

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2024年7月4日 (04.07.2024)



(10) 国际公布号  
**WO 2024/140596 A1**

(51) 国际专利分类号:

*C12N 15/113* (2010.01) *A61P 19/06* (2006.01)  
*A61K 31/713* (2006.01)

(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/141628

(22) 国际申请日: 2023年12月25日 (25.12.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
202211677156.4 2022年12月26日 (26.12.2022) CN

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

— 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

(71) 申请人: 大睿生物医药科技(上海)有限公司 (SHANGHAI RONA THERAPEUTICS CO., LTD.)  
[CN/CN]; 中国上海市浦东新区自由贸易试验区张江路665号三层, Shanghai 201203 (CN)。

(72) 发明人: 黄金宇 (HUANG, Jinyu); 中国上海市浦东新区康威路795弄3号楼, Shanghai 201315 (CN)。  
邹昊 (ZOU, Hao); 中国上海市浦东新区康威路795弄3号楼, Shanghai 201315 (CN)。

(74) 代理人: 北京市柳沈律师事务所 (LIU, SHEN & ASSOCIATES); 中国北京市海淀区彩和坊路10号1号楼10层, Beijing 100080 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚

(54) Title: SIRNA MOLECULE FOR REGULATING ACTIVITY OF XDH GENE

(54) 发明名称: 调控XDH基因活性的siRNA分子

(57) Abstract: Provided in the present invention are a small interfering RNA (siRNA) for inhibiting the expression of xanthine dehydrogenase (XDH) in cells, a vector and cell containing an encoding nucleotide thereof, and a method for treating diseases or symptoms associated with the expression of XDH in a subject using the siRNA, the vector or the cell.

(57) 摘要: 本发明提供了用于抑制细胞中黄嘌呤脱氢酶(XDH)的表达的小干扰RNA(siRNA), 以及包含其编码核苷酸的载体和细胞、以及利用该siRNA、载体或细胞治疗受试者中与XDH表达相关的疾病或症状的方法。



WO 2024/140596 A1

## 调控 XDH 基因活性的 siRNA 分子

本申请要求于 2022 年 12 月 26 日提交的中国专利申请号 202211677156.4 的  
5 优先权，其全部内容通过引用并入本文。

### 技术领域

本发明涉及 RNA 干扰领域。

### 背景技术

10 高尿酸血症 (HUA) 是在正常饮食状态下，体内尿酸合成增加和/或尿酸的  
肾清除降低所致。高尿酸血症分为原发性高尿酸血症和继发性高尿酸血症。原发  
性高尿酸血症通常是由于分子缺陷或先天性嘌呤代谢障碍导致。继发性高尿酸血  
15 症是由于多种急慢性疾病如血液或恶性肿瘤、慢性中毒、药物或高嘌呤饮食所致  
的血尿酸产生增高或尿酸排泄障碍所致的高尿酸血症。研究表明，高尿酸血症可  
以诱发多种疾病，包括痛风、高血压、糖尿病、冠心病和肾脏疾病。

痛风是一种常见且复杂的关节炎类型，患者经常会在夜晚出现突然性的关节  
疼痛，发病急，关节部位出现疼痛、水肿、红肿和炎症。痛风发作与体内尿酸浓度  
升高有关，是由单钠尿酸盐沉积所致的晶体相关性关节病。

20 黄嘌呤脱氢酶(xanthine dehydrogenase, 简称 XDH)能够将嘌呤降解产物黄嘌  
呤转化为尿酸。因此，黄嘌呤脱氢酶是治疗痛风的关键靶点之一。

通过抑制 XDH 的表达，可以减少鸟嘌呤和次黄嘌呤的产生，从而降低体内  
尿酸浓度，实现缓解、抑制或治疗高尿酸血症及高尿酸血症诱发的疾病或病症例  
如痛风的目的。

25 通过小干扰 RNA (siRNA) 基于 RNA 干扰机制降低 XDH 表达，是治疗痛风  
的新方法。

### 发明内容

30 本发明提供了新的用于抑制细胞中黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 的表达的小干扰  
RNA (siRNA)、载体、试剂盒及其药物组合物，以及所述 siRNA、配体、试剂盒  
或药物组合物在抑制或降低黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 基因表达或治疗获益于黄嘌呤  
脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症的方法。

35 在第一方面，本发明提供了一种用于抑制细胞中黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 的表  
达的小干扰 RNA (siRNA)，所述 siRNA 包含形成双链区的正义链和反义链，其中  
所述正义链和所述反义链的长度各自独立地为 15-30 个核苷酸，并且所述反义链  
包含 SEQ ID NO: 168-332 和 334 中任一项所示的核苷酸序列的至少 15 个连续核  
苷酸的核苷酸序列。在一些具体的实施方案中，所述正义链包含 SEQ ID NO: 1-  
165 和 167 中任一项所示的核苷酸序列的至少 15 个连续的核苷酸的核苷酸序列。

在一些实施方案中，所述正义链和所述反义链的长度各自独立地为 15-27 个  
核苷酸，优选 19-25 个核苷酸，更优选 19-23 个核苷酸。

40 在一些实施方案中，所述双链区的长度为 15-25 个核苷酸对，优选 16-23 个  
核苷酸对，更优选 18-20 个核苷酸对。

在一些实施方案中，所述正义链和所述反义链之一或两者包含具有至少 1 个  
核苷酸的 3' 突出端和/或 5' 突出端，例如所述正义链和所述反义链之一或两者包

含具有至少 1 个核苷酸的 3'突出端和/或 5'突出端。在一些优选的实施方案中，所述反义链具有至少 2 个核苷酸的 3'突出端和/或 5'突出端，优选地所述反义链包含具有 2 个核苷酸的 3'突出端和/或 5'突出端。

5 在一些实施方案中，所述反义链包含 SEQ ID NO: 168-332 和 334 中任一项所示的核苷酸序列的至少 16 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 17 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 18 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 19 个连续核苷酸的核苷酸序列，或至少 20 个连续核苷酸的核苷酸序列，优选所述反义链包含 SEQ ID NO: 168-332 和 334 中任一项所示的核苷酸序列。

10 在一些实施方案中，所述正义链包含与 SEQ ID NO: 1-165 和 167 中所示的核苷酸序列任一项的至少 16 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 17 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 18 个连续核苷酸的核苷酸序列，或至少 19 个连续核苷酸的核苷酸序列，优选所述正义链包含 SEQ ID NO: 1-165 和 167 中任一项所示的核苷酸序列。

15 在一些实施方案中，所述 siRNA 包含如表 3 所示的配对的正义链序列和反义链序列。

20 在一些实施方案中，所述反义链包含 SEQ ID NO: 219、182、197、211、204、212、218、214、205 和 334 中任一项所示的核苷酸序列的至少 15 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 16 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 17 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 18 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 19 个连续核苷酸的核苷酸序列，或至少 20 个连续核苷酸的核苷酸序列，优选所述反义链包含 SEQ ID NO: 219、182、197、211、204、212、218、214、205 和 334 中任一项所示的核苷酸序列。

25 在一些实施方案中，所述正义链包含 SEQ ID NO: 52、15、30、44、37、45、51、47、38 和 167 中任一项所示的核苷酸序列的至少 15 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 16 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 17 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 18 个连续核苷酸的核苷酸序列，或至少 19 个连续核苷酸的核苷酸序列，优选所述反义链包含 SEQ ID NO: 52、15、30、44、37、45、51、47、38 和 167 中任一项所示的核苷酸序列。

30 在一些实施方案中，  
(a)所述反义链包含SEQ ID NO: 219所示的核苷酸序列，且所述正义链包含SEQ ID NO: 52所示的核苷酸序列；  
(b)所述反义链包含SEQ ID NO: 182所示的核苷酸序列，且所述正义链包含SEQ ID NO: 15所示的核苷酸序列；  
(c)所述反义链包含SEQ ID NO: 197所示的核苷酸序列，且所述正义链包含SEQ ID NO: 30所示的核苷酸序列；  
35 (d)所述反义链包含SEQ ID NO: 211所示的核苷酸序列，且所述正义链包含SEQ ID NO: 44所示的核苷酸序列；  
(e)所述反义链包含SEQ ID NO: 204所示的核苷酸序列，且所述正义链包含SEQ ID NO: 37所示的核苷酸序列；  
40 (f)所述反义链包含SEQ ID NO: 212所示的核苷酸序列，且所述正义链包含SEQ ID NO: 45所示的核苷酸序列；  
(g)所述反义链包含SEQ ID NO: 218所示的核苷酸序列，且所述正义链包含SEQ ID NO: 51所示的核苷酸序列；

(h)所述反义链包含SEQ ID NO: 214所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 47所示的核苷酸序列;

(i)所述反义链包含SEQ ID NO: 205所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 38所示的核苷酸序列; 或

5 (j)所述反义链包含SEQ ID NO: 334所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 167所示的核苷酸序列。

在一些实施方案中, 所述正义链的基本上所有的核苷酸和所述反义链的基本上所有的核苷酸是修饰的核苷酸, 或者所述正义链的所有的核苷酸和所述反义链的所有的核苷酸是修饰的核苷酸。

10 在一些具体的实施方案中, 所述正义链和所述反义链各自独立地包含选自下组的一种或多种核苷酸修饰: 2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟代修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、肌苷核糖核苷酸、脱碱基核苷酸、反向无碱基脱氧核糖核苷酸、硫代磷酸酯核苷酸间键联修饰、乙烯基磷酸酯修饰的核苷酸、锁核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-烷基-修饰的核苷酸、吗啉代核苷酸、氨基磷酸酯、包含  
15 非天然碱基的核苷酸、以及连接到胆固醇基衍生物或十二烷酸二癸酰胺基团上的末端核苷酸、和脱氧核糖核苷酸。

在一些优选的实施方案中, 所述正义链和所述反义链各自独立地包含选自下组的一种或多种核苷酸修饰: 2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟代修饰的核苷酸和硫代磷酸酯核苷酸间键联修饰。在一些优选的实施方案中, 所述正义链和/或所述反义链包含至少2个2'-氟代修饰的核苷酸。在一些优选的实施方案中, 所述正义链和/或所述反义链包含至少8个2'-O-甲基修饰的核苷酸。在一些优选的实施方案中, 所述正义链和/或所述反义链的3'末端和/或5'末端包含1-5个硫代磷酸酯基团, 优选2-3个硫代磷酸酯基团。

25 在一些优选的实施方案中, 所述反义链包含说明书表5中任一项所示的经修饰的核苷酸序列, 和/或所述正义链包含说明书表4中任一项所示的经修饰的核苷酸序列。在一些优选的实施方案中, 所述siRNA包含说明书表6中任一项所示的配对的经修饰的正义链序列和经修饰的反义链序列。

在一些具体的实施方案中, 所述正义链和/或所述反义链的3'末端和/或5'末端包含1-5个硫代磷酸酯基团, 且其中:

30 (a) 所述正义链包含 CmAmUmGmAmGmAfGfUfUmUmUmAmUmUmCmAmAmAm (SEQ ID NO: 711), 并且所述反义链包含 UmUfUmGfAmAfUmAfAmAfAmCfUmCfUmCfAmUfGmCfCm (SEQ ID NO: 712);

35 (b) 所述正义链包含 UmCmUmGmCmAmGfAfAfCmAmAmGmAmUmCmGmUmUm (SEQ ID NO: 713), 并且所述反义链包含 AmAfCmGfAmUfCmUfUmGfUmUfCmUfGmCfAmGfAmCfGm (SEQ ID NO: 714);

(c) 所述正义链包含 UmGmGmCmAmUmUfGfAfGmAmUmGmAmAmGmUmUmUm (SEQ ID NO: 715),  
40 并且所述反义链包含 AmAfAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfUmGfCmCfAmAfUm (SEQ ID NO: 716);

(d) 所述正义链包含 UmUmCmAmAmGmAfAfUfAmUmGmCmUmGmUmUmUmUm (SEQ ID NO: 717),

- 并且所述反义词链包含 AmAfAmAfCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmCfUm (SEQ ID NO: 718);
- (e) 所述正义链包含 GmAmGmAmUmGmAfAfGfUmUmCmAmAmGmAmAmUmAm (SEQ ID NO: 719),
- 5 并且所述反义词链包含 UmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmUfCmAfAm (SEQ ID NO: 720);
- (f) 所述正义链包含 UmCmAmAmGmAmAfUfAfUmGmCmUmGmUmUmUmCmUm (SEQ ID NO: 721),
- 并且所述反义词链包含 AmGfAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCm (SEQ ID NO: 722);
- 10 (g) 所述正义链包含 GmCmAmUmGmAmGfAfGfUmUmUmUmAmUmUmCmAmAm (SEQ ID NO: 723),
- 并且所述反义词链包含 UmUfGmAfAmUfAmAfAmAfCmUfCmUfCmAfUmGfCmCfAm (SEQ ID NO: 724);
- 15 (h) 所述正义链包含 GmAmAmUmAmUmGfCfUfGmUmUmUmCmCmUmAmUmAm (SEQ ID NO: 725),
- 并且所述反义词链包含 UmAfUmAfGmGfAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUm (SEQ ID NO: 726);
- (i) 所述正义链包含 GmAmUmGmAmAmGfUfUfCmAmAmGmAmAmUmAmUmAm (SEQ ID NO: 727),
- 20 并且所述反义词链包含 UmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmUfCm (SEQ ID NO: 728);
- 或
- (j) 所述正义链包含 AmGmAmGmUmAmUfUfAfUmGmGmAmAmCmGmAmGmUm (SEQ ID NO: 729),
- 25 并且所述反义词链包含 AmCfUmCfGmUfUmCfCmAfUmAfAmUfAmCfUmCfUmGfAm (SEQ ID NO: 730).
- 在一些具体的实施方案中,
- (a) 所述正义链包含 CmsAmsUmGmAmGmAfGfUfUmUmUmAmUmUmCmAmAmsAm (SEQ ID NO: 731),
- 30 并且所述反义词链包含 UmsUfsUmGfAmAfUmAfAmAfAmCfUmCfUmCfAmUfGmsCfsCm (SEQ ID NO: 682);
- (b) 所述正义链包含 UmsCmsUmGmCmAmGfAfCmAmAmGmAmUmCmGmUmsUm (SEQ ID NO: 732),
- 35 并且所述反义词链包含 AmsAfsCmGfAmUfCmUfUmGfUmUfCmUfGmCfAmGfAmsCfsGm (SEQ ID NO: 683);
- (c) 所述正义链包含 UmsGmsGmCmAmUmUfGfAfGmAmUmGmAmAmGmUmUmsUm (SEQ ID NO: 733),
- 40 并且所述反义词链包含 AmsAfsAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfUmGfCmCfAmsAfsUm (SEQ ID NO: 684);
- (d) 所述正义链包含 UmsUmsCmAmAmGmAfAfUfAmUmGmCmUmGmUmUmUmsUm (SEQ ID NO:
- 45

734) , 并且所述反义链包含  
AmsAfsAmAfCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmsCfsUm (SEQ ID NO:  
685);

5 (e) 所述正义链包含  
GmsAmsGmAmUmGmAfAfGfUmUmCmAmAmGmAmAmUmsAm (SEQ ID NO:  
735) , 并且所述反义链包含  
UmsAfsUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmUfCmsAfsAm (SEQ ID NO:  
686);

10 (f) 所述正义链包含  
UmsCmsAmAmGmAmAfUfAfUmGmCmUmGmUmUmUmCmsUm (SEQ ID NO:  
736) , 并且所述反义链包含  
AmsGfsAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmsAfsCm (SEQ ID NO:  
687);

15 (g) 所述正义链包含  
GmsCmsAmUmGmAmGfAfGfUmUmUmUmAmUmUmCmAmAm (SEQ ID NO:  
737) , 并且所述反义链包含  
UmsUfsGmAfAmUfAmAfAmAfCmUfCmUfCmAfUmGfCmsCfsAm (SEQ ID NO:  
688);

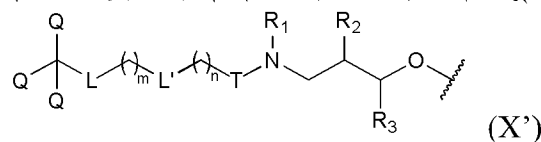
20 (h) 所述正义链包含  
GmsAmsAmUmAmUmGfCfUfGmUmUmUmCmCmUmAmUmsAm (SEQ ID NO:  
738) , 并且所述反义链包含  
UmsAfsUmAfGmGfAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmsUfsUm (SEQ ID NO:  
689);

25 (i) 所述正义链包含  
GmsAmsUmGmAmAmGfUfUfCmAmAmGmAmAmUmAmUmsAm (SEQ ID NO:  
739) , 并且所述反义链包含  
UmsAfsUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmsUfsCm (SEQ ID NO:  
690); 或

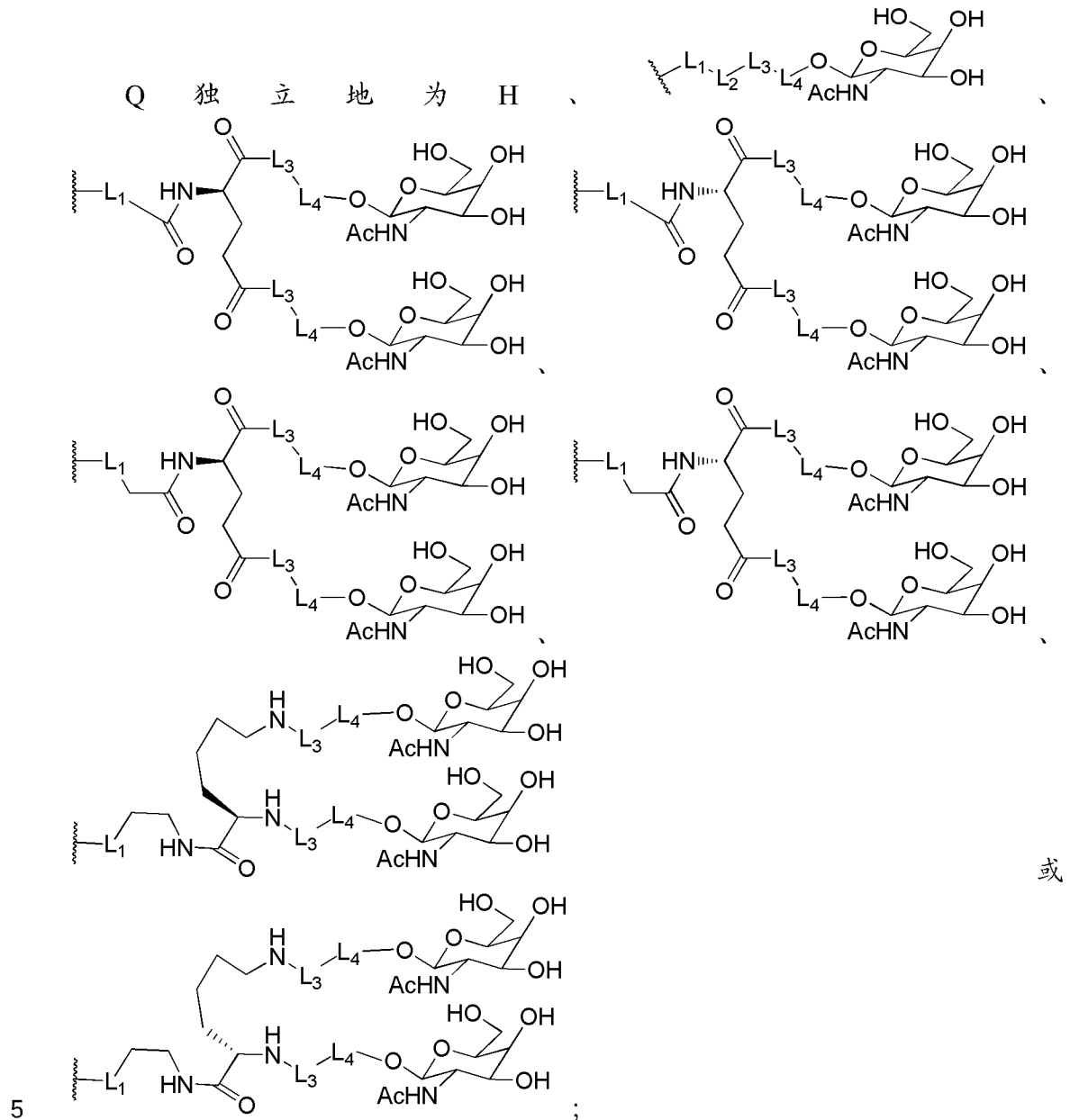
30 (j) 所述正义链包含  
AmsGmsAmGmUmAmUfUfAfUmGmGmAmAmCmGmAmGmsUm (SEQ ID NO:  
740) , 并且所述反义链包含  
AmsCfsUmCfGmUfUmCfCmAfUmAfAmUfAmCfUmCfUmsGfsAm (SEQ ID NO:  
691)。

35 在一些实施方案中, 所述siRNA进一步与包含N-乙酰半乳糖胺的配体缀合, 优选所述siRNA的正义链与所述配体缀合。在一些优选的实施方案中, 所述正义链的3'端与所述配体缀合。在另一些优选的实施方案中, 所述正义链的5'端与所述配体缀合。

在一些实施方案中, 所述配体包含式(X')所示的缀合基团:



其中,  
 表示与siRNA连接的位置;



或

其中L<sub>1</sub>为化学键、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-C(O)-、-CH<sub>2</sub>O-、-CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-或-NHC(O)-(CH<sub>2</sub>NHC(O))<sub>a</sub>-;

L<sub>2</sub>为化学键或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-;

L<sub>3</sub>为化学键、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-或-C(O)CH<sub>2</sub>-;

10 L<sub>4</sub>为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-或-NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;

其中a=0、1、2或3;

b=1、2、3、4或5;

c=1、2、3、4或5;

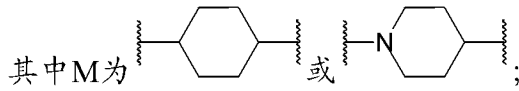
15 d=1、2、3、4、5、6、7或8;

L为化学键、-CH<sub>2</sub>O-或-NHC(O)-;

L'为化学键、-C(O)NH-、-NHC(O)-或-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>e</sub>-;

其中e为1、2、3、4或5;

T为化学键、-CH<sub>2</sub>-、-C(O)-、-M-、-CH<sub>2</sub>-M-或-C(O)-M-;



R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>一起形成-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-或-CH<sub>2</sub>CH(R)-O-, 并且R<sub>3</sub>为H;

或者R<sub>1</sub>和R<sub>3</sub>一起形成-C<sub>1-2</sub>亚烷基-, 并且R<sub>2</sub>为H;

其中R为-OR'、-CH<sub>2</sub>OR'或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR', 其中R'为H、羟基保护基或固相载体,

5 体, 所述羟基保护基优选-C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH或4,4'-二甲氧基三苯甲基;

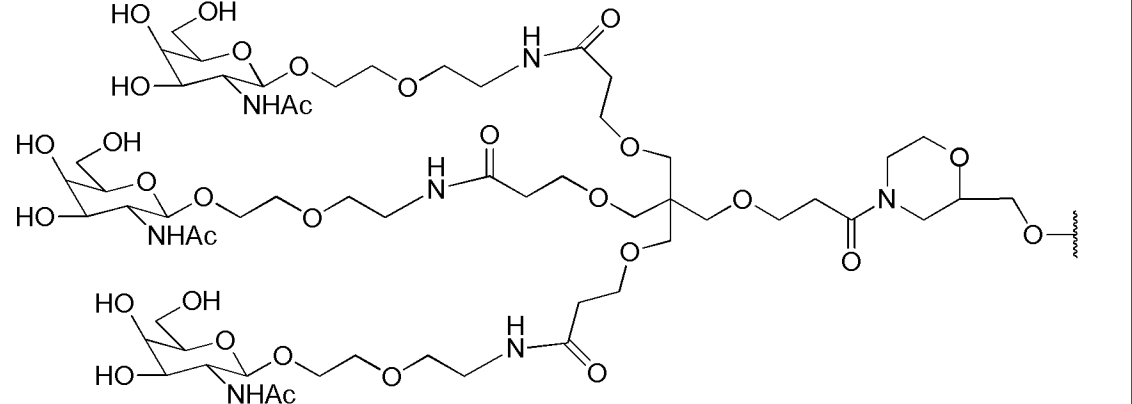
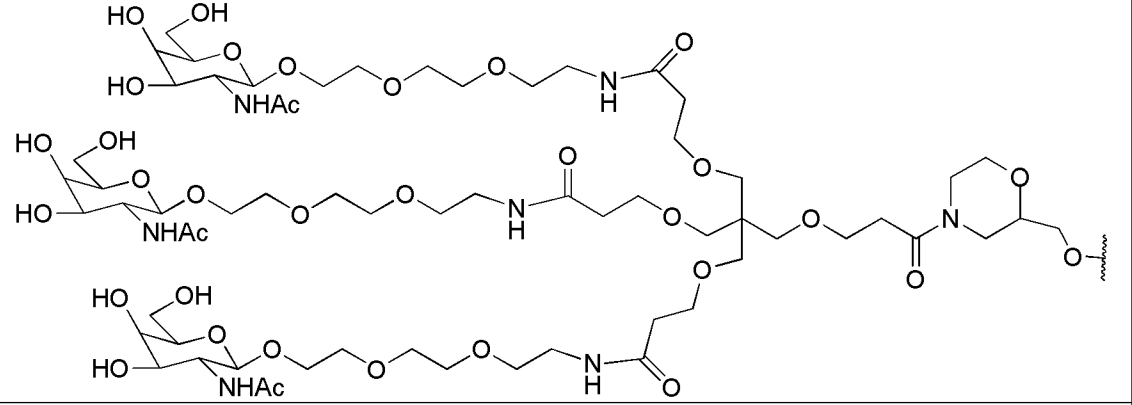
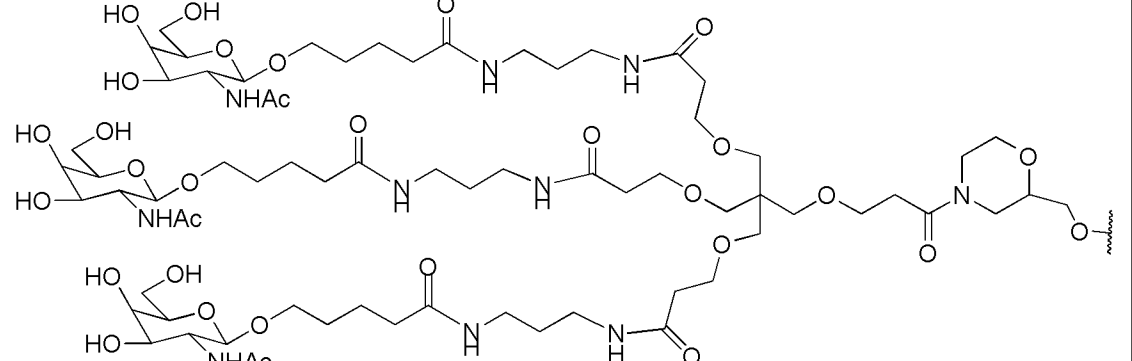
m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;

n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

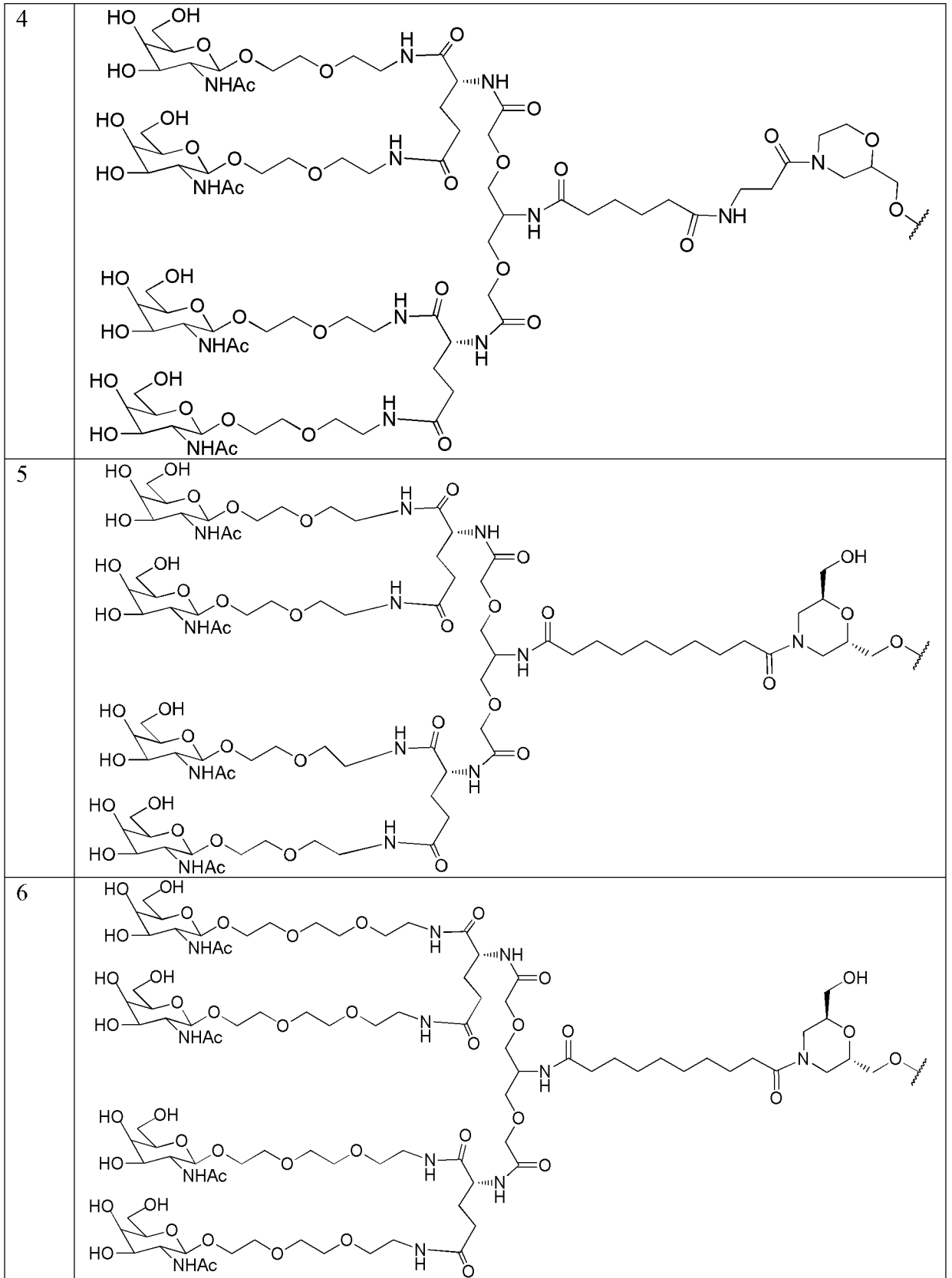
10 在一些实施方案中, 所述缀合配体靶向去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)。

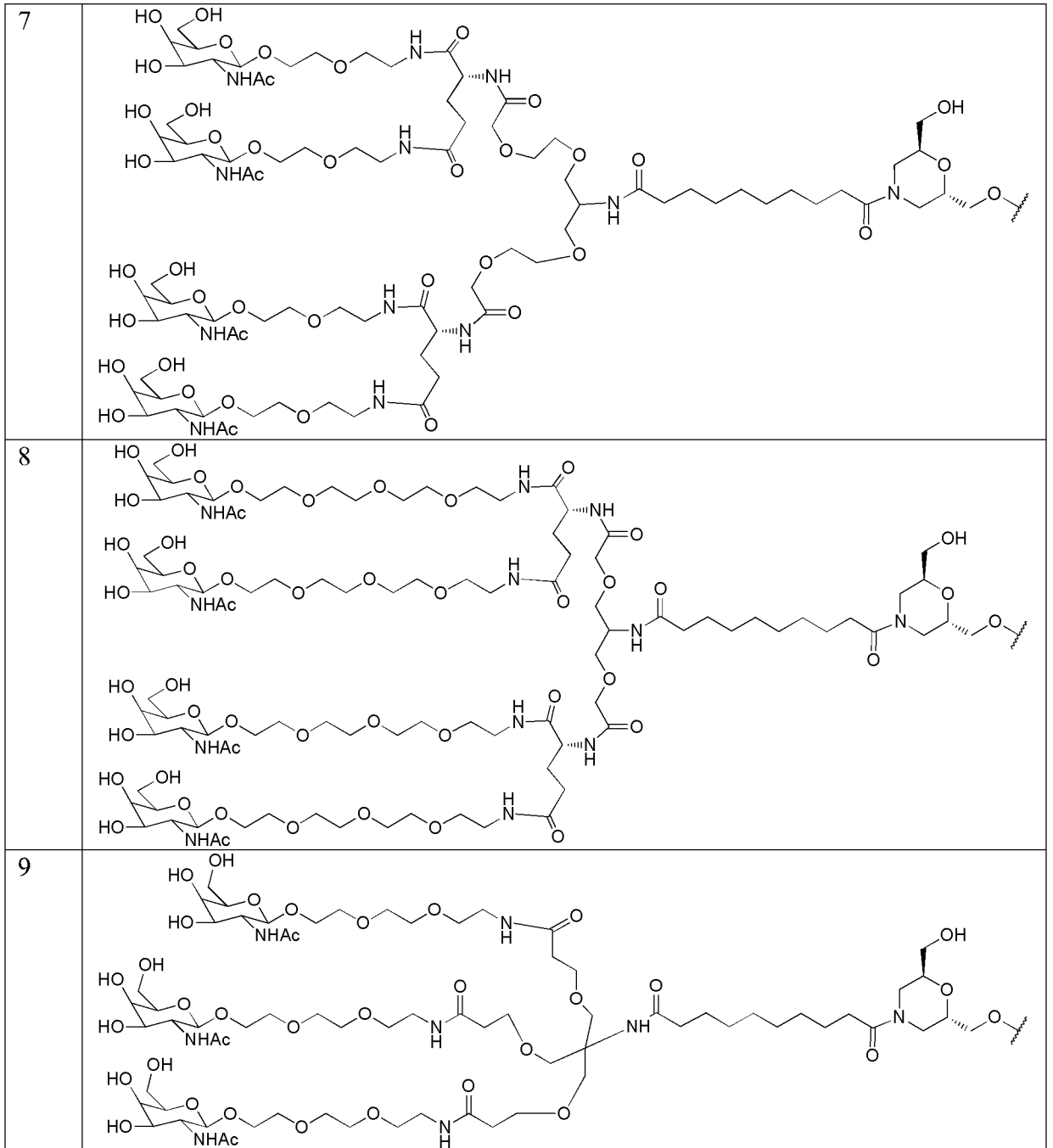
在一些优选的实施方案中, 所述缀合基团选自表1:

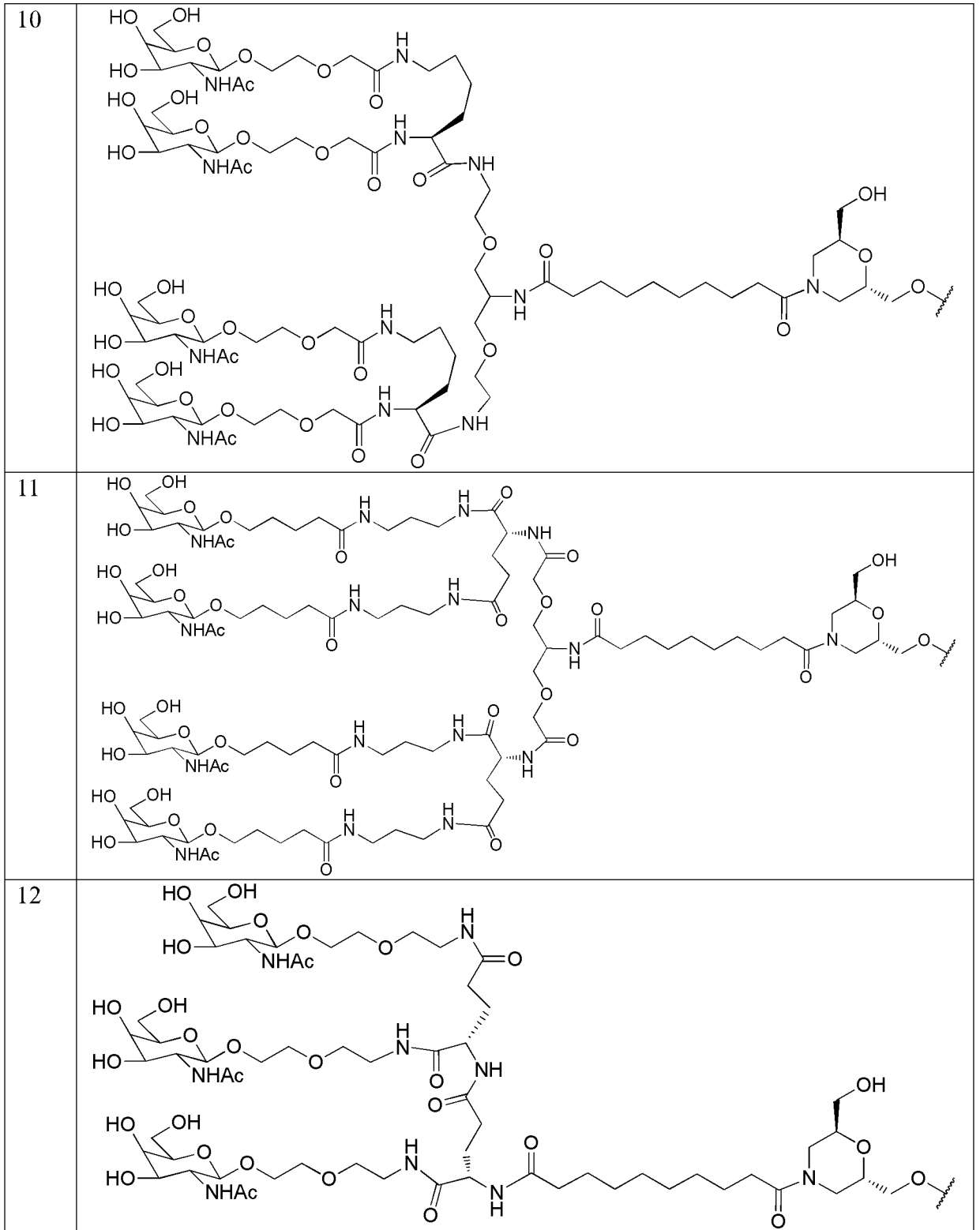
表1 缀合基团的结构

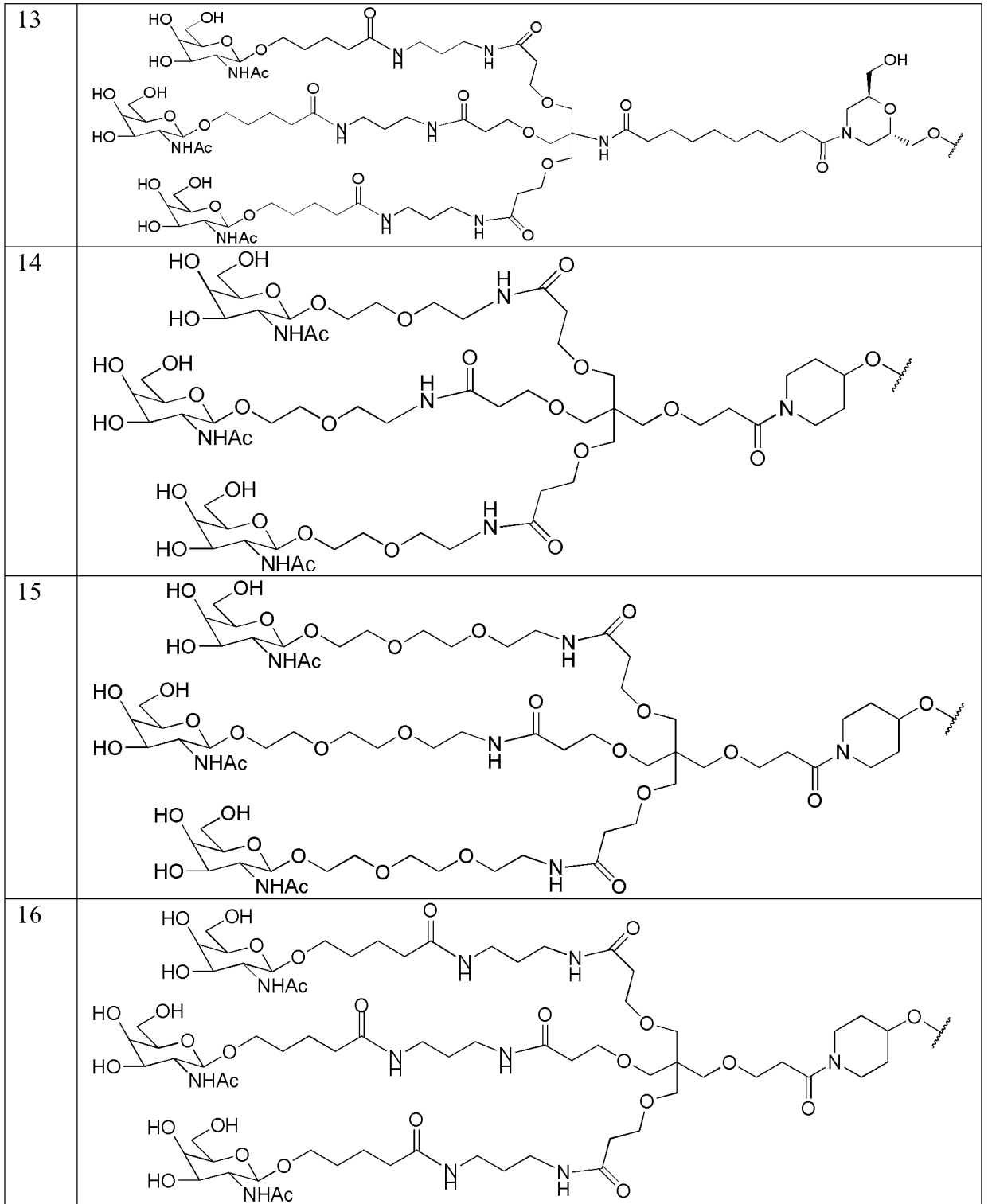
编号	结构
1	
2	
3	









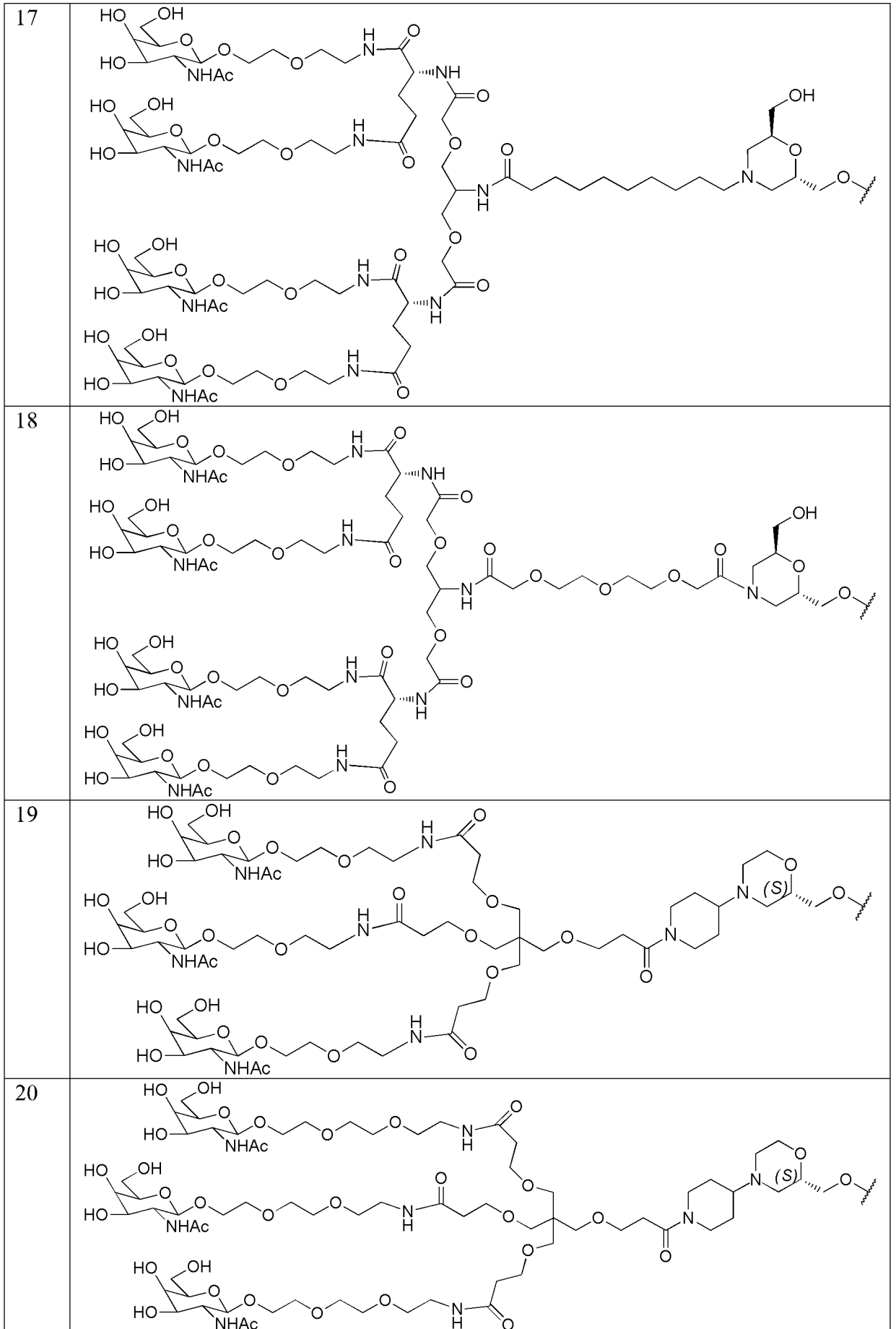


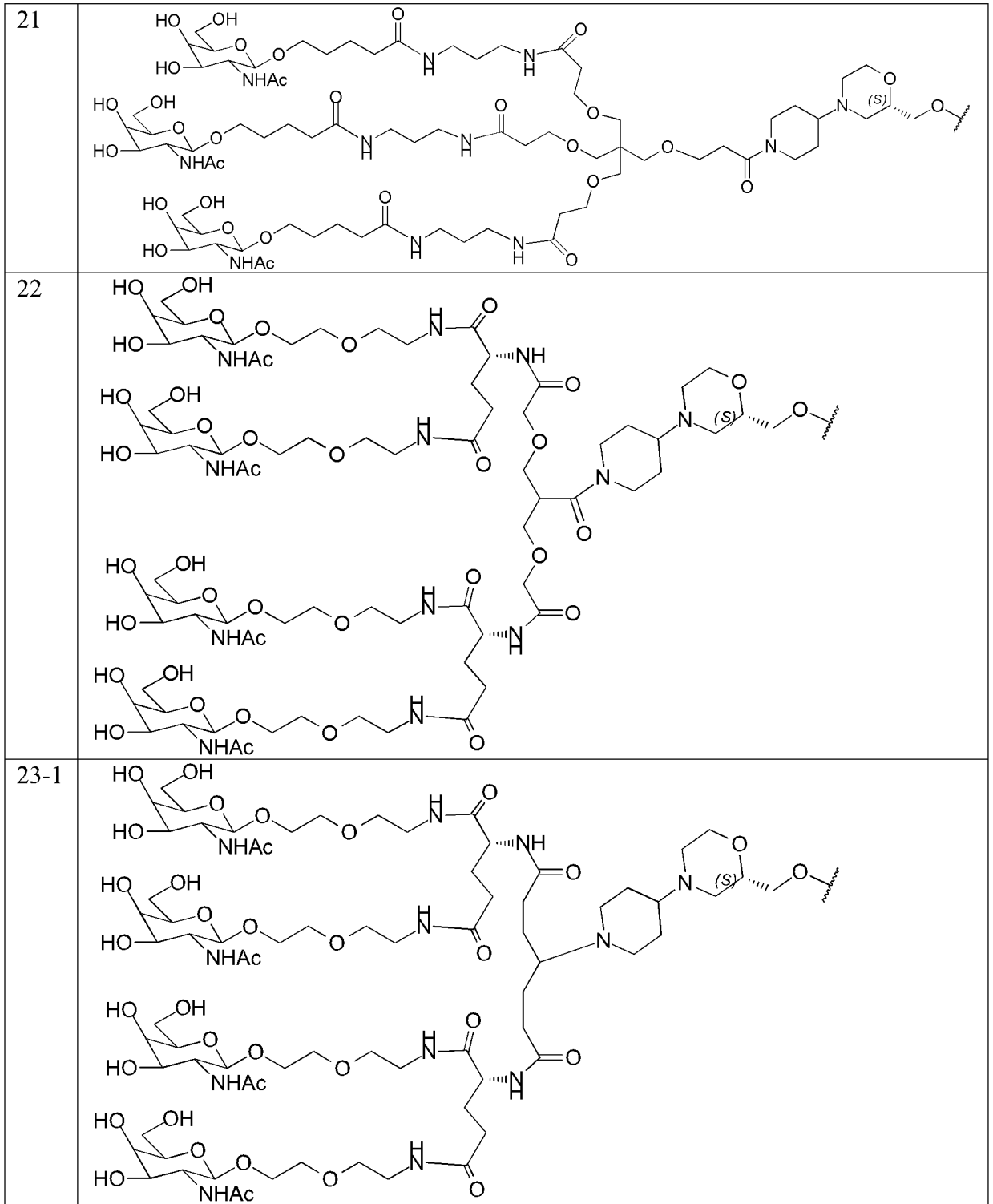
在一些具体的实施方案中， 表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与所述 siRNA 的正义链连接的位置。

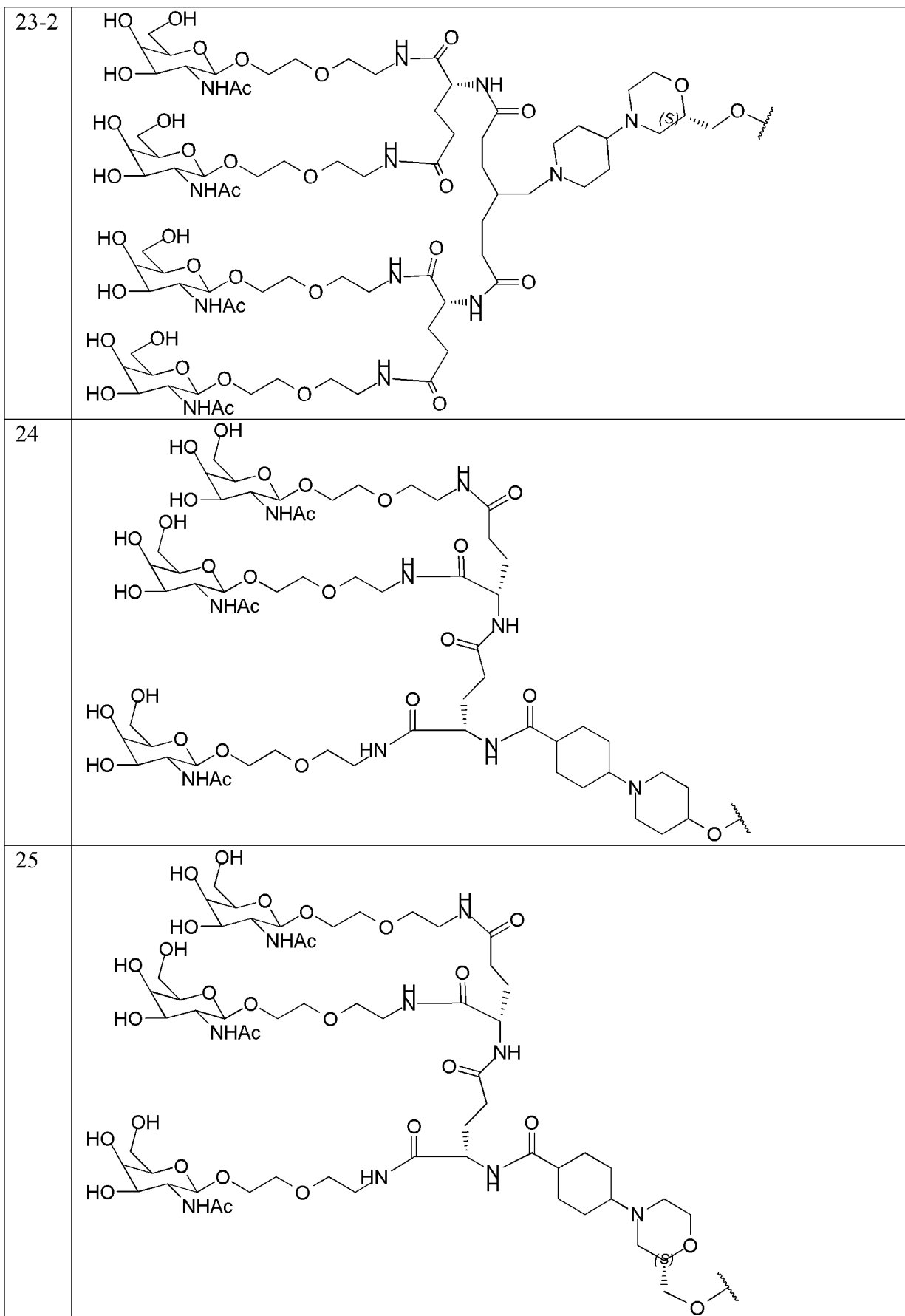
在一些优选的实施方案中，所述缀合基团选自表 2:

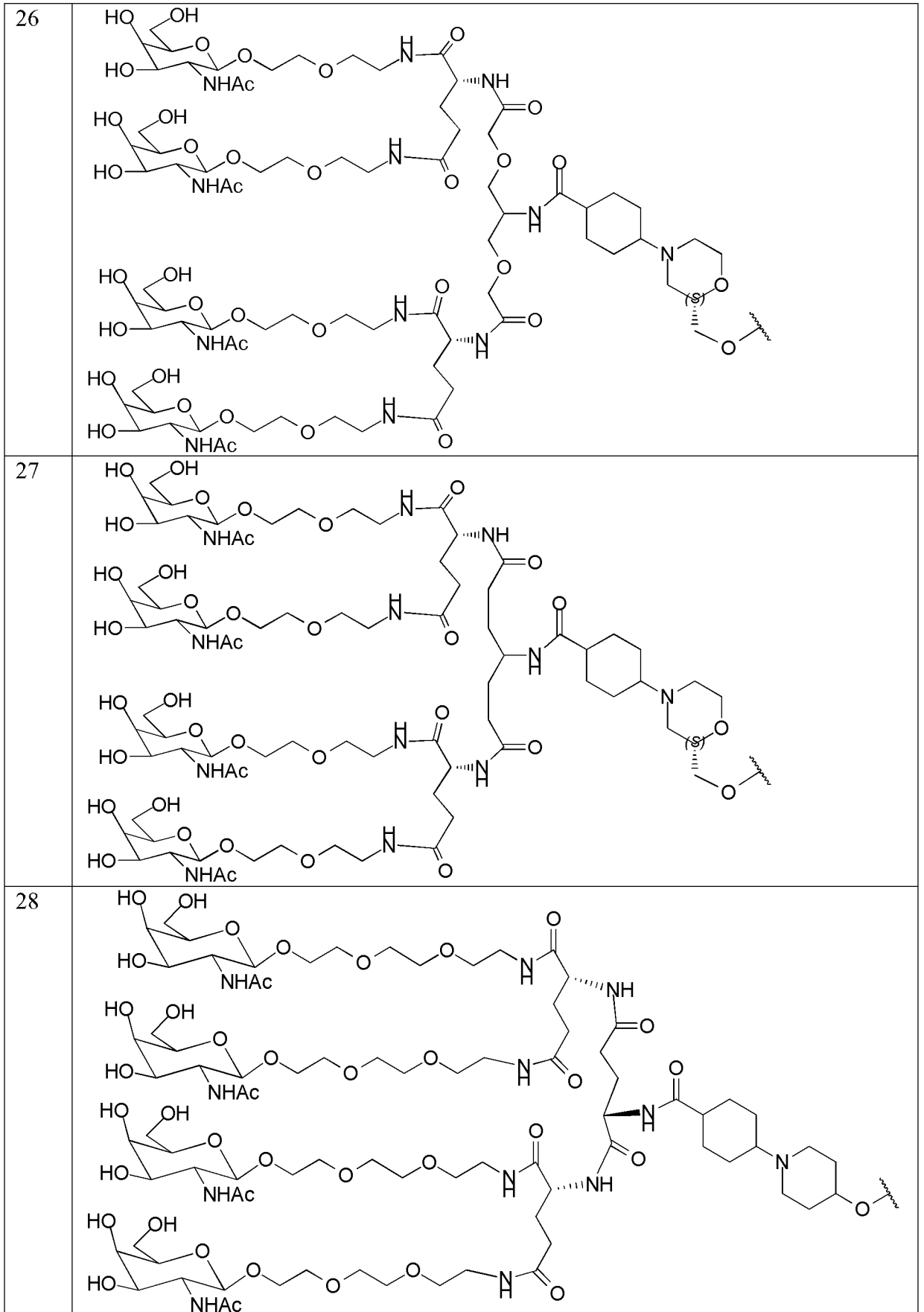
表 2 缀合基团的结构

编号	结构
----	----

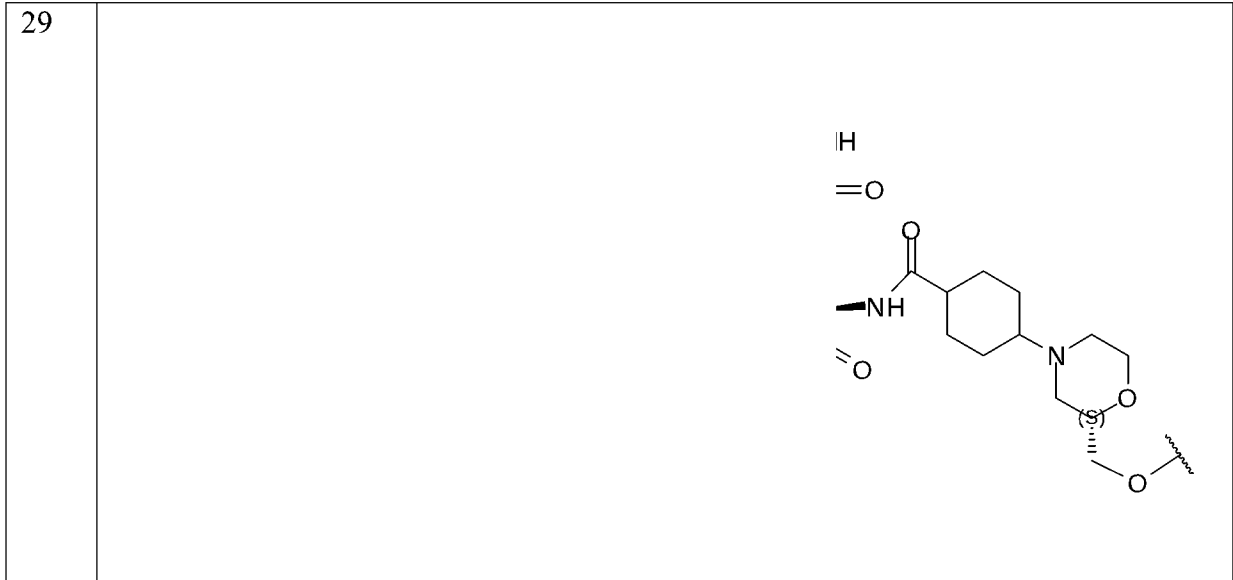







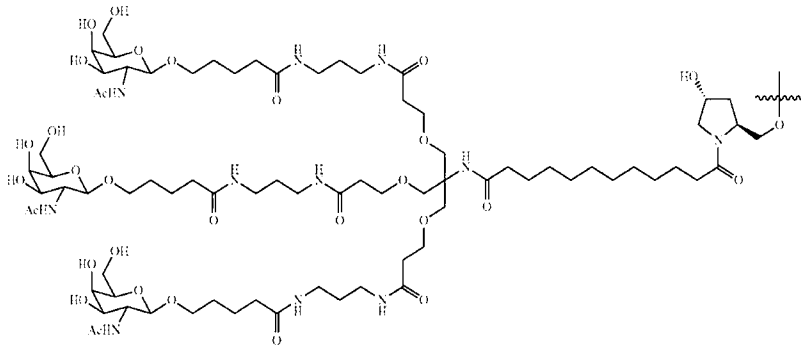







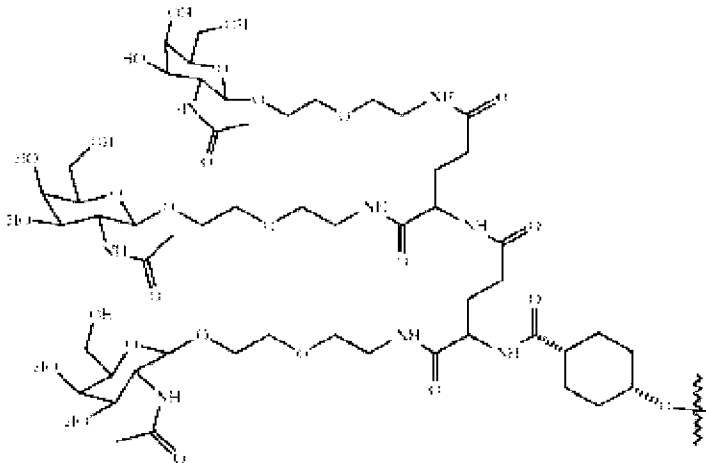
。在一些具体的实施方案中， 表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与所述 siRNA 的正义链连接的位置


在一些实施方案中，所述 siRNA 中包含的所述配体具有以下结构：



5 其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与所述 siRNA 的正义链连接的位置。

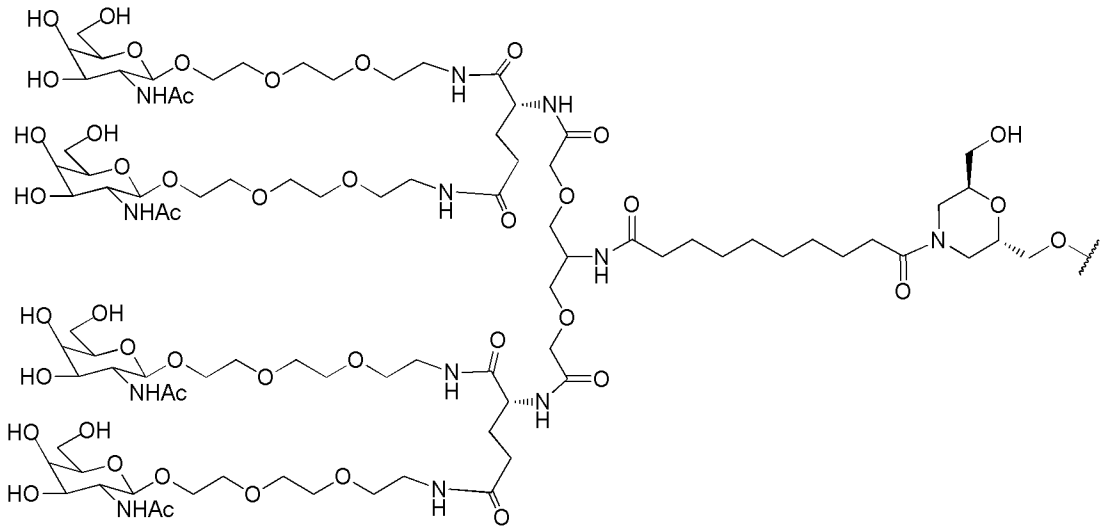
在一些实施方案中，所述 siRNA 中包含的所述配体具有以下结构：




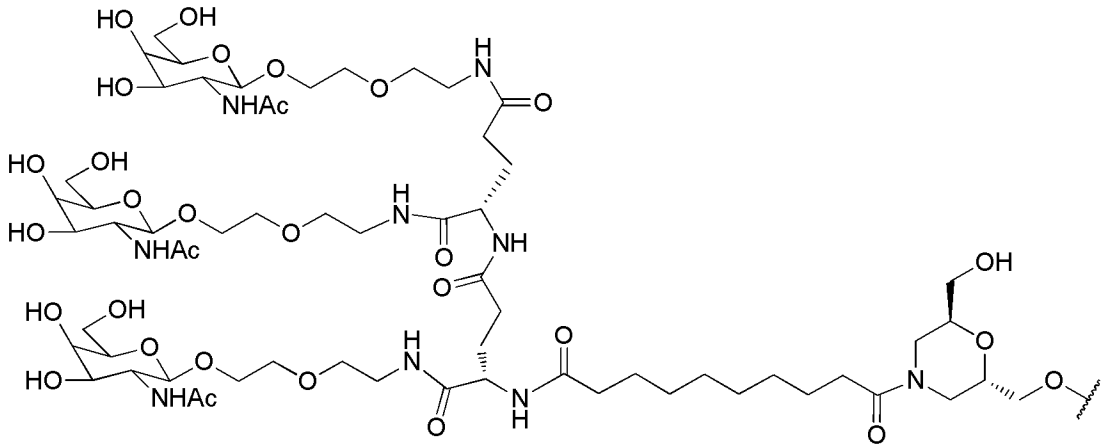
其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与所述 siRNA 的正义链连接的


位置。

在一些实施方案中，本发明的 siRNA 中包含的配体具有以下结构：



5 其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与 siRNA 连接的位置。  
 在一些实施方案中，本发明的 siRNA 中包含的配体具有以下结构：



10 其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与 siRNA 连接的位置。

在一些实施方案中，

(a) 所述正义链包含 CmsAmsUmGmAmGmAfGfUfUmUmUmAmUmUmCmAmAmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 503)，并且所述反义链包含 UmsUfsUmGfAmAfUmAfAmAfAmCfUmCfUmCfAmUfGmsCfsCm (SEQ ID NO:

15 682);

(b) 所述正义链包含 UmsCmsUmGmCmAmGfAfAfCmAmAmGmAmUmCmGmUmsUms-GL6 (SEQ ID NO: 504)，并且所述反义链包含 AmsAfsCmGfAmUfCmUfUmGfUmUfCmUfGmCfAmGfAmsCfsGm (SEQ ID NO:

20 683);

(c) 所述正义链包含 UmsGmsGmCmAmUmUfGfAfGmAmUmGmAmAmGmUmUmsUms-GL6 (SEQ ID NO: 505)，并且所述反义链包含

AmsAfsAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfUmGfCmCfAmsAfsUm (SEQ ID NO: 684);

(d) 所述正义链包含 UmsUmsCmAmAmGmAfAfUfAmUmGmCmUmGmUmUmUmsUms-GL6 (SEQ ID NO: 506) , 并且所述反义链包含 AmsAfsAmAfCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmsCfsUm (SEQ ID NO: 685);

(e) 所述正义链包含 GmsAmsGmAmUmGmAfAfGfUmUmCmAmAmGmAmAmUmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 507) , 并且所述反义链包含 UmsAfsUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmUfCmsAfsAm (SEQ ID NO: 686);

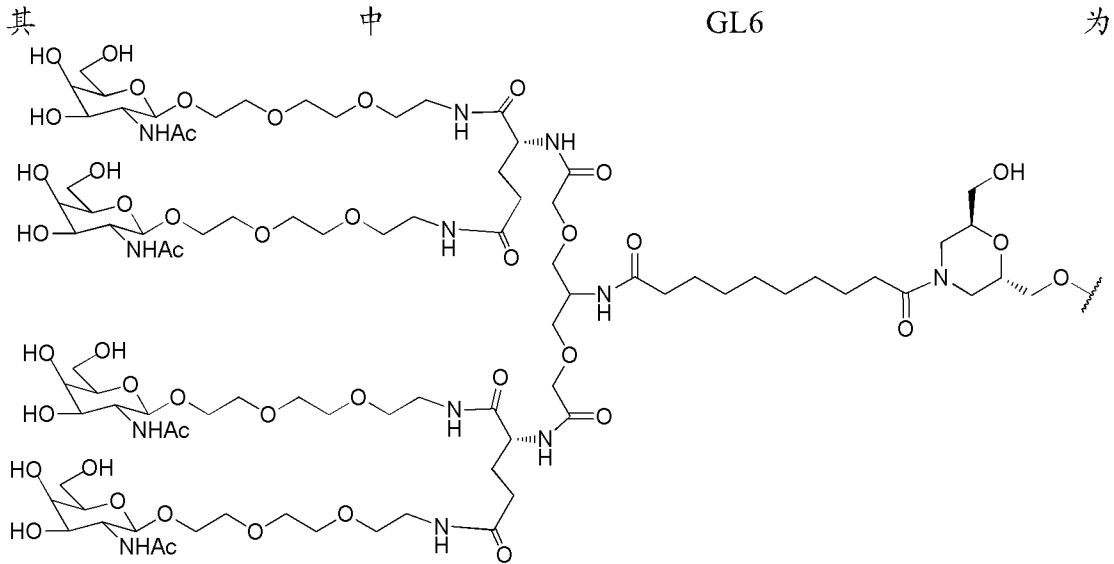
(f) 所述正义链包含 UmsCmsAmAmGmAmAfUfAfUmGmCmUmGmUmUmUmCmsUms-GL6 (SEQ ID NO: 508) , 并且所述反义链包含 AmsGfsAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmsAfsCm (SEQ ID NO: 687);

(g) 所述正义链包含 GmsCmsAmUmGmAmGfAfGfUmUmUmUmAmUmUmCmAmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 509) , 并且所述反义链包含 UmsUfsGmAfAmUfAmAfAmAfCmUfCmUfCmAfUmGfCmsCfsAm (SEQ ID NO: 688);

(h) 所述正义链包含 GmsAmsAmUmAmUmGfCfUfGmUmUmUmCmCmUmAmUmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 510) , 并且所述反义链包含 UmsAfsUmAfGmGfAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmsUfsUm (SEQ ID NO: 689);

(i) 所述正义链包含 GmsAmsUmGmAmAmGfUfUfCmAmAmGmAmAmUmAmUmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 511) , 并且所述反义链包含 UmsAfsUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmsUfsCm (SEQ ID NO: 690); 或

(j) 所述正义链包含 AmsGmsAmGmUmAmUfUfAfUmGmGmAmAmCmGmAmsGmsUm-GL6 (SEQ ID NO: 512) , 并且所述反义链包含 AmsCfsUmCfGmUfUmCfCmAfUmAfAmUfAmCfUmCfUmsGfsAm (SEQ ID NO: 691);



其中 表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与siRNA连接的位置。

- 5 在第二方面，本发明提供了一种细胞，其含有本发明所述的 siRNA。
- 在第三方面，本发明提供了一种药物组合物，其包含本发明所述的 siRNA 或细胞，以及任选的药学上可接受的载剂或赋形剂。
- 在第四方面，本发明提供了一种试剂盒，其包含本发明所述的 siRNA、细胞或药物组合物。
- 10 在第五方面，本发明提供了一种减少受试者中黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 或尿酸水平的方法，所述方法包括向所述受试者施用本发明所述的 siRNA、细胞、或药物组合物的步骤。本发明还提供了一种治疗受试者中获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症的方法，所述方法包括向所述受试者施用本发明所述的 siRNA、细胞、或药物组合物的步骤。本发明还提供了一种预防患有获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症的患者中至少一种症状的方法，所述方法包括向所述受试者施用本发明所述的 siRNA、细胞、或药物组合物的步骤。
- 15 在一些实施方案中，所述获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症是黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 相关疾病。在一些实施方案中，所述黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 相关疾病选自自由以下组成的组：高尿酸血症、痛风以及由高血尿酸导致的高血压、糖尿病、冠心病和肾脏疾病。
- 20 在一些实施方案中，本发明的治疗受试者中获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症的方法、预防患有获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症的患者中至少一种症状的方法或减少受试者中黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 或尿酸水平的方法包括向所述受试者皮下施用、局部施用或静脉内施用所述 siRNA、细胞或药物组合物。在一些实施方案中，所述受试者是人患者。
- 25

**发明详述**

以下通过特定的具体实例说明本发明的实施方式，本领域技术人员可由本说明书所揭露的内容轻易地了解本发明的其他优点与功效。本发明还可以通过另外不同的具体实施方式实施或应用，本说明书中的各项细节也可以基于不同观点与应用，在没有背离本发明的精神下进行各种修饰或改变。

应理解，本发明的保护范围不局限于下述特定的具体实施方案；还应当理解，

本发明实施例中使用的术语是为了描述特定的具体实施方案，而不是为了限制本发明的保护范围。

在本发明说明书和权利要求书中，除非文中另外明确指出，单数形式“一个”、“一”和“这个”包括复数形式。

- 5 当实施例给出数值范围时，应理解，除非本发明另有说明，每个数值范围的两个端点以及两个端点之间任何一个数值均可选用。除非另外定义，本发明中使用的所有技术和科学术语与本技术领域技术人员通常理解的意义相同。除实施例中使用的具体方法、设备、材料外，根据本技术领域的技术人员对现有技术的掌握及本发明的记载，还可以使用与本发明实施例中所述的方法、设备、材料相似或等同的现有技术的任何方法、设备和材料来实现本发明，均属于本发明的保护范围。下文更具体详细说明本发明的实施方式。

#### 定义

- 15 本文术语“siRNA”是一类双链 RNA 分子，其可以介导与其互补的靶 RNA(例如 mRNA，例如，编码蛋白质的基因的转录物)的沉默。siRNA 通常是双链的，包括与靶 RNA 互补的反义链，和与该反义链互补的正义链。为方便起见，这样的 mRNA 在此也被称为有待被沉默的 mRNA。这样的基因也称为靶基因。通常，有待被沉默的 RNA 是内源基因或病原体基因。另外，除了 mRNA 以外的 RNA(例如 tRNA)以及病毒 RNA 也可以被靶向。

- 20 如在此使用的，术语“反义链”是指 siRNA 的这样一条链，所述链包含与靶序列完全或基本互补的区域。

- 如在此使用的，术语“互补区域”是指反义链上与靶 mRNA 序列完全或基本互补的区域。在互补区域与靶序列不完全互补的情况下，错配可以位于分子的内部或末端区域中。通常，最耐受的错配位于末端区域中，例如，在 5'和/或 3'端的 5、4、3、2 或 1 个核苷酸内。对错配最敏感的反义链部分被称为“种子区”。例如，25 在包含 19nt 的链的 siRNA 中，第 19 个位置(从 5'向 3')可以耐受一些错配。

如此处所使用，术语“互补”是指第一多核苷酸在某些条件例如严格条件下与第二多核苷酸杂交的能力。例如，严格条件可包括 400mM NaCl、40mM PIPES pH 6.4、1mM EDTA 在 50°C或 70°C下持续 12-16 小时。

- 30 如此处所使用，就满足以上相对于它们杂交的能力而言的要求来说，“互补”序列还可以包括或完全形成自非沃森-克里克碱基对和/或从非天然的以及经修饰的核苷酸形成的碱基对。此类非沃森-克里克碱基对包括但不限于 G:U 摇摆碱基配对或 Hoogstein 碱基配对。

- 如此处使用的，与信使 RNA(mRNA)的“至少部分互补”或“基本上互补”的多核苷酸是指与感兴趣的 mRNA(例如，编码 XDH 的 mRNA)的连续部分基本互补的多核苷酸。例如，如果序列与编码 XDH 的 mRNA 的非中断部分基本上互补，35 则多核苷酸与 XDH mRNA 的至少部分互补。

在此的术语“互补”、“完全互补”和“基本上互补”可以相对于 siRNA 的正义链与反义链之间，或 siRNA 试剂的反义链与靶序列之间的碱基配对使用。

- 如此处使用的，术语“正义链”是指 siRNA 的这样一条链，所述链包括与作为40 在此定义的术语反义链的区域基本互补的区域。

“核苷”是由嘌呤碱或嘧啶碱、以及核糖或脱氧核糖两种物质组成的化合物，“核苷酸”则是由嘌呤碱或嘧啶碱、核糖或脱氧核糖以及磷酸三种物质组成的化合物，“寡核苷酸”是指例如具有少于 100、200、300 或 400 个核苷酸长度的核酸分子(RNA 或 DNA)。

“碱基”是合成核苷、核苷酸和核酸的基本组成单位，其组成元素中含有氮，也称“含氮碱基”。本文中，如无特别说明，大写字母 A、U、T、G 和 C 表示核苷酸的碱基组成，分别为腺嘌呤、尿嘧啶、胸腺嘧啶、鸟嘌呤和胞嘧啶。

如在此使用的，术语“核苷酸突出端”是指至少一个未配对的核苷酸，其从 siRNA 的双链体结构(例如，siRNA)突出。例如当 siRNA 的一条链的 3'-末端延伸超过另一条链的 5'-末端时或反之亦然，存在核苷酸突出端。siRNA 可以包含具有至少一个核苷酸的突出端；替代地，该突出端可以包含至少两个核苷酸、至少三个核苷酸、至少四个核苷酸、至少五个核苷酸或更多。核苷酸突出端可以包含核苷酸/核苷类似物(包括脱氧核苷酸/核苷)或由其组成。一个或多个突出端可以处于正义链、反义链或其任何组合上。另外，突出端的一个或多个核苷酸可以存在于 siRNA 的反义或正义链的 5'-末端、3'-末端或两个末端上。

“平端”或“平末端”意指在该双链 siRNA 的该端处不存在不成对的核苷酸，即无核苷酸突出端。“平端”siRNA 是在其整个长度上为双链的 siRNA，即，在分子的任一端处没有核苷酸突出端。本发明的 siRNA 包括在一端处具有核苷酸突出端(即，具有一个突出端和一个平端的试剂)或在两端处都具有核苷酸突出端的 siRNA。

本发明的 iRNA 的基本上所有的核苷酸是修饰的。例如，正义链的基本上所有核苷酸都是修饰的核苷酸，和/或反义链的基本上所有核苷酸都是修饰的核苷酸，和/或正义链和反义链两者的基本上所有核苷酸都是修饰的核苷酸。在本发明其他实施例中，本发明 iRNA 的所有核苷酸都为修饰的核苷酸。例如，正义链的所有核苷酸都是修饰的核苷酸，和/或反义链的所有核苷酸都是修饰的核苷酸，和/或正义链和反义链两者的全部核苷酸都是修饰的核苷酸。其中“基本上所有核苷酸是修饰的”表示本发明的 siRNA 是大部分但不是全部修饰的，并且可以包括不多于 5、4、3、2 或 1 个未修饰的核苷酸。

本文中“修饰的核苷酸”包括但不限于 2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟代修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、肌苷核糖核苷酸、脱碱基核苷酸、反向无碱基脱氧核糖核苷酸、硫代磷酸酯核苷酸间键联修饰、乙烯基膦酸酯修饰的核苷酸、锁核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-烷基-修饰的核苷酸、吗啉代核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、以及连接到胆固醇基衍生物或十二烷酸二癸酰胺基团上的末端核苷酸、脱氧核糖核苷酸或常规保护基保护等。例如，所述 2'-氟代修饰的核苷酸指核苷酸的核糖基 2'位的羟基被氟取代形成的核苷酸。所述 2'-脱氧-修饰的核苷酸指核糖基的 2'-羟基被甲氧基取代而形成的核苷酸。

如本文所使用的，“配体”或“配体部分”是指与 siRNA 缀合的化学部分，其能够改变 siRNA 的分布、靶向或寿命。在优选的实施方案中，与例如不存在这样一个配体的 siRNA 相比，这种配体为选择的靶标(例如分子、细胞或细胞类型、区室(例如细胞或器官区室、组织、器官或身体的区域)提供增强的亲和力。

如在此使用的，术语“抑制”与“减少”、“沉默”、“下调”、以及其他类似术语可互换使用，并且包括任何水平的抑制。

短语“抑制黄嘌呤脱氢酶(XDH)的表达”旨在指抑制任何 XDH 基因以及 XDH 基因的变体或突变体的表达。因此，该 XDH 基因可以是野生型 XDH 基因、突变 XDH 基因、或在遗传操作的细胞、细胞群组或生物体的情形下的转基因 XDH 基因。

“抑制 XDH 基因的表达”包括 XDH 基因的任何水平的抑制，例如 XDH 基因表达的至少部分阻抑。基于与 XDH 基因表达相关的任何变量的水平或水平变化，

例如 XDH mRNA 水平、XDH 蛋白水平，可以评估 XDH 基因表达。此水平可以在个体细胞中或在一组细胞中(包括例如来源于受试者的样品)进行评估。

可以通过与对照水平相比的一个或多个与 XDH 表达相关的变量的绝对或相对水平的降低来评估抑制。对照水平可以是本领域中利用的任何类型的对照水平，例如给药前基线水平或从类似的未经处理或经对照(例如，仅缓冲液对照或惰性剂对照)处理的受试者、细胞、或样品确定的水平。

“羟基保护基”是指能够避免羟基遭受化学反应，又可以在特定条件下脱除以恢复羟基的基团。主要包括硅烷型保护基、酰基型保护基或醚型保护基，优选以下：三甲基硅基(TMS)、三乙基硅基(TEOS)、二甲基异丙基硅基(DMIPS)、二乙基异丙基硅基(DEIPS)、叔丁基二甲基硅基(TBDMS)、叔丁基二苯基硅基(TBDPS)、三异丙基硅基(TIPS)、乙酰基(Ac)、氯乙酰基、二氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基(TFA)、苯甲酰基、对甲氧基苯甲酰基、9-芴基甲氧基羰基(Fmoc)、烯丙氧羰基(Alloc)、2,2,2-三氯乙氧羰基(Troc)、苄氧羰基(Cbz)、叔丁氧羰基(Boc)、苯甲基(Bn)、对甲氧基苄基(PMB)、烯丙基、三苯基甲基(Tr)、双对甲氧基三苯甲基(DMTr)、甲氧基甲基(MOM)、苯氧基甲基(BOM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、甲硫基甲基(MTM)、对甲氧基苄氧基甲基(PMBM)。

“卤代”或“卤素”是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)和碘(I)。

“C<sub>1-6</sub> 卤代烷基”是指上述“C<sub>1-6</sub> 烷基”，其被一个或多个卤素基团取代。在一些实施方案中，C<sub>1-4</sub> 卤代烷基是特别优选的，更优选 C<sub>1-2</sub> 卤代烷基。示例性的所述卤代烷基包括但不限于：-CF<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>F、-CHF<sub>2</sub>、-CHFCH<sub>2</sub>F、-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>、-CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、-CCl<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>Cl、-CHCl<sub>2</sub>、2,2,2-三氟-1,1-二甲基-乙基，等等。卤代烷基基团可以在任何可用的连接点上被取代，例如，1 至 5 个取代基、1 至 3 个取代基或 1 个取代基。

“C<sub>1-6</sub> 亚烷基”是指除去 C<sub>1-6</sub> 烷基的另一个氢而形成的二价基团，并且可以是取代或未取代的。在一些实施方案中，C<sub>1-4</sub> 亚烷基、C<sub>2-4</sub> 亚烷基和 C<sub>1-2</sub> 亚烷基是优选的。未取代的所述亚烷基包括但不限于：亚甲基(-CH<sub>2</sub>-)、亚乙基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)、亚丙基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)、亚丁基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)、亚戊基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)、亚己基(-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-)，等等。示例性的取代的所述亚烷基，例如，被一个或多个烷基(甲基)取代的所述亚烷基，包括但不限于：取代的亚甲基(-CH(CH<sub>3</sub>)-)、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-、取代的亚乙基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-)、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-、取代的亚丙基(-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)-)、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-)，等等。

### 35 I. siRNA

本发明提供了一种用于抑制细胞中黄嘌呤脱氢酶(XDH)的表达的小干扰 RNA(siRNA)，所述 siRNA 包含形成双链区的正义链和反义链，其中所述正义链和所述反义链的长度各自独立地为 15-30 个核苷酸，并且所述反义链包含 SEQ ID NO: 168-332 和 334 中任一项所示的核苷酸序列的至少 15 个连续核苷酸的核苷酸序列。

在一些实施方案中，正义链和反义链形成的双链区是完全互补的。在另一些实施方案中，正义链和反义链形成的双链区是基本上互补的，其中可以包含 1 个、2 个、3 个、4 个或 5 个非互补位点。

在一些具体的实施方案中，所述正义链包含 SEQ ID NO: 1-165 和 167 中任一

项所示的核苷酸序列的至少 15 个连续的核苷酸的核苷酸序列。

在一些实施方案中，所述正义链和所述反义链的长度各自独立地为 15-27 个核苷酸，优选 19-25 个核苷酸，更优选 19-23 个核苷酸。

5 在一些实施方案中，所述双链区的长度为 15-25 个核苷酸对，优选 16-23 个核苷酸对，更优选 18-20 个核苷酸对。

所述正义链和所述反义链之一或两者包含具有至少 1 个核苷酸的 3' 突出端和/或 5' 突出端，例如所述正义链和所述反义链之一或两者包含具有至少 1 个核苷酸的 3' 突出端和/或 5' 突出端。在一些优选的实施方案中，所述反义链具有至少 2 个核苷酸的 3' 突出端和/或 5' 突出端，优选地所述反义链包含具有 2 个核苷酸的 3' 突出端和/或 5' 突出端。在一些实施方案中，所述正义链和所述反义链的长  
10 度相同。在一些实施方案中，所述正义链的全长与所述反义链的全长互补形成双链，即具有平末端。在另一些实施方案中，所述正义链和所述反义链长度相同，正义链的一部分与反义链的一部分互补，即正义链和反义链均具有 5' 突出端。在另一些实施方案中，所述正义链和所述反义链的长度不同。在优选的实施方案中，反义链的 5' 端具有至少 1 个核苷酸的突出端，更优选 2 个或 3 个核苷酸的突出端。  
15

在一些实施方案中，所述反义链包含 SEQ ID NO: 168-332 和 334 中任一项所示的核苷酸序列的至少 16 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 17 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 18 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 19 个连续核苷酸的核苷酸序列，或至少 20 个连续核苷酸的核苷酸序列，优选所述反义链包含 SEQ ID  
20 NO: 168-332 和 334 中任一项所示的核苷酸序列。

在一些实施方案中，所述正义链包含与 SEQ ID NO: 1-165 和 167 中所示的核苷酸序列任一项的至少 16 个连续核苷酸的核苷酸序列，至少 17 个连续核苷酸的核苷酸序列，或至少 18 个连续核苷酸的核苷酸序列，优选所述反义链包含 SEQ  
25 ID NO: 1-165 和 167 中任一项所示的核苷酸序列。

在一些实施方案中，所述 siRNA 包含如表 3 所示的配对的正义链序列和反义链序列。

## II. 核苷酸的修饰

30 在一些实施方案中，所述正义链的基本上所有的核苷酸和所述反义链的基本上所有的核苷酸是修饰的核苷酸。在一些实施方案中，所述正义链的至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 的核苷酸是修饰的核苷酸，和/或所述反义链的至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 的核苷酸是修饰的核苷酸。

35 在一些实施方案中，所述正义链的所有的核苷酸和/或所述反义链的所有的核苷酸是修饰的核苷酸。

本发明所述的核苷酸的修饰可以是在核苷酸的磷酸基团、核糖基团和/或碱基基团上的修饰。

40 在一些具体的实施方案中，所述正义链和所述反义链各自独立地包含选自下组的一种或多种核苷酸修饰：2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟代修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、肌苷核糖核苷酸、脱碱基核苷酸、反向无碱基脱氧核糖核苷酸、硫代磷酸酯核苷酸间键联修饰、乙烯基磷酸酯修饰的核苷酸、锁核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-烷基-修饰的核苷酸、吗啉代核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、以及连接到胆固醇基衍生物或十二烷酸二癸酰胺基团上的末端核苷酸和脱氧核糖核苷酸。



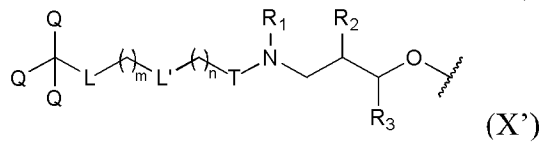
在一些优选的实施方案中，所述正义链和所述反义链各自独立地包含选自下组的一种或多种核苷酸修饰：2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟代修饰的核苷酸、反向无碱基脱氧核糖核苷酸、和硫代磷酸酯核苷酸间键联修饰。在一些优选的实施方案中，所述正义链和/或所述反义链包含至少2个2'-氟代修饰的核苷酸。在5 一些优选的实施方案中，所述正义链和/或所述反义链包含至少8个2'-O-甲基修饰的核苷酸。在一些优选的实施方案中，所述正义链和/或所述反义链的3'末端和/或5'末端包含1-5个硫代磷酸酯基团，优选2-3个硫代磷酸酯基团。

在一些优选的实施方案中，所述反义链包含说明书表5中任一项所示的经修饰的核苷酸序列，和/或所述正义链包含说明书表4中任一项所示的经修饰的核苷酸序列。在10 一些优选的实施方案中，所述siRNA包含说明书表6中任一项所示的配对的经修饰的正义链序列和经修饰的反义链序列。

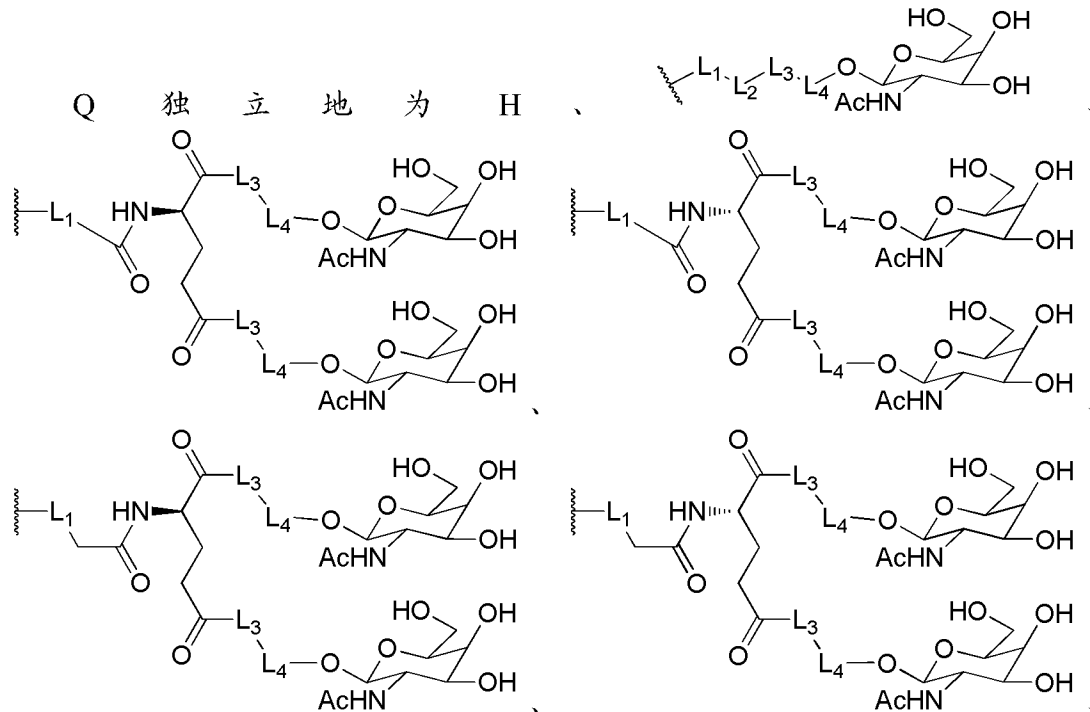
III. 配体

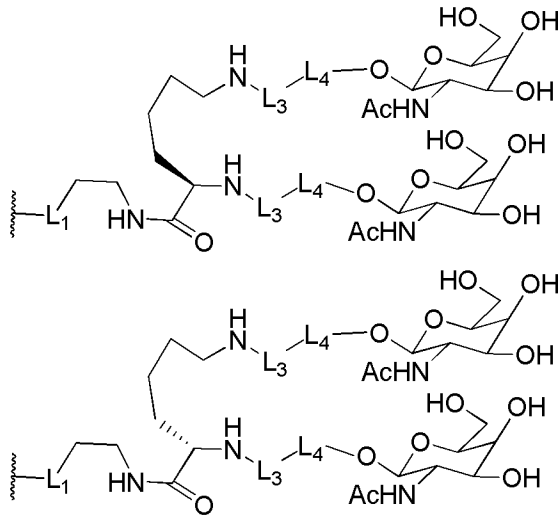
本发明所述的siRNA进一步与包含N-乙酰半乳糖胺的配体缀合。在优选的15 实施方案中，所述siRNA的正义链与所述配体缀合。在一些优选的实施方案中，所述正义链的3'端与所述配体缀合。在另一些优选的实施方案中，所述正义链的5'端与所述配体缀合。

在一些实施方案中，所述配体包含式(X')所示的缀合基团：



20 其中，  
 表示与 siRNA 连接的位置；





或

其中 L<sub>1</sub> 为化学键、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-C(O)-、-CH<sub>2</sub>O-、-CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-  
或-NHC(O)-(CH<sub>2</sub>NHC(O))<sub>a</sub>-;

5 L<sub>2</sub> 为化学键或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-;

L<sub>3</sub> 为化学键、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-或-C(O)CH<sub>2</sub>-;

L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、  
10 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-或-NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;

其中 a=0、1、2 或 3;

10 b=1、2、3、4 或 5;

c=1、2、3、4 或 5;

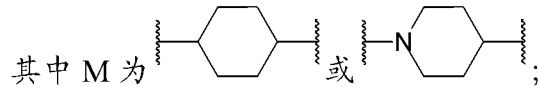
d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

L 为化学键、-CH<sub>2</sub>O-或-NHC(O)-;

L' 为化学键、-C(O)NH-、-NHC(O)-或-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>e</sub>-;

15 其中 e 为 1、2、3、4 或 5;

T 为化学键、-CH<sub>2</sub>-、-C(O)-、-M-、-CH<sub>2</sub>-M-或-C(O)-M-;



R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 一起形成-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-或-CH<sub>2</sub>CH(R)-O-，并且 R<sub>3</sub> 为 H;

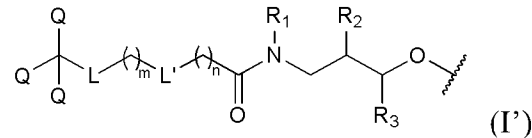
或者 R<sub>1</sub> 和 R<sub>3</sub> 一起形成-C<sub>1-2</sub> 亚烷基-，并且 R<sub>2</sub> 为 H;

20 其中 R 为-OR'、-CH<sub>2</sub>OR'或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR'，其中 R' 为 H、羟基保护基或固  
相载体，所述羟基保护基优选-C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

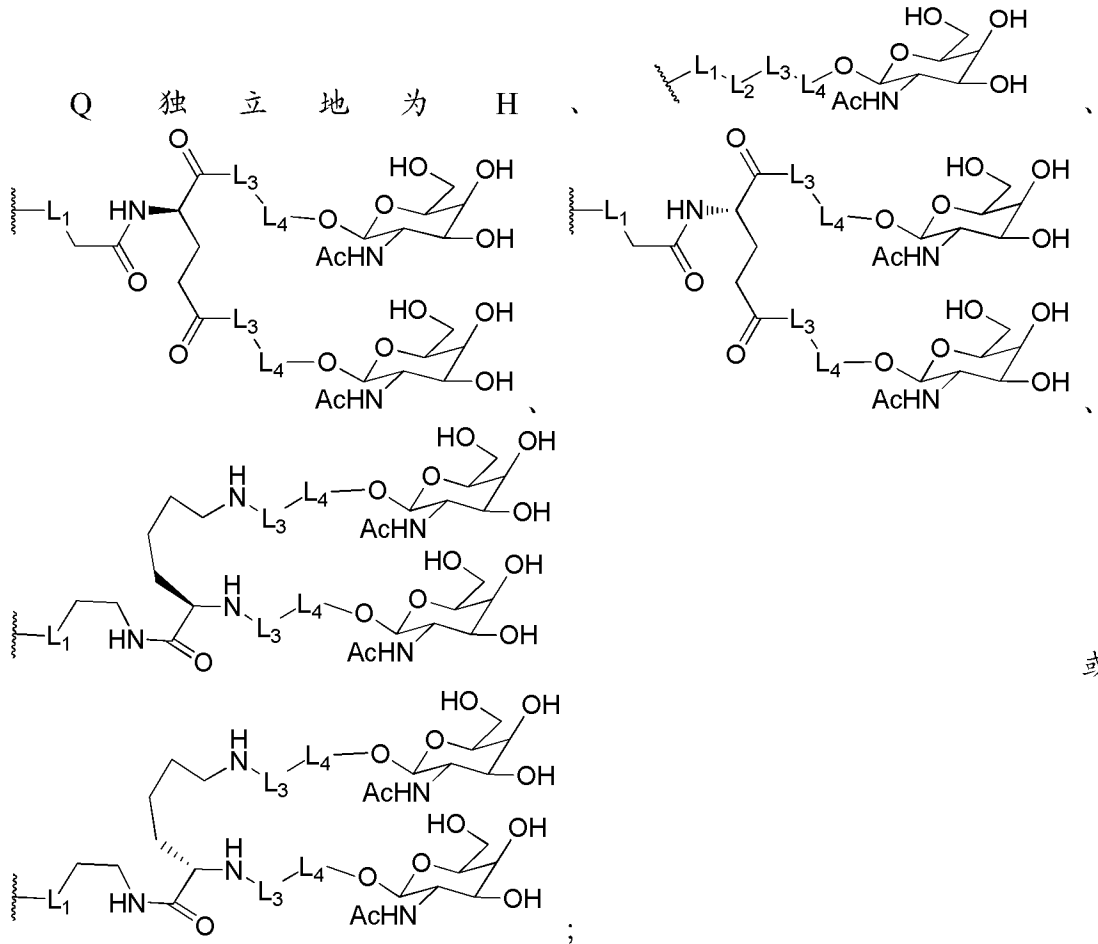
n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

25 在一些实施方案中，所述缀合基团如式(I')所示:



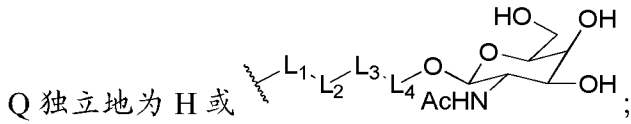
其中，

表示与 siRNA 连接的位置;



- 5 其中 L<sub>1</sub> 为化学键、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-C(O)-、-CH<sub>2</sub>O-、-CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>NHC(O))<sub>a</sub>-;
- L<sub>2</sub> 为化学键或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-;
- L<sub>3</sub> 为化学键、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>- 或 -C(O)CH<sub>2</sub>-;
- 10 L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;
- 其中 a=0、1、2 或 3;
- b=1、2、3、4 或 5;
- c=1、2、3、4 或 5;
- d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;
- 15 L 为 -CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-;
- L' 为化学键、-C(O)NH- 或 -NHC(O)-;
- R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 一起形成 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- 或 -CH<sub>2</sub>CH(R)-O-, 并且 R<sub>3</sub> 为 H;
- 或者 R<sub>1</sub> 和 R<sub>3</sub> 一起形成 -C<sub>1-2</sub> 亚烷基-, 并且 R<sub>2</sub> 为 H;
- 其中 R 为 -OR'、-CH<sub>2</sub>OR' 或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR', 其中 R' 为 H、羟基保护基或固
- 20 相载体, 所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;
- m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;
- n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

在一些具体的实施方案中, 其中,



其中 L<sub>1</sub> 为 -CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>NHC(O))<sub>a</sub>-;

L<sub>2</sub> 为 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-;

L<sub>3</sub> 为 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>- 或 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-;

5 L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;

其中 a=0、1、2 或 3;

b=1、2、3、4 或 5;

c=1、2、3、4 或 5;

d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

10 L 为 -CH<sub>2</sub>O-;

L' 为化学键;

R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 一起形成 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- 或 -CH<sub>2</sub>CH(R)-O-, 并且 R<sub>3</sub> 为 H;

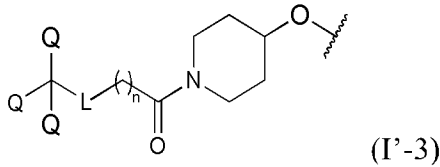
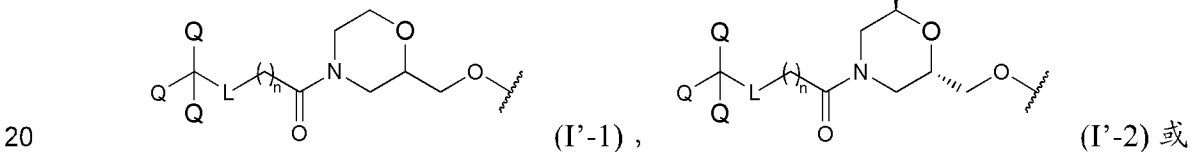
或者 R<sub>1</sub> 和 R<sub>3</sub> 一起形成 -C<sub>1-2</sub> 亚烷基-, 并且 R<sub>2</sub> 为 H;

15 其中 R 为 -OR'、-CH<sub>2</sub>OR' 或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR', 其中 R' 为 H、羟基保护基或固相载体, 所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

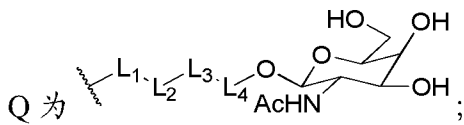
n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

在一些实施方案中, 所述缀合基团如式(I'-1)、式(I'-2)或式(I'-3)所示:



其中,

 表示与 siRNA 连接的位置;



其中 L<sub>1</sub> 为 -CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-;

L<sub>2</sub> 为 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-;

L<sub>3</sub> 为 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>- 或 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-;

L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;

其中 b=1、2、3、4 或 5;

30 c=1、2、3、4 或 5;

d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

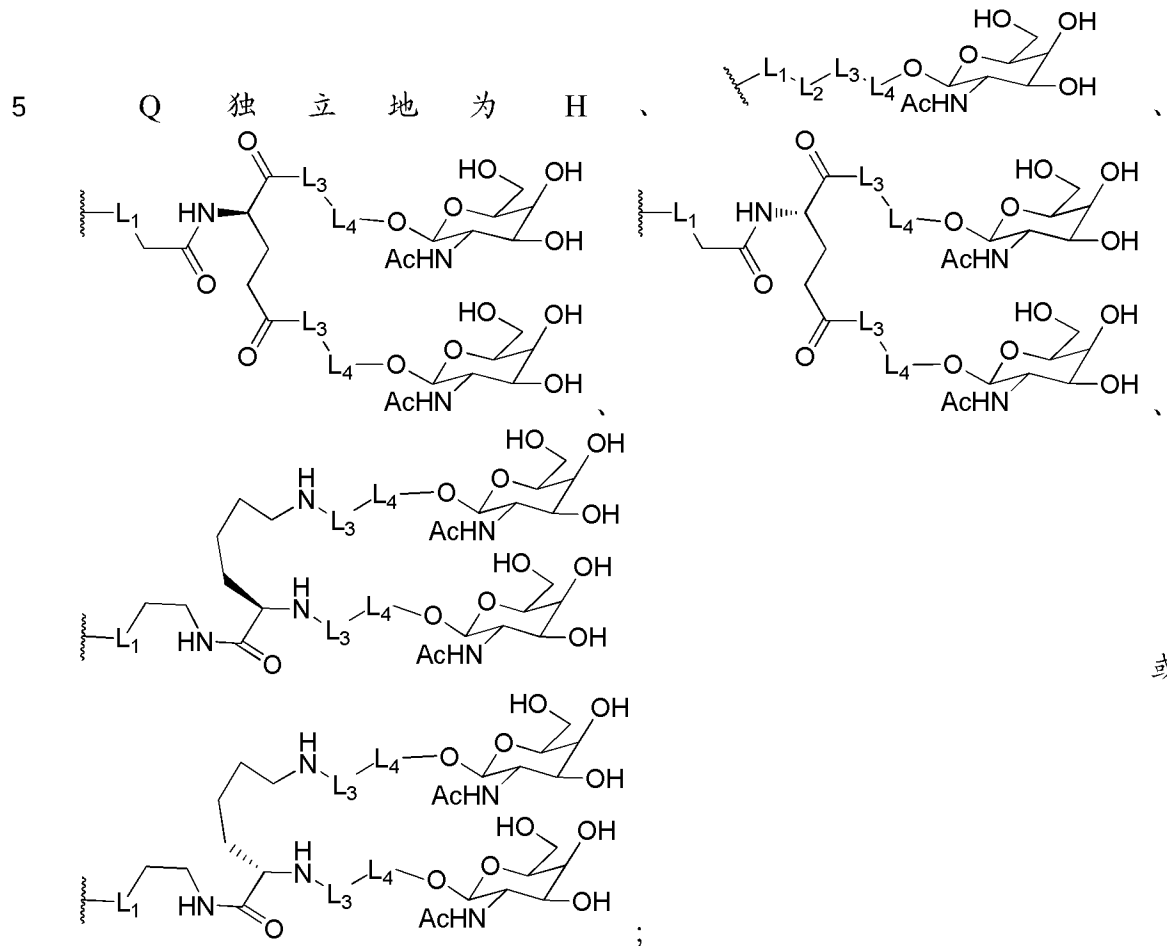
L 为 -CH<sub>2</sub>O-;

R' 为 H、羟基保护基或固相载体, 所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH

或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

在一些具体的实施方案中, 其中,



其中 L<sub>1</sub> 为 -CH<sub>2</sub>O-、-CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>NHC(O))<sub>a</sub>-;

10 L<sub>2</sub> 为 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-;

L<sub>3</sub> 为 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>- 或 -C(O)CH<sub>2</sub>-;

L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;

其中 a=0、1、2 或 3;

b=1、2、3、4 或 5;

15 c=1、2、3、4 或 5;

d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

L 为 -CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-;

L' 为化学键或 -C(O)NH-;

R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 一起形成 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- 或 -CH<sub>2</sub>CH(R)-O-, 并且 R<sub>3</sub> 为 H;

20 或者 R<sub>1</sub> 和 R<sub>3</sub> 一起形成 -C<sub>1-2</sub> 亚烷基-, 并且 R<sub>2</sub> 为 H;

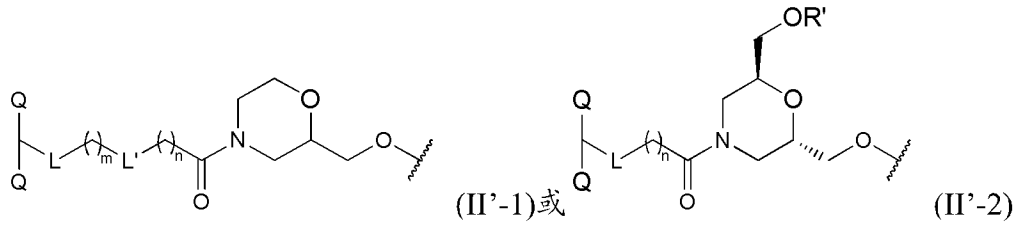
其中 R 为 -OR'、-CH<sub>2</sub>OR' 或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR', 其中 R' 为 H、羟基保护基或固相载体, 所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

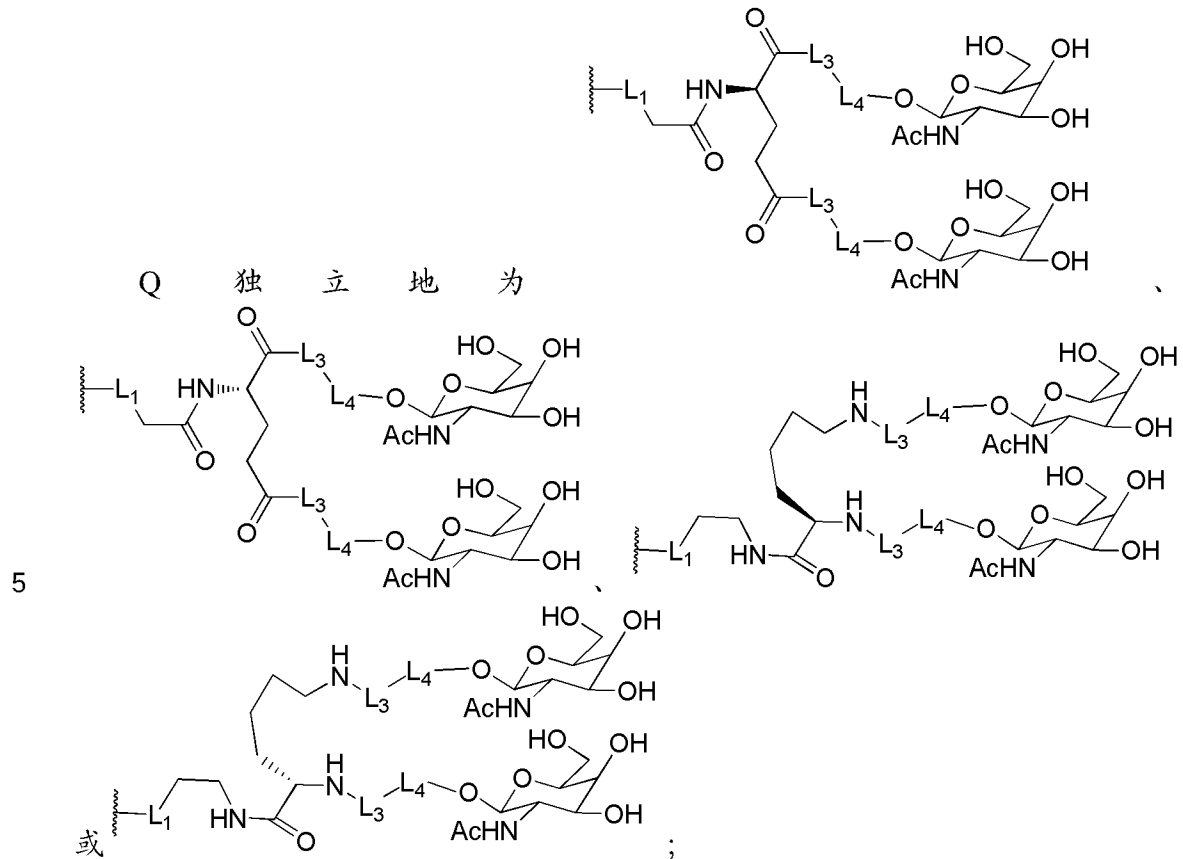
n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

25

在一些实施方案中, 所述缀合基团如式(II'-1)或式(II'-2)所示:



其中，  
 表示与 siRNA 连接的位置；



其中 L<sub>1</sub> 为 -CH<sub>2</sub>O- 或 -CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-;

L<sub>3</sub> 为 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>- 或 -C(O)CH<sub>2</sub>-;

L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;

10 其中 b=1、2、3、4 或 5;

c=1、2、3、4 或 5;

d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

L 为 -NHC(O)-;

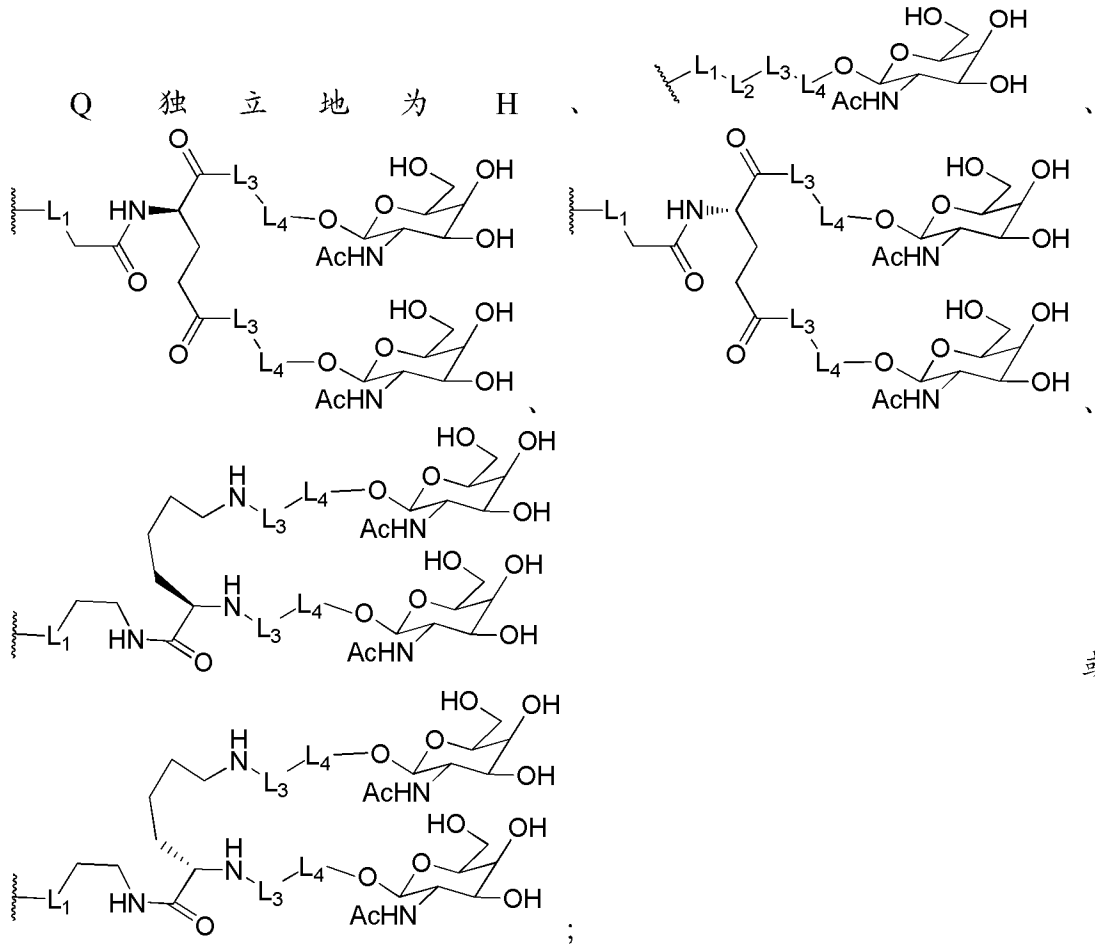
L' 为化学键或 -C(O)NH-;

15 R' 为 H、羟基保护基或固相载体，所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

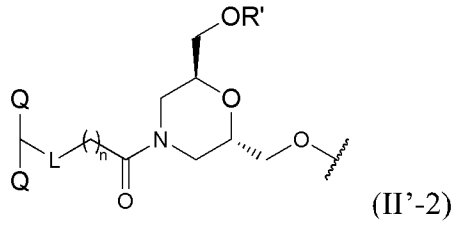
n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

20 在一些具体的实施方案中，其中，

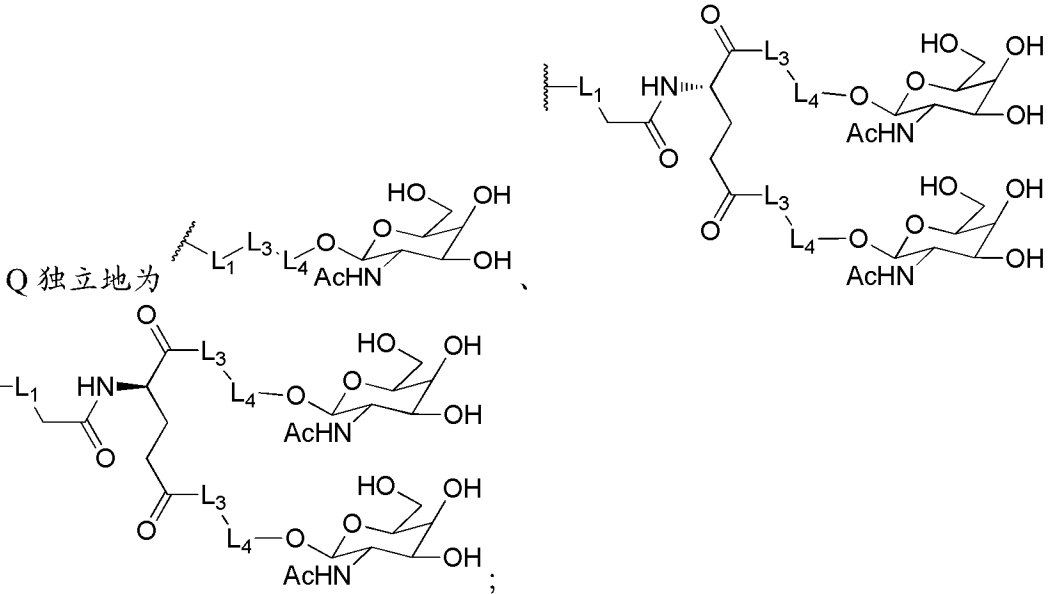


- 5 其中  $L_1$  为  $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$  或  $-\text{NHC}(\text{O})-(\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O}))_a-$ ;  
 $L_2$  为化学键;  
 $L_3$  为  $-(\text{NHCH}_2\text{CH}_2)_b-$ 、 $-(\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_b-$  或  $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2-$ ;  
 $L_4$  为  $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_c-$  或  $-\text{NHC}(\text{O})-(\text{CH}_2)_d-$ ;  
 10 其中  $a=0, 1, 2$  或  $3$ ;  
 $b=1, 2, 3, 4$  或  $5$ ;  
 $c=1, 2, 3, 4$  或  $5$ ;  
 $d=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$  或  $8$ ;  
 $L$  为  $-\text{CH}_2\text{O}-$  或  $-\text{NHC}(\text{O})-$ ;  
 15  $L'$  为化学键或  $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ ;  
 $R_1$  和  $R_2$  一起形成  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$  或  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{R})-\text{O}-$ , 并且  $R_3$  为 H;  
 或者  $R_1$  和  $R_3$  一起形成  $-\text{C}_{1-2}$  亚烷基-, 并且  $R_2$  为 H;  
 其中 R 为  $-\text{OR}'$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}'$  或  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OR}'$ , 其中  $\text{R}'$  为 H、羟基保护基或固相载体, 所述羟基保护基优选  $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$  或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;  
 20  $m=0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$  或  $10$ ;  
 $n=0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9$  或  $10$ .

在一些实施方案中, 其中所述缀合基团如式(II'-2)所示:



其中，  
 表示与 siRNA 连接的位置；



其中 L<sub>1</sub> 为 -CH<sub>2</sub>- 或 -C(O)-;

L<sub>3</sub> 为 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-;

L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-;

其中 b=1、2、3、4 或 5;

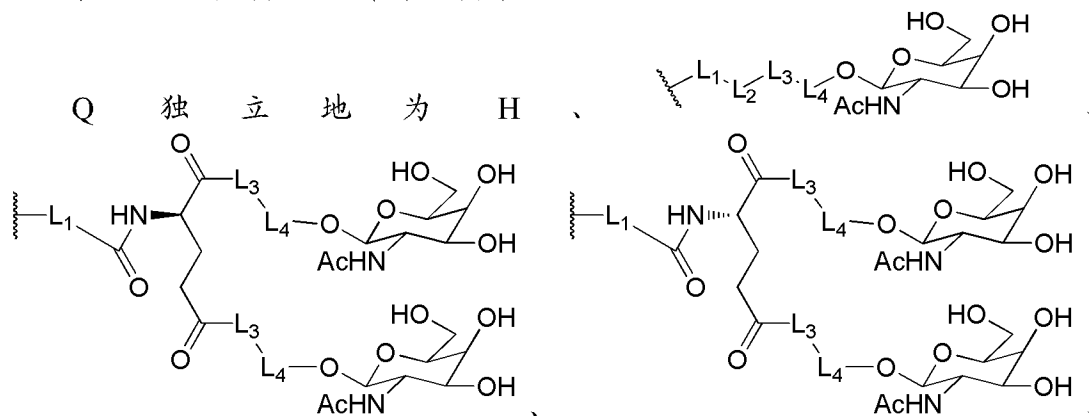
c=1、2、3、4 或 5;

L 为 -CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-;

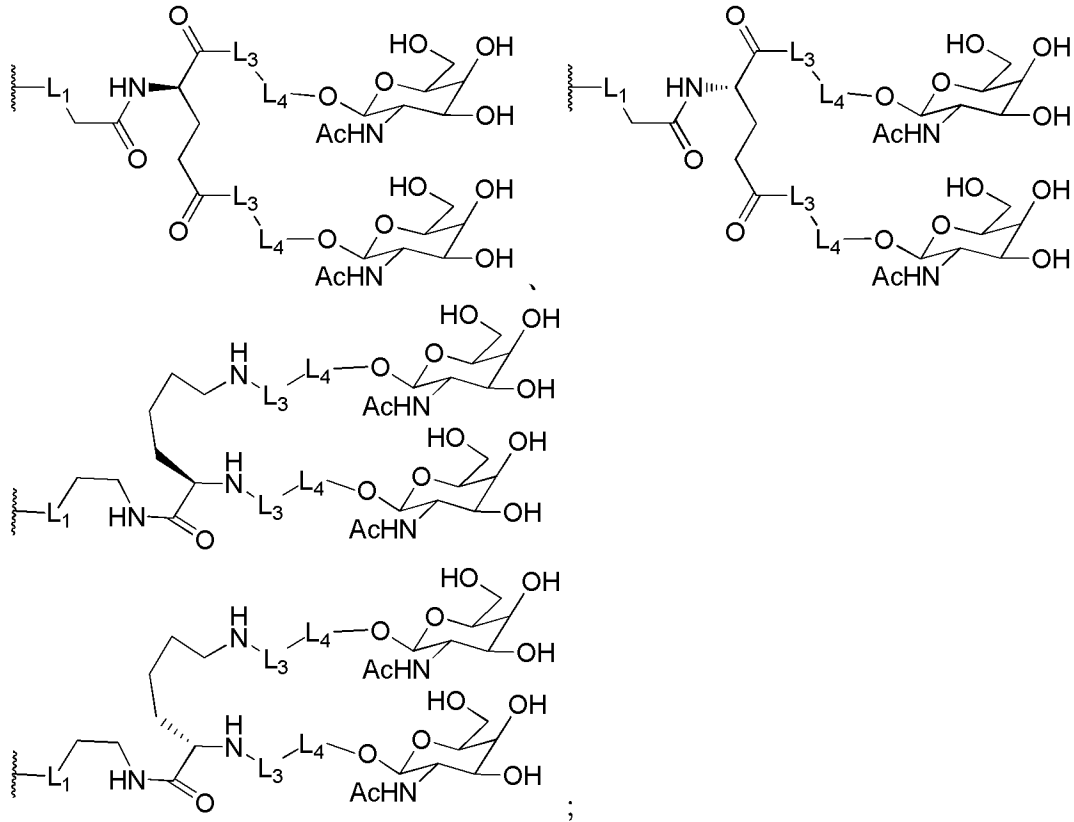
R' 为 H、羟基保护基或固相载体，所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

15 在一些具体的实施方案中，其中：







或

其中 L<sub>1</sub> 为化学键、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-C(O)-、-CH<sub>2</sub>O-、-CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-  
5 或-NHC(O)-(CH<sub>2</sub>NHC(O))<sub>a</sub>-;

L<sub>2</sub> 为化学键或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-;

L<sub>3</sub> 为化学键、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-或-C(O)CH<sub>2</sub>-;

L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-  
10 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-或-NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;

其中 a=0、1、2 或 3;

b=1、2、3、4 或 5;

c=1、2、3、4 或 5;

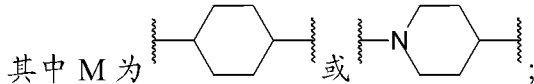
d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

L 为化学键、-CH<sub>2</sub>O-或-NHC(O)-;

15 L' 为化学键、-C(O)NH-、-NHC(O)-或-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>e</sub>-;

其中 e 为 1、2、3、4 或 5;

T 为化学键、-CH<sub>2</sub>-、-M-、-CH<sub>2</sub>-M-或-C(O)-M-;



R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 一起形成-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-或-CH<sub>2</sub>CH(R)-O-，并且 R<sub>3</sub> 为 H;

20 或者 R<sub>1</sub> 和 R<sub>3</sub> 一起形成-C<sub>1-2</sub> 亚烷基-，并且 R<sub>2</sub> 为 H;

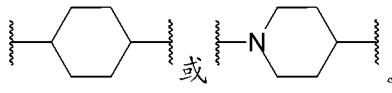
其中 R 为-OR'、-CH<sub>2</sub>OR'或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR'，其中 R' 为 H、羟基保护基或固  
相载体，所述羟基保护基优选-C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

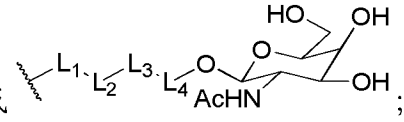
n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

25

在一些具体的实施方案中，其中，

T 为 -M-、-CH<sub>2</sub>-M- 或 -C(O)-M-，其中 M 为 。

在一些具体的实施方案中，其中，

Q 独立地为 H 或 ；

5 其中 L<sub>1</sub> 为 -CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>NHC(O))<sub>a</sub>-；

L<sub>2</sub> 为 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-；

L<sub>3</sub> 为 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>- 或 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-；

L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-；

其中 a=0、1、2 或 3；

10 b=1、2、3、4 或 5；

c=1、2、3、4 或 5；

d=1、2、3、4、5、6、7 或 8；

L 为化学键或 -CH<sub>2</sub>O-；

L' 为化学键或 -O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>e</sub>-；

15 其中 e 为 1、2、3、4 或 5；

R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 一起形成 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- 或 -CH<sub>2</sub>CH(R)-O-，并且 R<sub>3</sub> 为 H；

或者 R<sub>1</sub> 和 R<sub>3</sub> 一起形成 -C<sub>1-2</sub> 亚烷基-，并且 R<sub>2</sub> 为 H；

其中 R 为 -OR'、-CH<sub>2</sub>OR' 或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR'，其中 R' 为 H、羟基保护基或固相载体，所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基；

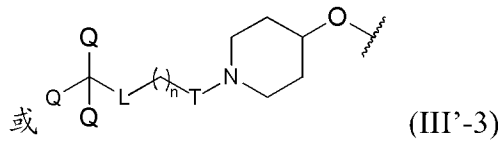
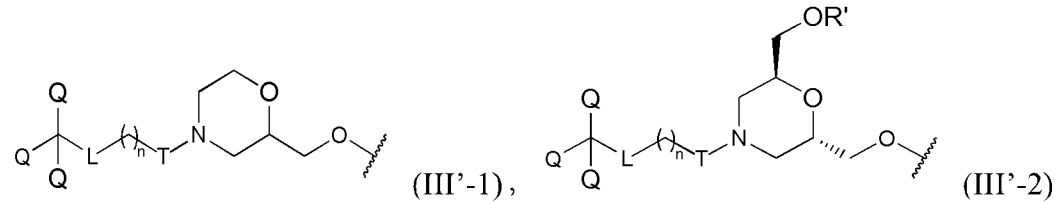
20 m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10；

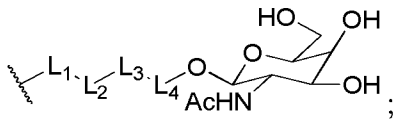
其中 T 如以上实施方案所定义。

在一些实施方案中，其中所述缀合基团如式(III'-1)、式(III'-2)或式(III'-3)所

25 示：



其中，

30 Q 为 ；

其中 L<sub>1</sub> 为 -CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-；

L<sub>2</sub> 为 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-；

L<sub>3</sub> 为 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>- 或 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-；

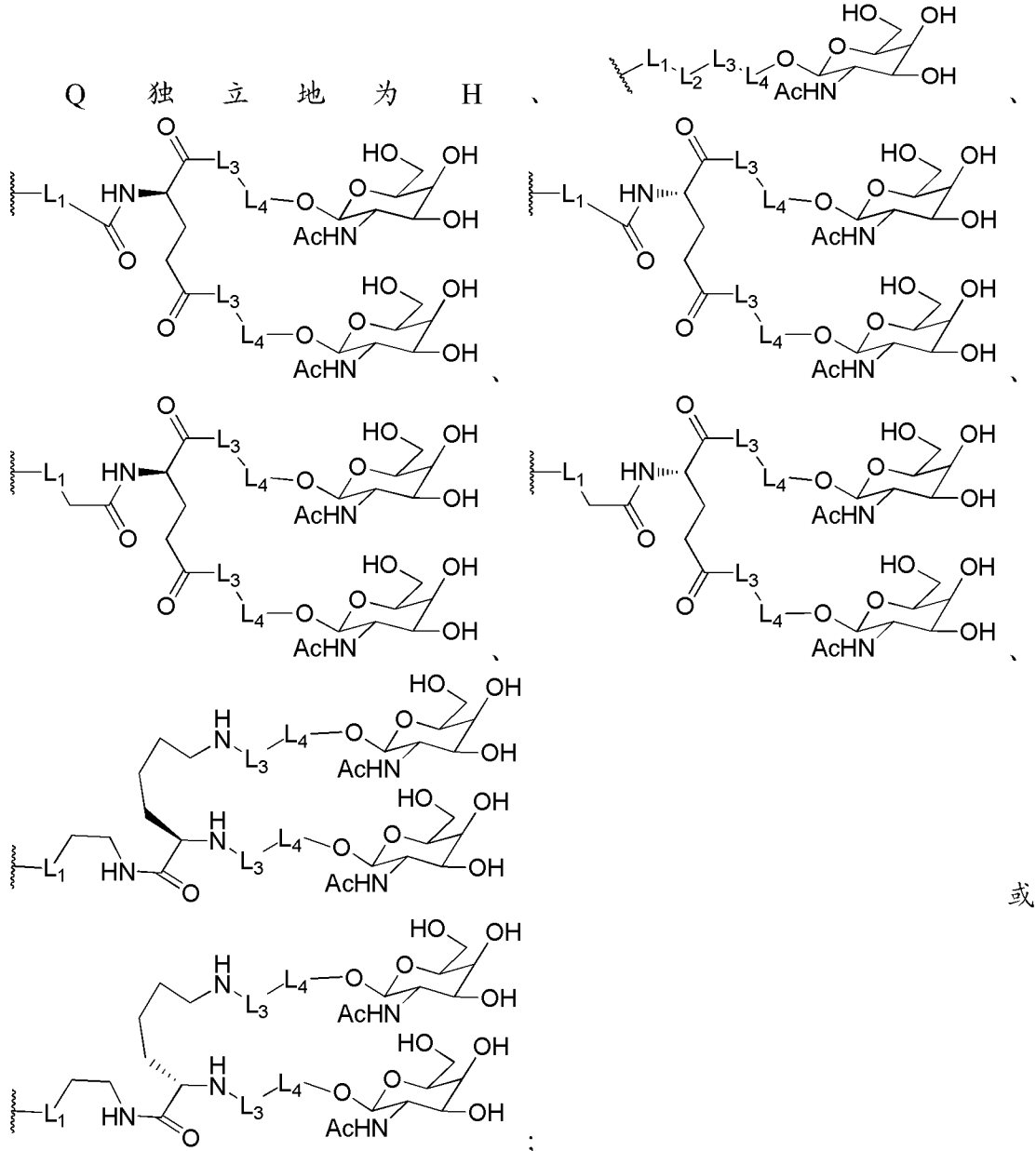
L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-；

其中 b=1、2、3、4 或 5;  
 c=1、2、3、4 或 5;  
 d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

L 为化学键或 -CH<sub>2</sub>O-;

- 5 其中 R' 为 H、羟基保护基或固相载体，所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;  
 n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;  
 其中 T 如以上实施方案所定义。

- 10 在一些具体的实施方案中，其中，



其中 L<sub>1</sub> 为 -CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>O- 或 -C(O)-;  
 L<sub>2</sub> 为化学键;  
 L<sub>3</sub> 为 -(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>- 或 -C(O)CH<sub>2</sub>-;  
 L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;

其中 b=1、2、3、4 或 5;  
 c=1、2、3、4 或 5;  
 d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

L 为化学键或-NHC(O)-;

5 L'为化学键;

R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 一起形成-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-或-CH<sub>2</sub>CH(R)-O-, 并且 R<sub>3</sub> 为 H;  
 或者 R<sub>1</sub> 和 R<sub>3</sub> 一起形成-C<sub>1-2</sub>亚烷基-, 并且 R<sub>2</sub> 为 H;

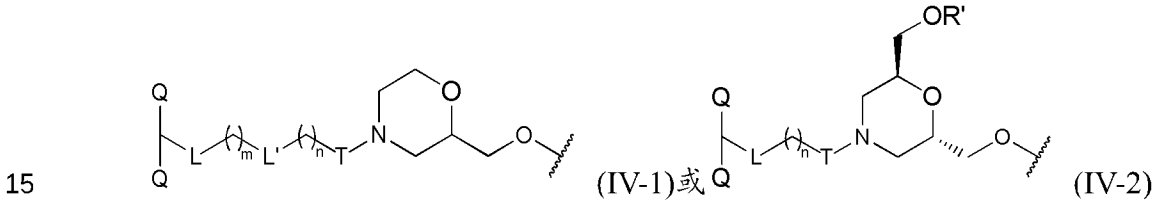
其中 R 为-OR'、-CH<sub>2</sub>OR'或-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR', 其中 R' 为 H、羟基保护基或固相载体, 所述羟基保护基优选-C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

10 m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

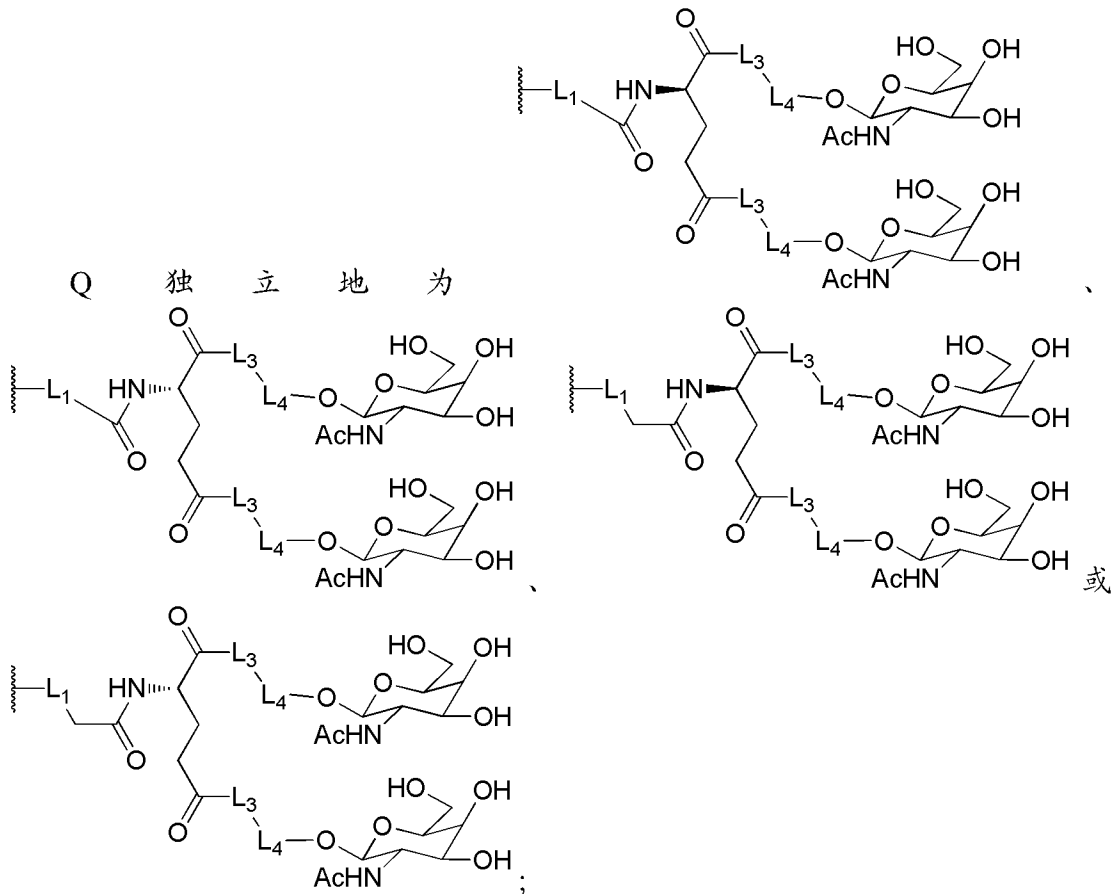
n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

其中 T 如以上实施方案所定义。

在一些实施方案中, 其中所述缀合基团如式(IV-1)或式(IV-2)所示:



其中,



20 其中 L<sub>1</sub> 为-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>O-或-C(O)-;

L<sub>3</sub> 为-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-或-C(O)CH<sub>2</sub>-;

L<sub>4</sub> 为-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-或-NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>;

其中 b=1、2、3、4 或 5;  
 c=1、2、3、4 或 5;  
 d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

L 为化学键或 -NHC(O)-;

5 L' 为化学键;

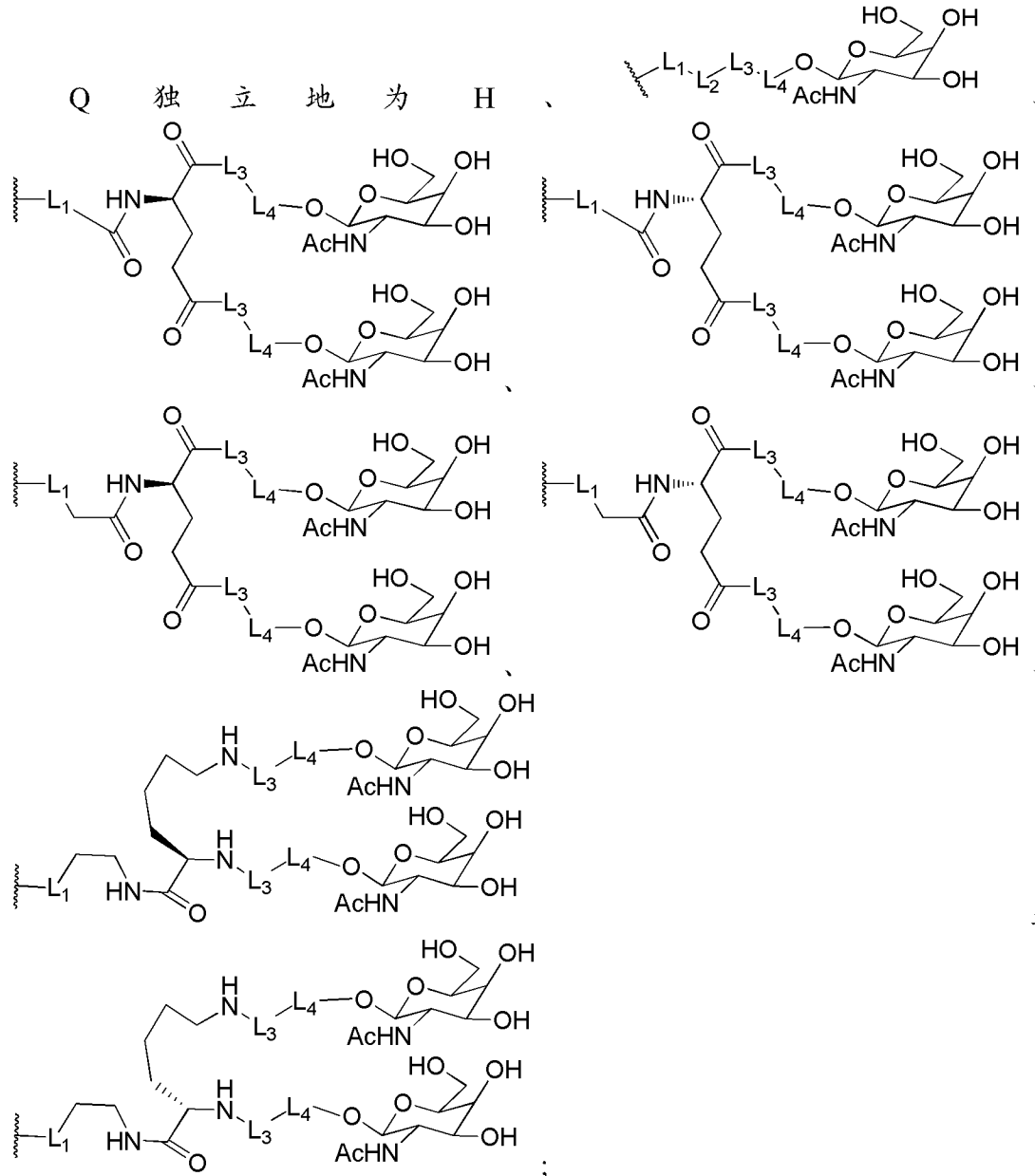
其中 R' 为 H、羟基保护基或固相载体, 所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

10 其中 T 如以上实施方案所定义。

在一些具体的实施方案中, 其中:



其中 L<sub>1</sub> 为化学键、-CH<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-、-C(O)-、-CH<sub>2</sub>O-、-CH<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- 或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>NHC(O))<sub>a</sub>-;

L<sub>2</sub> 为化学键或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-;

L<sub>3</sub> 为化学键、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-、-(NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>b</sub>-或 -C(O)CH<sub>2</sub>-;

L<sub>4</sub> 为 -(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>c</sub>-或 -NHC(O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>d</sub>-;

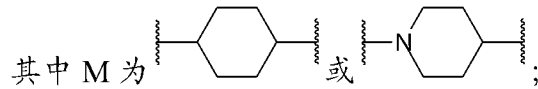
- 5 其中 a=0、1、2 或 3;
- b=1、2、3、4 或 5;
- c=1、2、3、4 或 5;
- d=1、2、3、4、5、6、7 或 8;

L 为化学键、-CH<sub>2</sub>O-或 -NHC(O)-;

10 L' 为 -O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>e</sub>-;

其中 e 为 1、2、3、4 或 5;

T 为化学键、-CH<sub>2</sub>-、-C(O)-、-M-、-CH<sub>2</sub>-M-或 -C(O)-M-;



R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 一起形成 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O-或 -CH<sub>2</sub>CH(R)-O-, 并且 R<sub>3</sub> 为 H;

15 或者 R<sub>1</sub> 和 R<sub>3</sub> 一起形成 -C<sub>1-2</sub> 亚烷基-, 并且 R<sub>2</sub> 为 H;

其中 R 为 -OR'、-CH<sub>2</sub>OR'或 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR', 其中 R' 为 H、羟基保护基或固相载体, 所述羟基保护基优选 -C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH 或 4,4'-二甲氧基三苯甲基;

m=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10;

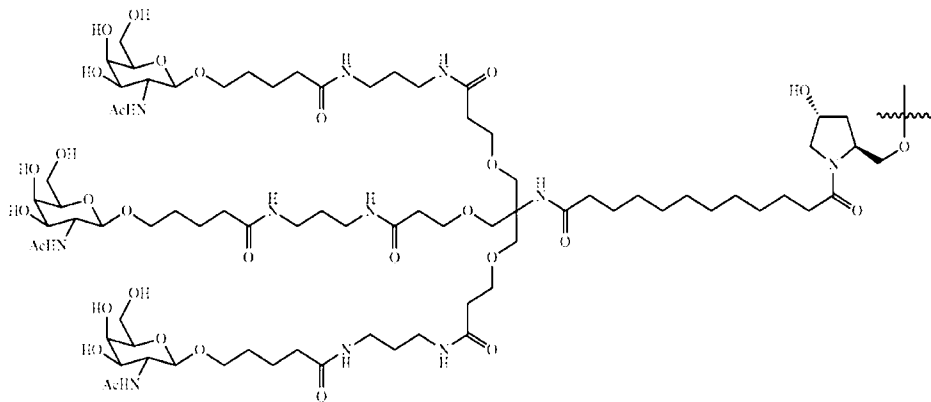
n=0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

20


在一些优选的实施方案中, 其中所述缀合基团选自表 1 和表 2。

在一些实施方案中, 所述配体靶向去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)。

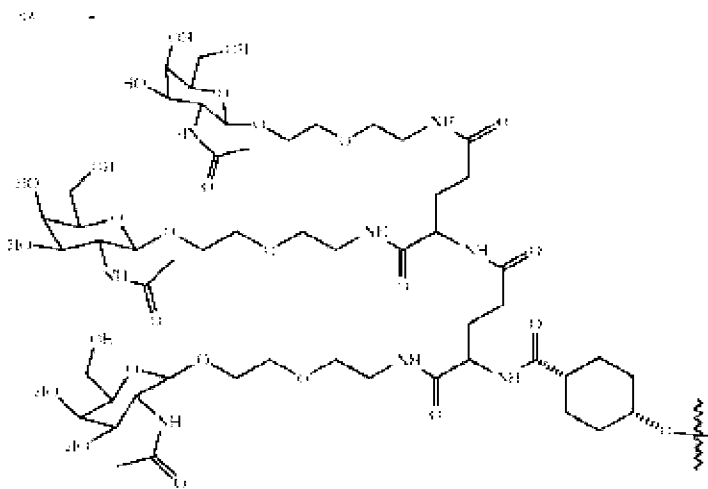
在一个优选的实施方案中, 其中所述配体具有以下结构:




25

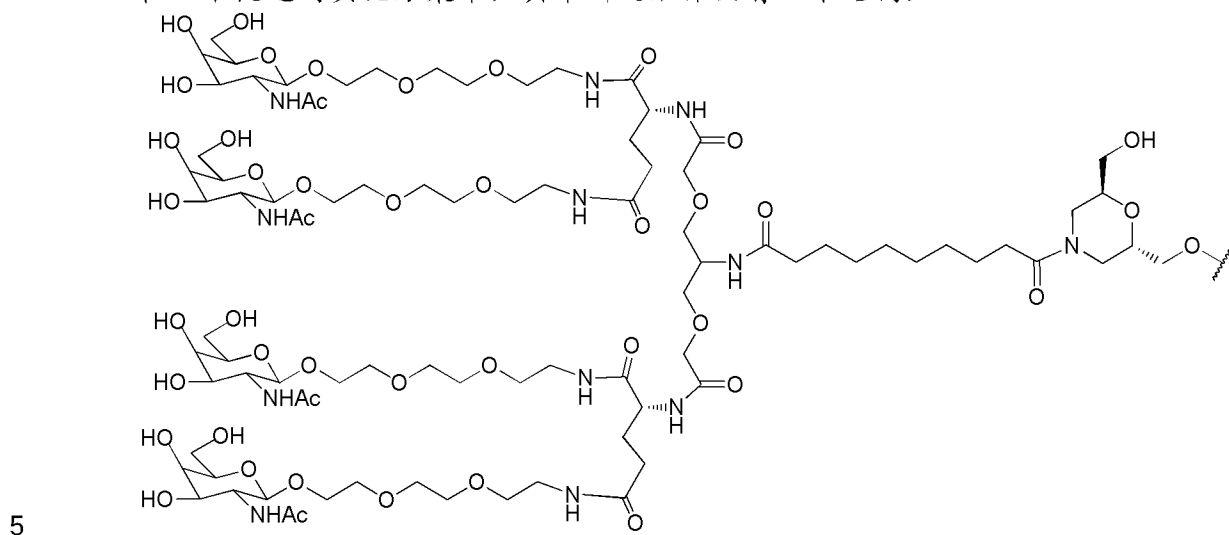
其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与 siRNA 连接的位置。


在一个优选的实施方案中, 其中所述配体具有以下结构:



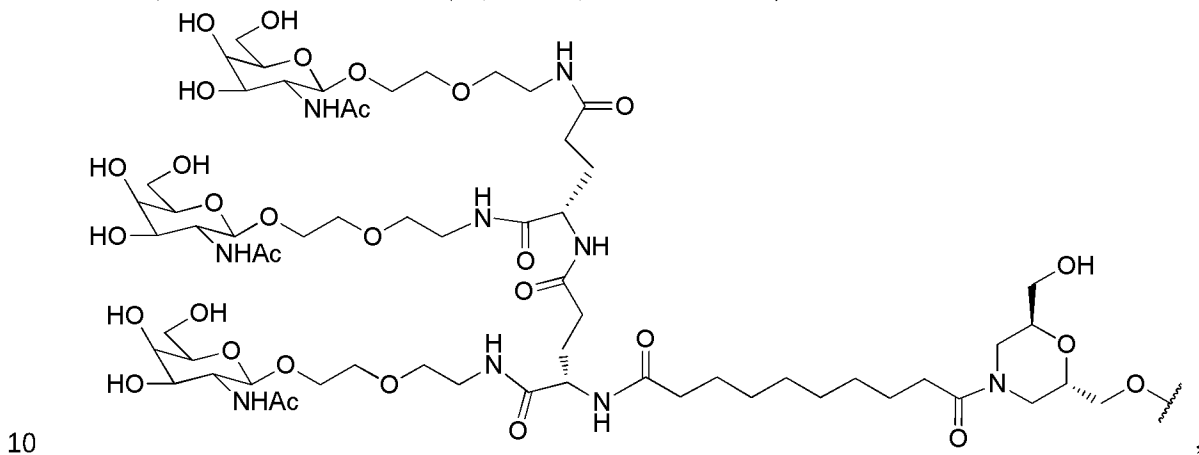
其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与 siRNA 连接的位置。


在一个优选的实施方案中，其中所述配体具有以下结构：



其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与所述siRNA的正义链连接的位置。

在一个优选的实施方案中，其中所述配体具有以下结构：



其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与所述siRNA的正义链连接的位置。

#### IV. XDH 基因表达抑制

5 本发明的 siRNA 能够将 XDH 基因表达抑制至少约 5%、至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 55%、至少约 60%、至少约 65%、至少约 70%、至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 91%、至少约 92%、至少约 93%、至少约 94%、至少约 95%、至少约 96%、至少约 97%、至少约 98% 或至少约 99%。

XDH 基因表达的抑制可以通过由第一细胞或细胞群组(这样的细胞可以存在于例如来源于受试者的样品中)表达的 mRNA 的量的降低来显现, 其中 XDH 基因被转录并且该细胞或这些细胞已经被处理(例如通过使该细胞或这些细胞与本发明的 siRNA 接触, 或通过向现在存在或以前存在这些细胞的受试者给予本发  
15 明的 siRNA, 使得与该第一细胞或细胞群组基本上相同但尚未被如此处理的第二细胞或细胞群组(一种或多种对照细胞)相比, XDH 基因表达被抑制。

在优选实施例中, 通过使用下式将被处理的细胞中的 mRNA 的水平表示为对照细胞中的 mRNA 的水平的百分比来评估该抑制。在一些具体的实施方案中, 计算  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  值以比较实验组和对照组之间的差异, 其中  $\Delta\Delta Ct = [(Ct \text{ 实验组目的基因} - Ct \text{ 实验组内参}) - (Ct \text{ 对照组目的基因} - Ct \text{ 对照组内参})]$ 。  
20

可替代地, 可以就与 XDH 基因表达在功能上有关的参数(如脂质水平、胆固醇水平, 例如 LDLc 水平)的降低而言来评估 XDH 基因表达例如 XDH 蛋白表达的抑制。可以组成性地或者通过基因组工程化而表达 XDH 的任何细胞中并且通过本领域中已知的任何测定来确定 XDH 基因沉默。肝脏是 XDH 表达的主要部  
25 位, 其他重要表达部位包括肠道和女性组织。

XDH 蛋白的表达的抑制可以通过由细胞或细胞群组表达的 XDH 蛋白水平(例如来源于受试者的样品中表达的蛋白质水平)的降低来显现。如以上关于 mRNA 阻抑的评估所解释, 被处理的细胞或细胞群组中的蛋白质表达水平的抑制可以类似地表示为对照细胞或细胞群组中的蛋白质的水平的百分比。  
30

可以用来评估 XDH 基因表达的抑制的对照细胞或细胞群组包括尚未与本发明的 siRNA 接触的细胞或细胞群组。例如, 该对照细胞或细胞群组可以来源于在用 siRNA 处理受试者之前的个体受试者(例如人类或动物受试者)。

#### 35 V. 细胞

本发明提供了细胞, 其含有本发明所述的 siRNA, 其中本发明所述的 siRNA 能够在细胞中转录。

#### VI. 药物组合物

40 本发明提供了药物组合物, 其包含本发明所述的 siRNA 或细胞, 以及任选的药学上可接受的载剂或赋形剂。

本文使用的“药学上可接受的”是指那些化合物、材料、组合物和/或剂型, 其在正确医学判断范围内, 适合于接触人类受试者和动物受试者的组织而没有过度的毒性、刺激性、过敏反应或其他问题或并发症, 与合理的效益/风险比相称。



在本文中, 药学上可接受的载剂是指有助于将 siRNA 或包含其编码序列的载体或细胞施用至人体和/或有利于其吸收或发挥作用的药物载剂。例如: 稀释剂、赋形剂如水等, 填充剂如淀粉、蔗糖等; 粘合剂如纤维素衍生物、藻酸盐、明胶和聚乙烯吡咯烷酮; 湿润剂如甘油; 崩解剂如琼脂、碳酸钙和碳酸氢钠; 吸收促进剂如季铵化合物; 表面活性剂如十六烷醇; 吸附载体如高岭土和皂粘土; 润滑剂如滑石粉、硬脂酸钙/镁、聚乙二醇等。另外还可以在组合物中加入其它辅剂如香味剂、甜味剂等。

例如, 包含本发明所述的 siRNA 或细胞的药物组合物可以包含药学上可接受的稀释剂或缓释基质, 本发明所述的 siRNA 被嵌入该缓释基质中。

10

## VII. 试剂盒

本发明提供了试剂盒, 其包含本发明所述的 siRNA 或细胞。

本发明还提供了用于使用本发明所述的 siRNA 和/或执行本发明的方法的试剂盒。这样的试剂盒包括一种或多种本发明所述的 siRNA 或细胞, 还可以进一步包括使用说明书。该使用说明书中可以记录用于通过使细胞与本发明所述的 siRNA 接触以有效抑制 XDH 表达的量接触来抑制该细胞中的该 XDH 表达的说明书。

在本发明所述的 siRNA 在体外与细胞接触的情况下, 任选地, 本发明的试剂盒还可以包括用于使细胞与本发明所述的 siRNA 接触的工具(例如, 注射装置)或用于测量 XDH 的抑制效果的工具(例如, 用于测量 XDH mRNA 或蛋白质的抑制的装置)。这样的用于测量 XDH 的抑制的装置可以包含用于从受试者获得样品(例如像, 血浆样品)的装置。

在将本发明所述的 siRNA 或已经在体外导入 siRNA 的细胞施用至体内的情况下, 本发明的试剂盒还可以任选地包括用于将本发明所述 siRNA 或细胞给予至受试者的装置或用于确定治疗有效量或预防有效量的装置。

25

## VIII. 治疗方法、制药用途

本发明提供了一种减少受试者中黄嘌呤脱氢酶(XDH)或尿酸水平的方法, 所述方法包括向所述受试者施用本发明所述的 siRNA、细胞、或药物组合物的步骤。

30

本发明提供了一种治疗、预防、抑制或缓解受试者中获益于黄嘌呤脱氢酶(XDH)表达减少的疾病或病症的方法, 所述方法包括向所述受试者施用本发明所述的 siRNA、细胞、或药物组合物的步骤。本发明还提供了治疗、预防、抑制或缓解患有获益于黄嘌呤脱氢酶(XDH)表达减少的疾病或病症的患者中至少一种症状的方法。

35

在一些实施方案中, 所述获益于黄嘌呤脱氢酶(XDH)表达减少的疾病或病症是 XDH 相关疾病。在一些实施方案中, 所述 XDH 相关疾病是高尿酸血症、痛风以及由高血尿酸导致的高血压、糖尿病、冠心病和肾脏疾病。

在一些实施方案中, 本发明的减少受试者中黄嘌呤脱氢酶(XDH)或尿酸水平的方法、治疗、预防、抑制或缓解受试者中获益于黄嘌呤脱氢酶(XDH)表达减少的疾病或病症的方法、或治疗、预防、抑制或缓解患有获益于黄嘌呤脱氢酶(XDH)表达减少的疾病或病症的患者中至少一种症状的方法包括向所述受试者皮下施用或静脉内施用所述 siRNA 或药物组合物。在一些实施方案中, 所述受试者是人患者。

40

本发明还涉及用于治疗受试者中与 XDH 表达相关的疾病或症状的本发明所述的 siRNA、细胞或药物组合物。

5 本发明还涉及本发明所述的 siRNA、细胞、或药物组合物在制备用于治疗、预防、抑制或缓解受试者中获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症的药物中的用途。本发明还涉及本发明所述的 siRNA、细胞、或药物组合物在制备用于减少受试者中黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 或尿酸水平的药物中的用途。本发明还涉及本发明所述的 siRNA、细胞、或药物组合物在制备用于治疗、预防、抑制或缓解患有获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症的患者中至少一种症状的药物中的用途。本发明的药物可以制备成乳剂、微乳剂、微颗粒等。

10

序列

本发明提供的 RNA 序列靶向人 XHD 基因 (或靶基因、靶 mRNA 序列、靶序列)。靶 XHD mRNA 序列如 Genbank 注册号 NM\_000379.4 所示的基因。

表 3 靶向 XDH mRNA 的正义链和反义链的核苷酸序列

编号	序列 (5'→3')	编号	序列 (5'→3')
1	GCCAGUGUCUCUUAGGAGU	168	ACUCCUAAGAGACACUGGCAG
2	CAAUGACAGCAGACAAAUU	169	AAUUUGUCUGCUGUCAUUGUC
3	AUGACAGCAGACAAAUUGA	170	UCAAUUUGUCUGCUGUCAUUG
4	UGACAGCAGACAAAUUGGU	171	ACCAAUUUGUCUGCUGUCAUU
5	GACAGCAGACAAAUUGGUU	172	AACCAAUUUGUCUGCUGUCAU
6	ACAGCAGACAAAUUGGUUU	173	AAACCAAUUUGUCUGCUGUCA
7	CAGCAGACAAAUUGGUUUU	174	AAAACCAAUUUGUCUGCUGUC
8	GCAGACAAAUUGGUUUUCU	175	AGAAAACCAAUUUGUCUGCUG
9	GGUGGAGAAAAUUGCAGAU	176	AUCUGCAUUUUUCUCCACCAC
10	GGAGAAAAUUGCAGAUCCA	177	UGGAUCUGCAUUUUUCUCCAC
11	AAAUGCAGAUCCAGAGACA	178	UGUCUCUGGAUCUGCAUUUUU
12	GAUCCAGAGACAACCCUUU	179	AAAGGGUUGUCUCUGGAUCUG
13	CUACCUGAGAAGAAAGUUA	180	UAACUUUCUUCUCAGGUAGGC
14	GAUCGUCUGCAGAACAAGA	181	UCUUGUUCUGCAGACGAUCAU
15	UCUGCAGAACAAGAUCGUU	182	AACGAUCUUGUUCUGCAGACG
16	GUUGCAGUGACAACUGUGA	183	UCACAGUUGUCACUGCAACAU
17	UUGCAGUGACAACUGUGGA	184	UCCACAGUUGUCACUGCAACA
18	GCAGUGACAACUGUGGAAA	185	UUUCCACAGUUGUCACUGCAA
19	GUGACAACUGUGGAAGGAA	186	UUCUCCACAGUUGUCACUG
20	UGACAACUGUGGAAGGAAU	187	AUUCUCCACAGUUGUCACU
21	UGUGGAAGGAAUAGGAAGU	188	ACUCCUUAUCCUCCACAGU
22	GUGGAAGGAAUAGGAAGCA	189	UGCUUCCUUAUCCUCCACAG
23	GGAAUAGGAAGCACAAGA	190	UCUUGGUCUCCUUAUCCUU
24	GUGCAGGAGAGAAUUGCCA	191	UGGCAAUUCUCUCCUGCACAG
25	GCAGGAGAGAAUUGCCAAA	192	UUUGGCAAUUCUCUCCUGCAC
26	GAUUGAGAAUGCCUCCAA	193	UUGGAAGGCAUUCUCAUCUC
27	GAGAAUGCCUCCAAAGGAA	194	UUCUUGGAAGGCAUUCUCA
28	UCGGAAGCAGCUGCGAUUU	195	AAAUCGCAGCUGCUUCCGAGG

29	GAUACAGGCCUCAACCCUU	196	AAGGGUUGAGGCCUGUAUCCA
30	UGGCAUUGAGAUGAAGUUU	197	AAACUUCAUCUCAUGCCAAU
31	GGCAUUGAGAUGAAGUUCA	198	UGAACUUCAUCUCAUGCCAA
32	GCAUUGAGAUGAAGUUCAA	199	UUGAACUUCAUCUCAUGCCA
33	CAUUGAGAUGAAGUUCAAA	200	UUUGAACUUCAUCUCAUGCC
34	AUUGAGAUGAAGUUCAAGA	201	UCUUGAACUUCAUCUCAAUGC
35	UUGAGAUGAAGUUCAAGAA	202	UUCUUGAACUUCAUCUCAAUG
36	UGAGAUGAAGUUCAAGAAU	203	AUUCUUGAACUUCAUCUCAAU
37	GAGAUGAAGUUCAAGAAUA	204	UAUUCUUGAACUUCAUCUCA
38	GAUGAAGUUCAAGAAUAUA	205	UAUAUUCUUGAACUUCAUCUC
39	AUGAAGUUCAAGAAUAUGU	206	ACAUAUUCUUGAACUUCAUCU
40	UGAAGUUCAAGAAUAUGCU	207	AGCAUAUUCUUGAACUUCAUC
41	GAAGUUCAAGAAUAUGCUA	208	UAGCAUAUUCUUGAACUUCAU
42	AGUUCAAGAAUAUGCUGUU	209	AACAGCAUAUUCUUGAACUUC
43	GUUCAAGAAUAUGCUGUUU	210	AAACAGCAUAUUCUUGAACUU
44	UUCAAGAAUAUGCUGUUUU	211	AAAACAGCAUAUUCUUGAACU
45	UCAAGAAUAUGCUGUUUCU	212	AGAAACAGCAUAUUCUUGAAC
46	AGAAUAUGCUGUUUCCUAU	213	AUAGGAAACAGCAUAUUCUUG
47	GAAUAUGCUGUUUCCUAUA	214	UAUAGGAAACAGCAUAUUCUU
48	AAUAUGCUGUUUCCUAUGA	215	UCAUAGGAAACAGCAUAUUCU
49	ACAUGGACCCGACGGUAUU	216	AAUACCGUCGGGUCCAUGUUC
50	GGCAUGAGAGUUUUUAUUCA	217	UGAAUAAAACUCUCAUGCCAC
51	GCAUGAGAGUUUUUAUUCAA	218	UUGAAUAAAACUCUCAUGCCA
52	CAUGAGAGUUUUUAUUCAAA	219	UUUGAAUAAAACUCUCAUGCC
53	GGAGUAACUAACUGGAAU	220	AUUCAGUUAUGUUACUCCCA
54	GUAACUAACUGGAAUUUA	221	UAAAUUCCAGUUAUGUUACUC
55	ACAUAACUGGAAUUUGUAA	222	UUACAAAUCCAGUUAUGUUA
56	ACUGGAAUUUGUAAUGAUA	223	UAUCAUUACAAAUCCAGUUA
57	CUGGAAUUUGUAAUGAUGA	224	UCAUCAUUACAAAUUCCAGUU
58	UGGAAUUUGUAAUGAUGAA	225	UUCAUCAUUACAAAUUCCAGU
59	GGAAUUUGUAAUGAUGAGA	226	UCUCAUCAUUACAAAUUCCAG
60	UUUGUAAUGAUGAGACAGU	227	ACUGUCUCAUCAUUACAAAUU
61	UUGUAAUGAUGAGACAGUU	228	AACUGUCUCAUCAUUACAAAU
62	GUAUUGAUGAGACAGUCUU	229	AAGACUGUCUCAUCAUUACAA
63	AAUGAUGAGACAGUCUUUA	230	UAAAGACUGUCUCAUCAUUAC
64	AUGAUGAGACAGUCUUUGU	231	ACAAAGACUGUCUCAUCAUUA
65	UGAUGAGACAGUCUUUGCA	232	UGCAAAGACUGUCUCAUCAUU
66	GAUGAGACAGUCUUUGCGA	233	UCGCAAAGACUGUCUCAUCAU
67	AUGAGACAGUCUUUGCGAA	234	UUCGCAAAGACUGUCUCAUCA
68	UGAGACAGUCUUUGCGAAA	235	UUUCGCAAAGACUGUCUCAUC
69	GAGACAGUCUUUGCGAAGA	236	UCUUCGCAAAGACUGUCUCAU
70	GUCUUUGCGAAGGAUAAGA	237	UCUUAUCCUUCGCAAAGACUG
71	UCUUUGCGAAGGAUAAGGU	238	ACCUUAUCCUUCGCAAAGACU

72	UUUGCGAAGGAUAAGGUUA	239	UAACCUUAUCCUUCGCAAAGA
73	UUGCGAAGGAUAAGGUUAU	240	AUAACCUUAUCCUUCGCAAAG
74	UGCGAAGGAUAAGGUUACU	241	AGUAACCUUAUCCUUCGCAA
75	AGGAUAAGGUUACUUGUGU	242	ACACAAGUAACCUUAUCCUUC
76	CCAUAUACACAAUUGAGGA	243	UCCUCAAUUGUGAUAAUGGCU
77	AAUUGAGGAUGCUAUAAAA	244	UUUUUAUAGCAUCCUCAUUGU
78	CUAUAAGAACAACUCCUU	245	AAGGAGUUGUUCUUUAUAGCA
79	GUUUUCCGAAGCAGAUAAU	246	AUUUUCUGCUUCGGAAAACCC
80	UUUCCGAAGCAGAUAAUGU	247	ACAUUUCUGCUUCGGAAAAC
81	UCCGAAGCAGAUAAUGUUA	248	UAACAUUUCUGCUUCGGAAA
82	AGCAGAUAAUGUUGUGUCA	249	UGACACAACAUUAUCUGCUUC
83	ACCGGAUUGUGGUUCGAGU	250	ACUCGAACCACAAUCCGGUUU
84	UUGUGGUUCGAGUGAAGAA	251	UUCUUCACUCGAACCACAAUC
85	UGUGGUUCGAGUGAAGAGA	252	UCUCUUCACUCGAACCACAAU
86	UGGUUCGAGUGAAGAGAAU	253	AUUCUCUUCACUCGAACCACA
87	GUUCGAGUGAAGAGAAUGA	254	UCAUUCUCUUCACUCGAACCA
88	UCGAGUGAAGAGAAUGGGA	255	UCCCAUUCUCUUCACUCGAAC
89	CGAGUGAAGAGAAUGGGA	256	UCCCAUUCUCUUCACUCGAA
90	UGAUGAGGACAUGCUGAUA	257	UAUCAGCAUGUCCUCAUCACG
91	AUGAGGACAUGCUGAUAAU	258	AUUUUCAGCAUGUCCUCAUCA
92	GAUAACUGGUGGCAGACAU	259	AUGUCUGCCACCAGUUAUCAG
93	AACUGGUGGCAGACAUCCU	260	AGGAUGUCUGCCACCAGUUAU
94	ACUGGUGGCAGACAUCCCU	261	AGGGAUGUCUGCCACCAGUUA
95	UGGUGGCAGACAUCCCUUU	262	AAAGGGAUGUCUGCCACCAGU
96	GUGGCAGACAUCCCUUCCU	263	AGGAAGGGAUGUCUGCCACCA
97	UGGCAGACAUCCCUUCCUA	264	UAGGAAGGGAUGUCUGCCACC
98	ACAUCCCUUCCUGGCCAGA	265	UCUGGCCAGGAAGGGAUGUCU
99	CAUCCCUUCCUGGCCAGAU	266	AUCUGGCCAGGAAGGGAUGUC
100	GAGUAUUAUGGAACGAGCU	267	AGCUCGUUCCAUAUACUCUG
101	GUUAUUAUGGAACGAGCUUU	268	AAAGCUCGUUCCAUAUACUC
102	UAUUAUGGAACGAGCUUUA	269	UAAAGCUCGUUCCAUAUACU
103	AUGGAACGAGCUUUAUUCU	270	AGAAUAAAGCUCGUUCCAUA
104	CAAGCUCUCAGUAUCAUGU	271	ACAUGAUACUGAGAGCUUGC
105	AAGCUCUCAGUAUCAUGCU	272	AGCAUGAUACUGAGAGCUUGC
106	UCGGAAGAGUGAGGUUGAU	273	AUCAACCUCACUCUCCGAGC
107	AGAGUGAGGUUGACAAGUU	274	AACUUGUCAACCUCACUCUUC
108	ACAAGUUCAACAAGGAGAA	275	UUCUCCUUGUUGAACUUGUCA
109	CAAGUUCAACAAGGAGAAU	276	AUUCUCCUUGUUGAACUUGUC
110	GUUCAACAAGGAGAAUUGU	277	ACAAUUCUCCUUGUUGAACUU
111	ACAAGGAGAAUUGUUGGAA	278	UCCAACAUAUUCUCCUUGUUG
112	CAAGGAGAAUUGUUGGAAA	279	UUCCAACAUAUUCUCCUUGUU
113	UGUUGGAAAAAGAGAGGAU	280	AUCCUCUCUUUUCCAACAUA
114	GUUGGAAAAAGAGAGGAUU	281	AAUCCUCUCUUUUCCAACAA

115	AAAGAGAGGAUUGUGCAUA	282	UAUGCACAAUCCUCUCUUUUU
116	AAGAGAGGAUUGUGCAUAA	283	UUAUGCACAAUCCUCUCUUUU
117	UUCCCACCAAGUUUGGAAU	284	AUCCAAACUUGGUGGGAAU
118	CCUCUAAGAUAUAUCAA	285	UUGAUAAAAUCUAGAGGUG
119	UCCGCACAGAUUUGUCAU	286	AUGACAAUUCUGUGCGGAGG
120	CCGCACAGAUUUGUCAUA	287	UAUGACAAUUCUGUGCGGAG
121	ACAGAUUUGUCAUGGAUA	288	UAUCCAUGACAAUUCUGUGC
122	AUAUUGUCAUGGAUGUUGA	289	UCAACAUCCAUGACAAUUCU
123	GAGGGUCUAAAGAGAGAGU	290	ACUCUCUCUUUAGACCCUCAC
124	AUACCACAGAACAUGGAUU	291	AAUCCAUGUUCUGUGGUUUGU
125	ACCACAGAACAUGGAUCUA	292	UAGAUCCAUGUUCUGUGGUU
126	CACAGAACAUGGAUCUAUU	293	AAUAGAUGUUCUGUGUGGU
127	GAACAUGGAUCUAUUAAAA	294	UUUUAAUAGAUGUUCUG
128	GAAUAUGCAAUAGGAUCA	295	UGAUCCAAAUGCAUUAUCAC
129	UAUGCAAUAGGAUCAUUU	296	AAAUGAUCCAAUUGCAUUAU
130	AUGCAAUAGGAUCAUUUU	297	AAAUGAUCCAAUUGCAUUAU
131	GCAAUAGGAUCAUUUUCU	298	AGAAAUGAUCCAAUUGCAU
132	GGAUCAUUUCUGUCUGUU	299	AACAGACAGAAAUGAUCCUA
133	GAUCAUUUCUGUCUGUUU	300	AAACAGACAGAAAUGAUCCU
134	UCAUUUCUGUCUGUUUA	301	UAAAACAGACAGAAAUGAUC
135	CUGUCUGUUUAAUCAUGU	302	ACAUGAUUAAAACAGACAGAA
136	GUCUGUUUAAUCAUGUAU	303	AUACAUGAUUAAAACAGACAG
137	CUGUUUAAUCAUGUAUCU	304	AGAUACAUGAUUAAAACAGAC
138	CAUGUAUCUGGAAUAGGGU	305	ACCCUAUCCAGAUACAUGAU
139	CAAUGAACAGCAAAGCAUA	306	UAUGCUUUGCUGUUCAUUGGU
140	GAACAGCAAAGCAUAACCU	307	AGGUUAUGCUUUGCUGUUCU
141	CAGCAAAGCAUAACCUUGA	308	UCAAGGUUAUGCUUUGCUGUU
142	AGCAAAGCAUAACCUUGAA	309	UUCAAGGUUAUGCUUUGCUGU
143	AGCAUAACCUUGAAUCUAU	310	AUAGAUUCAAGGUUAUGCUUU
144	AACCUUGAAUCUAUACUCA	311	UGAGUAUAGAUUCAAGGUU
145	ACCUUGAAUCUAUACUCA	312	UUGAGUAUAGAUUCAAGGUU
146	CCUUGAAUCUAUACUCAAA	313	UUUGAGUAUAGAUUCAAGGUU
147	CUAUACUCAAAUUUUGCAA	314	UUGCAAAAUUUGAGUAUAGAU
148	GGGGUAAGGUUAAAACCUU	315	AAGGAUUUAAACCUUACCCAC
149	CCUCUAACCAUCUUUGAAU	316	AUUCAAAGAUGGUUAGAGGAU
150	CUCUAACCAUCUUUGAAUU	317	AAUUCAAAGAUGGUUAGAGGA
151	UAACCAUCUUUGAAUCAUU	318	AAUGAUUCAAGAUGGUUAGA
152	AACCAUCUUUGAAUCAUUA	319	UAAUGAUUCAAGAUGGUUAG
153	CAUCUUUGAAUCAUUGGAA	320	UCCAUGAUUCAAGAUGGU
154	AUCUUUGAAUCAUUGGAAA	321	UUCCAUGAUUCAAGAUGG
155	CUUUGAAUCAUUGGAAAGA	322	UCUUCCAUGAUUCAAGAU
156	UGAAUCAUUGGAAAGAAUA	323	UAUUCUUCCAUGAUUCAAA
157	CAUUGGAAAGAAUAAAGAA	324	UUCUUUAUCUUCCAUGAU

158	GGAAAGAAUAAAGAAUGAA	325	UUCAUUCUUUAUUCUUUCCAA
159	GAAAGAAUAAAGAAUGAAA	326	UUUCAUUCUUUAUUCUUUCCA
160	AGAAUAAAGAAUGAAACAA	327	UUGUUUCAUUCUUUAUUCUUU
161	GAAUAAAGAAUGAAACAAA	328	UUUGUUUCAUUCUUUAUUCUU
162	AUAAAGAAUGAAACAAAUU	329	AAUUUGUUUCAUUCUUUAUUC
163	AAGAAUGAAACAAAUUCAA	330	UUGAAUUUGUUUCAUUCUUUA
164	UGAAACAAAUUCAAGGUUA	331	UAACCUUGAAUUUGUUUCAUU
165	GAAACAAAUUCAAGGUUAA	332	UUAACCUUGAAUUUGUUUCAU
166	UCAGAGUAUUUAUGGAACGAGU	333	ACUCGUUCCAUAUACUCUGAGA
167	AGAGUAUUUAUGGAACGAGU	334	ACUCGUUCCAUAUACUCUGA

表 4 示出了本发明使用的修饰的 RNA 序列。

本文中，各缩写的意义如下：

5 A、U、G 和 C 分布表示天然的腺嘌呤核糖核苷酸、尿嘧啶核糖核苷酸、鸟嘌呤核糖核苷酸和胞嘧啶核糖核苷酸。

i 表示肌苷核糖核苷酸。

d 表示其右侧相邻的核苷酸是脱氧核糖核苷酸。例如 dA、dT、dG 和 dC 分别表示腺嘌呤脱氧核糖核苷酸、胸腺嘧啶脱氧核糖核苷酸、鸟嘌呤脱氧核糖核苷酸和胞嘧啶脱氧核糖核苷酸。

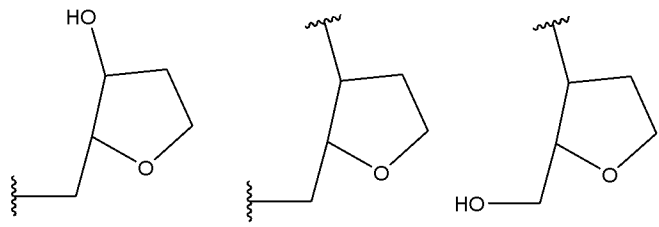
10 m 表示其左侧相邻的核苷酸是 2'-OCH<sub>3</sub> 修饰的核苷酸。例如，Am、Um、Gm 和 Cm 分别表示 2'-OCH<sub>3</sub> 修饰的 A、U、G 和 C。

f 表示其左侧相邻的核苷酸是 2'-F 修饰的核苷酸。例如，Af、Uf、Gf 和 Cf 分别表示 2'-F 修饰的 A、U、G 和 C。


“s”或“s-”表示其左右相邻的两个核苷酸和/或递送载体通过硫代磷酸酯连接。

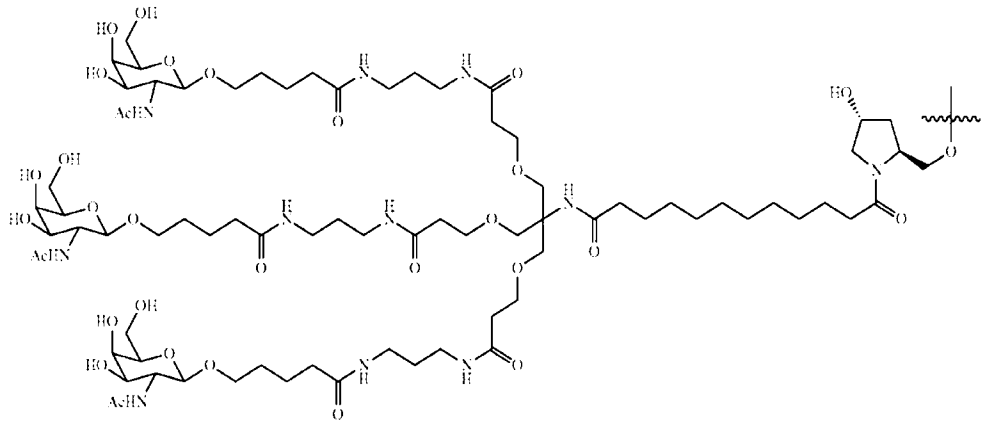
15 VP 表示其右侧相邻的核苷酸是乙烯基膦酸酯修饰的核苷酸，是本领域熟知的，可参见例如 PCT 公开号 WO2011139702、WO2013033230 和 WO2019105419。


IB 表示反向无碱基脱氧核糖核苷酸，根据其在 siRNA 中所在位置/连接方式的不同可包括以下三种结构（分别用于核酸链的 5'端，中间和 3'端）：

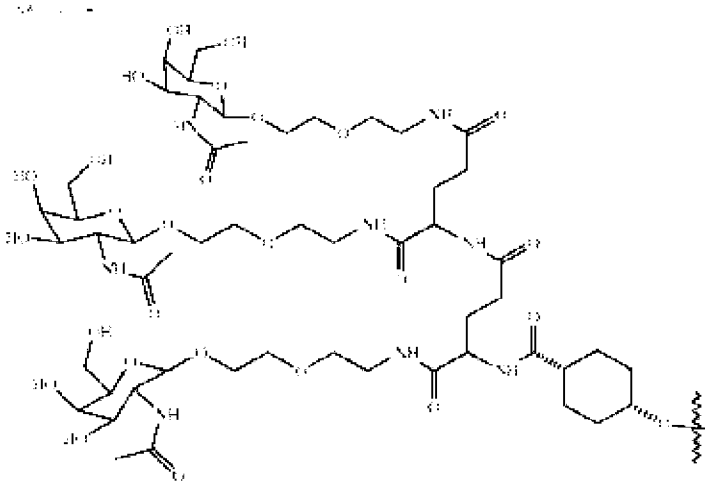


20 IB 是本领域熟知的，参见例如 F. Czauderna, Nucleic Acids Res., 2003, 31(11), 2705-16 以及 PCT 公开号 WO2016011123 和 WO2019051402。


L96 表示本领域熟知的以下结构的 GalNAc 递送载体，其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与 siRNA 连接的位置，可参见例如 PCT 公开号 WO2009073809 和 WO2009082607

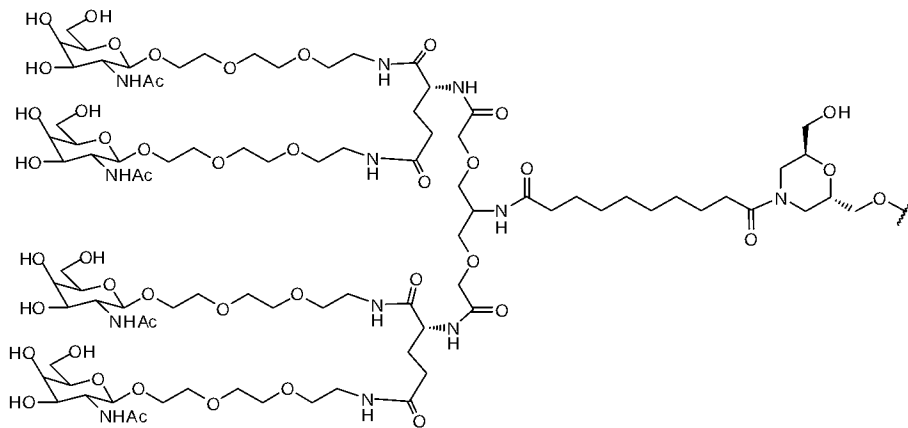



NAG37 表示本领域熟知的以下结构的 GalNAc 递送载体，其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与 siRNA 连接的位置，可参见例如 PCT 公开号 WO2018044350



5

GL6 表示以下结构的 GalNAc 递送载体，其中  表示磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与 siRNA 连接的位置



GL12 表示以下结构的 GalNAc 递送载体，其中  表示磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与 siRNA 连接的位置

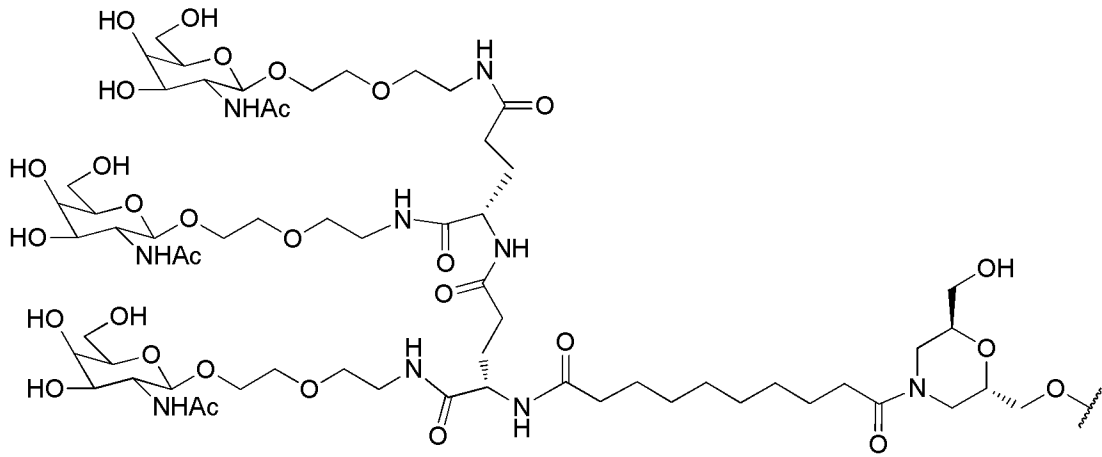


表 4 靶向 XDH 基因的经修饰的 siRNA 正义链序列

SEQ ID NO:	单链编号	序列 (5'→3')
335	SR004690S	GmsCmsCmAmGmUmGfUfCfUmCmUmUmAmGmGmAmsGmsUm
336	SR004694S	CmsAmsAmUmGmAmCfAfGfCmAmGmAmCmAmAmAmsUmsUm
337	SR004695S	AmsUmsGmAmCmAmGfCfAfGmAmCmAmAmAmUmUmsGmsAm
338	SR004696S	UmsGmsAmCmAmGmCfAfGfAmCmAmAmAmUmUmGmsGmsUm
339	SR004697S	GmsAmsCmAmGmCmAfGfAfCmAmAmAmUmUmGmGmsUmsUm
340	SR004698S	AmsCmsAmGmCmAmGfAfCfAmAmAmUmUmGmGmUmsUmsUm
341	SR004699S	CmsAmsGmCmAmGmAfCfAfAmAmUmUmGmGmUmUmsUmsUm
342	SR004701S	GmsCmsAmGmAmCmAfAfAfUmUmGmGmUmUmUmUmsCmsUm
343	SR004710S	GmsGmsUmGmGmAmGfAfAfAmAmAmUmGmCmAmGmsAmsUm
344	SR004712S	GmsGmsAmGmAmAmAfAfAfUmGmCmAmGmAmUmCmsCmsAm
345	SR004713S	AmsAmsAmUmGmCmAfGfAfUmCmCmAmGmAmGmAmsCmsAm
346	SR004720S	GmsAmsUmCmCmAmGfAfGfAmCmAmAmCmCmCmUmsUmsUm
347	SR004730S	CmsUmsAmCmCmUmGfAfGfAmAmGmAmAmAmGmUmsUmsAm
348	SR004753S	GmsAmsUmCmGmUmCfUfGfCmAmGmAmAmCmAmAmsGmsAm
349	SR004758S	UmsCmsUmGmCmAmGfAfAfCmAmAmGmAmUmCmGmsUmsUm
350	SR004791S	GmsUmsUmGmCmAmGfUfGfAmCmAmAmCmUmGmUmsGmsAm
351	SR004792S	UmsUmsGmCmAmGmUfGfAfCmAmAmCmUmGmUmGmsGmsAm
352	SR004794S	GmsCmsAmGmUmGmAfCfAfAmCmUmGmUmGmGmAmsAmsAm
353	SR004797S	GmsUmsGmAmCmAmAfCfUfGmUmGmGmAmAmGmGmsAmsAm
354	SR004798S	UmsGmsAmCmAmAmCfUfGfUmGmGmAmAmGmGmAmsAmsUm
355	SR004805S	UmsGmsUmGmGmAmAfGfGfAmAmUmAmGmGmAmAmsGmsUm
356	SR004806S	GmsUmsGmGmAmAmGfGfAfAmUmAmGmGmAmAmGmsCmsAm
357	SR004812S	GmsGmsAmAmUmAmGfGfAfAmGmCmAmCmCmAmAmsGmsAm
358	SR004836S	GmsUmsGmCmAmGmGfAfGfAmGmAmAmUmUmGmCmsCmsAm



359	SR004838S	GmsCmsAmGmGmAmGfAfGfAmAmUmUmGmCmCmAmsAmsAm
360	SR004841S	GmsAmsUmUmGmAmGfAfAfUmGmCmCmUmUmCmCmsAmsAm
361	SR004845S	GmsAmsGmAmAmUmGfCfCfUmUmCmCmAmAmGmGmsAmsAm
362	SR004883S	UmsCmsGmGmAmAmGfCfAfGmCmUmGmCmGmAmUmsUmsUm
363	SR004906S	GmsAmsUmAmCmAmGfGfCfCmUmCmAmAmCmCmCmsUmsUm
364	SR004921S	UmsGmsGmCmAmUmUfGfAfGmAmUmGmAmAmGmUmsUmsUm
365	SR004922S	GmsGmsCmAmUmUmGfAfGfAmUmGmAmAmGmUmUmsCmsAm
366	SR004923S	GmsCmsAmUmUmGmAfGfAfUmGmAmAmGmUmUmCmsAmsAm
367	SR004924S	CmsAmsUmUmGmAmGfAfUfGmAmAmGmUmUmCmCmsAmsAm
368	SR004925S	AmsUmsUmGmAmGmAfUfGfAmAmGmUmUmCmAmAmsGmsAm
369	SR004926S	UmsUmsGmAmGmAmUfGfAfAmGmUmUmCmAmAmGmsAmsAm
370	SR004927S	UmsGmsAmGmAmUmGfAfAfGmUmUmCmAmAmGmAmsAmsUm
371	SR004928S	GmsAmsGmAmUmGmAfAfGfUmUmCmAmAmGmAmAmsUmsAm
372	SR004930S	GmsAmsUmGmAmAmGfUfUfCmAmAmGmAmAmUmAmsUmsAm
373	SR004931S	AmsUmsGmAmAmGmUfUfCfAmAmGmAmAmUmAmUmsGmsUm
374	SR004932S	UmsGmsAmAmGmUmUfCfAfAmGmAmAmUmAmUmGmsCmsUm
375	SR004933S	GmsAmsAmGmUmUmCfAfAfGmAmAmUmAmUmGmCmsUmsAm
376	SR004935S	AmsGmsUmUmCmAmAfGfAfAmUmAmUmGmCmUmGmsUmsUm
377	SR004936S	GmsUmsUmCmAmAmGfAfAfUmAmUmGmCmUmGmUmsUmsUm
378	SR004937S	UmsUmsCmAmAmGmAfAfUfAmUmGmCmUmGmUmUmsUmsUm
379	SR004938S	UmsCmsAmAmGmAmAfUfAfUmGmCmUmGmUmUmUmsCmsUm
380	SR004941S	AmsGmsAmAmUmAmUfGfCfUmGmUmUmUmCmCmUmsAmsUm
381	SR004942S	GmsAmsAmUmAmUmGfCfUfGmUmUmUmCmCmUmAmsUmsAm
382	SR004943S	AmsAmsUmAmUmGmCfUfGfUmUmUmCmCmUmAmUmsGmsAm
383	SR004949S	AmsCmsAmUmGmGmAfCfCfCmGmAmCmGmGmUmAmsUmsUm
384	SR005106S	GmsGmsCmAmUmGmAfGfAfGmUmUmUmUmAmUmUmsCmsAm
385	SR005107S	GmsCmsAmUmGmAmGfAfGfUmUmUmUmAmUmUmCmsAmsAm
386	SR005108S	CmsAmsUmGmAmGmAfGfUfUmUmUmAmUmUmCmCmsAmsAm
387	SR005316S	GmsGmsAmGmUmAmAfCfAfUmAmAmCmUmGmGmAmsAmsUm
388	SR005319S	GmsUmsAmAmCmAmUfAfAfCmUmGmGmAmAmUmUmsUmsAm
389	SR005320S	AmsCmsAmUmAmAmCfUfGfGmAmAmUmUmUmGmUmsAmsAm
390	SR005322S	AmsCmsUmGmGmAmAfUfUfUmGmUmAmAmUmGmAmsUmsAm
391	SR005323S	CmsUmsGmGmAmAmUfUfUfGmUmAmAmUmGmAmUmsGmsAm
392	SR005324S	UmsGmsGmAmAmUmUfUfGfUmAmAmUmGmAmUmGmsAmsAm
393	SR005325S	GmsGmsAmAmUmUmUfGfUfAmAmUmGmAmUmGmAmsGmsAm
394	SR005328S	UmsUmsUmGmUmAmAfUfGfAmUmGmAmGmAmCmAmsGmsUm
395	SR005329S	UmsUmsGmUmAmAmUfGfAfUmGmAmGmAmCmAmGmsUmsUm
396	SR005331S	GmsUmsAmAmUmGmAfUfGfAmGmAmCmAmGmUmCmsUmsUm
397	SR005333S	AmsAmsUmGmAmUmGfAfGfAmCmAmGmUmCmUmUmsUmsAm
398	SR005334S	AmsUmsGmAmUmGmAfGfAfCmAmGmUmCmUmUmUmsGmsUm
399	SR005335S	UmsGmsAmUmGmAmGfAfCfAmGmUmCmUmUmUmGmsCmsAm
400	SR005336S	GmsAmsUmGmAmGmAfCfAfGmUmCmUmUmUmGmCmsGmsAm
401	SR005337S	AmsUmsGmAmGmAmCfAfGfUmCmUmUmUmGmCmGmsAmsAm

402	SR005338S	UmsGmsAmGmAmCmAfGfUfCmUmUmUmGmCmGmAmsAmsAm
403	SR005339S	GmsAmsGmAmCmAmGfUfCfUmUmUmGmCmGmAmAmsGmsAm
404	SR005345S	GmsUmsCmUmUmUmGfCfGfAmAmGmGmAmUmAmAmsGmsAm
405	SR005346S	UmsCmsUmUmUmGmCfGfAfAmGmGmAmUmAmAmGmsGmsUm
406	SR005348S	UmsUmsUmGmCmGmAfAfGfGmAmUmAmAmGmGmUmsUmsAm
407	SR005349S	UmsUmsGmCmGmAmAfGfGfAmUmAmAmGmGmUmUmsAmsUm
408	SR005350S	UmsGmsCmGmAmAmGfGfAfUmAmAmGmGmUmUmAmsCmsUm
409	SR005355S	AmsGmsGmAmUmAmAfGfGfUmUmAmCmUmUmGmUmsGmsUm
410	SR005429S	CmsCmsAmUmUmAmUfCfAfCmAmAmUmUmGmAmGmsGmsAm
411	SR005439S	AmsAmsUmUmGmAmGfGfAfUmGmCmUmAmUmAmAmsAmsAm
412	SR005450S	CmsUmsAmUmAmAmAfGfAfAmCmAmAmCmUmCmCmsUmsUm
413	SR005481S	GmsUmsUmUmUmCmCfGfAfAmGmCmAmGmAmUmAmsAmsUm
414	SR005482S	UmsUmsUmCmCmGmAfAfGfCmAmGmAmUmAmAmUmsGmsUm
415	SR005484S	UmsCmsCmGmAmAmGfCfAfGmAmUmAmAmUmGmUmsUmsAm
416	SR005489S	AmsGmsCmAmGmAmUfAfAfUmGmUmUmGmUmGmUmsCmsAm
417	SR005604S	AmsCmsCmGmGmAmUfUfGfUmGmGmUmUmCmGmAmsGmsUm
418	SR005610S	UmsUmsGmUmGmGmUfUfCfGmAmGmUmGmAmAmGmsAmsAm
419	SR005611S	UmsGmsUmGmGmUmUfCfGfAmGmUmGmAmAmGmAmsGmsAm
420	SR005613S	UmsGmsGmUmUmCmGfAfGfUmGmAmAmGmAmGmAmsAmsUm
421	SR005615S	GmsUmsUmCmGmAmGfUfGfAmAmGmAmGmAmAmUmsGmsAm
422	SR005617S	UmsCmsGmAmGmUmGfAfAfGmAmGmAmAmUmGmGmsGmsAm
423	SR005618S	CmsGmsAmGmUmGmAfAfGfAmGmAmAmUmGmGmGmsAmsAm
424	SR005669S	UmsGmsAmUmGmAmGfGfAfCmAmUmGmCmUmGmAmsUmsAm
425	SR005671S	AmsUmsGmAmGmGmAfCfAfUmGmCmUmGmAmUmAmsAmsUm
426	SR005684S	GmsAmsUmAmAmCmUfGfGfUmGmGmCmAmGmAmCmsAmsUm
427	SR005687S	AmsAmsCmUmGmGmUfGfGfCmAmGmAmCmAmUmCmsCmsUm
428	SR005688S	AmsCmsUmGmGmUmGfGfCfAmGmAmCmAmUmCmCmsCmsUm
429	SR005690S	UmsGmsGmUmGmGmCfAfGfAmCmAmUmCmCmUmsUmsUm
430	SR005691S	GmsUmsGmGmCmAmGfAfCfAmUmCmCmUmUmCmsCmsUm
431	SR005692S	UmsGmsGmCmAmGmAfCfAfUmCmCmUmUmCmCmsUmsAm
432	SR005694S	AmsCmsAmUmCmCmCfUfUfCmUmGmGmCmCmAmsGmsAm
433	SR005695S	CmsAmsUmCmCmCmUfUfCfCmUmGmGmCmCmAmGmsAmsUm
434	SR005728S	GmsAmsGmUmAmUmUfAfUfGmGmAmAmCmGmAmGmsCmsUm
435	SR005730S	GmsUmsAmUmUmAmUfGfGfAmAmCmGmAmGmCmUmsUmsUm
436	SR005731S	UmsAmsUmUmAmUmGfGfAfAmCmGmAmGmCmUmUmsUmsAm
437	SR005735S	AmsUmsGmGmAmAmCfGfAfGmCmUmUmUmAmUmUmsCmsUm
438	SR005879S	CmsAmsAmGmCmUmCfUfCfAmGmUmAmUmCmAmUmsGmsUm
439	SR005880S	AmsAmsGmCmUmCmUfCfAfGmUmAmUmCmAmUmGmsCmsUm
440	SR005897S	UmsCmsGmGmAmAmGfAfGfUmGmAmGmGmUmUmGmsAmsUm
441	SR005902S	AmsGmsAmGmUmGmAfGfGfUmUmGmAmCmAmAmGmsUmsUm
442	SR005914S	AmsCmsAmAmGmUmUfCfAfAmCmAmAmGmGmAmGmsAmsAm
443	SR005915S	CmsAmsAmGmUmUmCfAfAfCmAmAmGmGmAmGmAmsAmsUm
444	SR005918S	GmsUmsUmCmAmAmCfAfAfGmGmAmGmAmAmUmUmsGmsUm

445	SR005923S	AmsCmsAmAmGmGmAfGfAfAmUmUmGmUmUmGmGmsAmsAm
446	SR005924S	CmsAmsAmGmGmAmGfAfAfUmUmGmUmUmGmGmAmsAmsAm
447	SR005929S	UmsGmsUmUmGmGmAfAfAfAmAmGmAmGmAmGmGmsAmsUm
448	SR005930S	GmsUmsUmGmGmAmAfAfAfAmGmAmGmAmGmGmAmsUmsUm
449	SR005931S	AmsAmsAmGmAmGmAfGfGfAmUmUmGmUmGmCmAmsUmsAm
450	SR005932S	AmsAmsGmAmGmAmGfGfAfUmUmGmUmGmCmAmUmsAmsAm
451	SR005950S	UmsUmsCmCmCmAmCfCfAfAmGmUmUmUmGmGmAmsAmsUm
452	SR006002S	CmsCmsUmCmUmAmAfGfAfUmUmUmAmUmAmUmCmsAmsAm
453	SR006248S	UmsCmsCmGmCmAmCfAfGfAmUmAmUmUmGmUmCmsAmsUm
454	SR006249S	CmsCmsGmCmAmCmAfGfAfUmAmUmUmGmUmCmAmsUmsAm
455	SR006253S	AmsCmsAmGmAmUmAfUfUfGmUmCmAmUmGmGmAmsUmsAm
456	SR006257S	AmsUmsAmUmUmGmUfCfAfUmGmGmAmUmGmUmUmsGmsAm
457	SR006525S	GmsAmsGmGmUmCfUfAfAmAmGmAmGmAmGmAmsGmsUm
458	SR006550S	AmsUmsAmCmCmAmCfAfGfAmAmCmAmUmGmGmAmsUmsUm
459	SR006552S	AmsCmsCmAmCmAmGfAfAfCmAmUmGmGmAmUmCmsUmsAm
460	SR006554S	CmsAmsCmAmGmAmAfCfAfUmGmGmAmUmCmUmAmsUmsUm
461	SR006558S	GmsAmsAmCmAmUmGfGfAfUmCmUmAmUmUmAmAmsAmsAm
462	SR006563S	GmsAmsAmUmAmUmGfCfAfAmUmUmAmGmGmAmUmsCmsAm
463	SR006565S	UmsAmsUmGmCmAmAfUfUfAmGmGmAmUmCmAmUmsUmsUm
464	SR006566S	AmsUmsGmCmAmAmUfUfAfGmGmAmUmCmAmUmUmsUmsUm
465	SR006567S	GmsCmsAmAmUmAmAfGfGfAmUmCmAmUmUmUmsCmsUm
466	SR006569S	GmsGmsAmUmCmAmUfUfUfUmCmUmGmUmCmUmGmsUmsUm
467	SR006570S	GmsAmsUmCmAmUmUfUfUfCmUmGmUmCmUmGmUmsUmsUm
468	SR006571S	UmsCmsAmUmUmUmUfCfUfGmUmCmUmGmUmUmUmsUmsAm
469	SR006574S	CmsUmsGmUmCmUmGfUfUfUmAmAmUmCmAmUmsGmsUm
470	SR006576S	GmsUmsCmUmGmUmUfUfUfAmUmCmAmUmGmUmsAmsUm
471	SR006577S	CmsUmsGmUmUmUmUfAfAfUmCmAmUmGmUmAmUmsCmsUm
472	SR006578S	CmsAmsUmGmUmAmUfCfUfGmGmAmAmUmAmGmGmsGmsUm
473	SR006620S	CmsAmsAmUmGmAmAfCfAfGmCmAmAmAmGmCmAmsUmsAm
474	SR006623S	GmsAmsAmCmAmGmCfAfAfAmGmCmAmUmAmAmCmsCmsUm
475	SR006625S	CmsAmsGmCmAmAmAfGfCfAmUmAmAmCmCmUmUmsGmsAm
476	SR006626S	AmsGmsCmAmAmAmGfCfAfUmAmAmCmCmUmUmGmsAmsAm
477	SR006629S	AmsGmsCmAmUmAmAfCfCfUmUmGmAmAmUmCmUmsAmsUm
478	SR006631S	AmsAmsCmCmUmUmGfAfAfUmCmUmAmUmAmCmUmsCmsAm
479	SR006632S	AmsCmsCmUmUmGmAfAfUfCmUmAmUmAmCmUmCmsAmsAm
480	SR006633S	CmsCmsUmUmGmAmAfUfCfUmAmUmAmCmUmCmAmsAmsAm
481	SR006639S	CmsUmsAmUmAmCmUfCfAfAmAmUmUmUmUmGmCmsAmsAm
482	SR006646S	GmsGmsGmGmUmAmAfGfGfUmUmAmAmAmUmCmCmsUmsUm
483	SR006653S	CmsCmsUmCmUmAmAfCfCfAmUmCmUmUmUmGmAmsAmsUm
484	SR006654S	CmsUmsCmUmAmAmCfCfAfUmCmUmUmUmGmAmAmsUmsUm
485	SR006657S	UmsAmsAmCmCmAmUfCfUfUmUmGmAmAmUmCmAmsUmsUm
486	SR006658S	AmsAmsCmCmAmUmCfUfUfUmGmAmAmUmCmAmUmsUmsAm
487	SR006660S	CmsAmsUmCmUmUmUfGfAfAmUmCmAmUmUmGmGmsAmsAm

488	SR006661S	AmsUmsCmUmUmUmGfAfAfUmCmAmUmUmGmGmAmsAmsAm
489	SR006662S	CmsUmsUmUmGmAmAfUfCfAmUmUmGmGmAmAmAmsGmsAm
490	SR006663S	UmsGmsAmAmUmCmAfUfUfGmGmAmAmAmGmAmAmsUmsAm
491	SR006665S	CmsAmsUmUmGmGmAfAfAfGmAmAmUmAmAmAmGmsAmsAm
492	SR006666S	GmsGmsAmAmAmGmAfAfUfAmAmAmGmAmAmUmGmsAmsAm
493	SR006667S	GmsAmsAmAmGmAmAfUfAfAmAmGmAmAmUmGmAmsAmsAm
494	SR006668S	AmsGmsAmAmUmAmAfAfGfAmAmUmGmAmAmAmCmsAmsAm
495	SR006669S	GmsAmsAmUmAmAmAfGfAfAmUmGmAmAmAmCmAmsAmsAm
496	SR006670S	AmsUmsAmAmAmGmAfAfUfGmAmAmAmCmAmAmAmsUmsUm
497	SR006671S	AmsAmsGmAmAmUmGfAfAfAmCmAmAmAmUmUmCmsAmsAm
498	SR006672S	UmsGmsAmAmAmCmAfAfAfUmUmCmAmAmGmGmUmsUmsAm
499	SR006673S	GmsAmsAmAmCmAmAfAfUfUmCmAmAmGmGmUmUmsAmsAm
500	SR008675S	GmsAmsGmAmUmUmGfAmGfAfAfUmGmCmCmUmUmCmCmsAmsAm-L96
501	SR008676S	UmsCmsAmGmAmGmUfAmUfUfAfUmGmGmAmAmCmGmAmsGmsUm-L96
502	SR008677S	GmsAmsUmGmCmUmAfUfAfAmAmGmAmAmCmAmAmCmUm
503	SR011406S	CmsAmsUmGmAmGmAfGfUfUmUmUmAmUmUmCmAmAmsAms-GL6
504	SR011407S	UmsCmsUmGmCmAmGfAfAfCmAmAmGmAmUmCmGmUmsUms-GL6
505	SR011408S	UmsGmsGmCmAmUmUfGfAfGmAmUmGmAmAmGmUmUmsUms-GL6
506	SR011409S	UmsUmsCmAmAmGmAfAfUfAmUmGmCmUmGmUmUmUmsUms-GL6
507	SR011410S	GmsAmsGmAmUmGmAfAfGfUmUmCmAmAmGmAmAmUmsAms-GL6
508	SR011411S	UmsCmsAmAmGmAmAfUfAfUmGmCmUmGmUmUmUmCmsUms-GL6
509	SR011412S	GmsCmsAmUmGmAmGfAfGfUmUmUmAmUmUmCmAmsAms-GL6
510	SR011413S	GmsAmsAmUmAmUmGfCfUfGmUmUmUmCmCmUmAmUmsAms-GL6
511	SR011415S	GmsAmsUmGmAmAmGfUfUfCmAmAmGmAmAmUmAmUmsAms-GL6
512	SR011553S	AmsGmsAmGmUmAmUfUfAfUmGmGmAmAmCmGmAmsGmsUm-GL6
513	SR901023S	GmsUmsUm CmAmAm GfAfAf UmAmUm GmCmUm GmUmUms Ums-GL6

表 5 靶向 XDH 基因的经修饰的 siRNA 反义链序列

SEQ ID NO:	单链编号	序列 (5'→3')
514	SR006686A	AmsCfsUmCfCmUfAmAfGmAfGmAfCmAfCmUfGmGfCmsAfsGm
515	SR006690A	AmsAfsUmUfUmGfUmCfUmGfCmUfGmUfCmAfUmUfGmsUfsCm
516	SR006691A	UmsCfsAmAfUmUfUmGfUmCfUmGfCmUfGmUfCmAfUmsUfsGm
517	SR006692A	AmsCfsCmAfAmUfUmUfGmUfCmUfGmCfUmGfUmCfAmsUfsUm
518	SR006693A	AmsAfsCmCfAmAfUmUfUmGfUmCfUmGfCmUfGmUfCmsAfsUm
519	SR006694A	AmsAfsAmCfCmAfAmUfUmUfGmUfCmUfGmCfUmGfUmsCfsAm
520	SR006695A	AmsAfsAmAfCmCfAmAfUmUfUmGfUmCfUmGfCmUfGmsUfsCm
521	SR006697A	AmsGfsAmAfAmAfCmCfAmAfUmUfUmGfUmCfUmGfCmsUfsGm
522	SR006706A	AmsUfsCmUfGmCfAmUfUmUfUmUfCmUfCmCfAmCfCmsAfsCm
523	SR006708A	UmsGfsGmAfUmCfUmGfCmAfUmUfUmUfUmCfUmCfCmsAfsCm
524	SR006709A	UmsGfsUmCfUmCfUmGfGmAfUmCfUmGfCmAfUmUfUmsUfsUm
525	SR006716A	AmsAfsAmGfGmGfUmUfGmUfCmUfCmUfGmGfAmUfCmsUfsGm
526	SR006726A	UmsAfsAmCfUmUfUmCfUmUfCmUfCmAfGmGfUmAfGmsGfsCm

527	SR006749A	UmsCfsUmUfGmUfUmCfUmGfCmAfGmAfCmGfAmUfCmsAfsUm
528	SR006754A	AmsAfsCmGfAmUfCmUfUmGfUmUfCmUfGmCfAmGfAmsCfsGm
529	SR006787A	UmsCfsAmCfAmGfUmUfGmUfCmAfCmUfGmCfAmAfcmsAfsUm
530	SR006788A	UmsCfsCmAfCmAfGmUfUmGfUmCfAmCfUmGfCmAfAmsCfsAm
531	SR006790A	UmsUfsUmCfCmAfCmAfGmUfUmGfUmCfAmCfUmGfCmsAfsAm
532	SR006793A	UmsUfsCmCfUmUfCmCfAmCfAmGfUmUfGmUfCmAfCmsUfsGm
533	SR006794A	AmsUfsUmCfCmUfUmCfCmAfCmAfGmUfUmGfUmCfAmsCfsUm
534	SR006801A	AmsCfsUmUfCmCfUmAfuUmUfCmCfUmUfCmCfAmCfAmsGfsUm
535	SR006802A	UmsGfsCmUfUmCfCmUfAmUfUmCfCmUfUmCfCmAfCmsAfsGm
536	SR006808A	UmsCfsUmUfGmGfUmGfCmUfUmCfCmUfAmUfUmCfCmsUfsUm
537	SR006832A	UmsGfsGmCfAmAfuUmUfCmUfCmUfCmCfUmGfCmAfCmsAfsGm
538	SR006834A	UmsUfsUmGfGmCfAmAfuUmUfCmUfCmUfCmCfUmGfCmsAfsCm
539	SR006837A	UmsUfsGmGfAmAfuGmGfCmAfUmUfCmUfCmAfAmUfCmsUfsCm
540	SR006841A	UmsUfsCmCfUmUfGmGfAmAfuGmGfCmAfUmUfCmUfCmsAfsAm
541	SR006879A	AmsAfsAmUfCmGfCmAfGmCfUmGfCmUfUmCfCmGfAmsGfsGm
542	SR006902A	AmsAfsGmGfGmUfUmGfAmGfGmCfCmUfGmUfAmUfCmsCfsAm
543	SR006917A	AmsAfsAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfuGfCmCfAmsAfsUm
544	SR006918A	UmsGfsAmAfuCmUfUmCfAmUfCmUfCmAfAmUfGmCfCmsAfsAm
545	SR006919A	UmsUfsGmAfAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfuGfCmsCfsAm
546	SR006920A	UmsUfsUmGfAmAfuCmUfUmCfAmUfCmUfCmAfAmUfGmsCfsCm
547	SR006921A	UmsCfsUmUfGmAfAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfuGfsCm
548	SR006922A	UmsUfsCmUfUmGfAmAfuCmUfUmCfAmUfCmUfCmAfAmsUfsGm
549	SR006923A	AmsUfsUmCfUmUfGmAfAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmsAfsUm
550	SR006924A	UmsAfsUmUfCmUfUmGfAmAfuCmUfUmCfAmUfCmUfCmsAfsAm
551	SR006926A	UmsAfsUmAfuUmUfCmUfUmGfAmAfuCmUfUmCfAmUfCmsUfsCm
552	SR006927A	AmsCfsAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmCfUmUfCmAfUmsCfsUm
553	SR006928A	AmsGfsCmAfuAmAfuUmUfCmUfUmGfAmAfuCmUfUmCfAmsUfsCm
554	SR006929A	UmsAfsGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmCfUmUfCmsAfsUm
555	SR006931A	AmsAfsCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmCfUmsUfsCm
556	SR006932A	AmsAfsAmCfAmGfCmAfuAmAfuUmUfCmUfUmGfAmAfcmsUfsUm
557	SR006933A	AmsAfsAmAfuCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmsCfsUm
558	SR006934A	AmsGfsAmAfuAmCfAmGfCmAfuAmAfuUmUfCmUfUmGfAmsAfsCm
559	SR006937A	AmsUfsAmGfGmAfAmAfuCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmsUfsGm
560	SR006938A	UmsAfsUmAfuGmGfAmAfuAmCfAmGfCmAfuAmAfuUmUfCmsUfsUm
561	SR006939A	UmsCfsAmUfAmGfGmAfAmAfuCmAfGmCfAmUfAmUfUmsCfsUm
562	SR006945A	AmsAfsUmAfuCmCfGmUfCmGfGmGfUmCfCmAfuUmGfUmsUfsCm
563	SR007102A	UmsGfsAmAfuAmAfuAmAfuCmUfUmCfAmUfGmCfCmsAfsCm
564	SR007103A	UmsUfsGmAfAmUfAmAfuAmAfuCmUfCmUfCmAfUmGfCmsCfsAm
565	SR007104A	UmsUfsUmGfAmAfuAmAfuAmAfuCmUfUmCfAmUfGmsCfsCm
566	SR007312A	AmsUfsUmCfCmAfGmUfUmAfuUmGfUmUfAmCfUmCfCmsCfsAm
567	SR007315A	UmsAfsAmAfuUmUfCmCfAmGfUmUfAmUfGmUfUmAfcmsUfsCm
568	SR007316A	UmsUfsAmCfAmAfuAmUfUmCfCmAfGmUfUmAfuUmGfUmsUfsAm
569	SR007318A	UmsAfsUmCfAmUfUmAfuCmAfuAmAfuUmUfCmCfAmGfUmsUfsAm

570	SR007319A	UmsCfsAmUfCmAfUmUfAmCfAmAfAmUfUmCfCmAfGmsUfsUm
571	SR007320A	UmsUfsCmAfUmCfAmUfUmAfCmAfAmAfUmUfCmCfAmsGfsUm
572	SR007321A	UmsCfsUmCfAmUfCmAfUmUfAmCfAmAfAmUfUmCfCmsAfsGm
573	SR007324A	AmsCfsUmGfUmCfUmCfAmUfCmAfUmUfAmCfAmAfAmsUfsUm
574	SR007325A	AmsAfsCmUfGmUfCmUfCmAfUmCfAmUfUmAfCmAfAmsAfsUm
575	SR007327A	AmsAfsGmAfCmUfGmUfCmUfCmAfUmCfAmUfUmAfCmsAfsAm
576	SR007329A	UmsAfsAmAfGmAfCmUfGmUfCmUfCmAfUmCfAmUfUmsAfsCm
577	SR007330A	AmsCfsAmAfAmGfAmCfUmGfUmCfUmCfAmUfCmAfUmsUfsAm
578	SR007331A	UmsGfsCmAfAmAfGmAfCmUfGmUfCmUfCmAfUmCfAmsUfsUm
579	SR007332A	UmsCfsGmCfAmAfAmGfAmCfUmGfUmCfUmCfAmUfCmsAfsUm
580	SR007333A	UmsUfsCmGfCmAfAmAfGmAfCmUfGmUfCmUfCmAfUmsCfsAm
581	SR007334A	UmsUfsUmCfGmCfAmAfAmGfAmCfUmGfUmCfUmCfAmsUfsCm
582	SR007335A	UmsCfsUmUfCmGfCmAfAmAfGmAfCmUfGmUfCmUfCmsAfsUm
583	SR007341A	UmsCfsUmUfAmUfCmCfUmUfCmGfCmAfAmAfGmAfCmsUfsGm
584	SR007342A	AmsCfsCmUfUmAfUmCfCmUfUmCfGmCfAmAfAmGfAmsCfsUm
585	SR007344A	UmsAfsAmCfCmUfUmAfUmCfCmUfUmCfGmCfAmAfAmsGfsAm
586	SR007345A	AmsUfsAmAfCmCfUmUfAmUfCmCfUmUfCmGfCmAfAmsAfsGm
587	SR007346A	AmsGfsUmAfAmCfCmUfUmAfUmCfCmUfUmCfGmCfAmsAfsAm
588	SR007351A	AmsCfsAmCfAmAfGmUfAmAfCmCfUmUfAmUfCmCfUmsUfsCm
589	SR007425A	UmsCfsCmUfCmAfAmUfUmGfUmGfAmUfAmAfUmGfGmsCfsUm
590	SR007435A	UmsUfsUmUfAmUfAmGfCmAfUmCfCmUfCmAfAmUfUmsGfsUm
591	SR007446A	AmsAfsGmGfAmGfUmUfGmUfUmCfUmUfUmAfUmAfGmsCfsAm
592	SR007477A	AmsUfsUmAfUmCfUmGfCmUfUmCfGmGfAmAfAmAfCmsCfsCm
593	SR007478A	AmsCfsAmUfUmAfUmCfUmGfCmUfUmCfGmGfAmAfAmsAfsCm
594	SR007480A	UmsAfsAmCfAmUfUmAfUmCfUmGfCmUfUmCfGmGfAmsAfsAm
595	SR007485A	UmsGfsAmCfAmCfAmAfCmAfUmUfAmUfCmUfGmCfUmsUfsCm
596	SR007600A	AmsCfsUmCfGmAfAmCfCmAfCmAfAmUfCmCfGmGfUmsUfsUm
597	SR007606A	UmsUfsCmUfUmCfAmCfUmCfGmAfAmCfCmAfCmAfAmsUfsCm
598	SR007607A	UmsCfsUmCfUmUfCmAfCmUfCmGfAmAfCmCfAmCfAmsAfsUm
599	SR007609A	AmsUfsUmCfUmCfUmUfCmAfCmUfCmGfAmAfCmCfAmsCfsAm
600	SR007611A	UmsCfsAmUfUmCfUmCfUmUfCmAfCmUfCmGfAmAfCmsCfsAm
601	SR007613A	UmsCfsCmCfAmUfUmCfUmCfUmUfCmAfCmUfCmGfAmsAfsCm
602	SR007614A	UmsUfsCmCfCmAfUmUfCmUfCmUfUmCfAmCfUmCfGmsAfsAm
603	SR007665A	UmsAfsUmCfAmGfCmAfUmGfUmCfCmUfCmAfUmCfAmsCfsGm
604	SR007667A	AmsUfsUmAfUmCfAmGfCmAfUmGfUmCfCmUfCmAfUmsCfsAm
605	SR007680A	AmsUfsGmUfCmUfGmCfCmAfCmCfAmGfUmUfAmUfCmsAfsGm
606	SR007683A	AmsGfsGmAfUmGfUmCfUmGfCmCfAmCfCmAfGmUfUmsAfsUm
607	SR007684A	AmsGfsGmGfAmUfGmUfCmUfGmCfCmAfCmCfAmGfUmsUfsAm
608	SR007686A	AmsAfsAmGfGmGfAmUfGmUfCmUfGmCfCmAfCmCfAmsGfsUm
609	SR007687A	AmsGfsGmAfAmGfGmGfAmUfGmUfCmUfGmCfCmAfCmsCfsAm
610	SR007688A	UmsAfsGmGfAmAfGmGfGmAfUmGfUmCfUmGfCmCfAmsCfsCm
611	SR007690A	UmsCfsUmGfGmCfCmAfGmGfAmAfGmGfGmAfUmGfUmsCfsUm
612	SR007691A	AmsUfsCmUfGmGfCmCfAmGfGmAfAmGfGmGfAmUfGmsUfsCm

613	SR007724A	AmsGfsCmUfCmGfUmUfCmCfAmUfAmAfUmAfCmUfCmsUfsGm
614	SR007726A	AmsAfsAmGfCmUfCmGfUmUfCmCfAmUfAmAfUmAfCmsUfsCm
615	SR007727A	UmsAfsAmAfGmCfUmCfGmUfUmCfCmAfUmAfAmUfAmsCfsUm
616	SR007731A	AmsGfsAmAfUmAfAmAfGmCfUmCfGmUfUmCfCmAfUmsAfsAm
617	SR007875A	AmsCfsAmUfGmAfUmAfCmUfGmAfGmAfGmCfUmUfGmsCfsUm
618	SR007876A	AmsGfsCmAfUmGfAmUfAmCfUmGfAmGfAmGfCmUfUmsGfsCm
619	SR007893A	AmsUfsCmAfAmCfCmUfCmAfCmUfCmUfUmCfCmGfAmsGfsCm
620	SR007898A	AmsAfsCmUfUmGfUmCfAmAfCmCfUmCfAmCfUmCfUmsUfsCm
621	SR007910A	UmsUfsCmUfCmCfUmUfGmUfUmGfAmAfCmUfUmGfUmsCfsAm
622	SR007911A	AmsUfsUmCfUmCfCmUfUmGfUmUfGmAfAmCfUmUfGmsUfsCm
623	SR007914A	AmsCfsAmAfUmUfCmUfCmCfUmUfGmUfUmGfAmAfCmsUfsUm
624	SR007919A	UmsUfsCmCfAmAfCmAfAmUfUmCfUmCfCmUfUmGfUmsUfsGm
625	SR007920A	UmsUfsUmCfCmAfAmCfAmAfUmUfCmUfCmCfUmUfGmsUfsUm
626	SR007925A	AmsUfsCmCfUmCfUmCfUmUfUmUfUmCfCmAfAmCfAmsAfsUm
627	SR007926A	AmsAfsUmCfCmUfCmUfCmUfUmUfUmUfCmCfAmAfCmsAfsAm
628	SR007927A	UmsAfsUmGfCmAfCmAfAmUfCmCfUmCfUmCfUmUfUmsUfsUm
629	SR007928A	UmsUfsAmUfGmCfAmCfAmAfUmCfCmUfCmUfCmUfUmsUfsUm
630	SR007946A	AmsUfsUmCfCmAfAmAfCmUfUmGfGmUfGmGfGmAfAmsUfsUm
631	SR007998A	UmsUfsGmAfUmAfUmAfAmAfUmCfUmUfAmGfAmGfGmsUfsGm
632	SR008244A	AmsUfsGmAfCmAfAmUfAmUfCmUfGmUfGmCfGmGfAmsGfsGm
633	SR008245A	UmsAfsUmGfAmCfAmAfUmAfUmCfUmGfUmGfCmGfGmsAfsGm
634	SR008249A	UmsAfsUmCfCmAfUmGfAmCfAmAfUmAfUmCfUmGfUmsGfsCm
635	SR008253A	UmsCfsAmAfCmAfUmCfCmAfUmGfAmCfAmAfUmAfUmsCfsUm
636	SR008521A	AmsCfsUmCfUmCfUmCfUmUfUmAfGmAfCmCfCmUfCmsAfsCm
637	SR008546A	AmsAfsUmCfCmAfUmGfUmUfCmUfGmUfGmGfUmAfUmsGfsUm
638	SR008548A	UmsAfsGmAfUmCfCmAfUmGfUmUfCmUfGmUfGmGfUmsAfsUm
639	SR008550A	AmsAfsUmAfGmAfUmCfCmAfUmGfUmUfCmUfGmUfGmsGfsUm
640	SR008554A	UmsUfsUmUfAmAfUmAfGmAfUmCfCmAfUmGfUmUfCmsUfsGm
641	SR008559A	UmsGfsAmUfCmCfUmAfAmUfUmGfCmAfUmAfUmUfCmsAfsCm
642	SR008561A	AmsAfsAmUfGmAfUmCfCmUfAmAfUmUfGmCfAmUfAmsUfsUm
643	SR008562A	AmsAfsAmAfUmGfAmUfCmCfUmAfAmUfUmGfCmAfUmsAfsUm
644	SR008563A	AmsGfsAmAfAmAfUmGfAmUfCmCfUmAfAmUfUmGfCmsAfsUm
645	SR008565A	AmsAfsCmAfGmAfCmAfGmAfAmAfAmUfGmAfUmCfCmsUfsAm
646	SR008566A	AmsAfsAmCfAmGfAmCfAmGfAmAfAmAfUmGfAmUfCmsCfsUm
647	SR008567A	UmsAfsAmAfAmCfAmGfAmCfAmGfAmAfAmAfUmGfAmsUfsCm
648	SR008570A	AmsCfsAmUfGmAfUmUfAmAfAmAfCmAfGmAfCmAfGmsAfsAm
649	SR008572A	AmsUfsAmCfAmUfGmAfUmUfAmAfAmAfCmAfGmAfCmsAfsGm
650	SR008573A	AmsGfsAmUfAmCfAmUfGmAfUmUfAmAfAmAfCmAfGmsAfsCm
651	SR008574A	AmsCfsCmCfUmAfUmUfCmCfAmGfAmUfAmCfAmUfGmsAfsUm
652	SR008616A	UmsAfsUmGfCmUfUmUfGmCfUmGfUmUfCmAfUmUfGmsGfsUm
653	SR008619A	AmsGfsGmUfUmAfUmGfCmUfUmUfGmCfUmGfUmUfCmsAfsUm
654	SR008621A	UmsCfsAmAfGmGfUmUfAmUfGmCfUmUfUmGfCmUfGmsUfsUm
655	SR008622A	UmsUfsCmAfAmGfGmUfUmAfUmGfCmUfUmUfGmCfUmsGfsUm

656	SR008625A	AmsUfsAmGfAmUfUmCfAmAfGmGfUmUfAmUfGmCfUmsUfsUm
657	SR008627A	UmsGfsAmGfUmAfUmAfGmAfUmUfCmAfAmGfGmUfUmsAfsUm
658	SR008628A	UmsUfsGmAfGmUfAmUfAmGfAmUfUmCfAmAfGmGfUmsUfsAm
659	SR008629A	UmsUfsUmGfAmGfUmAfUmAfGmAfUmUfCmAfAmGfGmsUfsUm
660	SR008635A	UmsUfsGmCfAmAfAmAfUmUfUmGfAmGfUmAfUmAfGmsAfsUm
661	SR008642A	AmsAfsGmGfAmUfUmUfAmAfCmCfUmUfAmCfCmCfCmsAfsCm
662	SR008649A	AmsUfsUmCfAmAfAmGfAmUfGmGfUmUfAmGfAmGfGmsAfsUm
663	SR008650A	AmsAfsUmUfCmAfAmAfGmAfUmGfGmUfUmAfGmAfGmsGfsAm
664	SR008653A	AmsAfsUmGfAmUfUmCfAmAfAmGfAmUfGmGfUmUfAmsGfsAm
665	SR008654A	UmsAfsAmUfGmAfUmUfCmAfAmAfGmAfUmGfGmUfUmsAfsGm
666	SR008656A	UmsUfsCmCfAmAfUmGfAmUfUmCfAmAfAmGfAmUfGmsGfsUm
667	SR008657A	UmsUfsUmCfCmAfAmUfGmAfUmUfCmAfAmAfGmAfUmsGfsGm
668	SR008658A	UmsCfsUmUfUmCfCmAfAmUfGmAfUmUfCmAfAmAfGmsAfsUm
669	SR008659A	UmsAfsUmUfCmUfUmUfCmCfAmAfUmGfAmUfUmCfAmsAfsAm
670	SR008661A	UmsUfsCmUfUmUfAmUfUmCfUmUfUmCfCmAfAmUfGmsAfsUm
671	SR008662A	UmsUfsCmAfUmUfCmUfUmUfAmUfUmCfUmUfUmCfCmsAfsAm
672	SR008663A	UmsUfsUmCfAmUfUmCfUmUfUmAfUmUfCmUfUmUfCmsCfsAm
673	SR008664A	UmsUfsGmUfUmUfCmAfUmUfCmUfUmUfAmUfUmCfUmsUfsUm
674	SR008665A	UmsUfsUmGfUmUfUmCfAmUfUmCfUmUfUmAfUmUfCmsUfsUm
675	SR008666A	AmsAfsUmUfUmGfUmUfUmCfAmUfUmCfUmUfUmAfUmsUfsCm
676	SR008667A	UmsUfsGmAfAmUfUmUfGmUfUmUfCmAfUmUfCmUfUmsUfsAm
677	SR008668A	UmsAfsAmCfCmUfUmGfAmAfUmUfUmGfUmUfUmCfAmsUfsUm
678	SR008669A	UmsUfsAmAfCmCfUmUfGmAfAmUfUmUfGmUfUmUfCmsAfsUm
679	SR008679A	UmsUfsGmGmAmAfGmGfCfAmUmUmCmUfCmAfAmUmCmUmCmsCmsUm
680	SR008680A	AmsCfsUmCmGmUfUmCmCmAmUmAmAmUfAmCfUmCmUmGmAmsGmsAm
681	SR008681A	AmsGfsUmUmGmUfUmCmUmUmUmAmUmAfGmCfAmUmCmsCmsUm
682	SR007104A	UmsUfsUmGfAmAfUmAfAmAfAmCfUmCfUmCfAmUfGmsCfsCm
683	SR006754A	AmsAfsCmGfAmUfCmUfUmGfUmUfCmUfGmCfAmGfAmsCfsGm
684	SR006917A	AmsAfsAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfUmGfCmCfAmsAfsUm
685	SR006933A	AmsAfsAmAfCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmsCfsUm
686	SR006924A	UmsAfsUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmUfCmsAfsAm
687	SR006934A	AmsGfsAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmsAfsCm
688	SR007103A	UmsUfsGmAfAmUfAmAfAmAfCmUfCmUfCmAfUmGfCmsCfsAm
689	SR006938A	UmsAfsUmAfGmGfAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmsUfsUm
690	SR006926A	UmsAfsUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmsUfsCm
691	SR007723A	AmsCfsUmCfGmUfUmCfCmAfUmAfAmUfAmCfUmCfUmsGfsAm
692	SR905963A	AmsAfsAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmsUfsUm

表 6 靶向 XDH 基因的配对的 siRNA 正义链和反义链

双链编号	正义链编号	反义链编号	双链编号	正义链编号	反义链编号
DR002372	SR004690S	SR006686A	DR003373	SR005691S	SR007687A
DR002376	SR004694S	SR006690A	DR003374	SR005692S	SR007688A
DR002377	SR004695S	SR006691A	DR003376	SR005694S	SR007690A



DR002378	SR004696S	SR006692A	DR003377	SR005695S	SR007691A
DR002379	SR004697S	SR006693A	DR003410	SR005728S	SR007724A
DR002380	SR004698S	SR006694A	DR003412	SR005730S	SR007726A
DR002381	SR004699S	SR006695A	DR003413	SR005731S	SR007727A
DR002383	SR004701S	SR006697A	DR003417	SR005735S	SR007731A
DR002392	SR004710S	SR006706A	DR003561	SR005879S	SR007875A
DR002394	SR004712S	SR006708A	DR003562	SR005880S	SR007876A
DR002395	SR004713S	SR006709A	DR003579	SR005897S	SR007893A
DR002402	SR004720S	SR006716A	DR003584	SR005902S	SR007898A
DR002412	SR004730S	SR006726A	DR003596	SR005914S	SR007910A
DR002435	SR004753S	SR006749A	DR003597	SR005915S	SR007911A
DR002440	SR004758S	SR006754A	DR003600	SR005918S	SR007914A
DR002473	SR004791S	SR006787A	DR003605	SR005923S	SR007919A
DR002474	SR004792S	SR006788A	DR003606	SR005924S	SR007920A
DR002476	SR004794S	SR006790A	DR003611	SR005929S	SR007925A
DR002479	SR004797S	SR006793A	DR003612	SR005930S	SR007926A
DR002480	SR004798S	SR006794A	DR003613	SR005931S	SR007927A
DR002487	SR004805S	SR006801A	DR003614	SR005932S	SR007928A
DR002488	SR004806S	SR006802A	DR003632	SR005950S	SR007946A
DR002494	SR004812S	SR006808A	DR003684	SR006002S	SR007998A
DR002518	SR004836S	SR006832A	DR003930	SR006248S	SR008244A
DR002520	SR004838S	SR006834A	DR003931	SR006249S	SR008245A
DR002523	SR004841S	SR006837A	DR003935	SR006253S	SR008249A
DR002527	SR004845S	SR006841A	DR003939	SR006257S	SR008253A
DR002565	SR004883S	SR006879A	DR004207	SR006525S	SR008521A
DR002588	SR004906S	SR006902A	DR004232	SR006550S	SR008546A
DR002603	SR004921S	SR006917A	DR004234	SR006552S	SR008548A
DR002604	SR004922S	SR006918A	DR004236	SR006554S	SR008550A
DR002605	SR004923S	SR006919A	DR004240	SR006558S	SR008554A
DR002606	SR004924S	SR006920A	DR004245	SR006563S	SR008559A
DR002607	SR004925S	SR006921A	DR004247	SR006565S	SR008561A
DR002608	SR004926S	SR006922A	DR004248	SR006566S	SR008562A
DR002609	SR004927S	SR006923A	DR004249	SR006567S	SR008563A
DR002610	SR004928S	SR006924A	DR004251	SR006569S	SR008565A
DR002612	SR004930S	SR006926A	DR004252	SR006570S	SR008566A
DR002613	SR004931S	SR006927A	DR004253	SR006571S	SR008567A
DR002614	SR004932S	SR006928A	DR004256	SR006574S	SR008570A
DR002615	SR004933S	SR006929A	DR004258	SR006576S	SR008572A
DR002617	SR004935S	SR006931A	DR004259	SR006577S	SR008573A
DR002618	SR004936S	SR006932A	DR004260	SR006578S	SR008574A
DR002619	SR004937S	SR006933A	DR004302	SR006620S	SR008616A
DR002620	SR004938S	SR006934A	DR004305	SR006623S	SR008619A
DR002623	SR004941S	SR006937A	DR004307	SR006625S	SR008621A

DR002624	SR004942S	SR006938A	DR004308	SR006626S	SR008622A
DR002625	SR004943S	SR006939A	DR004311	SR006629S	SR008625A
DR002631	SR004949S	SR006945A	DR004313	SR006631S	SR008627A
DR002788	SR005106S	SR007102A	DR004314	SR006632S	SR008628A
DR002789	SR005107S	SR007103A	DR004315	SR006633S	SR008629A
DR002790	SR005108S	SR007104A	DR004321	SR006639S	SR008635A
DR002998	SR005316S	SR007312A	DR004328	SR006646S	SR008642A
DR003001	SR005319S	SR007315A	DR004335	SR006653S	SR008649A
DR003002	SR005320S	SR007316A	DR004336	SR006654S	SR008650A
DR003004	SR005322S	SR007318A	DR004339	SR006657S	SR008653A
DR003005	SR005323S	SR007319A	DR004340	SR006658S	SR008654A
DR003006	SR005324S	SR007320A	DR004342	SR006660S	SR008656A
DR003007	SR005325S	SR007321A	DR004343	SR006661S	SR008657A
DR003010	SR005328S	SR007324A	DR004344	SR006662S	SR008658A
DR003011	SR005329S	SR007325A	DR004345	SR006663S	SR008659A
DR003013	SR005331S	SR007327A	DR004347	SR006665S	SR008661A
DR003015	SR005333S	SR007329A	DR004348	SR006666S	SR008662A
DR003016	SR005334S	SR007330A	DR004349	SR006667S	SR008663A
DR003017	SR005335S	SR007331A	DR004350	SR006668S	SR008664A
DR003018	SR005336S	SR007332A	DR004351	SR006669S	SR008665A
DR003019	SR005337S	SR007333A	DR004352	SR006670S	SR008666A
DR003020	SR005338S	SR007334A	DR004353	SR006671S	SR008667A
DR003021	SR005339S	SR007335A	DR004354	SR006672S	SR008668A
DR003027	SR005345S	SR007341A	DR004355	SR006673S	SR008669A
DR003028	SR005346S	SR007342A	DR004361	SR008675S	SR008679A
DR003030	SR005348S	SR007344A	DR004362	SR008676S	SR008680A
DR003031	SR005349S	SR007345A	DR004363	SR008677S	SR008681A
DR003032	SR005350S	SR007346A	DR005800	SR011406S	SR007104A
DR003037	SR005355S	SR007351A	DR005801	SR011407S	SR006754A
DR003111	SR005429S	SR007425A	DR005802	SR011408S	SR006917A
DR003121	SR005439S	SR007435A	DR005803	SR011409S	SR006933A
DR003132	SR005450S	SR007446A	DR005804	SR011410S	SR006924A
DR003163	SR005481S	SR007477A	DR005805	SR011411S	SR006934A
DR003164	SR005482S	SR007478A	DR005806	SR011412S	SR007103A
DR003166	SR005484S	SR007480A	DR005807	SR011413S	SR006938A
DR003171	SR005489S	SR007485A	DR005809	SR011415S	SR006926A
DR003286	SR005604S	SR007600A	DR005932	SR011553S	SR007723A
DR003292	SR005610S	SR007606A	DR005799	SR901023S	SR905963A
DR003293	SR005611S	SR007607A			
DR003295	SR005613S	SR007609A			
DR003297	SR005615S	SR007611A			
DR003299	SR005617S	SR007613A			
DR003300	SR005618S	SR007614A			

DR003351	SR005669S	SR007665A			
DR003353	SR005671S	SR007667A			
DR003366	SR005684S	SR007680A			
DR003369	SR005687S	SR007683A			
DR003370	SR005688S	SR007684A			
DR003372	SR005690S	SR007686A			

## 实施例

如无特别说明，实施例中所使用的材料来源如下：

Huh7 细胞系购自南京科佰，货号 CBP60202；

5 Hep3B 细胞系购自南京科佰，货号 CBP60197；

PHH 细胞购自上海轩一，货号 QYLF-HPMC；

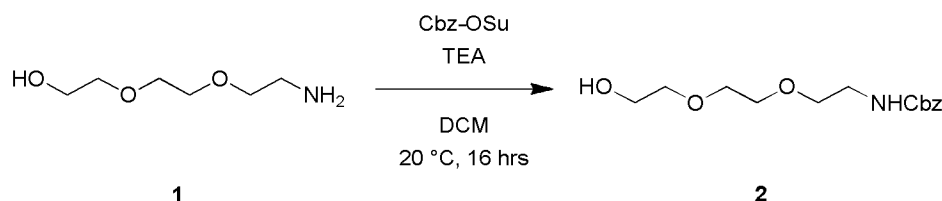
HEK293A 细胞系购自南京科佰，货号 CBP60436；

Balb/c 小鼠来自浙江维通利华，货号 Balb/c。

## 10 实施例 1 化合物 E7 的制备

### 1. 中间体 3-4 的制备

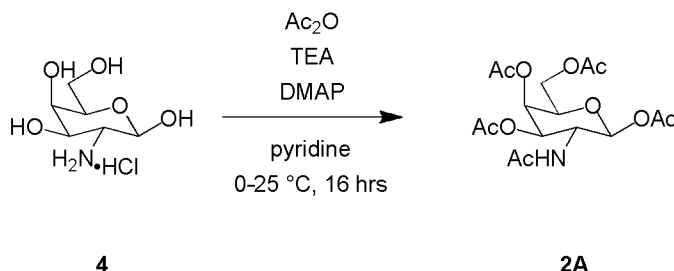
#### 1.1 化合物 2 的制备



15 在 15 °C 下向化合物 1 (300 g, 2.01 mol) 的 DCM (1.80 L) 中缓慢加入苄基(2,5-二氧代吡咯烷-1-基)碳酸酯 (600g, 2.40 mol) 并逐滴加入 TEA (203 g, 2.01 mol, 280 mL)。加入后，将混合物在 25 °C 下搅拌 16 小时。TLC (二氯甲烷:甲醇=10:1) 显示反应物 1 ( $R_f = 0.32$ ) 被保留且检测到一个重要新点 ( $R_f = 0.52$ )。使用饱和碳酸氢钠溶液洗涤反应混合物 (1.00 L x 2)，使用盐水 (1.00 L) 洗涤有机相，用无水

20  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥并真空浓缩。不经纯化，化合物 2 (约 385 g) 为黄色油状。

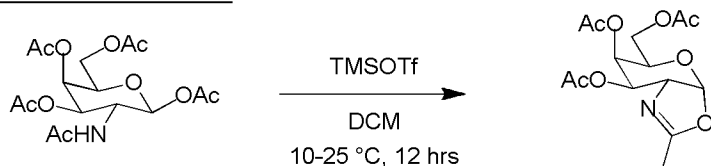
#### 1.2 化合物 2A 的制备



25 在 0-15 °C 下向化合物 4 (350 g, 1.62 mol, HCl) 和  $\text{Ac}_2\text{O}$  (994 g, 9.74 mol, 912 mL) 的吡啶 (1.75 L) 溶液中一次性加入 DMAP (19.8 g, 162 mmol) 并逐滴加入 TEA (164 g, 1.62 mol, 226 mL)。将混合物在 25 °C 下搅拌 16 小时。LCMS (产物:  $RT = 0.687$  min) 显示起始反应物消耗完全。在 25 °C 下向混合物中添加 EtOAc (1.40 L) 并搅拌 30 分钟，随后过滤混合物并使用 EtOAc (300 mL) 清洗滤饼。在 25 °C 下

用水(1.45 L)磨碎滤饼 30 分钟。过滤混合物并使用水(175 mL x 3)清洗滤饼, 收集滤饼以获得白色固体状的化合物 2A (约 580 g)。

### 1.3 化合物 2B 的制备



5

2A

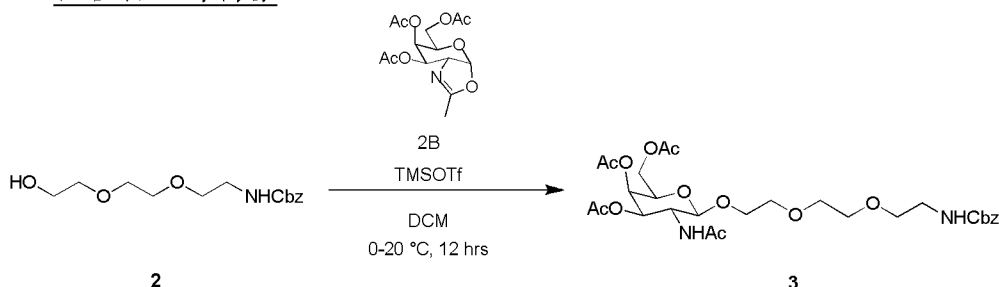
2B

三次反应平行进行。

在 10-15 °C 下经 0.5 小时向化合物 2A (200 g, 514 mmol) 的 DCM (800 mL) 溶液中逐滴加入 TMSOTf (137 g, 616 mmol, 111 mL)。随后将混合物在 25 °C 下搅拌 3 小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=20:1) 显示化合物 2A ( $R_f = 0.54$ ) 消耗完全且新点 ( $R_f = 0.24$ ) 形成。合并三次反应。将混合物冷却至 0-15 °C, 在 0-5 °C 下缓慢倒入  $\text{NaHCO}_3$  的溶液 (300 g 溶解在 3.00 L 水) 中, 分离有机相并用 DCM (1.00 L x 3) 萃取水相, 合并有机层, 用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 过滤并真空浓缩。不经纯化, 获得黄色油状的化合物 2B (约 507 g) 用于下一步骤。

15

### 1.4 化合物 3 的制备



2

3

在 0-10 °C 下向在 DCM (1.00 L) 中的化合物 2B (250 g, 759 mmol) 和化合物 2 (151 g, 531 mmol) 的混合物中逐滴加入 TMSOTf (84.4 g, 380 mmol, 69.0 mL) 并将混合物在 20 °C 搅拌 12 小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇=20:1) 显示化合物 2 ( $R_f = 0.33$ ) 消耗完全且形成新点 ( $R_f = 0.03$ )。将合并的反应物冷却至 0-5 °C, 随后将反应物倒入  $\text{NaHCO}_3$  (水溶液, 100g 溶于 1L 水) 中并在 5-10 °C 下搅拌 10 分钟, 分离相。使用 DCM (500 mL x 2) 萃取水相, 合并的有机相用  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥, 过滤, 真空浓缩滤液。不经纯化, 化合物 3 (约 360 g) 为黄色油状。

20

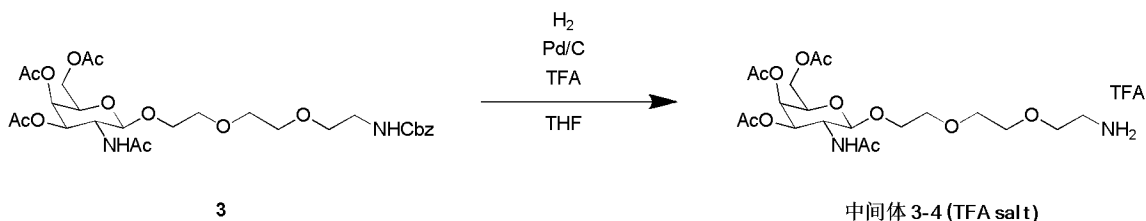
$^1\text{H NMR}$  : (400 MHz, DMSO).

25

$\delta = 7.79-7.37$  (m, 1H), 7.35-7.26 (m, 5H), 5.21-5.20 (m, 1H), 5.00-4.95 (m, 3H), 4.55-4.53 (m, 1H), 4.03-3.86 (m, 3H), 3.61-3.59 (m, 1H), 3.59-3.57 (m, 1H), 3.48-3.40 (m, 6H), 3.39-3.31 (m, 2H), 3.14-3.13 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.76-1.74 (m, 3H).

30

### 1.5 中间体 3-4 (TFA 盐) 的制备



三次反应平行进行。

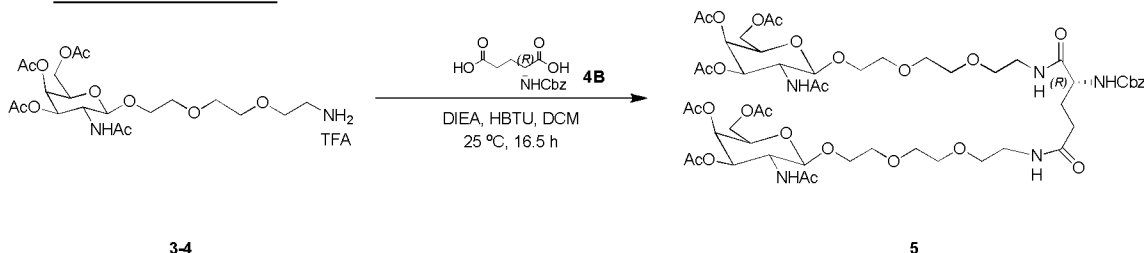
在氩气气氛下向在 THF (1.80 L) 中的 Pd/C (18.0 g, 16.3 mmol, 10% 含量) 的混合物中加入化合物 3 (180 g, 293 mmol) 和 TFA (33.5 g, 293 mmol, 21.8 mL)。对混  
 5 悬液排气并使用氢气通气三次。在 H<sub>2</sub> (50 Psi) 和 30 °C 下将混合物搅拌 2 小时。LCMS (产物: RT = 0.697 min) 显示化合物 3 消耗且检测到产物峰。合并三次反应。通过 celite 过滤混合物, 减压浓缩滤液以除去溶剂。不经纯化, 获得黄色固体状的中间体 3-4 (TFA 盐) (393 g, 660 mmol, 74.8% 产率, 99.6% 纯度, TFA)。

<sup>1</sup>H NMR : (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)

10 δ = 7.92 (d, *J* = 9.1 Hz, 4H), 5.27-5.17 (m, 1H), 5.03-4.91 (m, 1H), 4.60-4.50 (m, 1H), 4.09-3.97 (m, 4H), 3.85 (s, 2H), 3.65-3.46 (m, 10H), 3.04-2.92 (m, 2H), 2.10 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.94-1.86 (m, 3H), 1.82-1.71 (m, 4H)。

## 2. 中间体 3-5 的制备

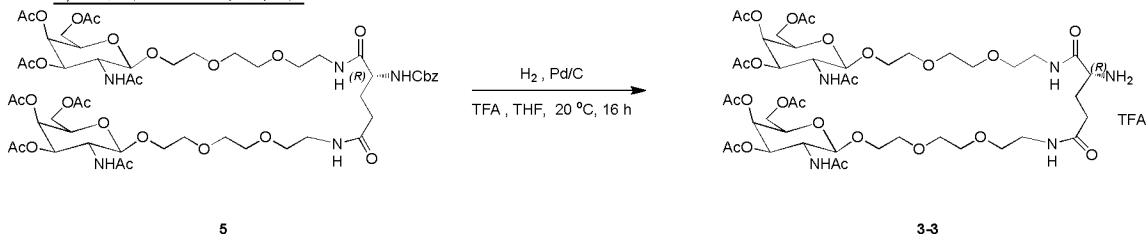
### 15 2.1 化合物 5 的制备



在 25 °C 下向化合物 4B (10.0 g, 35.5 mmol, 1.00 *eq*) 和以上制备的化合物 3-4 (46.3 g, 78.2 mmol, 2.20 *eq*, TFA) 的 DCM (1.00 L) 溶液中一次性加入 DIEA (30.3 g, 234 mmol, 40.8 mL, 6.60 *eq*)。25 °C 搅拌半小时。向混合物中加入 HBTU (30.3 g, 234 mmol, 40.8 mL, 6.60 *eq*)。25 °C 搅拌 16 小时。LCMS (产物: RT = 0.681 mins) 显示反应完成, 真空浓缩混合物。在 20 °C 下向混合物中加入 0.50 N HCl (200 mL x 2), 并用 DCM (3 x 500 mL) 萃取, 合并有机层并用饱和 NaHCO<sub>3</sub> (3 x 800 mL) 清洗直至 pH = 8, 用盐水 (3 x 500 mL) 清洗, 用 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥并真空浓缩纯化。通过柱色谱 (SiO<sub>2</sub>, DCM: MeOH = 50:1 - 15:1) 纯化残留物。在 40 °C 下真空浓缩残留物  
 20 并通过制备型- MPLC (柱: 800 g Agela C18; 流动相: [水 - ACN]; 15-45% 25min; 45% 10min) 纯化。真空干燥以获得黄色固体状的化合物 5 (约 180 g + 75.0 g + 87.0 g + 40.0 g + 38.0 g)。

417.0 g 的化合物 3-4 通过 9 批次被转换为化合物 5。

### 30 2.2 中间体 3-3 的制备



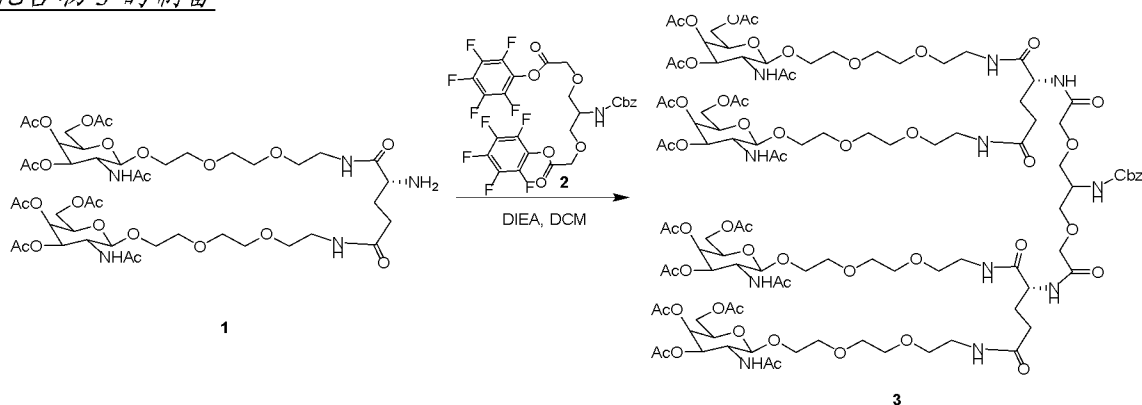
在氩气气氛下向 Pd/C (3.00 g, 10%含量) 的 THF (300 mL) 中加入化合物 5 (73.0 g, 61.7 mmol, 1.00 eq) 和 TFA (7.04 g, 61.7 mmol, 4.57 mL, 1.00 eq)。对悬浮液脱气并使用氩气通气三次。在 H<sub>2</sub> (20 Psi) 和 20 °C 下搅拌 16 小时。TLC (二氯甲烷: 甲醇 = 8: 1, R<sub>f</sub> = 0.0) 显示反应完成。通过 celite 过滤混合物, 加压浓缩滤液以除去溶剂以获得白色固体状的化合物 3-3 (约 33.4 g + 129 g + 75.0 g)。

<sup>1</sup>H NMR: (400 MHz, DMSO)

δ=8.53 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.18 (d, *J* = 2.4 Hz, 3H), 8.03 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.84 (dd, *J* = 3.6 Hz, 2H), 5.22 (d, *J* = 3.2 Hz, 2H), 4.96 (dd, *J* = 3.2 Hz, 2H), 4.55 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 4.02 (t, *J* = 8.8 Hz, 6H), 3.77-3.59 (m, 5H), 3.58-3.45 (m, 21H), 3.40-3.20 (m, 4H), 2.18 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.17 (d, *J* = 8.0 Hz, 6H), 2.10 (s, 6H), 1.99 (s, 6H), 1.90-1.80 (m, 8H), 1.77 (s, 6H)。

### 3. 化合物 E7 的制备

#### 3.1 化合物 3 的制备



15

在室温下将化合物 1 (2.00 g, 1.87 mmol, 根据上述中间体 3-3 的方法制备) 溶解到 DCM (20.0 mL) 中, 向溶液中依次加入 DIEA (0.135 mL, 0.814 mmol), 化合物 2 (0.550 g, 0.814 mmol), 置换 3 次氮气。反应混合物在 25°C 下搅拌 16 小时。液质联用检测到产物的 MS 响应, 薄层色谱 (二氯甲烷/甲醇 = 5/1) 显示原料消失且有新点生成。反应液在减压下浓缩, 所得的粗产品经柱层析纯化 (二氯甲烷/甲醇 = 5/1) 得到白色固体化合物 3 (约 780 mg)。

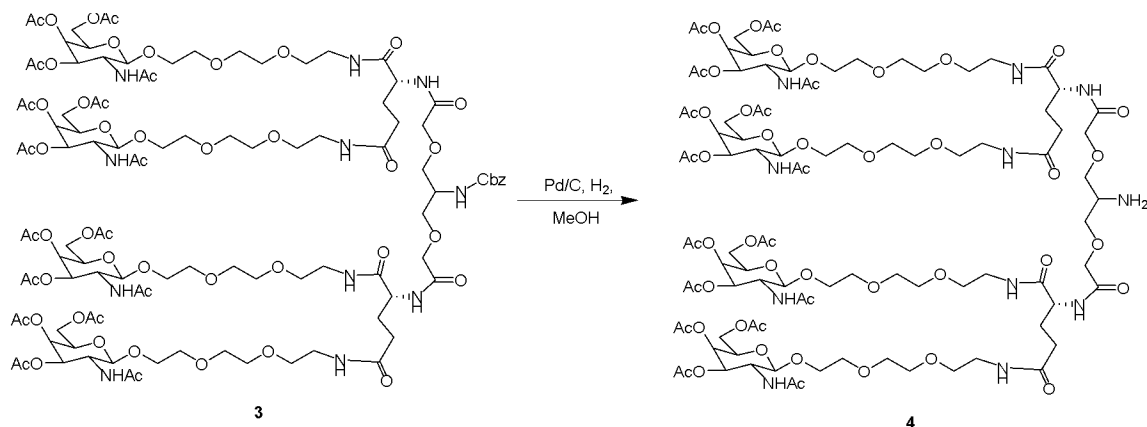
20

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)

δ=7.28-7.42 (m, 5H), 5.30-5.34 (m, 4H), 5.04-5.14 (m, 6H), 4.63-4.67 (m, 4H), 4.36-4.44 (m, 2H), 4.00-4.20 (m, 23H), 3.91-3.95 (m, 4H), 3.69-3.77 (m, 9H), 3.52-3.67 (m, 32H), 3.34-3.43 (m, 9H), 2.29-2.31 (m, 4H), 2.14 (s, 12H), 2.03 (s, 12H), 1.92-1.96 (m, 24H)。LCMS: *m/z* = 1221.6 (M/2+H)<sup>+</sup>。

25

#### 3.2 化合物 4 的制备

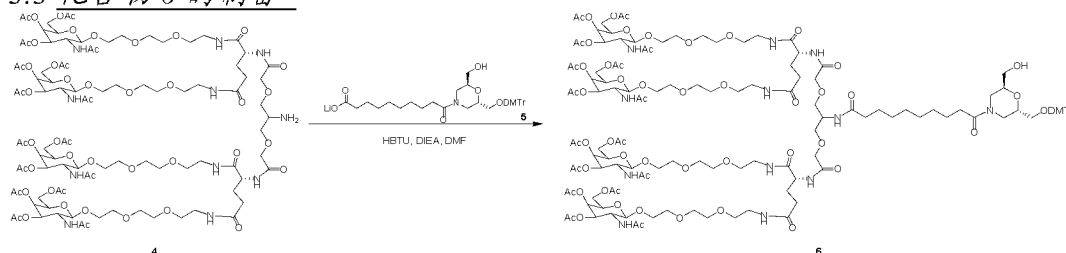


在室温下将化合物 3 (1.10 g, 0.451 mmol)溶解到 MeOH (10.0 mL)中, 向该溶液中加入质量分数为 10%的湿 Pd/C (0.050 g, 0.451 mmol), 置换 3 次氢气, 反应混合物在氢气氛围下(14.696 psi)、25°C下搅拌 18 小时。液质联用检测到产物的 MS 响应, 薄层色谱(二氯甲烷/甲醇 = 10/1, 磷钼酸显色)显示原料已完全消耗且有新点生成。反应液过滤, 滤液在减压下浓缩得到白色固体化合物 4 (约 840 mg)。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$ =5.32-5.34 (m, 4H), 5.06-5.10 (m, 4H), 4.63-4.65 (m, 4H), 4.38-4.40 (m, 2H), 3.99-4.20 (m, 20H), 3.90-3.97 (m, 4H), 3.69-3.76 (m, 6H), 3.50-3.68 (m, 36H), 3.35-3.44 (m, 11H), 2.28-2.38 (m, 4H), 2.15 (s, 12H), 2.03 (s, 12H), 1.90-1.94 (m, 24H). LCMS:  $m/z = 1154.7$  ( $\text{M}/2+\text{H}$ ) $^+$ .

### 3.3 化合物 6 的制备

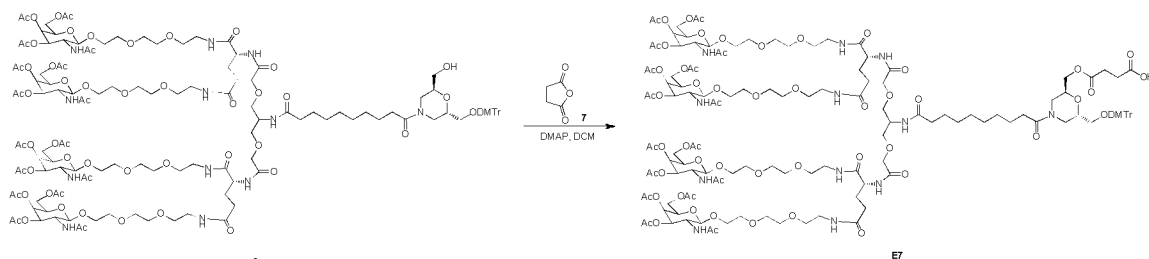


在室温下将化合物 5 (232 mg, 0.364 mmol)溶解到 DCM (10.0 mL)中, 向溶液中依次加入 HBTU (207 mg, 0.546 mmol), DIEA (0.181 mL, 1.09 mmol) 和化合物 4 (840 mg, 0.364 mmol), 置换 3 次氮气。反应混合物在 25°C下搅拌 1 小时。液质联用检测到原料消失, 薄层色谱(二氯甲烷/甲醇 = 5/1)显示原料消失且有新点生成。反应液在减压下浓缩, 所得的粗产品经柱层析纯化(二氯甲烷/甲醇 = 8/1~5/1)得到白色固体化合物 6 (约 620 mg)。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta$ =7.41-7.43 (m, 2H), 7.23-7.34 (m, 7H), 6.83-6.90 (m, 4H), 5.31-5.35 (m, 4H), 5.01-5.12 (m, 4H), 4.63-4.65 (m, 4H), 4.41-4.45 (m, 2H), 4.31-4.33 (m, 1H), 3.99-4.22 (m, 22H), 3.87-3.97 (m, 6H), 3.58-3.81 (m, 45H), 3.34-3.43 (m, 10H), 2.19-2.40 (m, 10H), 2.14 (s, 12H), 2.02 (s, 12H), 1.92-1.96 (m, 24H), 1.48-1.63 (m, 4H), 1.28-1.38 (m, 8H). LCMS:  $m/z = 1460.0$  ( $\text{M}/2+\text{H}$ ) $^+$ .

### 4. 化合物 E7 的制备



在室温下将化合物 6 (300 mg, 0.103 mmol)溶解到 DCM (10.0 mL)中，向溶液中依次加入 DIEA (0.102 mL, 0.618 mmol)，化合物 7 (10.3 mg, 0.103 mmol)和 DMAP (12.6 mg, 0.103 mmol)，置换 3 次氮气。反应混合物在 25°C 下搅拌 2 小时。液质联用检测到原料消失。反应液在减压下浓缩，所得的粗产品经制备型高效液相色谱制备（制备型-HPLC，柱：Waters Xbridge BEH C18 100\*30mm\*10um；流动相：水-ACN；B%：17%-57%，5min）分离得到白色固体化合物 E7 (53.0 mg, 收率 17.08%，纯度 78.94%)。

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

$\delta=7.41-7.45$  (m, 2H), 7.17-7.34 (m, 7H), 6.85-6.89 (m, 4H), 5.32-5.36 (m, 4H), 5.03-5.13 (m, 4H), 4.63-4.67 (m, 4H), 4.38-4.47 (m, 2H), 4.32-4.34 (m, 1H), 4.01-4.26 (m, 22H), 3.88-4.00 (m, 6H), 3.77-3.81 (m, 7H), 3.49-3.76 (m, 45H), 3.33-3.47 (m, 10H), 2.56-2.62 (m, 2H), 2.45-2.55 (m, 3H), 2.21-2.38 (m, 7H), 2.14 (s, 12H), 2.05-2.11 (m, 2H), 2.02 (s, 12H), 1.92-1.96 (m, 24H), 1.47-1.68 (m, 4H), 1.28-1.34 (m, 8H)

MS:  $m/z = 3022.36$  (M+H) $^+$ .

## 实施例 2 siRNA 的制备

使用本领域熟知的固相亚磷酸胺法制备本发明的 siRNA。具体方法可参见例如 PCT 公开号 WO2016081444 和 WO2019105419，并简述如下。

### 1. 未连接配体的 siRNA 的制备

#### 1.1 正义链 (SS 链) 的合成

通过固相亚磷酸胺合成法，利用空白的 CPG 固相载体做为起始循环，按照正义链核苷酸排布顺序自 3'-5' 方向逐一连接核苷单体。每连接一个核苷单体都包含了脱保护、偶联、盖帽、氧化或硫代四步反应，合成规模为 5 $\mu\text{mol}$  的寡核酸合成条件如下：

核苷单体提供的是 0.05mol/L 的乙腈溶液，每一步反应的条件相同，即温度为 25°C，脱保护使用 3% 的三氯乙酸-二氯甲烷溶液，脱保护 3 次；偶联反应使用的活化剂为 0.25mol/L 的 ETT-乙腈溶液，偶联 2 次；盖帽使用 10% 醋酐-乙腈和吡啶/N-甲基咪唑/乙腈 (10:14:76, v/v/v)，盖帽 2 次；氧化使用 0.05mol/L 的碘/四氢呋喃/吡啶/水 (70/20/10, v/v/v)，氧化 2 次；硫代使用 0.2mol/L PADS 的乙腈/3-甲基吡啶 (1/1, v/v)，硫代 2 次。

#### 1.2 反义链 (AS 链) 的合成

通过固相亚磷酸胺合成法，利用空白的 CPG 固相载体做为起始循环，按照反义链核苷酸排布顺序自 3'-5' 方向逐一连接核苷单体。每连接一个核苷单体都包含了脱保护、偶联、盖帽、氧化或硫代四步反应，反义链的 5 $\mu\text{mol}$  的寡核酸合成条件和正义链的相同。

#### 1.3 寡核苷酸的纯化与退火

##### 1.3.1 氨解



将合成好的固相载体（正义链或者反义链）加入到 5 mL 的离心管中，加入 3%的二乙胺/氨水（v/v），35℃（或者 55℃）恒温水浴下反应 16 小时（或者 8 小时），过滤，固相载体用乙醇/水洗涤三次，每次 1 mL，滤液离心浓缩后粗品进行纯化。

### 5 1.3.2 纯化

纯化和脱盐的方法是本领域人员所熟知的。例如，可采用强阴离子填料装柱，氯化钠-氢氧化钠体系进行洗脱纯化，产品收集并管，可采用凝胶填料纯化柱进行脱盐，洗脱体系是纯水。

### 1.3.3 退火

10 根据表 6 将成对的正义链（SS 链）链与反义链（AS 链）以摩尔比（SS 链/AS 链=1/1.05）混合，水浴锅加热至 70-95℃，保持 3-5 min，自然冷却至室温，将体系冻干得到产品。

## 2. 正义链与配体连接的 siRNA 的制备

### 15 2.1 配体与 CPG 载体的连接

化合物 E7 与 CPG 载体的连接

将化合物 E7（53 mg，0.018 mmol）和 HBTU（13.3 mg，0.035 mmol）混合后加入乙腈（5 mL）震荡溶解，随后加入 DIEA（9.0 mg，0.07 mmol）和 DMAP（2.1 mg，0.018 mmol）震荡溶解直至变得清澈。称取空白载体 Resin（550mg，20 CPG 孔径 1000Å）加入到反应液中，控温 20℃，摇床反应过夜。取样并监测，进行薄层色谱 TLC，结果显示反应完全，其中展开剂为 DCM/甲醇=4/1，用磷酸钼酸显色。使用砂芯漏斗进行过滤，滤饼用无水乙腈洗涤（20mL\*5），取滤饼，使用油泵减压抽滤 6h，得到类白色固体 530mg。

25 将上述缩合后的产品 530mg 放于 50mL 的圆底瓶中，依次加入 CapC（DMAP/乙腈），CapB（N-甲基咪唑/吡啶/乙腈），CapA（醋酐/乙腈），室温下摇床过夜。过滤，滤饼用乙腈洗涤，20mL\*4），取滤饼，油泵减压抽滤 8 h 后得到类白色固体 200mg，用于固相合成。

### 2.2 正义链（SS 链）的合成

30 通过固相亚磷酸胺合成法，利用上述 2.1 制备的 GL6 固相载体做为起始循环，按照正义链核苷酸排布顺序自 3'-5'方向逐一连接核苷单体。每连接一个核苷单体都包含了脱保护、偶联、盖帽、氧化或硫代四步反应，合成规模为 5 μmol 的寡核酸合成条件如下：

35 核苷单体提供的是 0.05mol/L 的乙腈溶液，每一步反应的条件相同，即温度为 25℃，脱保护使用 3% 的三氯乙酸-二氯甲烷溶液，脱保护 3 次；偶联反应使用的活化剂为 0.25mol/L 的 ETT-乙腈溶液，偶联 2 次；盖帽使用 10%醋酐-乙腈和吡啶/N-甲基咪唑/乙腈（10:14:76, v/v/v），盖帽 2 次；氧化使用 0.05mol/L 的碘/四氢呋喃/吡啶/水（70/20/10, v/v/v），氧化 2 次；硫代使用 0.2mol/L PADS 的乙腈/3-甲基吡啶（1/1, v/v），硫代 2 次。

40

### 2.3 反义链（AS 链）的合成

通过固相亚磷酸胺合成法，利用空白的 CPG 固相载体做为起始循环，按照反义链核苷酸排布顺序自 3'-5'方向逐一连接核苷单体。每连接一个核苷单体都包含了脱保护、偶联、盖帽、氧化或硫代四步反应，反义链的 5μmol 的寡核酸合

成条件和正义链的相同。

## 2.4 寡核苷酸的纯化与退火

### 2.4.1 氨解

- 5 将合成好的固相载体（正义链或者反义链）加入到 5 mL 的离心管中，加入 3% 的二乙胺/氨水（v/v），35°C（或者 55°C）恒温水浴下反应 16 小时（或者 8 小时），过滤，固相载体用乙醇/水洗涤三次，每次 1 mL，滤液离心浓缩后粗品进行纯化。

### 2.4.2 纯化

- 10 纯化和脱盐的方法是本领域人员所熟知的。例如，可采用强阴离子填料装柱，氯化钠-氢氧化钠体系进行洗脱纯化，产品收集并管，采用凝胶填料纯化柱进行脱盐，洗脱体系是纯水。

### 2.4.3 退火

- 15 根据表 6 将正义链（SS 链）链与反义链（AS 链）以摩尔比（SS 链/AS 链 = 1/1.05）混合，水浴锅加热至 70-95°C，保持 3-5 min，自然冷却至室温，将体系冻干得到产品。

以相似的方法获得缀合有 L96 的 siRNA。最终获得以下 siRNA: DR004361、DR004362。

20

## 实施例 3 psi-CHECK2 在靶活性筛选

### 质粒制备

根据人 XDH mRNA 的全长序列设计质粒，由生工生物工程(上海)股份有限公司制备 psiCHECK2 XDH 重组质粒。将重组质粒稀释至 1000 ng/μL 备用。

25

### 细胞转染

用 100 μL HEK293A 细胞（南京科佰，货号 CBP60436）的细胞重悬液铺板到 96 孔板，细胞量为  $8 \times 10^3$  个细胞/孔。

第二天，首先将孔中的完全培养基吸弃，换成 Opti-MEM 培养基 80 μL/孔，饥饿处理约 1.5 小时。

30

siRNA 配制: siRNA 的终浓度为 10nM。

质粒混合物: 每孔的质粒混合物含有 0.01 μL 质粒和 8.99 μL Opti-MEM。

Lipo 混合: 用 Opti-MEM 稀释 Lipo 2000 (Lipofectamine™ 2000 转染试剂, Thermo, 11668019)，室温静置 5 分钟，每孔中的 Lipo 混合物中含有 Lipo 0.2 μL 和 Opti-MEM 9.8 μL。

35

将已配制好的 Lipo 混合物 22 μL、化合物 2.2 μL、质粒混合物 19.8 μL，分别分装到对应的同一孔中: 命名为孔 A，吹打混匀后，室温孵育 20 分钟后进行共转染。最后将孔 A 混合物 20 μL/孔加入每孔细胞中。每孔终体积为 100 μL，其中包含原有 80 μL Opti-MEM 和 20 μL 孔 A 混合物。37°C 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 4 h 后，每孔补加 100 μL 含 20% 胎牛血清的 DMEM 培养基。37°C 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 小时后检测。

40

### 结果检测

在实验开始前先将混合好的 Dual-Glo® Luciferase (Dual-Glo® Luciferase Assay System, Promega, E2940) 进行复融，平衡到室温后每管按 1:1 加入 DMEM，配制成底物 I，现配现用。将 Dual-Glo® Stop & Glo® Buffer 进行复融，等平衡

到室温后与 Dual-Glo® Stop & Glo® Substrate 按照 100:1 配制成底物 II，现配现用。

- 5 使用真空泵吸去 96 孔培养板中原有的培养基。每孔加入 150  $\mu$ L 底物 I，在摇床上室温孵育 10 分钟。取 120  $\mu$ L 底物 I，转移到 96 孔酶标板上，在酶标仪（Tecan, Infinite 200）上读取 Firefly 化学发光值。再向每孔加入 60  $\mu$ L 底物 II，在摇床上室温孵育 10 分钟，在酶标仪上读取 Renilla（海肾荧光素酶）化学发光值。

#### 数据分析处理

- 10 荧光活性由酶标仪测定，收集得到的 Renilla 信号由 Firefly 信号标准均一化。siRNA 的抑制效果由未经过处理的结果比较得出（剩余抑制活性），其计算过程见下：

均一化 Ren/Fir 比值：Ratio = Renilla（海肾荧光素酶）/ Firefly（萤火虫荧光素酶）。

- 15 剩余抑制率 =  $(\text{Ratio}_{\text{siRNA}} / \text{Ratio}_{\text{control}}) * 100\%$ ，取两个孔的结果的平均值：其中 Ratio<sub>control</sub> 为对照孔（不含 siRNA）的 Ratio 值（取两个孔的结果的平均值）。

作图：利用 Graphpad Prism 作图。

半数最大抑制浓度（Half maximal inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>）：本次实验以 Top 和 Bottom 作图，IC<sub>50</sub> 值根据公式  $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{-(\text{LogIC}_{50} - X) * \text{HillSlope}})$  求得，其中 Y=50，X=log（浓度）。

- 20 siRNA 的 psi-CHECK2 在靶活性筛选结果如表 7 所示。

表 7 siRNA 的 psi-CHECK2 在靶活性筛选结果

化合物编号	剩余抑制率	SD	化合物编号	剩余抑制率	SD
DR002372	15.8%	1.9%	DR003293	20.70%	7.40%
DR002376	13.1%	0.9%	DR003295	22.80%	1.00%
DR002377	10.7%	3.2%	DR003297	24.70%	6.10%
DR002378	14.1%	0.5%	DR003299	19.30%	2.00%
DR002379	17.9%	5.0%	DR003300	23.10%	2.70%
DR002380	13.9%	0.4%	DR003351	21.60%	0.10%
DR002381	22.6%	2.5%	DR003353	25.20%	7.00%
DR002383	12.3%	1.9%	DR003366	21.90%	9.70%
DR002392	25.3%	5.3%	DR003369	24.30%	1.10%
DR002394	19.3%	0.5%	DR003370	25.80%	7.60%
DR002395	15.5%	1.8%	DR003372	20.70%	6.70%
DR002402	20.6%	2.9%	DR003373	16.90%	1.40%
DR002412	24.5%	0.1%	DR003374	21.40%	0.10%
DR002435	25.7%	2.4%	DR003376	23.00%	4.50%
DR002440	16.0%	3.6%	DR003377	20.60%	3.00%
DR002473	17.2%	4.7%	DR003410	23.60%	7.50%
DR002474	25.8%	4.3%	DR003412	21.30%	13.20%
DR002476	23.4%	0.1%	DR003413	15.90%	3.40%
DR002479	24.4%	0.7%	DR003417	25.00%	2.10%
DR002480	22.2%	0.1%	DR003561	25.40%	1.30%
DR002487	23.3%	4.2%	DR003562	21.90%	2.30%

DR002488	24.1%	1.6%	DR003579	22.10%	1.20%
DR002494	23.9%	1.4%	DR003584	22.90%	4.50%
DR002518	25.0%	2.6%	DR003596	21.40%	0.10%
DR002520	19.9%	0.9%	DR003597	17.50%	0.80%
DR002523	10.6%	1.9%	DR003600	24.50%	0.90%
DR002527	22.5%	4.1%	DR003605	16.70%	5.40%
DR002565	23.8%	4.0%	DR003606	14.70%	1.70%
DR002588	24.6%	1.4%	DR003611	23.60%	6.60%
DR002603	15.6%	5.8%	DR003612	24.40%	4.20%
DR002604	17.2%	3.7%	DR003613	21.70%	5.10%
DR002605	16.7%	4.3%	DR003614	23.70%	0.70%
DR002606	21.1%	0.1%	DR003632	24.10%	4.00%
DR002607	20.2%	6.0%	DR003684	17.70%	4.20%
DR002608	20.2%	3.0%	DR003930	22.60%	11.60%
DR002609	21.0%	2.0%	DR003931	23.70%	2.70%
DR002610	15.7%	1.7%	DR003935	17.60%	2.90%
DR002612	19.9%	0.4%	DR003939	16.00%	3.10%
DR002613	22.4%	4.9%	DR004207	24.50%	2.10%
DR002614	18.0%	4.8%	DR004232	22.40%	5.60%
DR002615	15.5%	0.8%	DR004234	20.70%	5.20%
DR002617	19.7%	3.6%	DR004236	21.60%	10.60%
DR002618	14.7%	6.4%	DR004240	21.60%	5.00%
DR002619	22.9%	4.5%	DR004245	15.80%	3.00%
DR002620	18.1%	3.9%	DR004247	25.10%	0.90%
DR002623	19.9%	2.2%	DR004248	24.10%	3.20%
DR002624	15.8%	3.7%	DR004249	20.60%	3.40%
DR002625	21.1%	4.1%	DR004251	18.20%	5.70%
DR002631	21.0%	0.2%	DR004252	20.40%	4.90%
DR002788	9.6%	0.8%	DR004253	25.80%	2.40%
DR002789	24.4%	5.5%	DR004256	24.10%	0.10%
DR002790	16.5%	3.4%	DR004258	24.80%	10.60%
DR002998	20.4%	2.2%	DR004259	15.30%	4.40%
DR003001	21.9%	1.3%	DR004260	22.60%	7.40%
DR003002	24.4%	4.9%	DR004302	23.50%	7.10%
DR003004	21.2%	0.4%	DR004305	22.40%	3.00%
DR003005	18.6%	1.8%	DR004307	23.00%	3.00%
DR003006	18.7%	0.8%	DR004308	23.40%	10.20%
DR003007	22.3%	0.2%	DR004311	18.10%	0.70%
DR003010	25.9%	1.2%	DR004313	14.00%	1.20%
DR003011	11.7%	5.6%	DR004314	22.50%	1.80%
DR003013	15.3%	3.6%	DR004315	19.10%	3.00%
DR003015	19.1%	1.3%	DR004321	22.30%	0.40%
DR003016	18.8%	1.9%	DR004328	22.70%	5.30%

DR003017	19.1%	8.4%	DR004335	24.10%	1.80%
DR003018	15.5%	0.4%	DR004336	24.80%	6.40%
DR003019	24.5%	2.0%	DR004339	16.30%	4.40%
DR003020	25.4%	4.3%	DR004340	23.00%	4.90%
DR003021	21.0%	2.7%	DR004342	22.00%	4.50%
DR003027	24.0%	0.1%	DR004343	13.50%	2.00%
DR003028	18.2%	4.1%	DR004344	19.20%	1.10%
DR003030	20.9%	4.4%	DR004345	21.50%	0.60%
DR003031	20.6%	0.0%	DR004347	8.10%	3.30%
DR003032	25.3%	7.7%	DR004348	22.00%	2.40%
DR003037	19.3%	1.3%	DR004349	14.80%	1.70%
DR003111	19.5%	0.7%	DR004350	21.30%	4.20%
DR003121	21.5%	1.1%	DR004351	19.10%	2.60%
DR003132	23.0%	0.3%	DR004352	17.60%	0.60%
DR003163	24.3%	1.0%	DR004353	21.70%	1.50%
DR003164	18.9%	3.0%	DR004354	16.80%	4.00%
DR003166	17.6%	1.4%	DR004355	25.80%	0.60%
DR003171	23.7%	7.1%	DR004361	21.30%	0.20%
DR003286	22.2%	2.4%	DR004362	22.70%	7.20%
DR003292	25.6%	1.8%	DR004363	25.40%	1.50%

#### 实施例4 猴原代肝细胞 (PCH) 活性筛选

##### 细胞转染-反向转染

5 在 96 孔细胞培养板的每孔中加入 100 $\mu$ L 包被介质 (Coating Medium), 37 $^{\circ}$ C 包被 30 分钟, 结束后吸去包被介质。

在 37 $^{\circ}$ C 复苏猴原代肝细胞 (PCH, 来源于妙顺(上海)生物科技有限公司), 用冻融介质(Thawing Medium) 重悬细胞, 离心后计数, 将 PCH 铺板在 96 孔板中, 90 $\mu$ L/孔,  $2 \times 10^4$  个细胞/孔。

10 siRNA 稀释: 取 198  $\mu$ L Opti-MEM 加入 2  $\mu$ L 20  $\mu$ M 的 siRNA 母液中, 吹吸混匀作为第 1 个浓度点, 按照实验实际需求进行相应稀释操作 (对照组不加 siRNA)。

15 转染流程: 取 14.1 $\mu$ L Opti-MEM 稀释 0.9  $\mu$ L RNAiMAX( Thermo, 13778150), 轻轻吹吸混匀, 室温静置 5 分钟。然后将配置好的 RNAi-MAX 混合液取 15  $\mu$ L、稀释好的 siRNA 15 $\mu$ L。轻轻吹吸混匀, 室温静置 10 分钟, 加入 96 孔板, 10  $\mu$ L/孔。37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 4 小时后换培养介质 (Culture Medium), 第二天提取 RNA。

##### RNA 提取

按照高通量细胞 RNA 提取试剂盒 (凡知医疗, FG0412) 的操作方法使用核酸提取仪 (杭州奥盛, Auto-pure96) 进行细胞 RNA 提取。

20 RNA 反转录

变性反应混合液的配制参考 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA 合成试剂盒 (Takara, 6210B)。每孔中含有 Oligo dT Primer 1 $\mu$ L, dNTP Mixture 1 $\mu$ L, 模板 RNA 12.5 $\mu$ L。在常规 PCR 仪中在 65 $^{\circ}$ C 孵育 5min 进行变性反应。将混合液置于

冰上迅速冷却 2min。

反转录反应液的配制参考 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA 合成试剂盒 (Takara, 6210B)。每孔中含有 5×Prime Script II Buffer 4μL, RNA 酶抑制剂 0.5μL, PrimeScript II RTase 1μL。

- 5 将变性后的反应液 14.5μL 与反转录反应液 5.5μL 缓慢混匀, 在常规 PCR 仪中在 42 °C 孵育 45 分钟进行反转录, 95 °C 孵育 5 分钟使酶失活, 4°C 将反转录产物 (cDNA) 冷却。

反转结束后, 向每个孔的 cDNA 样品中加入不含 DNase 酶和 RNA 酶的蒸馏水 30 μL

10 荧光定量 PCR

参考 TaqMan™ Fast Advanced Master Mix (ABI, 4444965) 的操作流程, 以 20μL 体系进行荧光定量 PCR 反应(ABI, QuantStudio3)。反应程序为: (50°C, 2 分钟)×1 Cycle; (95°C, 20 秒)×1 Cycle; (95°C, 1 秒; 60°C, 24 秒)×40 Cycles。

表 8 引物信息

引物名称	序列信息 (5'-3')	荧光基团
mkGAPDH-Primer-Forward-MGB	AGTCAGCCGCATTTTCTCTTG (SEQ ID NO: 693)	/
mkGAPDH-Prime-Reverse-MGB	AAATCCGTTGACTCCGACCTT (SEQ ID NO: 694)	/
mkGAPDH-Probe-MGB	ATCGCCAGCGCATC (SEQ ID NO: 695)	5'TET, 3'MGB
mkXDH-Primer-Forward-MGB	TTGCCTTCAAACCAATGAACAG (SEQ ID NO: 696)	/
mkXDH-Primer-Reverse-MGB	TTAATCTTACCCACTGCCTCACT (SEQ ID NO: 697)	/
mkXDH-Probe-MGB	AGCATAACCTTGAATCTAT (SEQ ID NO: 698)	5'6-FAM, 3'MGB

15 数据统计

计算  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  值并换算成百分比以得到剩余抑制率;

$\Delta\Delta Ct = [ (Ct \text{ 实验组目的基因} - Ct \text{ 实验组内参}) - (Ct \text{ 对照组目的基因} - Ct \text{ 对照组内参}) ]$ 。

- 20 siRNA 的终浓度为 10 nM, 进行 siRNA 化合物细胞系活性筛选, 实验筛选结果如表 9 所示。

表 9 使用 10 nM 的 siRNA 进行猴原代肝细胞活性筛选的结果

化合物编号	剩余抑制率	STD	化合物编号	剩余抑制率	STD
DR002372	61.58%	22.13%	DR003293	32.31%	6.53%
DR002376	44.37%	0.89%	DR003295	35.38%	0.15%
DR002377	54.23%	3.84%	DR003297	37.02%	4.41%
DR002378	95.41%	11.55%	DR003299	45.62%	1.63%
DR002379	120.10%	0.83%	DR003300	44.55%	1.04%
DR002380	101.09%	4.80%	DR003351	35.40%	9.05%
DR002381	119.48%	2.45%	DR003353	32.67%	2.43%
DR002383	127.43%	14.05%	DR003366	45.16%	7.76%
DR002392	34.13%	5.88%	DR003369	59.93%	1.42%

DR002394	34.71%	3.21%	DR003370	51.67%	8.96%
DR002395	30.20%	2.58%	DR003372	50.58%	7.00%
DR002402	35.33%	0.68%	DR003373	49.05%	11.65%
DR002412	35.02%	7.91%	DR003374	47.83%	6.23%
DR002435	32.24%	6.40%	DR003376	129.54%	1.81%
DR002440	33.09%	9.00%	DR003377	94.48%	4.80%
DR002473	45.30%	9.46%	DR003410	52.42%	8.20%
DR002474	52.33%	2.38%	DR003412	56.61%	6.17%
DR002476	67.04%	2.92%	DR003413	66.85%	11.80%
DR002479	54.47%	10.13%	DR003417	49.79%	1.29%
DR002480	44.35%	0.36%	DR003561	47.73%	1.98%
DR002487	41.63%	1.25%	DR003562	44.64%	8.12%
DR002488	38.87%	8.99%	DR003579	49.63%	1.01%
DR002494	45.57%	0.97%	DR003584	33.16%	0.26%
DR002518	55.41%	9.12%	DR003596	46.50%	5.89%
DR002520	46.32%	3.19%	DR003597	49.75%	5.88%
DR002523	43.48%	5.74%	DR003600	51.16%	1.56%
DR002527	40.75%	4.61%	DR003605	50.30%	0.41%
DR002565	41.26%	0.49%	DR003606	47.82%	0.71%
DR002588	36.72%	0.61%	DR003611	50.23%	2.03%
DR002603	35.96%	6.03%	DR003612	48.44%	7.25%
DR002604	31.96%	7.69%	DR003613	39.89%	2.27%
DR002605	41.86%	6.55%	DR003614	49.51%	4.42%
DR002606	41.92%	4.03%	DR003632	45.75%	1.34%
DR002607	40.27%	11.73%	DR003684	43.88%	8.22%
DR002608	118.41%	0.54%	DR003930	41.11%	17.41%
DR002609	36.47%	0.12%	DR003931	48.06%	2.74%
DR002610	30.75%	0.19%	DR003935	38.46%	2.67%
DR002612	20.50%	0.52%	DR003939	36.67%	4.81%
DR002613	33.46%	7.66%	DR004207	49.73%	5.08%
DR002614	31.36%	2.82%	DR004232	36.71%	8.99%
DR002615	26.89%	5.35%	DR004234	36.56%	6.17%
DR002617	29.29%	7.80%	DR004236	41.19%	10.16%
DR002618	24.61%	0.90%	DR004240	45.17%	1.24%
DR002619	22.34%	1.32%	DR004245	62.58%	6.46%
DR002620	24.41%	2.76%	DR004247	102.25%	7.84%
DR002623	16.84%	1.75%	DR004248	44.23%	12.54%
DR002624	30.93%	3.87%	DR004249	61.98%	9.39%
DR002625	28.96%	2.66%	DR004251	32.58%	3.53%
DR002631	67.74%	11.84%	DR004252	40.68%	7.57%
DR002788	28.81%	6.21%	DR004253	89.21%	5.50%
DR002789	31.43%	1.83%	DR004256	40.67%	1.89%
DR002790	28.94%	7.09%	DR004258	77.65%	2.43%

DR002998	40.49%	12.00%	DR004259	100.60%	2.69%
DR003001	29.98%	9.95%	DR004260	88.03%	7.06%
DR003002	43.05%	2.24%	DR004302	71.86%	3.04%
DR003004	37.06%	0.64%	DR004305	63.20%	8.90%
DR003005	61.69%	7.87%	DR004307	49.75%	2.52%
DR003006	68.67%	0.32%	DR004308	40.38%	4.16%
DR003007	77.18%	5.14%	DR004311	55.67%	8.06%
DR003010	134.27%	2.38%	DR004313	73.65%	2.13%
DR003011	51.03%	2.29%	DR004314	72.48%	12.74%
DR003013	48.98%	0.85%	DR004315	64.20%	9.21%
DR003015	45.70%	7.46%	DR004321	62.82%	23.48%
DR003016	30.31%	0.12%	DR004328	68.57%	19.87%
DR003017	41.86%	9.92%	DR004335	66.69%	1.62%
DR003018	60.69%	11.30%	DR004336	39.35%	5.60%
DR003019	48.13%	0.14%	DR004339	67.34%	2.47%
DR003020	109.46%	6.83%	DR004340	77.00%	0.39%
DR003021	40.01%	3.72%	DR004342	68.86%	13.67%
DR003027	61.59%	4.77%	DR004343	78.51%	5.89%
DR003028	67.19%	2.36%	DR004344	54.63%	4.89%
DR003030	43.06%	6.42%	DR004345	64.27%	14.58%
DR003031	43.77%	8.18%	DR004347	64.62%	6.11%
DR003032	45.60%	8.95%	DR004348	52.51%	4.23%
DR003037	41.40%	3.56%	DR004349	69.13%	1.95%
DR003111	36.50%	11.18%	DR004350	81.98%	6.26%
DR003121	33.72%	3.84%	DR004351	71.97%	0.32%
DR003132	48.78%	11.54%	DR004352	79.57%	10.37%
DR003163	30.04%	2.61%	DR004353	87.12%	5.44%
DR003164	25.74%	2.76%	DR004354	83.09%	10.20%
DR003166	35.31%	5.33%	DR004355	86.04%	5.93%
DR003171	33.61%	5.43%	DR004361	29.44%	14.13%
DR003286	29.72%	10.49%	DR004362	26.76%	10.26%
DR003292	32.21%	10.50%	DR004363	34.90%	11.84%

## 实施例5 人原代肝细胞 (PHH) 活性筛选

### 细胞转染

5 取鼠尾胶原蛋白溶液 (Sigma, C3867) 1.4mL 加入 40.6mL DNase RNase-Free 蒸馏水中, 混匀。96 孔培养板中每孔加入 40 $\mu$ L 混合液, 4 $^{\circ}$ C 包被过夜, 第二天去除包被液。

第二天, 使用前, 将包被的细胞板用 DPBS 润洗后吸去 DPBS, 将 PHH 细胞 (上海轩一, 货号 QYLF-HPMC) 加入复苏培养基中, 在 37 $^{\circ}$ C 复苏, 离心, 重悬, 并且计数。将 PHH 细胞铺板到 96 孔板中, 90 $\mu$ L/孔, 2 $\times$ 10<sup>4</sup> 个细胞/孔; 4 小时后更换完全培养基, 18 小时后进行转染操作。

10 第三天, 将 198 $\mu$ L Opti-MEM 加入 2 $\mu$ L 20 $\mu$ M 的 siRNA 母液, 吹吸混匀, 作



为第 1 个浓度点，按照实际实验需要进行相应梯度稀释。（对照组不加化合物）

第三天，取 14.1μL Opti-MEM 稀释 0.9 μL RNAiMAX( Thermo, 13778150)，轻轻吹吸混匀，室温下静置 5 分钟。然后将配置好的 RNAi-MAX 混合液取 15 μL、稀释好的 siRNA 15μL 轻轻吹吸混匀。室温静置 10 分钟，加入 96 孔板，10 μL/孔。37°C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 小时后提取 RNA。

RNA 提取

按照高通量细胞 RNA 提取试剂盒（凡知医疗，FG0412）的操作方法使用核酸提取仪（杭州奥盛，Auto-pure96）进行细胞 RNA 提取。

RNA 反转录

变性反应混合液的配制参考 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA 合成试剂盒（Takara, 6210B）每孔中含有 Oligo dT Primer 1μL，dNTP Mixture 1μL，模板 RNA 12.5μL。在常规 PCR 仪中在 65°C 孵育 5min 进行变性反应。将混合液置于冰上迅速冷却 2min。

反转录反应液的配制参考 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA 合成试剂盒（Takara, 6210B）每孔中含有 5×Prime Script II Buffer 4μL，RNA 酶抑制剂 0.5μL，PrimeScript II RTase 1μL。

将变性后的反应液 14.5μL 与反转录反应液 5.5μL 缓慢混匀。在常规 PCR 仪中 42 °C 孵育 45 分钟进行反转录，95 °C 孵育 5 分钟使酶失活，4°C 将反转录产物（cDNA）冷却。

反转结束后，向每个孔的 cDNA 样品中加入 DNase RNase-Free 蒸馏水 30 μL。

荧光定量 PCR

参考 TaqMan™ Fast Advanced Master Mix（ABI, 4444965）的操作流程，以 20μL 体系进行荧光定量 PCR 反应（ABI, QuantStudio3）。反应程序为：(50°C, 2 分钟)×1 Cycle; (95°C, 20 秒)×1 Cycle; (95°C, 1 秒; 60°C, 24 秒)×40 Cycles。

表 10 引物信息

引物名称	序列信息 (5'-3')	荧光基团
hACTB-primer-Forward	ACGTGGACATCCGCAAAGAC (SEQ ID NO: 699)	/
hACTB-Primer-Reverse	TCTTCATTGTGCTGGGTGCC (SEQ ID NO: 700)	/
hACTB-Probe	AACACAGTGCTGTCTGGCGGCACCA (SEQ ID NO: 701)	5' TET, 3' BHQ2
hXDH-Primer-Forward	TCGAGCTCAGCACACAGGTA (SEQ ID NO: 702)	/
hXDH-Primer-Reverse	GCAGGCATTGCGGATCTTCT (SEQ ID NO: 703)	/
hXDH-Primer	AACTCTCCGGCTAGACAGCCCTGCCA (SEQ ID NO: 704)	5' 6-FAM, 3' BHQ1

数据统计

计算  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  值并换算成百分比以得到剩余抑制率。

$\Delta\Delta Ct = [(Ct \text{ 实验组目的基因} - Ct \text{ 实验组内参}) - (Ct \text{ 对照组目的基因} - Ct \text{ 对照组内参})]$ 。

选择 siRNA 起始浓度为 10nM，10 倍稀释 5 个浓度点（10nM、1nM、0.1nM、0.01nM、0.001nM）进行 35 个 siRNA 的 PHH 活性筛选，实验结果见表 11。

表 11 PHH 5 点 IC50 活性筛选实验结果

siRNA 编号	10nM	1nM	0.1nM	0.01nM	0.001nM	IC50 值 (nM)
DR004362	37.8%	29.9%	47.3%	83.1%	93.4%	0.0778
DR002392	40.5%	48.1%	70.4%	93.8%	103.6%	0.7703
DR002394	55.9%	70.0%	93.6%	93.3%	107.5%	>10
DR002395	44.4%	65.4%	89.1%	111.4%	114.7%	4.5224
DR002435	37.5%	52.0%	83.0%	94.4%	116.9%	1.8966
DR002440	30.8%	32.0%	45.6%	71.0%	97.8%	0.0571
DR002603	34.65%	34.05%	49.11%	70.64%	100.34%	0.0721
DR002604	49.36%	45.85%	65.70%	74.52%	92.14%	1.6391
DR002610	36.11%	36.43%	57.44%	82.25%	76.57%	0.0997
DR002612	43.27%	41.71%	65.94%	81.00%	90.41%	0.4045
DR002613	52.85%	60.37%	88.92%	101.77%	91.95%	>10
DR002614	57.97%	58.63%	66.48%	93.84%	87.81%	>10
DR002615	53.35%	51.91%	72.43%	108.81%	96.69%	>10
DR002617	45.28%	46.62%	68.92%	89.39%	97.42%	0.6981
DR002618	35.51%	35.03%	37.99%	52.42%	79.34%	0.0125
DR002619	40.51%	41.96%	47.43%	70.69%	74.39%	0.0749
DR002620	40.70%	42.19%	53.56%	71.96%	92.05%	0.0997
DR002623	59.07%	49.27%	54.06%	76.71%	93.30%	>10
DR002624	49.59%	43.89%	57.20%	103.19%	119.90%	0.2503
DR002625	67.02%	58.72%	87.05%	102.77%	102.62%	>10
DR002788	44.14%	43.75%	70.62%	107.75%	92.48%	>10
DR002789	35.55%	35.73%	57.62%	81.22%	97.94%	0.1754
DR002790	41.07%	40.91%	44.94%	85.29%	119.02%	0.0521
DR003001	36.35%	42.31%	61.65%	88.22%	94.52%	0.2817
DR003016	31.80%	45.34%	72.40%	98.83%	102.77%	0.5683
DR003121	47.71%	57.19%	82.30%	113.28%	106.89%	>10
DR003163	49.27%	46.15%	78.45%	99.55%	100.57%	>10
DR003164	58.52%	53.35%	90.90%	102.16%	138.48%	>10
DR003166	58.44%	57.86%	91.07%	96.83%	125.22%	>10
DR003171	44.54%	57.44%	72.11%	86.18%	102.82%	>10
DR003286	42.86%	48.65%	59.33%	84.64%	94.90%	0.4176
DR003292	38.08%	49.37%	73.68%	74.99%	79.83%	0.9535
DR003293	53.80%	82.73%	120.45%	123.55%	125.94%	>10
DR003353	46.36%	49.13%	76.24%	97.62%	145.88%	>10
DR003584	46.23%	56.52%	94.13%	114.88%	152.38%	>10
DR004251	51.45%	56.21%	69.75%	88.78%	135.60%	>10

### 实施例 6 Tg 小鼠原代肝细胞 (PMH) 活性筛选实验

#### 自由摄取或转染

5 分离 Tg 小鼠肝原代细胞 (Tg 小鼠来源于集萃药康), 计数, 铺板于 24 孔板

中, 900 $\mu$ L/孔, 8 $\times$ 10<sup>4</sup>个细胞/孔。

自由摄取: 将 10  $\mu$ L 稀释的 siRNA 加入 90 $\mu$ L Opti-MEM 中混匀, 加入对应孔中, 37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 小时 (对照组不加 siRNA)。

- 5 转染: 将 10  $\mu$ L 稀释的 siRNA 加入 40 $\mu$ L Opti-MEM 中混匀, 3  $\mu$ L RNAiMAX 加入 47  $\mu$ L Opti-MEM 中混匀, 孵育 5 分钟后, 与稀释好的 siRNA 混匀, 室温静置 10 分钟, 加入对应孔中, 37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 小时 (对照组不加 siRNA)。

#### 荧光定量 PCR

- 10 使用高通量核酸提取仪-磁珠法提取总 RNA, 反转录后进行荧光定量 PCR 检测。

表 12 引物信息

引物名称	序列信息 (5'-3')	荧光基团
mGAPDH-PF	CGGCAAATTC AACGGCACAG (SEQ ID NO: 705)	/
mGAPDH-PR	CCACGACATACTCAGCACCG (SEQ ID NO: 706)	/
mGAPDH-P	ACCATCTTCCAGGAGCGAGACCCCACT (SEQ ID NO: 707)	5'TET, 3'BHQ2
hXDH-PF	TCGAGCTCAGCACACAGGTA (SEQ ID NO: 708)	/
hXDH-PR	GCAGGCATTGCGGATCTTCT (SEQ ID NO: 709)	/
hXDH-P	AACTCTCCGGCTAGACAGCCCTGCCA (SEQ ID NO: 710)	5'6-FAM, 3'BHQ1

#### 数据统计

计算  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  值并换算成百分比以得到剩余抑制率。

- 15  $\Delta\Delta Ct = [(Ct \text{ 实验组目的基因} - Ct \text{ 实验组内参}) - (Ct \text{ 对照组目的基因} - Ct \text{ 对照组内参})]$ 。

选择 siRNA 起始浓度为 40nM, 3 倍稀释 9 个浓度点 (40nM、1.33nM、4.44nM、1.48nM、0.49nM、0.16nM、0.055nM、0.018nM、0.006nM) 进行 Tg 小鼠原代肝细胞 9 点 IC<sub>50</sub> 活性筛选, 实验结果见表 13。

表 13 PMH 9 点 IC<sub>50</sub> 活性筛选实验结果

化合物编号	40nM	13.33nM	4.44nM	1.48nM	0.49nM	0.16nM	0.055nM	0.018nM	0.006nM	IC <sub>50</sub> 值 (nM)
DR004 362	0.14	0.19	0.29	0.34	0.51	0.73	0.92	1.04	1.11	0.5643
DR005 800	0.09	0.09	0.11	0.18	0.23	0.34	0.60	0.69	0.74	0.0852
DR005 801	0.15	0.15	0.13	0.17	0.26	0.38	0.53	0.92	0.81	0.0787
DR005 802	0.10	0.19	0.23	0.42	0.63	0.71	0.81	1.14	0.87	0.8755
DR005	0.15	0.19	0.29	0.43	0.36	0.71	0.94	1.09	1.25	0.4229

803										
DR005 804	0.26	0.30	0.43	0.44	0.67	0.81	0.96	0.91	1.11	1.4461
DR005 805	0.26	0.34	0.41	0.41	0.65	1.07	1.05	0.92	0.80	~1.943
DR005 806	0.12	0.10	0.13	0.16	0.26	0.49	0.71	0.80	0.88	0.1524
DR005 807	0.28	0.39	0.49	0.60	0.77	0.97	1.09	1.33	1.23	3.3376
DR005 809	0.18	0.19	0.23	0.28	0.53	0.69	0.87	1.11	0.88	0.4695
DR005 932	0.13	0.15	0.12	0.25	0.34	0.39	0.65	1.15	0.93	0.1142

## 权利要求

1. 一种用于抑制细胞中黄嘌呤脱氢酶(XDH)的表达的小干扰RNA(siRNA), 所述siRNA包含形成双链区的正义链和反义链, 其中所述正义链和所述反义链的长度各自独立地为15-30个核苷酸, 并且所述反义链包含SEQ ID NO: 168-332和334中任一项所示的核苷酸序列的至少15个连续核苷酸的核苷酸序列。
2. 权利要求1的siRNA, 其中所述正义链包含SEQ ID NO: 1-165和167中任一项所示的核苷酸序列的至少15个连续的核苷酸的核苷酸序列。
3. 权利要求1或2的siRNA, 其中所述反义链包含SEQ ID NO: 168-332和334中任一项所示的核苷酸序列的至少16个连续核苷酸的核苷酸序列, 至少17个连续核苷酸的核苷酸序列, 至少18个连续核苷酸的核苷酸序列, 至少19个连续核苷酸的核苷酸序列, 或至少20个连续核苷酸的核苷酸序列, 优选所述反义链包含SEQ ID NO: 168-332和334中任一项所示的核苷酸序列。
4. 权利要求1-3中任一项的siRNA, 其中所述正义链包含与SEQ ID NO: 1-165和167中所示的核苷酸序列任一项的至少16个连续核苷酸的核苷酸序列, 至少17个连续核苷酸的核苷酸序列, 或至少18个连续核苷酸的核苷酸序列, 优选所述反义链包含SEQ ID NO: 1-165和167中任一项所示的核苷酸序列。
5. 权利要求1-4中任一项的siRNA, 其中所述siRNA包含如表3所示的配对的正义链序列和反义链序列。
6. 权利要求5的siRNA, 其中:
- (a) 所述反义链包含SEQ ID NO: 219所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 52所示的核苷酸序列;
  - (b) 所述反义链包含SEQ ID NO: 182所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 15所示的核苷酸序列;
  - (c) 所述反义链包含SEQ ID NO: 197所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 30所示的核苷酸序列;
  - (d) 所述反义链包含SEQ ID NO: 211所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 44所示的核苷酸序列;
  - (e) 所述反义链包含SEQ ID NO: 204所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 37所示的核苷酸序列;
  - (f) 所述反义链包含SEQ ID NO: 212所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 45所示的核苷酸序列;
  - (g) 所述反义链包含SEQ ID NO: 218所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 51所示的核苷酸序列;
  - (h) 所述反义链包含SEQ ID NO: 214所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 47所示的核苷酸序列;
  - (i) 所述反义链包含SEQ ID NO: 205所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 38所示的核苷酸序列; 或

(j) 所述反义链包含SEQ ID NO: 334所示的核苷酸序列, 且所述正义链包含SEQ ID NO: 167所示的核苷酸序列。

7. 权利要求1-6中任一项的siRNA, 其中所述正义链的基本上所有的核苷酸和所述反义链的基本上所有的核苷酸是修饰的核苷酸, 或者所述正义链的所有的核苷酸和所述反义链的所有的核苷酸是修饰的核苷酸。

8. 权利要求7的siRNA, 其中所述正义链和所述反义链各自独立地包含选自下组的一种或多种核苷酸修饰: 2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟代修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、肌苷核糖核苷酸、脱碱基核苷酸、反向无碱基脱氧核糖核苷酸、硫代磷酸酯核苷酸间键联修饰、乙烯基膦酸酯修饰的核苷酸、锁核苷酸、2'-氨基-修饰的核苷酸、2'-烷基-修饰的核苷酸、吗啉代核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、以及连接到胆固醇基衍生物或十二烷酸二癸酰胺基团上的末端核苷酸、和脱氧核糖核苷酸。

9. 权利要求8的siRNA, 其中所述正义链和所述反义链各自独立地包含选自下组的一种或多种核苷酸修饰: 2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟代修饰的核苷酸和硫代磷酸酯核苷酸间键联修饰。

10. 权利要求7所述的siRNA, 其中所述反义链包含说明书表5中任一项所示的经修饰的核苷酸序列, 和/或所述正义链包含说明书表4中任一项所示的经修饰的核苷酸序列。

11. 权利要求7所述的siRNA, 其中所述siRNA包含说明书表6中任一项所示的配对的经修饰的正义链序列和经修饰的反义链序列。

12. 权利要求7所述的siRNA, 其中所述正义链和/或所述反义链的3'末端和/或5'末端包含1-5个硫代磷酸酯基团, 且其中:

(a) 所述正义链包含 CmAmUmGmAmGmAfGfUfUmUmUmAmUmUmCmAmAmAm (SEQ ID NO: 711), 并且所述反义链包含 UmUfUmGfAmAfUmAfAmAfAmCfUmCfUmCfAmUfGmCfCm (SEQ ID NO: 712);

(b) 所述正义链包含 UmCmUmGmCmAmGfAfAfCmAmAmGmAmUmCmGmUmUm (SEQ ID NO: 713), 并且所述反义链包含 AmAfCmGfAmUfCmUfUmGfUmUfCmUfGmCfAmGfAmCfGm (SEQ ID NO: 714);

(c) 所述正义链包含 UmGmGmCmAmUmUfGfAfGmAmUmGmAmAmGmUmUmUm (SEQ ID NO: 715), 并且所述反义链包含 AmAfAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfUmGfCmCfAmAfUm (SEQ ID NO: 716);

(d) 所述正义链包含 UmUmCmAmAmGmAfAfUfAmUmGmCmUmGmUmUmUmUm (SEQ ID NO: 717), 并且所述反义链包含 AmAfAmAfCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmCfUm (SEQ ID NO: 718);

- (e) 所述正义链包含 GmAmGmAmUmGmAfAfGfUmUmCmAmAmGmAmAmUmAm (SEQ ID NO: 719), 并且所述反义链包含 UmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmUfCmAfAm (SEQ ID NO: 720);
- 5 (f) 所述正义链包含 UmCmAmAmGmAmAfUfAfUmGmCmUmGmUmUmUmCmUm (SEQ ID NO: 721), 并且所述反义链包含 AmGfAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCm (SEQ ID NO: 722);
- 10 (g) 所述正义链包含 GmCmAmUmGmAmGfAfGfUmUmUmUmAmUmUmCmAmAm (SEQ ID NO: 723), 并且所述反义链包含 UmUfGmAfAmUfAmAfAmAfCmUfCmUfCmAfUmGfCmCfAm (SEQ ID NO: 724);
- (h) 所述正义链包含 GmAmAmUmAmUmGfCfUfGmUmUmUmCmCmUmAmUmAm (SEQ ID NO: 725),
- 15 并且所述反义链包含 UmAfUmAfGmGfAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUm (SEQ ID NO: 726);
- (i) 所述正义链包含 GmAmUmGmAmAmGfUfUfCmAmAmGmAmAmUmAmUmAm (SEQ ID NO: 727), 并且所述反义链包含
- 20 UmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmUfCm (SEQ ID NO: 728); 或
- (j) 所述正义链包含 AmGmAmGmUmAmUfUfAfUmGmGmAmAmCmGmAmGmUm (SEQ ID NO: 729), 并且所述反义链包含
- 25 AmCfUmCfGmUfUmCfCmAfUmAfAmUfAmCfUmCfUmGfAm (SEQ ID NO: 730)。

13. 权利要求6所述的siRNA, 其中:

- (a) 所述正义链包含 CmsAmsUmGmAmGmAfGfUfUmUmUmAmUmUmCmAmAmsAm (SEQ ID NO: 731), 并且所述反义链包含
- 30 UmsUfsUmGfAmAfUmAfAmAfAmCfUmCfUmCfAmUfGmsCfsCm (SEQ ID NO: 682);
- (b) 所述正义链包含 UmsCmsUmGmCmAmGfAfAfCmAmAmGmAmUmCmGmUmsUm (SEQ ID NO: 732), 并且所述反义链包含
- 35 AmsAfsCmGfAmUfCmUfUmGfUmUfCmUfGmCfAmGfAmsCfsGm (SEQ ID NO: 683);
- (c) 所述正义链包含 UmsGmsGmCmAmUmUfGfAfGmAmUmGmAmAmGmUmUmsUm (SEQ ID NO: 733), 并且所述反义链包含
- 40 AmsAfsAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfUmGfCmCfAmsAfsUm (SEQ ID NO: 684);
- (d) 所述正义链包含 UmsUmsCmAmAmGmAfAfUfAmUmGmCmUmGmUmUmUmsUm (SEQ ID NO: 734), 并且所述反义链包含
- 45

AmsAfsAmAfCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmsCfsUm (SEQ ID NO: 685);

5 (e) 所述正义链包含 GmsAmsGmAmUmGmAfAfGfUmUmCmAmAmGmAmAmUmsAm (SEQ ID NO: 735) , 并且所述反义链包含 UmsAfsUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmUfCmsAfsAm (SEQ ID NO: 686);

10 (f) 所述正义链包含 UmsCmsAmAmGmAmAfUfAfUmGmCmUmGmUmUmUmCmsUm (SEQ ID NO: 736) , 并且所述反义链包含 AmsGfsAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmsAfsCm (SEQ ID NO: 687);

15 (g) 所述正义链包含 GmsCmsAmUmGmAmGfAfGfUmUmUmUmAmUmUmCmAmsAm (SEQ ID NO: 737) , 并且所述反义链包含 UmsUfsGmAfAmUfAmAfAmAfCmUfCmUfCmAfUmGfCmsCfsAm (SEQ ID NO: 688);

20 (h) 所述正义链包含 GmsAmsAmUmAmUmGfCfUfGmUmUmUmCmCmUmAmUmsAm (SEQ ID NO: 738) , 并且所述反义链包含 UmsAfsUmAfGmGfAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmsUfsUm (SEQ ID NO: 689);

25 (i) 所述正义链包含 GmsAmsUmGmAmAmGfUfUfCmAmAmGmAmAmUmAmUmsAm (SEQ ID NO: 739) , 并且所述反义链包含 UmsAfsUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmsUfsCm (SEQ ID NO: 690); 或

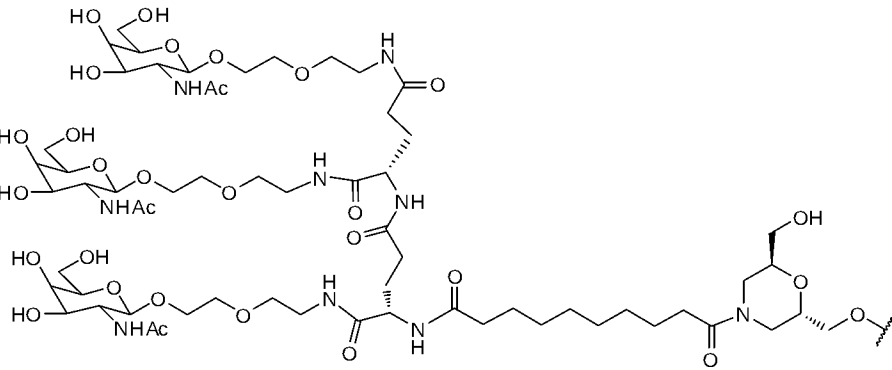
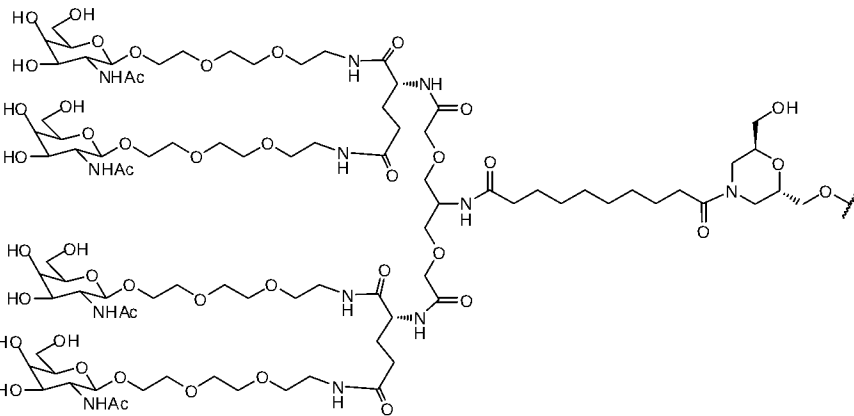
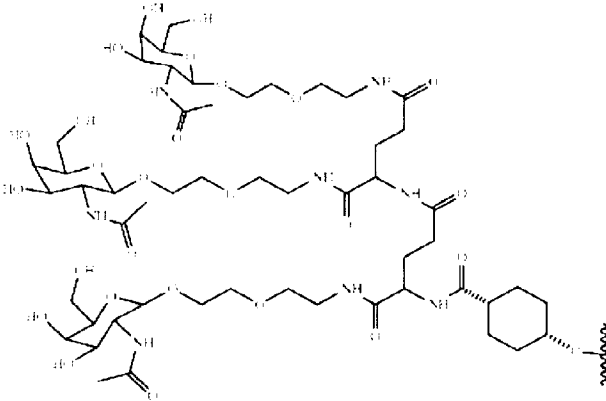
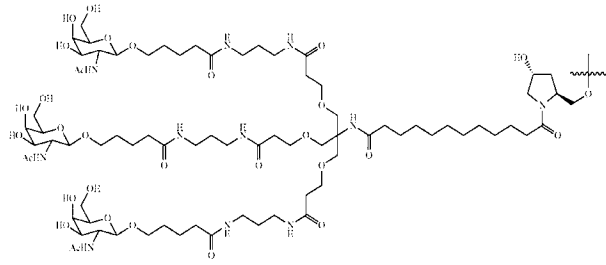
30 (j) 所述正义链包含 AmsGmsAmGmUmAmUfUfAfUmGmGmAmAmCmGmAmsGmsUm (SEQ ID NO: 740) , 并且所述反义链包含 AmsCfsUmCfGmUfUmCfCmAfUmAfAmUfAmCfUmCfUmsGfsAm (SEQ ID NO: 691)。


35 14. 权利要求 1-13 中任一项的 siRNA, 其中所述 siRNA 进一步与包含 N-乙酰半乳糖胺的配体缀合, 优选所述 siRNA 的正义链的 3'端与所述配体缀合。

15. 权利要求 14 的 siRNA, 其中所述配体靶向去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)。

40 16. 权利要求 14 或 15 的 siRNA, 其中所述配体具有选自以下结构中的任一个的结构:





5 其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与 siRNA 的正义链连接的位置。

17. 权利要求 1-16 中任一项的 siRNA, 其中

10 (a) 所述正义链包含 CmsAmsUmGmAmGmAfGfUfUmUmUmAmUmUmCmAmAmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 503), 并且所述反义链包含

UmsUfsUmGfAmAfUmAfAmAfAmCfUmCfUmCfAmUfGmsCfsCm (SEQ ID NO: 682);

(b) 所述正义链包含 UmsCmsUmGmCmAmGfAfAfCmAmAmGmAmUmCmGmUmsUms-GL6 (SEQ ID NO: 504) , 并且所述反义链包含 AmsAfsCmGfAmUfCmUfUmGfUmUfCmUfGmCfAmGfAmsCfsGm (SEQ ID NO: 683);

(c) 所述正义链包含 UmsGmsGmCmAmUmUfGfAfGmAmUmGmAmAmGmUmUmsUms-GL6 (SEQ ID NO: 505) , 并且所述反义链包含 AmsAfsAmCfUmUfCmAfUmCfUmCfAmAfUmGfCmCfAmsAfsUm (SEQ ID NO: 684);

(d) 所述正义链包含 UmsUmsCmAmAmGmAfAfUfAmUmGmCmUmGmUmUmUmsUms-GL6 (SEQ ID NO: 506) , 并且所述反义链包含 AmsAfsAmAfCmAfGmCfAmUfAmUfUmCfUmUfGmAfAmsCfsUm (SEQ ID NO: 685);

(e) 所述正义链包含 GmsAmsGmAmUmGmAfAfGfUmUmCmAmAmGmAmAmUmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 507) , 并且所述反义链包含 UmsAfsUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmUfCmsAfsAm (SEQ ID NO: 686);

(f) 所述正义链包含 UmsCmsAmAmGmAmAfUfAfUmGmCmUmGmUmUmUmCmsUms-GL6 (SEQ ID NO: 508) , 并且所述反义链包含 AmsGfsAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmUfUmGfAmsAfsCm (SEQ ID NO: 687);

(g) 所述正义链包含 GmsCmsAmUmGmAmGfAfGfUmUmUmUmAmUmUmCmAmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 509) , 并且所述反义链包含 UmsUfsGmAfAmUfAmAfAmAfCmUfCmUfCmAfUmGfCmsCfsAm (SEQ ID NO: 688);

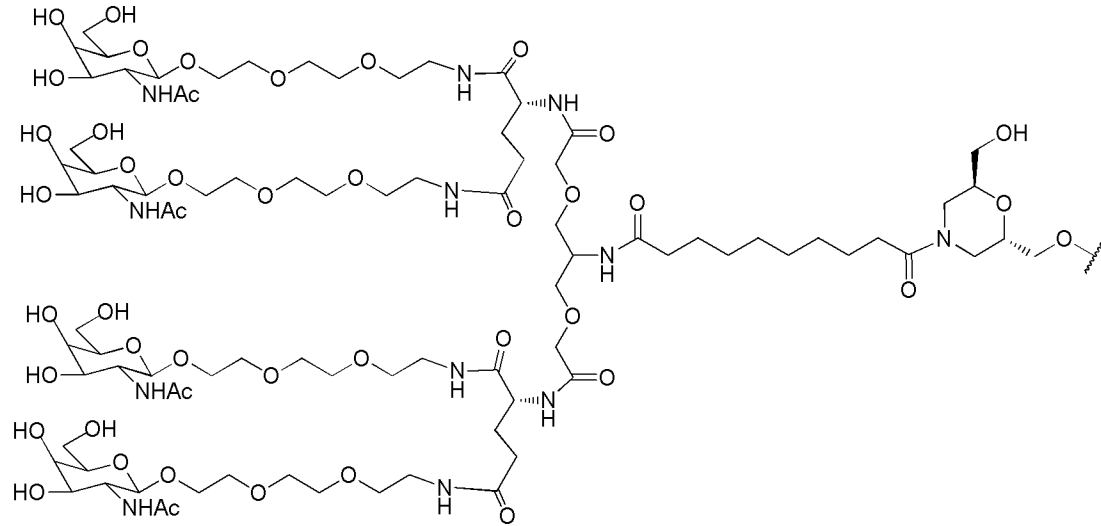
(h) 所述正义链包含 GmsAmsAmUmAmUmGfCfUfGmUmUmUmCmCmUmAmUmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 510) , 并且所述反义链包含 UmsAfsUmAfGmGfAmAfAmCfAmGfCmAfUmAfUmUfCmsUfsUm (SEQ ID NO: 689);


(i) 所述正义链包含 GmsAmsUmGmAmAmGfUfUfCmAmAmGmAmAmUmAmUmsAms-GL6 (SEQ ID NO: 511) , 并且所述反义链包含 UmsAfsUmAfUmUfCmUfUmGfAmAfCmUfUmCfAmUfCmsUfsCm (SEQ ID NO: 690); 或

(j) 所述正义链包含 AmsGmsAmGmUmAmUfUfAfUmGmGmAmAmCmGmAmsGmsUm-GL6 (SEQ ID NO: 512) , 并且所述反义链包含

AmsCfsUmCfGmUfUmCfCmAfUmAfAmUfAmCfUmCfUmsGfsAm (SEQ ID NO: 691),

其中 GL6 为



5 其中  表示通过磷酸酯基团或硫代磷酸酯基团与siRNA连接的位置。

18. 细胞，其含有如权利要求1-17中任一项所述的siRNA。

19. 药物组合物，其包含如权利要求1-17中任一项所述的siRNA或如权利要求18所述的细胞，以及任选的药学上可接受的载剂或赋形剂。

20. 试剂盒，其包含如权利要求1-17中任一项所述的siRNA或如权利要求18所述的细胞。

21. 治疗受试者中获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症的方法，所述方法包括向所述受试者施用权利要求1-17中任一项所述的siRNA、如权利要求18所述的细胞、或如权利要求19所述的药物组合物的步骤。

22. 预防患有获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症的患者中的至少一种症状的方法，所述方法包括向所述受试者施用权利要求1-17中任一项的siRNA、如权利要求18所述的细胞、或如权利要求19的药物组合物的步骤。

23. 权利要求21或22所述的方法，其中所述获益于黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 表达减少的疾病或病症是XDH相关疾病。

24. 权利要求23所述的方法，其中所述XDH相关疾病选自自由以下组成的组：高尿酸血症、痛风以及由高血尿酸导致的高血压、糖尿病、冠心病和肾脏疾病。

25. 一种减少受试者中黄嘌呤脱氢酶 (XDH) 或尿酸水平的方法，所述方法包括向所述受试者施用权利要求1-17中任一项的siRNA、如权利要求18所述的细胞、或如权利要求19的药物组合物的步骤。

26. 如权利要求21-25中任一项所述的方法，其中所述siRNA、细胞或药物组合物

通过皮下施用、局部施用或静脉内施用。

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/141628

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
C12N 15/113(2010.01)i; A61K 31/713(2006.01)i; A61P 19/06(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC:C12N,A61K,A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
Databases: CNTXT, ENTXTC, VEN, ENTXT, CNKI, 百度学术, Baidu Scholar, PubMed, ISI-WEB OF SCIENCE, Genbank +EMBL, 中国专利生物序列检索系统, China Patent Biological Sequence Search System search terms: 黄嘌呤脱氢酶, 小干扰RNA, siRNA, RNAi, 干扰, 尿酸, xanthine dehydrogenase, XDH, interfer+, uric acid, 对序列SEQ ID NOs: 1-134的检索, search for SEQ ID NOs: 1-134		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 11326166 B1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC.) 10 May 2022 (2022-05-10) see description, column 2, line 27 to column 8, line 25, and SEQ ID NO: 1104	1-26
A	US 2018216114 A1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC.) 02 August 2018 (2018-08-02) see description, paragraphs [0008]-[0053]	1-26
A	CN 104232644 A (ZHEJIANG UNIVERSITY) 24 December 2014 (2014-12-24) see description, paragraphs [0010]-[0018]	1-26
A	陆海波 等人 (LU, Haibo et al.). "高尿酸血症治疗药物黄嘌呤氧化酶抑制剂的研究进展 (Research Process of Xanthine Oxidase Inhibitors as Hyperuricemia Drug)" <i>安徽医药 (Anhui Medical and Pharmaceutical Journal)</i> , Vol. 20, No. (4), 06 May 2016 (2016-05-06), see pages 626-630	1-26
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
28 March 2024		03 April 2024
Name and mailing address of the ISA/CN		Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2023/141628**

<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Ayami Nakagawa et al. "The RNAi-mediated Silencing of Xanthine Dehydrogenase Impairs Growth and Fertility and Accelerates Leaf Senescence in Transgenic Arabidopsis Plants" <i>Plant &amp; Cell Physiology</i> , Vol. 48, No. (10), 14 September 2007 (2007-09-14), see pages 1484-1494	1-26
-----		

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
  - a.  forming part of the international application as filed.
  - b.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),  
 accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2.  With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: **21-26**  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
Claims 21-26 relate to a method for surgery or treatment of a living human or animal body. The subject matter of independent claim 21 is reasonably expected to be "the use of the siRNA of any one of claims 1-17, the cell of claim 18, or the pharmaceutical composition of claim 19 in the preparation of a drug for treating diseases or conditions that are benefit from reduced expression of xanthine dehydrogenase (XDH) in a subject"; the subject matter of independent claim 22 is reasonably expected to be "the use of the siRNA of any one of claims 1-17, the cell of claim 18, or the pharmaceutical composition of claim 19 in the preparation of a drug for preventing diseases or conditions that are benefit from reduced expression of xanthine dehydrogenase (XDH)"; the subject matter of independent claim 25 is reasonably expected to be "the use of the siRNA of any one of claims 1-17, the cell of claim 18, or the pharmaceutical composition of claim 19 in the preparation of a drug for reducing the level of xanthine dehydrogenase (XDH) or uric acid in a subject"; and the subject matter of dependent claims 23, 24 and 26 are also correspondingly subjected to the above-mentioned reasonable expectations.
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2023/141628**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
US	11326166	B1	10 May 2022	MX	2022015149	A	11 January 2023
				AU	2021292296	A1	19 January 2023
				JP	2023530461	A	18 July 2023
				BR	112022024420	A2	17 January 2023
				KR	20230026455	A	24 February 2023
				CA	3184289	A1	23 December 2021
				US	2022411801	A1	29 December 2022
				TW	202214856	A	16 April 2022
				EP	4168546	A1	26 April 2023
				WO	2021257782	A1	23 December 2021
				IL	299063	A	01 February 2023
US	2018216114	A1	02 August 2018	TW	201718620	A	01 June 2017
				WO	2017019660	A1	02 February 2017
				WO	2017019660	A8	02 March 2017
				US	2020299698	A1	24 September 2020
				US	11319539	B2	03 May 2022
				US	2022380771	A1	01 December 2022
CN	104232644	A	24 December 2014	None			

<p>A. 主题的分类</p> <p>C12N 15/113(2010.01)i; A61K 31/713(2006.01)i; A61P 19/06(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																				
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC:C12N,A61K,A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>数据库: CNTXT,ENTXTC,VEN,ENTXT,CNKI,百度学术,PubMed,ISI-WEB OF SCIENCE,Genbank+EMBL,中国专利生物序列检索系统 检索词: 黄嘌呤脱氢酶, 小干扰RNA, siRNA, RNAi,干扰, 尿酸, xanthine dehydrogenase, XDH,interfer+,uric acid,对序列SEQ ID NOs:1-134的检索</p>																				
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>US 11326166 B1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC) 2022年5月10日 (2022 - 05 - 10) 参见说明书第2栏第27行至第8栏第25行、SEQ ID NO:1104</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2018216114 A1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC) 2018年8月2日 (2018 - 08 - 02) 参见说明书第[0008]-[0053]段</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104232644 A (浙江大学) 2014年12月24日 (2014 - 12 - 24) 参见说明书第[0010]-[0018]段</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>陆海波 等人. "高尿酸血症治疗药物黄嘌呤氧化酶抑制剂的研究进展" 安徽医药, 第20卷, 第4期, 2016年5月6日 (2016 - 05 - 06), 参见第626-630页</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>Ayami Nakagawa 等人. "The RNAi-mediated silencing of xanthine dehydrogenase impairs growth and fertility and accelerates leaf senescence in transgenic Arabidopsis plants" Plant &amp; cell physiology, 第48卷, 第10期, 2007年9月14日 (2007 - 09 - 14), 参见第1484-1494页</td> <td>1-26</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型:          "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件          "D" 申请人在国际申请中引证的文件          "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利          "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)          "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件          "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件          "T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件          "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性          "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性          "&amp;" 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	US 11326166 B1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC) 2022年5月10日 (2022 - 05 - 10) 参见说明书第2栏第27行至第8栏第25行、SEQ ID NO:1104	1-26	A	US 2018216114 A1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC) 2018年8月2日 (2018 - 08 - 02) 参见说明书第[0008]-[0053]段	1-26	A	CN 104232644 A (浙江大学) 2014年12月24日 (2014 - 12 - 24) 参见说明书第[0010]-[0018]段	1-26	A	陆海波 等人. "高尿酸血症治疗药物黄嘌呤氧化酶抑制剂的研究进展" 安徽医药, 第20卷, 第4期, 2016年5月6日 (2016 - 05 - 06), 参见第626-630页	1-26	A	Ayami Nakagawa 等人. "The RNAi-mediated silencing of xanthine dehydrogenase impairs growth and fertility and accelerates leaf senescence in transgenic Arabidopsis plants" Plant & cell physiology, 第48卷, 第10期, 2007年9月14日 (2007 - 09 - 14), 参见第1484-1494页	1-26
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																		
X	US 11326166 B1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC) 2022年5月10日 (2022 - 05 - 10) 参见说明书第2栏第27行至第8栏第25行、SEQ ID NO:1104	1-26																		
A	US 2018216114 A1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC) 2018年8月2日 (2018 - 08 - 02) 参见说明书第[0008]-[0053]段	1-26																		
A	CN 104232644 A (浙江大学) 2014年12月24日 (2014 - 12 - 24) 参见说明书第[0010]-[0018]段	1-26																		
A	陆海波 等人. "高尿酸血症治疗药物黄嘌呤氧化酶抑制剂的研究进展" 安徽医药, 第20卷, 第4期, 2016年5月6日 (2016 - 05 - 06), 参见第626-630页	1-26																		
A	Ayami Nakagawa 等人. "The RNAi-mediated silencing of xanthine dehydrogenase impairs growth and fertility and accelerates leaf senescence in transgenic Arabidopsis plants" Plant & cell physiology, 第48卷, 第10期, 2007年9月14日 (2007 - 09 - 14), 参见第1484-1494页	1-26																		
国际检索实际完成的日期	2024年3月28日	国际检索报告邮寄日期	2024年4月3日																	
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	授权官员	徐益君 电话号码 (+86) 010-62411083																	

第I栏

核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列列表进行的:
  - a.  作为国际申请的一部分提交的:
  - b.  为国际检索的目的在国际申请日之后提交(细则13之三.1(a)),  
 附有说明序列列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。
2.  本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列列表的情况下,考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列,在可进行有意义检索的范围内做出的。
3. 补充意见:

## 第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：

1.  权利要求：21-26  
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：  
权利要求21-26涉及对有生命的人体或动物体进行外科手术或治疗的方法。将独立权利要求21的主题合理预期为“权利要求1-17中任一项所述的siRNA、如权利要求18所述的细胞、或如权利要求19所述的药物组合物在制备用于治疗受试者中获益于黄嘌呤脱氢酶(XDH)表达减少的疾病或病症的药物中的应用”，将独立权利要求22的主题合理预期为“权利要求1-17中任一项所述的siRNA、如权利要求18所述的细胞、或如权利要求19所述的药物组合物在制备用于预防患有获益于黄嘌呤脱氢酶(XDH)表达减少的疾病或病症的药物中的应用”，将独立权利要求25的主题合理预期为“权利要求1-17中任一项所述的siRNA、如权利要求18所述的细胞、或如权利要求19所述的药物组合物在制备用于减少受试者中黄嘌呤脱氢酶(XDH)或尿酸水平的药物中的应用”，从属权利要求23、24和26的主题也相应地进行上述合理预期。
2.  权利要求：  
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：
3.  权利要求：  
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/141628

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
US	11326166	B1	2022年5月10日	MX	2022015149	A	2023年1月11日
				AU	2021292296	A1	2023年1月19日
				JP	2023530461	A	2023年7月18日
				BR	112022024420	A2	2023年1月17日
				KR	20230026455	A	2023年2月24日
				CA	3184289	A1	2021年12月23日
				US	2022411801	A1	2022年12月29日
				TW	202214856	A	2022年4月16日
				EP	4168546	A1	2023年4月26日
				WO	2021257782	A1	2021年12月23日
				IL	299063	A	2023年2月1日
US	2018216114	A1	2018年8月2日	TW	201718620	A	2017年6月1日
				WO	2017019660	A1	2017年2月2日
				WO	2017019660	A8	2017年3月2日
				US	2020299698	A1	2020年9月24日
				US	11319539	B2	2022年5月3日
				US	2022380771	A1	2022年12月1日
CN	104232644	A	2014年12月24日	无			