160 мм рт. ст., и средним диастолическим кровяным давлением, составляющим менее чем приблизительно 100 мм рт. ст. в покое до первого введения конструкции для RNAi LPA. В еще одном варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется средним систолическим кровяным давлением, составляющим менее чем приблизительно 140 мм рт. ст., и средним диастолическим кровяным давлением, составляющим менее чем приблизительно 90 мм рт. ст. в покое до первого введения конструкции для RNAi LPA.

[0055] В некоторых вариантах осуществления пациенты, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, не имеют признаков тяжелой почечной дисфункции. Таким образом, в определенных вариантах осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в

соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется исходным значением eGFR (например, до первого введения конструкции для RNAi LPA), составляющим по меньшей мере приблизительно 30 мл/мин/1,73 $м^2$, по меньшей мере приблизительно 45 мл/мин/1,73 $м^2$, по меньшей мере приблизительно 60 мл/мин/1,73 $м^2$, по меньшей мере приблизительно 75 мл/мин/1,73 $м^2$ или по меньшей мере приблизительно 90 мл/мин/1,73 $м^2$. В одном конкретном варианте осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется значением eGFR, составляющим приблизительно 30 мл/мин/1,73 $м^2$ или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

[0056] В других вариантах осуществления пациенты, которым будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, не имеют признаков активного заболевания печени или печеночной дисфункции. Активное заболевание печени можно определить путем измерения уровня одного или нескольких биомаркеров печеночной функции, таких как биомаркеры, включенные в тест функции печени или панель печени, включая альбумин, щелочную фосфатазу (ALP), аланинаминотрансферазу (ALT), аспартатаминотрансферазу (AST), гамма-глутамилтранспептидазу (GGT), билирубин и лактатдегидрогеназу (LD). В определенных вариантах осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется исходным уровнем ALT (например, до первого введения конструкции для RNAi LPA), не более чем в три раза превышающим верхнюю границу нормы (ULN). В родственных вариантах осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется исходным уровнем AST (например, до первого введения конструкции для RNAi LPA), не более чем в три раза превышающим ULN. В этих и других вариантах осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется исходным уровнем общего билирубина (например, до первого введения конструкции для RNAi LPA), не более чем в два раза превышающим ULN. В некоторых вариантах осуществления пациент, которому будет введена конструкция для RNAi LPA в соответствии со способами по настоящему изобретению, характеризуется исходными (например, до первого введения конструкции для RNAi LPA): (i) уровнями ALT, составляющими менее чем приблизительно 170 единиц/л сыворотки крови, (ii) уровнями AST, составляющими менее чем приблизительно 150 единиц/л сыворотки крови, и/или (iii) уровнями общего билирубина, составляющими менее чем приблизительно 2,0 мг/дл.

[0057] В одном аспекте способы по настоящему изобретению включают введение пациенту эффективного количества конструкции для RNAi LPA. "Эффективное количество" относится к количеству, достаточному для лечения, снижения симптомов или купирования сердечно-сосудистого заболевания или одного или нескольких симптомов

сердечно-сосудистого заболевания, в частности состояния или симптомов, ассоциированных с сердечно-сосудистым заболеванием, или иного предупреждения, препятствования, замедления или обращения прогрессирования сердечно-сосудистого заболевания или любого другого нежелательного симптома, ассоциированного с сердечно-сосудистым заболеванием каким-либо образом. Эффективное количество также может относиться к количеству, достаточному для снижения степени проявления или тяжести последствий, возникающих в результате сердечно-сосудистого заболевания. Например, в некоторых вариантах осуществления эффективное количество конструкции для RNAi LPA представляет собой количество, достаточное для снижения степени проявления или тяжести неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы, таких как инфаркт миокарда, инсульт или реваскуляризация коронарных, церебральных или периферических артерий, у пациентов с атеросклерозом или другим сердечно-сосудистым заболеванием.

[0058] В определенных вариантах осуществления способов по настоящему изобретению конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фиксированной дозе. "Фиксированная доза" относится к дозе, которую вводят всем пациентам независимо от специфических для пациента факторов, таких как вес. Таким образом, фиксированная доза не корректируется от пациента к пациенту в зависимости от веса пациента. В некоторых вариантах осуществления способов по настоящему изобретению конструкцию для RNAi LPA можно вводить пациенту в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг, с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель. Например, фиксированная доза конструкции для RNAi LPA может составлять приблизительно 9 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 15 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 70 мг, приблизительно 75 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 90 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 125 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 175 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 225 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 650 мг или приблизительно 675 мг, где дозы вводят с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель. Рассматриваются также диапазоны между любыми и всеми из этих конечных точек, например, фиксированная доза конструкции для RNAi LPA, вводимая пациенту в способах по настоящему изобретению, может составлять от приблизительно 10 мг до приблизительно 225 мг, от приблизительно 50 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 150 мг до приблизительно 225 мг, от приблизительно 225 мг до приблизительно 675 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 150 мг, от приблизительно 225 мг до приблизительно 450 мг, от приблизительно 75 мг до приблизительно 225 мг, от приблизительно 10 мг до приблизительно 75 мг или от приблизительно 200 мг до приблизительно 300 мг, где дозы вводят с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель.

[0059] Любую из доз конструкции для RNAi LPA, описанной в данном документе, предпочтительно вводят с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, то есть дозы вводят пациенту не чаще, чем один раз в 8 недель (или один раз в 2 месяца). Например, интервал между введениями доз может составлять приблизительно 8 недель, приблизительно 12 недель, приблизительно 16 недель, приблизительно 20 недель, приблизительно 24 недели, приблизительно 28 недель или приблизительно 32 недели. В определенных вариантах осуществления интервал между введениями доз составляет приблизительно 12 недель, например, фиксированную дозу конструкции для RNAi LPA вводят пациенту один раз в 12 недель (или один раз в 3 месяца). В определенных других вариантах осуществления интервал между введениями доз составляет приблизительно 24 недель, например, фиксированную дозу конструкции для RNAi LPA вводят пациенту один раз в 24 недель (или один раз в 6 месяца).

[0060] Фиксированные дозы конструкции для RNAi LPA можно вводить в каждом интервале между введениями доз в виде однократного болюсного введения (например, в виде однократной подкожной инъекции) или в виде двух или более последовательных болюсных введений (например, двух или более подкожных инъекций). В некоторых вариантах осуществления общее количество фиксированной дозы конструкции для RNAi LPA вводят пациенту в каждом интервале между введениями доз в виде однократной болюсной инъекции, например, с использованием предварительно заполненного шприца или инъекционного устройства, как описано в данном документе далее. Например, фиксированную дозу, составляющую 225 мг конструкции для RNAi LPA, можно вводить пациенту в виде однократной болюсной инъекции 225 мг, необязательно с помощью автоинъектора, шприц-ручки или предварительно заполненного шприца, содержащего дозу 225 мг, в каждом интервале между введениями доз (например, один раз в 12 недель). В других вариантах осуществления общее количество фиксированной дозы конструкции для RNAi LPA вводят пациенту в виде двух или более последовательных болюсных инъекций. В качестве примера, фиксированную дозу, составляющую 225 мг конструкции для RNAi LPA, можно вводить пациенту в виде трех последовательных инъекций по 75 мг каждая необязательно с помощью трех инъекционных устройств (например, автоинъекторов, шприц-ручек или предварительно заполненных шприцев), каждое из которых содержит дозу 75 мг, в каждом интервале между введениями доз (например, один раз в 12 недель). Последовательные инъекции, сделанные в течение периода времени, составляющего один день, считаются однократным введением в контексте настоящего изобретения. Другими словами, в качестве примера, введение фиксированной дозы 225 мг один раз в 12 недель может быть осуществлено либо в виде однократной болюсной инъекции 225 мг, вводимой пациенту один раз в 12 недель, либо в виде трех последовательных болюсных инъекций по 75 мг каждая, вводимых пациенту в течение периода времени, составляющего один день, один раз в 12 недель.

[0061] В определенных вариантах осуществления способов по настоящему изобретению фиксированные дозы конструкции для RNAi LPA, описанной в данном

документе, вводят один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В некоторых таких вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 225 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В других вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе от приблизительно 50 мг до приблизительно 100 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В еще одних вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе от приблизительно 75 мг до приблизительно 225 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В еще одних вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе от приблизительно 150 мг до приблизительно 225 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В одном варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 10 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В другом варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 30 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В другом варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 75 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В другом варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 100 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В другом варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 125 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В еще одном варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 150 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В другом варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 175 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В другом варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 200 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца. В еще одном варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 225 мг один раз в 12 недель или один раз в 3 месяца.

[0062] В определенных других вариантах осуществления способов по настоящему изобретению фиксированные дозы конструкции для RNAi LPA, описанной в данном документе, вводят один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В некоторых таких

вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе от приблизительно 225 мг до приблизительно 675 мг один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В других вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе от приблизительно 225 мг до приблизительно 450 мг один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В еще одних вариантах осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе от приблизительно 200 мг до приблизительно 300 мг один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В одном варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 225 мг один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В другом варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 300 мг один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В еще одном варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 450 мг один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев. В еще одном варианте осуществления способы по настоящему изобретению включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA в фиксированной дозе приблизительно 675 мг один раз в 24 недели или один раз в 6 месяцев.

[0063] В некоторых вариантах осуществления способов по настоящему изобретению конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в течение установленного периода лечения. "Период лечения" начинается после введения первой дозы конструкции для RNAi LPA и заканчивается после введения последней дозы конструкции для RNAi LPA. Период лечения может составлять от приблизительно 12 недель до приблизительно 240 недель, от приблизительно 24 недель до приблизительно 144 недель, от приблизительно 3 месяцев до приблизительно 60 месяцев, от приблизительно 6 месяцев до приблизительно 48 месяцев, например, приблизительно 12 недель, приблизительно 24 недели, приблизительно 36 недель, приблизительно 48 недель, приблизительно 60 недель, приблизительно 72 недели, приблизительно 84 недели, приблизительно 96 недель, приблизительно 108 недель, приблизительно 120 недель, приблизительно 132 недели, приблизительно 144 недели, приблизительно 156 недель, приблизительно 168 недель, приблизительно 180 недель, приблизительно 192 недели, приблизительно 204 недели, приблизительно 216 недель, приблизительно 228 недель, приблизительно 240 недель, приблизительно 3 месяца, приблизительно 6 месяцев, приблизительно 9 месяцев, приблизительно 12 месяцев, приблизительно 15 месяцев, приблизительно 18 месяцев, приблизительно 21 месяц, приблизительно 24 месяца, приблизительно 27 месяцев, приблизительно 30 месяцев, приблизительно 33 месяца, приблизительно 36 месяцев, приблизительно 39 месяцев, приблизительно 42 месяца, приблизительно 45 месяцев, приблизительно 48 месяцев, приблизительно 51 месяц, приблизительно 54 месяца,

приблизительно 57 месяцев или приблизительно 60 месяцев. В некоторых вариантах осуществления период лечения составляет приблизительно 48 недель. В других вариантах осуществления период лечения составляет приблизительно 192 недели. В еще одних вариантах осуществления период лечения составляет приблизительно 12 месяцев. В еще одних вариантах осуществления период лечения составляет приблизительно 48 месяцев. В определенных вариантах осуществления период лечения может составлять более 240 недель или 60 месяцев, например, период лечения может составлять более 5 лет, например, 6, 7, 8, 9 или 10 лет или больше. В одном конкретном варианте осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере приблизительно 36 недель, и это приводит к статистически значимому процентному снижению от исходного значения уровней Lp(a) в сыворотке или плазме крови по сравнению с субъектами, не получающими конструкцию для RNAi LPA. В другом конкретном варианте осуществления конструкцию для RNAi LPA вводят в течение периода лечения, составляющего по меньшей мере приблизительно 48 недель, и это приводит к статистически значимому процентному снижению от исходного значения уровней Lp(a) в сыворотке или плазме крови по сравнению с субъектами, не получающими конструкцию для RNAi LPA.

[0064] Описанные в данном документе способы включают введение пациенту конструкции для RNAi LPA. Используемый в данном документе термин "конструкция для RNAi LPA" относится к средству, содержащему молекулу РНК, которая способна снижать экспрессию гена LPA посредством механизма РНК-интерференции при введении в клетку. РНК-интерференция представляет собой процесс, при котором молекула нуклеиновой кислоты индуцирует расщепление и разрушение молекулы РНК-мишени (например, молекулы матричной РНК или мРНК) специфическим в отношении последовательности образом, например, посредством пути с участием РНК-индуцируемого комплекса сайленсинга (RISC). В некоторых вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит двухнитевую молекулу РНК, содержащую две антипараллельные нити из смежных нуклеотидов, являющиеся в достаточной степени комплементарными друг другу, чтобы гибридизироваться с образованием дуплексного участка. "Гибридизироваться" или "гибридизация" относятся к спариванию комплементарных полинуклеотидов, обычно посредством образования водородных связей (например, образования водородных связей в уотсон-криковских, хугстиновских или обратных хугстиновских парах оснований) между комплементарными основаниями в двух полинуклеотидах. Нить, содержащую участок, характеризующийся последовательностью, которая в значительной степени комплементарна последовательности-мишени LPA (например, мРНК-мишени LPA), называют "антисмысловой нитью". "Смысловая нить" относится к нити, которая содержит участок, в значительной степени комплементарный участку антисмысловой нити. В некоторых вариантах осуществления смысловая нить может содержать участок, характеризующийся последовательностью, которая является в значительной степени идентичной последовательности-мишени.

[0065] Двухнитевая молекула РНК может содержать химические модификации рибонуклеотидов, в том числе модификации компонентов рибонуклеотидов, представляющих собой рибозный сахар, основание или остов, таких как те, которые описаны в данном документе или известны из уровня техники. Любые такие модификации, которые используются в двухнитевой молекуле РНК (например, siRNA, shRNA или им подобные), охватываются термином "двухнитевая РНК" для целей настоящего изобретения.

[0066] Как используется в данном документе, первая последовательность "комплементарна" второй последовательности, если полинуклеотид, содержащий первую последовательность, способен гибридизироваться с полинуклеотидом, содержащим вторую последовательность, с образованием дуплексного участка в определенных условиях, таких как физиологические условия. Другие такие условия могут включать умеренные или жесткие условия гибридизации, которые известны специалистам в данной области. Считается, что первая последовательность является полностью комплементарной (комплементарной на 100%) второй последовательности, если полинуклеотид, содержащий первую последовательность, образует пары оснований с полинуклеотидом, содержащим вторую последовательность, по всей длине одной или обеих нуклеотидных последовательностей без каких-либо ошибочных спариваний. Последовательность является "в значительной степени комплементарной" последовательности-мишени, если эта последовательность на по меньшей мере приблизительно 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% комплементарна последовательности-мишени. Процент комплементарности может быть рассчитан путем деления числа оснований в первой последовательности, которые являются комплементарными основаниям в соответствующих положениях во второй последовательности или последовательности-мишени, на общую длину первой последовательности. Можно также сказать, что последовательность является в значительной степени комплементарной другой последовательности, если имеется не более 5, 4, 3 или 2 ошибочных спариваний на протяжении дуплексного участка из 30 пар оснований при гибридизации этих двух последовательностей. Как правило, если присутствуют какие-либо нуклеотидные "липкие" концы, определенные в данном документе, последовательность таких "липких" концов не учитывается при определении степени комплементарности между двумя последовательностями. В качестве примера, смысловая нить длиной 21 нуклеотид и антисмысловая нить длиной 21 нуклеотид, которые гибридизируются с образованием дуплексного участка из 19 пар оснований с 2-нуклеотидными "липкими" концами на 3′-конце каждой нити, будут считаться полностью комплементарными в соответствии с тем, как данный термин используется в данном документе.

[0067] В некоторых вариантах осуществления участок антисмысловой нити содержит последовательность, которая в значительной степени или полностью комплементарна участку последовательности РНК-мишени LPA (например, мРНК LPA). В таких вариантах осуществления смысловая нить может содержать последовательность,

которая полностью комплементарна последовательности антисмысловой нити. В других таких вариантах осуществления смысловая нить может содержать последовательность, которая является в значительной степени комплементарной последовательности антисмысловой нити, например, содержит 1, 2, 3, 4 или 5 ошибочных спариваний в дуплексном участке, образованном смысловой и антисмысловой нитями. В определенных вариантах осуществления предпочтительно, чтобы любые ошибочные спаривания находились в концевых участках (например, в пределах 6, 5, 4, 3 или 2 нуклеотидов от 5′- и/или 3′-концов нитей). В одном варианте осуществления любые ошибочные спаривания в дуплексном участке, образованном из смысловой и антисмысловой нитей, находятся в пределах 6, 5, 4, 3 или 2 нуклеотидов от 5′-конца антисмысловой нити.

[0068] В определенных вариантах осуществления смысловая нить и антисмысловая нить двухнитевой РНК могут представлять собой две отдельные молекулы, которые гибридизируются с образованием дуплексного участка, но в остальном не соединены. Такие двухнитевые молекулы РНК, образованные двумя отдельными нитями, называют "малыми интерферирующими РНК" или "короткими интерферирующими РНК" (siRNA). Таким образом, в некоторых вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему изобретению, содержат siRNA.

[0069] В других вариантах осуществления смысловая нить и антисмысловая нить, которые гибридизируются с образованием дуплексного участка, могут быть частью одиночной молекулы РНК, т. е. смысловая и антисмысловая нити являются частью самокомплементарного участка одиночной молекулы РНК. В таких случаях одиночная молекула РНК содержит дуплексный участок (также называемый стеблевым участком) и петлевой участок. 3′-конец смысловой нити соединен с 5′-концом антисмысловой нити с помощью непрерывной последовательности из неспаренных нуклеотидов, которые будут образовывать петлевой участок. Петлевой участок, как правило, имеет длину, достаточную для того, чтобы молекула РНК могла самосворачиваться так, чтобы антисмысловая нить могла образовывать пары оснований со смысловой нитью с образованием дуплексного или стеблевого участка. Петлевой участок может содержать от приблизительно 3 до приблизительно 25, от приблизительно 5 до приблизительно 15 или от приблизительно 8 до приблизительно 12 неспаренных нуклеотидов. Такие молекулы РНК с по меньшей мере частично самокомплементарными участками называют "короткими шпильковыми РНК" (shRNA). В определенных вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему изобретению, содержат shRNA. Длина одиночной по меньшей мере частично самокомплементарной молекулы РНК может составлять от приблизительно 40 нуклеотидов до приблизительно 100 нуклеотидов, от приблизительно 45 нуклеотидов до приблизительно 85 нуклеотидов или от приблизительно 50 нуклеотидов до приблизительно 60 нуклеотидов, и она содержит дуплексный участок и петлевой участок, длина каждого из которых упоминается в данном документе.

[0070] Конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему

изобретению, содержат смысловую нить и антисмысловую нить, где антисмысловая нить содержит участок, характеризующийся последовательностью, которая в значительной степени или полностью комплементарна последовательности матричной РНК (мРНК) LPA. Используемый в данном документе термин "последовательность мРНК LPA" относится к любой последовательности матричной РНК, включая аллельные варианты и сплайс-варианты, кодирующие белок аро(а), включая варианты или изоформы белка аро(а) из любых видов (например, отличного от человека примата, человека). Ген LPA (также известный как AK38, APOA и LP) кодирует белок аро(а), который является основным компонентом частицы липопротеина низкой плотности, известной как липопротеин (а) или Lp(a). У человека ген LPA находится на хромосоме 6 в локусе 6q25.3-q26. Ген LPA является высокополиморфным, при этом аллели гена различаются количествами копий домена kringle IV типа 2 (KIV-2), которые могут находиться в диапазоне от двух до более 40 копий среди индивидуумов (см., например, Kronenberg and Utermann, J. Intern. Med., Vol. 273:6-30, 2013).

[0071] Последовательность мРНК LPA также включает последовательность транскрипта, экспрессируемого в виде соответствующей ей последовательности комплементарной ДНК (кДНК). Последовательность кДНК относится к последовательности мРНК-транскрипта, экспрессируемой в виде оснований ДНК (например, гуанина, аденина, тимина и цитозина), а не оснований РНК (например, гуанина, аденина, урацила и цитозина). Таким образом, антисмысловая нить конструкций для RNAi LPA, используемых в способах по настоящему изобретению, может содержать участок, характеризующийся последовательностью, которая в значительной степени или полностью комплементарна последовательности мРНК LPA или последовательности кДНК LPA. Последовательность мРНК или кДНК LPA может включать без ограничения любую последовательность мРНК или кДНК LPA, выбранную из эталонных последовательностей NCBI NM_005577.4 (человек), XM_015448520.1 (яванский макак), XM_028847001.1 (макак-резус), XM_024357489.1 (шимпанзе) и XM_031012244.1 (горилла). В определенных вариантах осуществления последовательность мРНК LPA представляет собой транскрипт человека, указанный в базе данных NCBI как эталонная последовательность NM_005577.4.

[0072] Смысловая нить конструкции для RNAi LPA обычно содержит последовательность, которая в достаточной степени комплементарна последовательности антисмысловой нити, так что две нити гибридизируются в физиологических условиях с образованием дуплексного участка. "Дуплексный участок" относится к участку в двух комплементарных или в значительной степени комплементарных полинуклеотидах, которые образуют пары оснований друг с другом посредством образования уотсон-криковских пар оснований либо посредством другого взаимодействия с участием водородных связей с образованием дуплекса между двумя полинуклеотидами. Дуплексный участок конструкции для RNAi LPA должен иметь достаточную длину для обеспечения возможности участия конструкции для RNAi LPA в пути РНК-

интерференции, например, посредством взаимодействия с ферментом Dicer и/или комплексом RISC. Например, в некоторых вариантах осуществления длина дуплексного участка составляет от приблизительно 15 до приблизительно 30 пар оснований. Также являются подходящими другие значения длины дуплексного участка в данном диапазоне, такие как от приблизительно 15 до приблизительно 28 пар оснований, от приблизительно 15 до приблизительно 26 пар оснований, от приблизительно 15 до приблизительно 24 пар оснований, от приблизительно 15 до приблизительно 22 пар оснований, от приблизительно 17 до приблизительно 28 пар оснований, от приблизительно 17 до приблизительно 26 пар оснований, от приблизительно 17 до приблизительно 24 пар оснований, от приблизительно 17 до приблизительно 23 пар оснований, от приблизительно 17 до приблизительно 21 пары оснований, от приблизительно 19 до приблизительно 25 пар оснований, от приблизительно 19 до приблизительно 23 пар оснований или от приблизительно 19 до приблизительно 21 пары оснований. В определенных вариантах осуществления длина дуплексного участка составляет от приблизительно 17 до приблизительно 26 пар оснований. В других вариантах осуществления длина дуплексного участка составляет от приблизительно 19 до приблизительно 21 пары оснований. В одном варианте осуществления длина дуплексного участка составляет приблизительно 19 пар оснований. В другом варианте осуществления длина дуплексного участка составляет приблизительно 21 пару оснований.

[0073] Для тех вариантов осуществления, в которых смысловая нить и антисмысловая нить являются двумя отдельными молекулами (например, в том случае, когда конструкция для RNAi содержит siRNA), смысловая нить и антисмысловая нить не обязательно должны быть такой же длины, как длина дуплексного участка. Например, одна или обе нити могут быть длиннее дуплексного участка и содержать один или несколько неспаренных нуклеотидов или ошибочных спариваний, фланкирующих дуплексный участок. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления конструкция для RNAi содержит по меньшей мере один нуклеотидный "липкий" конец. Как используется в данном документе, "нуклеотидный "липкий" конец" относится к неспаренному нуклеотиду или нуклеотидам, которые выступают за пределы дуплексного участка на концах нитей. Нуклеотидные "липкие" концы, как правило, образуются тогда, когда 3′-конец одной нити выступает за пределы 5′-конца другой нити или когда 5′-конец одной нити выступает за пределы 3′-конца другой нити. Длина нуклеотидного "липкого" конца обычно составляет от 1 до 6 нуклеотидов, от 1 до 5 нуклеотидов, от 1 до 4 нуклеотидов, от 1 до 3 нуклеотидов, от 2 до 6 нуклеотидов, от 2 до 5 нуклеотидов или от 2 до 4 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидный "липкий" конец содержит 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. В одном конкретном варианте осуществления нуклеотидный "липкий" конец содержит от 1 до 4 нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления нуклеотидный "липкий" конец содержит 2 нуклеотида. В определенных других вариантах осуществления нуклеотидный "липкий" конец содержит один нуклеотид. Если нуклеотидный "липкий" конец присутствует в антисмысловой нити,

нуклеотиды в составе "липкого" конца могут быть комплементарны последовательности гена-мишени, образовывать ошибочное спаривание с последовательностью гена-мишени или содержать какую-либо другую последовательность (например, полипиримидиновую или полипуриновую последовательность, такую как UU, TT, AA, GG и т. п.).

[0074] Нуклеотидный липкий конец может находиться на 5′-конце или 3′-конце одной или обеих нитей. Например, в одном варианте осуществления конструкция для RNAi LPA содержит нуклеотидный "липкий" конец на 5′-конце и 3′-конце антисмысловой нити. В другом варианте осуществления конструкция для RNAi LPA содержит нуклеотидный "липкий" конец на 5′-конце и 3′-конце смысловой нити. В некоторых вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит нуклеотидный "липкий" конец на 5′-конце смысловой нити и 5′-конце антисмысловой нити. В других вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит нуклеотидный "липкий" конец на 3′-конце смысловой нити и 3′-конце антисмысловой нити.

[0075] Конструкции для RNAi могут содержать нуклеотидный "липкий" конец на одном конце молекулы двухнитевой РНК и "тупой" конец на другом. "Тупой конец" означает, что смысловая нить и антисмысловая нить полностью спарены по основаниям на конце молекулы и что неспаренные нуклеотиды, которые выступают за пределы дуплексного участка, отсутствуют. В некоторых вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит нуклеотидный "липкий" конец на 3′-конце смысловой нити и "тупой" конец на 5′-конце смысловой нити и 3′-конце антисмысловой нити. В других вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит нуклеотидный "липкий" конец на 3′-конце антисмысловой нити и "тупой" конец на 5′-конце антисмысловой нити и 3′-конце смысловой нити. В определенных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит "тупой" конец на обоих концах двухнитевой молекулы РНК. В таких вариантах осуществления смысловая нить и антисмысловая нить имеют одинаковую длину, и дуплексный участок имеет такую же длину, как смысловая и антисмысловая нити (т. е. молекула является двухнитевой по всей своей длине).

[0076] Длина каждой из смысловой нити и антисмысловой нити в конструкциях для RNAi LPA, используемых в способах по настоящему изобретению, может независимо составлять от приблизительно 15 до приблизительно 30 нуклеотидов, от приблизительно 19 до приблизительно 30 нуклеотидов, от приблизительно 18 до приблизительно 28 нуклеотидов, от приблизительно 19 до приблизительно 27 нуклеотидов, от приблизительно 19 до приблизительно 25 нуклеотидов, от приблизительно 19 до приблизительно 23 нуклеотидов, от приблизительно 19 до приблизительно 21 нуклеотида, от приблизительно 21 до приблизительно 25 нуклеотидов или от приблизительно 21 до приблизительно 23 нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления длина каждой из смысловой нити и антисмысловой нити независимо составляет приблизительно 18, приблизительно 19, приблизительно 20, приблизительно 21, приблизительно 22, приблизительно 23, приблизительно 24 или приблизительно 25 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления смысловая нить и антисмысловая нить имеют одинаковую

длину, но образуют дуплексный участок, который короче данных нитей, поэтому конструкция для RNAi LPA содержит два нуклеотидных "липких" конца. Например, в одном варианте осуществления конструкция для RNAi LPA содержит (i) смысловую нить и антисмысловую нить, каждая из которых имеет длину 21 нуклеотид, (ii) дуплексный участок, имеющий длину 19 пар оснований, и (iii) нуклеотидные "липкие" концы из 2 неспаренных нуклеотидов как на 3′-конце смысловой нити, так и на 3′-конце антисмысловой нити. В другом варианте осуществления конструкция для RNAi LPA содержит (i) смысловую нить и антисмысловую нить, каждая из которых имеет длину 23 нуклеотида, (ii) дуплексный участок, имеющий длину 21 пара оснований, и (iii) нуклеотидные "липкие" концы из 2 неспаренных нуклеотидов как на 3′-конце смысловой нити, так и на 3′-конце антисмысловой нити. В других вариантах осуществления смысловая нить и антисмысловая нить имеют одинаковую длину и образуют дуплексный участок по всей их длине, поэтому на обоих концах двухнитевой молекулы отсутствуют нуклеотидные "липкие" концы. В одном конкретном варианте осуществления конструкция для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, имеет "тупые" концы и содержит (i) смысловую нить и антисмысловую нить, каждая из которых имеет длину 21 нуклеотид, и (ii) дуплексный участок, имеющий длину 21 пара оснований. В другом конкретном варианте осуществления конструкция для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, имеет "тупые" концы и содержит (i) смысловую нить и антисмысловую нить, каждая из которых имеет длину 19 нуклеотидов, и (ii) дуплексный участок, имеющий длину 19 пар оснований.

[0077] В других вариантах осуществления смысловая нить или антисмысловая нить длиннее другой нити, и при этом две нити образуют дуплексный участок, длина которого равна длине более короткой нити, так что конструкция для RNAi LPA содержит по меньшей мере один нуклеотидный "липкий" конец. Например, в одном варианте осуществления конструкция для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, содержит (i) смысловую нить, имеющую длину 19 нуклеотидов, (ii) антисмысловую нить, имеющую длину 21 нуклеотид, (iii) дуплексный участок, имеющий длину 19 пар оснований, и (iv) нуклеотидный "липкий" конец из 2 неспаренных нуклеотидов на 3′-конце антисмысловой нити. В другом варианте осуществления конструкция для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, содержит (i) смысловую нить, имеющую длину 21 нуклеотид, (ii) антисмысловую нить, имеющую длину 23 нуклеотида, (iii) дуплексный участок, имеющий длину 21 пара оснований, и (iv) нуклеотидный "липкий" конец из 2 неспаренных нуклеотидов на 3′-конце антисмысловой нити.

[0078] Конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему изобретению, могут содержать один или несколько модифицированных нуклеотидов. "Модифицированный нуклеотид" относится к нуклеотиду, который имеет одну или несколько химических модификаций нуклеозида, нуклеинового основания, пентозного кольца или фосфатной группы. Как используется в данном документе, модифицированные

нуклеотиды не охватывают рибонуклеотиды, содержащие аденозинмонофосфат, гуанозинмонофосфат, уридинмонофосфат и цитидинмонофосфат. Однако конструкции для RNAi LPA могут содержать комбинации модифицированных нуклеотидов и рибонуклеотидов. Встраивание модифицированных нуклеотидов в одну или обе нити двухнитевых молекул РНК может улучшать стабильность молекул РНК in vivo, например, благодаря снижению восприимчивости молекул к нуклеазам и другим процессам разрушения. Активность конструкций для RNAi LPA в отношении снижения экспрессии гена LPA также можно повысить путем встраивания модифицированных нуклеотидов.

[0079] В определенных вариантах осуществления модифицированные нуклеотиды имеют модификацию рибозного сахара. Данные модификации сахара могут включать модификации в 2′- и/или 5′-положении пентозного кольца, а также бициклические модификации сахара. 2′-модифицированный нуклеотид относится к нуклеотиду, содержащему пентозное кольцо с заместителем в 2′-положении, отличным от OH. Такие 2′-модификации включают без ограничения 2′-H (например, дезоксирибонуклеотиды), 2′-O-алкил (например, O-C_1-C_{10}- или O-C_1-C_{10}-замещенный алкил), 2′-O-аллил (O-$CH_2CH{=}CH_2$), 2′-C-аллил, 2′-дезокси-2′-фтор (также называемый 2′-F или 2′-фтор), 2′-O-метил (OCH_3), 2′-O-метоксиэтил (O-$(CH_2)_2OCH_3$), 2′-OCF_3, 2′-O$(CH_2)_2SCH_3$, 2′-O-аминоалкил, 2′-амино (например NH_2), 2′-O-этиламин и 2′-азидо. Модификации в 5′-положении пентозного кольца включают без ограничения 5′-метил (R или S); 5′-винил и 5′-метокси.

[0080] "Бициклическая модификация сахара" относится к модификации пентозного кольца, при которой мостик соединяет два атома кольца с образованием второго кольца, что приводит к образованию бициклической структуры сахара. В некоторых вариантах осуществления бициклическая модификация сахара содержит мостик между 4′- и 2′-атомами углерода пентозного кольца. Нуклеотиды, содержащие сахарный фрагмент с бициклической модификацией сахара, называются в данном документе бициклическими нуклеиновыми кислотами или BNA. Иллюстративные бициклические модификации сахара включают без ограничения α-L-метиленокси- (4′-CH_2-O-2′) бициклическую нуклеиновую кислоту (BNA); β-D-метиленокси- (4′-CH_2-O-2′) BNA (также называемую закрытой нуклеиновой кислотой или LNA); этиленокси- (4′-$(CH_2)_2$-O-2′) BNA; аминооокси- (4′-CH_2-O-N(R)-2′) BNA; оксиамино- (4′-CH_2-N(R)-O-2′) BNA; метил(метиленокси)- (4′-$CH(CH_3)$-O-2′) BNA (также называемую конформационно затрудненной этилом или cEt); метилентио- (4′-CH_2-S-2′) BNA; метиленамино (4′-CH2-N(R)-2′) BNA; метилкарбоциклическую (4′-CH_2-$CH(CH_3)$-2′) BNA; пропиленкарбоциклическую (4′-$(CH_2)_3$-2′) BNA и метокси(этиленокси)- (4′-$CH(CH_2OMe)$-O-2′) BNA (также называемую конформационно затрудненной MOE или cMOE). Эти и другие нуклеотиды с модифицированным сахаром, которые могут быть встроены в конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему изобретению, описаны в патенте США № 9181551, в публикации патента США № 2016/0122761 и в Deleavey and Damha, Chemistry and Biology, Vol. 19: 937-954, 2012.

[0081] В некоторых вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA содержат один или несколько 2′-фтор-модифицированных нуклеотидов, 2′-О-метил-модифицированных нуклеотидов, 2′-О-метоксиэтил-модифицированных нуклеотидов, 2′-О-алкил-модифицированных нуклеотидов, 2′-О-аллил-модифицированных нуклеотидов, бициклических нуклеиновых кислот (BNA), дезоксирибонуклеотидов или их комбинации. В определенных вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA содержат один или несколько 2′-фтор-модифицированных нуклеотидов, 2′-О-метил-модифицированных нуклеотидов, 2′-О-метоксиэтил-модифицированных нуклеотидов, дезоксирибонуклеотидов или их комбинации. В одном конкретном варианте осуществления конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему изобретению, содержат один или несколько 2′-фтор-модифицированных нуклеотидов, 2′-О-метил-модифицированных нуклеотидов, дезоксирибонуклеотидов или их комбинации. В некоторых таких вариантах осуществления дезоксирибонуклеотид может представлять собой концевой нуклеотид на 3′-конце и/или 5′-конце смысловой нити или антисмысловой нити. В таких вариантах осуществления, в которых дезоксирибонуклеотид является концевым нуклеотидом, он может представлять собой инвертированный нуклеотид, то есть быть связанным с соседним нуклеотидом посредством 3′-3′-межнуклеотидной связи (если он находится на 3′-конце нити) или посредством 5′-5′-межнуклеотидной связи (если он находится на 5′-конце нити), а не посредством природной 3′-5′-межнуклеотидной связи.

[0082] Как смысловые, так и антисмысловые нити конструкций для RNAi LPA могут содержать один или несколько модифицированных нуклеотидов. Например, в некоторых вариантах осуществления смысловая нить содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше модифицированных нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления все нуклеотиды в смысловой нити представляют собой модифицированные нуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая нить содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше модифицированных нуклеотидов. В других вариантах осуществления все нуклеотиды в антисмысловой нити представляют собой модифицированные нуклеотиды. В определенных других вариантах осуществления все нуклеотиды в смысловой нити и все нуклеотиды в антисмысловой нити представляют собой модифицированные нуклеотиды. В этих и других вариантах осуществления модифицированные нуклеотиды могут представлять собой 2′-фтор-модифицированные нуклеотиды, 2′-О-метил-модифицированные нуклеотиды или их комбинации.

[0083] В определенных вариантах осуществления модифицированные нуклеотиды, встроенные в одну или обе нити конструкций для RNAi LPA, используемых в способах по настоящему изобретению, имеют модификацию нуклеинового основания (также называемого в данном документе как "основание"). "Модифицированное нуклеиновое основание" или "модифицированное основание" относится к основанию, отличному от встречающихся в природе пуриновых оснований аденина (A) и гуанина (G) и пиримидиновых оснований тимина (T), цитозина (C) и урацила (U). Модифицированные

нуклеиновые основания могут быть синтетическими или встречающимися в природе модификациями и включают без ограничения универсальные основания, 5-метилцитозин (5-me-C), 5-гидроксиметилцитозин, ксантин (X), гипоксантин (I), 2-аминоаденин, 6-метиладенин, 6-метилгуанин и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-пропил- и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-тиоурацил, 2-тиотимин и 2-тиоцитозин, 5-галогенурацил и -цитозин, 5-пропинилурацил и -цитозин, 6-азоурацил, -цитозин и -тимин, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тиоурацил, 8-галоген-, 8-амино-, 8-тиол-, 8-тиоалкил-, 8-гидроксил- и другие 8-замещенные аденины и гуанины, 5-галоген-, в частности 5-бром-, 5-трифторметил- и другие 5-замещенные урацилы и цитозины, 7-метилгуанин и 7-метиладенин, 8-азагуанин и 8-азааденин, 7-дезазагуанин и 7-дезазааденин, а также 3-дезазагуанин и 3-дезазааденин.

[0084] В некоторых вариантах осуществления модифицированное основание представляет собой универсальное основание. "Универсальное основание" относится к аналогу основания, который неизбирательно образует пары оснований со всеми природными основаниями в РНК и ДНК без изменения структуры двойной спирали у образующегося в результате дуплексного участка. Универсальные основания известны специалистам в данной области и включают без ограничения инозин, C-фенил, C-нафтил и другие ароматические производные, азолкарбоксамиды и нитроазольные производные, такие как 3-нитропиррол, 4-нитроиндол, 5-нитроиндол и 6-нитроиндол.

[0085] Другие подходящие модифицированные основания, которые могут быть встроены в конструкции для RNAi LPA, включают описанные в Herdewijn, Antisense Nucleic Acid Drug Dev., Vol. 10: 297-310, 2000 и Peacock et al., J. Org. Chem., Vol. 76: 7295-7300, 2011. Специалисту в данной области хорошо известно, что гуанин, цитозин, аденин, тимин и урацил могут быть замещены другими нуклеиновыми основаниями, такими как модифицированные нуклеиновые основания, описанные выше, без существенного изменения свойств спаривания оснований у полинуклеотида, содержащего нуклеотид, несущий такое замещающее нуклеиновое основание.

[0086] В некоторых вариантах осуществления смысловая и антисмысловая нити конструкций для RNAi LPA, используемых в способах по настоящему изобретению, могут содержать один или несколько нуклеотидов с удаленным азотистым основанием. "Нуклеотид с удаленным азотистым основанием" или "нуклеозид с удаленным азотистым основанием" представляют собой нуклеотид или нуклеозид, в которых отсутствует азотистое основание в 1′-положении рибозного сахара. В определенных вариантах осуществления нуклеотиды с удаленным азотистым основанием встроены в концы смысловой и/или антисмысловой нитей конструкций для RNAi. В одном варианте осуществления смысловая нить содержит нуклеотид с удаленным азотистым основанием в качестве концевого нуклеотида на своем 3′-конце, своем 5′-конце или обоих из своих 3′- и 5′-концов. В другом варианте осуществления антисмысловая нить содержит нуклеотид с удаленным азотистым основанием в качестве концевого нуклеотида на своем 3′-конце, своем 5′-конце или обоих из своих 3′- и 5′-концов. В таких вариантах осуществления, в

которых нуклеотид с удаленным азотистым основанием является концевым нуклеотидом, он может представлять собой инвертированный нуклеотид, то есть быть связанным с соседним нуклеотидом посредством 3′-3′-межнуклеотидной связи (если он находится на 3′-конце нити) или посредством 5′-5′-межнуклеотидной связи (если он находится на 5′-конце нити), а не посредством природной 3′-5′-межнуклеотидной связи. Нуклеотиды с удаленным азотистым основанием также могут содержать модификацию сахара, такую как любая из модификаций сахара, описанных выше. В определенных вариантах осуществления нуклеотиды с удаленным азотистым основанием содержат 2′-модификацию, такую как 2′-фтор-модификация, 2′-O-метил-модификация или 2′-H-(дезокси) модификация. В одном варианте осуществления нуклеотид с удаленным азотистым основанием содержит 2′-O-метил-модификацию. В другом варианте осуществления нуклеотид с удаленным азотистым основанием содержит 2′-H-модификацию (т. е. представляет собой дезоксинуклеотид с удаленным азотистым основанием).

[0087] Конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему изобретению, могут содержать один или несколько модифицированных межнуклеотидных связей. Используемый в данном документе термин "модифицированная межнуклеотидная связь" относится к межнуклеотидной связи, отличной от природной 3′-5′-фосфодиэфирной связи. В некоторых вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфорсодержащую межнуклеотидную связь, такую как фосфотриэфирная, аминоалкилфосфотриэфирная, алкилфосфонатная (например, метилфосфонатная, 3′-алкиленфосфонатная), фосфинатная, фосфорамидатная (например, 3′-аминофосфорамидатная и аминоалкилфосфорамидатная), фосфоротиоатная (P=S), хиральная фосфоротиоатная, фосфородитиоатная, тионофосфорамидатная, тионоалкилфосфонатная, тионоалкилфосфотриэфирная и боранофосфатная. В одном варианте осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой 2′-5′-фосфодиэфирную связь. В других вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой не содержащую фосфор межнуклеотидную связь и, таким образом, может упоминаться как модифицированная межнуклеозидная связь. Такие не содержащие фосфор связи включают без ограничения морфолиновые связи (образуемые частично за счет сахарной части нуклеозида); силоксановые связи (-O-$Si(H)_2$-O-); сульфидные, сульфоксидные и сульфоновые связи; формацетильные и тиоформацетильные связи; алкенсодержащие остовы; сульфаматные остовы; метиленметилиминовые (-CH_2-$N(CH_3)$-O-CH_2-) и метиленгидразиновые связи; сульфонатные и сульфонамидные связи; амидные связи и другие связи, имеющие смешанные составные части из N, O, S и CH_2. В одном варианте осуществления модифицированная межнуклеозидная связь представляет собой пептидную связь (например, аминоэтилглицин) для создания пептидной нуклеиновой кислоты или PNA, такой как описанные в патентах США №№ 5539082; 5714331 и 5719262. Другие подходящие модифицированные межнуклеотидные и межнуклеозидные связи, которые

могут быть использованы в конструкциях для RNAi LPA, описаны в патенте США № 6693187, патенте США № 9181551, в публикации патента США № 2016/0122761 и в Deleavey and Damha, Chemistry and Biology, Vol. 19: 937-954, 2012.

[0088] В определенных вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему изобретению, содержат одну или несколько фосфоротиоатных межнуклеотидных связей. Фосфоротиоатные межнуклеотидные связи могут присутствовать в смысловой нити, антисмысловой нити или в обеих нитях конструкций для RNAi LPA. Например, в некоторых вариантах осуществления смысловая нить содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше фосфоротиоатных межнуклеотидных связей. В других вариантах осуществления антисмысловая нить содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше фосфоротиоатных межнуклеотидных связей. В еще одних вариантах осуществления обе нити содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше фосфоротиоатных межнуклеотидных связей. Конструкции для RNAi LPA могут содержать одну или несколько фосфоротиоатных межнуклеотидных связей на 3′-конце, 5′-конце, или как на 3′-, так и на 5′-концах смысловой нити, антисмысловой нити или обеих нитей. Например, в определенных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит от приблизительно 1 до приблизительно 6 или больше (например, приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6 или больше) последовательных фосфоротиоатных межнуклеотидных связей на 3′-конце смысловой нити, антисмысловой нити или обеих нитей. В других вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит от приблизительно 1 до приблизительно 6 или больше (например, приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6 или больше) последовательных фосфоротиоатных межнуклеотидных связей на 5′-конце смысловой нити, антисмысловой нити или обеих нитей. В любом из вариантов осуществления, в котором одна или обе нити содержат одну или несколько фосфоротиоатных межнуклеотидных связей, остальные межнуклеотидные связи в нитях могут представлять собой природные 3′-5′-фосфодиэфирные связи. Например, в некоторых вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь смысловой и антисмысловой нитей выбрана из фосфодиэфирной и фосфоротиоатной, где по меньшей мере одна межнуклеотидная связь является фосфоротиоатной.

[0089] В некоторых вариантах осуществления конструкции для RNAi по настоящему изобретению 5′-конец смысловой нити, антисмысловой нити или как антисмысловой, так и смысловой нитей содержит фосфатный фрагмент. Используемый в данном документе термин "фосфатный фрагмент" относится к концевой фосфатной группе, которая включает немодифицированные фосфаты (-O-P=O)(OH)OH), а также модифицированные фосфаты. Модифицированные фосфаты включают фосфаты, в которых одна или несколько групп O и OH замещены H, O, S, N (R) или алкилом, где R представляет собой H, защитную группу для аминогруппы или незамещенный или замещенный алкил. Иллюстративные фосфатные фрагменты включают без ограничения 5′-монофосфат; 5′-дифосфат; 5′-трифосфат; 5′-гуанозиновый кэп (7-метилированный или неметилированный); 5′-аденозиновый кэп или любую другую модифицированную или

немодифицированную нуклеотидную кэп-структуру; 5′-монотиофосфат (фосфоротиоат); 5′-монодитиофосфат (фосфородитиоат); 5′-альфа-тиотрифосфат; 5′-гамма-тиотрифосфат, 5′-фосфорамидаты; 5′-винилфосфаты; 5′-алкилфосфонаты (например, алкил=метил, этил, изопропил, пропил и т. п.); 5′-циклопропилфосфонат и 5′-алкилэфирфосфонаты (например, алкиловый эфир=метоксиметил, этоксиметил и т. п.).

[0090] Модифицированные нуклеотиды, которые могут быть встроены в конструкции для RNAi LPA, подходящие для применения в способах по настоящему изобретению, могут иметь более одной химической модификации из описанных в данном документе. Например, модифицированный нуклеотид может иметь модификацию рибозного сахара, а также модификацию нуклеинового основания. В качестве примера модифицированный нуклеотид может содержать 2′-модификацию сахара (например, 2′-фтор или 2′-O-метил) и содержать модифицированное основание (например, 5-метилцитозин или псевдоурацил). В других вариантах осуществления модифицированный нуклеотид может содержать модификацию сахара в комбинации с модификацией 5′-фосфата, что будет приводить к образованию модифицированной межнуклеотидной или межнуклеозидной связи при встраивании модифицированного нуклеотида в полинуклеотид. Например, в некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеотид может содержать модификацию сахара, такую как 2′-фтор-модификация, 2′-O-метил-модификация или бициклическая модификация сахара, а также 5′-фосфоротиоатную группу. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления одна или обе нити конструкций для RNAi по настоящему изобретению содержат комбинацию 2′-модифицированных нуклеотидов или BNA и фосфоротиоатных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления как смысловая, так и антисмысловая нити конструкций для RNAi по настоящему изобретению содержат комбинацию 2′-фтор-модифицированных нуклеотидов, 2′-O-метил-модифицированных нуклеотидов и фосфоротиоатных межнуклеотидных связей.

[0091] Ген LPA экспрессируется преимущественно в печени. Таким образом, в определенных вариантах осуществления требуется специфически доставлять конструкции для RNAi LPA в клетки печени. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему изобретению, могут содержать нацеливающий фрагмент для направления конструкции для RNAi LPA конкретно на клетки печени (например, гепатоциты) с использованием различных подходов, как более подробно описано ниже. В определенных вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA содержат нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд, который связывается с экспрессируемым на поверхности асиалогликопротеиновым рецептором (ASGR) или его компонентом (например, ASGR1, ASGR2).

[0092] В некоторых вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA могут специфически нацеливаться на печень благодаря использованию лигандов, которые связываются или взаимодействуют с белками, экспрессируемыми на поверхности клеток печени. Например, в определенных вариантах осуществления лиганды могут

предусматривать антигенсвязывающие белки (например, антитела или их связывающие фрагменты (например, Fab, scFv)), которые специфически связываются с рецептором, экспрессируемым на гепатоцитах, таким как асиалогликопротеиновый рецептор и рецептор LDL. В одном конкретном варианте осуществления лиганд предусматривает антитело или его связывающий фрагмент, которые специфически связываются с ASGR1 и/или ASGR2. В другом варианте осуществления лиганд предусматривает Fab-фрагмент антитела, который специфически связывается с ASGR1 и/или ASGR2. "Fab-фрагмент" состоит из одной легкой цепи иммуноглобулина (т. е. вариабельного участка (VL) и константного участка (CL) легкой цепи) и участка CH1 и вариабельного участка (VH) одной тяжелой цепи иммуноглобулина. В другом варианте осуществления лиганд предусматривает одноцепочечный вариабельный фрагмент антитела (scFv-фрагмент) из антитела, которое специфически связывается с ASGR1 и/или ASGR2. "ScFv-фрагмент" содержит участки VH и VL антитела, при этом данные участки присутствуют в одной полипептидной цепи, и необязательно содержит пептидный линкер между участками VH и VL, что позволяет Fv образовывать структуру, требуемую для связывания антигена. Иллюстративные антитела и их связывающие фрагменты, которые специфически связываются с ASGR1, которые можно использовать в качестве лигандов асиалогликопротеинового рецептора в нацеливающих фрагментах конструкций для RNAi LPA, используемых в способах по настоящему изобретению, описаны в публикации WIPO № WO 2017/058944, которая настоящим включена посредством ссылки во всей своей полноте. Другие антитела или их связывающие фрагменты, которые специфически связываются с ASGR1, рецептором LDL или другими белками, экспрессируемыми на поверхности клеток печени, подходящие для применения в качестве нацеливающих фрагментов в конструкциях для RNAi LPA, являются коммерчески доступными.

[0093] В определенных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент содержит углевод. "Углевод" относится к соединению, состоящему из одного или нескольких моносахаридных звеньев, имеющих по меньшей мере 6 атомов углерода (которые могут быть линейными, разветвленными или циклическими), при этом с каждым атомом углерода связан атом кислорода, азота или серы. Углеводы включают без ограничения сахара (например, моносахариды, дисахариды, трисахариды, тетрасахариды и олигосахариды, содержащие от приблизительно 4, 5, 6, 7, 8 или 9 моносахаридных звеньев) и полисахариды, такие как разновидности крахмала, гликоген, целлюлоза и полисахаридные камеди. В некоторых вариантах осуществления углевод, встроенный в нацеливающий фрагмент, представляет собой моносахарид, выбранный из пентозы, гексозы или гептозы, и ди- и трисахариды, содержащие такие моносахаридные звенья. В других вариантах осуществления углевод, встроенный в нацеливающий фрагмент, представляет собой аминосахар, такой как галактозамин, глюкозамин, N-ацетилгалактозамин и N-ацетилглюкозамин.

[0094] В некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент содержит лиганд асиалогликопротеинового рецептора, который содержит глюкозу, галактозу,

галактозамин, глюкозамин, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин или производное любого из вышеперечисленных. В конкретных вариантах осуществления лиганд асиалогликопротеинового рецептора содержит N-ацетилгалактозамин (GalNAc) или его производное. Лиганды, содержащие глюкозу, галактозу и GalNAc, особенно эффективны для нацеливания соединений на клетки печени, поскольку такие лиганды связываются с ASGR, экспрессируемым на поверхности гепатоцитов. См., например, D'Souza and Devarajan, J. Control Release, Vol. 203: 126-139, 2015. Примеры лигандов, содержащих GalNAc или галактозу, которые могут быть встроены в нацеливающий фрагмент конструкций для RNAi LPA, используемых в способах по настоящему изобретению, описаны в патентах США №№ 7491805; 8106022; 8877917 и 10246709; в публикации патента США № 20030130186 и публикации WIPO № WO 2013166155, все из которых настоящим включены посредством ссылки во всей своей полноте.

[0095] В определенных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент в конструкции для RNAi LPA предусматривает поливалентный углеводный фрагмент. Используемый в данном документе термин "поливалентный углеводный фрагмент" относится к фрагменту, содержащему два или более углеводных звена, способных независимо связываться или взаимодействовать с другими молекулами. Например, поливалентный углеводный фрагмент содержит два или более связывающих домена, состоящих из углеводов, которые способны связываться с двумя или более различными молекулами или двумя или более различными сайтами на одной и той же молекуле. Валентность углеводного фрагмента определяет число отдельных связывающих доменов в пределах углеводного фрагмента. Например, термины "моновалентный", "бивалентный", "тривалентный" и "тетравалентный", относящиеся к углеводному фрагменту, относятся к углеводным фрагментам с одним, двумя, тремя и четырьмя связывающими доменами соответственно. Поливалентный углеводный фрагмент может включать поливалентный лактозный фрагмент, поливалентный галактозный фрагмент, поливалентный глюкозный фрагмент, поливалентный N-ацетилгалактозаминовый фрагмент, поливалентный N-ацетилглюкозаминовый фрагмент, поливалентный маннозный фрагмент или поливалентный фукозный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент предусматривает поливалентный галактозный фрагмент. В других вариантах осуществления нацеливающий фрагмент предусматривает поливалентный N-ацетилгалактозаминовый фрагмент. В этих и других вариантах осуществления поливалентный углеводный фрагмент может быть бивалентным, тривалентным или тетравалентным. В таких вариантах осуществления поливалентный углеводный фрагмент может быть биантенным или триантенным. В одном конкретном варианте осуществления поливалентный N-ацетилгалактозаминовый фрагмент является тривалентным или тетравалентным. В другом конкретном варианте осуществления поливалентный галактозный фрагмент является тривалентным или тетравалентным.

[0096] Нацеливающий фрагмент может быть присоединен к молекуле РНК в конструкции для RNAi LPA или конъюгирован с ней непосредственно или опосредованно.

Например, в некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент непосредственно ковалентно присоединен к смысловой или антисмысловой нити конструкции для RNAi LPA. В других вариантах осуществления нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к смысловой или антисмысловой нити конструкции для RNAi LPA посредством линкера. Нацеливающий фрагмент может быть присоединен к нуклеиновым основаниям, сахарным фрагментам или межнуклеотидным связям полинуклеотидов (например, смысловой нити или антисмысловой нити) конструкций для RNAi LPA, используемых в способах по настоящему изобретению. Конъюгация или присоединение к пуриновым нуклеиновым основаниям или их производным может происходить по любому положению, включая эндоциклические и экзоциклические атомы. В определенных вариантах осуществления положения 2, 6, 7 или 8 пуринового нуклеинового основания присоединены к нацеливающему фрагменту. Конъюгация или присоединение к пиримидиновым нуклеиновым основаниям или их производным также может происходить по любому положению. В некоторых вариантах осуществления положения 2, 5 и 6 пиримидинового нуклеинового основания могут быть присоединены к нацеливающему фрагменту. Конъюгация или присоединение к сахарным фрагментам нуклеотидов может происходить по любому атому углерода. Иллюстративные атомы углерода сахарного фрагмента, которые могут быть присоединены к нацеливающему фрагменту, включают 2′-, 3′- и 5′-атомы углерода. Атом в 1′-положении также может быть присоединен к нацеливающему фрагменту, как, например, в нуклеотиде с удаленным азотистым основанием. Межнуклеотидные связи также могут содействовать присоединению нацеливающего фрагмента. В случае фосфорсодержащих связей (например, фосфодиэфирной, фосфоротиоатной, фосфородитиоатной, фосфорамидатной и т.п.) нацеливающий фрагмент может быть присоединен непосредственно к атому фосфора или к атому O, N или S, связанному с атомом фосфора. В случае аминосодержащих или амидсодержащих межнуклеозидных связей (например, PNA) нацеливающий фрагмент может быть присоединен к атому азота амина или амида или к смежному атому углерода.

[0097] В некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент может быть присоединен к 3′- или 5′-концу смысловой или антисмысловой нити. В определенных предпочтительных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити. В таких вариантах осуществления нацеливающий фрагмент присоединен к 5′-концевому нуклеотиду смысловой нити. В этих и других вариантах осуществления нацеливающий фрагмент присоединен в 5′-положении 5′-концевого нуклеотида смысловой нити. В вариантах осуществления, в которых инвертированный нуклеотид с удаленным азотистым основанием или инвертированный дезоксирибонуклеотид представляет собой 5′-концевой нуклеотид смысловой нити и связан с соседним нуклеотидом посредством 5′-5′-межнуклеотидной связи, нацеливающий фрагмент может быть присоединен по 3′-положению инвертированного нуклеотида с удаленным азотистым основанием или инвертированного дезоксирибонуклеотида. В других вариантах осуществления нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 3′-

концу смысловой нити. Например, в некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент присоединен к 3′-концевому нуклеотиду смысловой нити. В определенных таких вариантах осуществления нацеливающий фрагмент присоединен в 3′-положении 3′-концевого нуклеотида смысловой нити. В вариантах осуществления, в которых инвертированный нуклеотид с удаленным азотистым основанием или инвертированный дезоксирибонуклеотид представляет собой 3′-концевой нуклеотид смысловой нити и связан с соседним нуклеотидом посредством 3′-3′-межнуклеотидной связи, нацеливающий фрагмент может быть присоединен по 5′-положению инвертированного нуклеотида с удаленным азотистым основанием или инвертированного дезоксирибонуклеотида. В альтернативных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент присоединен вблизи 3′-конца смысловой нити, но перед одним или несколькими концевыми нуклеотидами (т. е. перед 1, 2, 3 или 4 концевыми нуклеотидами). В некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент присоединен в 2′-положении сахара в 3′-концевом нуклеотиде смысловой нити. В других вариантах осуществления нацеливающий фрагмент присоединен в 2′-положении сахара в 5′-концевом нуклеотиде смысловой нити.

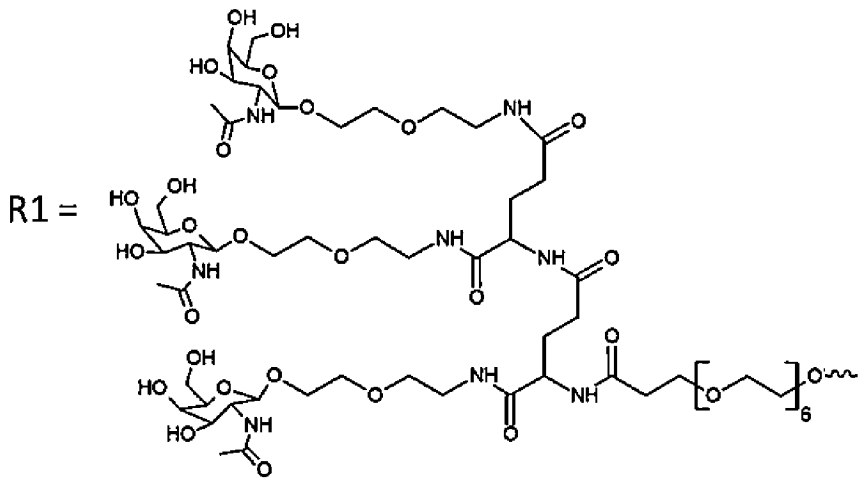
[0098] В определенных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент присоединен к смысловой или антисмысловой нити посредством линкера. "Линкер" представляет собой атом или группу атомов, которые ковалентно соединяют лиганд с полинуклеотидным компонентом конструкции для RNAi LPA. Линкер может иметь длину от приблизительно 1 до приблизительно 30 атомов, длину от приблизительно 2 до приблизительно 28 атомов, длину от приблизительно 3 до приблизительно 26 атомов, длину от приблизительно 4 до приблизительно 24 атомов, длину от приблизительно 6 до приблизительно 20 атомов, длину от приблизительно 7 до приблизительно 20 атомов, длину от приблизительно 8 до приблизительно 20 атомов, длину от приблизительно 8 до приблизительно 18 атомов, длину от приблизительно 10 до приблизительно 18 атомов и длину от приблизительно 12 до приблизительно 18 атомов. В некоторых вариантах осуществления линкер может предусматривать бифункциональный связывающий фрагмент, который обычно предусматривает алкильный фрагмент с двумя функциональными группами. Одна из функциональных групп выбрана для связывания с представляющим интерес соединением (например, смысловой или антисмысловой нитью конструкции для RNAi), а другая выбрана для связывания с по сути любой выбранной группой, такой как нацеливающий фрагмент или его компонент, описанные в данном документе. В определенных вариантах осуществления линкер содержит структуру цепи или олигомер из повторяющихся звеньев, таких как этиленгликолевые или аминокислотные звенья. Примеры функциональных групп, которые обычно используются в бифункциональном связывающем фрагменте, включают без ограничения электрофилы для осуществления реакции с нуклеофильными группами и нуклеофилы для осуществления реакции с электрофильными группами. В некоторых вариантах осуществления бифункциональные связывающие фрагменты содержат аминогруппу, гидроксильную группу, группу карбоновой кислоты, тиольную группу, ненасыщенные

группы (например, двойные или тройные связи) и т. п.

[0099] Линкеры, которые можно использовать для присоединения нацеливающего фрагмента к смысловой или антисмысловой нити в конструкциях для RNAi LPA, используемых в способах по настоящему изобретению, включают без ограничения пирролидин, 8-амино-3,6-диоксаоктановую кислоту, сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)циклогексан-1-карбоксилат, 6-аминогексановую кислоту, замещенный C_1-C_{10}алкил, замещенный или незамещенный C_2-C_{10}алкенил или замещенный или незамещенный C_2-C_{10}алкинил. Предпочтительные замещающие группы для таких линкеров включают без ограничения гидроксил, амино, алкокси, карбокси, бензил, фенил, нитро, тиол, тиоалкокси, галоген, алкил, арил, алкенил и алкинил. Другие типы линкеров, подходящие для присоединения нацеливающих фрагментов к смысловой или антисмысловой нитям в конструкциях для RNAi LPA, представленных в способах по настоящему изобретению, известны из уровня техники и могут предусматривать линкеры, описанные в патентах США №№ 7723509; 8017762; 8828956; 8877917 и 9181551.

[0100] В определенных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент, ковалентно присоединенный к смысловой или антисмысловой нити конструкций для RNAi LPA, используемых в способах по настоящему изобретению, содержит фрагмент GalNAc, например, поливалентный фрагмент GalNAc. В некоторых вариантах осуществления поливалентный фрагмент GalNAc представляет собой тривалентный фрагмент GalNAc и присоединен к 3′-концу смысловой нити. В других вариантах осуществления поливалентный фрагмент GalNAc представляет собой тривалентный фрагмент GalNAc и присоединен к 5′-концу смысловой нити. В еще одних вариантах осуществления поливалентный фрагмент GalNAc представляет собой тетравалентный фрагмент GalNAc и присоединен к 3′-концу смысловой нити. В еще одних вариантах осуществления поливалентный фрагмент GalNAc представляет собой тетравалентный фрагмент GalNAc и присоединен к 5′-концу смысловой нити.

[0101] В определенных вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA, используемые в способах по настоящему изобретению, содержат нацеливающий фрагмент, характеризующийся следующей структурой [структура 1]:



В предпочтительных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент, характеризующийся данной структурой, ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити посредством фосфоротиоатной или фосфодиэфирной связи.

[0102] В определенных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, подходящая для применения в способах по настоящему изобретению, содержит

смысловую нить и антисмысловую нить, длина каждой из которых составляет от приблизительно 19 до приблизительно 23 нуклеотидов, где антисмысловая нить содержит последовательность, которая комплементарна последовательности мРНК LPA, а смысловая нить содержит последовательность, которая комплементарна последовательности антисмысловой нити, и

нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити. В некоторых вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит два "тупых" конца. Например, в некоторых таких вариантах осуществления длина каждой из смысловой нити и антисмысловой нити составляет 21 нуклеотид и они гибридизируются друг с другом с образованием дуплексного участка, длина которого составляет 21 пару оснований. В других таких вариантах осуществления длина каждой из смысловой нити и антисмысловой нити составляет 19 нуклеотидов и они гибридизируются друг с другом с образованием дуплексного участка, длина которого составляет 19 пар оснований. В других вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA содержит два нуклеотидных "липких" конца. В одном таком варианте осуществления конструкция для RNAi LPA содержит (i) смысловую нить и антисмысловую нить, каждая из которых имеет длину 21 нуклеотид, (ii) дуплексный участок, имеющий длину 19 пар оснований, и (iii) нуклеотидные "липкие" концы из 2 неспаренных нуклеотидов как на 3′-конце смысловой нити, так и на 3′-конце антисмысловой нити.

[0103] В некоторых вариантах осуществления нацеливающий фрагмент предусматривает тривалентный фрагмент GalNAc, такой как любой из тривалентных фрагментов GalNAc, описанных в патенте США № 10246709, который настоящим включен посредством ссылки во всей своей полноте. В одном предпочтительном варианте осуществления нацеливающий фрагмент характеризуется структурой согласно структуре 1, описанной выше.

[0104] В определенных вариантах осуществления антисмысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность, которая в значительной степени комплементарна или полностью комплементарна нуклеотидам 2706-2726 мРНК-транскрипта LPA человека, представленного в эталонной последовательности NCBI NM_005577.4, нуклеотидам 2697-2726 мРНК-транскрипта LPA человека, представленного в эталонной последовательности NCBI NM_005577.4, или нуклеотидам 2708-2725 мРНК-транскрипта LPA человека, представленного в эталонной последовательности NCBI NM_005577.4. В таких вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA может содержать смысловую нить, которая в значительной степени комплементарна или

полностью комплементарна антисмысловой нити, нацеливающейся на этот участок. Таким образом, в этих вариантах осуществления смысловая нить может содержать последовательность, идентичную нуклеотидам 2706-2726, нуклеотидам 2697-2726 или нуклеотидам 2708-2725 мРНК-транскрипта LPA человека, представленного в эталонной последовательности NCBI NM_005577.4.

[0105] В некоторых вариантах осуществления смысловая нить конструкции для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, содержит последовательность 5′-GCCCCUUAUUGUUAUACG-3′ (SEQ ID NO: 1). В родственных вариантах осуществления антисмысловая нить конструкции для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, содержит последовательность 5′-CGUAUAACAAUAAGGGGC-3′ (SEQ ID NO: 2).

[0106] Примеры конструкций для RNAi LPA, подходящих для применения в способах по настоящему изобретению, описаны в WO 2017/059223, которая настоящим включена посредством ссылки во всей своей полноте. Дуплексы AD03851, AD03853 и AD03536, описанные в WO 2017/059223, особенно применимы в способах по настоящему изобретению. В определенных предпочтительных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, содержит смысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности 5′-CAGCCCCUUAUUGUUAUACGA-3′ (SEQ ID NO: 3), и антисмысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности 5′-UCGUAUAACAAUAAGGGGCUG-3′ (SEQ ID NO: 4). В родственных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, содержит смысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с последовательностью 5′-csagccccuUfAfUfuguuauacgs(invdA)-3′ (SEQ ID NO: 5), и антисмысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с последовательностью 5′-usCfsgUfaUfaacaaUfaAfgGfgGfcsUfsg-3′ (SEQ ID NO: 6), где a, g, c и u представляют собой 2′-O-метиладенозин, 2′-O-метилгуанозин, 2′-O-метилцитидин и 2′-O-метилуридин соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2′-дезокси-2′-фтор-("2′-фтор-") аденозин, 2′-фторгуанозин, 2′-фторцитидин и 2′-фторуридин соответственно; invdA представляет собой инвертированный дезоксиаденозин (3′-3′-связанный нуклеотид), и s представляет собой фосфоротиоатную связь. В некоторых таких вариантах осуществления нацеливающий фрагмент, характеризующийся структурой согласно структуре 1, описанной в данном документе, ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити посредством фосфоротиоатной связи.

[0107] В других вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, содержит смысловую нить, содержащую последовательность 5′-GCCCCUUAUUGUUAUACGAUU-3′ (SEQ ID NO: 7), и антисмысловую нить, содержащую последовательность 5′-

UCGUAUAACAAUAAGGGGCUU-3′ (SEQ ID NO: 8). В родственных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, содержит смысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с последовательностью 5′-gsccccuUfAfUfuguuauacgauus(invAb)-3′ (SEQ ID NO: 9), и антисмысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с последовательностью 5′-usCfsgUfaUfaacaaUfaAfgGfgGfcsusu-3′ (SEQ ID NO: 10), где a, g, c и u представляют собой 2′-O-метиладенозин, 2′-O-метилгуанозин, 2′-O-метилцитидин и 2′-O-метилуридин соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2′-дезокси-2′-фтор-("2′-фтор-") аденозин, 2′-фторгуанозин, 2′-фторцитидин и 2′-фторуридин соответственно; invAb представляет собой инвертированный нуклеотид с удаленным азотистым основанием (3′-3′-связанный нуклеотид), и s представляет собой фосфоротиоатную связь. В некоторых таких вариантах осуществления нацеливающий фрагмент, характеризующийся структурой согласно структуре 1, описанной в данном документе, ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити посредством фосфоротиоатной связи. В других родственных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, используемая в способах по настоящему изобретению, содержит смысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с последовательностью 5′-(invAb)GfcCfcCfuUfAfUfuGfuUfaUfaCfgausu(invAb)-3′ (SEQ ID NO: 11), и антисмысловую нить, содержащую последовательность или состоящую из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с последовательностью 5′-usCfsgsUfaUfaAfCfAfauaAfgGfgGfcusu-3′ (SEQ ID NO: 12), где a, g, c и u представляют собой 2′-O-метиладенозин, 2′-O-метилгуанозин, 2′-O-метилцитидин и 2′-O-метилуридин соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2′-дезокси-2′-фтор- ("2′-фтор-") аденозин, 2′-фторгуанозин, 2′-фторцитидин и 2′-фторуридин соответственно; invAb представляет собой инвертированный нуклеотид с удаленным азотистым основанием (5′-5′-связанный нуклеотид, если он находится на 5′-конце нити, и 3′-3′-связанный нуклеотид, если он находится на 3′-конце нити), и s представляет собой фосфоротиоатную связь. В некоторых из этих вариантов осуществления нацеливающий фрагмент, характеризующийся структурой согласно структуре 1, описанной в данном документе, ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити посредством фосфодиэфирной связи.

[0108] В определенных предпочтительных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, вводимая пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет собой олпасиран. Структура олпасирана схематически показана на фигуре 1, а также описана в WO 2017/059223, в которой олпасиран обозначен как дуплекс № AD03851. Олпасиран представляет собой двухнитевую молекулу siRNA, состоящую из двух отдельных нитей - смысловой нити и антисмысловой нити, длина каждой из которых составляет 21 нуклеотид. Последовательности нуклеиновых оснований

смысловой нити и антисмысловой нити полностью комплементарны друг другу и гибридизируются с образованием дуплекса длиной 21 пара оснований. Нуклеотидные последовательности смысловой нити и антисмысловой нити олпасирана представлены под SEQ ID NO: 3 и SEQ ID NO: 4 соответственно. Как смысловая нить, так и антисмысловая нить олпасирана состоят из модифицированных нуклеотидов, и модифицированные последовательности каждой нити представлены под SEQ ID NO: 5 (смысловая нить) и SEQ ID NO: 6 (антисмысловая нить). Тривалентный фрагмент GalNAc, характеризующийся структурой согласно структуре 1 (и представленный как R1 на фигуре 1), ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити олпасирана посредством фосфоротиоатной связи. Термин олпасиран относится к свободной кислоте соединения, показанного на фигуре 1, а также к его фармацевтически приемлемым солям, таким как натриевая соль.

[0109] Конструкции для RNAi LPA для применения в способах по настоящему изобретению можно легко получить с применением методик, известных из уровня техники, например, с применением традиционного твердофазного синтеза нуклеиновых кислот. Полинуклеотиды конструкций для RNAi могут быть собраны в подходящем синтезаторе нуклеиновых кислот с использованием стандартных предшественников нуклеотидов или нуклеозидов (например, фосфорамидитов). Автоматические синтезаторы нуклеиновых кислот продаются коммерчески несколькими поставщиками, включая синтезаторы ДНК/РНК от Applied Biosystems (Фостер-Сити, Калифорния), синтезаторы MerMade от BioAutomation (Ирвинг, Техас) и синтезаторы OligoPilot от GE Healthcare Life Sciences (Питтсбург, Пенсильвания). Иллюстративные способы синтеза конструкций для RNAi LPA, а также выбор нацеливающих фрагментов, описаны в примерах из WO 2017/059223 и патента США № 10246709, оба из которых настоящим включены посредством ссылки во всей своей полноте.

[0110] Для синтеза олигонуклеотидов посредством фосфорамидитной химии может использоваться 2′-силильная защитная группа в сочетании с кислотолабильным диметокситритилом (DMT) в 5′-положении рибонуклеозидов. Известно, что условия удаления защитной группы на конечном этапе не приводят к значительному разрушению РНК-продуктов. Все процессы синтеза можно проводить в любом автоматическом или ручном синтезаторе в большом, среднем или малом масштабе. Процессы синтеза также можно проводить в многолуночных планшетах, колонках или на предметных стеклах.

[0111] 2′-O-силильную группу можно удалить посредством воздействия фторид-ионов, которые могут предусматривать любой источник фторид-иона, например, соли, содержащие фторид-ион в паре с неорганическими противоионами, например, фторид цезия и фторид калия, или соли, содержащие фторид-ион в паре с органическим противоионом, например, фторид тетраалкиламмония. В реакции удаления защитной группы можно использовать краун-эфирный катализатор в комбинации с неорганическим фторидом. Предпочтительными источниками фторид-иона являются фторид тетрабутиламмония или аминогидрофториды (например, объединение водной HF с

триэтиламином в диполярном апротонном растворителе, например, диметилформамиде).

[0112] Выбор защитных групп для использования в сложных фосфиттриэфирах и сложных фосфотриэфирах может привести к изменению стабильности сложных триэфиров по отношению к фтору. Защита сложного фосфотриэфира или сложного фосфиттриэфира с помощью метильной группы может стабилизировать связь против фторид-ионов и улучшить технологический выход процесса.

[0113] Поскольку рибонуклеозиды имеют реакционноспособный 2′-гидроксильный заместитель, может потребоваться защита реакционноспособного 2′-положения в РНК с помощью защитной группы, которая является ортогональной по отношению к 5′-O-диметокситритильной защитной группе, например, группы, устойчивой к обработке кислотой. Силильные защитные группы соответствуют этому критерию и могут быть легко удалены на конечной стадии удаления защитной группы с помощью фторида, что может приводить к минимальному разрушению РНК.

[0114] В стандартной реакции фосфорамидитного сочетания можно использовать тетразольные катализаторы. Предпочтительные катализаторы включают, например, тетразол, S-этилтетразол, бензилтиотетразол, п-нитрофенилтетразол.

[0115] Как может быть понятно специалисту в данной области, дополнительные способы синтеза конструкций для RNAi LPA, описанных в данном документе, будут очевидны средним специалистам в данной области. Кроме того, для получения требуемых соединений различные стадии синтеза могут быть выполнены в альтернативной последовательности или порядке. Другие превращения в рамках синтетической химии, защитные группы (например, для гидроксила, аминогруппы и т. п., присутствующие в основаниях) и методики использования защитных групп (введения и удаления защитных групп), применимые в синтезе конструкций для RNAi, известны из уровня техники и включают, например, такие, как описанные в R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989); T. W. Greene and P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 2d. Ed., John Wiley and Sons (1991); L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994); и L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995) и их последующих изданиях. Синтез средств для RNAi на заказ также доступен от нескольких коммерческих поставщиков, включая Agilent Technologies (Санта-Клара, Калифорния), Nitto Denko Avecia (Милфорд, Массачусетс), Dharmacon, Inc. (Лафайет, Колорадо), AxoLabs GmbH (Кульмбах, Германия) и Ambion, Inc. (Фостер-Сити, Калифорния).

[0116] Конструкцию для RNAi LPA обычно вводят пациенту в фармацевтической композиции, которая может содержать фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества или разбавители. Таким образом, настоящее изобретение также включает фармацевтические композиции и составы, содержащие конструкции для RNAi LPA и фармацевтически приемлемые носители, вспомогательные вещества или разбавители, для применения в способах по настоящему изобретению, описанных в данном документе. Для клинического применения фармацевтические композиции и

составы будут получать в форме, подходящей для предполагаемого применения. Как правило, это предусматривает получение композиций, которые по сути не содержат пирогенов, а также других примесей, которые могут быть вредными для людей или животных.

[0117] Фразы "фармацевтически приемлемый" или "фармакологически приемлемый" относятся к молекулярным веществам и композициям, которые не вызывают нежелательных, аллергических или других неблагоприятных реакций при введении животному или человеку. Как используется в данном документе, "фармацевтически приемлемый носитель, вспомогательное вещество или разбавитель" включает растворители, буферы, растворы, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые средства, изотонические средства и средства, замедляющие всасывание, и т. п., приемлемые для использования в составлении фармацевтических препаратов, таких как фармацевтические препараты, подходящие для введения людям. Применение таких сред и средств для фармацевтически активных веществ хорошо известно из уровня техники. За исключением случаев, когда какие-либо традиционные среды или средство несовместимы с конструкциями для RNAi LPA, описанными в данном документе, предполагается их применение в терапевтических композициях. Дополнительные активные ингредиенты также могут быть включены в композиции при условии, что они не инактивируют конструкции для RNAi LPA в композициях.

[0118] Композиции и способы составления фармацевтических композиций зависят от ряда критериев, включающих без ограничения путь введения, тип и степень заболевания или нарушения, подлежащих лечению, или дозу, подлежащую введению. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции составлены, исходя из предполагаемого пути доставки. Например, в определенных вариантах осуществления фармацевтические композиции составлены для парентеральной доставки. Парентеральные формы доставки включают внутривенную, внутриартериальную, подкожную, интратекальную, внутрибрюшинную или внутримышечную инъекцию или инфузию. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция составлена для внутривенной доставки. В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция составлена для подкожной доставки. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат эффективное количество конструкции для RNAi LPA. Эффективным количеством конструкции для RNAi LPA, в частности олпасирана, может быть любая из доз, описанных в данном документе.

[0119] Введение фармацевтических композиций, содержащих конструкцию для RNAi LPA согласно способам по настоящему изобретению, можно осуществлять любым традиционным путем, при условии, что ткань-мишень доступна посредством данного пути. Такие пути включают без ограничения парентеральный (например, подкожный, внутримышечный, внутрибрюшинный или внутривенный), пероральный, назальный, трансбуккальный, внутрикожный, трансдермальный и сублингвальный пути или прямую

инъекцию в ткань печени или доставку через воротную вену печени. В некоторых вариантах осуществления способов по настоящему изобретению конструкцию для RNAi LPA или фармацевтическую композицию, содержащую конструкцию для RNAi LPA, вводят пациенту парентерально. Например, в определенных вариантах осуществления конструкцию для RNAi LPA или фармацевтическую композицию, содержащую конструкцию для RNAi LPA, вводят внутривенно. В других вариантах осуществления конструкцию для RNAi LPA или фармацевтическую композицию, предусматривающую фармацевтическую композицию для RNAi LPA, вводят подкожно, например, путем подкожной инъекции. В таких вариантах осуществления объем подкожной инъекции составляет приблизительно 2 мл или меньше, например, приблизительно 2 мл, приблизительно 1,8 мл, приблизительно 1,7 мл, приблизительно 1,6 мл, приблизительно 1,5 мл, приблизительно 1,4 мл, приблизительно 1,3 мл, приблизительно 1,2 мл, приблизительно 1,1 мл, приблизительно 1 мл, приблизительно 0,9 мл, приблизительно 0,8 мл, приблизительно 0,7 мл, приблизительно 0,6 мл или приблизительно 0,5 мл. В одном варианте осуществления объем подкожной инъекции составляет приблизительно 1 мл или меньше. В другом варианте осуществления объем подкожной инъекции составляет приблизительно 1 мл. В еще одном варианте осуществления объем подкожной инъекции составляет приблизительно 1,5 мл.

[0120] В вариантах осуществления, в которых фармацевтическую композицию вводят путем парентеральной инъекции, фармацевтическую композицию можно вводить пациенту с помощью шприца. В некоторых вариантах осуществления шприц предварительно заполнен фармацевтической композицией. В других вариантах осуществления, в которых фармацевтическую композицию вводят пациенту путем парентеральной инъекции, такой как подкожная инъекция, фармацевтическую композицию вводят с помощью инъекционного устройства, включая устройства для самостоятельного введения. Такие устройства коммерчески доступны и включают без ограничения автоинъекторы, дозирующие шприцы-ручки, микроинфузионные помпы, нательные инъекторы и предварительно заполненные шприцы. Иллюстративные устройства для введения фармацевтической композиции, содержащей эффективное количество конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), в соответствии со способами по настоящему изобретению включают автоинъекторы (например, SureClick®, EverGentle®, Avanti®, DosePro®, Molly® и Leva®), шприцы-ручки для инъекций (например, шприц-ручка Madie®, инъектор-ручка DCP™, одноразовый шприц-ручка BD Vystra™, многоразовый шприц-ручка BD™) и предварительно заполненные шприцы (BD Sterifill™, BD Hypak™, предварительно заполненные шприцы от Baxter). В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую эффективное количество конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), вводят пациенту с помощью предварительно заполненного шприца. В других вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую эффективное количество конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), вводят пациенту с помощью автоинъектора. В

определенных таких вариантах осуществления инъекционный объем шприца, автоинъектора или другого инъекционного устройства составляет приблизительно 2 мл или меньше, например, приблизительно 2 мл, приблизительно 1,8 мл, приблизительно 1,7 мл, приблизительно 1,6 мл, приблизительно 1,5 мл, приблизительно 1,4 мл, приблизительно 1,3 мл, приблизительно 1,2 мл, приблизительно 1,1 мл, приблизительно 1 мл, приблизительно 0,9 мл, приблизительно 0,8 мл, приблизительно 0,7 мл, приблизительно 0,6 мл или приблизительно 0,5 мл. В одном варианте осуществления инъекционный объем шприца, автоинъектора или другого инъекционного устройства составляет приблизительно 1 мл или меньше. В другом варианте осуществления инъекционный объем шприца, автоинъектора или другого инъекционного устройства составляет приблизительно 1 мл. В еще одном варианте осуществления инъекционный объем шприца, автоинъектора или другого инъекционного устройства составляет приблизительно 1,5 мл.

[0121] Коллоидные дисперсионные системы, такие как макромолекулярные комплексы, нанокапсулы, микросферы, гранулы и системы на основе липидов, включая эмульсии типа "масло в воде", мицеллы, смешанные мицеллы и липосомы, могут использоваться в качестве средств доставки конструкций для RNAi LPA по настоящему изобретению. Коммерчески доступные жировые эмульсии, которые подходят для доставки нуклеиновых кислот по настоящему изобретению, включают Intralipid® (Baxter International Inc.), Liposyn® (Abbott Pharmaceuticals), Liposyn®II (Hospira), Liposyn®III (Hospira), Nutrilipid (B. Braun Medical Inc.) и другие аналогичные липидные эмульсии. Предпочтительной коллоидной системой для применения в качестве средства доставки in vivo является липосома (т. е. искусственная мембранная везикула). Конструкции для RNAi LPA могут быть инкапсулированы внутри липосом или могут образовывать комплексы с ними, в частности, с катионными липосомами. В качестве альтернативы конструкции для RNAi LPA могут образовывать комплексы с липидами, в частности с катионными липидами. Подходящие липиды и липосомы включают нейтральные (например, диолеоилфосфатидилэтаноламин (DOPE), димиристоилфосфатидилхолин (DMPC) и дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), дистеароилфосфатидилхолин), отрицательно заряженные (например, димиристоилфосфатидилглицерин (DMPG)) и катионные (например, диолеоилтетраметиламинопропил (DOTAP) и диолеоилфосфатидилэтаноламин (DOTMA)). Получение и применение таких коллоидных дисперсных систем хорошо известно из уровня техники. Иллюстративные составы также раскрыты в патенте США № 5981505; патенте США № 6217900; патенте США № 6383512; патенте США № 5783565; патенте США № 7202227; патенте США № 6379965; патенте США № 6127170; патенте США № 5837533; патенте США № 6747014 и WO03/093449.

[0122] В некоторых вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA полностью инкапсулированы в липидный состав, например, с образованием SNALP или других частиц типа "нуклеиновая кислота-липид". Используемый в данном документе

термин "SNALP" относится к стабильной частице типа "нуклеиновая кислота-липид". Как правило, SNALP содержат катионный липид, некатионный липид и липид, который предотвращает агрегацию частиц (например, конъюгат PEG-липид). SNALP исключительно применимы для системных применений, поскольку они демонстрируют длительное время жизни в кровотоке после внутривенной инъекции и накапливаются в дистальных участках (например, участках, физически отделенных от участка введения). Частицы типа "нуклеиновая кислота-липид" обычно имеют средний диаметр, составляющий от приблизительно 50 нм до приблизительно 150 нм, от приблизительно 60 нм до приблизительно 130 нм, от приблизительно 70 нм до приблизительно 110 нм или от приблизительно 70 нм до приблизительно 90 нм, и по сути являются нетоксичными. Кроме того, в случае присутствия нуклеиновых кислот в частицах типа "нуклеиновая кислота-липид" в водном растворе они являются устойчивыми к разрушению под действием нуклеазы. Частицы типа "нуклеиновая кислота-липид" и способ их получения раскрыты, например, в патентах США №№ 5976567; 5981501; 6534484; 6586410; 6815432 и публикации согласно PCT № WO 96/40964.

[0123] Фармацевтические композиции, содержащие конструкцию для RNAi LPA, подходящие для инъекционного применения, включают, например, стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для экстемпорального получения стерильных инъекционных растворов или дисперсий. Как правило, данные препараты являются стерильными и жидкими до такой степени, что они способны легко проходить через иглу при введении. Препараты должны быть стабильными в условиях изготовления и хранения и должны предохраняться от загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Подходящие растворители или дисперсионные среды могут содержать, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль и т. п.), их подходящие смеси и растительные масла. Надлежащая текучесть может поддерживаться, например, благодаря использованию покрытия, такого как лецитин, благодаря поддержанию требуемого размера частиц в случае дисперсии и благодаря использованию поверхностно-активных веществ. Предотвращение воздействия микроорганизмов может обеспечиваться различными антибактериальными и противогрибковыми средствами, например, парабенами, хлорбутанолом, фенолом, сорбиновой кислотой, тимеросалом и т. п. Во многих случаях будет предпочтительным включение изотонических средств, например, сахаров или хлорида натрия. Пролонгированное всасывание инъекционных композиций может обеспечиваться благодаря использованию в композициях средств, замедляющих всасывание, например, моностеарата алюминия и желатина.

[0124] Стерильные инъекционные растворы могут быть получены путем введения активных соединений в соответствующем количестве в растворитель вместе с любыми другими ингредиентами (например, перечисленными выше) по мере необходимости с последующей стерилизующей фильтрацией. Как правило, дисперсии получают путем введения различных стерилизованных активных ингредиентов в стерильную среду-

носитель, которая содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты, например, перечисленные выше. В случае стерильных порошков, предназначенных для получения стерильных инъекционных растворов, предпочтительные способы получения включают методики вакуумной сушки и сублимационной сушки, которые обеспечивают получение порошка активного(активных) ингредиента(ингредиентов) вместе с любым дополнительным требуемым ингредиентом из его предварительно подвергнутого стерилизующей фильтрации раствора.

[0125] Композиции для применения в способах по настоящему изобретению, как правило, могут быть составлены в нейтральной или солевой форме. Фармацевтически приемлемые соли включают, например, соли присоединения кислоты (образованные со свободными аминогруппами), полученные из неорганических кислот (например, хлористоводородной или фосфорной кислот) или из органических кислот (например, уксусной, щавелевой, винной, миндальной и т. п.). Соли, образованные со свободными карбоксильными группами, также могут быть получены из неорганических оснований (например, гидроксидов натрия, калия, аммония, кальция или трехвалентного железа) или из органических оснований (например, изопропиламина, триметиламина, гистидина, прокаина и т. п.). Натриевые соли конструкций для RNAi LPA особенно применимы для терапевтического введения субъектам-людям. Таким образом, в определенных предпочтительных вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA, в частности олпасиран, находятся в форме натриевой соли. В других вариантах осуществления конструкции для RNAi LPA (например, олпасиран) находятся в форме калиевой соли.

[0126] Например, для парентерального введения в водном растворе раствор обычно является в достаточной степени забуференным, а жидкому разбавителю сначала придают изотоничность, например, с помощью достаточного количества физиологического раствора или глюкозы. Такие водные растворы можно использовать, например, для внутривенного, внутримышечного, подкожного и внутрибрюшинного введения. Предпочтительно используют стерильные водные среды, известные специалистам в данной области, в частности в связи с настоящим изобретением. В качестве иллюстрации однократную дозу можно растворять в 1 мл изотонического раствора NaCl и либо добавлять к 1000 мл жидкости для гиподермоклиза, либо вводить путем инъекции в предполагаемое место инфузии или инъекции (см., например, "Remington′s Pharmaceutical Sciences" 15th Edition, стр. 1035-1038 и 1570-1580). Для введения человеку препараты должны соответствовать стандартам стерильности, пирогенности, общей безопасности и чистоты, как того требуют стандарты FDA. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция для применения в способах по настоящему изобретению содержит стерильный физиологический раствор и конструкцию для RNAi LPA (например, олпасиран), описанную в данном документе, или состоит из них. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция для применения в способах по настоящему изобретению содержит конструкцию для RNAi LPA (например, олпасиран), описанную в данном документе, и стерильную воду (например, воду для инъекций, WFI) или состоит

из них. В еще одних вариантах осуществления фармацевтическая композиция для применения в способах по настоящему изобретению содержит конструкцию для RNAi LPA (например, олпасиран), описанную в данном документе, и фосфатно-солевой буфер (PBS) или состоит из них.

[0127] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, применимая для лечения, купирования, предупреждения или снижения риска сердечно-сосудистого заболевания в соответствии со способами по настоящему изобретению, содержит эффективное количество конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), калий-фосфатный буфер и хлорид натрия. В некоторых таких вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 10 мг/мл до приблизительно 200 мг/мл конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), от приблизительно 5 мМ до приблизительно 30 мМ фосфата калия и от приблизительно 20 мМ до приблизительно 160 мМ хлорида натрия. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 65 мг/мл до приблизительно 85 мг/мл конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), от приблизительно 15 мМ до приблизительно 25 мМ фосфата калия и от приблизительно 70 мМ до приблизительно 90 мМ хлорида натрия. В еще одних вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит от приблизительно 140 мг/мл до приблизительно 160 мг/мл конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), от приблизительно 15 мМ до приблизительно 25 мМ фосфата калия и от приблизительно 30 мМ до приблизительно 50 мМ хлорида натрия. Значение pH любой из этих фармацевтических композиций может находиться в диапазоне от приблизительно 6,4 до приблизительно 7,2 (например, pH приблизительно 6,4, приблизительно 6,6, приблизительно 6,8, приблизительно 7,0 или приблизительно 7,2).

[0128] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция для введения в соответствии со способами по настоящему изобретению содержит приблизительно 10 мг/мл конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), от приблизительно 5 мМ до приблизительно 15 мМ фосфата калия и от приблизительно 135 мМ до приблизительно 155 мМ хлорида натрия при pH 6,8±0,2. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 10 мг/мл конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), приблизительно 10 мМ фосфата калия и приблизительно 145 мМ хлорида натрия при pH 6,8. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция для введения в соответствии со способами по настоящему изобретению содержит приблизительно 75 мг/мл конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), от приблизительно 15 мМ до приблизительно 25 мМ фосфата калия и от приблизительно 70 мМ до приблизительно 90 мМ хлорида натрия при pH 6,8±0,2. В одном таком варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 75 мг/мл конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), приблизительно 20 мМ фосфата калия и приблизительно 80 мМ хлорида натрия при pH 6,8. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция для

введения в соответствии со способами по настоящему изобретению содержит приблизительно 150 мг/мл конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), от приблизительно 15 мМ до приблизительно 25 мМ фосфата калия и от приблизительно 30 мМ до приблизительно 50 мМ хлорида натрия при pH 6,8±0,2. В одном конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит приблизительно 150 мг/мл конструкции для RNAi LPA (например, олпасирана), приблизительно 20 мМ фосфата калия и приблизительно 40 мМ хлорида натрия при pH 6,8.

[0129] Любая из описанных в данном документе конструкций для RNAi LPA может быть включена в любую из фармацевтических композиций, описанных выше, и введена пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению. В определенных вариантах осуществления конструкция для RNAi LPA, включенная в любую из фармацевтических композиций, описанных выше, и вводимая пациенту в соответствии со способами по настоящему изобретению, представляет собой олпасиран.

[0130] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции по настоящему изобретению упаковывают с устройством для введения или хранят внутри устройства для введения, такого как любое из описанных выше инъекционных устройств (например, предварительно заполненные шприцы, автоинъекторы, инъекционные помпы, нательные инъекторы и шприцы-ручки для инъекций). Устройства для введения аэрозольных или порошковых составов включают без ограничения ингаляторы, инсуффляторы, аспираторы и т. п. Таким образом, настоящее изобретение включает устройства для введения, содержащие фармацевтическую композицию, описанную в данном документе, для лечения или предупреждения одного или нескольких заболеваний или нарушений, описанных в данном документе.

[0131] Следующие примеры, в том числе проведенные эксперименты и достигнутые результаты, представлены только для иллюстративных целей и не должны истолковываться как ограничивающие объем прилагаемой формулы изобретения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование фазы 1 с однократными возрастающими дозами для оценки безопасности, переносимости, фармакокинетики и фармакодинамики олпасирана у субъектов с повышенным уровнем липопротеина (a) в плазме крови

[0132] Менделевские и эпидемиологические рандомизированные исследования недавно позволили установить, что липопротеин (a) (Lp(a)) является значительным причинным фактором риска инфаркта миокарда и других атеросклеротических осложнений. В настоящее время нет одобренных лекарственных препаратов, которые селективно нацеливаются на Lp(a) и демонстрировали снижение степени тяжести неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы. Олпасиран (также известный как AMG 890) представляет собой siRNA, предназначенную для снижения продуцирования Lp(a) путем нацеливания на мРНК, транскрибируемую с гена LPA.

Структура олпасирана показана на фигуре 1.

[0133] Это исследование фазы 1 представляло собой рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование с однократными возрастающими дозами на субъектах с повышенным уровнем Lp(a) в плазме крови, которое проводилось в 8 центрах в США и Австралии. Было запланировано приблизительно 80 субъектов для включения в 9 когорт с однократными возрастающими дозами; в каждой когорте субъектов рандомизировали в соотношении 3:1 для получения олпасирана или плацебо.

[0134] Соответствующими критериям включения субъектами были женщины без репродуктивного потенциала и мужчины в возрасте от 18 до 60 лет включительно для когорт 1-5 и в возрасте от 18 до 65 лет включительно для когорт 6-9. Для когорт 1-5 значения концентрации Lp(a) в плазме крови составляли ≥ 70 нмоль/л и ≤ 199 нмоль/л при скрининге; для когорт 6-9 значения концентрации Lp(a) в плазме крови составляли ≥ 200 нмоль/л при скрининге; для когорт 6-9 по меньшей мере 6 субъектов в каждой когорте принимали статины в стабильной дозе в течение по меньшей мере 6 недель на момент включения. Субъекты не имели каких-либо клинически значимых отклонений в медицинском анамнезе на момент рандомизации.

[0135] После предоставления информированного согласия субъектов подвергали скринингу в отношении соответствия критериям включения в течение 28 дней и допускали в исследовательский центр в день -1. После завершения процедур до введения доз субъекты получали свою дозу исследуемого лекарственного средства (олпасирана или плацебо). Субъекты в когортах 1-5 оставались в исследовательском центре с дня -1 по день 4 и возвращались в учреждение для проведения оценок до окончания исследования. Субъекты получали однократные подкожные дозы 3 мг, 9 мг, 30 мг, 75 мг и 225 мг для когорт 1-5 соответственно и 9 мг, 75 мг, 225 мг и 675 мг для когорт 6-9 соответственно (см. таблицу 1 ниже)).

Таблица 1. Когорты с введением доз в исследовании с однократными возрастающими дозами

Когорта	**Количество субъектов**	**Лечение**
1[a]	6	3 мг олпасирана
	2	Плацебо
2[a]	6	9 мг олпасирана
	2	Плацебо
3[a]	6	30 мг олпасирана
	2	Плацебо
4[a]	6	75 мг олпасирана
	2	Плацебо
5[a]	6	225 мг олпасирана
	2	Плацебо

Когорта	Количество субъектов	Лечение
6[b]	9	9 мг олпасирана
	3	Плацебо
7[b]	9	75 мг олпасирана
	3	Плацебо
8[b]	6	225 мг олпасирана
	2	Плацебо
9[b]	6	675 мг олпасирана
	2	Плацебо

[a] Субъекты с уровнем Lp(a) ≥ 70 нмоль/л и ≤ 199 нмоль/л в плазме крови при скрининге

[b] Субъекты с уровнем Lp(a) ≥ 200 нмоль/л в плазме крови при скрининге

[0136] В когортах 1-5 и в когорте 9 первых 2 включенных субъектов в каждой когорте рандомизировали для получения либо олпасирана, либо плацебо в соотношении 1:1 (сентинельная пара), и им вводили дозу в слепом режиме в один и тот же день в одном и том же исследовательском центре. Если исследователь считал это безопасным и не менее чем через 24 часа после введения дозы сентинельной паре, такую же дозу вводили остальным субъектам когорты. Включение в когорты 1-5 было поэтапным. Последующие когорты получали дозу после того, как комитет по анализу уровня дозы (DLRT) устанавливал, что схема введения доз в предыдущей когорте является безопасной и достаточно хорошо переносимой на основании имеющихся данных по безопасности до дня 15 исследования для всех субъектов. Включение в когорты 5-7 начинали после того, как схема введения доз в когорте 4 была признана DLRT безопасной и достаточно хорошо переносимой на основании имеющихся данных по безопасности до дня 15 исследования. Субъекты возвращались в учреждение для оценки в конце лечения в день 113 для когорт 1 и 2 и в день 225 для когорт 3-7. Субъекты должны были возвращаться для последующего наблюдения до тех пор, пока концентрация Lp(a) не составляла по меньшей мере 80% от исходного уровня (примерно один раз в 2 недели для когорт 1 и 2 и один раз в месяц для когорт 3-7). Образцы крови и мочи собирали на протяжении всего исследования для оценки фармакокинетики (PK) и фармакодинамики (PD) олпасирана. Также регулярно оценивали показатели безопасности.

[0137] Первичными конечными точками были безопасность и переносимость, измеряемые посредством нежелательных явлений, возникающих в ходе лечения (TEAE), показателей, связанных с лабораторными аналитами, позволяющими оценить безопасность, показателей жизненно-важных функций и электрокардиограмм (ECG). Вторичными конечными точками были PK-параметры олпасирана, включая без ограничения максимальную наблюдаемую концентрацию (C_{max}), время достижения максимальной наблюдаемой концентрации (t_{max}) и площадь под кривой зависимости

концентрации от времени (AUC), и PD-параметры, включая изменение и процентное изменение уровней Lp(a) в плазме крови при каждом запланированном визите. Исходные значения уровня Lp(a) определяли как среднее значение при скрининге и в день 1 до введения дозы. Если по какой-либо причине было доступно только одно значение, то это значение использовали в качестве исходного уровня. Исследовательские конечные точки включали процентное изменение уровней холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) и общего аполипопротеина B (ApoB) при каждом запланированном визите.

[0138] В исследование было включено 64 субъекта, и им вводили олпасиран или плацебо (когорты 1-5: олпасиран, n=30, дозы: 3 мг, 9 мг, 30 мг, 75 мг, 225 мг; плацебо, n=10; когорты 6-7: олпасиран, n=18, дозы: 9 мг и 75 мг; плацебо, n=6). Для субъектов, которым вводили олпасиран в когортах 1-5 (n=30), средний (SD) возраст субъектов составлял 43,9 (13,5) года, 30,0% были женщинами, 63,3% были испанского или латиноамериканского происхождения, 30,0% были чернокожими или афроамериканцами, и 70,0% были белыми. Для субъектов, которым вводили плацебо в когортах 1-5 (n=10), средний (SD) возраст субъектов составлял 46,3 (8,5) года, 30,0% были женщинами, 50,0% были испанского или латиноамериканского происхождения, 30,0% были чернокожими или афроамериканцами, и 70,0% были белыми. Для субъектов, которым вводили олпасиран в когортах 6 и 7 (n=18), средний (SD) возраст субъектов составлял 52,7 (9,4) года, 33,3% были женщинами, 27,8% были испанского или латиноамериканского происхождения, и 88,9% были белыми. Для субъектов, которым вводили плацебо в когортах 6 и 7 (n=6), средний (SD) возраст субъектов составлял 57,8 (5,8) года, 66,7% были женщинами, 33,3% были испанского или латиноамериканского происхождения, и 83,3% были белыми. 67% всех субъектов, включенных в когорты 6 и 7 (n=24), принимали статины на исходном уровне. У субъектов было мало сопутствующих заболеваний. В когортах 1-5 не применялись лекарственные препараты, регулирующие уровень липидов, но значительная доля субъектов в когортах 6 и 7 принимала статины и/или эзетимиб. Медианные значения (Q1, Q3) исходных концентраций Lp(a) составляли 124 нмоль/л (104, 137) у субъектов, получающих плацебо в когортах 1-5, и 122 нмоль/л (97, 146) у субъектов, получающих олпасиран в когортах 1-5. Медианные значения (Q1, Q3) исходных концентраций Lp(a) составляли 272 нмоль/л (233, 307) у субъектов, получающих плацебо в когортах 6 и 7, и 253 нмоль/л (224, 334) у субъектов, получающих олпасиран в когортах 6 и 7.

[0139] Олпасиран, по-видимому, переносится хорошо. Серьезных нежелательных явлений, связанных с лечением, не было. У одного субъекта, получавшего плацебо, возникло нежелательное явление в виде серьезной боли, не связанной с сердцем, в грудной клетке, которая была сочтена не связанной с лечением. В когортах 1-5 наиболее частым TEAE была инфекция верхних дыхательных путей (10% плацебо, 13% олпасиран). См. таблицу 2 ниже. В когортах 6-7 наиболее частыми TEAE были головная боль (50% плацебо, 28% олпасиран) и инфекция верхних дыхательных путей (17% плацебо, 17% олпасиран) (таблица 2). Только у одного субъекта в исследовании наблюдалась реакция в

участке инъекции. Отсутствовала очевидная зависимость дозы и частоты нежелательных явлений. Клинически значимых изменений тестов печени, параметров, связанных с тромбоцитами или коагуляцией, или почечной функции не наблюдалось.

Таблица 2. Нежелательные явления, возникающие в ходе лечения, в исследовании с однократными возрастающими дозами

	Когорты 1-5 Уровень Lp(a) ≥ 70 и ≤ 199 нмоль/л при скрининге		**Когорты 6-7 Уровень Lp(a) ≥ 200 нмоль/л при скрининге**	
Нежелательные явления (АЕ), n (%)	**Плацебо (N=10)**	**Олпасиран (N=30)**	**Плацебо (N=6)**	**Олпасиран (N=18)**
Любое АЕ	5 (50,0)	12 (40,0)	4 (66,7)	10 (55,6)
Серьезное АЕ	0	0	1 (16,7)	0
АЕ, возникающие у более чем одного субъекта в когортах				
Головная боль	1 (10,0)	0	3 (50,0)	5 (27,8)
Инфекция верхних дыхательных путей	1 (10,0)	4 (13,3)	1 (16,7)	3 (16,7)
Вирусная инфекция верхних дыхательных путей	0	1 (3,3)	0	2 (11,1)
Боль в грудной клетке, не связанная с сердцем	1 (10,0)	1 (3,3)	1 (16,7)	0
Повышенный уровень креатинфосфокиназы в крови	1 (10,0)	1 (3,3)	0	0
Боль в спине	1 (10,0)	1 (3,3)	0	3 (16,7)
Кровоподтек	0	1 (3,3)	0	1 (5,6)
Ссадина кожи	0	1 (3,3)	0	1 (5,6)
Усталость	0	0	1 (16,7)	1 (5,6)
Артралгия	0	1 (3,3)	0	1 (5,6)
Носовое кровотечение	1 (10,0)	1 (3,3)	0	0
АЕ, *представляющие особый интерес*				

Реакция в участке инъекции	0	1 (3,3)	0	0

[0140] Подавление Lp(a) происходило дозозависимым образом. Как показано на фигуре 2, в когортах 1-5 однократные дозы олпасирана эффективно снижали средние уровни Lp(a) относительно исходного уровня на 71-96% (в зависимости от доз) в день 43 и на 80-94% в день 113 (когорты 2-5). В когортах 6 и 7 однократные дозы олпасирана эффективно снижали средние уровни Lp(a) относительно исходного уровня на 75% и 89% в день 43 соответственно и на 61% и 80% в день 113 соответственно (фигура 2). Резкое снижение уровня Lp(a) наблюдалось с дня 15 с максимальным подавлением Lp(a) между днями 43 и 71. Концентрации Lp(a) постепенно восстанавливались, но оставались значительно ниже уровней плацебо в день 225. Однократные дозы, составляющие 9 мг или больше, приводили к снижениям уровня Lp(a), сохраняющимся от 3 до 6 месяцев.

[0141] Фармакокинетические параметры олпасирана в каждой из семи когорт с введением доз показаны в таблице 3 ниже. После введения однократных доз, составляющих 3, 9, 30, 75 и 225 мг (когорты 1-5), олпасиран быстро всасывался, при этом среднее геометрическое значение C_{max} достигалось в течение 7,5 часов после введения дозы. Среднее геометрическое значение периода полувыведения ($t_{1/2}$) находилось в диапазоне от 3 до 8 часов, при этом подавляющее большинство олпасирана выводилось из сыворотки крови в течение 2-3 дней. Системные воздействия повышались приблизительно пропорционально дозе при дозах до 225 мг. AUC олпасирана у субъектов с исходным уровнем Lp(a) $\geq$ 200 нмоль/л (когорты 6 и 7) была на примерно 18-33% ниже, чем у субъектов с исходным уровнем Lp(a) от $\geq$ 70 до $\leq$ 199 нмоль/л (когорты 2 и 4).

Таблица 3. Фармакокинетические параметры олпасирана в исследовании с однократными возрастающими дозами

Доза	**N**	**t_{max} (ч)**	**C_{max} (нг/мл)**	**DN-C_{max} (нг/мл/ мг)**	**AUC_{inf} (ч•нг/мл)**	**DN-AUC_{inf} (ч•нг/мл/ мг)**	***$t_{1/2,z}$ (ч)**
3 мг (когорта 1)	6	4,5 (1,0-1340)	11,7 (11,8, 19%)	3,89 (3,95, 19%)	172[a] (172, NR%)	57,3[a] (57,3, NR%)	7,72[a] (10,2, NR%)
9 мг (когорта 2)	6	3,0 (3,0-6,0)	32,7 (36,1, 55%)	3,63 (4,01, 55%)	408[b] (427, 34%)	45,3[b] (47,5, 34%)	2,83[b] (2,85, 16%)
9 мг (когорта 6)	9	3,0 (1,0-9,0)	15,2 (16,8, 41%)	1,69 (1,87, 41%)	272[c] (285, 28%)	30,2[c] (31,6, 28%)	5,31[c] (5,71, 46%)

30 мг (когорта 3)	6	7,5 (1,0-9,0)	71,6 (74,9, 33%)	2,39 (2,50, 33%)	1030[e] (1070, 31%)	33,4[e] (35,7, 31%)	3,44[e] (3,53, 24%)
75 мг (когорта 4)	6	4,5 (0,17-9,0)	218 (252, 61%)	2,91 (3,36, 61%)	2500[d] (2520, 17%)	33,3[d] (33,6, 17%)	3,63[d] (3,68, 21%)
75 мг (когорта 7)	9	6,0 (3,0-24)	97,7 (111, 51%)	1,30 (1,48, 51%)	2040[b] (2050, 11%)	27,2[b] (27,4, 11%)	5,72[b] (6,22, 43%)
225 мг (когорта 5)	6	6,0 (1,0-12)	385 (421, 53%)	1,71 (1,87, 53%)	9380[b] (9600, 27%)	41,7[b] (42,7, 27%)	6,69 (6,72, 11%)

Данные представлены как среднее геометрическое значение (среднее значение, CV%) для всех фармакокинетических параметров, за исключением t_{max}, которое представлено как медианное значение (диапазон). Значения представлены с точностью до 3 значащих цифр, за исключением t_{max} и CV%, которые представлены в виде двух значащих цифр и одного знака после запятой соответственно.

* Значения $t_{½,z}$ для группы с дозой 225 мг представляют бета-фазу периода полувыведения; для групп с другими дозами сообщается о гамма-фазе периода полувыведения.

[a]N=2; [b]N=4; [c]N=6; [d]N=3; [e]N=5

t_{max}: время до достижения C_{max}; C_{max}: максимальная наблюдаемая концентрация лекарственного средства; DN: нормализованный по дозе; AUC_{inf}: площадь под кривой зависимости концентрации в плазме крови от времени от нуля до бесконечности; $t_{½,z}$: конечный период полувыведения

[0142] Результаты исследования фазы 1 демонстрируют, что у взрослых субъектов с повышенным уровнем Lp(a) лечение однократной дозой олпасирана хорошо переносилось и значительно снижало уровень Lp(a) с наблюдаемыми примерными значениями медианного процентного снижения на > 90% и сохранением эффектов на протяжении от 3 до 6 месяцев при дозах 9 мг или выше. Дозы 75 и 225 мг в группе с высоким уровнем Lp(a) (Lp(a) от ≥ 70 до ≤ 199 нмоль/л) были почти сопоставимы в отношении влияния на концентрацию Lp(a); сходным образом были почти сопоставимы дозы 9 и 30 мг. Однако дозы 9 и 75 мг в группе с очень высоким уровнем Lp(a) (Lp(a) ≥ 200 нмоль/л) демонстрировали снижение процента подавления Lp(a) относительно исходного уровня по сравнению с теми же дозами в когортах с высоким уровнем Lp(a).

[0143] Интенсивность и продолжительность подавления уровней Lp(a),

наблюдаемые при этих однократных низких дозах олпасирана, были значительно лучше, чем ожидалось, исходя из предполагаемых доз для человека, основанных на исследованиях олпасирана у яванских макаков. На основании данных по эффективности олпасирана у яванских макаков (см., например, пример 18 в WO 2017/059223) было предсказано, что предполагаемая доза для человека, составляющая 75 мг, будет снижать уровни Lp(a) на приблизительно 80% в течение по меньшей мере одного месяца. Примечательно, что, как описано выше, однократные дозы, составляющие всего 9 мг олпасирана, снижали уровни Lp(a) у субъектов-людей на более чем 80% в течение более чем 3 месяцев. Однократные дозы олпасирана, составляющие 75 мг и 225 мг, снижали уровни Lp(a) на более чем 80% в течение более чем шести месяцев. Таким образом, олпасиран можно вводить пациентам-людям, нуждающимся в снижении уровня Lp(a), в более низких дозах и с более длительными интервалами между введениями доз, в том числе до одного раза в 6 месяцев. Такие схемы введения доз имеют ряд различных преимуществ, таких как улучшение соблюдения пациентом режима, снижение стоимости лекарственного препарата и уменьшение объема и количества инъекций.

Пример 2. Модель PK/PD олпасирана для разработки схем введения доз для оптимального снижения уровня Lp(a)

[0144] Разрабатывали математическую модель для определения характеристик фармакокинетики олпасирана и подавления Lp(a) у здоровых добровольцев с повышенным уровнем Lp(a) в плазме крови (от $\geq$ 70 нмоль/л до $<$ 200 нмоль/л для когорт 1-5, $\geq$ 200 нмоль/л для когорт 6-7) на основании данных фазы 1, описанных в примере 1. Фармакокинетику (PK) олпасирана описывали с использованием модели PK с абсорбцией первого порядка из участка подкожного введения в кровоток, распределением в печень посредством захвата асиалогликопротеиновым рецептором (ASGPR), рециркуляцией олпасирана обратно в кровоток из печени и выведением посредством разрушения из системного кровотока и печени. Было обнаружено, что воздействие олпасирана в сыворотке крови коррелирует с исходным уровнем Lp(a). Таким образом, в модель также включали функцию для модулирования биодоступности олпасирана в зависимости от исходного уровня Lp(a). Подавление Lp(a) относительно исходного уровня описывали с использованием модели PK/PD, при этом предсказанные моделью концентрации олпасирана в печени ускоряли разрушение мРНК LPA, что приводило к снижению продуцирования и подавлению Lp(a) на время достаточных концентраций олпасирана в печени. Взаимосвязь между концентрацией олпасирана в печени и разрушением мРНК LPA моделировали с использованием модели E_{max}. Вывод об изменениях значений концентрации мРНК LPA делали на основании степени подавления Lp(a). Значения скорости синтеза и разрушения Lp(a) определялись исходными уровнями Lp(a), при этом более высокие исходные значения ассоциированы с большими значениями скорости продуцирования.

[0145] Следующие допущения делали в ходе разработки модели и для симуляций клинической схемы введения доз:

a) симуляции для выбора дозы для фазы 2 проводили для целевой популяции с исходными уровнями Lp(a) ≥ 150 нмоль/л, однако параметры модели оценивали для субъектов с исходными значениями Lp(a) от ≥ 70 нмоль/л до < 200 нмоль/л и ≥ 200 нмоль/л;

b) предполагалось, что меж- и внутрисубъектная вариабельность после введения многократных доз в случае популяции фазы 2 была такой же, как и оцененная в случае субъектов исследования фазы 1, и

c) продолжительность подавления Lp(a) основана на предсказанном моделью PK/PD периоде полувыведения олпасирана в печени, а экстраполяция ответа после введения многократных доз основана на наблюдаемом подавлении в исследовании фазы 1 и накоплении эффекта в конце интервала между введениями доз.

[0146] Эта модель была способна адекватно предсказать наблюдаемое значительное снижение воздействия олпасирана у субъектов с более высоким исходным уровнем Lp(a) (≥ 150 нмоль/л), что свидетельствует о том, что более высокие дозы олпасирана могут быть необходимы для достижения целевого подавления Lp(a) в данной популяции пациентов. Симуляции этой модели выполняли для изучения схем введения доз Q3M и Q6M и экстраполяции прогнозируемого подавления Lp(a) после введения многократных доз олпасирана. Для каждой предложенной схемы введения доз рассчитывали долю субъектов, достигших целевого уровня подавления Lp(a) (снижение на ≥ 80% относительно исходного уровня), и долю субъектов, достигших абсолютных значений уровня Lp(a) ≤ 50 нмоль/л в конце интервала между введениями доз.

[0147] На фигурах 3A-3F показаны прогностические уровни Lp(a) в виде процента от исходного уровня при введении доз олпасирана Q3M в дозах, составляющих 10 мг, 30 мг, 50 мг, 75 мг, 150 мг и 225 мг, для субъектов с исходными уровнями Lp(a) ≥ 150 нмоль/л. Модель позволяет предсказать, что дозы 10 мг или выше будут подавлять уровни Lp(a) на 80% или больше в течение 3-месячного интервала между введениями доз. В приведенной ниже таблице 4 показана прогнозируемая доля субъектов, достигших снижения уровней Lp(a) на по меньшей мере 80% относительно исходного уровня при применении различных доз олпасирана, вводимых один раз в 3 месяца (введение доз Q3M) в каждом интервале между введениями доз, тогда как в таблице 5 показана прогнозируемая доля субъектов, достигших абсолютных уровней Lp(a), составляющих 50 нмоль/л или меньше, при тех же схемах введения доз олпасирана.

Таблица 4. Прогнозируемая доля субъектов, достигающих снижения уровня Lp(a) на 80% или больше при введении доз олпасирана Q3M

	Прогностический % субъектов со снижением уровня Lp(a) на ≥ 80% Медианное значение (95% интервал прогнозирования) из более чем 200 симулированных испытаний*			
Доза (мг)	**3 месяца**	**6 месяцев**	**9 месяцев**	**12 месяцев**

	Прогностический % субъектов со снижением уровня Lp(a) на ≥ 80% Медианное значение (95% интервал прогнозирования) из более чем 200 симулированных испытаний*			
Доза (мг)	**3 месяца**	**6 месяцев**	**9 месяцев**	**12 месяцев**
4	8 (2-14)	10 (4-20)	12 (4-22)	12 (6-20)
6	16 (6-24)	20 (14-30)	22 (12-30)	22 (14-32)
9	28 (16-38)	34 (24-44)	36 (24-46)	38 (28-48)
10	32 (18-40)	40 (26-50)	42 (30-54)	42 (32-54)
30	74 (62-82)	78 (68-86)	80 (68-86)	78 (70-88)
50	86 (78-92)	88 (80-94)	90 (82-96)	90 (82-96)
75	92 (84-96)	92 (88-98)	94 (88-100)	94 (88-100)
150	96 (92-100)	96 (92-100)	98 (92-100)	98 (92-100)
225	98 (94-100)	98 (94-100)	98 (94-100)	98 (94-100)

*50 субъектов в испытании

Таблица 5. Прогнозируемая доля субъектов, достигающих абсолютных уровней Lp(a), составляющих 50 нмоль/л или меньше, при введении доз олпасирана Q3M

	Прогностический % субъектов, достигающих абсолютных уровней Lp(a), составляющих ≤ 50 нмоль/л Медианное значение (95% интервал прогнозирования) из более чем 200 симулированных испытаний*			
Доза (мг)	**3 месяца**	**6 месяцев**	**9 месяцев**	**12 месяцев**
4	10 (2-16)	14 (6-22)	14 (6-22)	14 (6-22)
6	18 (10-26)	22 (12-32)	24 (16-32)	24 (14-34)
9	28 (20-38)	36 (24-46)	36 (26-48)	36 (26-50)
10	32 (22-42)	38 (28-50)	40 (30-52)	41 (30-52)
30	70 (58-78)	74 (62-84)	76 (66-84)	76 (64-84)
50	82 (72-90)	84 (76-92)	86 (76-94)	86 (76-94)
75	88 (80-96)	90 (82-98)	90 (84-98)	90 (84-96)
150	94 (88-98)	96 (90-100)	96 (90-100)	96 (90-100)
225	96 (92-100)	96 (92-100)	96 (92-100)	96 (92-100)

*50 субъектов в испытании

[0148] Симуляции модели, основанные на данных фазы 1, позволяют предсказать, что доза, составляющая 10 мг олпасирана, вводимая ежеквартально (Q3M), приведет у

приблизительно 42% субъектов с исходными уровнями Lp(a) ≥ 150 нмоль/л к достижению снижения уровня Lp(a) на по меньшей мере 80% относительно исходного уровня к месяцу 12. Прогнозируется, что дозы, составляющие 75 мг олпасирана или больше, вводимые ежеквартально, обеспечат подавление Lp(a) на 80% или больше у по меньшей мере 90% субъектов с исходными уровнями Lp(a) ≥ 150 нмоль/л уже через 3 месяца после получения однократной дозы олпасирана. Было предсказано, что сходные доли субъектов достигнут абсолютных значений уровня Lp(a), составляющих 50 нмоль/л или меньше, при тех же схемах введения доз.

[0149] Также проводили симуляции модели схемы введения доз олпасирана два раза в год (Q6M). На фигурах 4A-4F показаны прогностические уровни Lp(a) в виде процента от исходного уровня при введении доз олпасирана Q6M в дозах, составляющих 10 мг, 75 мг, 150 мг, 225 мг, 450 мг и 675 мг, для субъектов с исходными уровнями Lp(a) ≥ 150 нмоль/л. Модель позволяет предсказать, что дозы, составляющие по меньшей мере 75 мг, будут подавлять уровни Lp(a) на 80% или больше в течение 6-месячного интервала между введениями доз. В приведенной ниже таблице 6 показана прогнозируемая доля субъектов, достигших снижения уровней Lp(a) на по меньшей мере 80% относительно исходного уровня при применении различных доз олпасирана, вводимых один раз в 6 месяца (введение доз Q6M) в каждом интервале между введениями доз, тогда как в таблице 7 показана прогнозируемая доля субъектов, достигших абсолютных уровней Lp(a), составляющих 50 нмоль/л или меньше, при тех же схемах введения доз олпасирана.

Таблица 6. Прогнозируемая доля субъектов, достигающих снижения уровня Lp(a) на 80% или больше при введении доз олпасирана Q6M

	Прогностический % субъектов со снижением уровня Lp(a) на ≥ 80% Медианное значение (95% интервал прогнозирования) из более чем 200 симулированных испытаний*			
Доза (мг)	**12 месяцев**	**24 месяца**	**36 месяцев**	**48 месяцев**
10	4 (2-8)	4 (2-9)	4 (2-8)	4 (2-8)
30	20 (12-30)	20 (12-28)	20 (12-30)	20 (12-30)
50	34 (24-46)	36 (26-44)	34 (24-46)	34 (26-44)
75	48 (36-60)	46 (36-60)	46 (36-60)	47 (36-58)
150	66 (56-76)	67 (56-78)	68 (56-78)	66 (58-78)
225	76 (66-86)	76 (66-86)	76 (68-86)	76 (68-86)
300	82 (72-90)	82 (72-90)	82 (72-90)	82 (72-90)
450	88 (78-94)	88 (78-94)	88 (78-94)	88 (78-94)
675	92 (84-98)	92 (84-98)	92 (84-98)	92 (84-98)

*50 субъектов в испытании

Таблица 7. Прогнозируемая доля субъектов, достигающих абсолютных уровней Lp(a), составляющих 50 нмоль/л или меньше, при введении доз олпасирана Q6M

	Прогностический % субъектов, достигающих абсолютных уровней Lp(a), составляющих ≤ 50 нмоль/л Медианное значение (95% интервал прогнозирования) из более чем 200 симулированных испытаний*			
Доза (мг)	**12 месяцев**	**24 месяца**	**36 месяцев**	**48 месяцев**
10	4 (2-10)	4 (2-10)	5 (2-10)	4 (2-10)
30	22 (12-30)	22 (12-30)	22 (14-32)	22 (14-32)
50	34 (24-46)	34 (24-46)	34 (24-46)	34 (24-46)
75	46 (36-58)	46 (34-58)	46 (36-56)	46 (36-58)
150	64 (52-74)	64 (54-74)	64 (52-74)	64 (54-74)
225	72 (62-84)	74 (64-82)	72 (64-82)	74 (62-82)
300	78 (68-86)	78 (68-88)	78 (70-88)	78 (68-88)
450	84 (76-92)	84 (76-92)	84 (76-94)	84 (76-92)
675	88 (80-96)	88 (80-96)	88 (82-96)	88 (80-96)

*50 субъектов в испытании

[0150] Данные моделирования демонстрируют, что доза, составляющая по меньшей мере 75 мг олпасирана, вводимая один раз в шесть месяцев (Q6M), согласно прогнозам, снижает уровни Lp(a) на по меньшей мере 80% относительно исходного уровня у приблизительно 50% субъектов с исходными уровнями Lp(a) ≥ 150 нмоль/л после введения всего двух доз (т. е. через 12 месяцев лечения). Также, согласно прогнозам, у такой же доли пациентов будут достигнуты абсолютные уровни Lp(a) менее 50 нмоль/л при введении 75 мг олпасирана один раз в шесть месяцев через 1 год лечения. Согласно прогнозам, доза 225 мг олпасирана, вводимая один раз в шесть месяцев, будет снижать уровни Lp(a) на по меньшей мере 80% у приблизительно 76% субъектов через 1 год лечения, тогда как, согласно прогнозам, дозы 450 мг или больше, вводимые один раз в шесть месяцев, будут снижать уровни Lp(a) с превышением данного порога у приблизительно 90% субъектов через 1 год лечения.

[0151] Исходя из недавних исследований с менделевской рандомизацией, ожидается, что снижения уровней Lp(a) на 80% или больше относительно исходного уровня приведут к клинически значимой пользе для сердечно-сосудистой системы у пациентов с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием (Burgess et al., JAMA Cardiol., Vol. 3:619-627, 2018; Lamina et al., JAMA Cardiol., Vol. 4: 575-579, 2019; и Madsen et al., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 40:255-266, 2020). Таким образом, моделирование PK/PD олпасирана было сосредоточено на идентификации схем введения

доз олпасирана, которые могли бы снизить уровни Lp(a) с превышением этого порога. Результаты моделирования и симуляции PK/PD олпасирана, описанные в данном примере, указывают на то, что:

• доза 10 мг, вводимая один раз в 3 месяца или один раз в 12 недель, обеспечивает снижение уровня Lp(a) на ≥ 80% у примерно половины (42%) субъектов с исходными уровнями Lp(a) ≥ 150 нмоль/л к месяцу 12 и обеспечивает медианные значения % снижения уровня Lp(a) относительно исходного уровня, составляющие приблизительно 77%, через 6 и 12 месяцев;

• ожидается, что доза 75 мг, вводимая один раз в 3 месяца или один раз в 12 недель, обеспечит снижение уровня Lp(a) на ≥ 80% относительно исходного уровня при введении 2-3 доз у большинства (94%) субъектов, и у примерно 90% субъектов ожидается достижение абсолютных концентраций Lp(a), составляющих 50 нмоль/л или меньше, при такой схеме введения доз;

• ожидается, что доза 225 мг, вводимая один раз в 3 месяца или один раз в 12 недель, обеспечит ≥ 80% снижение уровня Lp(a) у 98% субъектов и снизит уровни Lp(a) до абсолютной концентрации 50 нмоль/л или меньше у 96% субъектов;

• частота ведения доз один раз в 3 месяца или один раз в 12 недель для доз 10 мг или больше приводит к снижению уровней Lp(a) ниже 20% относительно исходного уровня на протяжении всего 3-месячного интервала между введениями доз у большинства (≥ 90%) субъектов с исходными уровнями Lp(a) 150 нмоль/л или больше, и

• доза 225 мг, вводимая один раз в шесть месяцев или один раз в 24 недели, приведет к медианным снижениям уровней Lp(a) относительно исходного уровня на 88% и к достижению у приблизительно 74% субъектов абсолютных концентраций Lp(a), составляющих 50 нмоль/л или меньше.

Пример 3. Двойное слепое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование фазы 2 для оценки эффективности, безопасности и переносимости олпасирана у субъектов с повышенным уровнем липопротеина (a)

[0152] Основная цель данного исследования фазы 2 состоит в том, чтобы оценить влияние подкожного введения олпасирана один раз в 12 недель (Q12W) по сравнению с плацебо на процентное изменение относительно исходного значения уровней Lp(a) через 36 недель лечения у субъектов с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием и повышенным уровнем Lp(a). Вторичные цели исследования включают оценку влияния олпасирана при подкожном введении Q12W по сравнению с плацебо на процентное изменение относительно исходного значения: (i) уровней Lp(a) через 48 недель лечения, (ii) уровней холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) через 36 и 48 недель лечения и (iii) уровней аполипопротеина B (ApoB) через 36 и 48 недель лечения и определение характеристик фармакокинетических свойств олпасирана. Также оценивают введение олпасирана один раз в 24 недели (Q24W).

[0153] Примерно 240 субъектов рандомизируют в соотношении 1:1:1:1:1, при этом 4 группы лечат олпасираном и 1 группе вводят плацебо. Рандомизацию стратифицируют

посредством скрининга уровня Lp(a) ≤ 200 нмоль/л против > 200 нмоль/л и по региону (Япония против отличных от Японии регионов). Исследуемый период лечения составляет 48 недель с дозами в день 1, неделю 12, неделю 24 и неделю 36. После недели 48 проводят расширенное последующее наблюдение для оценки безопасности без дальнейшего введения доз олпасирана или плацебо в течение ≥ 40 недель, или пока уровень Lp(a) не вернется к 80% от исходного уровня, в зависимости от того, что наступит позднее. Субъекты остаются на стандартном лечении (включая стабильную терапию, изменяющую уровень липидов) в соответствии с их местными рекомендациями в течение периода лечения и расширенного периода последующего наблюдения для оценки безопасности.

[0154] После подписания информированного согласия субъекты вступают в фазу скрининга (до 4 недель), во время которой оценивается соответствие субъектов критериям включения. К субъектам, соответствующим критериям включения, относятся взрослые субъекты в возрасте от 18 до 80 лет с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием и уровнем Lp(a) > 150 нмоль/л во время скрининга. В частности, субъектов включают в исследование, если они соответствуют всем следующим основным критериям включения:

- возраст от 18 до 80 лет
- уровень Lp(a) > 150 нмоль/л во время скрининга по данным центральной лаборатории
- атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание, определяемое исходя из одного из следующих признаков:

o коронарная реваскуляризация с чрескожным коронарным вмешательством (PCI) или аортокоронарным шунтированием (CABG) в анамнезе;

o диагноз ишемической болезни сердца с предшествующим инфарктом миокарда или без него;

o диагноз атеросклеротического цереброваскулярного заболевания или

o диагноз заболевания периферических артерий

- Для субъектов, получающих терапию, изменяющую уровень липидов (не требуется для включения), терапия, изменяющая уровень липидов, включая дозу статинов, должна оставаться стабильной в соответствии с местными рекомендациями в течение ≥ 4 недель до скрининга и во время него.

Субъектов исключают из исследования, если они соответствуют любому из следующих основных критериев исключения:

- тяжелая почечная дисфункция, определяемая как предполагаемая скорость клубочковой фильтрации (eGFR) < 30 мл/мин/1,73 м^2 во время скрининга
- анамнез или клинический признак печеночной дисфункции, определяемой как уровень аспартатаминотрансферазы (AST) или аланинаминотрансферазы (ALT) > 3 × верхняя граница нормы (ULN) или уровень общего билирубина (TBL) > 2 × ULN во время скрининга
- злокачественное новообразование (за исключением немеланомных видов рака

кожи, карциномы шейки матки in-situ, карциномы протоков молочной железы in situ или карциномы предстательной железы 1 стадии) в течение последних 5 лет до дня 1

• неконтролируемая гипертензия в день 1, определяемая как среднее систолическое кровяное давление ≥ 160 мм рт. ст. или среднее диастолическое кровяное давление ≥ 100 мм рт. ст. в покое

• уровень триглицеридов натощак ≥ 400 мг/дл (4,5 ммоль/л) во время скрининга

• диабет 1 типа или плохо контролируемый сахарный диабет 2 типа, определяемый по уровню гликированного гемоглобина (HbA1c) ≥ 8,5% по данным центральной лаборатории при скрининге

[0155] Субъекты, соответствующие критериям включения в исследование, характеризуются исходным уровнем Lp(a) > 150 нмоль/л. Этот порог основан на доступных эпидемиологических данных, демонстрирующих, что уровень Lp(a) >125 нмоль/л считается повышенным относительно общепопуляционных данных (Averna et al., Atheroscler Suppl., Vol. 26:16-24, 2017; Nordestgaard and Langsted, J. Lipid Res., Vol. 57:1953-75, 2016; Ohro-Melander, J Intern Med., Vol. 278:433-46, 2015; Leebmann et al., Circulation, Vol. 128:2567-2576, 2013). Кроме того, исходя из степени снижения абсолютного уровня Lp(a), необходимого для демонстрации соответствующего влияния на неблагоприятные явления со стороны сердечно-сосудистой системы, включенная в исследование популяция должна характеризоваться высоким исходным уровнем Lp(a). Таким образом, критерий включения, представляющий собой уровень Lp(a) > 150 нмоль/л, приводит к включению исследуемой популяции с медианным значением уровня Lp(a), составляющим примерно 200 нмоль/л, и позволяет оценить эффективность и безопасность олпасирана у пациентов с очень высоким уровнем Lp(a).

[0156] Соответствующих критериям включения и включенных в исследование субъектов рандомизируют в соотношении 1:1:1:1:1 в одну из следующих пяти групп лечения, по примерно 48 субъектов в каждой группе:

группа 1: 10 мг олпасирана Q12W

группа 2: 75 мг олпасирана Q12W

группа 3: 225 мг олпасирана Q12W

группа 4: 225 мг олпасирана Q24W

группа 5: плацебо Q12W

Как описано в примере 2, предполагается, что эти схемы введения доз олпасирана будут снижать уровни Lp(a) на по меньшей мере 80% относительно исходного уровня в течение всего интервала между введениями доз (3 месяца или 6 месяцев) у субъектов-людей с исходными уровнями Lp(a) > 150 нмоль/л. Олпасиран вводят посредством подкожной инъекции один раз в 12 недель (группы лечения 1-3) или один раз в 24 недели (группа лечения 4) в дозе 10 мг, 75 мг или 225 мг в зависимости от назначенной группы лечения. Образцы для оценки уровня Lp(a), LDL-C и ApoB в сыворотке крови, а также других клинических лабораторных аналитов собирают у включенных в исследование субъектов во время скрининга, перед введением первой дозы олпасирана и на неделях 12,

24, 36 и 48, а также в другие различные временные точки в ходе исследования. Образцы крови собирают для измерения концентраций олпасирана в сыворотке крови в различные временные точки в ходе исследования для оценки фармакокинетических параметров олпасирана.

[0157] Скрининг в отношении уровня Lp(a) проводят в центральной лаборатории с использованием одобренного или экспериментального турбидиметрического иммуноанализа, который стандартизируют для выявления и количественного определения частиц Lp(a) независимо от размера изоформы апо(а), такого как анализ Tina-quant® Lipoprotein (a) Gen. 2, доступный от Roche Diagnostics. Анализ валидируют для измерений в нмоль/л Lp(a) в образцах сыворотки крови с пределом выявления 7 нмоль/л и стандартизируют относительно эталонного материала IFCC SRM2B для нмоль/л (Marcovina et al., Clin. Chem., Vol. 46: 1946-1967, 2000). Липидные панели, а также анализы других клинических аналитов, таких как ApoB, гемоглобин A1C, ALT, AST и билирубин, проводятся центральной лабораторией с использованием стандартных способов.

[0158] Первичный анализ проводят, когда все рандомизированные субъекты имеют возможность завершить оценки на неделе 36 или досрочно прекратили участие в исследовании. Анализ в конце периода лечения проводят, когда все субъекты имеют возможность завершить оценки на неделе 48 или досрочно прекратили участие в исследовании. Окончательный анализ проводят после того, как последний субъект либо завершает расширенное последующее наблюдение для оценки безопасности и завершает исследование, либо досрочно прекращает участие в исследовании. Первичную конечную точку (процентное изменение уровня Lp(a) относительно исходного уровня на неделе 36) сравнивают между группами с использованием модели линейных эффектов с повторными измерениями, включая термины группы лечения, фактор стратификации, запланированный визит и взаимодействие лечения с запланированным визитом. Процедуру Хочберга используют для контроля ошибки I рода при множественных сравнениях активных групп и групп плацебо. Вторичные конечные точки процентного изменения уровня Lp(a) относительно исходного уровня на неделе 48, уровня ApoB и LDL-C на неделе 36 и 48 анализируют так же, как и первичную конечную точку. Конечные точки безопасности (например, нежелательные явления, возникающие в ходе лечения) обобщают описательно. Исходный уровень Lp(a) определяют как среднее значение двух последних непропущенных значений уровня Lp(a), измеренных в центральной лаборатории до дня 1 исследования или в этот день. Если по какой-либо причине доступно только одно значение, то это значение используют в качестве исходного уровня.

[0159] Снижения уровня Lp(a) на 80% или больше относительно исходного уровня наблюдались при введении однократных доз олпасирана в течение более 3 месяцев (см. пример 1), и ожидается, что этот уровень устойчивого снижения уровня Lp(a) может привести к клинически значимой пользе для сердечно-сосудистой системы у пациентов с

атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием за счет снижения риска неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы. Недавние исследования с применением менделевской рандомизации свидетельствуют о том, что у индивидуумов с очень высокими исходными концентрациями Lp(a) ожидается, что снижение уровня Lp(a) на 80-90% приведет к клинически значимому снижению риска неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы (Burgess et al., JAMA Cardiol., Vol. 3:619-627, 2018; Lamina et al., JAMA Cardiol., Vol. 4: 575-579, 2019; и Madsen et al., Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., Vol. 40:255-266, 2020). Таким образом, ожидается, что результаты этого исследования продемонстрируют, что олпасиран по сравнению с плацебо будет вызывать значительное процентное снижение уровня Lp(a) относительно исходного уровня у субъектов с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием и повышенным уровнем Lp(a) при всех протестированных дозах. В частности, ожидается, что олпасиран в дозах, составляющих всего 10 мг, вводимый один раз в 12 недель, будет эффективно снижать уровни Lp(a) до менее 50 нмоль/л у большинства субъектов, что, как ожидается, приведет к снижению риска неблагоприятных явлений со стороны сердечно-сосудистой системы у таких субъектов. Ожидается, что введение олпасирана в дозе 75 мг один раз в 12 недель будет особенно эффективной схемой введения доз, основанной на моделировании PK/PD, описанном в примере 2.

[0160] Все публикации, патенты и патентные заявки, обсуждаемые и цитируемые в данном документе, настоящим включены посредством ссылки во всей своей полноте. Следует понимать, что раскрытое изобретение не ограничивается конкретными описанными методологией, протоколами и материалами, так как они могут варьироваться. Кроме того, следует понимать, что используемая в данном документе терминология предназначена только для целей описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения объема прилагаемой формулы изобретения.

[0161] Специалистам в данной области техники будут понятны или они будут способны определить посредством проведения только обычных экспериментов многие эквиваленты конкретных вариантов осуществления настоящего изобретения, описанного в данном документе. Подразумевается, что такие эквиваленты охватываются приведенной ниже формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

2. Способ снижения уровней Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

3. Способ по п. 2, где у пациента диагностировано сердечно-сосудистое заболевание или имеется риск его развития.

4. Способ по п. 3, где сердечно-сосудистое заболевание представляет собой ишемическую болезнь сердца, заболевание сонных артерий, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, цереброваскулярное заболевание, инсульт, стеноз аортального клапана, стабильную или нестабильную стенокардию, фибрилляцию предсердий, сердечную недостаточность, гиперлипидемию, гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию или гомозиготную семейную гиперхолестеринемию.

5. Способ по п. 2, где у пациента диагностировано хроническое заболевание почек.

6. Способ по п. 2, где у пациента имеется инфаркт миокарда в анамнезе.

7. Способ по п. 2, где у пациента диагностирован острый коронарный синдром.

8. Способ лечения, снижения симптомов или предупреждения сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

9. Способ по п. 8, где сердечно-сосудистое заболевание представляет собой ишемическую болезнь сердца, заболевание сонных артерий, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, цереброваскулярное заболевание, инсульт, стеноз

аортального клапана, стабильную или нестабильную стенокардию, фибрилляцию предсердий, сердечную недостаточность, гиперлипидемию, гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию или гомозиготную семейную гиперхолестеринемию.

10. Способ снижения риска неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы у пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, включающий введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

11. Способ по п. 10, где неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркт миокарда, инсульт и/или коронарную реваскуляризацию.

12. Способ по п. 10 или п. 11, где у пациента имеется коронарная реваскуляризация в анамнезе, аортокоронарное шунтирование в анамнезе, диагноз ишемической болезни сердца, диагноз атеросклеротического цереброваскулярного заболевания, диагноз заболевания периферических артерий и/или инфаркт миокарда в анамнезе.

13. Способ по любому из пп. 10-12, где пациент перенес инфаркт миокарда в течение 1 года до первого введения конструкции для RNAi LPA.

14. Способ по любому из пп. 10-12, где пациент госпитализирован вследствие острого коронарного синдрома или нестабильной стенокардии.

15. Способ по любому из пп. 1-14, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 70 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

16. Способ по любому из пп. 1-14, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 100 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

17. Способ по любому из пп. 1-14, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 125 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

18. Способ по любому из пп. 1-14, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 150 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

19. Способ по любому из пп. 1-14, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 175 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

20. Способ по любому из пп. 1-14, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 200 нмоль/л или больше до первого введения

конструкции для RNAi LPA.

21. Способ по любому из пп. 1-14, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 225 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

22. Способ по любому из пп. 1-21, где интервал между введениями доз составляет приблизительно 12 недель.

23. Способ по любому из пп. 1-21, где интервал между введениями доз составляет приблизительно 24 недели.

24. Способ по любому из пп. 1-21, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 225 мг один раз в 12 недель.

25. Способ по п. 24, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в дозе от приблизительно 50 мг до приблизительно 100 мг один раз в 12 недель.

26. Способ по п. 24, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в дозе от приблизительно 150 мг до приблизительно 225 мг один раз в 12 недель.

27. Способ по п. 24, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в дозе приблизительно 75 мг один раз в 12 недель.

28. Способ по п. 24, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в дозе приблизительно 150 мг один раз в 12 недель.

29. Способ по п. 24, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в дозе приблизительно 225 мг один раз в 12 недель.

30. Способ по любому из пп. 1-21, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в дозе от приблизительно 225 мг до приблизительно 675 мг один раз в 24 недели.

31. Способ по п. 30, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в дозе приблизительно 225 мг один раз в 24 недели.

32. Способ по любому из пп. 1-31, где пациент получает средство терапии, снижающее уровень липидов.

33. Способ по п. 32, где средство терапии, снижающее уровень липидов, представляет собой статин, эзетимиб, ингибитор PCSK9, бемпедоевую кислоту или их комбинации.

34. Способ по любому из пп. 1-33, где уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови пациента составляет приблизительно 100 мг/дл или меньше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

35. Способ по любому из пп. 1-33, где уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови пациента составляет приблизительно 70 мг/дл или меньше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

36. Способ по любому из пп. 1-35, где расчетная скорость клубочковой фильтрации у пациента составляет приблизительно 30 мл/мин/1,73 $м^2$ или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

37. Способ по любому из пп. 1-36, где пациент характеризуется средним

систолическим кровяным давлением менее чем приблизительно 160 мм рт. ст. и средним диастолическим кровяным давлением менее чем приблизительно 100 мм рт. ст. в покое до первого введения конструкции для RNAi LPA.

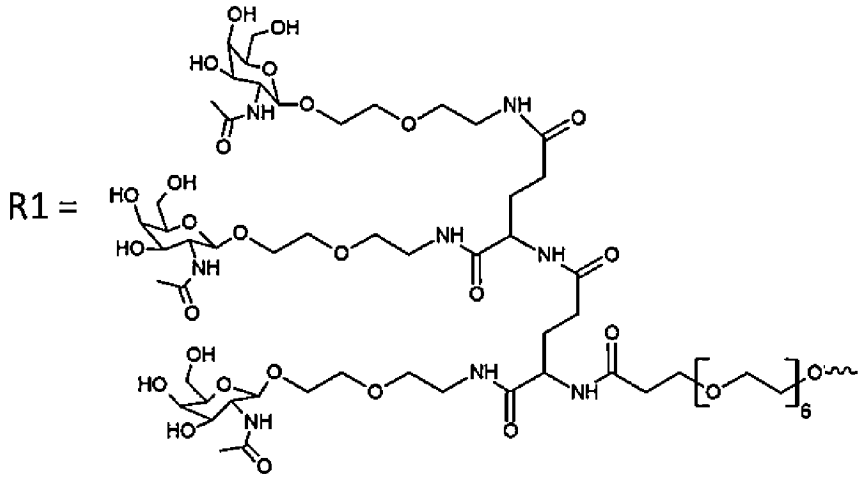
38. Способ по любому из пп. 1-37, где уровень гликированного гемоглобина A1c у пациента составляет менее чем приблизительно 8,5% до первого введения конструкции для RNAi LPA.

39. Способ по любому из пп. 1-38, где уровень триглицеридов в сыворотке крови пациента составляет менее чем приблизительно 400 мг/дл до первого введения конструкции для RNAi LPA.

40. Способ по любому из пп. 1-39, где смысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности под SEQ ID NO: 3, и антисмысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности под SEQ ID NO: 4.

41. Способ по любому из пп. 1-40, где смысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с SEQ ID NO: 5, и антисмысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с SEQ ID NO: 6.

42. Способ по любому из пп. 1-41, где нацеливающий фрагмент конструкции для RNAi LPA характеризуется следующей структурой:



43. Способ по любому из пп. 1-42, где конструкция для RNAi LPA представляет собой олпасиран.

44. Способ по любому из пп. 1-43, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 50% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента.

45. Способ по любому из пп. 1-43, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 80% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или

плазме крови пациента.

46. Способ по любому из пп. 1-43, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 90% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента.

47. Способ по любому из пп. 1-43, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 100 нмоль/л или меньше.

48. Способ по любому из пп. 1-43, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 75 нмоль/л или меньше.

49. Способ по любому из пп. 1-43, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 50 нмоль/л или меньше.

50. Способ по любому из пп. 1-49, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту в фармацевтической композиции, содержащей фосфат калия и хлорид натрия.

51. Способ по любому из пп. 1-50, где конструкцию для RNAi LPA вводят пациенту путем подкожной инъекции.

52. Способ по п. 51, где объем инъекции составляет приблизительно 1 мл или меньше.

53. Конструкция для RNAi LPA для применения в способе лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза у пациента, нуждающегося в этом, где способ включает введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

54. Конструкция для RNAi LPA для применения в способе снижения уровней Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента, нуждающегося в этом, где способ включает введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

55. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 54, где у пациента диагностировано сердечно-сосудистое заболевание или имеется риск его развития.

56. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 55, где сердечно-сосудистое заболевание представляет собой ишемическую болезнь сердца, заболевание сонных артерий, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, цереброваскулярное заболевание, инсульт, стеноз аортального клапана, стабильную или нестабильную стенокардию, фибрилляцию предсердий, сердечную недостаточность, гиперлипидемию, гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию или гомозиготную семейную гиперхолестеринемию.

57. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 54, где у пациента диагностировано хроническое заболевание почек.

58. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 54, где у пациента имеется инфаркт миокарда в анамнезе.

59. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 54, где у пациента диагностирован острый коронарный синдром.

60. Конструкция для RNAi LPA для применения в способе лечения, снижения симптомов или предупреждения сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, где способ включает введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

61. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 60, где сердечно-сосудистое заболевание представляет собой ишемическую болезнь сердца, заболевание сонных артерий, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, цереброваскулярное заболевание, инсульт, стеноз аортального клапана, стабильную или нестабильную стенокардию, фибрилляцию предсердий, сердечную недостаточность, гиперлипидемию, гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию или гомозиготную семейную гиперхолестеринемию.

62. Конструкция для RNAi LPA для применения в способе снижения риска неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы у пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, где способ включает введение пациенту конструкции для RNAi LPA в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

63. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 62, где неблагоприятное

явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркт миокарда, инсульт и/или коронарную реваскуляризацию.

64. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 62 или п. 63, где у пациента имеется коронарная реваскуляризация в анамнезе, аортокоронарное шунтирование в анамнезе, диагноз ишемической болезни сердца, диагноз атеросклеротического цереброваскулярного заболевания, диагноз заболевания периферических артерий и/или инфаркт миокарда в анамнезе.

65. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 62-64, где пациент перенес инфаркт миокарда в течение 1 года до первого введения конструкции для RNAi LPA.

66. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 62-64, где пациент госпитализирован вследствие острого коронарного синдрома или нестабильной стенокардии.

67. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-66, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 70 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

68. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-66, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 100 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

69. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-66, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 125 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

70. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-66, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 150 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

71. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-66, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 175 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

72. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-66, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 200 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

73. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-66, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 225 нмоль/л или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

74. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-73, где интервал между введениями доз составляет приблизительно 12 недель.

75. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-73, где интервал между введениями доз составляет приблизительно 24 недели.

76. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-73, где

конструкция для RNAi LPA вводится пациенту в дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 225 мг один раз в 12 недель.

77. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 76, где конструкция для RNAi LPA вводится пациенту в дозе от приблизительно 50 мг до приблизительно 100 мг один раз в 12 недель.

78. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 76, где конструкция для RNAi LPA вводится пациенту в дозе от приблизительно 150 мг до приблизительно 225 мг один раз в 12 недель.

79. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 76, где конструкция для RNAi LPA вводится пациенту в дозе приблизительно 75 мг один раз в 12 недель.

80. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 76, где конструкция для RNAi LPA вводится пациенту в дозе приблизительно 150 мг один раз в 12 недель.

81. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 76, где конструкция для RNAi LPA вводится пациенту в дозе приблизительно 225 мг один раз в 12 недель.

82. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-73, где конструкция для RNAi LPA вводится пациенту в дозе от приблизительно 225 мг до приблизительно 675 мг один раз в 24 недели.

83. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 82, где конструкция для RNAi LPA вводится пациенту в дозе приблизительно 225 мг один раз в 24 недели.

84. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-83, где пациент получает средство терапии, снижающее уровень липидов.

85. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 84, где средство терапии, снижающее уровень липидов, представляет собой статин, эзетимиб, ингибитор PCSK9, бемпедоевую кислоту или их комбинации.

86. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-85, где уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови пациента составляет приблизительно 100 мг/дл или меньше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

87. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-85, где уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови пациента составляет приблизительно 70 мг/дл или меньше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

88. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-87, где расчетная скорость клубочковой фильтрации у пациента составляет приблизительно 30 мл/мин/1,73 $м^2$ или больше до первого введения конструкции для RNAi LPA.

89. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-88, где пациент характеризуется средним систолическим кровяным давлением менее чем приблизительно 160 мм рт. ст. и средним диастолическим кровяным давлением менее чем приблизительно 100 мм рт. ст. в покое до первого введения конструкции для RNAi LPA.

90. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-89, где

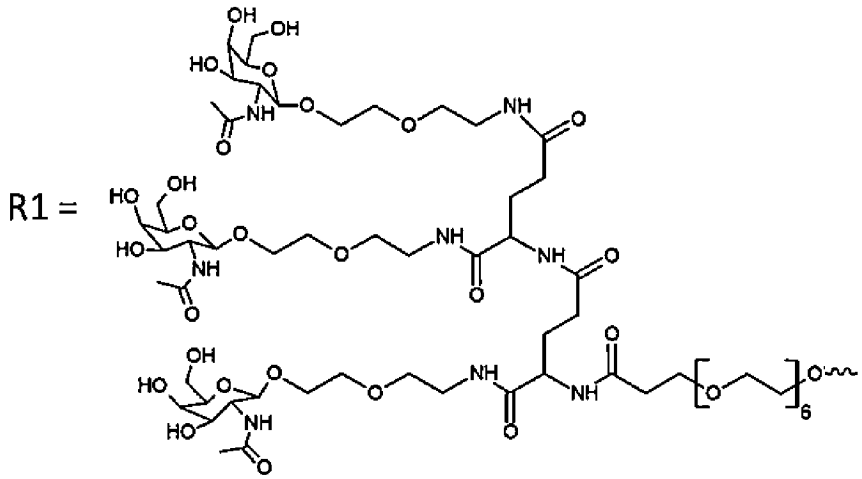
уровень гликированного гемоглобина A1c у пациента составляет менее чем приблизительно 8,5% до первого введения конструкции для RNAi LPA.

91. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-90, где уровень триглицеридов в сыворотке крови пациента составляет менее чем приблизительно 400 мг/дл до первого введения конструкции для RNAi LPA.

92. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-91, где смысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности под SEQ ID NO: 3, и антисмысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности под SEQ ID NO: 4.

93. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-92, где смысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с SEQ ID NO: 5, и антисмысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с SEQ ID NO: 6.

94. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-93, где нацеливающий фрагмент конструкции для RNAi LPA характеризуется следующей структурой:



95. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-94, где конструкция для RNAi LPA представляет собой олпасиран.

96. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-95, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 50% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента.

97. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-95, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 80% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента.

98. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-95, где

введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 90% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента.

99. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-95, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 100 нмоль/л или меньше.

100. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-95, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 75 нмоль/л или меньше.

101. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-95, где введение конструкции для RNAi LPA снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 50 нмоль/л или меньше.

102. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-101, где конструкция для RNAi LPA вводится пациенту в фармацевтической композиции, содержащей фосфат калия и хлорид натрия.

103. Конструкция для RNAi LPA для применения по любому из пп. 53-102, где конструкция для RNAi LPA вводится пациенту путем подкожной инъекции.

104. Конструкция для RNAi LPA для применения по п. 103, где объем инъекции составляет приблизительно 1 мл или меньше.

105. Применение конструкции для RNAi LPA для получения лекарственного препарата для лечения, снижения симптомов или предупреждения атеросклероза у пациента, нуждающегося в этом, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

106. Применение конструкции для RNAi LPA для получения лекарственного препарата для снижения уровней Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента, нуждающегося в этом, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

107. Применение по п. 106, где у пациента диагностировано сердечно-сосудистое заболевание или имеется риск его развития.

108. Применение по п. 107, где сердечно-сосудистое заболевание представляет

собой ишемическую болезнь сердца, заболевание сонных артерий, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, цереброваскулярное заболевание, инсульт, стеноз аортального клапана, стабильную или нестабильную стенокардию, фибрилляцию предсердий, сердечную недостаточность, гиперлипидемию, гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию или гомозиготную семейную гиперхолестеринемию.

109. Применение по п. 106, где у пациента диагностировано хроническое заболевание почек.

110. Применение по п. 106, где у пациента имеется инфаркт миокарда в анамнезе.

111. Применение по п. 106, где у пациента диагностирован острый коронарный синдром.

112. Применение конструкции для RNAi LPA для получения лекарственного препарата для лечения, снижения симптомов или предупреждения сердечно-сосудистого заболевания у пациента, нуждающегося в этом, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

113. Применение по п. 112, где сердечно-сосудистое заболевание представляет собой ишемическую болезнь сердца, заболевание сонных артерий, заболевание периферических артерий, инфаркт миокарда, цереброваскулярное заболевание, инсульт, стеноз аортального клапана, стабильную или нестабильную стенокардию, фибрилляцию предсердий, сердечную недостаточность, гиперлипидемию, гетерозиготную семейную гиперхолестеринемию или гомозиготную семейную гиперхолестеринемию.

114. Применение конструкции для RNAi LPA для получения лекарственного препарата для снижения риска неблагоприятного явления со стороны сердечно-сосудистой системы у пациента с атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения в дозе от приблизительно 9 мг до приблизительно 675 мг с интервалом между введениями доз, составляющим по меньшей мере 8 недель, где конструкция для RNAi LPA содержит смысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 1, антисмысловую нить, содержащую последовательность под SEQ ID NO: 2, и нацеливающий фрагмент, содержащий лиганд асиалогликопротеинового рецептора, где нацеливающий фрагмент ковалентно присоединен к 5′-концу смысловой нити.

115. Применение по п. 114, где неблагоприятное явление со стороны сердечно-сосудистой системы представляет собой смерть по причине сердечно-сосудистой патологии, инфаркт миокарда, инсульт и/или коронарную реваскуляризацию.

116. Применение по п. 114 или п. 115, где у пациента имеется коронарная

реваскуляризация в анамнезе, аортокоронарное шунтирование в анамнезе, диагноз ишемической болезни сердца, диагноз атеросклеротического цереброваскулярного заболевания, диагноз заболевания периферических артерий и/или инфаркт миокарда в анамнезе.

117. Применение по любому из пп. 114-116, где пациент перенес инфаркт миокарда в течение 1 года до первого введения лекарственного препарата.

118. Применение по любому из пп. 114-116, где пациент госпитализирован вследствие острого коронарного синдрома или нестабильной стенокардии.

119. Применение по любому из пп. 105-118, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 70 нмоль/л или больше до первого введения лекарственного препарата.

120. Применение по любому из пп. 105-118, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 100 нмоль/л или больше до первого введения лекарственного препарата.

121. Применение по любому из пп. 105-118, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 125 нмоль/л или больше до первого введения лекарственного препарата.

122. Применение по любому из пп. 105-118, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 150 нмоль/л или больше до первого введения лекарственного препарата.

123. Применение по любому из пп. 105-118, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 175 нмоль/л или больше до первого введения лекарственного препарата.

124. Применение по любому из пп. 105-118, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 200 нмоль/л или больше до первого введения лекарственного препарата.

125. Применение по любому из пп. 105-118, где уровень Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента составляет приблизительно 225 нмоль/л или больше до первого введения лекарственного препарата.

126. Применение по любому из пп. 105-125, где интервал между введениями доз составляет приблизительно 12 недель.

127. Применение по любому из пп. 105-125, где интервал между введениями доз составляет приблизительно 24 недели.

128. Применение по любому из пп. 105-125, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения пациенту в дозе от приблизительно 10 мг до приблизительно 225 мг один раз в 12 недель.

129. Применение по п. 128, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения пациенту в дозе от приблизительно 50 мг до приблизительно 100 мг один раз в 12 недель.

130. Применение по п. 128, где лекарственный препарат вводится или составляется

для введения пациенту в дозе от приблизительно 150 мг до приблизительно 225 мг один раз в 12 недель.

131. Применение по п. 128, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения пациенту в дозе приблизительно 75 мг один раз в 12 недель.

132. Применение по п. 128, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения пациенту в дозе приблизительно 150 мг один раз в 12 недель.

133. Применение по п. 128, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения пациенту в дозе приблизительно 225 мг один раз в 12 недель.

134. Применение по любому из пп. 105-125, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения пациенту в дозе от приблизительно 225 мг до приблизительно 675 мг один раз в 24 недели.

135. Применение по п. 134, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения пациенту в дозе приблизительно 225 мг один раз в 24 недели.

136. Применение по любому из пп. 105-135, где пациент получает средство терапии, снижающее уровень липидов.

137. Применение по п. 136, где средство терапии, снижающее уровень липидов, представляет собой статин, эзетимиб, ингибитор PCSK9, бемпедоевую кислоту или их комбинации.

138. Применение по любому из пп. 105-137, где уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови пациента составляет приблизительно 100 мг/дл или меньше до первого введения лекарственного препарата.

139. Применение по любому из пп. 105-137, где уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (LDL-C) в сыворотке крови пациента составляет приблизительно 70 мг/дл или меньше до первого введения лекарственного препарата.

140. Применение по любому из пп. 105-139, где расчетная скорость клубочковой фильтрации у пациента составляет приблизительно 30 мл/мин/1,73 $м^2$ или больше до первого введения лекарственного препарата.

141. Применение по любому из пп. 105-140, где пациент характеризуется средним систолическим кровяным давлением менее чем приблизительно 160 мм рт. ст. и средним диастолическим кровяным давлением менее чем приблизительно 100 мм рт. ст. в покое до первого введения лекарственного препарата.

142. Применение по любому из пп. 105-141, где уровень гликированного гемоглобина A1c у пациента составляет менее чем приблизительно 8,5% до первого введения лекарственного препарата.

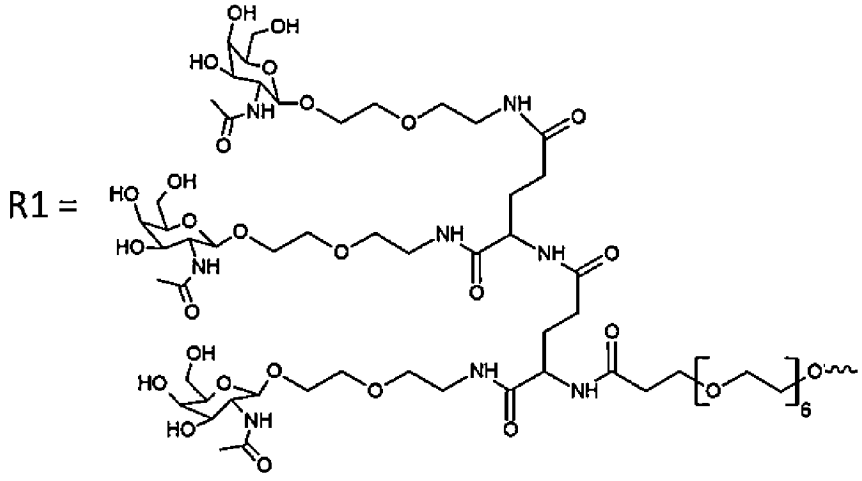
143. Применение по любому из пп. 105-142, где уровень триглицеридов в сыворотке крови пациента составляет менее чем приблизительно 400 мг/дл до первого введения лекарственного препарата.

144. Применение по любому из пп. 105-143, где смысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности под SEQ ID NO: 3, и антисмысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность

или состоит из последовательности под SEQ ID NO: 4.

145. Применение по любому из пп. 105-144, где смысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с SEQ ID NO: 5, и антисмысловая нить конструкции для RNAi LPA содержит последовательность или состоит из последовательности модифицированных нуклеотидов в соответствии с SEQ ID NO: 6.

146. Применение по любому из пп. 105-145, где нацеливающий фрагмент конструкции для RNAi LPA характеризуется следующей структурой:



147. Применение по любому из пп. 105-146, где конструкция для RNAi LPA представляет собой олпасиран.

148. Применение по любому из пп. 105-147, где введение лекарственного препарата снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 50% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента.

149. Применение по любому из пп. 105-147, где введение лекарственного препарата снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 80% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента.

150. Применение по любому из пп. 105-147, где введение лекарственного препарата снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента на более чем 90% в течение по меньшей мере 12 недель по сравнению с исходными уровнями Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента.

151. Применение по любому из пп. 105-147, где введение лекарственного препарата снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 100 нмоль/л или меньше.

152. Применение по любому из пп. 105-147, где введение лекарственного препарата снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 75 нмоль/л или меньше.

153. Применение по любому из пп. 105-147, где введение лекарственного

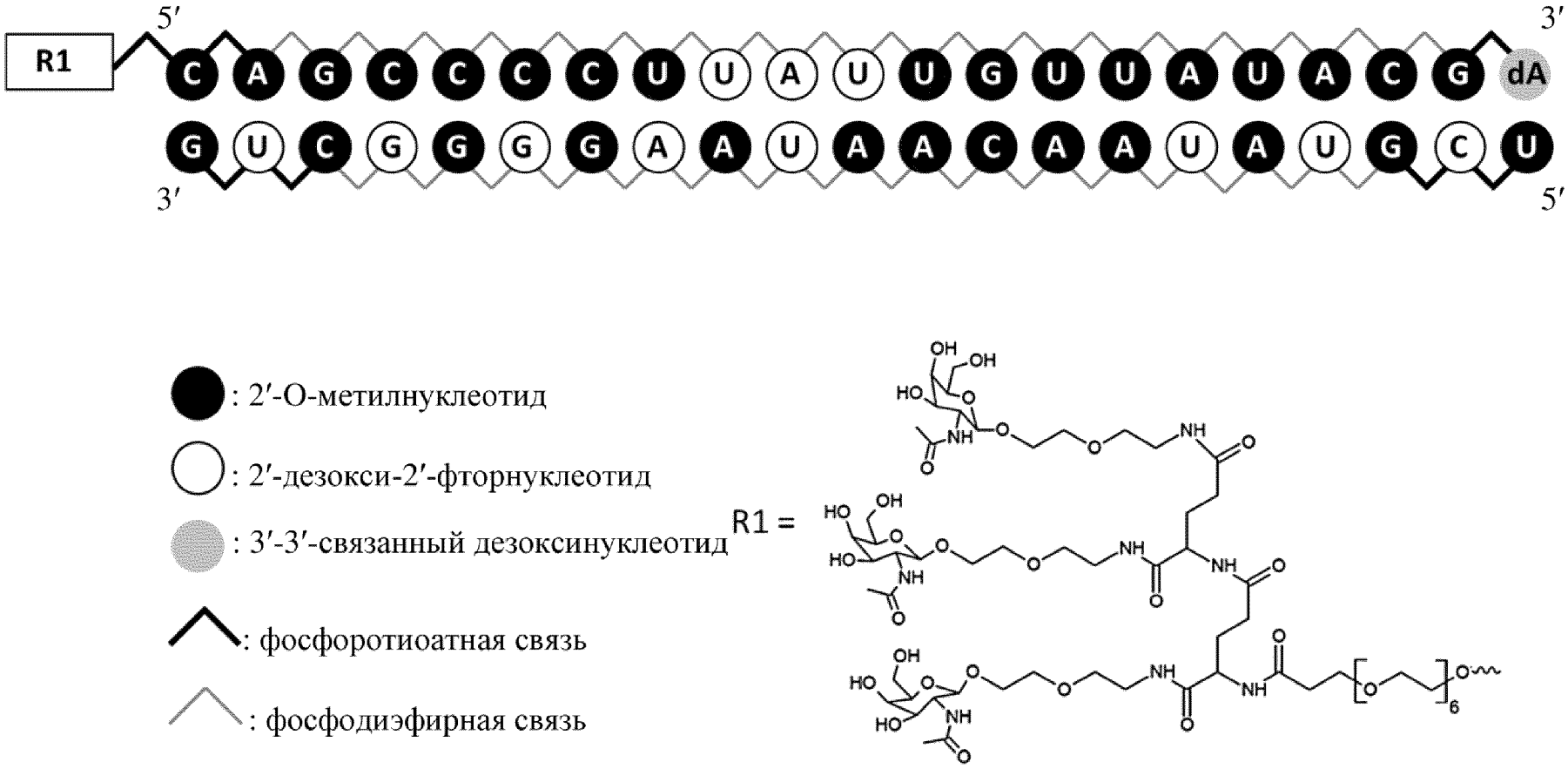
препарата снижает уровни Lp(a) в сыворотке или плазме крови пациента до приблизительно 50 нмоль/л или меньше.

154. Применение по любому из пп. 105-153, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения пациенту в фармацевтической композиции, содержащей фосфат калия и хлорид натрия.

155. Применение по любому из пп. 105-154, где лекарственный препарат вводится или составляется для введения пациенту путем подкожной инъекции.

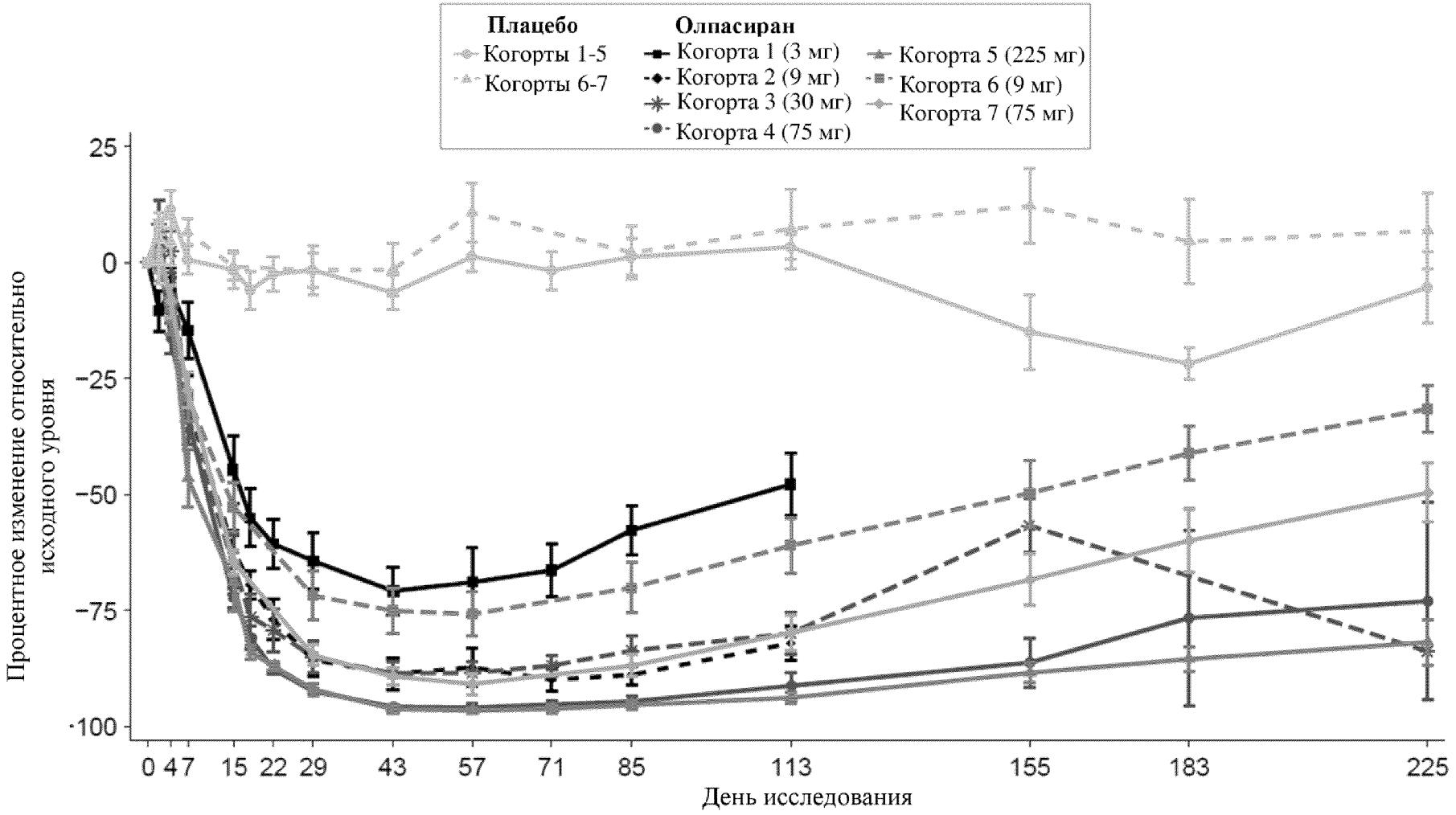
156. Применение по п. 155, где объем инъекции составляет приблизительно 1 мл или меньше.

По доверенности


R1
5′
3′
C A G C C C C U U A U U G U U A U A C G dA
G U C G G G G A A U A A C A A U A U G C U
3′
5′
: 2′-O-метилнуклеотид
: 2′-дезокси-2′-фторнуклеотид
: 3′-3′-связанный дезоксинуклеотид
: фосфоротиоатная связь
: фосфодиэфирная связь
R1 =

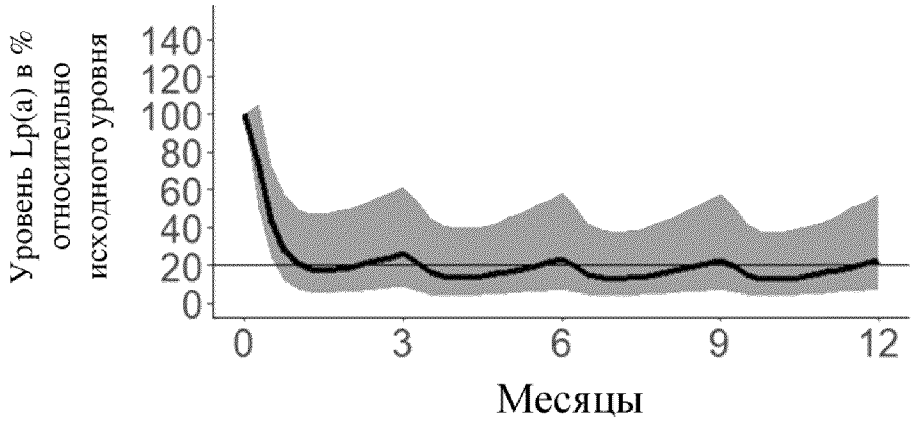
Фиг. 1

578003


Плацебо
Когорты 1-5
Когорты 6-7
Олпасиран
Когорта 1 (3 мг)
Когорта 2 (9 мг)
Когорта 3 (30 мг)
Когорта 4 (75 мг)
Когорта 5 (225 мг)
Когорта 6 (9 мг)
Когорта 7 (75 мг)
Процентное изменение относительно исходного уровня
25
0
−25
−50
−75
−100
0 4 7 15 22 29 43 57 71 85 113 155 183 225
День исследования

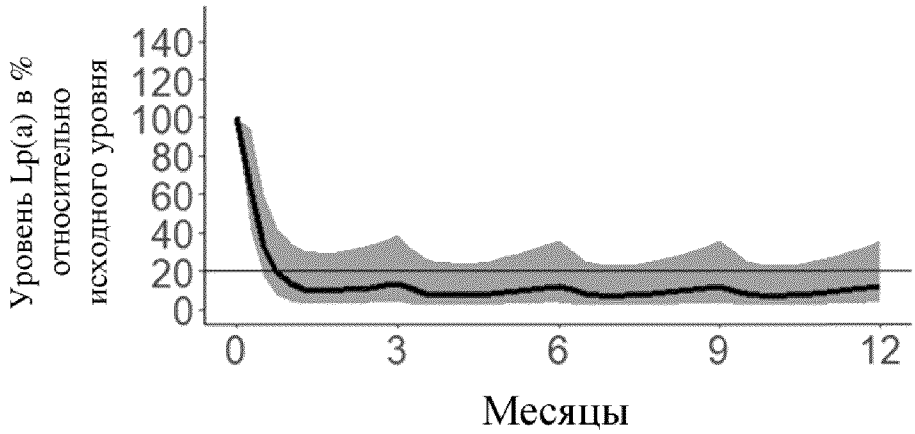
Фиг. 2

10 мг



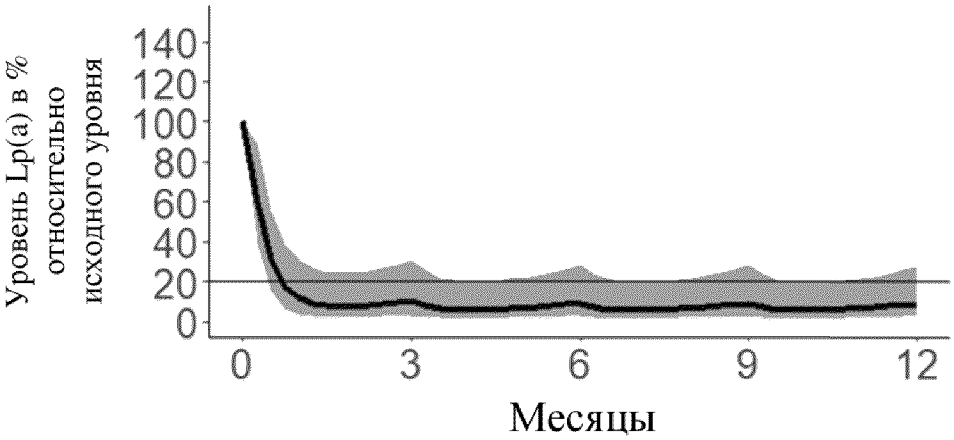
Фиг. 3A

30 мг



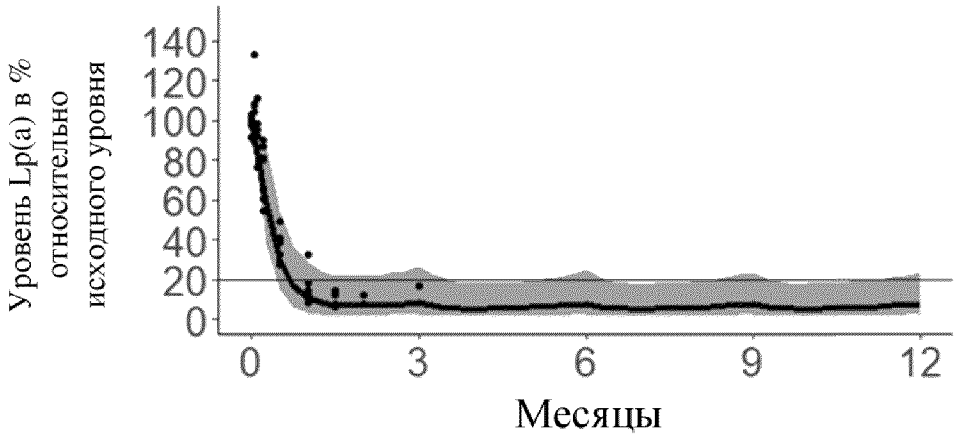
Фиг. 3B

50 мг



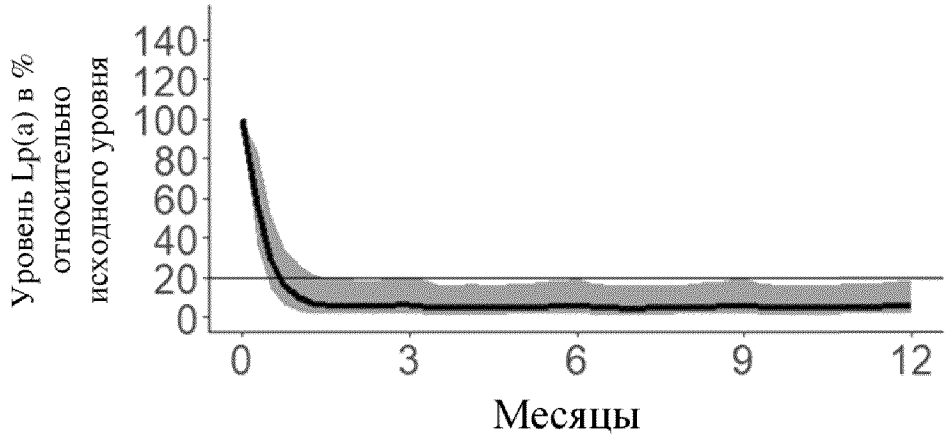
Фиг. 3C

75 мг



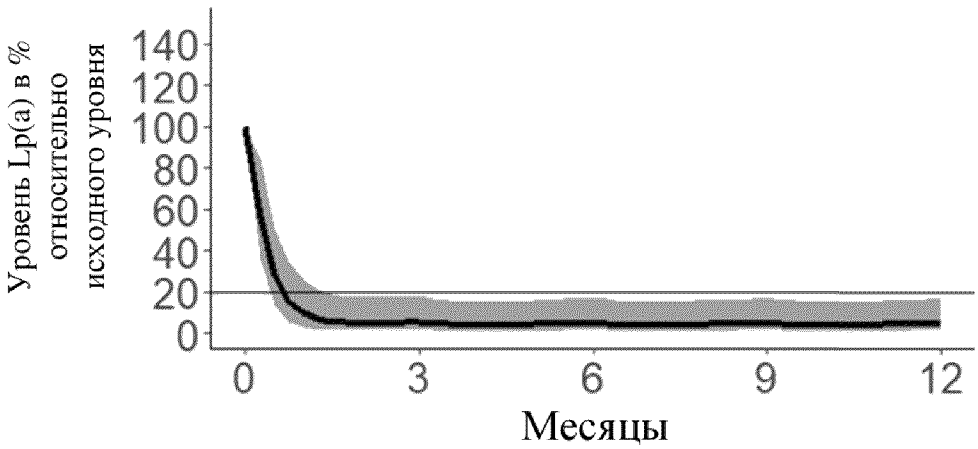
Фиг. 3D

150 мг



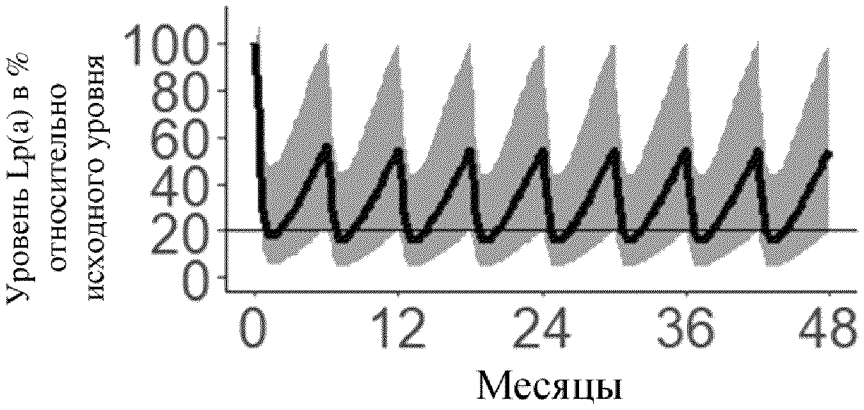
Фиг. 3E

225 мг



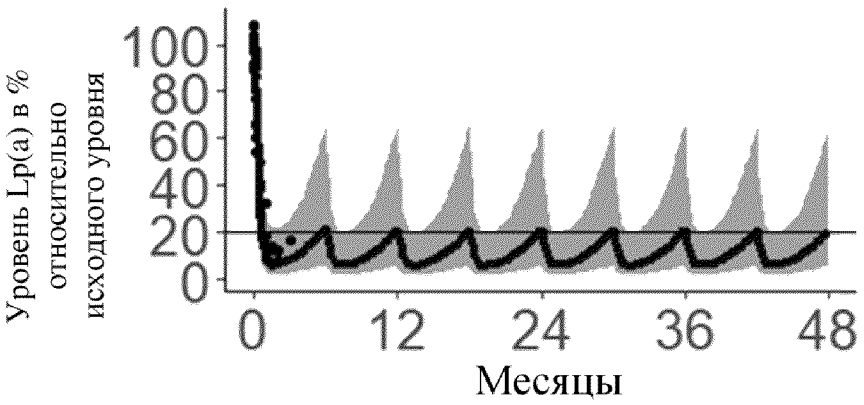
Фиг. 3F

10 мг



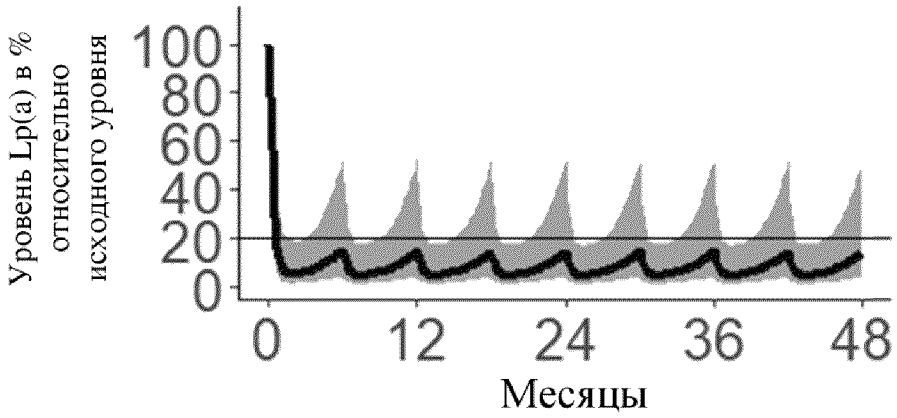
Фиг. 4A

75 мг



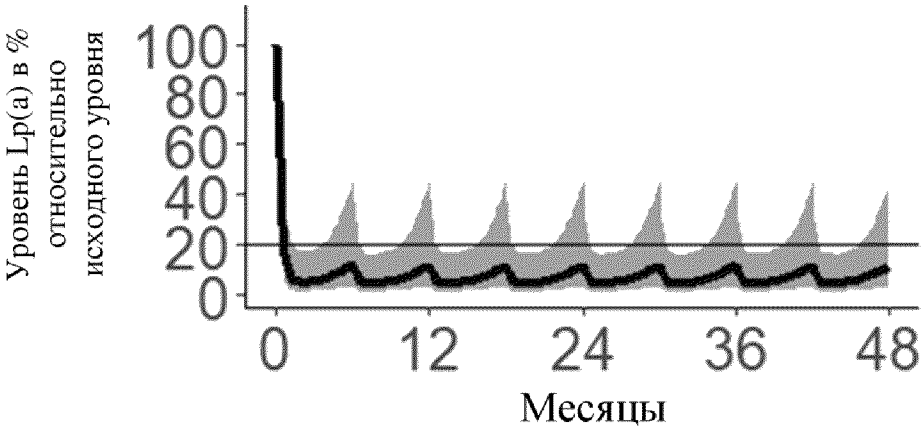
Фиг. 4B

150 мг



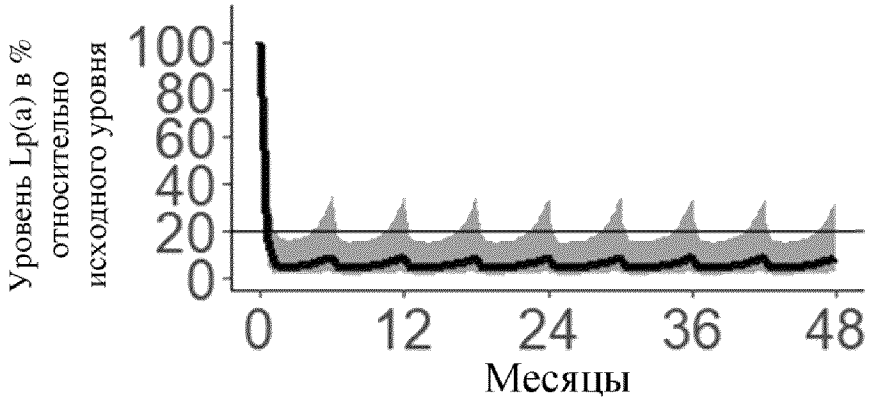
Фиг. 4C

225 мг



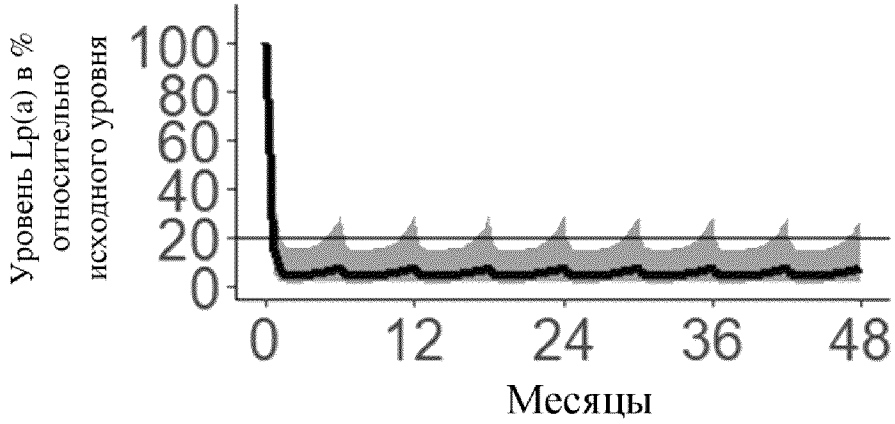
Фиг. 4D

450 мг



Фиг. 4E

675 мг



Фиг. 4F