(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202292267 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.22

(22) Дата подачи заявки
2021.03.05

(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)

(54) МОЛЕКУЛЫ МОДИФИЦИРОВАННЫХ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ (миНК) И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

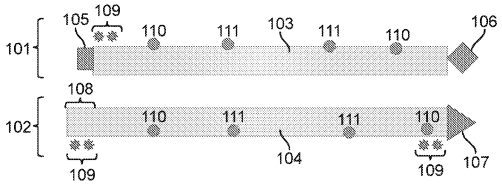
(31) **62/986,150; 63/109,196**
(32) **2020.03.06; 2020.11.03**
(33) **US**
(86) **PCT/US2021/021199**
(87) **WO 2021/178885 2021.09.10**

(71) Заявитель:
АЛИГОС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Бейгельман Леонид, Раджванши Вивек Кумар (US), Хоссбах Маркус (DE), Пандей Раджендра К., Хун Цзинь, Элтепу Лаксман, Монтеро Сауль Мартинес, Де Коста Н.Тилани С. (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) В изобретении раскрыты молекулы малых интерферирующих нуклеиновых кислот (миНК), содержащие модифицированные нуклеотиды и способы их применения. Описанные в данном документе молекулы миНК могут быть двухцепочечными и могут содержать модифицированные нуклеотиды, выбранные из 2'-О-метилнуклеотидов и 2'-фторнуклеотидов. Кроме того, в данном документе раскрыты молекулы миНК, содержащие (a) блокатор фосфорилирования, конъюгированный фрагмент или 5'-стабилизированный концевой кэп; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).



202292267 A1

202292267 A1

Молекулы модифицированных малых интерферирующих нуклеиновых кислот (миНК) и их применение

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка заявляет приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/986 150, поданной 6 марта 2020 г. и предварительной заявкой на патент США № 63/109 196, поданной 3 ноября 2020 г., описание которых настоящим включено в полном объеме посредством ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0001.1] Настоящая заявка содержит Перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и полностью включен в настоящую заявку посредством ссылки. Указанная копия в формате ASCII, созданная 13 мая 2021 года, названа 122400-0154_SL.txt и имеет размер 178 906 байт.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Описаны молекулы малых интерферирующих нуклеиновых кислот (миНК), содержащие модифицированные нуклеотиды, композиции и их применение.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] РНК-интерференция (РНКи) представляет собой биологический ответ на двухцепочечную РНК, который обеспечивает устойчивость как к эндогенным паразитарным, так и к экзогенным патогенным нуклеиновым кислотам и регулирует экспрессию генов, кодирующих белок. Малые интерферирующие нуклеиновые кислоты (миНК), такие как миРНК, были разработаны для терапии миРНК при лечении различных заболеваний. Например, терапия миРНК была предложена для лечения метаболических заболеваний, нейродегенеративных заболеваний, рака и патогенных инфекций (*См. например*, Rondindone, *Biotechniques*, 2018, 40(4S), doi.org/10,2144/000112163, Boudreau и Davidson, *Curr Top Dev Biol*, 2006, 75:73-92, Chalbatani et al., *Int J Nanomedicine*, 2019, 14:3111–3128, Arbuthnot, *Drug News Perspect,* 2010, 23(6):341–50, и Chernikov et. al., *Front. Pharmacol.*, 2019, doi.org/10,3389/fphar,2019,00444, каждая из которых включена посредством ссылки в полном объеме). Однако основными ограничениями терапии миРНК являются способность эффективно доставлять миРНК в клетки-мишени и деградация миРНК.

[0004] Настоящее изобретение улучшает доставку и стабильность молекул миНК за счет обеспечения молекул миНК, содержащих модифицированные нуклеотиды. Молекулы миНК по настоящему изобретению обеспечивают оптимизированные комбинации и количество модифицированных нуклеотидов, длины нуклеотидов, дизайн (например, тупые концы или выступающие части, межнуклеозидные связи, конъюгаты) и схемы модификации для улучшения доставки и стабильности молекул миНК.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0006] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b)

антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0007] В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% нуклеотидов в первой нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 15 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 10 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 6 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 2–25 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 2–20 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 5–25 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 10–25 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 12–25 модифицированных нуклеотидов

первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды.

[0008] В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% нуклеотидов во второй нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 15 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 10 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 6 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 2–25 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 2–20 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 5–25 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 10–25 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 12–25 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22

модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды.

[0009] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (iii) содержит 1 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (iii) содержит 1 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей.

[0010] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100%

комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-О-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид, при этом миНК дополнительно содержит блокатор фосфорилирования, галактозамин или 5'-стабилизированный концевой кэп.

[0011] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 и/или 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 3 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 5 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 7 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 8 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 9 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 12 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 10 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 11 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0012] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 нуклеотидов в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 2 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 5 от 5'-конца второй нуклеотидной

последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 6 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 8 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 10 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 14 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды в положении 16 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 17 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

[0013] В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, и причем 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:3 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 6 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 10 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей

мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

[0014] В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:2, и причем 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 2 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления паттерн модификации с чередованием 1:2 встречается 2–5 раз. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются последовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются непоследовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:2 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 5, 8, 14 и/или 17 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 5 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 8 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 17 от 5’-конца антисмысловой цепи.

[0015] В данном документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК) представлена формулой (VIII):

5’-$A_n^1B_n^2A_n^3B_n^4A_n^5B_n^6A_n^7B_n^8A_n^9$-3’

3’-$C_q^1A_q^2B_q^3A_q^4B_q^5A_q^6B_q^7A_q^8B_q^9A_q^{10}B_q^{11}A_q^{12}$-5’

где:

верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

нижняя цепь представляет собой антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%,

75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;
каждый A независимо представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид или нуклеотид, содержащий 5'-стабилизированный концевой кэп или блокатор фосфорилирования;
B представляет собой 2'-фторнуклеотид;
C представляет собой выступающие нуклеотиды и представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид;
n^1 = составляет 1–4 нуклеотидов в длину;
каждый n^2, n^6, n^8, q^3, q^5, q^7, q^9, q^{11} и q^{12} независимо составляет 0–1 нуклеотидов в длину;
каждое n^3 и n^4 независимо составляет 1–3 нуклеотидов в длину;
n^5 составляет 1–10 нуклеотидов в длину;
n^7 составляет 0-4 нуклеотидов в длину;
каждое n^9, q^1 и q^2 независимо составляет 0–2 нуклеотидов в длину;
q^4 составляет 0–3 нуклеотидов в длину;
q^6 составляет 0–5 нуклеотидов в длину;
q^8 составляет 2–7 нуклеотидов в длину; и
q^{10} составляет 2–11 нуклеотидов в длину.

[0016] В данном документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК) представлена формулой (IX):

5'-$A_{2-4}B_1A_{1-3}$ B_{2-3} $A_{2-10}B_{0-1}A_{0-4}B_{0-1}A_{0-2}$-3'

3'-$C_2A_{0-2}B_{0-1}A_{0-3}B_{0-1}A_{0-5}B_{0-1}A_{2-7}B_1A_{2-11}B_1A_1$-5'

где:
верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;
нижняя цепь представляет собой антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;
каждый A независимо представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид или нуклеотид, содержащий 5'-стабилизированный концевой кэп или блокатор фосфорилирования;
B представляет собой 2'-фторнуклеотид;
C представляет собой выступающие нуклеотиды и представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид;

[0017] В данном документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 2, 4–6, 10, 11 и 13–16 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 2 и 14 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–13 и 15–17 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

[0018] В данном документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 3, 7, 8 и 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 2, 4–6 и 9–16 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 2 и 14 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–13 и 15–17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

[0019] В данном документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную

последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 2, 4–6, 10, 11 и 13–16 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 19–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:3 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 6 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 10 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 18 от 5'-конца антисмысловой цепи.

[0020] В данном документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды

находятся в положениях 5 и 7–9 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6 и 10–17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 19–21 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:3 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 6 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 10 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

[0021] В данном документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 5 и 7–9 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6 и 10–17 от 5’-конца

первой нуклеотидной последовательности; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:2, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид, а 2 нуклеотида представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления паттерн модификации с чередованием 1:2 встречается 2–5 раз. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются последовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются непоследовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:2 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 5, 8, 14 и/или 17 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 5 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 17 от 5'-конца антисмысловой цепи.

[0022] В данном документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 5 и 7–9 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6 и 10–17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-

фторнуклеотиды находятся в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–5, 7–13, 15 и 17 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

[0023] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 5, 9–11 и 14 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6–8 и 12–17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 2 и 14 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–13 и 15–17 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность состоит из 23 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–23 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

[0024] В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе смысловых цепей дополнительно содержит последовательность TT, примыкающую к первой нуклеотидной последовательности.

[0025] В некоторых вариантах осуществления любая из смысловых цепей, раскрытых в данном документе, дополнительно содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей

мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

[0026] В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей дополнительно содержит последовательность TT, примыкающую ко второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь дополнительно содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 3'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 3'-конца второй нуклеотидной последовательности.

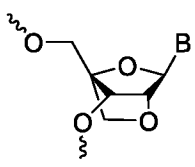
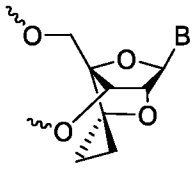
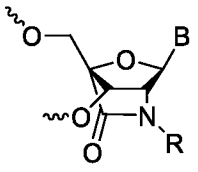
[0027] В некоторых вариантах осуществления первый нуклеотид от 5'-конца любой из раскрытых в данном документе первых нуклеотидных последовательностей содержит 5'-стабилизированного концевого кэпа.

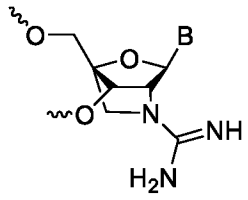
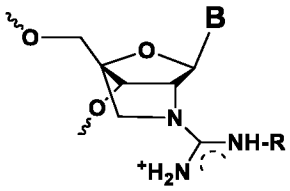
[0028] В некоторых вариантах осуществления первый нуклеотид от 5'-конца любой из раскрытых в данном документе вторых нуклеотидных последовательностей содержит 5'-стабилизированный концевой кэп.

[0029] В некоторых вариантах осуществления первый нуклеотид от 5'-конца любой из первых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит блокатор фосфорилирования.

[0030] В некоторых вариантах осуществления первый нуклеотид от 5'-конца любой из вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит блокатор фосфорилирования.

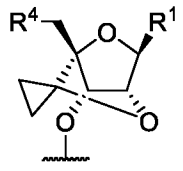
[0031] В некоторых вариантах осуществления любая из первых нуклеотидных последовательностей или вторых последовательностей нуклеотидов, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид, выбранный

из  (LNA),  (ScpBNA или «cp»);  (AmNA), где R представляет собой H или алкил (или AmNA(N-Me)) где R представляет собой алкил);

 (GuNA); и 

, где B представляет собой азотистое основание.

[0032] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) блокатор фосфорилирования формулы

(IV): ,

где

R^1 представляет собой азотистое основание,

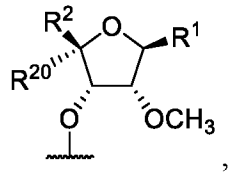
R^4 представляет собой $–O-R^{30}$ или $–NR^{31}R^{32}$,

R^{30} представляет собой C_1-C_8 замещенный или незамещенный алкил; и

R^{31} и R^{32} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; и

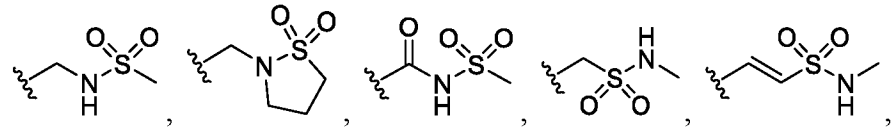
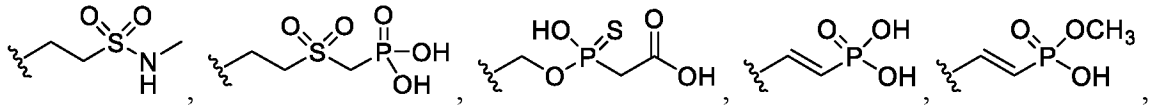
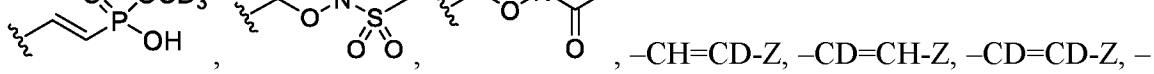
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления миНК представляет собой любую из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 307–362 и

415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит последовательность дц-миНК, выбранную из любой из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5'-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизируемых нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0033] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (Ia): ,

где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , , , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $-OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $-SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $-SO_2NR^{23}R^{25}$, $-NR^{23}R^{24}$,

R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

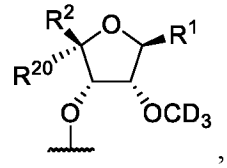
R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $-C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равно 1, 2, 3 или 4; а также

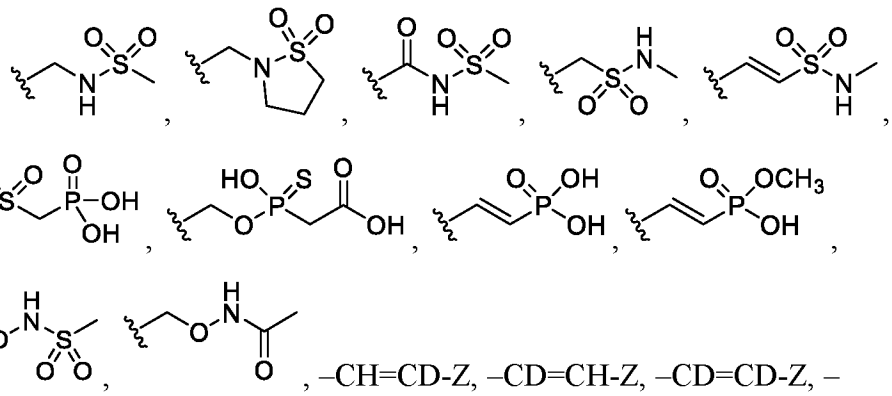
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит последовательность дц-миНК, выбранную из любой из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизируемых нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0034] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) 5’-стабилизированный концевой кэп формулы (Ib): 

,

где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $-OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $-SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $-SO_2NR^{23}R^{25}$, $-NR^{23}R^{24}$,

R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $-C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

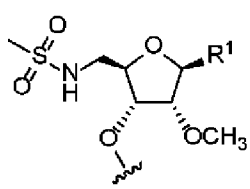
R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равно 1, 2, 3 или 4; а также

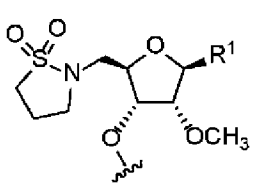
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит последовательность дц-миНК,

выбранную из любой из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизируемых нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

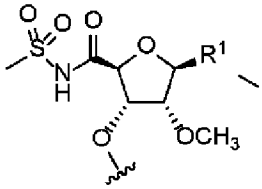
[0035] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) 5'-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формулы (1)–формулы (15), формулы (9X)–формулы (12X) и формулы (9Y)–формулы (12Y):



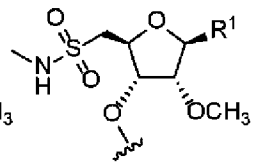
Формула (1)



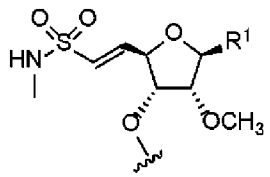
Формула (2)



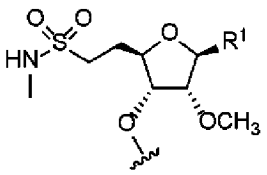
Формула (3)



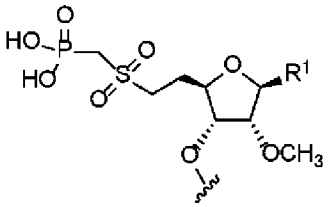
Формула (4)



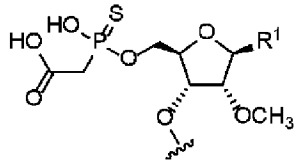
Формула (5)



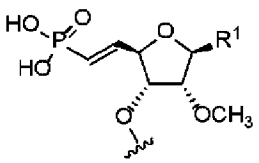
Формула (6)



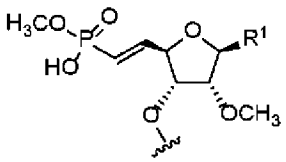
Формула (7)



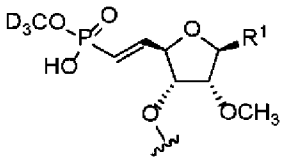
Формула (8)



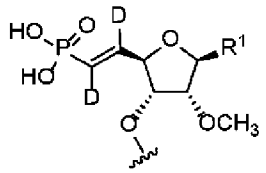
Формула (9)



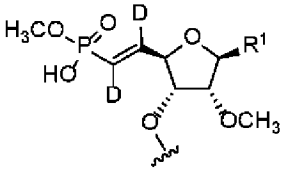
Формула (9X)



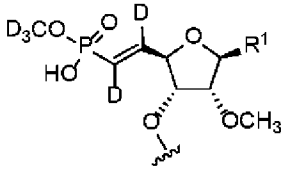
Формула (9Y)



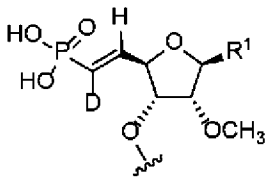
Формула (10)



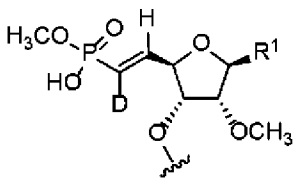
Формула (10X)



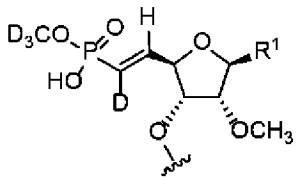
Формула (10Y)



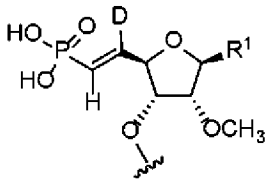
Формула (11)



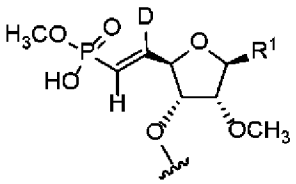
Формула (11X)



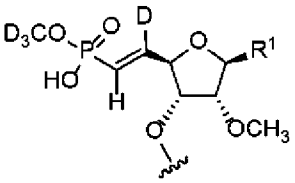
Формула (11Y)



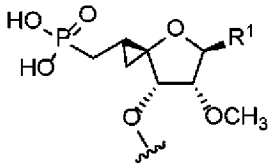
Формула (12)



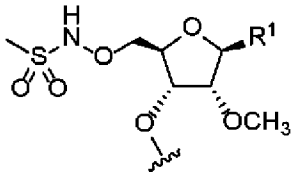
Формула (12X)



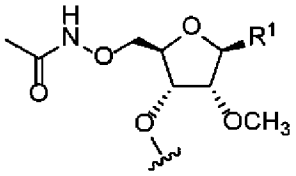
Формула (12Y)



Формула (13)



Формула (14)

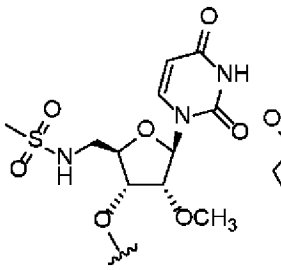


Формула (15)

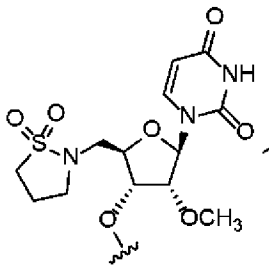
, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит последовательность дц-миНК, выбранную из любой из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизируемых нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых

вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

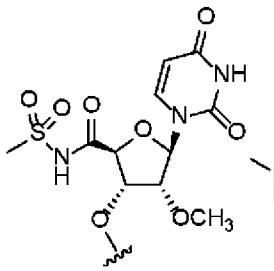
[0036] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) 5'-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формул (1A)–(15A), формул (9B)–(12B), формул (9AX)–(12AX), формул (9AY)–(12AY), формул (9BX)–(12BX) и формул (9BY)–(12BY):



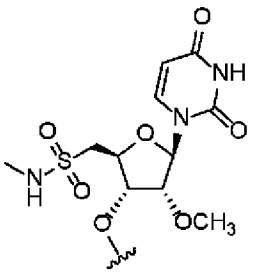
Формула (1A)



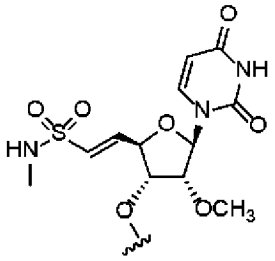
Формула (2A)



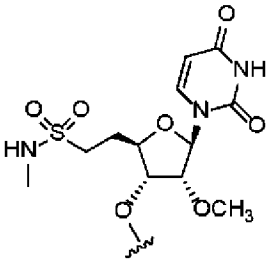
Формула (3A)



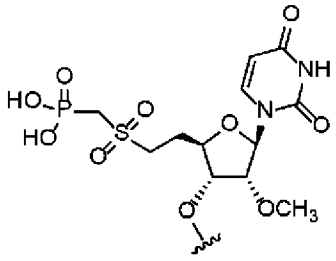
Формула (4A)



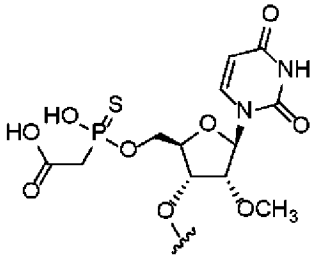
Формула (5A)



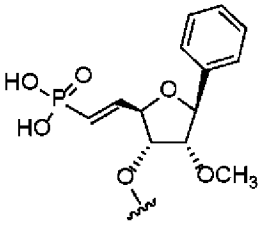
Формула (6A)



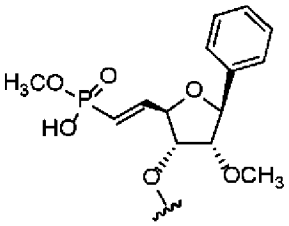
Формула (7A)



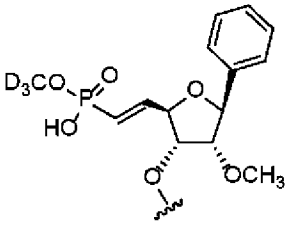
Формула (8A)



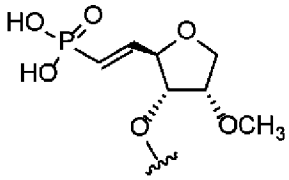
Формула (9A)



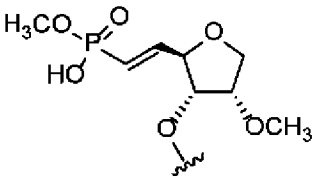
Формула (9AX)



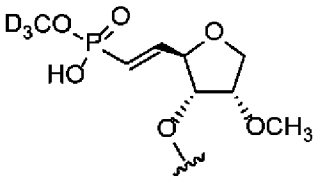
Формула (9AY)



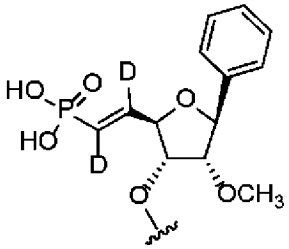
Формула (9B)



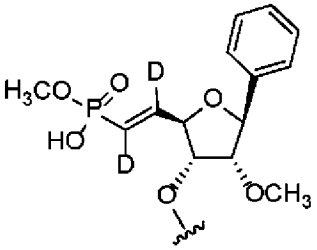
Формула (9BX)



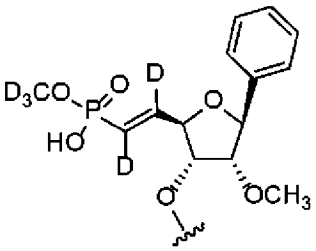
Формула (9BY)



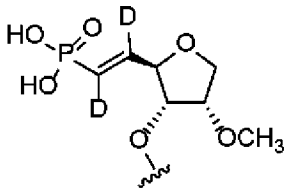
Формула (10A)



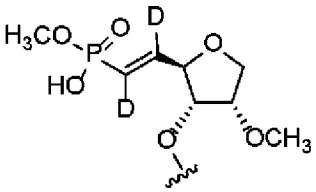
Формула (10AX)



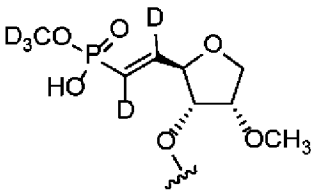
Формула (10AY)



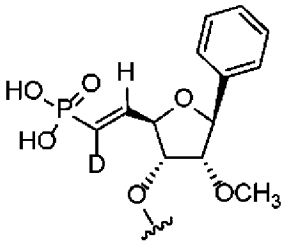
Формула (10B)



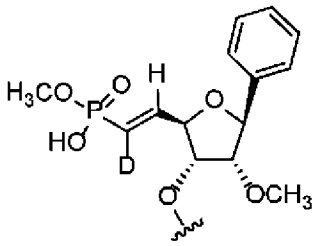
Формула (10BX)



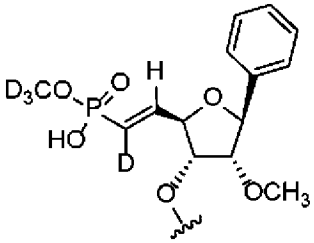
Формула (10BY)



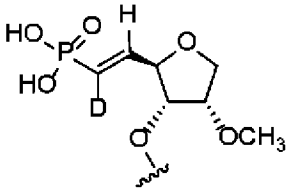
Формула (11A)



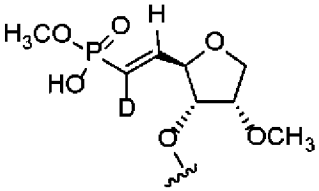
Формула (11AX)



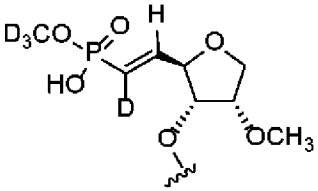
Формула (11AY)



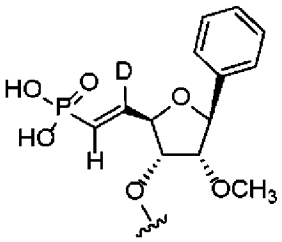
Формула (11B)



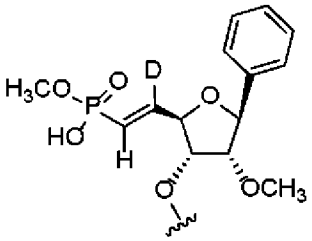
Формула (11BX)



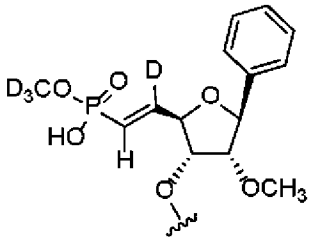
Формула (11BY)



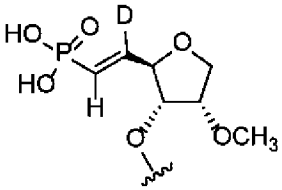
Формула (12A)



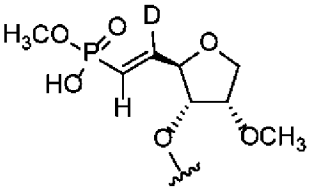
Формула (12AX)



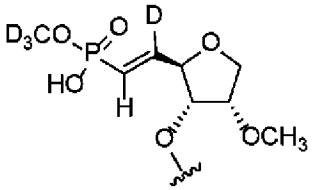
Формула (12AY)



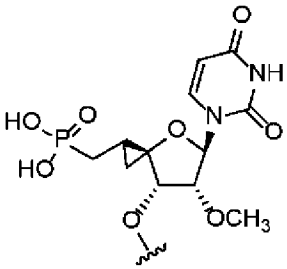
Формула (12B)



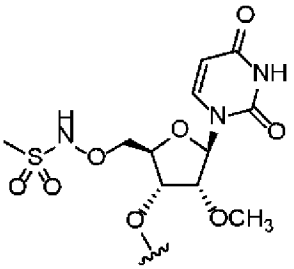
Формула (12BX)



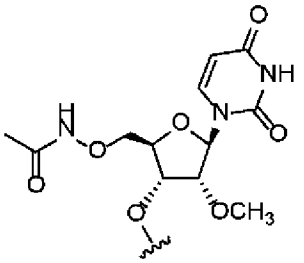
Формула (12BY)



Формула (13A)



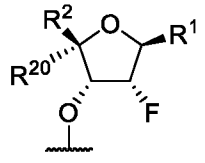
Формула (14A)



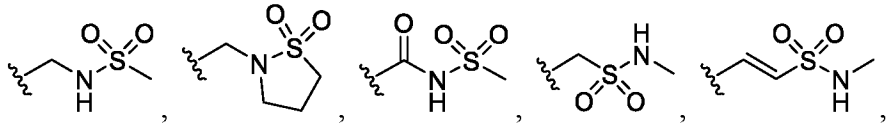
Формула (15A)

, и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую

последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит последовательность дц-миНК, выбранную из любой из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизируемых нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0037] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (а) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (Ic): , где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$ или $–NR^{23}SO_2R^{24}$;

R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или

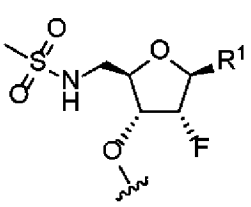
R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

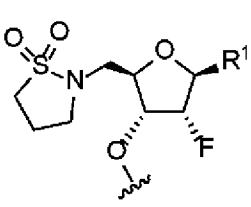
m равно 1, 2, 3 или 4; а также

(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит последовательность дц-миНК, выбранную из любой из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизируемых нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

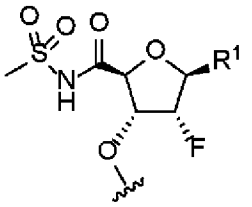
[0038] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) 5’-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формулы (21)–формулы (35):



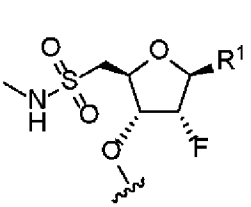
Формула (21)



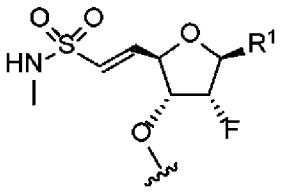
Формула (22)



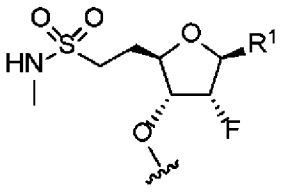
Формула (23)



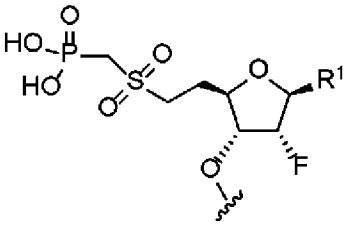
Формула (24)



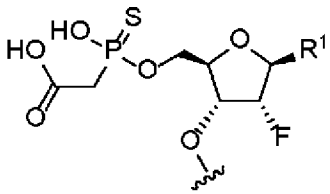
Формула (25)



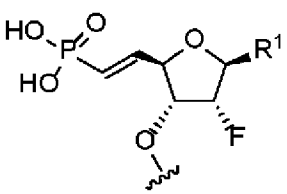
Формула (26)



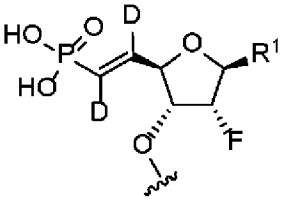
Формула (27)



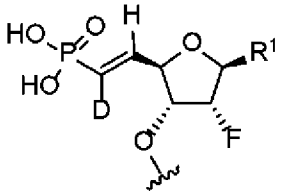
Формула (28)



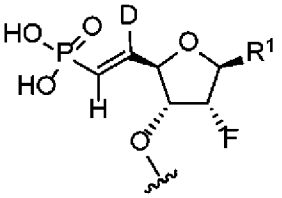
Формула (29)



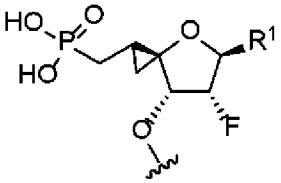
Формула (30)



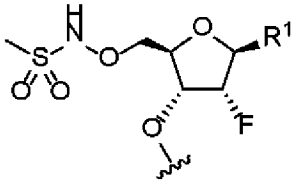
Формула (31)



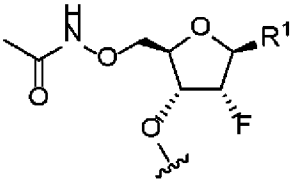
Формула (32)



Формула (33)



Формула (34)

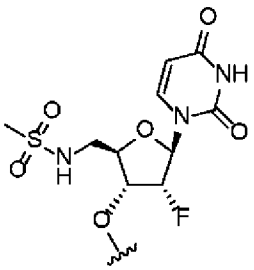


Формула (35)

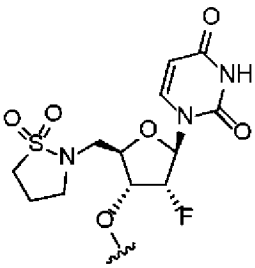
, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204

и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит последовательность дц-миНК, выбранную из любой из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизируемых нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

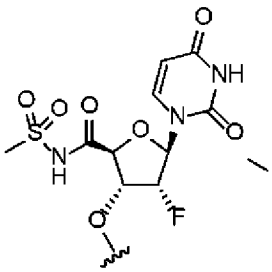
[0039] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) 5'-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формул (21A)–(35A), формул (29B)–(32B), формул (29AX)–(32AX), формул (29AY)–(32AY), формул (29BX)–(32BX) и формул (29BY)–(32BY):



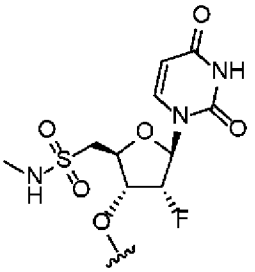
Формула (21A)



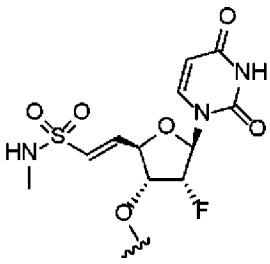
Формула (22A)



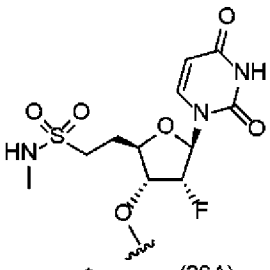
Формула (23A)



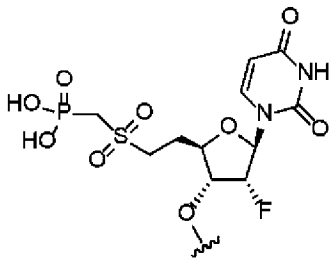
Формула (24A)



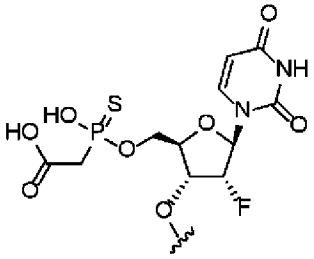
Формула (25A)



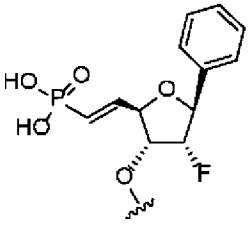
Формула (26A)



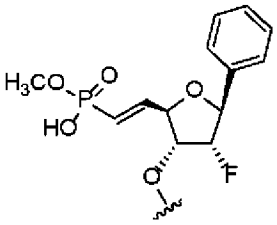
Формула (27A)



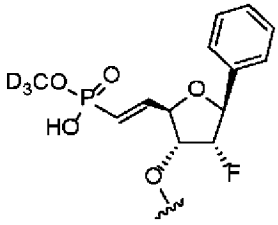
Формула (28A)



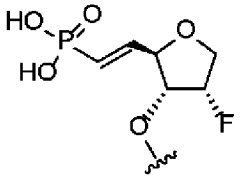
Формула (29A)



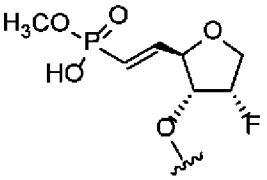
Формула (29AX)



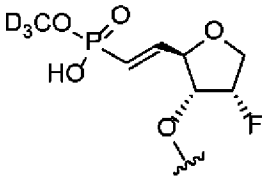
Формула (29AY)



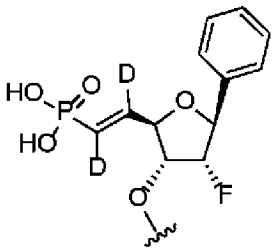
Формула (29B)



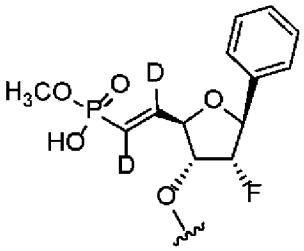
Формула (29BX)



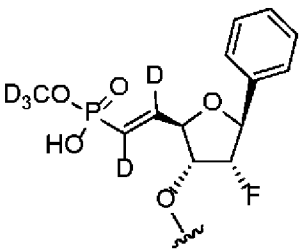
Формула (29BY)



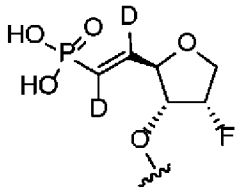
Формула (30A)



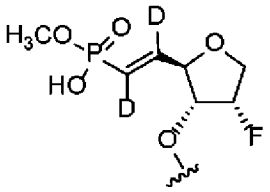
Формула (30AX)



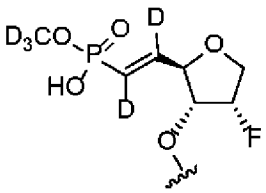
Формула (30AY)



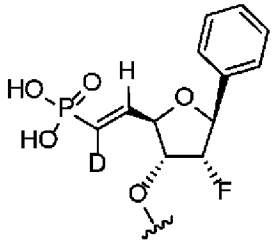
Формула (30B)



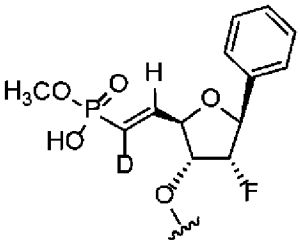
Формула (30BX)



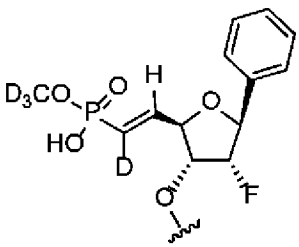
Формула (30BY)



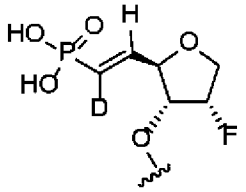
Формула (31A)



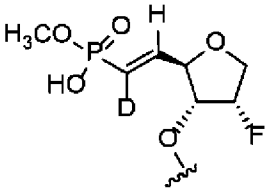
Формула (31AX)



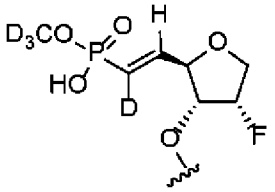
Формула (31AY)



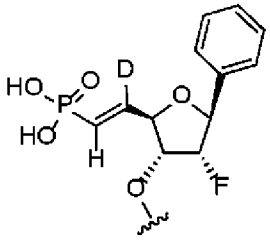
Формула (31B)



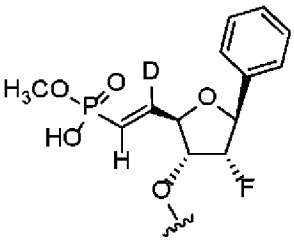
Формула (31BX)



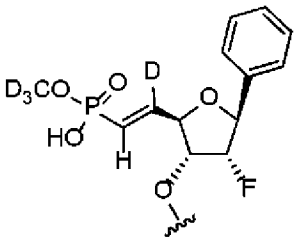
Формула (31BY)



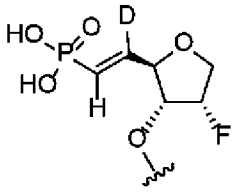
Формула (32A)



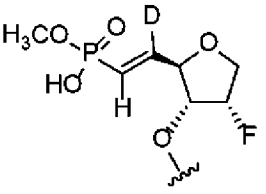
Формула (32AX)



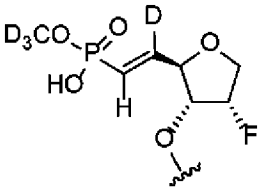
Формула (32AY)



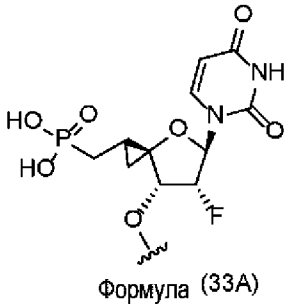
Формула (32B)



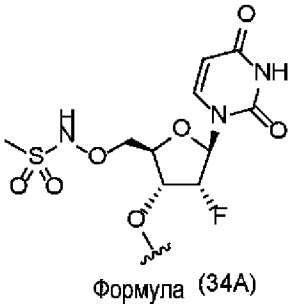
Формула (32BX)



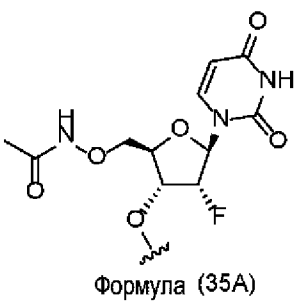
Формула (32BY)



Формула (33A)



Формула (34A)



Формула (35A)

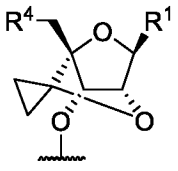
, и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей. В некоторых вариантах осуществления миНК

содержит первую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую последовательность, выбранную из любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит последовательность дц-миНК, выбранную из любой из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизируемых нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0040] В настоящем документе раскрыта молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая составляет по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5’-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизируемых нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0041] В настоящем документе раскрыта молекула интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая: (a) смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444; и (b) антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539.

[0042] В некоторых вариантах осуществления любая из миНК, раскрытых в данном документе, дополнительно содержит блокатор фосфорилирования.

[0043] В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования имеет структуру формулы (IV): , где

R^1 представляет собой азотистое основание,

R^4 представляет собой $–O-R^{30}$ или $–NR^{31}R^{32}$, R^{30} представляет собой C_1-C_8 замещенный или незамещенный алкил; и

R^{31} и R^{32} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

[0044] В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой $–OCH_3$ или $–N(CH_2CH_2)_2O$.

[0045] В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 5’-концу смысловой цепи.

[0046] В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 5’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

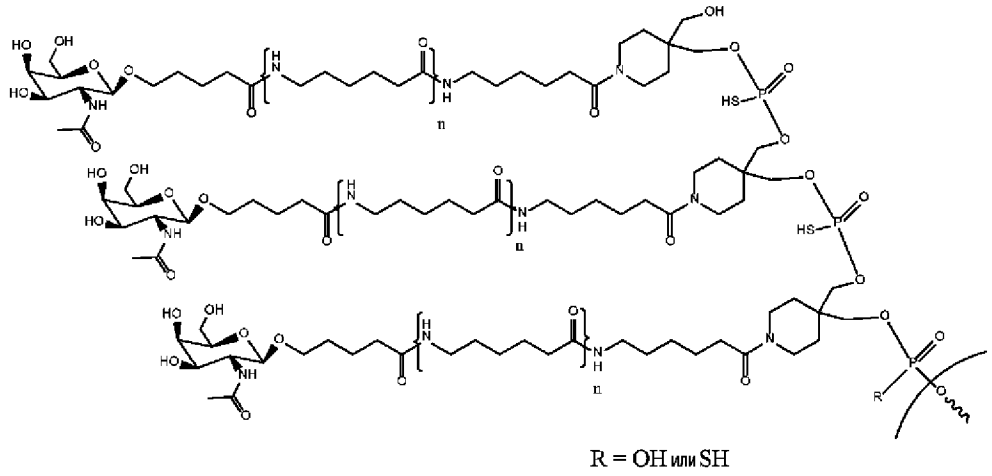
[0047] В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу смысловой цепи.

[0048] В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

[0049] В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера,

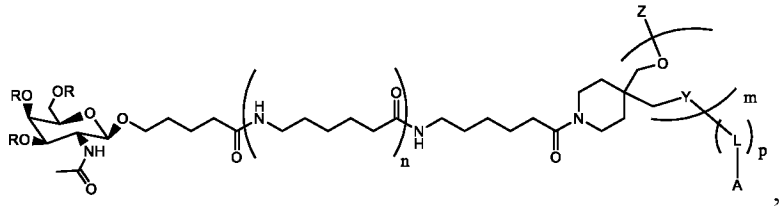
фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

[0050] В некоторых вариантах осуществления любая из миНК, раскрытых в данном документе, дополнительно содержит конъюгированный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент содержит галактозамин. В некоторых вариантах осуществления галактозамин представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc) формулы (VII):



,

где каждое n независимо равно 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления галактозамин представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc) формулы (VI):



, где

m равно 1, 2, 3, 4 или 5;

каждое n независимо равно 1 или 2;

p равно 0 или 1;

каждый R независимо представляет собой H;

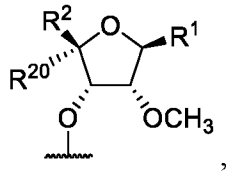
каждый Y независимо выбран из –O-P(=O)(SH)–, –O-P(=O)(O)–, –O-P(=O)(OH)– и -O-P(S)S-;

Z представляет собой H или вторую защитную группу;

либо L представляет собой линкер, либо L и Y в комбинации представляют собой линкер; и

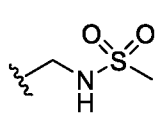
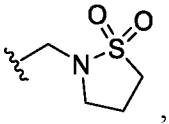
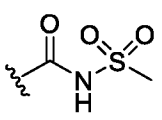
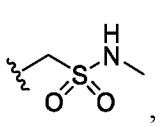
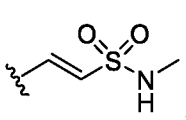
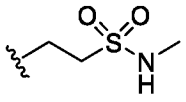
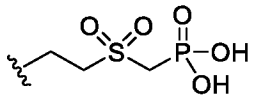
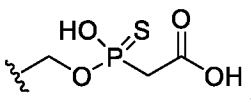
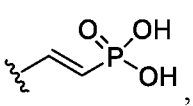
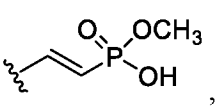
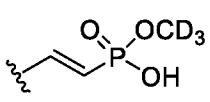
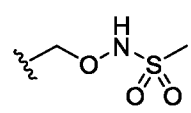
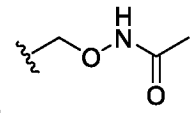
A представляет собой H, OH, третью защитную группу, активированную группу или олигонуклеотид. В некоторых вариантах осуществления где A представляет собой олигонуклеотид. В некоторых вариантах осуществления A представляет собой 1–2 олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид представляет собой dTdT. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 3'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 3'-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 5'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 5'-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 3'-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 3'-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

[0051] В некоторых вариантах осуществления любая из миНК, раскрытая в данном документе, дополнительно содержит 5'-стабилизированный концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп представляет собой 5'-винилфосфонат или дейтерированный 5'-винилфосфонат. В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп имеет структуру формулы (Ia):



, где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , , , , , , , , , , , , , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$ или $–NR^{23}SO_2R^{24}$;

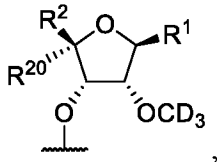
R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

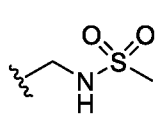
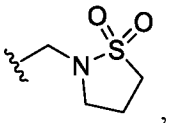
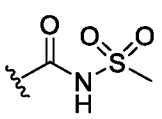
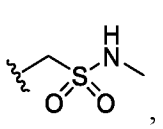
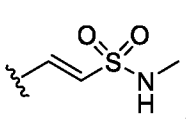
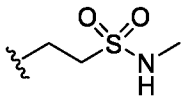
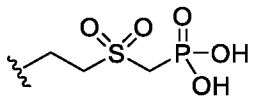
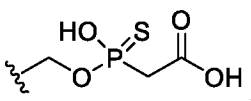
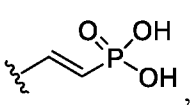
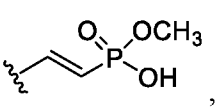
R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или

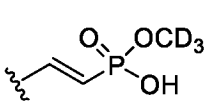
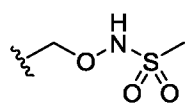
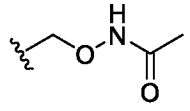
R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равен 1, 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп имеет структуру формулы (Ib): , где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , , , , , , , , , ,




, –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой –$ONR^{23}R^{24}$, –$OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$P(O)(OH)_2$, -P(O)(OH)($OCH_3$), -P(O)(OH)($OCD_3$), –$SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, –$SO_2NR^{23}R^{25}$, –$NR^{23}R^{24}$ или –$NR^{23}SO_2R^{24}$;

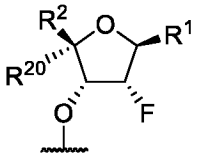
R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

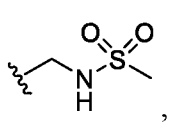
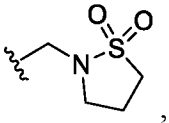
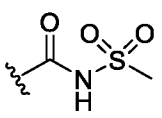
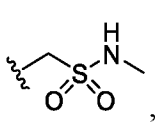
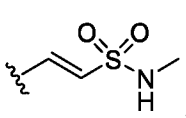
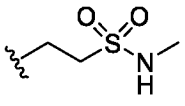
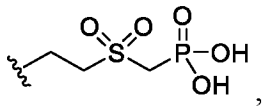
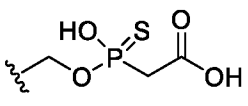
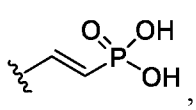
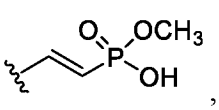
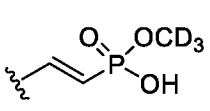
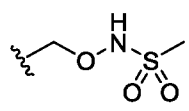
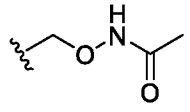
R^{24} представляет собой –SO_2R^{25} или –$C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равен 1, 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп имеет структуру формулы (Ic): , где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , , , , ,
, , , , ,
, , 

, –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$ или $–NR^{23}SO_2R^{24}$;

R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

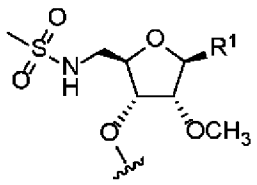
R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или

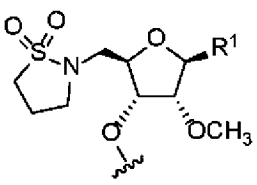
R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

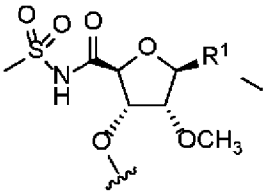
m равен 1, 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил. В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формулы (1)–формулы (15), формулы (9X)–формулы (12X) и формулы (9Y)–формулы (12Y):



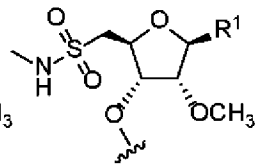
Формула (1)



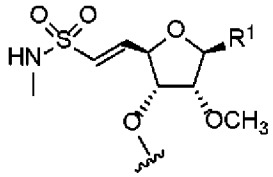
Формула (2)



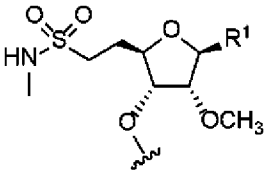
Формула (3)



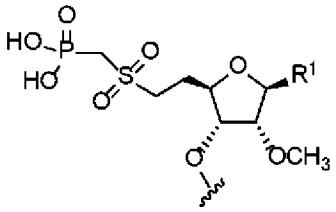
Формула (4)



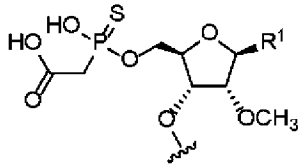
Формула (5)



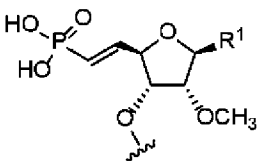
Формула (6)



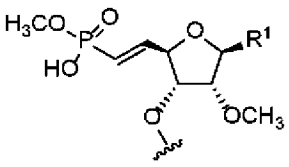
Формула (7)



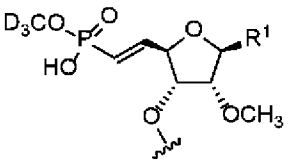
Формула (8)



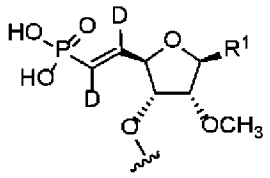
Формула (9)



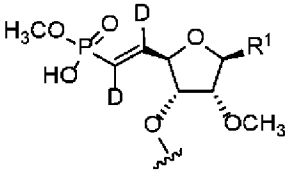
Формула (9X)



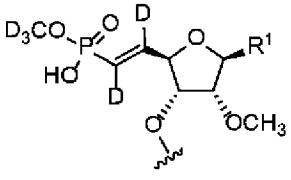
Формула (9Y)



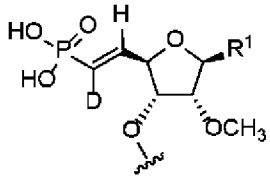
Формула (10)



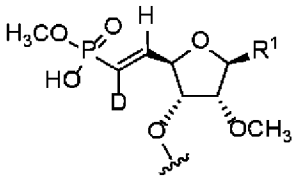
Формула (10X)



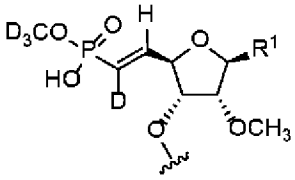
Формула (10Y)



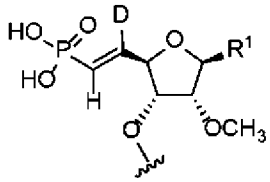
Формула (11)



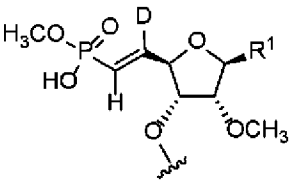
Формула (11X)



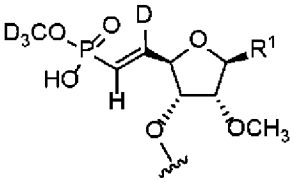
Формула (11Y)



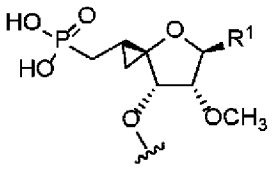
Формула (12)



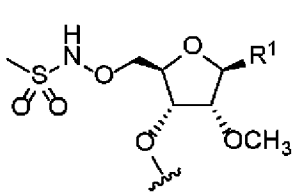
Формула (12X)



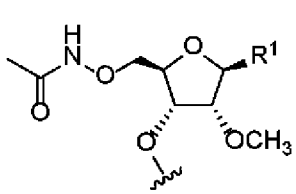
Формула (12Y)



Формула (13)



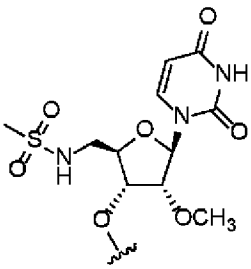
Формула (14)



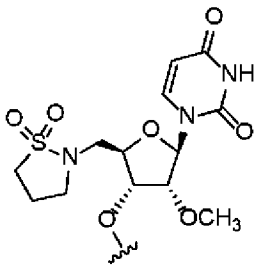
Формула (15)

, где R^1 независимо

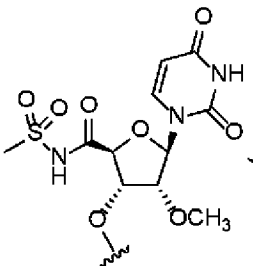
представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формул (1A)–(15A), формул (9B)–(12B), формул (9AX)–(12AX), формул (9AY)–(12AY), формул (9BX)–(12BX) и формул (9BY)–(12BY):



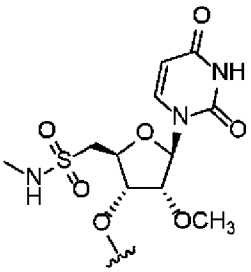
Формула (1A)



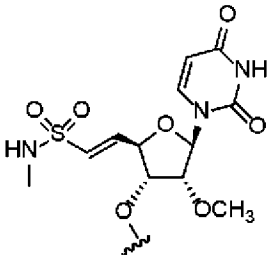
Формула (2A)



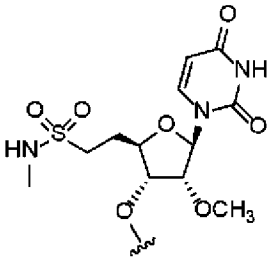
Формула (3A)



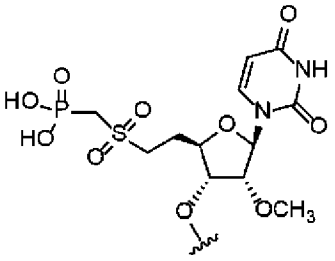
Формула (4A)



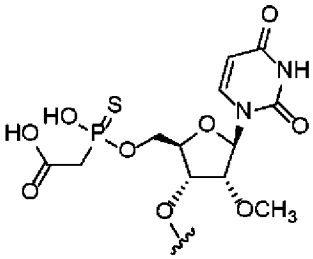
Формула (5A)



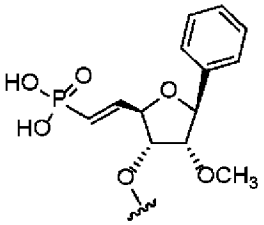
Формула (6A)



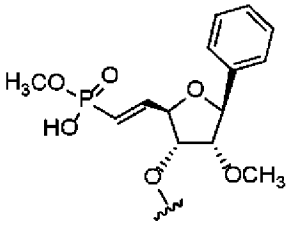
Формула (7A)



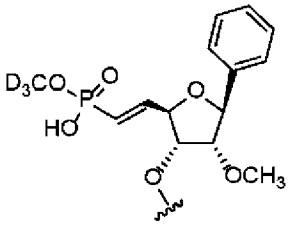
Формула (8A)



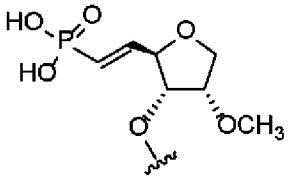
Формула (9A)



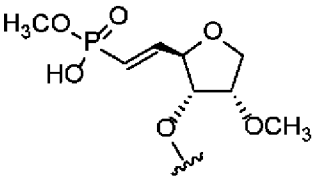
Формула (9AX)



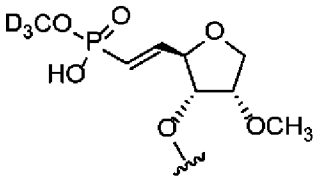
Формула (9AY)



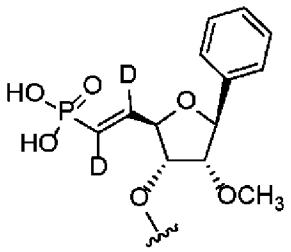
Формула (9B)



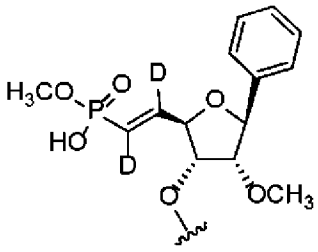
Формула (9BX)



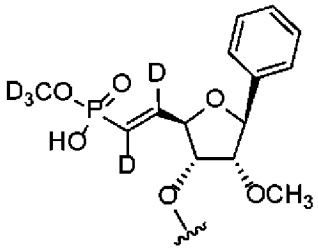
Формула (9BY)



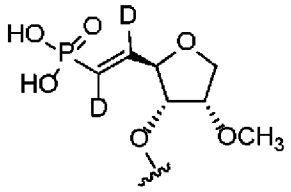
Формула (10A)



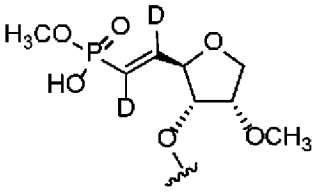
Формула (10AX)



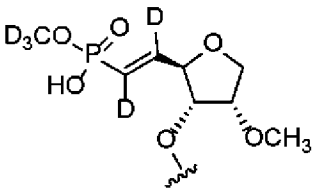
Формула (10AY)



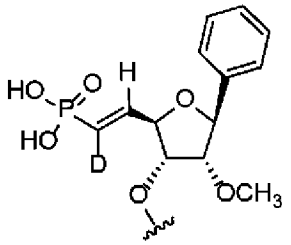
Формула (10B)



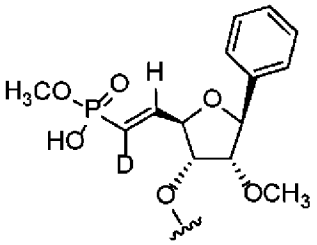
Формула (10BX)



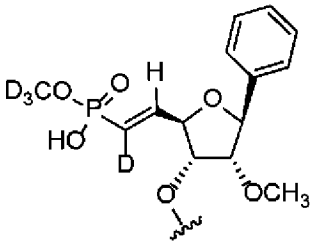
Формула (10BY)



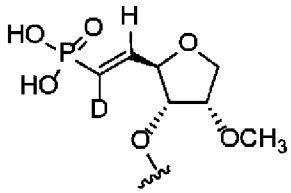
Формула (11A)



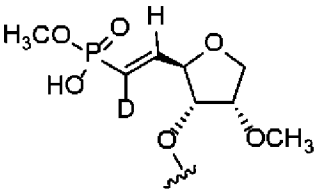
Формула (11AX)



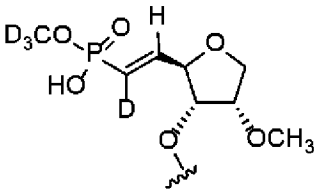
Формула (11AY)



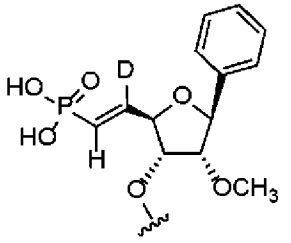
Формула (11B)



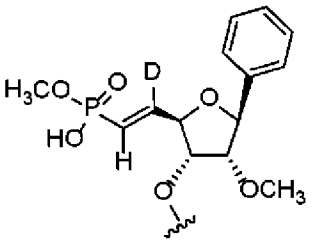
Формула (11BX)



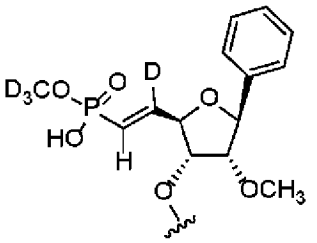
Формула (11BY)



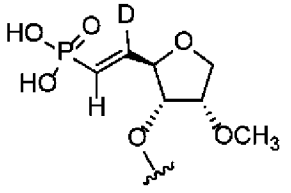
Формула (12A)



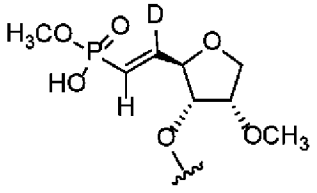
Формула (12AX)



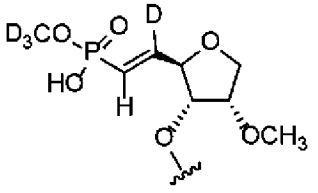
Формула (12AY)



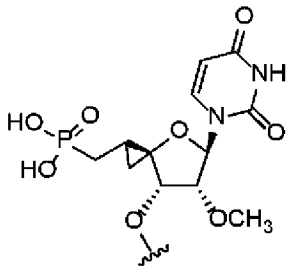
Формула (12B)



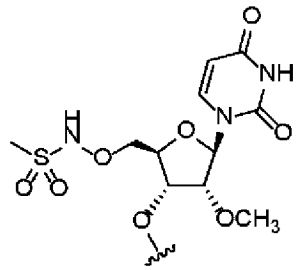
Формула (12BX)



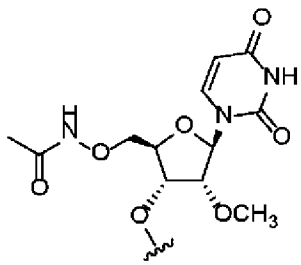
Формула (12BY)



Формула (13A)

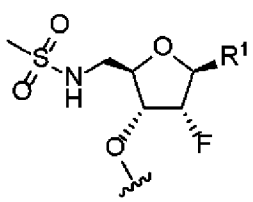


Формула (14A)

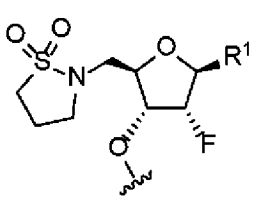


Формула (15A)

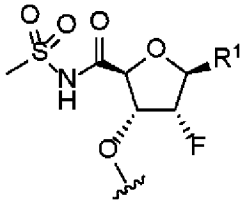
. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формулы (21)–формулы (35):



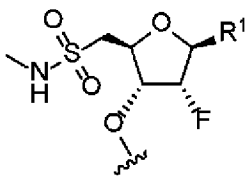
Формула (21)



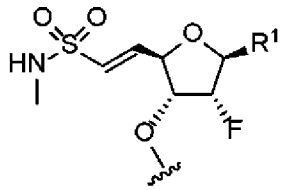
Формула (22)



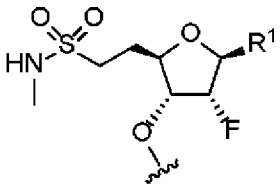
Формула (23)



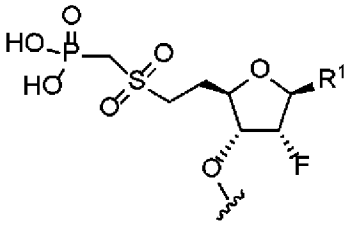
Формула (24)



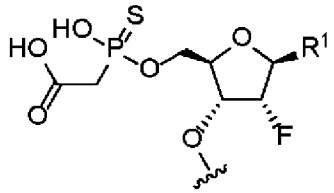
Формула (25)



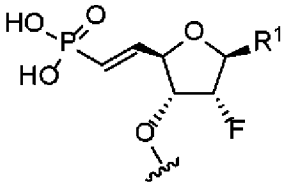
Формула (26)



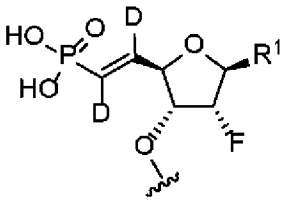
Формула (27)



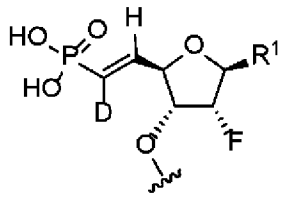
Формула (28)



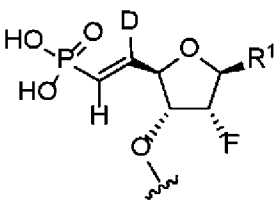
Формула (29)



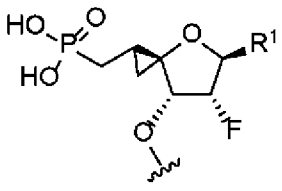
Формула (30)



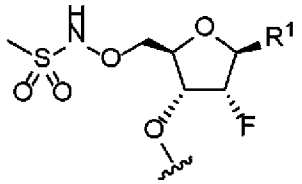
Формула (31)



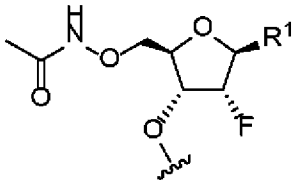
Формула (32)



Формула (33)

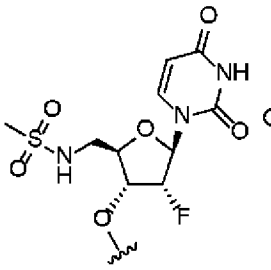


Формула (34)

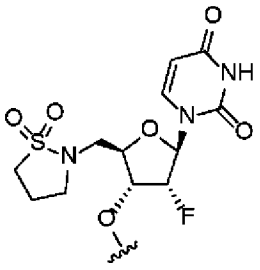


Формула (35)

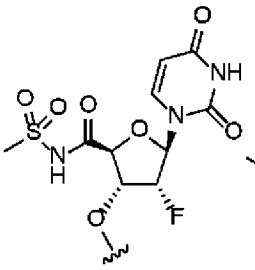
, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H. В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формул (21A)–(35A), формул (29B)–(32B), формул (29AX)–(32AX), формул (29AY)–(32AY), формул (29BX)–(32BX) и формул (29BY)–(32BY):



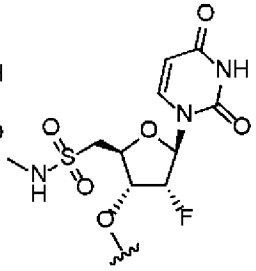
Формула (21A)



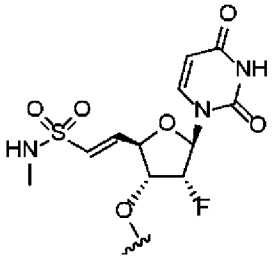
Формула (22A)



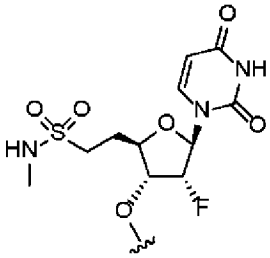
Формула (23A)



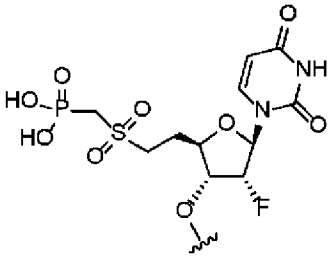
Формула (24A)



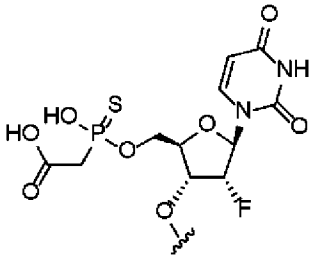
Формула (25A)



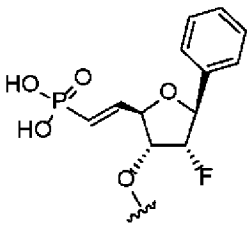
Формула (26A)



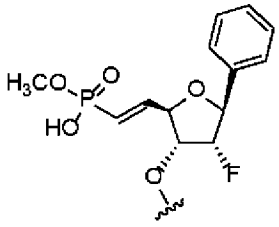
Формула (27A)



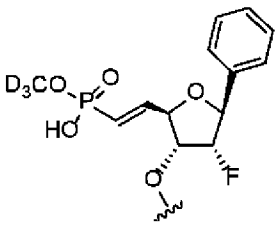
Формула (28A)



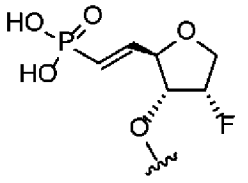
Формула (29A)



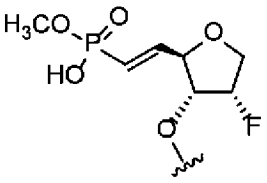
Формула (29AX)



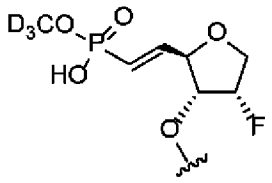
Формула (29AY)



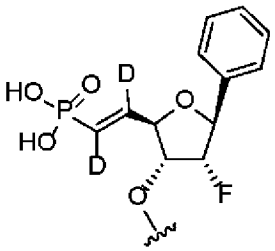
Формула (29B)



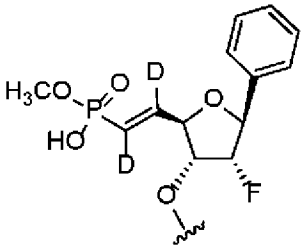
Формула (29BX)



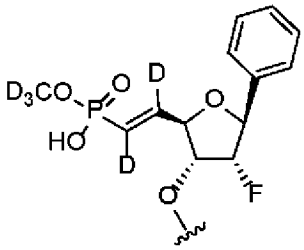
Формула (29BY)



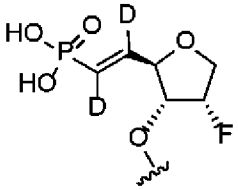
Формула (30A)



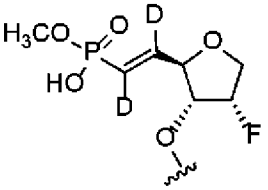
Формула (30AX)



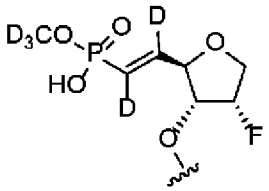
Формула (30AY)



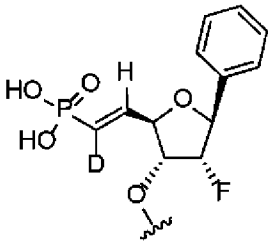
Формула (30B)



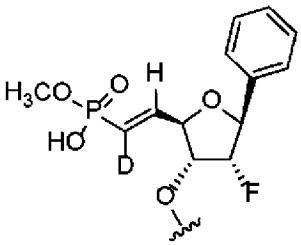
Формула (30BX)



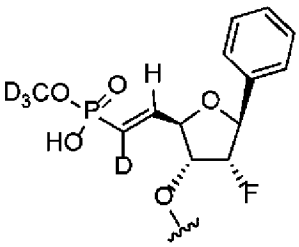
Формула (30BY)



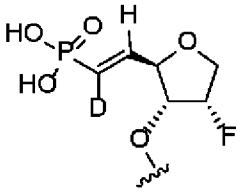
Формула (31A)



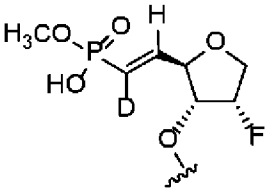
Формула (31AX)



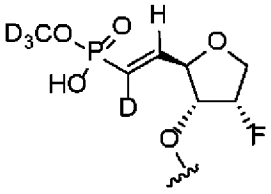
Формула (31AY)



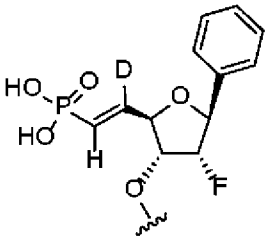
Формула (31B)



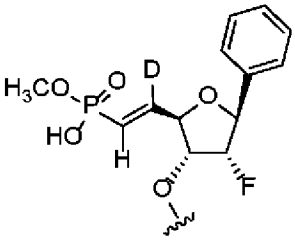
Формула (31BX)



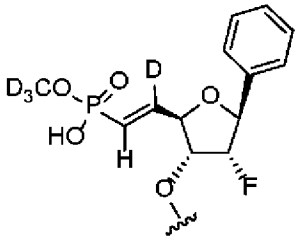
Формула (31BY)



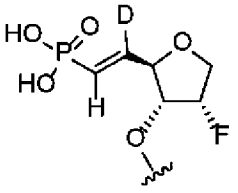
Формула (32A)



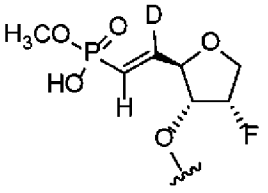
Формула (32AX)



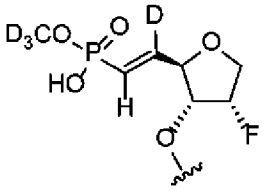
Формула (32AY)



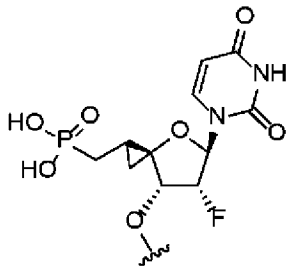
Формула (32B)

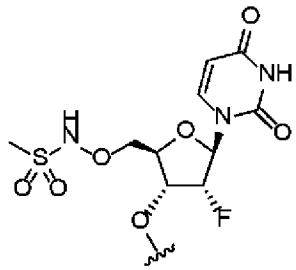


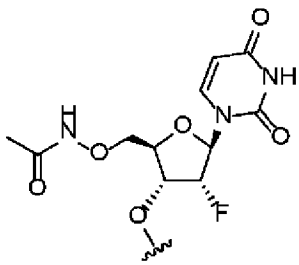
Формула (32BX)



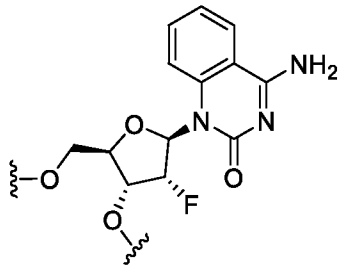
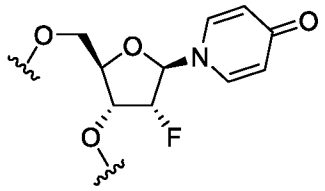
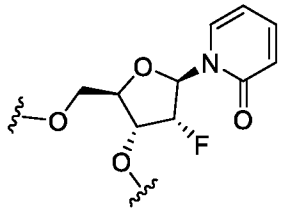
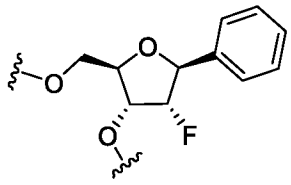
Формула (32BY)

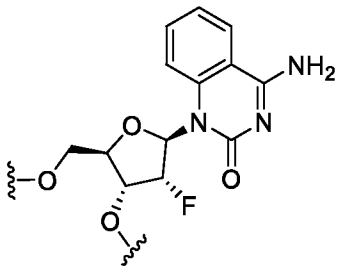

Формула (33A)

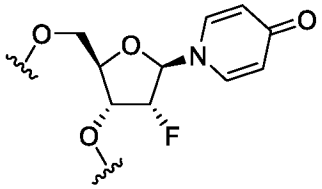
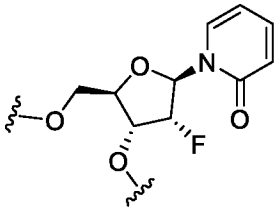
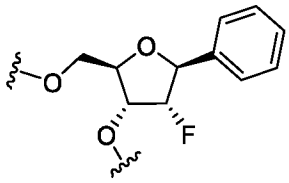

Формула (34A)

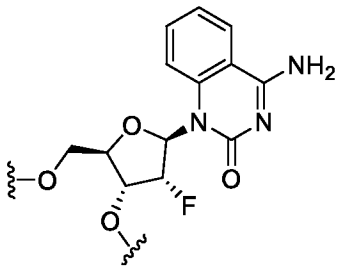

Формула (35A)

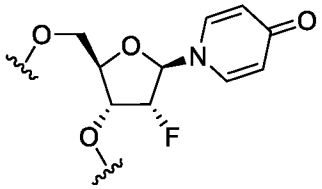
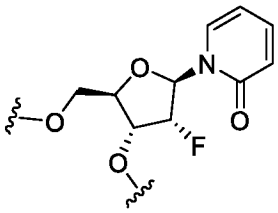
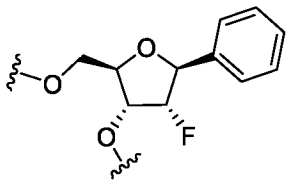
. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5’-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

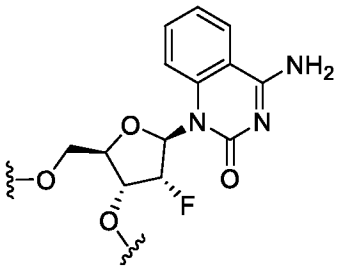
[0052] В некоторых вариантах осуществления любая из миНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, дополнительно содержит по меньшей мере один термически дестабилизируемый нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей дополнительно содержит по меньшей мере один термически дестабилизируемый нуклеотид, выбранный из: , ,  и . В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе смысловых цепей содержит по меньшей мере один

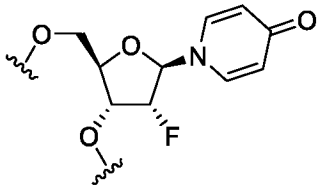
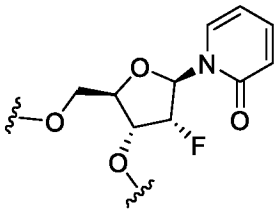
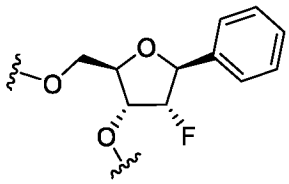
термически дестабилизируемый нуклеотид, выбранный из:  ,

 ,  и  . В некоторых вариантах осуществления любая из первых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, дополнительно содержит по меньшей мере один

термически дестабилизируемый нуклеотид, выбранный из:  ,

 ,  и  . В некоторых вариантах осуществления любая из вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, дополнительно содержит по меньшей мере один

термически дестабилизируемый нуклеотид, выбранный из:  ,

 ,  и  . В некоторых вариантах осуществления любой из раскрытых в данном документе модифицированных нуклеотидов представляет собой термически дестабилизируемый нуклеотид.

[0053] В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе миНК специфически понижает регуляцию или снижает экспрессию гена-мишени. В некоторых вариантах осуществления ген-мишень представляет собой вирусный ген. В некоторых вариантах осуществления вирусный ген происходит от ДНК-вируса. В некоторых вариантах осуществления ДНК-вирус представляет собой двухцепочечный ДНК (дцДНК) вирус. В некоторых вариантах осуществления вирус дцДНК является гепаднавирусом. В некоторых вариантах осуществления гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV). В некоторых вариантах осуществления HBV выбирают из генотипов A-J HBV. В некоторых вариантах осуществления ген-мишень выбирают из гена S или гена X HBV.

[0054] В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам в положениях 200–720 или 1100–1700 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам в положениях 200–280, 300–445, 460–510, 650–720, 1170–1220, 1250–1300 или 1550–1630 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам в положениях 200–230, 250–280, 300–330, 370–400, 405–445, 460–500, 670–700, 1180–1210, 1260–1295, 1520–1550 или 1570–1610 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам, начиная от положения 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 или 1584 из SEQ ID NO: 410.

[0055] В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30 нуклеотидам в положениях 200–720 или 1100–1700 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30 нуклеотидам в положениях 200–280, 300–445, 460–510, 650–720, 1170–1220, 1250–1300 или 1550–1630 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15 –30 нуклеотидам в положениях 200–230, 250–280,

300–330, 370–400, 405–445, 460–500, 670–700, 1180–1210, 1260–1295, 1520–1550 или 1570–1610 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30 нуклеотидам, начиная от положения 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 или 1584 из SEQ ID NO: 410.

[0056] В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260.

[0057] В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306.

[0058] В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444.

[0059] В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539.

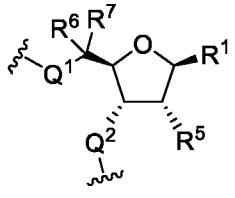
[0060] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один конец миНК является тупым концом.

[0061] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один конец миНК содержит выступ, причем выступ содержит по меньшей мере один нуклеотид.

[0062] В некоторых вариантах осуществления оба конца миНК содержат выступ, причем выступ содержит по меньшей мере один нуклеотид.

[0063] В некоторых вариантах осуществления миНК выбрана из любой из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178.

[0064] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один 2'-фторнуклеотид или 2'-*O*-метилнуклеотид представляет собой миметик 2'-фтор или 2-O-метилнуклеотида формулы (V):



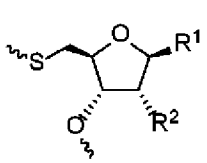
, где

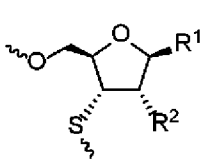
R^1 независимо представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, Q^1 и Q^2 независимо представляют собой S или O,

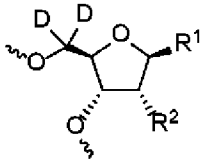
R^5 независимо представляет собой $–OCD_3$, –F или $–OCH_3$, и

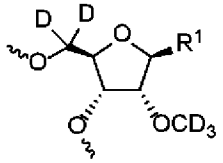
R^6 и R^7 независимо представляют собой H, D или CD3.

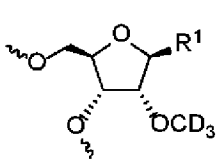
[0065] В некоторых вариантах осуществления миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида представляет собой миметик нуклеотида формулы (16) – формулы (20):


Формула (16)


Формула (17)


Формула (18)


Формула (19)


Формула (20)

, где R^1 представляет собой азотистое основание и R^2 независимо представляет собой F или $-OCH_3$.

[0066] Кроме того, в данном документе раскрыты композиции, содержащие любую из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК нацеливается на ген S HBV. В некоторых вариантах осуществления миНК специфически подавляет или снижает экспрессию гена S HBV. В некоторых вариантах осуществления миНК нацеливается на ген X HBV. В некоторых вариантах осуществления миНК специфически подавляет или снижает экспрессию гена X HBV. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5'-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизированных нуклеотидов, раскрытых в

данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0067] Кроме того, в данном документе раскрыты композиции, содержащие 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более из любой из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более миНК нацелены на ген S HBV. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более миНК специфически понижают регуляцию или снижают экспрессию гена S HBV. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более миНК нацелены на ген X HBV. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более миНК специфически понижают регуляцию или снижают экспрессию гена X HBV. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5'-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0068] В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе композиций дополнительно содержит дополнительный агент для лечения HBV. В некоторых вариантах осуществления дополнительный агент для лечения HBV выбран из аналога нуклеотида, аналога нуклеозида, модулятора сборки капсида (CAM),

рекомбинантного интерферона, ингибитора проникновения, низкомолекулярного иммуномодулятора и олигонуклеотидной терапии. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотидная терапия является дополнительной миНК. В некоторых вариантах осуществления дополнительная миНК выбрана из любой от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления терапия олигонуклеотидами представляет собой антисмысловые олигонуклеотиды (ASO), NAP или STOP. В некоторых вариантах осуществления ASO представляет собой ASO 1 или ASO 2. В некоторых вариантах осуществления ASO специально нацелен на ген S HBV. В некоторых вариантах осуществления ASO специально нацелен на ген X HBV. В некоторых вариантах осуществления дополнительный агент для лечения HBV выбирают из HBV STOPS™ ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1, рекомбинантного интерферона альфа 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, ламивудина, телбивудина, адефовира дипивоксила, клевудина, энтекавира, тенофовира алафенамида, тенофовира дизопроксила, NVR3–778, BAY41–4109, JNJ-632, JNJ–3989 (ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB–729, VIR-2218, RG6346 (DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ–440, NZ–4, RG7907, EDP–514, AB–423, AB–506, ABI-H03733 и ABI-H2158.

[0069] В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе композиций дополнительно содержит средство для лечения заболевания печени. В некоторых вариантах осуществления средство для лечения заболевания печени выбрано из агониста рецептора активатора пролиферации пероксисом (PPAR), агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR), средства, изменяющего липидный состав, и терапии на основе инкретина. В некоторых вариантах осуществления агонист PPAR выбран из агониста PPARα, двойного агониста PPARα/δ, агониста PPARγ и двойного агониста PPARα/γ. В некоторых вариантах осуществления двойной агонист PPARα представляет собой фибрат. В некоторых вариантах осуществления агонист PPARα/δ представляет собой элафибранор. В некоторых вариантах осуществления агонист PPARγ представляет собой тиазолидиндион (TZD). В некоторых вариантах осуществления TZD представляет собой пиоглитазон. В некоторых вариантах осуществления двойной агонист PPARα/γ представляет собой сароглитазар. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту (OCA). В некоторых вариантах осуществления агент, изменяющий липидный состав, представляет собой арамхол. В некоторых вариантах осуществления терапия на основе инкретинов представляет собой агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1) или ингибитор дипептидилпептидазы 4 (DPP-4). В некоторых вариантах осуществления агонист рецептора GLP-1 представляет

собой эксенатид или лираглутид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор DPP-4 представляет собой ситаглиптин или вилдаплиптин.

[0070] Кроме того, в данном документе раскрыты способы лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту любой из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5'-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0071] Кроме того, в данном документе раскрыты способы лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту любой из композиций, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более любой из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную

последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5'-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит любое из дополнительных средств для лечения HBV, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления заболевание является вирусным заболеванием. В некоторых вариантах осуществления вирусное заболевание вызывается ДНК-содержащим вирусом. В некоторых вариантах осуществления ДНК-вирус представляет собой двухцепочечный ДНК (дцДНК) вирус. В некоторых вариантах осуществления вирус дцДНК является гепаднавирусом. В некоторых вариантах осуществления гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV). В некоторых вариантах осуществления HBV выбран из генотипов HBV A-J. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение дополнительного средства для лечения HBV. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию и дополнительный агент для лечения HBV вводят параллельно. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию и дополнительный агент для лечения HBV вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят перед введением дополнительного агента для лечения HBV. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят после введения дополнительного агента для лечения HBV. В некоторых вариантах осуществления дополнительный агент для лечения HBV выбран из аналога нуклеотида, аналога нуклеозида, модулятора сборки капсида (CAM), рекомбинантного интерферона, ингибитора проникновения, низкомолекулярного иммуномодулятора и олигонуклеотидной терапии. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотидная

терапия является дополнительной миНК. В некоторых вариантах осуществления дополнительная миНК выбрана из любой от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления терапия олигонуклеотидами представляет собой антисмысловые олигонуклеотиды (ASO), NAP или STOP. В некоторых вариантах осуществления ASO представляет собой ASO 1 или ASO 2. В некоторых вариантах осуществления дополнительный агент для лечения HBV выбирают из HBV STOPS™ ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1, рекомбинантного интерферона альфа 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, ламивудина, телбивудина, адефовира дипивоксила, клевудина, энтекавира, тенофовира алафенамида, тенофовира дизопроксила, NVR3–778, BAY41–4109, JNJ-632, JNJ–3989 (ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB–729, VIR-2218, RG6346 (DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ–440, NZ–4, RG7907, EDP–514, AB–423, AB–506, ABI-H03733 и ABI-H2158.

[0072] В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание печени. В некоторых вариантах осуществления заболевание печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК). В некоторых вариантах осуществления НАЖБП представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту средства для лечения заболевания печени. В некоторых вариантах осуществления средство для лечения заболевания печени выбрано из агониста рецептора активатора пролиферации пероксисом (PPAR), агониста фарнезоидного Х-рецептора (FXR), средства, изменяющего липидный состав, и терапии на основе инкретина. В некоторых вариантах осуществления агонист PPAR выбран из агониста PPARα, двойного агониста PPARα/δ, агониста PPARγ и двойного агониста PPARα/γ. В некоторых вариантах осуществления двойной агонист PPARα представляет собой фибрат. В некоторых вариантах осуществления агонист PPARα/δ представляет собой элафибранор. В некоторых вариантах осуществления агонист PPARγ представляет собой тиазолидиндион (TZD). В некоторых вариантах осуществления TZD представляет собой пиоглитазон. В некоторых вариантах осуществления двойной агонист PPARα/γ представляет собой сароглитазар. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту (OCA). В некоторых вариантах осуществления агент, изменяющий липидный состав, представляет собой арамхол. В некоторых вариантах осуществления терапия на основе инкретинов представляет собой агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1) или ингибитор дипептидилпептидазы 4 (DPP-4). В некоторых вариантах осуществления агонист рецептора GLP-1 представляет собой эксенатид или лираглутид. В некоторых

вариантах осуществления ингибитор DPP-4 представляет собой ситаглиптин или вилдаплиптин. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию и средство для лечения заболевания печени вводят параллельно. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию и средство для лечения заболевания печени вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят перед введением средства для лечения заболевания печени. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят после введения средства для лечения заболевания печени.

[0073] В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в дозе по меньшей мере 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг, 4 мг/кг, 5 мг/кг, 6 мг/кг, 7 мг/кг, 8 мг/кг, 9 мг/кг, 10 мг/кг, 11 мг/кг, 12 мг/кг, 13 мг/кг 14 мг/кг или 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в дозе от 0,5 мг/кг до 50 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 40 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 30 мг/кг, от 1 мг/кг до 50 мг/кг, от 1 мг/кг до 40 мг/кг, от 1 мг/кг 30 мг/кг, от 1 мг/кг 20 мг/кг, от 3 мг/кг до 50 мг/кг, от 3 мг/кг до 40 мг/кг, от 3 мг/кг до 30 мг/кг, от 3 мг/кг до 20 мг/кг, от 3 мг/кг до 15 мг/кг, от 3 мг/кг до 10 мг/кг, от 4 мг/кг до 50 мг/кг, от 4 мг/кг до 40 мг/кг, от 4 мг/кг до 30 мг/кг, от 4 мг/кг до 20 мг/кг, от 4 мг/кг до 15 мг/кг, от 4 мг/кг до 10 мг/кг, от 5 мг/кг до 50 мг/кг, от 5 мг/кг до 40 мг/кг, от 5 мг/кг до 30 мг/кг, от 5 мг/кг до 20 мг/кг, от 5 мг/кг до 15 мг/кг или от 5 мг/кг до 10 мг/кг.

[0074] В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз в день, по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз в неделю, или по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят по меньшей мере один раз в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 день. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в течение периода по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 день, или по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 51, 52, 53, 54 или 55 недель.

[0075] В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в однократной дозе 5 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в однократной дозе 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в трех дозах по 10 мг/кг один раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в трех дозах по 10 мг/кг один раз в три дня. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в пяти дозах по 10

мг/кг один раз в три дня. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в шести дозах в диапазоне от 1 мг/кг до 15 мг/кг, от 1 мг/кг до 10 мг/кг, от 2 мг/кг до 15 мг/кг, от 2 мг/кг до 10 мг/кг, от 3 мг/кг до 15 мг/кг или от 3 мг/кг до 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления первую дозу и вторую дозу вводят с интервалом не менее 3 дней. В некоторых вариантах осуществления вторую дозу и третью дозу вводят с интервалом не менее 4 дней. В некоторых вариантах осуществления третью дозу и четвертую дозу, четвертую дозу и пятую дозу или пятую дозу и шестую дозу вводят с интервалом не менее 7 дней.

[0076] В некоторых вариантах осуществления любая из миНК или композиций, раскрытых в данном документе, составлена в виде частицы или вирусного вектора. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят в частице или вирусном векторе. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой вектор аденовируса, аденоассоциированного вируса (AAV), альфавируса, флавивируса, вируса простого герпеса, лентивируса, вируса кори, пикорнавируса, поксвируса, ретровируса или рабдовируса. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой рекомбинантный вирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор выбран из AAVrh.74, AAVrh.10, AAVrh.20, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAV-8, AAV-9, AAV-10, AAV-11, AAV-12 и AAV-13. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят системно. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят местно. В некоторых вариантах осуществления миНК или композицию вводят внутривенно, подкожно или внутримышечно.

[0077] В некоторых вариантах осуществления любую из миРНК или композиций, раскрытых в данном документе, применяют в производстве лекарственного средства для лечения заболевания. В некоторых вариантах осуществления заболевание является вирусным заболеванием. В некоторых вариантах осуществления вирусное заболевание вызывается ДНК-содержащим вирусом. В некоторых вариантах осуществления ДНК-вирус представляет собой двухцепочечную ДНК (дцДНК-вирус). В некоторых вариантах осуществления вирус дцДНК является гепаднавирусом. В некоторых вариантах осуществления гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV). В некоторых вариантах осуществления HBV выбран из генотипов HBV A-J. В некоторых вариантах осуществления в производстве лекарственного средства дополнительно используют средство для лечения HBV. В некоторых вариантах осуществления дополнительный агент для лечения HBV выбран из аналога нуклеотида, аналога нуклеозида, модулятора сборки капсида (CAM), рекомбинантного интерферона, ингибитора проникновения,

низкомолекулярного иммуномодулятора и олигонуклеотидной терапии. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотидная терапия является дополнительной миНК. В некоторых вариантах осуществления дополнительная миНК выбрана из любой от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления терапия олигонуклеотидами представляет собой антисмысловые олигонуклеотиды (ASO), NAP или STOP. В некоторых вариантах осуществления ASO представляет собой ASO 1 или ASO 2. В некоторых вариантах осуществления дополнительный агент для лечения HBV выбирают из HBV STOPS™ ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1, рекомбинантного интерферона альфа 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, ламивудина, телбивудина, адефовира дипивоксила, клевудина, энтекавира, тенофовира алафенамида, тенофовира дизопроксила, NVR3–778, BAY41–4109, JNJ-632, JNJ–3989 (ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB–729, VIR-2218, RG6346 (DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ–440, NZ–4, RG7907, EDP–514, AB–423, AB–506, ABI-H03733 и ABI-H2158.

[0078] В некоторых вариантах осуществления любую из миРНК или композиций, раскрытых в данном документе, применяют в производстве лекарственного средства для лечения заболевания. В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание печени. В некоторых вариантах осуществления заболевание печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК). В некоторых вариантах осуществления НАЖБП представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5’-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из

блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления агент для лечения заболеваний печени дополнительно применяют при производстве лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления средство для лечения заболевания печени выбрано из агониста рецептора активатора пролиферации пероксисом (PPAR), агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR), средства, изменяющего липидный состав, и терапии на основе инкретина. В некоторых вариантах осуществления агонист PPAR выбран из агониста PPARα, двойного агониста PPARα/δ, агониста PPARγ и двойного агониста PPARα/γ. В некоторых вариантах осуществления двойной агонист PPARα представляет собой фибрат. В некоторых вариантах осуществления агонист PPARα/δ представляет собой элафибранор. В некоторых вариантах осуществления агонист PPARγ представляет собой тиазолидиндион (TZD). В некоторых вариантах осуществления TZD представляет собой пиоглитазон. В некоторых вариантах осуществления двойной агонист PPARα/γ представляет собой сароглитазар. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту (OCA). В некоторых вариантах осуществления агент, изменяющий липидный состав, представляет собой арамхол. В некоторых вариантах осуществления терапия на основе инкретинов представляет собой агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1) или ингибитор дипептидилпептидазы 4 (DPP-4). В некоторых вариантах осуществления агонист рецептора GLP-1 представляет собой эксенатид или лираглутид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор DPP-4 представляет собой ситаглиптин или вилдаплиптин.

[0079] В некоторых вариантах осуществления любую из раскрытых в данном документе миНК применяют в качестве лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит

смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5'-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0080] В некоторых вариантах осуществления любую из раскрытых в данном документе композиций применяют в качестве лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит любую из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5'-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления

миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе.

[0081] В некоторых вариантах осуществления любую из миНК, раскрытых в данном документе, применяют для лечения заболевания. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5'-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления заболевание является вирусным заболеванием. В некоторых вариантах осуществления вирусное заболевание вызывается ДНК-содержащим вирусом. В некоторых вариантах осуществления ДНК-вирус представляет собой двухцепочечную ДНК (дцДНК-вирус). В некоторых вариантах осуществления вирус дцДНК является гепаднавирусом. В некоторых вариантах осуществления гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV). В некоторых вариантах осуществления HBV выбирают из генотипов HBV A-J. В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание печени. В некоторых вариантах осуществления заболевание печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК). В некоторых вариантах осуществления НАЖБП представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

[0082] В некоторых вариантах осуществления любую из композиций, раскрытых в данном документе, применяют для лечения заболевания. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит любую из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит первую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит вторую нуклеотидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит антисмысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из 5'-концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из блокаторов фосфорилирования, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из конъюгированных фрагментов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из дестабилизированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК дополнительно содержит любой из модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления заболевание является вирусным заболеванием. В некоторых вариантах осуществления вирусное заболевание вызывается ДНК-содержащим вирусом. В некоторых вариантах осуществления ДНК-вирус представляет собой двухцепочечную ДНК (дцДНК-вирус). В некоторых вариантах осуществления вирус дцДНК является гепаднавирусом. В некоторых вариантах осуществления гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV). В некоторых вариантах осуществления HBV выбирают из генотипов HBV A-J. В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание печени. В некоторых вариантах осуществления заболевание печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК). В некоторых вариантах осуществления НАЖБП представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0083] **ФИГ. 1** иллюстрирует типичную молекулу миНК.

[0084] **ФИГ. 2** иллюстрирует типичную молекулу миНК.

[0085] **ФИГ. 3A–3G** иллюстрируют типичные двухцепочечные молекулы миНК.

[0086] **ФИГ. 4** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших дц-миНК-0160, дц-миНК-0165, дц-миНК-0163, или дц-миНК-0166.

[0087] **ФИГ. 5A** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0160 (G03).

[0088] **ФИГ. 5B** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0160 (G15).

[0089] **ФИГ. 5C** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0160 (G03).

[0090] **ФИГ. 5D** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0160 (G03) или дц-миНК-0109 (G09).

[0091] **ФИГ. 5E–5F** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0169 (G18).

[0092] **ФИГ. 5G** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0169 (G04).

[0093] **ФИГ. 5H** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0169 (G04).

[0094] **ФИГ. 5I** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0169 (G04) или дц-миНК-0147 (G08).

[0095] **ФИГ. 5J** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0166 (G06) или дц-миНК-0153 (G14).

[0096] **ФИГ. 5K** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0163 (G05) или дц-миНК-0119 (G13).

[0097] **ФИГ. 6A** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0160 (G15) или дц-миНК-080 (G14).

[0098] **ФИГ. 6B** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0169 (G16) или дц-миНК-081 (G13).

[0099] **ФИГ. 7A** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0165 (G18) или дц-миНК-0127 (G17).

[0100] **ФИГ. 7B** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0168 (G20) или дц-миНК-0150 (G19).

[0101] **ФИГ. 8A** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0160 (G06), ASO 1 (G18) или комбинацию дц-миНК-0160 и ASO 1 (G20).

[0102] **ФИГ. 8B** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0160 (G06), ASO 1 (G18) или комбинацию дц-миНК-0160 и ASO 1 (G20).

[0103] **ФИГ. 8C** иллюстрирует график анализа синергии комбинированной терапии с неконъюгированными формами дц-миНК-0164 и ASO 2 (например, дц-миНК-0160 и ASO 1 без GalNac).

[0104] **ФИГ. 9** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0166 (G03), дц-миНК-0155 (G08), или дц-миНК-0157.

[0105] **ФИГ. 10** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0165 (G10), дц-миНК-0160 (G06), или комбинированную терапию с дц-миНК-0160 и дц-миНК-0165 (G14).

[0106] **ФИГ. 11** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0165 (G05) или дц-миНК-0144 (G11).

[0107] **ФИГ. 12** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0163 (G04), дц-миНК-0122 (G09), или дц-миНК-0123 (G13).

[0108] **ФИГ. 13** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G 15) или дц-миНК-0147 (G 19).

[0109] **ФИГ. 14** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G 15, квадрат), дц-миНК-0109 (G 21, круг) или дц-миНК-0172 (G 27, ромб).

[0110] **ФИГ. 15** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G 01, круг), дц-миНК-0109 (G 07, квадрат), дц-миНК-0119 (G 11, треугольник) или дц-миНК-0153 (G 13, ромб).

[0111] **ФИГ. 16** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G 01, круг), ASO 1 (G 20, квадрат), дц-миНК-0147 (G 24, ромб) или комбинацию ASO 1 и дц-миНК-0147 (G 25, треугольник).

[0112] **ФИГ. 17** иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G 01, круг), ASO 1 (G 20, квадрат), дц-миНК-0109 (G 26, ромб) или комбинацию ASO 1 и дц-миНК-0109 (G 27, треугольник).

ДЕТАЛЬНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0113] В данном документе раскрыты молекулы малых интерферирующих нуклеиновых кислот (миНК), содержащие модифицированные нуклеотиды. Описанные в данном документе молекулы миНК могут представлять собой двухцепочечные молекулы миНК (дц-миНК). Описанные в данном документе молекулы миНК могут содержать модифицированные нуклеотиды, выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотидов и 2'-фторнуклеотидов. Молекулы миНК, описанные в данном документе, могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. Описанные в данном документе молекулы миНК могут содержать блокатор фосфорилирования. Молекулы миНК, описанные в данном документе, могут содержать 5'-стабилизированный концевой кэп. Описанные в данном документе молекулы миНК могут содержать галактозамин. Описанные в данном документе молекулы миНК могут содержать один или более тупых концов. Описанные в данном документе молекулы миНК могут содержать один или более выступающих концов.

[0114] Кроме того, в данном документе раскрыты малые молекулы интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащие (a) блокатор фосфорилирования; а также (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). миНК может содержать по меньшей мере 5 нуклеотидов. Нуклеотиды могут быть модифицированными нуклеотидами, немодифицированными нуклеотидами или любой их комбинацией. Нуклеотиды могут быть рибонуклеотидами, дезоксирибонуклеотидами или любой их комбинацией. миНК может быть одноцепочечной. Альтернативно, миНК является двухцепочечной. Двухцепочечная миНК может содержать один или более тупых концов.

Двухцепочечная миНК может содержать один или более выступающих концов. Двухцепочечная миНК может иметь тупой конец и выступающий конец.

[0115] Кроме того, в данном документе раскрыты малые молекулы интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащие (a) конъюгированный фрагмент; а также (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). миНК может содержать по меньшей мере 5 нуклеотидов. Нуклеотиды могут быть модифицированными нуклеотидами, немодифицированными нуклеотидами или любой их комбинацией. Нуклеотиды могут быть рибонуклеотидами, дезоксирибонуклеотидами или любой их комбинацией. миНК может быть одноцепочечной. Альтернативно, миНК является двухцепочечной. Двухцепочечная миНК может содержать один или более тупых концов. Двухцепочечная миНК может содержать один или более выступающих концов. Двухцепочечная миНК может иметь тупой конец и выступающий конец.

[0116] Кроме того, в данном документе раскрыты малые молекулы интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащие (a) 5'-стабилизированный концевой кэп; а также (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). миНК может содержать по меньшей мере 5 нуклеотидов. Нуклеотиды могут быть модифицированными нуклеотидами, немодифицированными нуклеотидами или любой их комбинацией. Нуклеотиды могут быть рибонуклеотидами, дезоксирибонуклеотидами или любой их комбинацией. миНК может быть одноцепочечной. Альтернативно, миНК является двухцепочечной. Двухцепочечная миНК может содержать один или более тупых концов. Двухцепочечная миНК может содержать один или более выступающих концов. Двухцепочечная миНК может иметь тупой конец и выступающий конец.

[0117] Кроме того, в данном документе раскрыты молекулы малых интерферирующих нуклеиновых кислот миНК, содержащие (a) по меньшей мере один блокатор фосфорилирования, конъюгированный фрагмент или 5'-стабилизированный концевой кэп; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). миНК может содержать по меньшей мере 5 нуклеотидов. Нуклеотиды могут быть модифицированными нуклеотидами, немодифицированными нуклеотидами или любой их комбинацией. Нуклеотиды могут быть рибонуклеотидами, дезоксирибонуклеотидами или любой их комбинацией. миНК может быть одноцепочечной. Альтернативно, миНК является двухцепочечной. Двухцепочечная миНК может содержать один или более тупых концов. Двухцепочечная миНК может содержать один или более выступающих концов. Двухцепочечная миНК может иметь тупой конец и выступающий конец.

[0118] Иллюстративный пример молекулы миНК по настоящему изобретению изображен на ФИГ. 1. Как проиллюстрировано на ФИГ. 1, иллюстративный пример

молекулы миНК содержит смысловую цепь (101) и антисмысловую цепь (102). Смысловая цепь (101) может содержать первую олигонуклеотидную последовательность (103). Первая олигонуклеотидная последовательность (103) может содержать одну или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей (109). Фосфоротиоатная межнуклеозидная связь (109) может находиться между нуклеотидами на 5'- или 3'-конце первой олигонуклеотидной последовательности (103). Фосфортиоатная межнуклеозидная связь (109) может находиться между первыми тремя нуклеотидами от 5'-конца первой олигонуклеотидной последовательности (103). Первая олигонуклеотидная последовательность (103) может содержать один или более 2'-фторнуклеотидов (110). Первая олигонуклеотидная последовательность (103) может содержать один или более 2'-*O*-метилнуклеотидов (111). Первая олигонуклеотидная последовательность (103) может содержать 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-фторнуклеотидов (110) и 2'-*O*-метилнуклеотидов (111). Смысловая цепь (101) может дополнительно содержать блокатор фосфорилирования (105). Смысловая цепь (101) может дополнительно содержать галактозамин (106). Антисмысловая цепь (102) может содержать вторую олигонуклеотидную последовательность (104). Вторая олигонуклеотидная последовательность (104) может содержать одну или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей (109). Фосфоротиоатная межнуклеозидная связь (109) может находиться между нуклеотидами на 5'- или 3'-конце второй олигонуклеотидной последовательности (104). Фосфортиоатная межнуклеозидная связь (109) может находиться между первыми тремя нуклеотидами от 5'-конца второй олигонуклеотидной последовательности (104). Фосфортиоатная межнуклеозидная связь (109) может находиться между первыми тремя нуклеотидами от 3'-конца второй олигонуклеотидной последовательности (104). Вторая олигонуклеотидная последовательность (104) может содержать один или более 2'-фторнуклеотидов (110). Вторая олигонуклеотидная последовательность (104) может содержать один или более 2'-*O*-метилнуклеотидов (111). Вторая олигонуклеотидная последовательность (104) может содержать 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-фторнуклеотидов (110) и 2'-*O*-метилнуклеотидов (111). Антисмысловая цепь (102) может дополнительно содержать 5'-стабилизированный концевой кэп (107). миНК может дополнительно содержать один или более тупых концов. В качестве альтернативы или дополнительно один конец миНК может содержать выступающий конец (108). Выступ (108) может быть частью смысловой цепи (101). Выступ (108) может быть частью антисмысловой цепи (102). Выступ (108) может отличаться от первой последовательности нуклеотидов (103). Выступ (108) может отличаться от второй последовательности

нуклеотидов (104). Выступ (108) может быть частью первой последовательности нуклеотидов (103). Выступ (108) может быть частью второй последовательности нуклеотидов (104). Выступ (108) может содержать 1 или более нуклеотидов. Выступ (108) может содержать 1 или более дезоксирибонуклеотидов. Выступ (108) может содержать 1 или более модифицированных нуклеотидов. Выступ (108) может содержать 1 или более модифицированных рибонуклеотидов. Смысловая цепь (101) может быть короче, чем антисмысловая цепь (102). Смысловая цепь (101) может иметь ту же длину, что и антисмысловая цепь (102). Смысловая цепь (101) может быть длиннее, чем антисмысловая цепь (102).

[0119] Иллюстративный пример молекулы миНК по настоящему изобретению изображен на ФИГ. 2. Как проиллюстрировано на ФИГ. 2, иллюстративный пример молекулы миНК содержит смысловую цепь (201) и антисмысловую цепь (202). Смысловая цепь (201) может содержать первую олигонуклеотидную последовательность (203). Первая олигонуклеотидная последовательность (203) может содержать одну или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей (209). Фосфоротиоатная межнуклеозидная связь (209) может находиться между нуклеотидами на 5'- или 3'-конце первой олигонуклеотидной последовательности (203). Фосфортиоатная межнуклеозидная связь (209) может находиться между первыми тремя нуклеотидами от 5'-конца первой олигонуклеотидной последовательности (203). Первая олигонуклеотидная последовательность (203) может содержать один или более 2'-фторнуклеотидов (210). Первая олигонуклеотидная последовательность (203) может содержать один или более 2'-*O*-метилнуклеотидов (211). Первая олигонуклеотидная последовательность (203) может содержать 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-фторнуклеотидов (210) и 2'-*O*-метилнуклеотидов (211). Смысловая цепь (201) может дополнительно содержать блокатор фосфорилирования (205). Смысловая цепь (201) может дополнительно содержать галактозамин (206). Антисмысловая цепь (202) может содержать вторую олигонуклеотидную последовательность (204). Вторая олигонуклеотидная последовательность (204) может содержать одну или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей (209). Фосфоротиоатная межнуклеозидная связь (209) может находиться между нуклеотидами на 5'- или 3'-конце второй олигонуклеотидной последовательности (204). Фосфортиоатная межнуклеозидная связь (209) может находиться между первыми тремя нуклеотидами от 5'-конца второй олигонуклеотидной последовательности (204). Фосфортиоатная межнуклеозидная связь (209) может находиться между первыми тремя нуклеотидами от 3'-конца второй олигонуклеотидной последовательности (204). Вторая олигонуклеотидная

последовательность (204) может содержать один или более 2'-фторнуклеотидов (210). Вторая олигонуклеотидная последовательность (204) может содержать один или более 2'-*O*-метилнуклеотидов (211). Вторая олигонуклеотидная последовательность (204) может содержать 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-фторнуклеотидов (210) и 2'-*O*-метилнуклеотидов (211). Антисмысловая цепь (202) может дополнительно содержать 5'-стабилизированный концевой кэп (207). миНК может дополнительно содержать один или более выступов (208). Выступ (208) может быть частью смысловой цепи (201). Выступ (208) может быть частью антисмысловой цепи. (202). Выступ (208) может отличаться от первой последовательности нуклеотидов (203). Выступ (208) может отличаться от второй последовательности нуклеотидов (204). Выступ (208) может быть частью первой последовательности нуклеотидов (203). Выступ (208) может быть частью второй последовательности нуклеотидов (204). Выступ (208) может примыкать к 3'-концу первой нуклеотидной последовательности (203). Выступ (208) может примыкать к 5'-концу первой нуклеотидной последовательности (203). Выступ (208) может примыкать к 3'-концу второй нуклеотидной последовательности (204). Выступ (208) может примыкать к 5'-концу второй нуклеотидной последовательности (204). Выступ (208) может содержать 1 или более нуклеотидов. Выступ (208) может содержать 1 или более дезоксирибонуклеотидов. Выступ (208) может содержать последовательность TT. Выступ (208) может содержать 1 или более модифицированных нуклеотидов. Выступ (208) может содержать 1 или более модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе (например, 2'-фторнуклеотид, 2'-*O*-метилнуклеотид, миметик 2'-фторнуклеотида, миметик 2'-*O*-метилнуклеотида или нуклеотид, содержащий модифицированное азотистое основание). Выступ (208) может содержать 1 или более модифицированных рибонуклеотидов. Смысловая цепь (201) может быть короче, чем антисмысловая цепь (202). Смысловая цепь (201) может иметь ту же длину, что и антисмысловая цепь (202). Смысловая цепь (201) может быть длиннее, чем антисмысловая цепь (202).

[0120] На Фиг. 3A–3G изображают иллюстративные примеры схем паттернов модификации дц-миНК. Как проиллюстрировано на ФИГ. 3A-3G, иллюстративный пример молекулы дц-миНК может иметь следующую формулу:

5'-$A_n^1B_n^2A_n^3B_n^4A_n^5B_n^6A_n^7B_n^8A_n^9$-3'

3'-$C_q^1A_q^2B_q^3A_q^4B_q^5A_q^6B_q^7A_q^8B_q^9A_q^{10}B_q^{11}A_q^{12}$-5'

где:

верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%,

75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

нижняя цепь представляет собой антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

каждый A независимо представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид или нуклеотид, содержащий 5'-стабилизированный концевой кэп или блокатор фосфорилирования;

B представляет собой 2'-фторнуклеотид;

C представляет собой выступающие нуклеотиды и представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид;

n^1 = составляет 1–4 нуклеотидов в длину;

каждый n^2, n^6, n^8, q^3, q^5, q^7, q^9, q^{11} и q^{12} независимо составляет 0–1 нуклеотидов в длину;

каждое n^3 и n^4 независимо составляет 1–3 нуклеотидов в длину;

n^5 составляет 1–10 нуклеотидов в длину;

n^7 составляет 0–4 нуклеотидов в длину;

каждое n^9, q^1 и q^2 независимо составляет 0–2 нуклеотидов в длину;

q^4 составляет 0–3 нуклеотидов в длину;

q^6 составляет 0–5 нуклеотидов в длину;

q^8 составляет 2–7 нуклеотидов в длину; и

q^{10} составляет 2–11 нуклеотидов в длину.

дц-миНК может дополнительно содержать конъюгированный фрагмент. Конъюгированный фрагмент может содержать любой из раскрытых в данном документе галактозаминов. дц-миНК может дополнительно содержать (i) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и положениях 2 и 3 от 5'-конца смысловой цепи; и (ii) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2; положениях 2 и 3; положениях 19 и 20; и положениях 20 и 21 от 5'-конца антисмысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. 5'-стабилизирующий концевой кэп может представлять собой винилфосфонат. 5'-стабилизирующий концевой кэп может быть присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-

O-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. Иллюстративный пример молекулы дц-миНК может иметь следующую формулу:

5’-$A_{2\text{-}4}$ $B_1A_{1\text{-}3}$ $B_{2\text{-}3}$ $A_{2\text{-}10}$ $B_{0\text{-}1}A_{0\text{-}4}B_{0\text{-}1}$ $A_{0\text{-}2}$-3’

3’-$C_2A_{0\text{-}2}B_{0\text{-}1}A_{0\text{-}3}B_{0\text{-}1}A_{0\text{-}5}B_{0\text{-}1}A_{2\text{-}7}$ $B_1A_{2\text{-}11}$ B_1A_1-5’

где:

верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

нижняя цепь представляет собой антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

каждый A независимо представляет собой 2’-*O*-метилнуклеотид или нуклеотид, содержащий 5’-стабилизированный концевой кэп или блокатор фосфорилирования;

B представляет собой 2’-фторнуклеотид;

C представляет собой выступающие нуклеотиды и представляет собой 2’-*O*-метилнуклеотид.

дц-миНК может дополнительно содержать конъюгированный фрагмент. Конъюгированный фрагмент может содержать любой из раскрытых в данном документе галактозаминов. дц-миНК может дополнительно содержать (i) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и положениях 2 и 3 от 5’-конца смысловой цепи; и (ii) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2; положениях 2 и 3; положениях 19 и 20; и положениях

20 и 21 от 5’-конца антисмысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. 5’-стабилизирующий концевой кэп может представлять собой винилфосфонат. Винилфосфонат может представлять собой дейтерированный винилфосфонат. Дейтерированный винилфосфонат может представлять собой монодейтерированный винилфосфонат. Дейтерированный винилфосфонат может представлять собой моно-ди-дейтерированный винилфосфонат. 5’-Стабилизируемый концевой кэп может быть присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи. 5’-стабилизирующий концевой кэп может быть присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи. 5’-стабилизирующий концевой кэп может быть присоединен к 5’-концу смысловой цепи. 5’-стабилизирующий концевой кэп может быть присоединен к 3’-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования.

[0121] Иллюстративный пример дц-миНК изображен на ФИГ. 3A–3G содержат (i) смысловую цепь, содержащую 19–21 нуклеотид; и (ii) антисмысловую цепь, содержащую 21–23 нуклеотида. дц-миНК может дополнительно содержать (iii) конъюгированный фрагмент, где конъюгированный фрагмент присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи. дц-миНК может содержать выступающий конец из 2 нуклеотидов, состоящий из нуклеотидов в положениях 20 и 21 от 5’-конца антисмысловой цепи. дц-миНК может содержать выступающий конец из 2 нуклеотидов, состоящий из нуклеотидов в положениях 22 и 23 от 5’-конца антисмысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более фосфоротиоатнных (ps) межнуклеозидных связей. По меньшей мере, одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь может находиться между нуклеотидами в положениях 1 и 2 или положениях 2 и 3 от 5’-конца смысловой цепи. По

меньшей мере, одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь может находиться между нуклеотидами в положениях 1 и 2 или положениях 2 и 3 от 5'-конца антисмысловой цепи. По меньшей мере, одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь может находиться между нуклеотидами в положениях 19 и 20, положениях 20 и 21, положениях 21 и 22 или положениях 22 и 23 от 5'-конца антисмысловой цепи. Как проиллюстрировано на ФИГ. 3A–3G, 4–6 нуклеотидов в смысловой цепи могут представлять собой 2'-фторнуклеотиды. Как проиллюстрировано на ФИГ. 3A–3G, 2-5 нуклеотидов в антисмысловой цепи могут представлять собой 2'-фторнуклеотиды. Как проиллюстрировано на ФИГ. 3A–3G, 13-15 нуклеотидов в смысловой цепи могут представлять собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. Как проиллюстрировано на ФИГ. 3A–3G, 14-19 нуклеотидов в антисмысловой цепи могут представлять собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. Как проиллюстрировано на ФИГ. 3A–3G, дц-миНК не содержит пары оснований между 2'-фторнуклеотидами смысловой и антисмысловой цепей. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования.

[0122] Как проиллюстрировано на ФИГ. 3A, дц-миНК может содержать (a) смысловую цепь, состоящую из 19 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды расположены в положениях 3, 7–9, 12, и 17 от 5'-конца смысловой цепи, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1, 2, 4–6, 10, 11, 13–16, 18 и 19 от 5'-конца смысловой цепи; и (b) антисмысловую цепь, состоящую из 21 нуклеотида, причем нуклеотиды в положениях 2 и 14 от 5'-конца антисмысловой цепи представляют собой 2'-фторнуклеотиды; и при этом нуклеотиды в положениях 1, 3–13 и 15–21 представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. дц-миНК может дополнительно содержать конъюгированный фрагмент, присоединенный к 3'-концу смысловой цепи. дц-миНК

может дополнительно содержать (i) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и положениях 2 и 3 от 5'-конца смысловой цепи; и (ii) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2; положениях 2 и 3; положениях 19 и 20; и положениях 20 и 21 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой нуклеотиды f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-*O*-метилнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2'-*O*-метилнуклеотида.

[0123] Как проиллюстрировано на ФИГ. 3B, дц-миНК может содержать (a) смысловую цепь, состоящую из 19 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды расположены в положениях 3, 7, 8 и 17 от 5'-конца смысловой цепи, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды

расположены в положениях 1, 2, 4–6, 9–16, 18 и 19 от 5’-конца смысловой цепи; и (b) антисмысловую цепь, состоящую из 21 нуклеотида, причем нуклеотиды в положениях 2 и 14 от 5’-конца антисмысловой цепи представляют собой 2’-фторнуклеотиды; и при этом нуклеотиды в положениях 1, 3–13 и 15–21 представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды. дц-миНК может дополнительно содержать конъюгированный фрагмент, присоединенный к 3’-концу смысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать (i) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и положениях 2 и 3 от 5’-конца смысловой цепи; и (ii) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2; положениях 2 и 3; положениях 19 и 20; и положениях 20 и 21 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2’-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых

вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-*O*-метилнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2'-*O*-метилнуклеотида.

[0124] Как проиллюстрировано на ФИГ. 3C, дц-миНК может содержать (a) смысловую цепь, состоящую из 19 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды расположены в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5'-конца смысловой цепи, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1, 2, 4–6, 10, 11, 13–16, 18 и 19 от 5'-конца смысловой цепи; (b) антисмысловую цепь, состоящую из 21 нуклеотида, причем нуклеотиды в антисмысловой цепи содержит паттерн модификации с чередованием 1:3, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. дц-миНК может дополнительно содержать конъюгированный фрагмент, присоединенный к 3'-концу смысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать (i) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и положениях 2 и 3 от 5'-конца смысловой цепи; и (ii) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2; положениях 2 и 3; положениях 19 и 20; и положениях 20 и 21 от 5'-конца антисмысловой цепи. дц-миНК могут содержать 2–5 паттернов модификации с чередованием 1:3 на антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В

некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-*O*-метилнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2'-*O*-метилнуклеотида.

[0125] Как проиллюстрировано на ФИГ. 3D, дц-миНК может содержать (a) смысловую цепь, состоящую из 19 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды расположены в положениях 5 и 7–9 от 5'-конца смысловой цепи, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1–4 , 6 и 10–19 от 5'-конца смысловой цепи; (b) антисмысловую цепь, состоящую из 21 нуклеотида, причем нуклеотиды в антисмысловой цепи содержит паттерн модификации с чередованием 1:3, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. дц-миНК может дополнительно содержать конъюгированный фрагмент, присоединенный к 3'-концу смысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать (i) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и положениях 2 и 3 от 5'-конца смысловой цепи; и (ii) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2; положениях 2 и 3; положениях 19 и 20; и положениях 20 и 21 от 5'-конца антисмысловой цепи. дц-миНК могут содержать 2–5 паттернов модификации с чередованием 1:3 на антисмысловой цепи. Чередующийся 1:3 паттерн модификации может начинаться с нуклеотида в любом из положений 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В

некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-*O*-метилнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2'-*O*-метилнуклеотида.

[0126] Как проиллюстрировано на ФИГ. 3E, дц-миНК может содержать (a) смысловую цепь, состоящую из 19 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды расположены в положениях 5 и 7–9 от 5'-конца смысловой цепи, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1–4 , 6 и 10–19 от 5'-конца смысловой цепи; (b) антисмысловую цепь, состоящую из 21 нуклеотида, причем нуклеотиды в антисмысловой цепи содержит паттерн модификации с чередованием 1:2, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид, а 2 нуклеотида представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. дц-миНК может дополнительно содержать конъюгированный фрагмент, присоединенный к 3'-концу смысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать (i) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и положениях 2 и 3 от 5'-конца смысловой цепи; и (ii) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2; положениях 2 и 3; положениях 19 и 20; и положениях 20 и 21 от 5'-конца антисмысловой цепи. дц-миНК могут содержать 2–5 паттернов модификации с чередованием 1:2 на антисмысловой цепи. Чередующийся 1:2 паттерн модификации может начинаться с нуклеотида в любом из

положений 2, 5, 8, 14 и/или 17 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления дц-миНК содержит (a) смысловую цепь, состоящую из 19 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды расположены в положениях 5 и 7–9 от 5’-конца смысловой цепи, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1–4, 6 и 10–19 от 5’-конца смысловой цепи; (b) антисмысловую цепь, состоящую из 21 нуклеотида, причем 2’-фторнуклеотиды расположены в положениях 2, 5, 8, 14 и 17 от 5’-конца антисмысловой цепи, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1, 3 , 4, 6, 7, 9–13, 15, 16 и 18–21 от 5’-конца смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2’-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на смысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2,

3, 4 или более 2'-*O*-метилнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2'-*O*-метилнуклеотида.

[0127] Как проиллюстрировано на ФИГ. 3F, дц-миНК может содержать (a) смысловую цепь, состоящую из 19 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды расположены в положениях 5 и 7–9 от 5'-конца смысловой цепи, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1–4, 6 и 10–19 от 5'-конца смысловой цепи; (b) антисмысловую цепь, состоящую из 21 нуклеотида, причем 2'-фторнуклеотиды расположены в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5'-конца антисмысловой цепи, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1, 3–5, 7–13, 15 и 17–21 от 5'-конца смысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать конъюгированный фрагмент, присоединенный к 3'-концу смысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать (i) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и положениях 2 и 3 от 5'-конца смысловой цепи; и (ii) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2; положениях 2 и 3; положениях 19 и 20; и положениях 20 и 21 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3 или 4 2'-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один 2'-фторнуклеотид в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два 2'-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 3 2'-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 2 2'-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид в положении 6 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления 2'-

фторнуклеотид в положении 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3 или 4 2’-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один 2’-фторнуклеотид в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два 2’-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 3 2’-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 2 2’-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид в положении 2 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид в положении 6 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид в положении 14 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид в положении 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f2P. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3 или 4 2’-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один 2’-фторнуклеотид в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два 2’-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 3 2’-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 2 2’-фторнуклеотида в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид в положении 2 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах

осуществления 2’-фторнуклеотид в положении 6 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид в положении 14 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид в положении 16 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид fX. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5’-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3’-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2’-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на смысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-фторнуклеотидов на антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2’-*O*-метилнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2’-*O*-метилнуклеотида.

[0128] Как проиллюстрировано на ФИГ. 3G, дц-миНК может содержать (a) смысловую цепь, состоящую из 21 нуклеотида, причем 2'-фторнуклеотиды расположены в положениях 5, 9–11, 14, и 19 от 5'-конца смысловой цепи, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1–4, 6–8, 12, 13, 15–18, 20 и 21 от 5'-конца смысловой цепи; и (b) антисмысловую цепь, состоящую из 23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды расположены в положениях 2 и 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды расположены в положениях 1, 3–13 и 15–23 от 5'-конца смысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать конъюгированный фрагмент, присоединенный к 3'-концу смысловой цепи. дц-миНК может дополнительно содержать (i) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2 и положениях 2 и 3 от 5'-конца смысловой цепи; и (ii) фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1 и 2; положениях 2 и 3; положениях 19 и 20; и положениях 20 и 21 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать 5'-стабилизирующий концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца смысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца антисмысловой цепи дополнительно модифицируют, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца смысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в положении 1 от 3'-конца антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид d2vd3. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи

представляют собой миметик 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на смысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-фторнуклеотидов на антисмысловой цепи представляет собой нуклеотид f4P, f2P или fX. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или более 2'-*O*-метилнуклеотидов на смысловой или антисмысловой цепи представляют собой миметик 2'-*O*-метилнуклеотида.

[0129] Любая из раскрытых в данном документе миНК может содержать смысловую цепь и антисмысловую цепь. Смысловая цепь может содержать первую нуклеотидную последовательность 15–30 нуклеотидов в длину. Антимысловая цепь может содержать вторую нуклеотидную последовательность 15–30 нуклеотидов в длину.

[0130] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0131] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных

нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0132] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 7 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0133] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i)

составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотид и 2'-фторнуклеотид, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 7, 9, 10 и/или 11 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0134] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0135] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК,

соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 2 второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0136] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (iii) содержит 1 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (iii) содержит 1 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей.

[0137] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь,

содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид, при этом дц-миНК может дополнительно содержать блокатор фосфорилирования, галактозамин или 5'-стабилизированный концевой кэп.

[0138] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (I) верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую (A) первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (B) блокатор фосфорилирования или галактозамин; и (II) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (a) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (b) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-

метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид.

[0139] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (I) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (a) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (b) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (II) антисмысловую цепь, содержащую (A) вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-O-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (B) 5'-стабилизированный концевой кэп.

[0140] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (I) верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую (A) первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (B) блокатор фосфорилирования или галактозамин; и (II) антисмысловую цепь, содержащую (A) вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность: (i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и (ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов,

независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-O-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и (B) 5'-стабилизированный концевой кэп.

[0141] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая составляет по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159-204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит последовательность нуклеотидов, как проиллюстрировано в таблицах 1–3; и (b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит последовательность нуклеотидов, как проиллюстрировано в таблицах 1–3.

[0142] В некоторых вариантах осуществления молекула двухцепочечной малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (дц-миНК) содержит: (a) смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444; и (b) антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539. В некоторых вариантах осуществления молекула дц-миНК содержит двухцепочечную молекулу, идентифицированную по идентификатору дуплекса (например, от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178), проиллюстрированную в Таблицах 6 и 10.

[0143] Кроме того, в данном документе раскрыты композиции, содержащие две или более молекул миНК, раскрытых в данном документе.

[0144] Далее в данном документе раскрыты композиции, содержащие любую из описанных молекул миНК и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

[0145] Кроме того, в данном документе раскрыты композиции, содержащие две или более молекул миНК, раскрытых в данном документе для применения в качестве лекарственного средства.

[0146] Далее в данном документе раскрыты композиции, содержащие любую из описанных молекул миНК и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель для применения в качестве лекарственного средства.

[0147] Кроме того, в данном документе раскрыты способы лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, причем способ включает введение субъекту любой из молекул миНК, описанных в данном документе.

[0148] Кроме того, в данном документе раскрыто применение любой из молекул миНК, описанных в данном документе, в производстве лекарственного средства для лечения заболевания.

Молекулы малых интерферирующих нуклеиновых кислот (миНК)

[0149] Как указано выше, настоящее изобретение относится к молекулам миНК, содержащим модифицированные нуклеотиды. Любая из описанных в данном документе молекул миНК может представлять собой двухцепочечные молекулы миНК (дц-миНК). Термины «молекулы миНК» и «молекулы дц-миНК» могут использоваться взаимозаменяемо. В некоторых вариантах осуществления молекулы дц-миНК содержат смысловую и антисмысловую цепи.

[0150] Кроме того, в настоящем документе раскрыты молекулы миНК, содержащие (a) по меньшей мере один блокатор фосфорилирования, конъюгированный фрагмент или 5'-стабилизированный концевой кэп; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования представляет собой раскрытый в данном документе блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент представляет собой галактозамин, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп представляет собой 5'-стабилизированный концевой кэп, раскрытый в данном документе. миНК может содержать любую из первой нуклеотидной последовательности, второй нуклеотидной последовательности, смысловой цепи или антисмысловой цепи, раскрытых в данном документе. миНК может содержать 5–100, 5–90, 10–100, 10–90, 10– 80, 10–70, 10–60, 10–50, 10–30, 10–25, 15–100, 15–90, 15–80, 15–70, 15–60, 15–50, 15–30 или 15–25 нуклеотидов. миНК может содержать по меньшей мере 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30,

31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40 нуклеотидов. миНК может содержать меньше чем или ровно 50, 45, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20 или 19 нуклеотидов. Нуклеотиды могут являться модифицированными нуклеотидами. миНК может быть одноцепочечной. миНК может быть двухцепочечной. миНК может содержать (a) смысловую цепь, содержащую 15–30, 15–25, 15–24, 15–23, 15–22, 15–21, 17–30, 17–25, 17–24, 17–23, 17–22, 17–21, 18–30, 18–25, 18–24, 18–23, 18–22, 18–21, 19–30, 19–25, 19–24, 19–23, 19–22, 19–21, 20–25, 20–24, 20–23, 21–25, 21–24 или 21–23 нуклеотидов; и (b) антисмысловую цепь, содержащую 15–30, 15–25, 15–24, 15–23, 15–22, 15–21, 17–30, 17–25, 17–24, 17–23, 17–22, 17–21, 18–30, 18–25, 18–24, 18–23, 18–22, 18–21, 19–30, 19–25, 19–24, 19–23, 19–22, 19–21, 20–25, 20–24, 20–23, 21–25, 21–24 или 21–23 нуклеотидов. миНК может содержать (a) смысловую цепь, содержащую около 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотидов; и (b) антисмысловую цепь, содержащую около 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотидов. миНК может содержать (a) смысловую цепь, содержащую около 19 нуклеотидов; и (b) антисмысловую цепь, содержащую около 21 нуклеотида. миНК может содержать (a) смысловую цепь, содержащую около 21 нуклеотида; и (b) антисмысловую цепь, содержащую около 23 нуклеотида.

[0151] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, раскрытых в данном документе, дополнительно содержит один или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного (PO) линкера, фосфоротиоатного (PS) линкера, фосфородитиоатного линкера и миметика PS-линкера. В некоторых вариантах осуществления миметик PS-линкер представляет собой серосодержащий линкер. В некоторых вариантах осуществления линкеры представляют собой межнуклеозидные линкеры. Альтернативно или дополнительно линкеры соединяют нуклеотид молекулы миНК по меньшей мере с одним блокатором фосфорилирования, конъюгированным фрагментом или 5'-стабилизированным концевым кэпом. В некоторых вариантах осуществления линкеры соединяют конъюгированный фрагмент с блокатором фосфорилирования или 5'-стабилизированным концевым кэпом.

Смысловая цепь миНК

[0152] Любая из описанных в данном документе молекул миНК может содержать смысловую цепь. Смысловая цепь может содержать первую нуклеотидную последовательность. Первая нуклеотидная последовательность может составлять 15–30, 15–25, 15–23, 17–23, 19–23 или 19–21 нуклеотид в длину. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность составляет 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность составляет по меньшей мере 19

нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность составляет по меньшей мере 21 нуклеотид в длину.

[0153] В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь имеет ту же длину, что и первая нуклеотидная последовательность. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь длиннее первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь может дополнительно содержать на 1, 2, 3, 4 или 5 или более нуклеотидов, чем первая нуклеотидная последовательность. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь может дополнительно содержать дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК). В некоторых вариантах осуществления ДНК представляет собой тимин (Т). В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь может дополнительно содержать последовательность ТТ. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь может дополнительно содержать один или более модифицированных нуклеотидов, которые примыкают к первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления один или более модифицированных нуклеотидов независимо выбраны из любых модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе (например, 2'-фторнуклеотид, 2'-*O*-метилнуклеотид, миметик 2'-фторнуклеотида, миметик 2'-*O*-метилнуклеотида или нуклеотид, содержащий модифицированное азотистое основание).

[0154] В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% нуклеотидов в первой нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 100% нуклеотидов в первой нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид представляет собой миметик 2'-*O*-метилнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид представляет собой миметик 2'-фторнуклеотида.

[0155] В некоторых вариантах осуществления между около 15–30, 15–25, 15–24, 15–23, 15–22, 15–21, 17–30, 17–25, 17–24, 17–23, 17–22, 17–21, 18–30, 18–25, 18–24, 18–23, 18–22, 18–21, 19–30, 19–25, 19–24, 19–23, 19–22, 19–21, 20–25, 20–24, 20–23, 21–25, 21–24 или 21–23 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления

между около 2–20 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 5–25 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 10–25 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 12–25 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 12 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 13 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 14 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 15 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 16 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 17 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 18 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 19 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 21 модифицированный нуклеотид первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 20 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной

последовательности представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 19 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 18 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 17 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 16 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 15 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 14 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 13 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-*O*-метилпиримидин. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9 или 10 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилпиримидины. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-*O*-метилпурин. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9 или 10 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилпурины. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид представляет собой миметик 2'-*O*-метилнуклеотида.

[0156] В некоторых вариантах осуществления от 2 до 15 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 10 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 6 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 1–6, 1–5, 1–4 или 1–3 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют

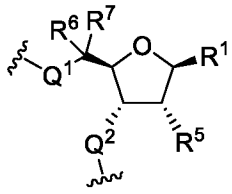
собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1 модифицированный нуклеотид первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 3 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 4 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 6 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или менее модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 10 или менее модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 7 или менее модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 6 или менее модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 5 или менее модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 4 или менее модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 3 или менее модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 2 или менее модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторпиримидин. В некоторых вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторпиримидины. В некоторых

вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторпурин. В некоторых вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторпурины. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид представляет собой миметик 2'-фторнуклеотида.

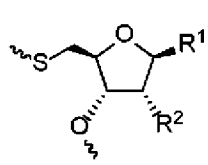
[0157] В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два нуклеотида в положениях 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере три нуклеотида в положениях 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре нуклеотида в положениях 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере пять нуклеотидов в положениях 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды в положениях 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности находятся 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 3 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 7 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 8 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 9 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 12 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид представляет собой миметик 2'-фторнуклеотида.

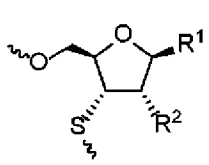
[0158] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положениях 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17, и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два нуклеотида в положениях 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере три нуклеотида в положениях 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды в положениях 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности находятся 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 3 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 5 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 7 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 8 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 9 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 10 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 11 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 12 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 14 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 3, 7, 8, 9, 12 и/или 17 от 5'-конца первой

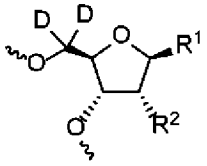
нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 3, 7, 8 и/или 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 3, 7, 8, 9, 12 и/или 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 5, 7, 8 и/или 9 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 5, 9, 10, 11, 12 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид представляет собой миметик 2'-фторнуклеотида.

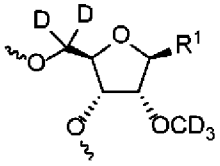
[0159] В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид или 2'-*O*-метилнуклеотид представляет собой миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида представляет собой миметик нуклеотида формулы (V): , где R^1 независимо представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, Q^1 и Q^2 независимо представляют собой S или O, R^5 независимо представляет собой–OCD_3 , –F или –OCH_3, и R^6 и R^7 независимо представляют собой H, D или CD3. В некоторых вариантах осуществления азотистое основание выбрано из цитозина, гуанина, аденина, урацила, арила, гетероарила и их аналога или производного.

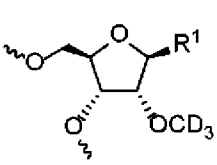
[0160] В некоторых вариантах осуществления миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида представляет собой миметик нуклеотида формулы (16) – формулы (20):


Формула (16)


Формула (17)


Формула (18)


Формула (19)


Формула (20)

, где R^1 независимо представляет собой азотистое основание и R^2 представляет собой F или –OCH_3. В некоторых вариантах осуществления азотистое основание выбрано из цитозина, гуанина, аденина, урацила, арила, гетероарила и их аналога или производного.

[0161] В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит, состоит из или по существу состоит из рибонуклеиновых кислот (РНК). В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит, состоит из или по существу состоит из модифицированных РНК. В некоторых вариантах осуществления модифицированные РНК выбраны из 2'-*O*-метил РНК и 2'-фторРНК. В некоторых вариантах осуществления 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности независимо выбраны из 2'-*O*-метил РНК и 2'-фтор РНК.

[0162] В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь может дополнительно содержать одну или более межнуклеозидных связей, независимо выбранных из фосфодиэфирной (PO) межнуклеозидной связи, фосфоротиоатной (PS) межнуклеозидной связи, фосфородитиоатной межнуклеозидной связи и миметика PS-межнуклеозидной связи. В некоторых вариантах осуществления миметик PS-межнуклеозидной связи представляет собой сульфомежнуклеозидную связь.

[0163] В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь может дополнительно содержать по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 или 3 или менее фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит 2–10, 2–8, 2 –6, 1–5, 1–4, 1–3 или 1–2 фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит 1–2 фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит 2–4 фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь состоит из двух фосфоротиоатных межнуклеозидных связей между нуклеотидами в положениях 1–3 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

[0164] В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе смысловых цепей дополнительно содержит мономер, выбранный из примеров 21–32, 36, 37, 40–42 и 44–46 мономеров. В некоторых вариантах осуществления каждая из раскрытых в данном документе смысловых цепей дополнительно содержит мономер 5'-

концевого кэпа. В некоторых вариантах осуществления мономер 5'-концевого кэпа выбран из примеров 5–11, 33–35, 38, 39, 43 и 49–53 мономеров 5'-концевого кэпа.

[0165] В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе первых нуклеотидных последовательностей дополнительно содержит мономер, выбранный из примеров 21–32, 36, 37, 40–42 и 44–46 мономеров. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе первых нуклеотидных последовательностей дополнительно содержит мономер 5'-концевого кэпа. В некоторых вариантах осуществления мономер 5'-концевого кэпа выбран из примеров 5–11, 33–35, 38, 39, 43 и 49–53 мономеров 5'-концевого кэпа.

Антисмысловая цепь миНК

[0166] Любая из описанных в данном документе молекул миНК может содержать антисмысловую цепь. Антисмысловая цепь может содержать вторую нуклеотидную последовательность. Вторая нуклеотидная последовательность может составлять 15–30, 15–25, 15–23, 17–23, 19–23 или 19–21 нуклеотид в длину. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность составляет 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность составляет по меньшей мере 19 нуклеотидов в длину. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность составляет по меньшей мере 21 нуклеотид в длину.

[0167] В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь имеет ту же длину, что и вторая нуклеотидная последовательность. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь длиннее второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь может дополнительно содержать на 1, 2, 3, 4 или 5 или более нуклеотидов, чем вторая нуклеотидная последовательность. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь длиннее второй последовательности нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь длиннее смысловой цепи В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь может дополнительно содержать на 1, 2, 3, 4 или 5 или более нуклеотидов, чем смысловая цепь. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь может дополнительно содержать дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК). В некоторых вариантах осуществления ДНК представляет собой тимин (Т). В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь может дополнительно содержать последовательность ТТ. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь может дополнительно содержать один или более модифицированных нуклеотидов, которые примыкают ко второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления один

или более модифицированных нуклеотидов независимо выбраны из любых модифицированных нуклеотидов, раскрытых в данном документе (например, 2'-фторнуклеотид, 2'-*O*-метилнуклеотид, миметик 2'-фторнуклеотида, миметик 2'-*O*-метилнуклеотида или нуклеотид, содержащий модифицированное азотистое основание).

[0168] В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% нуклеотидов во второй нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 100% нуклеотидов во второй нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида.

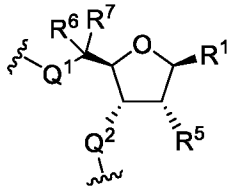
[0169] В некоторых вариантах осуществления между около 15–30, 15–25, 15–24, 15–23, 15–22, 15–21, 17–30, 17–25, 17–24, 17–23, 17–22, 17–21, 18–30, 18–25, 18–24, 18–23, 18–22, 18–21, 19–30, 19–25, 19–24, 19–23, 19–22, 19–21, 20–25, 20–24, 20–23, 21–25, 21–24 или 21–23 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 2–20 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 5–25 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 10–25 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления между около 12–25 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 12 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 13 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 14 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В

некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 15 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 16 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 17 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 18 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере около 19 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере или ровно 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 21 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 20 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 19 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 18 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 17 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 16 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 15 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 14 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления меньше чем или ровно 13 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид второй

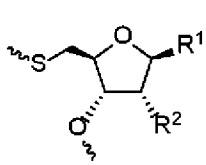
нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-*O*-метилпиримидин. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9 или 10 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилпиримидины. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-*O*-метилпурин. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9 или 10 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилпурины. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид представляет собой миметик 2'-*O*-метилнуклеотида.

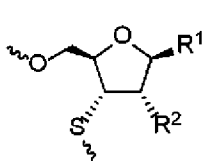
[0170] В некоторых вариантах осуществления от 2 до 15 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 10 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления от 2 до 6 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 1–6, 1–5, 1–4 или 1–3 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1 модифицированный нуклеотид второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 2 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 3 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 4 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 5 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или менее модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 10 или менее модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 7 или менее модифицированных нуклеотидов второй

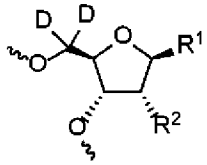
нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 6 или менее модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 5 или менее модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 4 или менее модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 3 или менее модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления 2 или менее модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторпиримидин. В некоторых вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторпиримидины. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторпурин. В некоторых вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторпурины. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид представляет собой миметик 2'-фторнуклеотида.

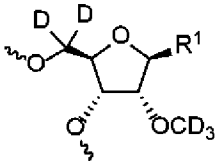
[0171] В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид или 2'-*O*-метилнуклеотид представляет собой миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида представляет собой миметик нуклеотида формулы (V): , где R^1 независимо представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, Q^1 и Q^2 независимо представляют собой S или O, R^5 независимо представляет собой–OCD_3 , –F или –OCH_3, и R^6 и R^7 независимо представляют собой H, D или CD3. В некоторых вариантах осуществления азотистое основание выбрано из цитозина, гуанина, аденина, урацила, арила, гетероарила и их аналога или производного.

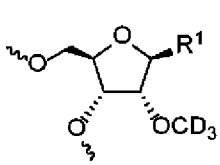
[0172] В некоторых вариантах осуществления миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида представляет собой миметик нуклеотида формулы (16) – формулы (20):


Формула (16)


Формула (17)


Формула (18)


Формула (19)


Формула (20)

, где R^1 представляет собой азотистое основание и R^2 независимо представляет собой F или $–OCH_3$. В некоторых вариантах осуществления азотистое основание выбрано из цитозина, гуанина, аденина, урацила, арила, гетероарила и их аналога или производного.

[0173] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или 9 нуклеотидов в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два нуклеотида в положениях 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17, и/или 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере три нуклеотида в положениях 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17, и/или 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере четыре нуклеотида в положениях 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17, и/или 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере пять нуклеотидов в положениях 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17, и/или 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды в положениях 2 и/или 14 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды в положениях 2, 6 и/или 16 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды в положениях 2, 6, 14 и/или 16 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды в положениях 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды в положениях 2, 5, 8, 14 и/или 17 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 2 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 5 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 6 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 8 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 10 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 14 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 16 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 17 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид в положении 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

[0174] В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, причем 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды, и при этом паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается по меньшей мере 2 раза. В некоторых вариантах осуществления паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:3 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления где по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 6 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 10 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления

по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 18 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

[0175] В некоторых вариантах осуществления нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:2, причем 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 2 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды, и при этом паттерн модификации с чередованием 1:2 встречается по меньшей мере 2 раза. В некоторых вариантах осуществления паттерн модификации с чередованием 1:2 встречается 2–5 раз. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются последовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются непоследовательно. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:2 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 5, 8, 14 и/или 17 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 5 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 8 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 17 от 5’-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 2’-фторнуклеотид представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

[0176] В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит, состоит из или по существу состоит из рибонуклеиновых кислот (РНК). В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит, состоит из или по существу состоит из модифицированных РНК. В некоторых вариантах осуществления модифицированные РНК выбраны из 2’-*O*-метил РНК и 2’-фторРНК. В некоторых вариантах осуществления 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности

независимо выбраны из 2'-*O*-метил РНК и 2'-фтор РНК. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид представляет собой миметик 2'-фторнуклеотида.

[0177] В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь может дополнительно содержать одну или более межнуклеозидных связей, независимо выбранных из фосфодиэфирной (PO) межнуклеозидной связи, фосфоротиоатной (PS) межнуклеозидной связи, фосфородитиоатной межнуклеозидной связи и миметика PS-межнуклеозидной связи. В некоторых вариантах осуществления миметик PS-межнуклеозидной связи представляет собой сульфомежнуклеозидную связь.

[0178] В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь может дополнительно содержать по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 или 3 или менее фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит 2–10, 2–8, 2 –6, 1–5, 1–4, 1–3 или 1–2 фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит 2–10, 2–8, 2 –6, 1–5, 1–4, 1–3 или 1–2 фосфоротиоатных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит 2–8 фосфоротиоатнных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит 3–8 фосфоротиоатнных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит 4–8 фосфоротиоатнных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 3'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 3'-конца второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь состоит из двух фосфоротиоатных межнуклеозидных связей между нуклеотидами в положениях 1–3 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь состоит из двух фосфоротиоатных межнуклеозидных связей между нуклеотидами в положениях 1–3 от 3'-

конца первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществленияантисмысловая цепь содержит (a) две межнуклеозидные связи фосфоротиоатного ряда между нуклеотидами в положениях 1–3 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и (b) две фосфоротиоатные межнуклеозидные связи между нуклеотидами в положениях 1–3 от 3’-конца первой нуклеотидной последовательности.

[0179] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один конец дц-миНК является тупым концом. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один конец дц-миНК содержит выступ, причем выступ содержит по меньшей мере один нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления оба конца дц-миНК содержат выступ, причем выступ содержит по меньшей мере один нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления выступ содержит 1–5 нуклеотидов, 1–4 нуклеотидов, 1–3 нуклеотидов или 1–2 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления выступ состоит из 1–2 нуклеотидов.

[0180] В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539.

[0181] В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей дополнительно содержит мономер, выбранный из примеров 21–32, 36, 37, 40–42 и 44–46 мономеров. В некоторых вариантах осуществления каждая из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей дополнительно содержит мономер 5’-концевого кэпа. В некоторых вариантах осуществления мономер 5’-концевого кэпа выбран из примеров 5–11, 33–35, 38, 39, 43 и 49–53 мономеров 5’-концевого кэпа.

[0182] В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе вторых нуклеотидных последовательностей дополнительно содержит мономер, выбранный из примеров 21–32, 36, 37, 40–42 и 44–46 мономеров. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе вторых нуклеотидных последовательностей дополнительно содержит мономер 5’-концевого кэпа. В некоторых вариантах осуществления мономер 5’-концевого кэпа выбран из примеров 5–11, 33–35, 38, 39, 43 и 49–53 мономеров 5’-концевого кэпа.

Модифицированные нуклеотиды

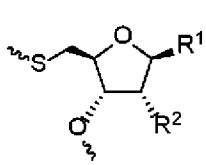
[0183] Кроме того, в данном документе раскрыты молекулы миНК, содержащие один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе миНК содержит один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе смысловых цепей содержит один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе первых нуклеотидных последовательностей содержит один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей содержит один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе вторых нуклеотидных последовательностей содержит один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления один или более модифицированных нуклеотидов находятся рядом с первой нуклеотидной последовательностью. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид примыкает к 5'-концу первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид примыкает к 3'-концу первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид примыкает к 5'-концу первой нуклеотидной последовательности и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид примыкает к 3'-концу первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления один или более модифицированных нуклеотидов находятся рядом с второй нуклеотидной последовательностью. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид примыкает к 5'-концу второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид примыкает к 3'-концу второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один модифицированный нуклеотид примыкает к 5'-концу второй нуклеотидной последовательности и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид примыкает к 3'-концу второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в любой из смысловых цепей или первых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, заменен модифицированным нуклеотидом. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в любой из антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных

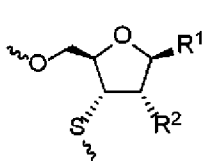
последовательностей, раскрытых в данном документе, заменен модифицированным нуклеотидом.

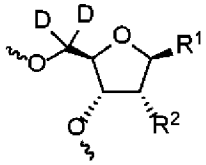
[0184] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, миНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей и вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 86%, 87%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% нуклеотидов в молекуле миНК, миНК, смысловой цепи, первой последовательности нуклеотидов, антисмысловой цепи или второй последовательности нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды.

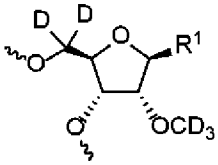
[0185] В некоторых вариантах осуществления модифицированный нуклеотид выбран из группы, состоящей из 2'-фторнуклеотида 2'-*O*-метилнуклеотида, миметика 2'-фторнуклеотида, миметика 2'-*O*-метилнуклеотида, закрытой нуклеиновой кислоты и нуклеотида, содержащего модифицированное азотистое основание.

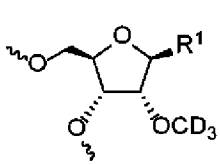
[0186] В некоторых вариантах осуществления любая из миНК, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более миметиков 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления любая из смысловых цепей, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более миметиков 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе первых нуклеотидных последовательностей содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более миметиков 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе антисмысловых цепей содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более миметиков 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе вторых нуклеотидных последовательностей содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более миметиков 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида представляет собой миметик нуклеотида формулы (16) – формулы (20):


Формула (16)


Формула (17)

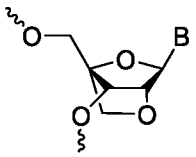
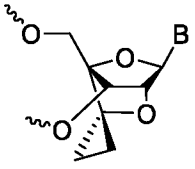
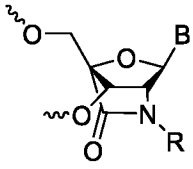
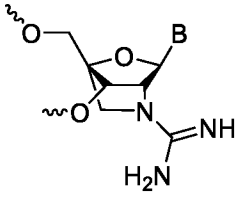
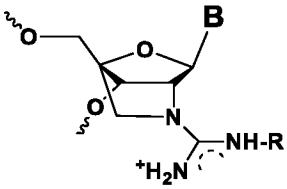

Формула (18)

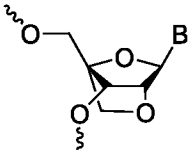

Формула (19)

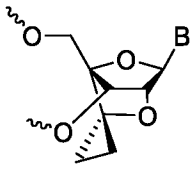
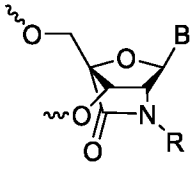
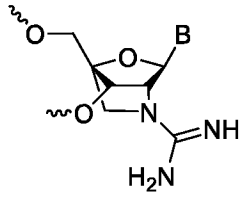
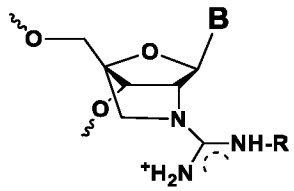

Формула (20)

, где R^1 представляет собой азотистое основание и R^2 независимо представляет собой F или $–OCH_3$. В некоторых вариантах осуществления азотистое основание выбрано из цитозина, гуанина, аденина, урацила, арила, гетероарила и их аналога или производного. В некоторых вариантах осуществления раскрытые в данном документе молекулы миНК содержат по меньшей мере один 2'-фторнуклеотид, по меньшей мере один 2'-*O*-метилнуклеотид и по меньшей мере один миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида примыкает к первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида примыкает к 5'-концу первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида примыкает к 3'-концу первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида примыкает ко второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида примыкает к 5'-концу второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один миметик 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида примыкает к 3'-концу второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность не содержит миметика 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность не содержит миметика 2'-*O*-метилнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность не содержит миметика 2'-фторнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность не содержит миметика 2'-*O*-метилнуклеотида

[0187] В некоторых вариантах осуществления любая из миРНК, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более заблокированных нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления любая из смысловых цепей, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более заблокированных нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе первых нуклеотидных

последовательностей содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более заблокированных нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления любая из антисмысловых цепей, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более заблокированных нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе вторых нуклеотидных последовательностей содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более заблокированных нуклеиновых кислот. В некоторых вариантах осуществления любая из заблокированных нуклеиновых кислот выбрана из  (LNA),  (ScpBNA или «cp»);  (AmNA), где R представляет собой H или алкил (или AmNA(N-Me)) где R представляет собой алкил);  (GuNA); и 

, где B представляет собой азотистое основание. В некоторых вариантах осуществления любая из миРНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере модифицированный нуклеотид, который представляет собой  (LNA). В некоторых вариантах осуществления любая из миРНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере

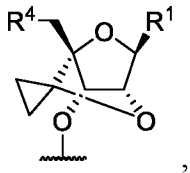
модифицированный нуклеотид, который представляет собой  (ScpBNA или «ср»). В некоторых вариантах осуществления любая из миРНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере модифицированный нуклеотид, который представляет собой  (AmNA), где R представляет собой H или алкил (или AmNA(N-Me)), когда R представляет собой алкил). В некоторых вариантах осуществления любая из миРНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере модифицированный нуклеотид, который представляет собой  (GuNA). В некоторых вариантах осуществления любая из миРНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит по меньшей мере модифицированный нуклеотид, который представляет собой 

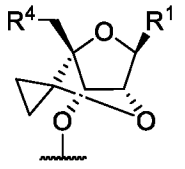
GuNA(N-R), R = Me, Et, iPr, tBu, где B представляет собой азотистое основание.

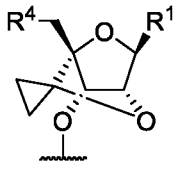
Блокатор фосфорилирования

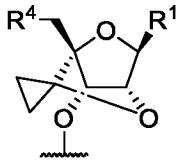
[0188] Кроме того, в данно документе раскрыты молекулы миНК, содержащие блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в любой из смысловых цепей или первых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, заменен нуклеотидом, содержащим блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в любой из антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, заменен нуклеотидом, содержащим

блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в любой из смысловых цепей или первых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, дополнительно модифицирован, чтобы содержать блокатор фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления 2'-*O*-метилнуклеотид в любой из антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, дополнительно модифицирован, чтобы содержать блокатор фосфорилирования.

[0189] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, раскрытых в данном документе, содержит блокатор фосфорилирования формулы (IV): , где R^1 представляет собой азотистое основание, R^4 представляет собой $–O-R^{30}$ или $–NR^{31}R^{32}$, R^{30} представляет собой C_1-C_8 замещенный или незамещенный алкил; и R^{31} и R^{32} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо.

[0190] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, раскрытых в данном документе, содержит блокатор фосфорилирования формулы (IV):  Формула (IV), где R^1 представляет собой азотистое основание, и R^4 представляет собой $–OCH_3$ или $–N(CH_2CH_2)_2O$.

[0191] В некоторых вариантах осуществления молекула миНК содержит (a) блокатор фосфорилирования формулы (IV): , где R^1 представляет собой азотистое основание, R^4 представляет собой $–O-R^{30}$ или $–NR^{31}R^{32}$, R^{30} представляет собой C_1-C_8 замещенный или незамещенный алкил; и R^{31} и R^{32} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК), причем блокатор фосфорилирования конъюгирован с миНК.

[0192] В некоторых вариантах осуществления молекула миНК содержит (a) блокатор фосфорилирования формулы (IV):  Формула (IV), где R^1 представляет собой азотистое основание, и R^4 представляет собой $–OCH_3$ или $–N(CH_2CH_2)_2O$; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК), причем блокатор фосфорилирования конъюгирован с миНК.

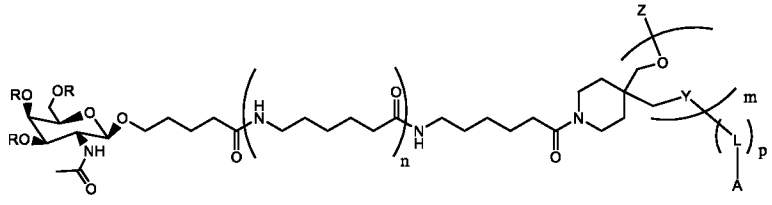
[0193] В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 3'-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 3'-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 5'-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 5'-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 3'-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 3'-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления один или более линкеров независимо выбраны из группы, состоящей из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

Конъюгированный фрагмент

[0194] Кроме того, в данно документе раскрыты молекулы миНК, содержащие конъюгированный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент выбран из галактозамина, пептидов, белков, стеролов, липидов, фосфолипидов, биотина, феноксазинов, активного лекарственного вещества, холестерина, фенантридина, антрахинона, акридина, флуоресцеинов, родаминов, кумаринов и красителей. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент присоединен к 3'-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах

осуществления конъюгированный фрагмент присоединен к 3’-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент присоединен к 5’-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент присоединен к 5’-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления один или более линкеров независимо выбраны из группы, состоящей из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

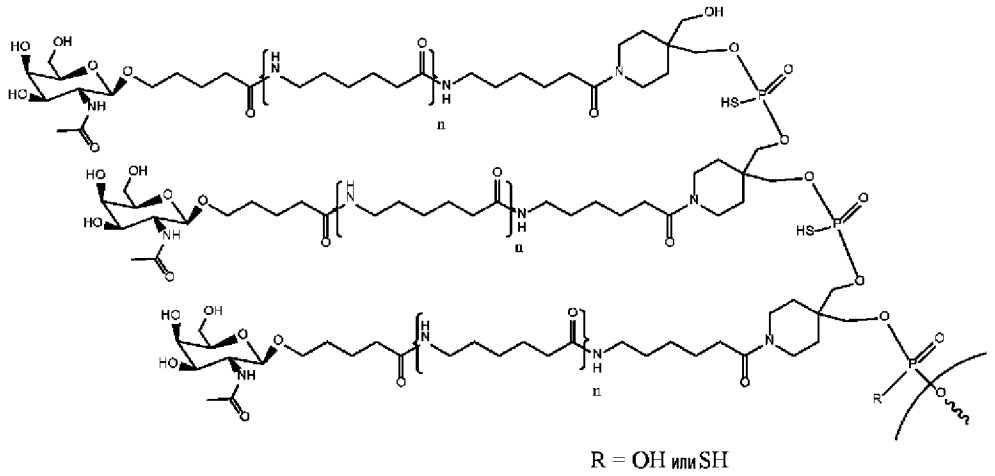
[0195] В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент представляет собой галактозамин. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе миНК присоединена к конъюгированному фрагменту, который представляет собой галактозамин. В некоторых вариантах осуществления галактозамин представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc). В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, раскрытых в данном документе, содержит GalNAc. В некоторых вариантах осуществления GalNAc имеет формулу (VI):



, где m рано 1, 2, 3, 4 или 5; каждое n независимо равно 1 или 2; p равно 0 или 1; каждый R независимо представляет собой H или первую защитную группу; каждый Y независимо выбран из –O-P(=O)(SH) –, –O-P(=O)(O) –, –O-P(=O)(OH) –, –O-P(S)S– и –O–; Z представляет собой H или вторую защитную группу; либо L представляет собой линкер, либо L и Y в комбинации представляют собой линкер; и A представляет собой H, OH, третью защитную группу, активированную группу или олигонуклеотид. В некоторых вариантах реализации первая

защитная группа представляет собой ацетил. В некоторых вариантах осуществления вторая защитная группа представляет собой триметокситритил (ТМТ). В некоторых вариантах осуществления активированная группа представляет собой фосфорамидитную группу. В некоторых вариантах осуществления фосфорамидитная группа представляет собой цианоэтокси-*N,N*-диизопропилфосфорамидитную группу. В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой группу C6-NH_2. В некоторых вариантах осуществления A представляет собой малую интерферирующую нуклеиновую кислоту(миНК) или молекулу миНК. В некоторых вариантах осуществления m равно 3. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой H, Z представляет собой H, и n равно 1. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой H, Z представляет собой H, и n равно 2.

[0196] В некоторых вариантах осуществления GalNAc имеет формулу (VII):



, ,

где каждое n независимо равно 1 или 2.

[0197] В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 3'-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 3'-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 5'-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 5'-концу смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 3'-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 3'-концу антисмысловой цепи или

второй нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления галактозамин присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления один или более линкеров независимо выбраны из группы, состоящей из фосфодиэфирного (p или po) линкера, фосфоротиоатного (ps) линкера, фосфорамидитного (HEG) линкера, триэтиленгликолевого (TEG) линкера и/или фосфородитиоатного линкера. В некоторых вариантах осуществления один или более линкеров независимо выбраны из группы, состоящей из p-(PS)2, (PS)2-p-TEG-p, (PS)2-p-HEG-p и (PS)2-p-(HEG-p)2.

[0198] В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент представляет собой фрагмент липида. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе миНК присоединена к конъюгированному фрагменту, который представляет собой фрагмент липида. Примеры липидных фрагментов включают, но не ограничиваются ими, холестериновый фрагмент, тиоэфир, например, гексил-S-тритилтиол, тиохолестерин, алифатическую цепь, например, додекандиол или ундецильные остатки фосфолипида, например, ди-гексадецил-рац-глицерин или триэтиламмония 1-ди-O-гексадецил-рац-глицеро-S-H-фосфонат, цепь полиамина или полиэтиленгликоля, адамантануксусную кислоту, пальмитильный фрагмент или октадециламин или гексиламинокарбонил-оксихолестериновый фрагмент.

[0199] В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент представляет собой активное лекарственное вещество. В некоторых вариантах осуществления любая из раскрытых в данном документе миНК присоединена к конъюгированному фрагменту, который представляет собой активное лекарственное вещество. Примеры активных лекарственных веществ включают, но не ограничиваются ими, аспирин, варфарин, фенилбутазон, ибупрофен, супрофен, фенбуфен, кетопрофен, (5)-(+)-пранопрофен, карпрофен, дансилсаркозин, 2,3,5-трииодобензойную кислоту, флуфенамовую кислоту, фолиновую кислоту, бензотиадиазид, хлоротиазид, диазепин, индометицин, барбитураты, цефалоспорины, сульфаниламидные препараты, противодиабетические, антибактериальные средства или антибиотики.

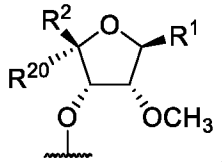
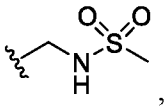
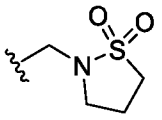
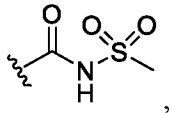
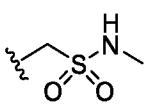
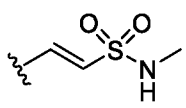
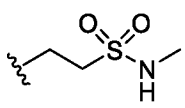
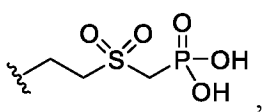
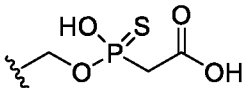
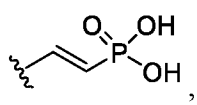
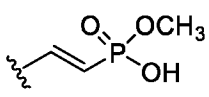
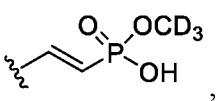
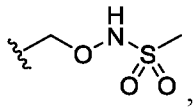
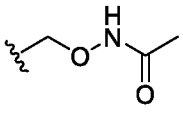
5'-Стабилизированный концевой кэп

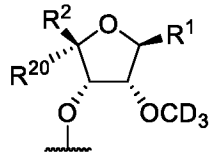
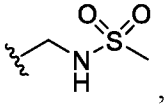
[0200] Кроме того, в данном документе раскрыты молекулы миНК, содержащие 5'-стабилизированный концевой кэп. Используемые в данном документе термины «5'-стабилизированный концевой кэп» и «5'-концевой кэп» используются взаимозаменяемо.

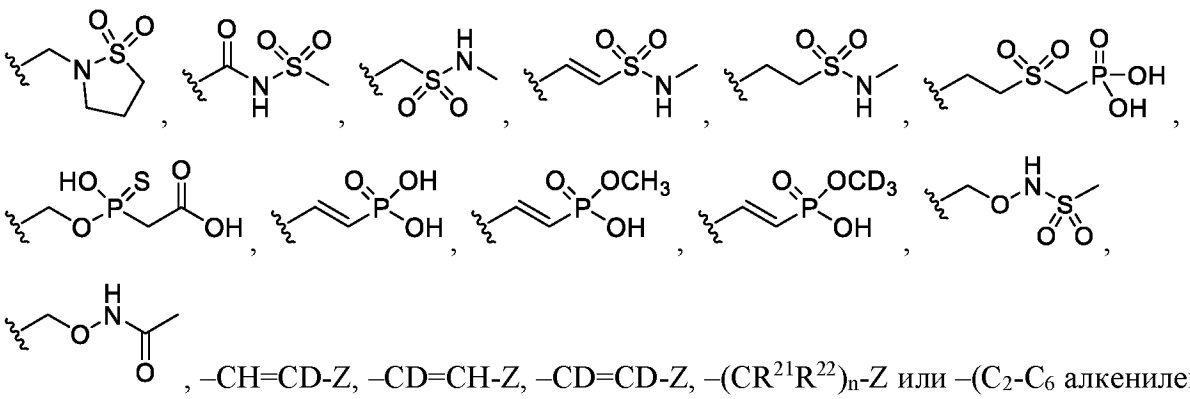
В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в любой из смысловых цепей или первых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, заменен нуклеотидом, содержащим 5’-стабилизированный концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в любой из антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, заменен нуклеотидом, содержащим 5’-стабилизированный концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в любой из смысловых цепей или первых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, дополнительно модифицирован, чтобы содержать 5’-стабилизированный концевой кэп. В некоторых вариантах осуществления 2’-*O*-метилнуклеотид в любой из антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, дополнительно модифицирован, чтобы содержать 5’-стабилизированный концевой кэп.

[0201] В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп представляет собой миметик 5’-фосфата. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп представляет собой модифицированный миметик 5’-фосфата. В некоторых вариантах осуществления модифицированный 5’-фосфат представляет собой химически модифицированный 5’-фосфат. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп представляет собой 5’-винилфосфонат. В некоторых вариантах осуществления 5’-винилфосфонат представляет собой 5’-(*E*)-винилфосфонат или 5’-(*Z*)-винилфосфонат. В некоторых вариантах осуществления 5’-винилфосфонат представляет собой дейтерированный винилфосфонат. В некоторых вариантах осуществления дейтерированный винилфосфонат представляет собой монодейтерированный винилфосфонат. В некоторых вариантах осуществления дейтерированный винилфосфонат представляет собой дидейтерированный винилфосфонат. В некоторых вариантах осуществления 5’-стабилизированный концевой кэп представляет собой миметик фосфата. Примеры миметиков фосфатов раскрыты в Parmar *et al*., 2018, *J Med Chem,* 61(3):734–744, международных публикациях № WO2018/045317 и WO2018/044350, и патенте США 10 087 210, каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

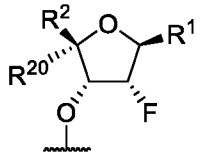
[0202] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит 5’-

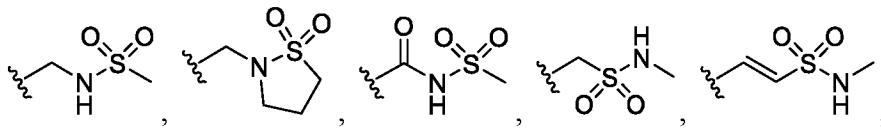
стабилизированный концевой кэп формулы (Ia): , где R^1 представляет собой H, азотистое основание, арил или гетероарил; R^2 представляет собой , , , , , , , , , , , , , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, $–(CR^{21}R^{22})_n-Z$ или $–(C_2-C_6$ алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой H; или R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное $–(CR^{21}R^{22})_n-Z$ или $–(C_2-C_6$ алкенилен)-Z; n равно 1, 2, 3 или 4; Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–P(O)(OH)_2$, -P(O)(OH)(OCH_3), -P(O)(OH)(OCD_3), $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$, $–NR^{23}SO_2R^{24}$; как R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу; R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и m равно 1, 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

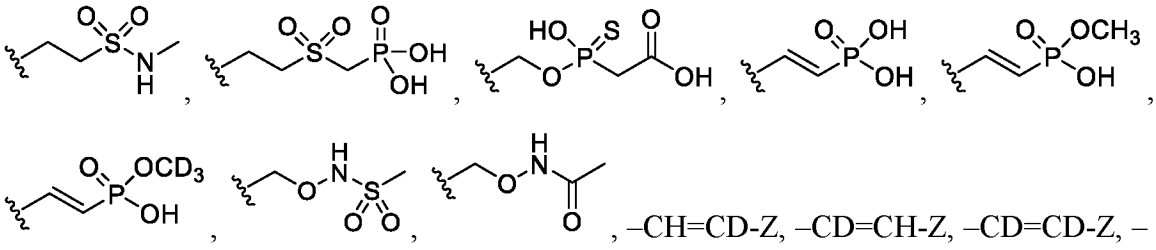
[0203] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит 5’-стабилизированный концевой кэп формулы (Ib): , где R^1 представляет собой H, азотистое основание, арил или гетероарил; R^2 представляет собой ,



, –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –($CR^{21}R^{22}$)$_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой H; или R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –($CR^{21}R^{22}$)$_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z; n равно 1, 2, 3 или 4; Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$, $–NR^{23}SO_2R^{24}$; как R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу; R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и m равно 1, 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

[0204] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (Ic): , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой 

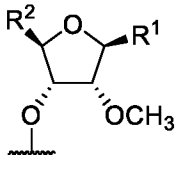
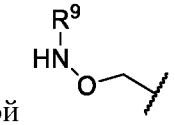
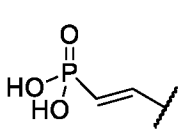
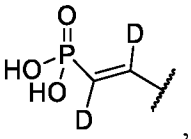
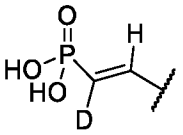
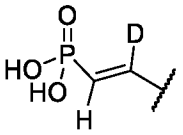
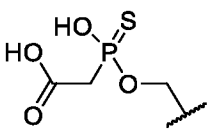
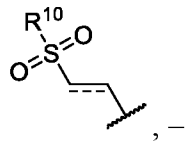
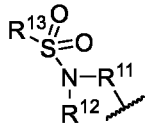


, –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –($CR^{21}R^{22}$)$_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или R^2 и R^{20}

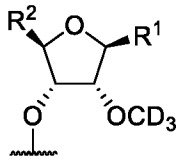
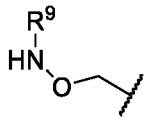
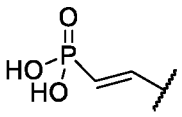
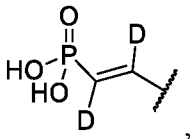
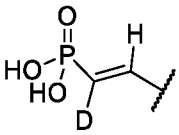
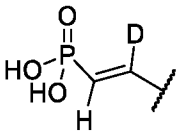
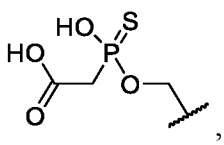
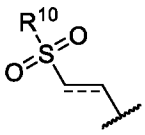
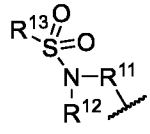
вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное $–(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z; n равно 1, 2, 3 или 4;

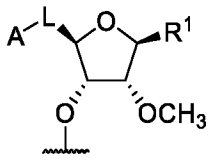
Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$ или $–NR^{23}SO_2R^{24}$; R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу; R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и m равно 1, 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

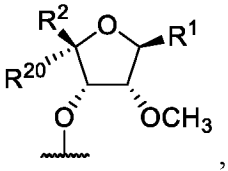
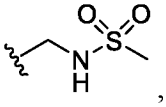
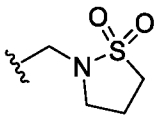
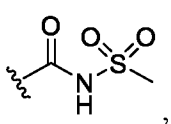
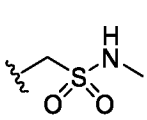
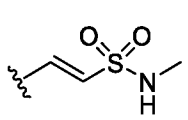
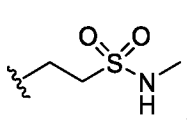
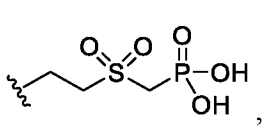
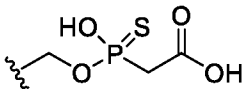
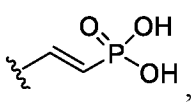
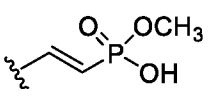
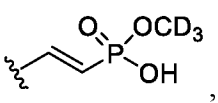
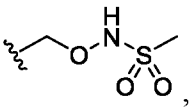
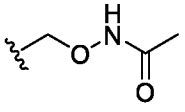
[0205] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит 5’-стабилизированный концевой кэп формулы (IIa): , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, R^2 представляет собой , , , , , , , –$CH_2SO_2NHCH_3$ или , R^9 представляет собой $–SO_2CH_3$ или $–COCH_3$, представляет собой двойную или одинарную связь, R^{10} = $–CH_2PO_3H$ или $–NHCH_3$, R^{11} представляет собой $–CH_2–$ или –CO–, и R^{12} представляет собой H и R^{13} представляет собой CH_3 или R^{12} и R^{13} вместе образуют $–CH_2CH_2CH_2–$. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

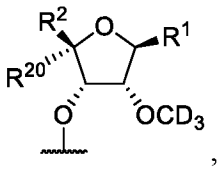
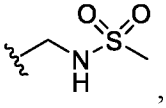
[0206] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит 5’-

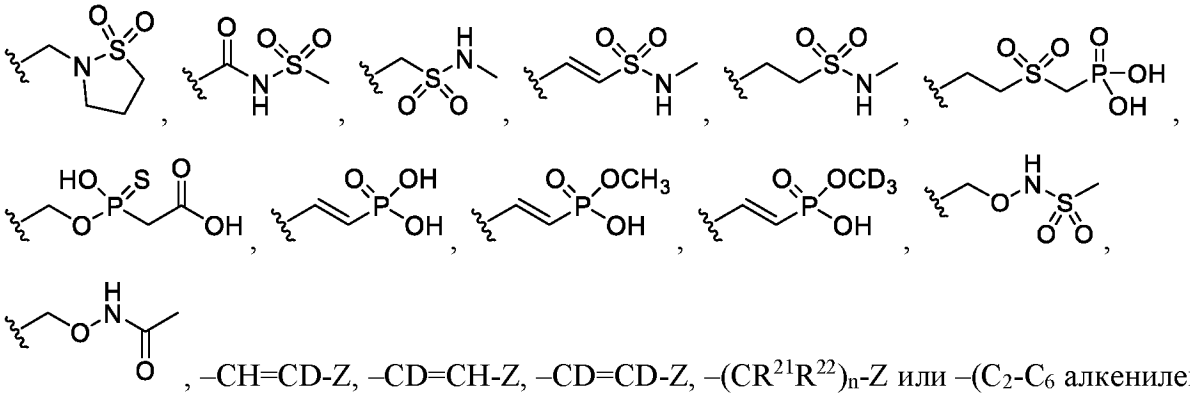
стабилизированный концевой кэп формулы (IIb): , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, R^2 представляет собой , , , , , , , –$CH_2SO_2NHCH_3$ или , R^9 представляет собой $–SO_2CH_3$ или $–COCH_3$, представляет собой двойную или одинарную связь, R^{10} = $–CH_2PO_3H$ или $–NHCH_3$, R^{11} представляет собой $–CH_2–$ или –CO–, и R^{12} представляет собой H и R^{13} представляет собой CH_3 или R^{12} и R^{13} вместе образуют $–CH_2CH_2CH_2–$. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

[0207] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (III): , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, L представляет собой $–CH_2–$, –CH=CH–, –CO– или $–CH_2CH_2–$, и A представляет собой $–ONHCOCH_3$, $–ONHSO_2CH_3$, $–PO_3H$, $–OP(SOH)CH_2CO_2H$, $–SO_2CH_2PO_3H$, $–SO_2NHCH_3$, $–NHSO_2CH_3$ или $–N(SO_2CH_2CH_2CH_2)$. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

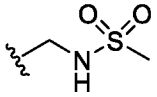
[0208] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит 5'-стабилизированный концевой кэп, выбранный из мономеров 5'-концевого кэпа из примеров 5–11, 33–35, 38, 39, 43 и 49– 53.

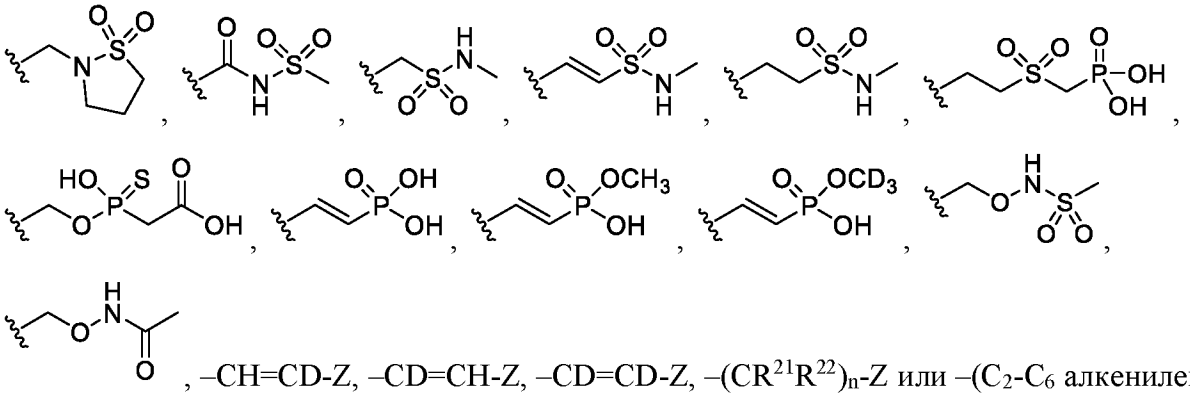
[0209] Кроме того, в данном документе раскрыты молекулы миНК, содержащие (a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (Ia): , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H; R^2 представляет собой , , , , , , , , , , , , , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, $–(CR^{21}R^{22})_n$-Z или $–(C_2$-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой H; или R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное $–(CR^{21}R^{22})_n$-Z или – (C_2-C_6 алкенилен)-Z; n равно 1, 2, 3 или 4; Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$, $–NR^{23}SO_2R^{24}$; как R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу; R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и m равно 1, 2, 3 или 4; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК), причем 5'-стабилизированный концевой кэп конъюгирован с миНК. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

[0210] Кроме того, в данном документе раскрыты молекулы миНК, содержащие (a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (Ib): , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H; R^2 представляет собой ,



, –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –($CR^{21}R^{22}$)$_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой H; или R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –($CR^{21}R^{22}$)$_n$-Z или – (C_2-C_6 алкенилен)-Z; n равно 1, 2, 3 или 4; Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, -P(O)(OH)(OCH_3), -P(O)(OH)(OCD_3), $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$, $–NR^{23}SO_2R^{24}$; как R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу; R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и m равно 1, 2, 3 или 4; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК), причем 5'-стабилизированный концевой кэп конъюгирован с миНК. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

[0211] Кроме того, в данном документе раскрыты молекулы миНК, содержащие (a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (Ic): , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, R^2 представляет собой ,

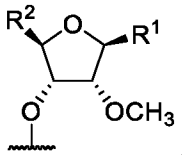
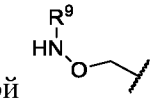
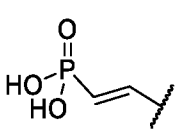
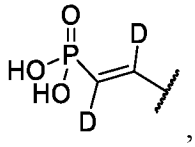
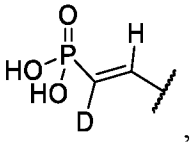
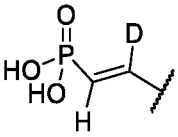
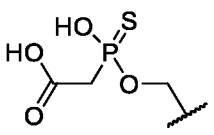
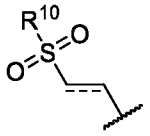
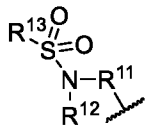


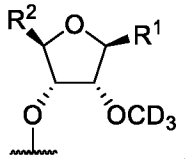
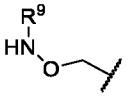
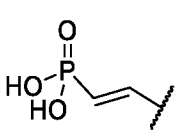
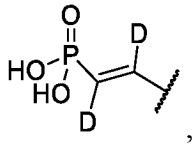
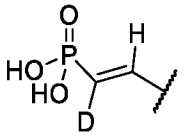
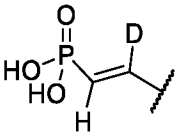
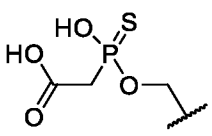
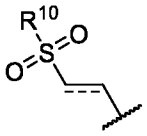
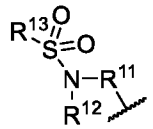
, –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –($CR^{21}R^{22}$)$_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-

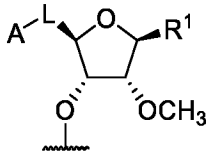
Z и R^{20} представляет собой водород; или R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное $–(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z; n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$ или $–NR^{23}SO_2R^{24}$; R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу; R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или

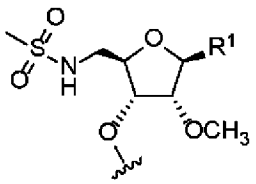
R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и m равно 1, 2, 3 или 4; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК), причем 5'-стабилизированный концевой кэп конъюгирован с миНК. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

[0212] В некоторых вариантах осуществления молекула миНК содержит (a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (IIa): , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, R^2 представляет собой , , , , , , , –$CH_2SO_2NHCH_3$, или , R^9 представляет собой $–SO_2CH_3$ или $–COCH_3$, где представляет собой двойную или одинарную связь, R^{10} = $–CH_2PO_3H$ или $–NHCH_3$, R^{11} представляет собой $–CH_2–$ или –CO–, и R^{12} представляет собой H и R^{13} представляет собой CH_3 или R^{12} и R^{13} вместе образуют $–CH_2CH_2CH_2–$; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК), причем 5'-стабилизированный концевой кэп конъюгирован с миНК. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

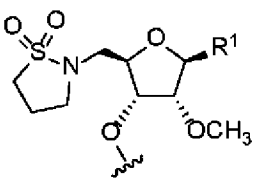
[0213] В некоторых вариантах осуществления молекула миНК содержит (a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (IIb):  , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, R^2 представляет собой  ,  ,  ,  ,  ,  ,  , –$CH_2SO_2NHCH_3$, или  , R^9 представляет собой $–SO_2CH_3$ или $–COCH_3$, где представляет собой двойную или одинарную связь, R^{10} = $–CH_2PO_3H$ или $–NHCH_3$, R^{11} представляет собой $–CH_2–$ или –CO–, и R^{12} представляет собой H и R^{13} представляет собой CH_3 или R^{12} и R^{13} вместе образуют $–CH_2CH_2CH_2–$; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК), причем 5'-стабилизированный концевой кэп конъюгирован с миНК. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

[0214] В некоторых вариантах осуществления молекула миНК содержит (a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (III):  , где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, L представляет собой $–CH_2–$, –CH=CH–, –CO– или $–CH_2CH_2–$, и A представляет собой $–ONHCOCH_3$, $–ONHSO_2CH_3$, $–PO_3H$, $–OP(SOH)CH_2CO_2H$, $–SO_2CH_2PO_3H$, $–SO_2NHCH_3$, $–NHSO_2CH_3$ или $–N(SO_2CH_2CH_2CH_2)$; и (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК), причем 5'-стабилизированный концевой кэп конъюгирован с миНК. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

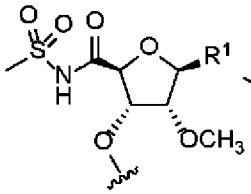
[0215] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, раскрытых в данном документе, содержит 5'-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формулы (1)–формулы (15), формулы (9X)–формулы (12X) и формулы (9Y)–формулы (12Y):



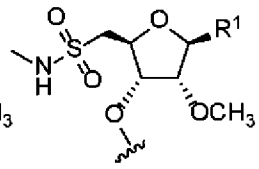
Формула (1)



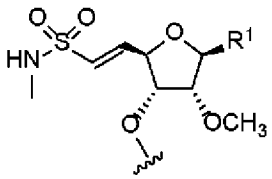
Формула (2)



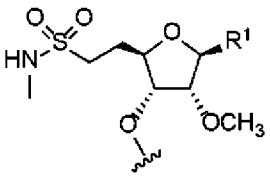
Формула (3)



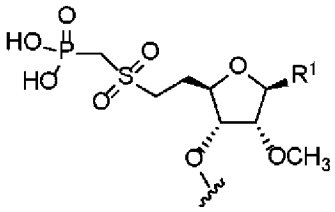
Формула (4)



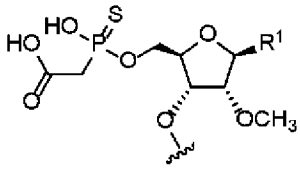
Формула (5)



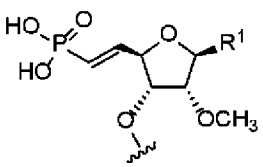
Формула (6)



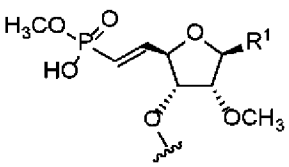
Формула (7)



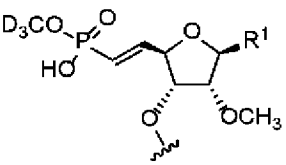
Формула (8)



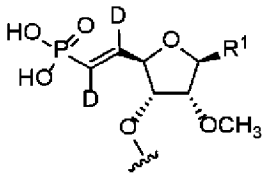
Формула (9)



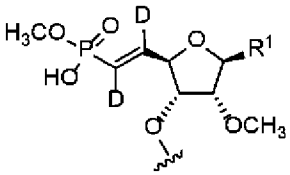
Формула (9X)



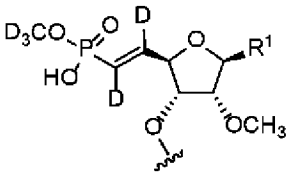
Формула (9Y)



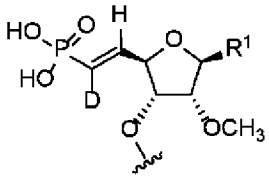
Формула (10)



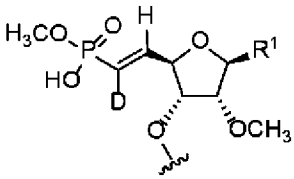
Формула (10X)



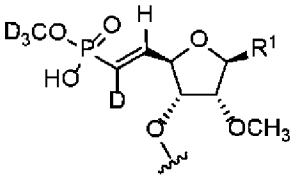
Формула (10Y)



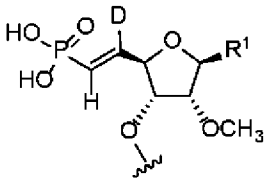
Формула (11)



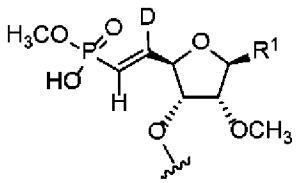
Формула (11X)



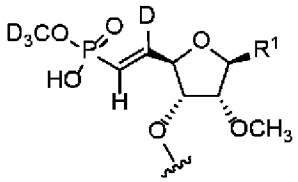
Формула (11Y)



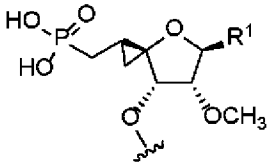
Формула (12)



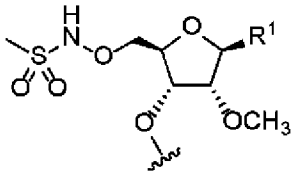
Формула (12X)



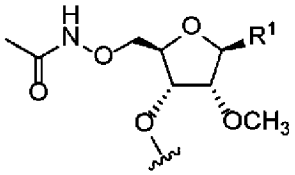
Формула (12Y)



Формула (13)



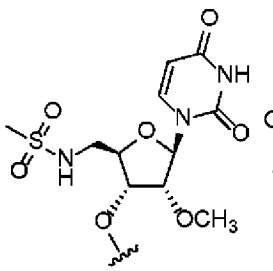
Формула (14)



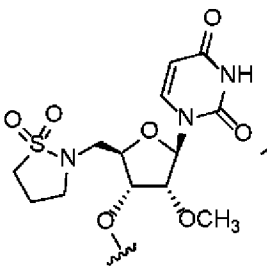
Формула (15)

, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

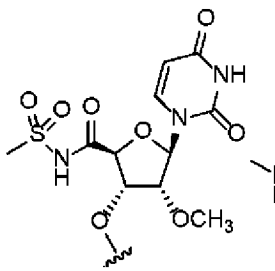
[0216] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, раскрытых в данном документе, содержит 5'-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формул (1A)–(15A), формул (9B)–(12B), формул (9AX)–(12AX), формул (9AY)–(12AY), формул (9BX)–(12BX) и формул (9BY)–(12BY):



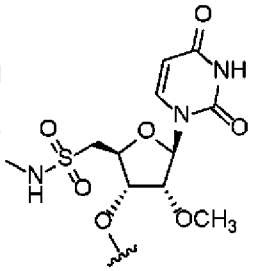
Формула (1A)



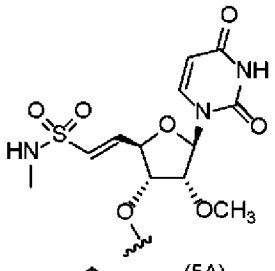
Формула (2A)



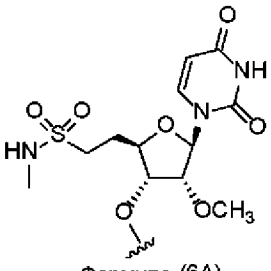
Формула (3A)



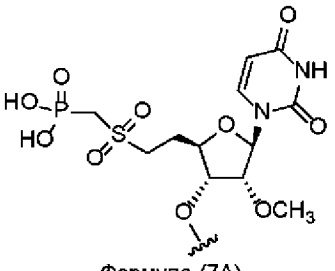
Формула (4A)



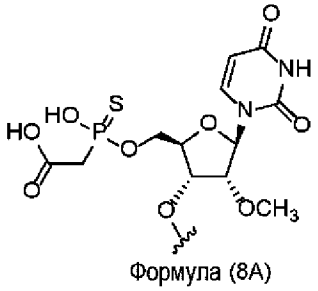
Формула (5A)



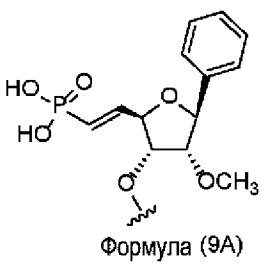
Формула (6A)



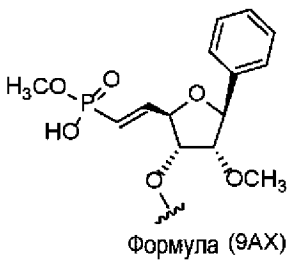
Формула (7A)



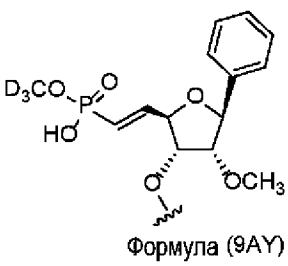
Формула (8A)



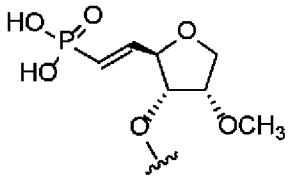
Формула (9A)



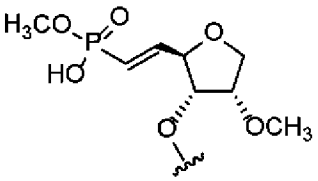
Формула (9AX)



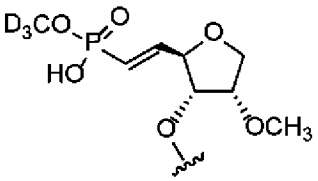
Формула (9AY)



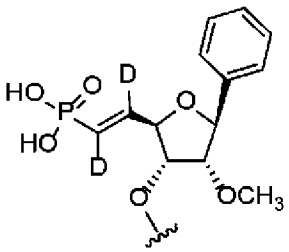
Формула (9B)



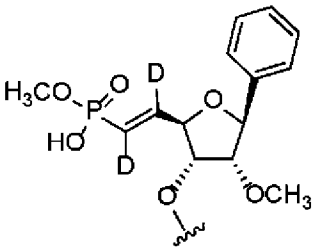
Формула (9BX)



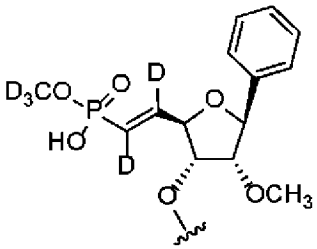
Формула (9BY)



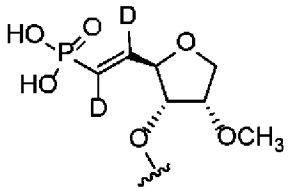
Формула (10A)



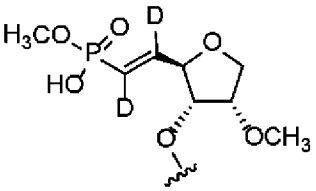
Формула (10AX)



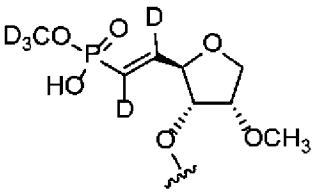
Формула (10AY)



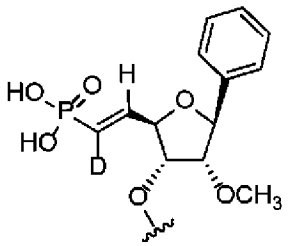
Формула (10B)



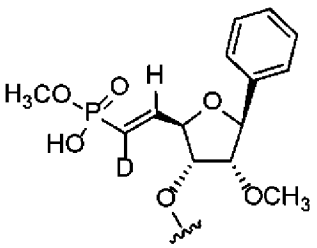
Формула (10BX)



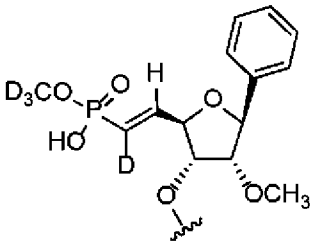
Формула (10BY)



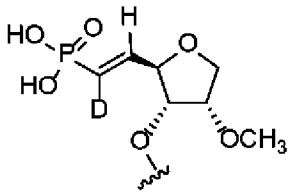
Формула (11A)



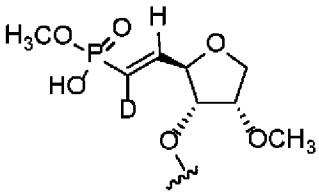
Формула (11AX)



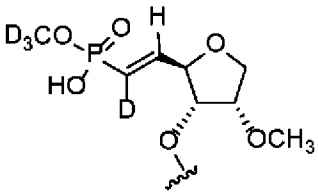
Формула (11AY)



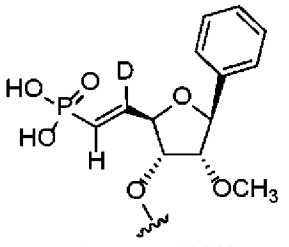
Формула (11B)



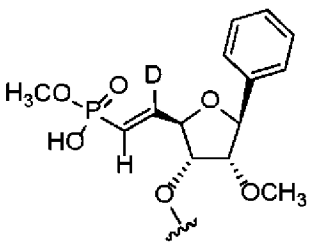
Формула (11BX)



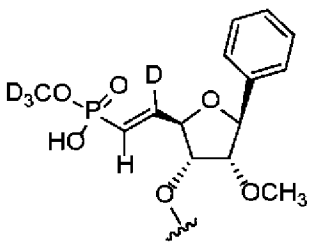
Формула (11BY)



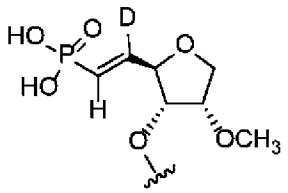
Формула (12A)



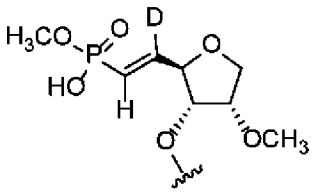
Формула (12AX)



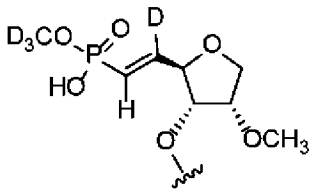
Формула (12AY)



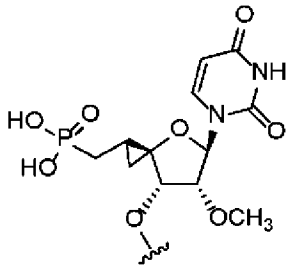
Формула (12B)



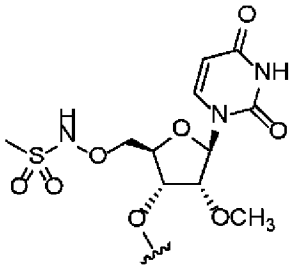
Формула (12BX)



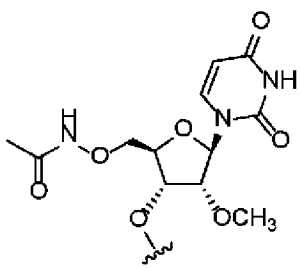
Формула (12BY)



Формула (13A)

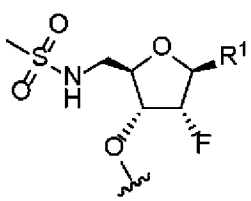


Формула (14A)

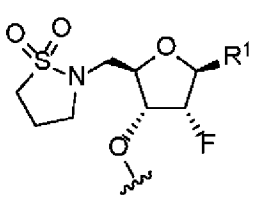


Формула (15A)

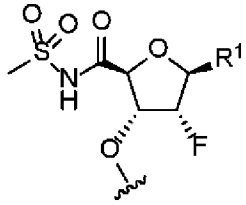
[0217] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, раскрытых в данном документе, содержит 5'-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формулы (21)–формулы (35):



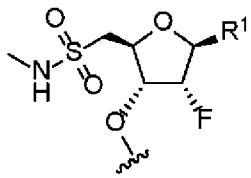
Формула (21)



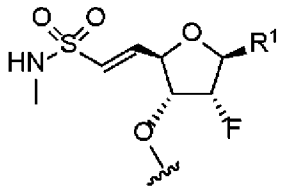
Формула (22)



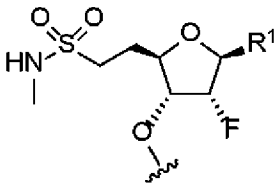
Формула (23)



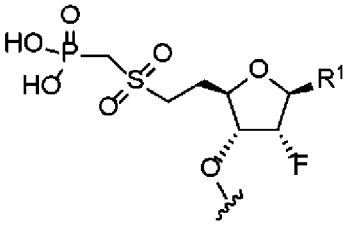
Формула (24)



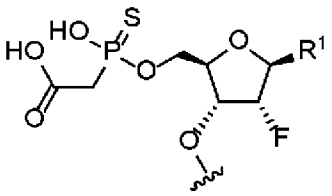
Формула (25)



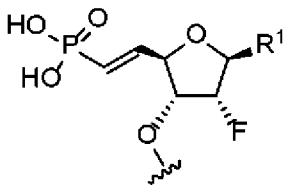
Формула (26)



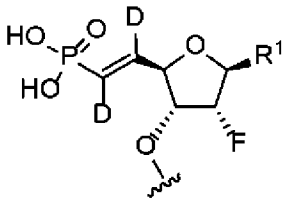
Формула (27)



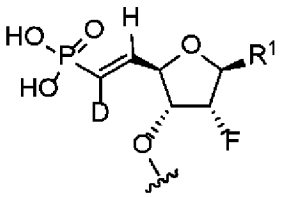
Формула (28)



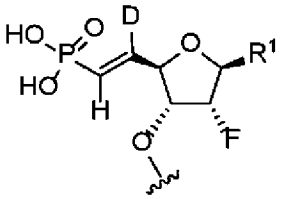
Формула (29)



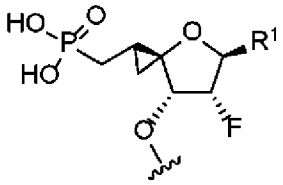
Формула (30)



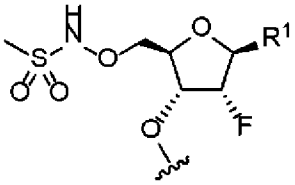
Формула (31)



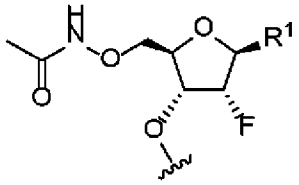
Формула (32)



Формула (33)



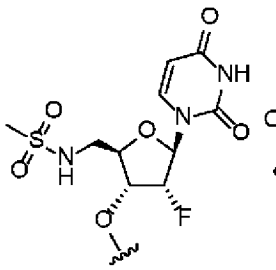
Формула (34)



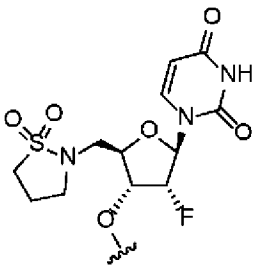
Формула (35)

, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой арил. В некоторых вариантах осуществления арил представляет собой фенил.

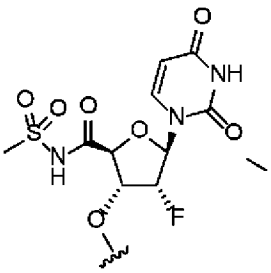
[0218] В некоторых вариантах осуществления любая из молекул миНК, раскрытых в данном документе, содержит 5'-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формул (21A)–(35A), формул (29B)–(32B), формул (29AX)–(32AX), формул (29AY)–(32AY), формул (29BX)–(32BX) и формул (29BY)–(32BY):



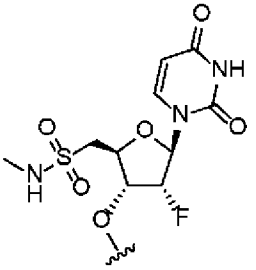
Формула (21A)



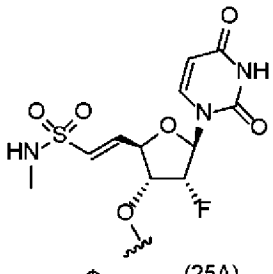
Формула (22A)



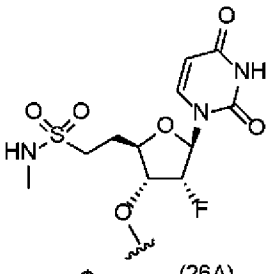
Формула (23A)



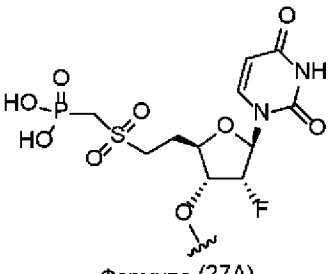
Формула (24A)



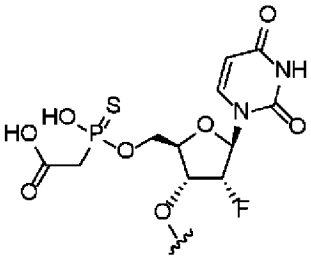
Формула (25A)



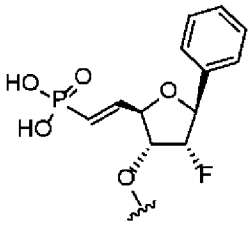
Формула (26A)



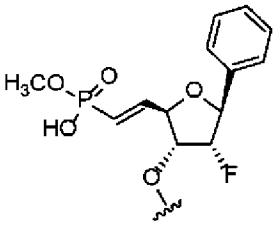
Формула (27A)



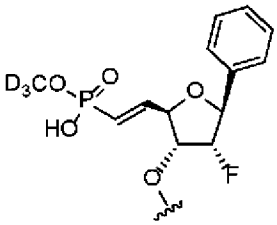
Формула (28A)



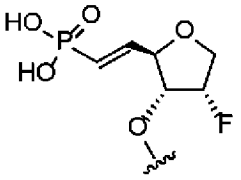
Формула (29A)



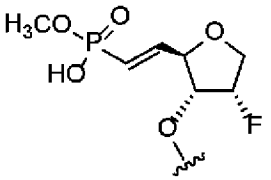
Формула (29AX)



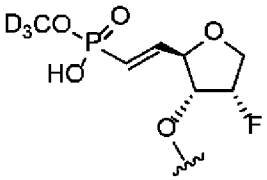
Формула (29AY)



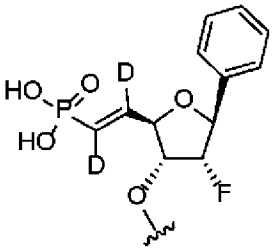
Формула (29B)



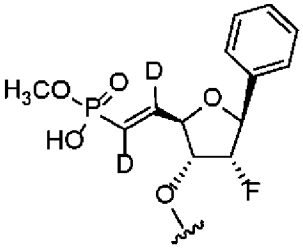
Формула (29BX)



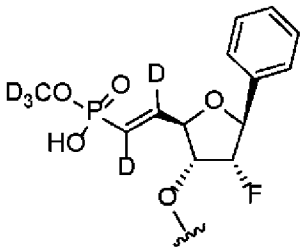
Формула (29BY)



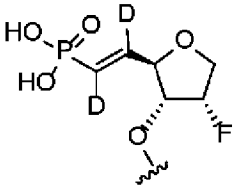
Формула (30A)



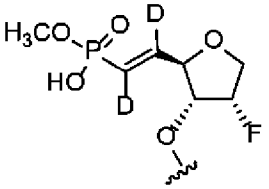
Формула (30AX)



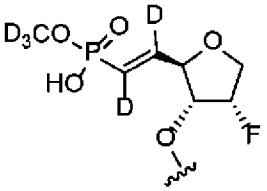
Формула (30AY)



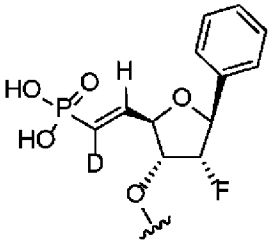
Формула (30B)



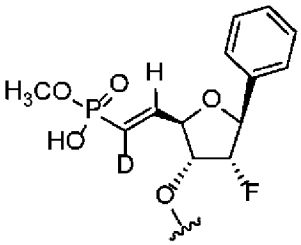
Формула (30BX)



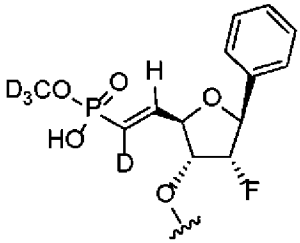
Формула (30BY)



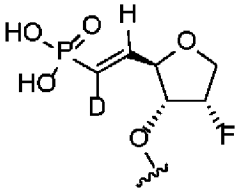
Формула (31A)



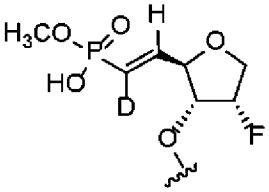
Формула (31AX)



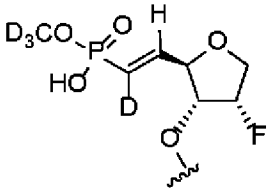
Формула (31AY)



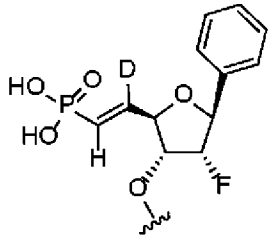
Формула (31B)

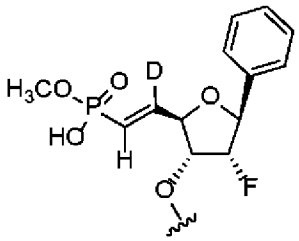


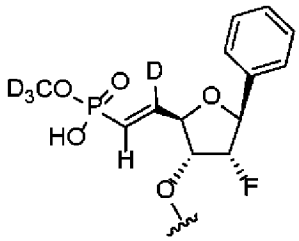
Формула (31BX)

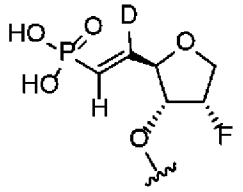


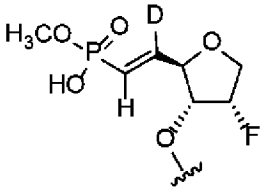
Формула (31BY)

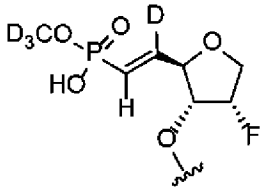

Формула (32A)

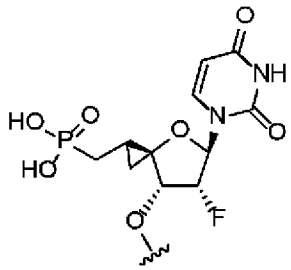

Формула (32AX)

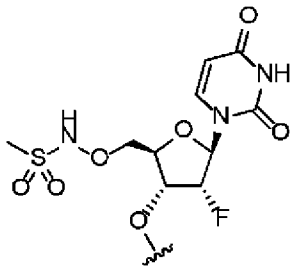

Формула (32AY)

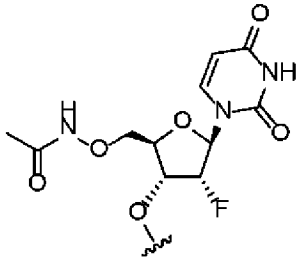

Формула (32B)


Формула (32BX)


Формула (32BY)


Формула (33A)


Формула (34A)


Формула (35A)

[0219] В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи с помощью 1, 2, 3, 4 или 5 или более линкеров. В некоторых вариантах осуществления один или более линкеров независимо выбраны из группы, состоящей из фосфодиэфирного (p или po) линкера, фосфоротиоатного (ps) линкера (ps), фосфорамидитного (HEG) линкера, триэтиленгликолевого (TEG) линкера и/или фосфородитиоатного линкера. В некоторых вариантах осуществления один или более линкеров независимо выбраны из группы, состоящей из p-(PS)2, (PS)2-p-TEG-p, (PS)2-p-HEG-p и (PS)2-p-(HEG-p)2.

Линкер

[0220] В некоторых вариантах осуществления любая из миРНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей и/или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или более межнуклеозидных линкеров. В некоторых вариантах осуществления 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более межнуклеозидных линкеров независимо выбраны из группы, состоящей из фосфодиэфирного (p или po) линкера, фосфоротиоатного (ps) линкера или фосфородитиоатного линкера.

[0221] В некоторых вариантах осуществления любая из миРНК, смысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей, антисмысловых цепей и/или вторых нуклеотидных последовательностей, раскрытых в данном документе, дополнительно содержит 1, 2, 3, 4 или более линкеров, которые присоединяют конъюгированный фрагмент, блокатор фосфорилирования и/или 5'-концевой кэп к миРНК, смысловой цепи, первой нуклеотидной последовательности, антисмысловой цепи и/или второй нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления 1, 2, 3, 4 или более линкеров независимо выбраны из группы, состоящей из фосфодиэфирного (р или ро) линкера, фосфоротиоатного (ps) линкера, фосфорамидитного (HEG) линкера, триэтиленгликолевого (TEG) линкера и/или фосфородитиоатного линкера. В некоторых вариантах осуществления один или более линкеров независимо выбраны из группы, состоящей из р-(PS)2, (PS)2-р-TEG-р, (PS)2-р-HEG-р и (PS)2-р-(HEG-р)2.

Ген-мишень

[0222] Не желая быть связанными теорией, при попадании в клетку любая из молекул дц-миНК, раскрытых в данном документе, может взаимодействовать с белками в клетке с образованием РНК-индуцированного комплекса сайленсинга (RISC). Как только дц-миНК становится частью RISC, дц-миНК может быть раскручен с образованием одноцепочечной миНК (оц-миНК). оц-миНК может содержать антисмысловую цепь дц-миНК. Антисмысловая цепь может связываться с комплементарной информационной РНК (мРНК), что приводит к сайленсингу гена, кодирующего мРНК.

[0223] Ген-мишень может быть любым геном в клетке. В некоторых вариантах осуществления ген-мишень представляет собой вирусный ген. В некоторых вариантах осуществления вирусный ген происходит от ДНК-вируса. В некоторых вариантах осуществления ДНК-вирус представляет собой двухцепочечный ДНК (дцДНК) вирус. В некоторых вариантах осуществления вирус дцДНК является гепаднавирусом. В некоторых вариантах осуществления гепаднавирус представляет собой вирус гепатита В (HBV). В некоторых вариантах осуществления HBV выбран из генотипов HBV A-J.

[0224] В некоторых вариантах осуществления ген-мишень выбран из гена S или гена X HBV. В некоторых вариантах осуществления HBV имеет последовательность генома, проиллюстрированную в нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 410, которая соответствует нуклеотидной последовательности № доступа по базе данных GenBank U95551.1, которая в полном объеме включена посредством ссылки.

[0225] Иллюстративная последовательность генома HBV изображена на SEQ ID NO: 596, соответствующей № доступа по базе данных GenBank KC315400.1, которая в полном объеме включена посредством ссылки. Нуклеотиды 2307..3215,1..1623 из SEQ ID NO: 596

соответствуют последовательности гена полимеразы/RT, которая кодирует белок полимеразы. Нуклеотиды 2848..3215,1..835 из SEQ ID NO: 596 соответствуют последовательности гена PreS1/S2/S, который кодирует большой белок S. Нуклеотиды 3205..3215,1..835 из SEQ ID NO: 596 соответствуют последовательности гена PreS2/S, который кодирует средний белок S. Нуклеотиды 155.,835 из SEQ ID NO: 596 соответствуют последовательности гена S, который кодирует малый белок S. Нуклеотиды 1374.,1838 из SEQ ID NO: 596 соответствуют последовательности гена X, который кодирует малый белок X. Нуклеотиды 1814.,2452 из SEQ ID NO: 596 соответствуют последовательности гена PreC/C, который кодирует предъядерный/ядерный белок. Нуклеотиды 1901.,2452 из SEQ ID NO: 596 соответствуют последовательности гена C, который кодирует ядерный белок. Геном HBV дополнительно содержит вирусные регуляторные элементы, такие как вирусные промоторы (preS2, preS1, Core и X) и энхансерные элементы (ENH1 и ENH2). Нуклеотиды 1624.,1771 из SEQ ID NO: 596 соответствует ENH2. Нуклеотиды 1742.,1849 из SEQ ID NO: 596 соответствует ядерному промотору. Нуклеотиды 1818...3215,1..1930 из SEQ ID NO: 596 соответствуют прегеномной РНК (пгРНК), которая кодирует ядерные и полимеразные белки.

[0226] В некоторых вариантах осуществления ASO по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна или гибридизуется к последовательности вирусной РНК-мишени, которая начинается в X-области HBV или в S-регионе HBV. Вирусная мишень может, например, начинаться от 5'-конца сайта-мишени в соотв. KC315400,1 (генотип B, «gt B») или в любом из генотипов A, C или D. Специалисту в данной области техники будет понятно положение HBV, например, как описано в Wing-Kin Sung, et al., *Nature Genetics* 44:765 (2012). В некоторых вариантах осуществления область S определяется от начала малого белка S (в изоляте KC315400.1 генотипа B, положение № 155) до начала белка X (в изоляте KC315400.1 генотипа B, положение № 1373). В некоторых вариантах осуществления область X определяется как от начала белка X (в изоляте KC315400.1 генотипа B, положение № 1374) до конца сайта DR2 (в изоляте KC315400.1 генотипа B, положение № 1603).

[0227] В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30, 15–25, 15–23, 15–22, 15–21, 17–25, 17–23, 17–22, 17–21 или 19–21 нуклеотидам в положениях 200–720 или 1100–1700 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30, 15–25, 15–23, 15–22, 15–21, 17–25, 17–23, 17–22, 17–21 или 19–21

нуклеотидам в положениях 200–280, 300–445, 460–510, 650–720, 1170–1220, 1250–1300 или 1550–1630 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30, 15–25, 15–23, 15–22, 15–21, 17–25, 17–23, 17–22, 17–21 или 19–21 нуклеотидам в положениях 200–230, 250–280, 300–330, 370–400, 405–445, 460–500, 670–700, 1180–1210, 1260–1295, 1520–1550 или 1570–1610 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30, 15–25, 15–23, 15–22, 15–21, 17–25, 17–23, 17–22, 17–21 или 19–21 нуклеотидам, начиная от положения 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 или 1584 из SEQ ID NO: 410.

[0228] В некоторых вариантах осуществления первый нуклеотид по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентичен нуклеотидной области в SEQ ID NO: 410, за исключением того, что тимины (Ts) в SEQ ID NO: 410 заменены урацилом (U). В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30, 15–25, 15–23, 15–22, 15–21, 17–25, 17–23, 17–22, 17–21 или 19–21 нуклеотидам в положениях 200–720 или 1100–1700 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30, 15–25, 15–23, 15–22, 15–21, 17–25, 17–23, 17–22, 17–21 или 19–21 нуклеотидам в положениях 200–280, 300–445, 460–510, 650–720, 1170–1220, 1250–1300 или 1550–1630 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30, 15–25, 15–23, 15–22, 15–21, 17–25, 17–23, 17–22, 17–21 или 19–21 нуклеотидам в положениях 200–230, 250–280, 300–330, 370–400, 405–445, 460–500, 670–700, 1180–1210, 1260–1295, 1520–1550 или 1570–1610 из SEQ ID NO: 410. В некоторых вариантах осуществления первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30, 15–25, 15–23, 15–22, 15–21, 17–25, 17–23, 17–22, 17–21 или 19–21 нуклеотидам, начиная от положения 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 или 1584 из SEQ ID NO: 410.

[0229] В некоторых вариантах осуществления ген-мишень участвует в метаболизме печени. В некоторых вариантах осуществления ген-мишень является ингибитором цепи переноса электронов. В некоторых вариантах осуществления ген-мишень кодирует белок MCJ (MCJ/DnaJC15 или J-белок, контролируемый метилированием). В некоторых вариантах осуществления белок MCJ кодируется последовательностью мРНК SEQ ID NO: 411, которая соответствует нуклеотидной последовательности № доступа по базе данных GenBank NM_013238.3, которая в полном объеме включена посредством ссылки.

[0230] В некоторых вариантах осуществления гень-мишень представляет собой TAZ. В некоторых вариантах осуществления TAZ содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 412, которая соответствует нуклеотидной последовательности № доступа по базе данных GenBank NM_000116.5, которая в полном объеме включена посредством ссылки.

[0231] В некоторых вариантах осуществления ген-мишень представляет ангиопоэтин-подобный 3 (ANGPTL3). В некоторых вариантах осуществления ANGPTL3 содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 413, которая соответствует нуклеотидной последовательности № доступа по базе данных GenBank NM_014495.4, которая в полном объеме включена посредством ссылки.

[0232] В некоторых вариантах осуществления ген-мишень представляет собой диацилглицерол-ацилтрансферазу 2 (DGAT2). В некоторых вариантах осуществления DGAT2 содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 414, которая соответствует нуклеотидной последовательности № доступа по базе данных GenBank NM_001253891.1, которая в полном объеме включена посредством ссылки.

Композиции

[0233] Как указано выше, настоящее изобретение относится к композициям, содержащим любую из молекул миНК, смысловых цепей, антисмысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей или вторых нуклеотидных последовательностей, описанных в данном документе. Композиции могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 или более молекул миНК, описанных в данном документе. Композиции могут содержать первую нуклеотидную последовательность, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит вторую нуклеотидную последовательность, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444. В некоторых вариантах осуществления композиция

содержит антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539.

[0234] Альтернативно композиции могут содержать (a) блокатор фосфорилирования; а также (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования представляет собой любой из раскрытых в данном документе блокаторов фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления миНК представляет собой любую из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, антисмысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей или вторых нуклеотидных последовательностей, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, антисмысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей или вторых нуклеотидных последовательностей, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления один или более модифицированных нуклеотидов независимо выбраны из 2'-фторнуклеотида и 2'-*O*-метилнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид или 2'-*O*-метилнуклеотид независимо выбран из любого миметика 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит нуклеотидную последовательность, содержащую любой из паттернов модификации, раскрытых в данном документе.

[0235] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит (a) конъюгированный фрагмент; а также (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент представляет собой любой из галактозаминов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК представляет собой любую из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, антисмысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей или вторых нуклеотидных последовательностей, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, антисмысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей или вторых нуклеотидных последовательностей, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления один или более модифицированных нуклеотидов независимо выбраны из 2'-фторнуклеотида и 2'-*O*-метилнуклеотида. В некоторых

вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид или 2'-*O*-метилнуклеотид независимо выбран из любого миметика 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит нуклеотидную последовательность, содержащую любой из паттернов модификации, раскрытых в данном документе.

[0236] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит (a) 5'-стабилизированный концевой кэп; а также (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп представляет собой любой из 5-стабилизированных концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК представляет собой любую из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, антисмысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей или вторых нуклеотидных последовательностей, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит один или более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления один или более модифицированных нуклеотидов независимо выбраны из 2'-фторнуклеотида и 2'-*O*-метилнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид или 2'-*O*-метилнуклеотид независимо выбран из любого миметика 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит нуклеотидную последовательность, содержащую любой из паттернов модификации, раскрытых в данном документе.

[0237] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит (a) по меньшей мере один блокатор фосфорилирования, конъюгированный фрагмент или 5'-стабилизированный концевой кэп; а также (b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК). В некоторых вариантах осуществления блокатор фосфорилирования представляет собой любой из раскрытых в данном документе блокаторов фосфорилирования. В некоторых вариантах осуществления конъюгированный фрагмент представляет собой любой из галактозаминов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления 5'-стабилизированный концевой кэп представляет собой любой из 5-стабилизированных концевых кэпов, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК представляет собой любую из миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит любую из смысловых цепей, антисмысловых цепей, первых нуклеотидных последовательностей или вторых нуклеотидных последовательностей, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит один или

более модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления один или более модифицированных нуклеотидов независимо выбраны из 2'-фторнуклеотида и 2'-*O*-метилнуклеотида. В некоторых вариантах осуществления 2'-фторнуклеотид или 2'-*O*-метилнуклеотид независимо выбран из любого миметика 2'-фтор или 2'-*O*-метилнуклеотида, описанного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления миНК содержит нуклеотидную последовательность, содержащую любой из паттернов модификации, раскрытых в данном документе.

[0238] Композиция может представлять собой фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит количество одной или более молекул миНК, описанных в данном документе, в составе одного или более фармацевтически приемлемых носителей (добавок) и/или разбавителей. Фармацевтические композиции могут быть специально составлены для введения в твердой или жидкой форме, включая композиции, адаптированные для следующих целей: (1) пероральное введение, например, жидкие лекарственные формы для перорального введения (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, например, предназначенные для трансбуккальной, сублингвальной и системной абсорбции, болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; (2) парентеральное введение, например, путем подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекции в виде, например, стерильного раствора или суспензии, или состава с замедленным высвобождением; (3) местное применение, например, в виде крема, мази, пластыря или спрея с контролируемым высвобождением, наносимых на кожу; (4) интравагинально или интраректально, например, в виде пессария, крема или пены; (5) сублингвально; (6) окулярно; (7) трансдермально; или (8) через нос.

[0239] Выражение «терапевтически эффективное количество» в данном контексте означает такое количество соединения, материала или композиции, содержащей миНК по настоящему изобретению, которое является эффективным для обеспечения определенного требуемого терапевтического эффекта по меньшей мере в подгруппе клеток в организме животного с разумным соотношением пользы/риска, применимым к любому медикаментозному лечению.

[0240] Фраза «фармацевтически приемлемый» используется в настоящем документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые в рамках здравого медицинского заключения подходят для использования в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соизмеримых с разумным соотношением польза/риск.

[0241] Кроме того, в композициях могут присутствовать увлажняющие агенты, эмульгаторы и смазывающие агенты, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также окрашивающие агенты, разделительные агенты, покрытия, подсластители, вкусовые добавки и ароматизаторы, консерванты и антиоксиданты.

[0242] Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают: (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и т. п.; (2) жирорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилгидроксианизол (BHA), бутилгидрокситолуол (BHT), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т. п.; (3) и хелатирующие агенты для металлов, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТК), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т. п.

[0243] Композиции согласно настоящему изобретению включают композиции, подходящие для перорального, назального, местного (включая буккальное и сублингвальное), ректального, вагинального и/или парентерального введения. Композиции могут быть удобно представлены в единичных лекарственных формах и могут быть получены любыми способами, хорошо известными специалистам в области фармацевтики. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом-носителем для получения разовой лекарственной формы, варьируется в зависимости от подлежащего лечению субъекта, конкретного способа введения. Количество активного ингредиента, которое можно комбинировать с материалом-носителем для получения разовой лекарственной формы, обычно представляет собой такое количество соединения (например, молекулы миНК), которое обеспечивает терапевтический эффект. Как правило, из ста процентов это количество будет составлять от около 0,1 до около девяноста девяти процентов активного ингредиента, предпочтительно от около 5 до около 70 процентов, наиболее предпочтительно от около 10 до около 30 процентов.

[0244] В некоторых вариантах реализации лекарственная форма согласно настоящему изобретению содержит вспомогательное вещество, выбранное из группы, состоящей из циклодекстринов, целлюлоз, липосом, мицеллообразующих агентов, например, желчных кислот, и полимерных носителей, например, сложных полиэфиров и полиангидридов; и соединение (например, молекула миНК) по настоящему изобретению. В определенных вариантах осуществления вышеупомянутый состав делает перорально биодоступным соединение (например, молекулу миНК) по настоящему изобретению.

[0245] Способы получения указанных лекарственных форм или композиций включают стадию смешивания соединения (например, молекулы миНК) по настоящему изобретению с носителем и необязательно одним или более вспомогательными ингредиентами. В общем, лекарственные формы получают посредством равномерного и тщательного смешивания соединения (например, молекулы миНК) по настоящему изобретению с жидкими носителями или с тонко измельченными твердыми носителями, или и тем, и другим, и затем, в случае необходимости, формования продукта.

[0246] Лекарственные формы согласно настоящему изобретению, подходящие для перорального введения, могут быть в форме капсул, крахмальных капсул, пилюль, таблеток, леденцов (с применением в качестве основы вкусового вещества, обычно сахарозы и гуммиарабика или трагаканта), порошка, гранул или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии типа «масло в воде» или типа «вода в масле», или в виде эликсира или сиропа, или в виде пастилок (с применением инертной основы, такой как желатин и глицерин или сахароза и гуммиарабик) и/или в виде жидкостей для полоскания рта и т.п., каждая из которых содержит предварительно определенное количество соединения (например, молекулы миНК) по настоящему изобретению в качестве активного ингредиента. Соединение (например, молекула миНК) по настоящему изобретению также может быть введено в виде болюса, электуария или пасты.

[0247] В твердых лекарственных формах по данному изобретению для перорального применения (капсулы, таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы, пастилки и т. п.) активный ингредиент смешивают с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, такими как цитрат натрия или дикальцийфосфат и/или любой из следующих: (1) наполнители или разбавители, такие как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связующие, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или аравийская камедь; (3) увлажнители, такие как глицерин; (4) разрыхлители, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или маниоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия; (5) замедлители растворения, такие как парафин; (6) ускорители абсорбции, такие как соединения четвертичного аммония и поверхностно-активные вещества, такие как полоксамер и лаурилсульфат натрия; (7) смачивающие агенты, такие как, например, цетиловый спирт, моностеарат глицерина и неионогенные поверхностно-активные вещества; (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина; (9) смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия, стеарат цинка, стеарат натрия, стеариновая

кислота и их смеси; (10) красящие вещества; и (11) агенты контролируемого высвобождения, такие как кросповидон или этилцеллюлоза.

[0248] В случае капсул, таблеток и пилюль фармацевтически композиции могут дополнительно содержать буферные агенты. Твердые композиции схожего типа также могут быть использованы в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием таких вспомогательных веществ как лактоза или молочные сахара, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и т.п.

[0249] Таблетки можно получать путем прессования или формовки, необязательно, с одним или более вспомогательными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть приготовлены с использованием связующего (например, желатина или гидроксипропилметилцеллюлозы), смазывающего вещества, инертного разбавителя, консерванта, разрыхлителя (например, крахмалгликолята натрия или сшитой карбоксиметилцеллюлозы натрия), поверхностно-активного или диспергирующего агента. Формованные таблетки могут быть изготовлены путем формования в подходящем аппарате смеси порошкообразного соединения, увлажненного инертным жидким разбавителем.

[0250] Таблетки и другие твердые лекарственные формы фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению, такие как драже, капсулы, пилюли и гранулы, могут необязательно иметь надрезы или могут быть получены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области составления фармацевтических препаратов. Они также могут быть составлены таким образом, чтобы обеспечивать медленное или контролируемое высвобождение активного ингредиента из них, с применением, например, гидроксипропилметилцеллюлозы в различных пропорциях для обеспечения требуемого профиля высвобождения, других полимерных матриц, липосом и/или микросфер. Они могут быть составлены для быстрого высвобождения, например, могут быть высушены заморозкой.

[0251] Они могут быть стерилизованы, например, фильтрацией сквозь задерживающий бактерии фильтр или введением стерилизующих агентов в форме стерильных твердых композиций, которые могут быть растворены в стерильной воде или некоторой другой стерильной среде для инъекций непосредственно перед применением. Такие композиции дополнительно могут необязательно содержать замутнители и могут представлять собой композиции, которые высвобождают активный(-ые) ингредиент(-ы) только или предпочтительно в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно замедленным образом. Примеры инкапсулирующих композиций, которые

могут быть использованы, включают полимерные вещества и воски. Кроме того, активный ингредиент может находиться в микроинкапсулированной форме, если это уместно, с одним или несколькими вышеописанными вспомогательными веществами.

[0252] Жидкие лекарственные формы для перорального введения соединений (например, молекулы миНК) по данному изобретению включают фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Помимо активного ингредиента, жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно применяемые в данной области техники, например, такие как вода или другие растворители, солюбилизирующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (I в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, масло зародышей пшеницы, оливковое, касторовое и кунжутное масло), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот и сорбита, а также их смеси.

[0253] Кроме инертных разбавителей, композиции для перорального применения могут дополнительно содержать вспомогательные вещества, такие как увлажнители, эмульгаторы и суспендирующие агенты, подсластители, вкусовые добавки, окрашивающие агенты, ароматизаторы и консерванты.

[0254] Суспензии, помимо активных соединений (например, молекулу миНК), могут содержать суспендирующие агенты, например, этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбит и сложные эфиры сорбита, микрокристаллическую целлюлозу, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакантовую камедь, а также их смеси.

[0255] Лекарственные формы фармацевтических композиций по данному изобретению для ректального или вагинального введения могут быть представлены в форме суппозитория, который может быть получен смешиванием одного или более соединений (например, молекул миНК) по данному изобретению с одним или более подходящими нераздражающими вспомогательными веществами или носителями, включая, например, масло какао, полиэтиленгликоль, суппозиторный воск или салицилат, и который является твердым при комнатной температуре, но жидким при температуре тела и, таким образом, плавится в прямой кишке или вагинальной полости с высвобождением активного соединения (например, молекулы миНК).

[0256] Лекарственные формы по данному изобретению, которые подходят для вагинального введения, включают также пессарии, тампоны, кремы, гели, пасты, пенки

или лекарственные формы в виде спреев, содержащие носители, считающиеся пригодными для использования в данной области техники.

[0257] Лекарственные формы для местного или трансдермального введения соединения (например, молекулу миНК) по данному изобретению включают порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри и средства для ингаляций. Активное соединение (например, молекула миНК) может быть смешано в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и любыми консервантами, буферными агентами или газами-вытеснителями, которые могут потребоваться.

[0258] Мази, пасты, кремы и гели могут содержать, помимо активного соединения (например, молекулу миНК) по данному изобретению, вспомогательные вещества, такие как животные и растительные жиры, масла, воски, парафины, крахмал, трагакант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, силиконы, бентониты, кремниевая кислота, тальк и оксид цинка, или их смеси.

[0259] Порошки и спреи могут содержать, помимо соединения (например, молекулу миНК) по данному изобретению, вспомогательные вещества, такие как лактоза, тальк, кремниевая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и полиамидный порошок, или смеси указанных веществ. Спреи могут дополнительно содержать обычные газы-вытеснители, такие как хлорфторуглеводороды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

[0260] Трансдермальные пластыри обладают дополнительным преимуществом обеспечения контролируемой доставки соединения (например, молекулу миНК) по данному изобретению в организм. Такие лекарственные формы могут быть получены растворением или диспергированием соединения (например, молекулы миНК) в подходящей среде. Дополнительно могут быть использованы усилители абсорбции для усиления потока соединения (например, молекулы миНК) сквозь кожу. Скорость такого потока можно контролировать, либо используя мембрану, контролирующую скорость, либо диспергируя соединение (например, молекулу миНК) в полимерной матрице или геле.

[0261] Глазные лекарственные формы, глазные мази, порошки, растворы и т.п., также входят в границы объема настоящего изобретения.

[0262] Фармацевтические композиции по данному изобретению, подходящие для парентерального введения, содержат одно или более соединений (например, молекулы миНК) по данному изобретению в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями, или стерильными порошками, которые могут

быть восстановлены до стерильных растворов или дисперсий для инъекций непосредственно перед использованием, которые могут содержать сахара, спирты, антиоксиданты, буферы, бактериостатические средства, растворенные вещества, обеспечивающие изотоничность композиции с кровью предполагаемого реципиента, или суспендирующие агенты или загустители.

[0263] Примеры пригодных водных и неводных носителей, которые могут быть использованы в фармацевтических композициях согласно настоящему изобретению, включают воду, этанол, многоатомные спирты (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и т.п.) и их подходящие смеси, растительные масла, такие как оливковое масло, и пригодные для инъекций органические сложные эфиры, такие как этилолеат. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, с помощью материалов покрытия, таких как лецитин, сохраняя требуемый размер частиц в случае дисперсий, и с помощью поверхностно-активных веществ.

[0264] Указанные композиции могут содержать также адъюванты, такие как консервирующие, увлажняющие, эмульгирующие и диспергирующие агенты. Предотвращение действия микроорганизмов на рассматриваемые соединения может быть обеспечено включением различных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, парабена, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и т. п. Также может быть желательным включать в композиции изотонические агенты, такие как сахара, хлорид натрия и т. п. В некоторых случаях для продления действия лекарства необходимо замедлить абсорбцию лекарства при подкожной или внутримышечной инъекции.

[0265] Это может быть достигнуто применением жидкой суспензии кристаллического или аморфного материала со слабой растворимостью в воде. Это может представлять собой применение жидкой суспензии кристаллического или аморфного материала с плохой растворимостью в воде. Скорость абсорбции лекарственного средства зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. В альтернативном варианте замедление абсорбции введенной парентерально лекарственной формы может быть достигнуто посредством растворения или суспендирования лекарства в масляной несущей среде.

[0266] Инъекционные формы депо получают путем формирования микроинкапсулированных матриц рассматриваемых соединений (например, молекул миНК) в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения лекарственного средства и полимера, а также от природы конкретного применяемого полимера, скорость высвобождения лекарственного средства можно регулировать. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают сложные

поли(ортоэфиры) и поли(ангидриды). Кроме того, инъекционные препараты депо получают, захватывая лекарственное средство в липосомы или микроэмульсии, которые совместимы с тканью организма.

[0267] При введении соединений (например, молекул миНК) по настоящему изобретению людям и животным в виде фармацевтических агентов, они могут быть введены per se или в виде фармацевтической композиции, содержащей, например, от 0,1% до 99% (более предпочтительно от 10% до 30%) активного ингредиента в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем.

Способы лечения и введения

[0268] Молекулы миНК по настоящему изобретению можно применять для лечения заболевания у нуждающегося в этом субъекта. В некоторых вариантах осуществления способ лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включает введение субъекту любой из молекул миНК, раскрытых в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включает введение субъекту любой из композиций, раскрытых в данном документе.

[0269] Препараты (например, молекулы миНК или композиций) по настоящему изобретению могут быть введены перорально, парентерально, местно или ректально. Конечно, их вводят в формах, подходящих для каждого способа введения. Например, их вводят в форме таблеток или капсул, вводят посредством инъекции, инфузии или ингаляции; местно в форме лосьона или мази; ректально в форме суппозиториев. Предпочтительным является пероральное введение.

[0270] Выражения «парентеральное введение» и «вводимый парентерально» в данном контексте обозначают способы введения, отличные от энтерального введения и местного применения, обычно посредством инъекции, и включают, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрикапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, интраперитонеальную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную и интрастернальную инъекцию и инфузию.

[0271] Выражения «системное введение», «вводимый системно», «периферическое введение» и «вводимый периферически», в данном контексте обозначают введение соединения, лекарства или иного материала способом, отличным от непосредственного введения в центральную нервную систему, таким образом, что он поступает в систему пациента и, следовательно, подвергается метаболизму и другим подобным процессам, например, подкожное введение.

[0272] Указанные соединения могут быть введены людям и другим животным с целью терапии любым подходящим способом введения, в том числе перорально, назально, например, в форме спрея, ректально, интравагинально, парентерально, интрацистернально, а также применять местно в форме порошков, мазей или капель, в том числе буккально и сублингвально.

[0273] Независимо от выбранного способа введения, соединения (например, молекулы миНК) по настоящему изобретению, которые могут быть использованы в подходящей гидратированной форме, и/или фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению составляют в фармацевтически приемлемые лекарственные формы обычными способами, известными специалистам в данной области техники.

[0274] Фактические уровни доз активных ингредиентов в фармацевтических композициях согласно настоящему изобретению могут варьироваться так, чтобы получать определенное количество активного ингредиента, которое является эффективным для достижения заданного терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, без токсичности для пациента.

[0275] Выбранный уровень дозы зависит от различных факторов, включая активность конкретного используемого соединения (например, миНК) по настоящему изобретению или его сложного эфира, соли или амида, способ введения, время введения, скорость экскреции или метаболизма конкретного используемого соединения, скорости и степени всасывания, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемые в комбинации с конкретным используемым соединением, возраст, пол, массу, состояние, общее состояние здоровья и медицинский анамнез пациента, подлежащего лечению, и подобные факторы, хорошо известные в области медицины.

[0276] Врач или ветеринар обычной квалификации может легко определить и назначить эффективное количество необходимой фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар может начать с доз соединений (например, молекул миНК) по настоящему изобретению, используемых в фармацевтической композиции, уровень которых ниже, чем необходимо для достижения требуемого терапевтического эффекта и постепенного увеличения дозы до достижения требуемого эффекта.

[0277] В общем, подходящая суточная доза соединения (например, молекулы миНК) по данному изобретению представляет собой количество соединения, которое представляет собой наименьшую дозу, эффективную для получения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза обычно зависит от факторов, описанных выше. Предпочтительно соединения вводят от около 0,01 мг/кг до около 200 мг/кг, более

предпочтительно от около 0,1 мг/кг до около 100 мг/кг, еще более предпочтительно от около 0,5 мг/кг до около 50 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят в дозе, равной или более чем 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,10, 0,11, 0,12, 0,13, 0,14, 0,15, 0,16, 0,17, 0,18, 0,19, 0,20, 0,21, 0,22, 0,23, 0,24, 0,25, 0,26, 0,27, 0,28, 0,29, 0,30, 0,35, 0,40, 0,45, 0,50, 0,55, 0,60, 0,65, 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95 или 1 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят в дозе, равной или менее чем 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20 или 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления общая суточная доза соединения равна или более чем 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195 или 100 мг.

[0278] Когда соединения (например, молекулы миНК), описанные в данном документе, вводят совместно с другим, эффективное количество может быть меньше, чем когда соединение применяют отдельно.

[0279] При необходимости эффективная суточная доза активного соединения (например, молекулы миНК) может быть введена в виде двух, трех, четыре, пяти, шести или более дробных доз, введенных по отдельности с соответствующими интервалами в течение дня, необязательно в виде единичных лекарственных форм. Предпочтительная дозировка составляет одно введение в день. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят один раз каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 день. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят один раз каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 недель.

Заболевания

[0280] Молекулы миНК и композиции, описанные в данном документе, можно вводить субъекту для лечения заболевания. Кроме того, в данном документе раскрыто применение любой из молекул миНК или композиций, раскрытых в данном документе, в производстве лекарственного средства для лечения заболевания.

[0281] В некоторых вариантах осуществления заболевание является вирусным заболеванием. В некоторых вариантах осуществления вирусное заболевание вызывается ДНК-содержащим вирусом. В некоторых вариантах осуществления ДНК-вирус представляет собой двухцепочечную ДНК (дцДНК-вирус). В некоторых вариантах

осуществления вирус дцДНК является гепаднавирусом. В некоторых вариантах осуществления гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV).

[0282] В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание печени. В некоторых вариантах осуществления заболевание печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП). В некоторых вариантах осуществления НАЖБП представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ). В некоторых вариантах осуществления заболевание печени представляет собой гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК).

Введение миНК

[0283] Введение любой из миНК, раскрытых в данном документе, можно проводить способами, известными в данной области. В некоторых вариантах осуществления миНК вводят подкожно (SC) или внутривенно (IV). Препараты (например, миНК или композиций) по настоящему изобретению могут быть введены перорально, парентерально, местно или ректально. Конечно, их вводят в формах, подходящих для каждого способа введения. Например, их вводят в форме таблеток или капсул, вводят посредством инъекции, инфузии или ингаляции; местно в форме лосьона или мази; ректально в форме суппозиториев. В некоторых вариантах осуществления предпочтительно подкожное введение.

[0284] Выражения «парентеральное введение» и «вводимый парентерально» в данном контексте обозначают способы введения, отличные от энтерального введения и местного применения, обычно посредством инъекции, и включают, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, внутриартериальную, интратекальную, внутрикапсулярную, интраорбитальную, внутрисердечную, внутрикожную, интраперитонеальную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, внутрисуставную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную и интрастернальную инъекцию и инфузию.

[0285] Выражения «системное введение», «вводимый системно», «периферическое введение» и «вводимый периферически», в данном контексте обозначают введение соединения, лекарства или иного материала способом, отличным от непосредственного введения в центральную нервную систему, таким образом, что он поступает в систему пациента и, следовательно, подвергается метаболизму и другим подобным процессам, например, подкожное введение.

[0286] Указанные соединения могут быть введены людям и другим животным с целью терапии любым подходящим способом введения, в том числе перорально, назально, например, в форме спрея, ректально, интравагинально, парентерально,

интрацистернально, а также применять местно в форме порошков, мазей или капель, в том числе буккально и сублингвально.

[0287] Независимо от выбранного способа введения, соединения (например, молекулы миНК) по настоящему изобретению, которые могут быть использованы в подходящей гидратированной форме, и/или фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению составляют в фармацевтически приемлемые лекарственные формы обычными способами, известными специалистам в данной области техники.

[0288] Фактические уровни доз активных ингредиентов в фармацевтических композициях согласно настоящему изобретению могут варьироваться так, чтобы получать определенное количество активного ингредиента, которое является эффективным для достижения заданного терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и способа введения, без токсичности для пациента.

[0289] Выбранный уровень дозы зависит от различных факторов, включая активность конкретного используемого соединения (например, миНК) по настоящему изобретению или его сложного эфира, соли или амида, способ введения, время введения, скорость экскреции или метаболизма конкретного используемого соединения, скорости и степени всасывания, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, используемые в комбинации с конкретным используемым соединением, возраст, пол, массу, состояние, общее состояние здоровья и медицинский анамнез пациента, подлежащего лечению, и подобные факторы, хорошо известные в области медицины.

[0290] Врач или ветеринар обычной квалификации может легко определить и назначить эффективное количество необходимой фармацевтической композиции. Например, врач или ветеринар может начать с доз соединений (например, миНК) по настоящему изобретению, используемых в фармацевтической композиции, уровень которых ниже, чем необходимо для достижения требуемого терапевтического эффекта и постепенного увеличения дозы до достижения требуемого эффекта.

[0291] В общем, подходящая суточная доза соединения (например, миНК) по данному изобретению представляет собой количество соединения, которое представляет собой наименьшую дозу, эффективную для получения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза обычно зависит от факторов, описанных выше. Предпочтительно соединения вводят от около 0,01 мг/кг до около 200 мг/кг, более предпочтительно от около 0,1 мг/кг до около 100 мг/кг, еще более предпочтительно от около 0,5 мг/кг до около 50 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят в концентрации от около 1 мг/кг до около 40 мг/кг, от около 1 мг/кг до около 30 мг/кг, от около 1 мг/кг до

около 20 мг/кг, от около 1 мг/кг до около 15 мг/кг или 1 мг/кг до около 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят в дозе, равной или более чем 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,10, 0,11, 0,12, 0,13, 0,14, 0,15, 0,16, 0,17, 0,18, 0,19, 0,20, 0,21, 0,22, 0,23, 0,24, 0,25, 0,26, 0,27, 0,28, 0,29, 0,30, 0,35, 0,40, 0,45, 0,50, 0,55, 0,60, 0,65, 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95 или 1 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят в дозе, равной или более чем 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят в дозе, равной или менее чем 200, 190, 180, 170, 160, 150, 140, 130, 120, 110, 100, 95, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55, 50, 45, 40, 35, 30, 25, 20 или 15 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления общая суточная доза соединения равна или более чем 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195 или 100 мг.

[0292] При необходимости эффективная суточная доза активного соединения (например, миНК) может быть введена в виде двух, трех, четыре, пяти, шести, семи, восьми, девяти, десяти или более доз или дробных доз, введенных по отдельности с соответствующими интервалами в течение дня, необязательно в виде единичных лекарственных форм. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 раз. Предпочтительная дозировка составляет одно введение в день. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят один раз каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 день. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят каждые 3 дня. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят один раз каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 недель. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят каждый месяц. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят один раз каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 месяцев. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 или 53 раз за период по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68,

69 или 70 дней. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 или 53 раз за период по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 или 53 недель. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 или 53 раз за период по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 или 53 месяцев. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере один раз в неделю в течение периода по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 или 70 недель. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере один раз в неделю в течение периода по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 или 70 месяцев. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере два раза в неделю в течение периода по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 или 70 недель. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере два раза в неделю в течение периода по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 или 70 месяцев. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере один раз каждые две недели в течение по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 или 70 недель. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере один раз каждые две недели в течение по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42,

43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 или 70 месяцев. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере один раз каждые четыре недели в течение по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 или 70 недель. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят по меньшей мере один раз каждые четыре недели в течение по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69 или 70 месяцев.

[0293] В некоторых вариантах осуществления любую из миНК или композиций, раскрытых в данном документе, вводят в частице или вирусном векторе. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой вектор аденовируса, аденоассоциированного вируса (AAV), альфавируса, флавивируса, вируса простого герпеса, лентивируса, вируса кори, пикорнавируса, поксвируса, ретровируса или рабдовируса. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой рекомбинантный вирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор выбран из AAVrh.74, AAVrh.10, AAVrh.20, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAV-8, AAV-9, AAV-10, AAV-11, AAV-12 и AAV-13.

[0294] Субъектом описанных способов может быть млекопитающее, включая людей и млекопитающих, отличных от человека. В некоторых вариантах осуществления субъект является человеком, таким как взрослый человек.

[0295] Некоторые варианты осуществления включают способ лечения вируса HBV у субъекта, инфицированного вирусом, включающий введение терапевтически эффективного количества одной или более миНК по настоящему изобретению или композиции по настоящему изобретению субъекту, нуждающемуся в этом, тем самым снижая вирусную нагрузку вируса у субъекта и/или снижая уровень вирусного антигена у субъекта. миНК может быть комплементарной или гибридизоваться с частью РНК-мишени в вирусе, например, с областью X и/или областью S вируса HBV.

Комбинированные терапевтические средства

[0296] Любой из раскрытых в данном документе способов может дополнительно включать введение субъекту дополнительного средства для лечения HBV. Любая из раскрытых в данном документе композиций может дополнительно содержать дополнительный агент для лечения HBV. В некоторых вариантах осуществления дополнительный агент для лечения HBV выбран из аналога нуклеотида, аналога

нуклеозида, модулятора сборки капсида (CAM), рекомбинантного интерферона, ингибитора проникновения, низкомолекулярного иммуномодулятора и олигонуклеотидной терапии. В некоторых вариантах осуществления дополнительный агент для лечения HBV выбирают из HBV STOPS™ ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1, рекомбинантного интерферона альфа 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, ламивудина, телбивудина, адефовира дипивоксила, клевудина, энтекавира, тенофовира алафенамида, тенофовира дизопроксила, NVR3–778, BAY41–4109, JNJ-632, JNJ–3989 (ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB–729, VIR-2218, RG6346 (DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ–440, NZ–4, RG7907, EDP–514, AB–423, AB–506, ABI-H03733 и ABI-H2158. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотидная терапия выбрана из полимеров нуклеиновых кислот или олигонуклеотидных полимеров, ингибирующих транспорт S-антигена (NAP или STOPS), миРНК и ASO. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотидная терапия является дополнительной миНК. В некоторых вариантах осуществления дополнительная миНК выбрана из любой от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178. В некоторых вариантах осуществления терапия олигонуклеотидами представляет собой антисмысловые олигонуклеотиды (ASO). В некоторых вариантах осуществления ASO представляет собой ASO 1. В некоторых вариантах осуществления любая из миНК, раскрытых в данном документе, вводят совместно с STOPS. Примеры STOPS описаны в международной публикации № WO2020/097342 и публикации США № 2020/0147124, обе из которых в полном объеме включены посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления STOPS представляет собой ALG-010133. В некоторых вариантах осуществления любая из миНК, раскрытых в данном документе, вводят совместно с тенофовиром. В некоторых вариантах осуществления любая из миНК, раскрытых в данном документе, вводят совместно с CAM. Примеры CAM описаны в Berke et al., *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(8):e00560–17, Klumpp, *et al.,* Gastroenterology, 2018, 154(3):652-662.e8, международной заявке № PCT/US2020/017974, PCT/US2020/026116 и PCT/US2020/028349 и заявках США №№ 16/789 298, 16/837 515 и 16/849 851, каждая из которых включена в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления CAM представляет собой ALG-000184, ALG-001075, ALG-001024, JNJ-632, BAY41-4109 или NVR3-778. В некоторых вариантах осуществления миНК и средство для лечения HBV вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления миНК и средство для лечения HBV вводят параллельно. В некоторых вариантах осуществления миНК и средство для лечения HBV вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления миНК вводят перед введением агента для лечения HBV. В некоторых

вариантах осуществления миНК вводят после введения агента для лечения HBV. В некоторых вариантах осуществления миНК и средство для лечения HBV находятся в отдельных контейнерах. В некоторых вариантах осуществления миНК и средство для лечения HBV находятся в одном контейнере.

[0297] Любой из раскрытых в данном документе способов может дополнительно включать введение субъекту средства для лечения заболевания печени. Любая из раскрытых в данном документе композиций может дополнительно содержать средство для лечения заболевания печени. В некоторых вариантах осуществления средство для лечения заболевания печени выбрано из агониста рецептора активатора пролиферации пероксисом (PPAR), агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR), средства, изменяющего липидный состав, и терапии на основе инкретина. В некоторых вариантах осуществления агонист PPAR выбран из агониста PPARα, двойного агониста PPARα/δ, агониста PPARγ и двойного агониста PPARα/γ. В некоторых вариантах осуществления двойной агонист PPARα представляет собой фибрат. В некоторых вариантах осуществления агонист PPARα/δ представляет собой элафибранор. В некоторых вариантах осуществления агонист PPARγ представляет собой тиазолидиндион (TZD). В некоторых вариантах осуществления TZD представляет собой пиоглитазон. В некоторых вариантах осуществления двойной агонист PPARα/γ представляет собой сароглитазар. В некоторых вариантах осуществления агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту (OCA). В некоторых вариантах осуществления агент, изменяющий липидный состав, представляет собой арамхол. В некоторых вариантах осуществления терапия на основе инкретинов представляет собой агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1) или ингибитор дипептидилпептидазы 4 (DPP-4). В некоторых вариантах осуществления агонист рецептора GLP-1 представляет собой эксенатид или лираглутид. В некоторых вариантах осуществления ингибитор DPP-4 представляет собой ситаглиптин или вилдаплиптин. В некоторых вариантах осуществления миНК и средство для лечения заболевания печени вводят параллельно. В некоторых вариантах осуществления миНК и средство для лечения заболевания печени вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления миНК вводят перед введением средства для лечения заболевания печени. В некоторых вариантах осуществления миНК вводят после введения средства для лечения заболевания печени. В некоторых вариантах осуществления миНК и средство для лечения заболеваний печени находятся в отдельных контейнерах. В некоторых вариантах осуществления миНК и средство для лечения заболеваний печени находятся в одном контейнере.

Определения

[0298] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют значение, обычно понятное специалисту в области, к которой относится данное раскрытие. Следующие ссылки предоставляют специалисту общее определение многих терминов, используемых в данном изобретении: Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed. 1994); The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988); The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al., (eds.), Springer Verlag (1991); и Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991). Используемые в данном документе следующие термины имеют значения, приписываемые им ниже, если не указано иное. Используемая в данном документе терминология предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения раскрытия.

[0299] Используемые здесь термины в единственном числе означают «один или более» и включают множественное число, если только контекст не является неуместным.

[0300] Используемые в данном документе термины «пациент» и «субъект» относятся к организмам, подлежащим лечению способами по настоящему изобретению. Такие организмы предпочтительно представляют собой млекопитающих (например, морских животных, обезьян, лошадей, крупного рогатого скота, морских свиней, псовых, кошек и т. п.) и, более предпочтительно, людей.

[0301] Используемый в данном документе термин «эффективное количество» относится к количеству соединения (например, миНК по настоящему изобретению), достаточному для достижения пригодных или желаемых результатов. Эффективное количество можно вводить за один или более приемов, способов применения или доз, и оно не предназначено для ограничения конкретным составом или путем введения.

[0302] Используемый в данном документе термин «лечение» включает любой эффект, например, ослабление, снижение, модулирование, улучшение или устранение, который приводит к улучшению состояния, заболевания, расстройства и т. п., или к облегчению их симптома.

[0303] Используемые в данном документе термины «облегчать» и «облегчающий» относятся к уменьшению тяжести состояния, такому как уменьшение тяжести, например, по меньшей мере на 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

[0304] Используемый в данном документе термин «фармацевтическая композиция» относится к комбинации активного агента с носителем, инертным или активным, что делает композицию особенно пригодной для диагностического или терапевтического применения *in vivo* или *ex vivo*.

[0305] Используемый в данном документе термин «фармацевтически приемлемый носитель» относится к любому из стандартных фармацевтических носителей, таких как забуференный фосфатом физиологический раствор, вода, эмульсии (например, такие как эмульсии типа масло/вода или вода/масло) и различные типы смачивающих агентов. Композиции также могут включать стабилизаторы и консерванты. Примеры носителей, стабилизаторов и адъювантов см., например, Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed., Mack Publ. Co., Истон, Пенсильвания [1975].

[0306] Термин «около», используемый в данном документе применительно к измеримому значению (например, весу, времени и дозе), предназначен для охвата вариаций, таких как ±10%, ±5% , ±1% или ±0,1% от указанного значения.

[0307] Используемый в данном документе термин «азотистое основание» относится к азотсодержащему биологическому соединению, которое образует нуклеозид. Примеры азотистых оснований включают, но не ограничиваются ими, тимин, урацил, аденин, цитозин, гуанин, арил, гетероарил и их аналог или производное.

[0308] На протяжении всего описания, если композиции описываются как имеющие, включающие или содержащие определенные компоненты, или причем процессы и способы описываются как имеющие или включающие определенные стадии, предполагается, что дополнительно, существуют композиции по настоящему изобретению, которые в основном состоят или состоят из указанных компонентов, и что существуют процессы и способы по настоящему изобретению, которые в основном состоят из или состоят из указанных стадий процесса.

[0309] Как правило, содержание в композициях, в которых указано процентное содержание, дано по массе, если не указано иное. Далее, если переменная не сопровождается определением, то управляет предыдущее определение переменной.

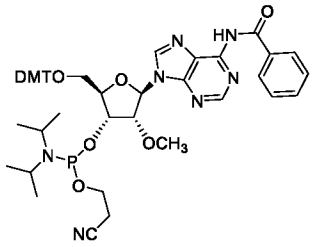
[0310] Все публикации и патенты, цитируемые в данном описании, включены в данное описание посредством ссылки, как если бы каждая отдельная публикация или патент были конкретно и индивидуально указаны для включения посредством ссылки и включены в данное описание посредством ссылки для раскрытия и описания способов и/или материалов, в связи с которыми публикации цитируются. Ссылка на любую публикацию предназначена для ее раскрытия до даты подачи и не должна толковаться как признание того, что настоящее изобретение не имеет права передавать такую публикацию в силу предшествующего изобретения. Кроме того, даты публикации могут отличаться от фактических дат публикации, которые, возможно, должны быть независимо подтверждены.

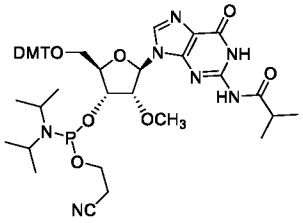
ПРИМЕРЫ

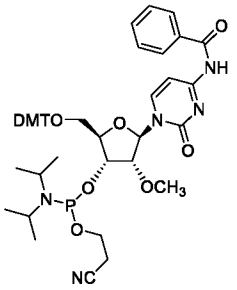
[0311] **Пример 1. Синтез миНК**

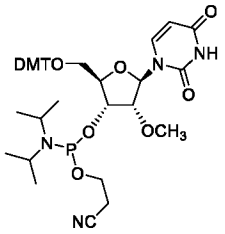
[0312] В данном примере описывается иллюстративный способ синтеза дц-миНК, таких как миНК, раскрытые в Таблице 6 (как указано № дц-миНК).

[0313] 2'-OMe фосфорамидит 5'-O-DMT-дезоксиаденозин (NH-Bz), 3'-O-(2-цианоэтил-N,N-диизопропилфосфорамидит, 5'-O-DMT-дезоксигуанозин (NH-ibu), 3'-O-(2-цианоэтил-N,N-диизопропилфосфорамидит, 5'-O-DMT-дезоксицитозин (NH-Bz), 3'-O-(2-цианоэтил-N,N-диизопропилфосфорамидит, 5'-O-DMT-уридин 3'-O-(2-цианоэтил-N,N-диизопропилфосфорамидит и твердые носители были приобретены у Chemgenes Corp. Массачусетс.



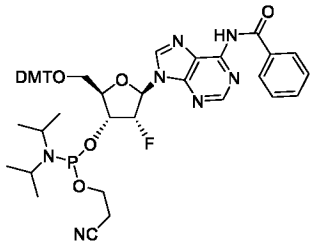


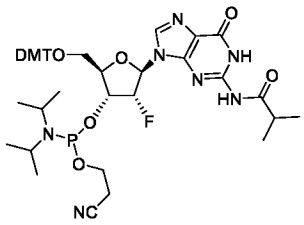


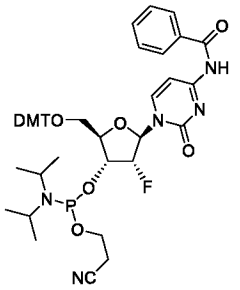


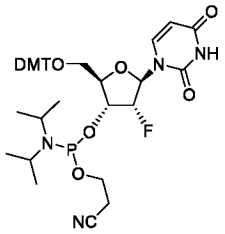
[0314] 2'-F –5'-O-DMT-(NH-Bz) аденозин-3'-O-(2-цианоэтил-N,N-диизопропилфосфорамидит, 2'-F-5'-O-DMT-(NH-ibu)-гуанозин, 3'-O-(2-цианоэтил-N ,N-диизопропилфосфорамидит, 5'-O-DMT-(NH-Bz)-цитозин, 2'-F–3'-O-(2-цианоэтил-N,N-диизопропилфосфорамидит, 5'-O-DMT-уридин, 2'-F-3'-O-(2-цианоэтил-N,N-диизопропилфосфорамидит и твердые носители были приобретены у Thermo Fischer Milwaukee Висконсин, США.

[0315]









[0316] Все мономеры высушивали в вакуум-эксикаторах с осушителями (P_2O_5, комн. темп. 24 ч). Твердые носители (CPG), присоединенные к нуклеозидам, и универсальные носители были получены от LGC и Chemgenes. Химические вещества и растворители для рабочего процесса после синтеза были приобретены из коммерческих источников, таких как VWR/Sigma, и использовались без какой-либо очистки или обработки. Растворитель (ацетонитрил) и растворы (амидит и активатор) во время синтеза хранили над молекулярными ситами.

[0317] Олигонуклеотиды синтезировали на синтезаторах ДНК/РНК (Expedite 8909 или ABI-394) с использованием стандартной химии фосфорамидитов олигонуклеотидов, исходя из 3'-остатка олигонуклеотида, предварительно загруженного на подложку CPG. Пролонгированное связывание 0,1 М раствора фосфорамидита в CH_3CN в присутствии активатора 5-(этилтио)-1*H*-тетразола со связанным на подложке олигонуклеотидом с последующим стандартным кэпированием, окислением и снятием защиты позволило получить модифицированные олигонуклеотиды. В качестве окислителя использовали 0,1М I_2, ТГФ:Пиридин;Вода – 7:2:1 DDTT ((диметиламино-метилиден)амино)-3H-1,2,4-дитиазаолин-3-тион использовали в качестве переносчика серы для синтеза олигорибонуклеотидных фосфоротиоатов. Ступенчатая эффективность связывания всех модифицированных фосфорамидитов превышала 98%.

Реагенты	Подробное описание
Деблокирующий раствор	3% Дихлоруксусная кислота (DCA) в дихлорметане (ДХМ)
Концентрация амидита	0,1 М в безводном ацетонитриле
Активатор	0,25 М этилтиотетразол (ETT)
Раствор кэп-А	Уксусный ангидрид в пиридине/ТГФ
Раствор кэп-В	16% 1-метилимидазол в ТГФ
Окисляющий раствор	0,02М I_2, ТГФ: Пиридин; вода – 7:2:1
Сульфирующий раствор	0,2 М DDTT в пиридине/ацетонитриле 1:1

[0318] Расщепление и снятие защиты:

[0319] Снятие защиты и отщепление от твердой подложки осуществляли смесью метиламина аммиака (1:1, AMA) в течение 15 мин при 65 °C, при использовании универсального линкера снятие защиты оставляли на 90 мин при 65 °C или твердые подложки нагревали с водным раствором аммиака (28%) при 55 °C в течение 16 ч для снятия защиты основных лабильных защитных групп.

[0320] Количественное определение неочищенного миНК или исходный анализ

[0321] Образцы растворяли в деионизированной воде (1,0 мл) и количественно определяли следующим образом: Бланкирование сначала выполняли с использованием

только воды (2 мкл) на Nanodrop, затем считывание образца Oligo было получено при 260 нм. Неочищенный материал сушили и хранили при -20 °C.

[0322] ВЭЖХ/ЖХ-МС анализ неочищенного вещества

[0323] 0,1 OD неочищенных образцов анализировали для ВЭЖХ и ЖХ-МС анализа неочищенного вещества. После подтверждения данных ЖХ-МС неочищенных веществ проводили стадию очистки.

[0324] Очистка ВЭЖХ

[0325] Неконъюгированные и модифицированные GalNac олигонуклеотиды очищали с помощью анионообменной ВЭЖХ. Буферы представляли собой 20 мМ фосфата натрия в 10 % CH_3CN, pH 8,5 (буфер A) и 20 мМ фосфата натрия в 10 % CH_3CN, 1,0 M NaBr, pH 8,5 (буфер B). Фракции, содержащие полноразмерные олигонуклеотиды, объединяли.

[0326] Обессоливание очищенной миНК

[0327] Очищенную высушенную миНК затем обессоливали с помощью Sephadex G-25 M (Amersham Biosciences). Картридж трижды подвергали обработке 10 мл деионизированной воды. Наконец, очищенную миНК, тщательно растворенную в 2,5 мл воды без РНКазы, наносили на картридж очень медленным элюированием по каплям. Обессоленную миНК элюировали 3,5 мл деионизированной воды непосредственно во флакон с завинчивающейся крышкой.

[0328] Анализ IEX ВЭЖХ и ЖХ-МС с электрораспылением

[0329] Приблизительно 0,10 OD миНК растворяли в воде, а затем пипетировали в специальные флаконы для анализа IEX-ВЭЖХ и ЖХ-МС. Аналитическая ВЭЖХ и ИЭР ЖХ-МС установили целостность соединений.

[0330] Получение дуплекса:

[0331] Одноцепочечные олигонуклеотиды (смысловые и антисмысловые цепи) отжигали (1:1 в молярных эквивалентах, нагревание 90 °C в течение 3 мин, затем комнатная температура, 20 мин) с получением дуплекса дц-миНК. Конечные соединения анализировали методом эксклюзионной хроматографии (SEC).

[0332] **Пример 2. Активность дц-миНК**

[0333] В этом примере исследуется активность дц-миНК, синтезированных в Примере 1.

[0334] Клетки HepG2.2.15 *Homo sapiens* культивировали в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM) (ATCC 30-2002), содержащей также 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS). Клетки инкубировали при 37 °C в атмосфере с 5% CO2 во влажном инкубаторе. Для трансфекции клеток HepG2.2.15 HBV, нацеливающим миРНК, клетки высевали с плотностью 15000 клеток/лунку в 96-луночные обычные планшеты для

тканевых культур. Трансфекцию клеток проводили с помощью RNAiMAX (Invitrogen/Life Technologies) согласно инструкции производителя. Эксперименты доза-реакция проводили с олигоконцентрациями 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,3125, 0,15625 и 0,07813 нМ. Для каждой обработки миРНК, нацеленной на HBV (например, дц-миРНК, идентифицированной по дц-миНК № в Таблице 6), параллельно трансфицировали четыре лунки, и из каждой лунки собирали данных для отдельных точек. После 24 часов инкубации с миРНК среду удаляли, клетки лизировали и анализировали с помощью набора зондов QuantiGene2.0 с разветвленной ДНК (рДНК), специфичного для генотипа D HBV (также называемого подтипом ayw вируса гепатита B, полный геном из 3182 пар оснований) как присутствует в клеточной линии HepG2.2.15.

[0335] Для каждой лунки уровни мРНК-мишени HBV нормализовали к уровню мРНК GAPDH. Как проиллюстрировано в Таблице 6, активность дц-миРНК, нацеленной на HBV, была выражена в виде EC50, 50% снижения нормализованного уровня РНК HBV при отсутствии лекарственного контроля. Как проиллюстрировано в Таблице 6, цитотоксичность дц-миРНК, нацеленной на HBV, была выражена в виде CC50 50% снижения мРНК GAPDH при отсутствии лекарственного контроля.

[0336] Пример 3. Применение дц-миНК для лечения инфекции, вызванной вирусом гепатита B

[0337] В данном примере дц-миНК, синтезированные в примере 1, применяют для лечения инфекции, вызванной вирусом гепатита B, у субъекта. Как правило, композицию, содержащую дц-миНК из таблицы 6 (определяемую по номеру дц-миНК) и фармацевтически приемлемый носитель, вводят субъекту, страдающему от вируса гепатита B. дц-миНК из таблицы 6 конъюгирована с N-ацетилгалактозамином. дц-миНК вводят в дозе от 0,3 до 5 мг/кг каждые три недели подкожно или внутривенно путем инфузии.

[0338] Пример 4. Клинические испытания дц-миНК для лечения гепатита B

[0339] В данном примере дц-миНК из таблиц 6A и 6B (идентифицированные по номеру дц-миНК) будут оцениваться на предмет безопасности и эффективности у здоровых добровольцев и пациентов с хроническим гепатитом B.

[0340] Разрабатываются дц-миНК для лечения хронического гепатита B (ХГВ) у взрослых. Исследование будет проводиться в 3 частях: фаза однократной восходящей дозы (SAD) у здоровых добровольцев (группа A), фаза однократной дозы (SD) у пациентов с ХГВ (группа B) и многократная возрастающая доза (MAD) фаза у больных ХГВ (группа C).

[0341] *Дизайн исследования*

Тип исследования :	Интервенционный (клинические испытания)
Предполагаемый набор участников:	50 участников
Распределение:	Рандомизированное
Модель интервенции:	Последовательное назначение
Описание модели интервенции:	Переход от фазы SAD к первой когорте в фазе MAD зависит от рассмотрения Комитетом по обзору безопасности (SRC) данных о безопасности и переносимости как минимум через 14 дней после введения дозы для всех HV, по меньшей мере, в первых 2 когортах SAD. SRC выберет одну (или более) хорошо переносимую(ые) дозу(ы) из фазы SAD для введения в фазы SD и MAD. На всех фазах исследования дозирование будет ступенчатым с использованием сигнальных участников, чтобы дать время для оценки безопасности до того, как дополнительные субъекты будут подвергаться воздействию исследуемого препарата.
Маскировка:	Тройная (участник, поставщик услуг, исследователь)
Описание маскировки:	Данное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование, в котором команда исследовательского центра, спонсор и участники не будут осведомлены о назначении лечения. Расслепленный фармацевт закроет каждый шприц перед транспортировкой к постели, чтобы гарантировать ослепление. Участники будут централизованно распределены для рандомизированного исследовательского вмешательства с использованием интерактивной системы голосового/веб-ответа (IVRS/IWRS).
Основная цель:	Лечение

[0342] *Группы и интервенции*

Группа	Интервенция/лечение
Экспериментальная: Когорта A1 дц-миНК Однократная доза, подкожное введение 0,1 мг/кг дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: дц-миНК дц-миНК представляет собой синтетический препарат, интерферирующий с рибонуклеиновой кислотой (РНКи), который состоит из двухцепочечных олигонуклеотидов, конъюгированных с лигандом N-ацетил-D-галактозамина (GalNAc). дц-миНК, стерильный раствор дц-миНК в концентрации 185 мг/мл в воде для инъекций (WFI).
Плацебо компаратор: Плацебо когорта A1 Однократная доза, подкожное введение 0,1 мг/кг плацебо для дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: Плацебо для дц-миНК Стерильный 9% физиологический раствор для инъекций. Другое название: Плацебо
Экспериментальная: Когорта A2 дц-миНК Однократная доза, подкожное введение 1,5 мг/кг дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: дц-миНК дц-миНК представляет собой синтетический препарат, интерферирующий с рибонуклеиновой кислотой (РНКи), который состоит из двухцепочечных олигонуклеотидов, конъюгированных с лигандом N-ацетил-D-

Группа	Интервенция/лечение
	галактозамина (GalNAc). дц-миНК, стерильный раствор дц-миНК в концентрации 185 мг/мл в воде для инъекций (WFI).
Плацебо компаратор: Плацебо когорта A2 Однократная доза, подкожное введение 1,5 мг/кг плацебо для дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: Плацебо для дц-миНК Стерильный 9% физиологический раствор для инъекций. Другое название: Плацебо
Экспериментальная: Когорта A3 дц-миНК Однократная доза, подкожное введение 3 мг/кг дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: дц-миНК дц-миНК представляет собой синтетический препарат, интерферирующий с рибонуклеиновой кислотой (РНКи), который состоит из двухцепочечных олигонуклеотидов, конъюгированных с лигандом N-ацетил-D-галактозамина (GalNAc). дц-миНК, стерильный раствор дц-миНК в концентрации 185 мг/мл в воде для инъекций (WFI).
Плацебо компаратор: Плацебо когорта A3 Однократная доза, подкожное введение 3 мг/кг плацебо для дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: Плацебо для дц-миНК Стерильный 9% физиологический раствор для инъекций. Другое название: Плацебо
Экспериментальная: Когорта A4 дц-миНК Однократная доза, подкожное введение 6 мг/кг дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: дц-миНК дц-миНК представляет собой синтетический препарат, интерферирующий с рибонуклеиновой кислотой (РНКи), который состоит из двухцепочечных олигонуклеотидов, конъюгированных с лигандом N-ацетил-D-галактозамина (GalNAc). дц-миНК, стерильный раствор дц-миНК в концентрации 185 мг/мл в воде для инъекций (WFI).
Плацебо компаратор: Плацебо когорта A4 Однократная доза, подкожное введение 6 мг/кг плацебо для дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: Плацебо для дц-миНК Стерильный 9% физиологический раствор для инъекций. Другое название: Плацебо
Экспериментальная: Когорта A5 дц-миНК Однократная доза, подкожное введение 12 мг/кг дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: дц-миНК дц-миНК представляет собой синтетический препарат, интерферирующий с рибонуклеиновой кислотой (РНКи), который состоит из двухцепочечных олигонуклеотидов, конъюгированных с лигандом N-ацетил-D-галактозамина (GalNAc). дц-миНК, стерильный раствор дц-миНК в концентрации 185 мг/мл в воде для инъекций (WFI).

Группа	Интервенция/лечение
Плацебо компаратор: Плацебо когорта A5 Однократная доза, подкожное введение 12 мг/кг плацебо для дц-миНК (HV)	Лекарственное средство: Плацебо для дц-миНК Стерильный 9% физиологический раствор для инъекций. Другое название: Плацебо
Экспериментальная: Когорта B дц-миНК Однократная доза, подкожное введение 3 мг/кг для дц-миНК (NUC наивный, ХГВ)	Лекарственное средство: дц-миНК дц-миНК представляет собой синтетический препарат, интерферирующий с рибонуклеиновой кислотой (РНКи), который состоит из двухцепочечных олигонуклеотидов, конъюгированных с лигандом N-ацетил-D-галактозамина (GalNAc). дц-миНК, стерильный раствор дц-миНК в концентрации 185 мг/мл в воде для инъекций (WFI).
Плацебо компаратор: Плацебо когорта B Однократная доза, подкожное введение 3 мг/кг плацебо для дц-миНК (NUC наивный, ХГВ)	Лекарственное средство: Плацебо для дц-миНК Стерильный 9% физиологический раствор для инъекций. Другое название: Плацебо
Экспериментальная: Когорта C1 дц-миНК 4 дозы- Подкожная инъекция 1,5 мг/кг дц-миНК каждые 28 дней (экспериментальный опыт NUC, ХГВ)	Лекарственное средство: дц-миНК дц-миНК представляет собой синтетический препарат, интерферирующий с рибонуклеиновой кислотой (РНКи), который состоит из двухцепочечных олигонуклеотидов, конъюгированных с лигандом N-ацетил-D-галактозамина (GalNAc). дц-миНК, стерильный раствор дц-миНК в концентрации 185 мг/мл в воде для инъекций (WFI).
Плацебо компаратор: Плацебо когорта C1 4 дозы - Подкожная инъекция 1,5 мг/кг плацебо для дц-миНК каждые 28 дней (экспериментальный опыт NUC, ХГВ)	Лекарственное средство: Плацебо для дц-миНК Стерильный 9% физиологический раствор для инъекций. Другое название: Плацебо
Экспериментальная: Когорта C2 дц-миНК 4 дозы - Подкожная инъекция 3 мг/кг дц-миНК каждые 28 дней (экспериментальный опыт NUC, ХГВ)	Лекарственное средство: дц-миНК дц-миНК представляет собой синтетический препарат, интерферирующий с рибонуклеиновой кислотой (РНКи), который состоит из двухцепочечных олигонуклеотидов, конъюгированных с лигандом N-ацетил-D-галактозамина (GalNAc). дц-миНК, стерильный раствор дц-миНК в концентрации 185 мг/мл в воде для инъекций (WFI).
Плацебо компаратор: Плацебо когорта C2	Лекарственное средство: Плацебо для дц-миНК Стерильный 9% физиологический раствор для инъекций. Другое название: Плацебо

Группа	Интервенция/лечение
4 дозы - Подкожная инъекция 3 мг/кг плацебо для дц-миНК каждые 28 дней (экспериментальный опыт NUC, ХГВ)	
Экспериментальная: Когорта С3 дц-миНК 4 дозы - Подкожная инъекция 6 мг/кг дц-миНК каждые 28 дней (экспериментальный опыт NUC, ХГВ)	Лекарственное средство: дц-миНК дц-миНК представляет собой синтетический препарат, интерферирующий с рибонуклеиновой кислотой (РНКи), который состоит из двухцепочечных олигонуклеотидов, конъюгированных с лигандом N-ацетил-D-галактозамина (GalNAc). дц-миНК, стерильный раствор дц-миНК в концентрации 185 мг/мл в воде для инъекций (WFI).
Плацебо компаратор: Плацебо когорта С3 4 дозы - Подкожная инъекция 6 мг/кг плацебо для дц-миНК каждые 28 дней (экспериментальный опыт NUC, ХГВ)	Лекарственное средство: Плацебо для дц-миНК Стерильный 9% физиологический раствор для инъекций. Другое название: Плацебо

[0343] *Критерии эффективности*

[0344] *Первичные критерии эффективности* :

[0345] Количество здоровых добровольцев с нежелательными явлениями по оценке CTCAE v5.0 [Временные рамки: 4 недели]

[0346] Количество участников с отклонениями показателей жизнедеятельности, электрокардиограммы (ЭКГ) и клинически значимых лабораторных данных

[0347] Количество участников с нецирротическим хроническим гепатитом В с нежелательными явлениями по оценке CTCAE v5.0 [Временные рамки: 16 недель]

[0348] Количество участников с отклонениями показателей жизнедеятельности, электрокардиограммы (ЭКГ) и клинически значимых лабораторных данных

[0349] *Вторичные критерии эффективности* :

[0350] Охарактеризовать фармакокинетику дц-миНК у здоровых добровольцев путем мониторинга профилей фармакокинетики в плазме [Временные рамки: 4 недели] Измерить количество дц-миНК, выделяемой с мочой

[0351] Охарактеризовать фармакокинетику дц-миНК у здоровых добровольцев путем мониторинга концентраций [Временные рамки: 4 недели]

[0352] Измерить величину почечного клиренса дц-миНК (CLR).

[0353] Охарактеризовать фармакокинетику дц-миНК у участников с нецирротическим ХГВ путем мониторинга профилей фармакокинетики дц-миНК в плазме крови. [Временные рамки: 12 недель]

[0354] Измерить количество дц-миНК, выделяемой с мочой

[0355] Охарактеризовать фармакокинетику дц-миНК у участников с нецирротическим ХГВ путем мониторинга концентраций дц-миНК. [Временные рамки: 12 недель]

[0356] Измерить почечный клиренс дц-миНК (CLR).

[0357] Другие критерии эффективности:

[0358] Оценить предварительную противовирусную эффективность дц-миНК у участников с ХГВ путем мониторинга изменений уровня HBsAg в сыворотке крови (все участники групп B и C) во время и после однократного приема и в течение 12 недель лечения DCR HBVS. [Временные рамки: 12 недель]

[0359] Доля участников, достигших по меньшей мере 1-логарифмического снижения уровня HBsAg и достижения уровня HBsAg < 100 МЕ/мл на последнем запланированном визите Время до потери HBsAg (Каплан-Майер) Время до анти-HBs сероконверсии

[0360] Оценить предварительную противовирусную эффективность дц-миНК у участников с ХГВ путем мониторинга уровней HBeAg (только у участников с HBeAg+) во время и после однократного приема и в течение 12 недель лечения DCR HBVS. [Временные рамки: 12 недель]

[0361] % участников с потерей HBeAg и анти-HBe на последнем запланированном визите (если HBeAg положительный при включении в исследование)

[0362] Оценить предварительную противовирусную эффективность дц-миНК у участников с ХГВ путем мониторинга уровней ДНК HBV (все участники групп B и C) во время и после однократного приема и в течение 12 недель лечения DCR HBVS. [Временные рамки: 12 недель]

[0363] Доля участников, достигших уровня ДНК HBV < 2000 МЕ/мл (если > 2000 МЕ/мл на исходном уровне); и доля участников, у которых ДНК HBV не обнаруживается с помощью ПЦР (если ДНК HBV обнаруживалась на исходном уровне).

[0364] Охарактеризовать фармакодинамику (ФД) дц-миНК на уровни HBsAg в плазме и HBV в крови. [Временные рамки: 12 недель]

[0365] Отслеживание продолжительности любых наблюдаемых эффектов эффективности после лечения.

[0366] Критерии отбора

Возраст, подходящий для исследования:	От 18 до 65 лет (взрослые, пожилые люди)
Пол, подходящий для исследования:	Все
Принимает здоровых добровольцев:	Да

[0367] *Критерии включения:*

[0368] Здоров на момент скрининга по результатам медицинского освидетельствования.

[0369] Способен дать информированное согласие.

[0370] ЭКГ в 12 отведениях в пределах нормы или без клинически значимых отклонений.

[0371] Отрицательный скрининг на алкоголь или наркотики.

[0372] Некурящие в течение как минимум 3 месяцев с отрицательной концентрацией котинина в моче при скрининге.

[0373] ИМТ в пределах 18,0–32,0 кг/м2 (включительно).

[0374] Женщины-участницы, не беременные, не кормящие грудью, не способные к деторождению и не желающие следовать рекомендациям по контрацепции.

[0375] Хроническая инфекция гепатита B (только группы B и C).

[0376] Клинический анамнез соответствует компенсированному заболеванию печени без признаков цирроза (только группы B и C).

[0377] Непрерывная терапия нуклеотидами (NUC) в течение как минимум 12 недель до скрининга (только группа C).

[0378] Критерий исключения:

[0379] Любое заболевание в анамнезе, которое может помешать всасыванию, распределению или выведению исследуемого препарата.

[0380] Плохо контролируемая или нестабильная артериальная гипертензия.

[0381] История сахарного диабета, леченного инсулином или гипогликемическими средствами.

[0382] История астмы, требующая госпитализации в течение предшествующих 12 месяцев.

[0383] Доказательства дефицита G-6-PD.

[0384] В настоящее время плохо контролируемые эндокринные заболевания, за исключением заболеваний щитовидной железы.

[0385] История множественной лекарственной аллергии или история аллергической реакции на олигонуклеотид или GalNAc.

[0386] Клинически значимый хирургический анамнез.

[0387] Применение рецептурных препаратов (за исключением контрацепции для женщин) в течение 4 недель до проведения исследуемого вмешательства.

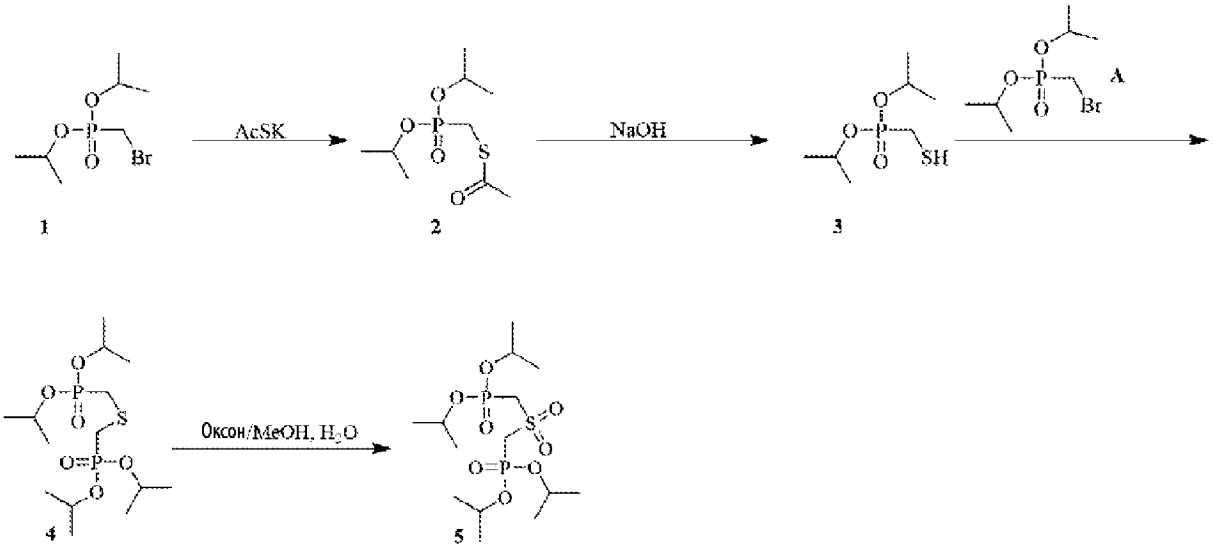
[0388] Применение клинически значимых безрецептурных лекарств или добавок (за исключением обычных витаминов) в течение 7 дней после первого приема.

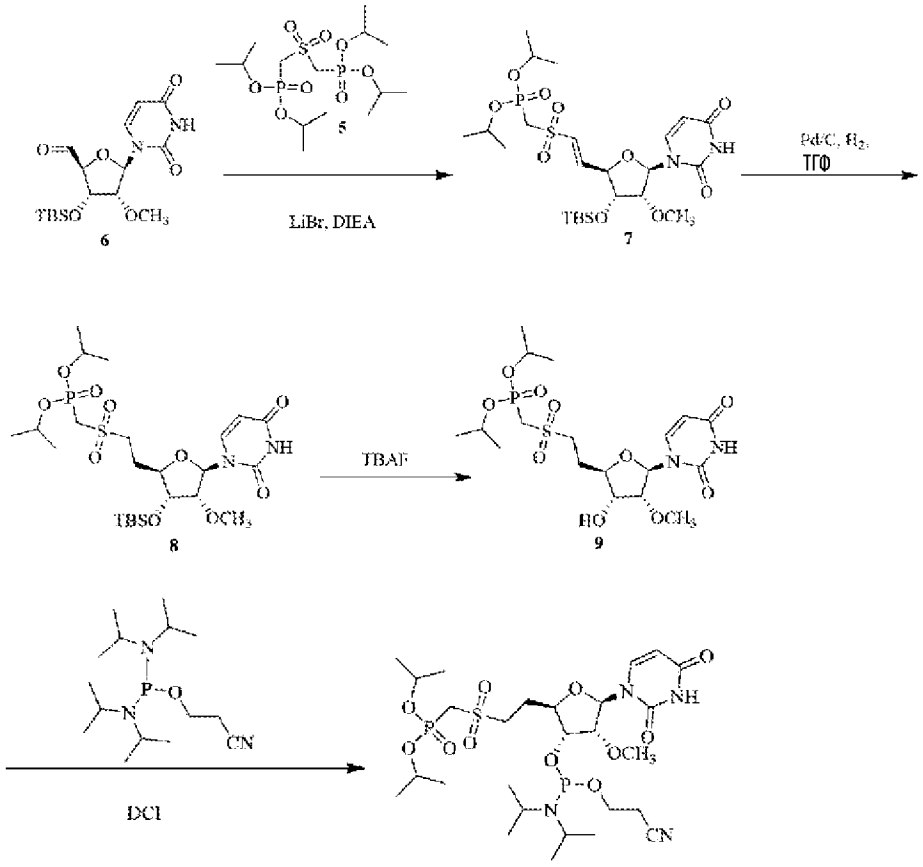
[0389] Получал исследуемый агент в течение 3 месяцев до дозирования или находится в процессе наблюдения за другим исследованием.

[0390] Противовирусная терапия (кроме энтекавира или тенофовира) в течение 3 месяцев после скрининга или лечение интерфероном в течение последних 3 лет (только группы B и C).

[0391] Применение в течение последних 6 месяцев антикоагулянтов или системно вводимых кортикостероидов, иммуномодуляторов или иммунодепрессантов (только группы B и C).

[0392] **Пример 5: Синтез мономера 5'-концевого кэпа**





Мономер примера 5

Схема синтеза мономера примера 5

[0393] Получение **(2)**: К раствору **1** (15 г, 57,90 ммоль) в ДМФА (150 мл) добавляли AcSK (11,24 г, 98,43 ммоль) и TBAI (1,07 г, 2,89 ммоль), и смесь перемешивали при 25 °C в течение 12 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, смесь разбавляли H_2O (10 мл) и экстрагировали EA (200 мл * 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (200 мл * 3), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением **2** (14,5 г, выход 96,52%, чистота 98%) в виде бесцветного масла. ИЭР-ЖХ-МС: 254,28 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ = 4,78 - 4,65 (м, 2H), 3,19 (д, *J*=14,1 Гц, 2H), 2,38 (с, 3H), 1,32 (т, *J*=6,7 Гц, 12H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, $CDCl_3$) δ = 20,59.

[0394] Получение **(3)**: К раствору **2** (14,5 г, 57,02 ммоль) в CH_3CN (50 мл) и MeOH (25 мл) добавляли NaOH (3 M, 28,51 мл), и смесь перемешивали при 25 °C в течение 12 ч ватмосфере Ar. После завершения по данным ТСХ, реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления CH_3CN и CH_3OH. Остаток разбавляли водой (50 мл) и доводили pH=7 с помощью 6M HCl, и смесь экстрагировали EA (50 мл * 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл * 3), сушили над

безводным Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением **3** (12,1 г, неочищенное вещество) в виде бесцветного масла.

[0395] Получение **(4)**: К раствору **3** (12,1 г, 57,01 ммоль) в CH_3CN (25 мл) и MeOH (25 мл) добавляли **A** (14,77 г, 57,01 ммоль) по каплям при 25 °C, и смесь перемешивали при 25 °C в атмосфере Ar в течение 12 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением **4** (19,5 г, выход 78,85%) в виде бесцветного масла. ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ = 4,80 - 4,66 (м, 4H), 2,93 (д, *J*=11,3 Гц, 4H), 1,31 (дд, *J*=3,9, 6,1 Гц, 24H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, $CDCl_3$) δ = 22,18.

[0396] Получение **(5):** К раствору **4** (19,5 г, 49,95 ммоль) в MeOH (100 мл) и H_2O (100 мл) порциями добавляли оксон (61,41 г, 99,89 ммоль) при 25 °C, и смесь перемешивали при 25 °C в течение 12 ч в атмосфере Ar. По завершении, по данным ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении для удаления MeOH. Остаток экстрагировали EA (50 мл *3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл * 3), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Неочищенный продукт растирали с i-Pr_2O и н-гексаном (1:2, 100 мл) при 25 °C в течение 30 мин с получением **5** (15,6 г, выход 73,94%) в виде твердого вещества белого цвета. ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ = 4,92 - 4,76 (м, 4H), 4,09 (д, *J*=16,1 Гц, 4H), 1,37 (дд, *J*=3,5, 6,3 Гц, 24H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, $CDCl_3$) δ = 10,17.

[0397] Получение **(7)**: К смеси **5** (6,84 г, 16,20 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляли LiBr (937,67 мг, 10,80 ммоль) до растворения с последующим добавлением DIEA (1,40 г, 10,80 ммоль, 1,88 мл) в атмосфере аргона при 15 °C. Смесь перемешивали при 15 °C в течение 15 мин. Добавляли **6** (4 г, 10,80 ммоль). Смесь перемешивали при 15 °C в течение 3 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь гасили добавлением H_2O (40 мл) и экстрагировали EA (40 мл * 3). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл), сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией с обращенной фазой (120 г колонка C–18, градиент элюента 0~60% ACN/H_2O @ 80 мл/мин) с получением **7** (5,7 г, выход 61,95%) в виде бесцветного масла. ИЭР-ЖХ-МС: 611,2 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$); δ = 9,26 (с, 1H), 7,50 (д, *J*=8,1 Гц, 1H), 7,01 (с, 2H), 5,95 (д, *J*=2,7 Гц, 1H), 5,80 (дд, *J*=2,1, 8,2 Гц, 1H), 4,89 - 4,72 (м, 2H), 4,66 (д, *J*=7,2 Гц, 1H), 4,09 - 4,04 (м, 1H), 3,77 (дд, *J*=2,7, 4,9 Гц, 1H), 3,62 (д, *J*=3,1 Гц, 1H), 3,58 (д, *J*=3,1 Гц, 1H), 3,52 (с, 3H), 1,36 (тд, *J*=1,7, 6,1 Гц, 12H), 0,92 (с, 9H), 0,12 (с, 6H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, $CDCl_3$) δ = 9,02

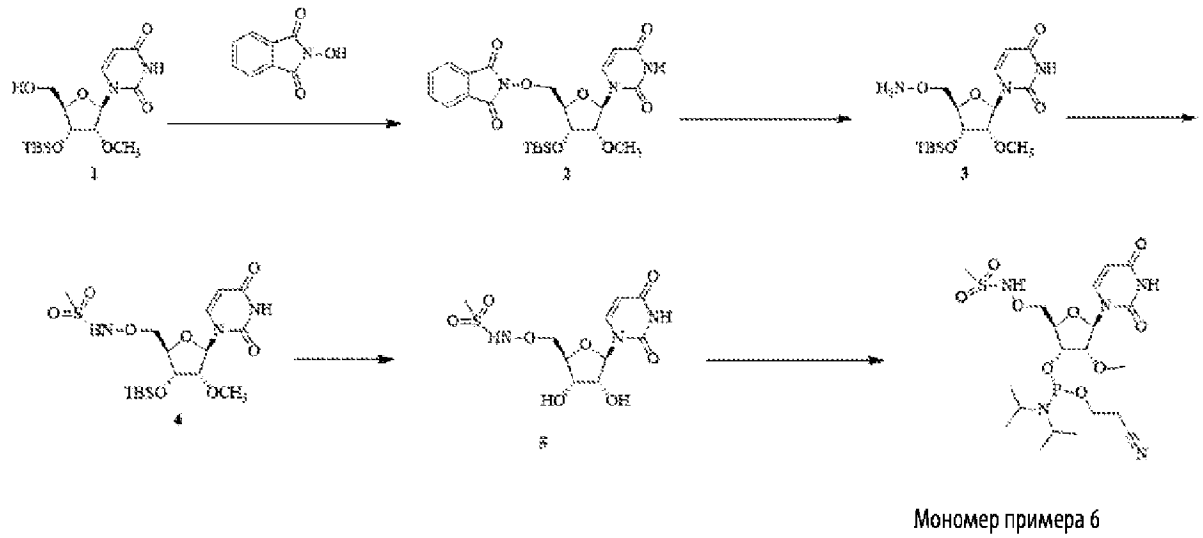
[0398] Получение **(8)**: К смеси **7** (5,4 г, 8,84 ммоль) в ТГФ (80 мл) добавляли Pd/C (5,4 г, чистота 10%) в атмосфере N_2. Суспензию дегазировали в вакууме и несколько раз продували H_2. Смесь перемешивали в атмосфере H_2 (15 фунтов на кв. дюйм) при 20 °C в течение 1 ч. По завершении, по данным ЖХ-МС, реакционную смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали с получением **8** (5,12 г, выход 94,5%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 613,3 $[M+H]^+$; Н ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 9,31 (с, 1Н), 7,37 (д, *J*=8,0 Гц, 1Н), 5,80 - 5,69 (м, 2Н), 4,87 - 4,75 (м, 2Н), 4,11 - 4,00 (м, 1Н), 3,93 - 3,85 (м, 1Н), 3,80 - 3,74 (м, 1Н), 3,66 - 3,60 (м, 1Н), 3,57 - 3,52 (м, 1Н), 3,49 (с, 3Н), 3,46 - 3,38 (м, 1Н), 2,35 - 2,24 (м, 1Н), 2,16 - 2,03 (м, 1Н), 1,89 - 1,80 (м, 1Н), 1,37 - 1,34 (м, 12Н), 0,90 (с, 9Н), 0,09 (с, 6Н); ^{31}Р ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 9,41.

[0399] Получение **(9)**: К раствору **8** (4,4 г, 7,18 ммоль) в ТГФ (7,2 мл) добавляли TBAF (1 М, 7,18 мл), и смесь перемешивали при 20 °C в течение 1 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь разбавляли H_2O (50 мл) и экстрагировали ЕА (50 мл*4). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 40 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~5%, МеОН/ДХМ @ 40 мл/мин) с получением **9** (3,2 г, выход 88,50%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 499,2 $[M+H]^{+1}$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 9,21 (с, 1Н), 7,36 (д, *J*=8,3 Гц, 1Н), 5,81 - 5,72 (м, 2Н), 4,88 - 4,74 (м, 2Н), 3,99 - 3,87 (м, 2Н), 3,84 (дд, *J*=1,9, 5,4 Гц, 1Н), 3,66 - 3,47 (м, 7Н), 2,98 (с, 1Н), 2,44 - 2,15 (м, 2Н), 1,36 (д, *J*=6,0 Гц, 12Н); ^{31}Р ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 9,48.

[0400] **Получение (мономер примера 5)**: К смеси **9** (3,4 г, 6,82 ммоль, 1 экв.) и 4А MS (3,4 г) в MeCN (50 мл) добавляли **P1** (2,67 г, 8,87 ммоль, 2,82 мл, 1,3 экв.) при 0 °C с последующим добавлением 1Н-имидазол-4,5-дикарбонитрила (886,05 мг, 7,50 ммоль) при 0 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь гасили добавлением насыщенного водн. $NaHCO_3$ (50 мл) и разбавили ДХМ (100 мл). Органический слой промывали насыщенным водн. раствором $NaHCO_3$ (50 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ: колонка: YMC-Triart Prep C18 250*50 мм*10 мкм; подвижная фаза: [вода (10 мМ NH_4HCO_3)-ACN]; В%: 15% с получением содержащего примеси продукта. Продукт с примесями дополнительно очищали на колонке с силикагелем (от 0% до 5% i-PrOH в ДХМ с 0,5% ТЕА) с получением мономера примера 5 (2,1 г, выход 43,18%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 721,2 $[M+Na]^+$; Н ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 9,29 (с,1Н), 7,45 (д,

J=8,1 Гц, 1H), 5,81 (д, *J*=4,2 Гц, 1H), 5,65 (д, *J*=8,1 Гц, 1H), 4,79 - 4,67 (м, 2H), 4,26 - 4,05 (м, 2H), 4,00 - 3,94 (м, 1H), 3,89 - 3,63 (м, 6H), 3,53 - 3,33 (м, 5H), 2,77 - 2,61 (м, 2H), 2,31 - 2,21 (м, 1H), 2,16 - 2,07 (м, 1H), 1,33 - 1,28 (м, 12H), 1,22 - 1,16 (м, 1H), 1,22 - 1,16 (м, 11H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 149,89, 149,78, 10,07, 10,02.

[0401] Пример 6. Синтез мономера 5'-концевого кэпа



Мономер примера 6

Схема синтеза мономера примера 6

[0402] Получение **(2)**: К раствору **1** (5 г, 13,42 ммоль) в ДМФА (50 мл) добавляли PPh_3 (4,58 г, 17,45 ммоль) и 2-гидроксиизоиндолин-1,3-дион (2,85 г, 17,45 ммоль) с последующим добавлением раствора DIAD (4, 07 г, 20. 13 ммоль, 3,91 мл) в ДМФА (10 мл) по каплям при 15 °C. Полученный раствор перемешивали при 15 °C в течение 18 ч. Затем реакционную смесь разбавляли ДХМ (50 мл), промывали H_2O (60 мл*3) и солевым раствором (30 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и выпарили с получением остатка. Остаток затем растирали с EtOH (55 мл) в течение 30 мин, а собранный порошок белого цвета промывали EtOH (10 мл*2) и сушили с получением **2** (12,2 г, выход 85, 16%) в виде порошка белого цвета (реакцию проводили в двух повторах и порции объединяли) ИЭР-ЖХ-МС: 518,1 $[M+H]^+$.

[0403] Получение **(3)**: **2** (6 г, 11,59 ммоль) суспендировали в MeOH (50 мл), а затем $NH_2NH_2.H_2O$ (3,48 г, 34, 74 ммоль, 3,38 мл, чистота 50%) добавляли по каплям при 20 °C. Реакционную смесь перемешивали при 20 °C в течение 4 ч. По завершении реакции реакционную смесь разбавляли EA (20 мл) и промывали $NaHCO_3$ (10 мл*2) и солевым раствором (10 мл). Объединенные органические слои затем сушили над Na_2SO_4, фильтровали и выпарили с получением **3** (8,3 г, выход 92,5%) в виде порошка белого цвета. (Реакцию ставили параллельно в двух повторах и порции объединяли). ИЭР-ЖХ-МС: 388,0 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400МГц, ДМСО-d_6) δ =11,39 (шир. с, 1H), 7,72 (д, *J*=8,1 Гц,

1H), 6,24 - 6,09 (м, 2H), 5,80 (д,*J*=4,9 Гц, 1H), 5,67 (д, *J*=8,1 Гц,1H), 4,26 (т, *J*=4,9 Гц, 1H), 4,03 –3,89 (м, 1H), 3,87 - 3,66 (м, 3H),3,33 (с, 3H), 0,88 (с, 9H), 0,09 (д, *J*=1,3 Гц, 6H)

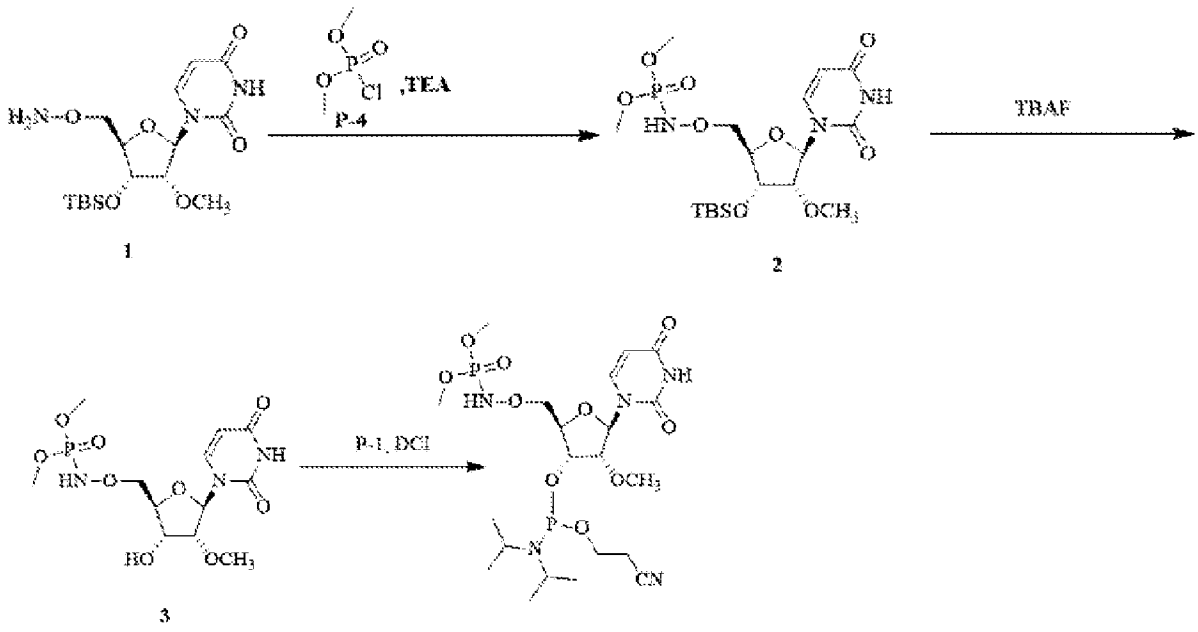
[0404] Получение **(4)**: К раствору **3** (7 г, 18,06 ммоль) и Ру (1,43 г, 18,06 ммоль, 1,46 мл) в ДХМ (130 мл) добавляли раствор MsCl (2,48 г, 21,68 ммоль, 1, 68 мл) в ДХМ (50 мл) по каплям при –78°C в атмосфере N_2. Реакционную смесь оставляли нагреваться до 15 °C за 30 мин и перемешивали при 15 °C в течение 3 ч. Реакционную смесь гасили добавлением ледяной воды (70 мл) при 0 °C, а затем экстрагировали ДХМ (50 мл * 3). Объединенные органические слои промывали насыщенным водн. $NaHCO_3$ (50 мл) и солевым раствором (30 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 30 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~20% i-PrOH/ДХМ @ 30 мл/мин с получением **4** (6,9 г, выход 77,94%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 466,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,41 (шир. с, 1H), 10. 15 (с, 1H), 7. 69 (д, J=8,1 Гц, 1H), 5,80 (д, J=4,4 Гц, 1H), 5,65 (д, J=8. 1 Гц, 1H), 4,24 (т, J=5,2 Гц, 1H), 4,16 - 3,98 (м, 3H), 3. 87 (т, J=4,8 Гц, 1H), 3,00 (с, 3H), 2,07 (с, 3H), 0,88 (с, 9H), 0. 10 (д, J=1,5 Гц, 6H)

[0405] Получение **(5)**: К раствору **4** (6,9 г, 14,82 ммоль) в ТГФ (70 мл) добавляли TBAF (1 М, 16,30 мл) при 15 °C. Реакционную смесь перемешивали при 15 °C в течение 18 ч, а затем выпаривали с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 24 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~9% MeOH/Этилацетат @ 30 мл/мин) с получением **5** (1,8 г, выход 50,8%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 352,0 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,40 (с, 1H), 10,13 (с, 1H), 7,66 (д, *J*=8,1 Гц, 1H), 5,83 (д, *J*=4. 9 Гц, 1H), 5,65 (дд, *J*=1. 8, 8. 1 Гц, 1H), 5,36 (д, *J*=6. 2 Гц, 1H), 4,13 - 4,00 (м, 4H), 3. 82 (т, *J*=5,1 Гц, 1H), 3,36 (с, 3H), 3,00 (с, 3H)

[0406] Получение **(Пример 6 мономер)**: К смеси **5** (3 г, 8,54 ммоль) и DIEA (2,21 г, 17,08 ммоль, 2,97 мл) в ACN (90 мл) добавляли **P2** (3,03 г, 12,81 ммоль) по каплям при 15 °C. Реакционную смесь перемешивали при 15 °C в течение 5 ч. По завершении реакции реакционную смесь разбавляли EA (40 мл) и погасили 5% $NaHCO_3$ (20 мл). Органический слой промывали солевым раствором (30 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и выпарили с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 12 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~15% i-PrOH/(ДХМ с 2% TEA) @ 20 мл/мин) с получением **мономера пример 6** (2,1 г, выход 43,93%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 552,3 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 8,78 (шир. с, 1H), 7,57 (дд, J=4,6, 8,2 Гц, 1H), 5,97 - 5,80 (м, 1H), 5,67 (д,

J=8. 3Гц, 1H), 4,46 - 4,11 (м, 4H), 3,95 –3,58 (м, 5H), 3,44 (д, J=16. 3 Гц, 3H), 3,02 (д, J=7. 5 Гц, 3H), 2. 73 -2,59 (м, 2H), 1,23 - 1,15 (м, 12H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 150,30, 150,10

[0407] **Пример 7: Синтез мономера 5'-концевого кэпа**



Мономер примера 7

Схема синтеза мономера примера 7

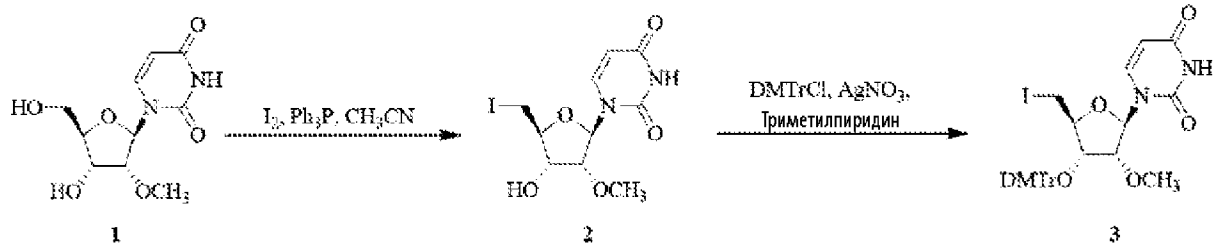
[0408] Получение **(2):** К раствору **1** (5 г, 12,90 ммоль) и TEA (1,57 г, 15,48 ммоль, 2,16 мл) в ДХМ (50 мл) добавляли **P–4** (2,24 г, 15,48 ммоль, 1,67 мл) в ДХМ (10 мл) по каплям при 15 °C в атмосфере N_2. Реакционную смесь перемешивали при 15 °C в течение 3 ч. После завершения по данным ЖХ-МС и ТСХ (PE: EtOAc = 0:1), реакционную смесь концентрировали досуха, разбавляли H_2O (20 мл) и экстрагировали EA (50 мл*3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (30 мл*3), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 40 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~95% этилацетат/петролейный эфир @ 60 мл/мин) с получением **2** (5,3 г, выход 71,3%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 496,1 $[M+H]^+$; H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ= 0,10 (д, J=4,02 Гц, 6 H) 0,91 (с, 9 H) 3,42 - 3,54 (м, 3 H) 3,65 - 3,70 (м, 1 H) 3,76 - 3,89 (м, 6 H) 4,00 (дд, J=10,92, 2,89 Гц, 1 H) 4,08 - 4,13 (м, 1 H) 4,15 - 4,23 (м, 2 H) 5,73 (дд, J=8,28, 2,01 Гц, 1 H) 5,84 (д, J=2,76 Гц, 1 H) 6,86 (д, J=15,81 Гц, 1 H) 7,72 (д, J=8,03 Гц, 1 H) 9,10 (с, 1 H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 9,65

[0409] Получение **(3):** К раствору **2** (8,3 г, 16,75 ммоль) в ТГФ (50 мл) добавляли TBAF (1 М, 16,75 мл) и CH_3COOH (1,01 г, 16,75 ммоль, 957,95 мкл). Смесь перемешивали при 20

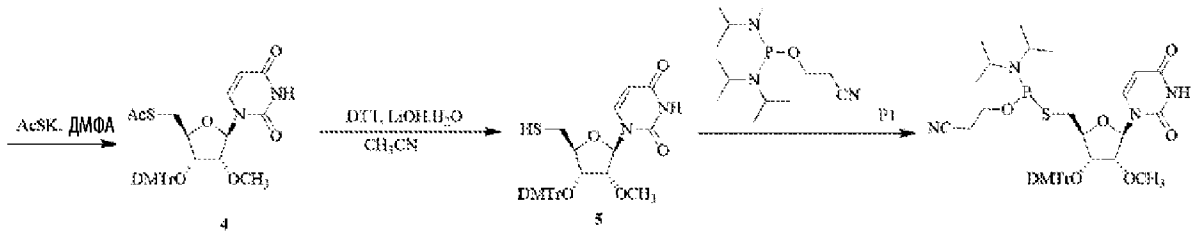
°C в течение 12 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (SiO_2, PE: EA = 0~100%; MeOH /EA= 0~10%) с получением **3** (5 г, выход 77,51%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 382,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ= 3,35 (с, 3 H) 3,65 (шир. д, *J*=2,76 Гц, 3 H) 3,68 (д, *J*=2,76 Гц, 3 H) 3,77 (т, *J*=5,08 Гц, 1 H) 3,84 - 4,10 (м, 4 H) 5,33 (шир. д, *J*=5,52 Гц, 1 H) 5,62 (д, *J*=7,77 Гц, 1 H) 5,83 (д, *J*=4,94 Гц, 1 H) 7,69 (д, *J*=7,71 Гц, 1 H) 9,08 (д, *J*=16,81 Гц, 1 H) 11,39 (шир. с, 1 H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 15,41

[0410] Получение **(мономера примера 7):** К раствору **3** (2 г, 5,25 ммоль) и DIPEA (2,03 г, 15,74 ммоль, 2,74 мл, 3 *экв.*) в MeCN (21 мл) и пиридине (7 мл) добавляли **P2** (1,86 г, 7,87 ммоль) по каплям при 20 °C, и смесь перемешивали при 20 °C в течение 3 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь разбавляли водой (20 мл) и экстрагировали EA (50 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (30 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 25 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~45% (градиент этилацетат: EtOH=4:1)/петролейный эфир) с получением **мономера примера 7** (1,2 г, выход 38,2%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 604,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ= 1,12 - 1,24 (м, 12 H) 2,61 - 2,77 (м, 2 H) 3,43 (д, J=17,64 Гц, 3 H) 3,59 - 3,69 (м, 2 H) 3,71 - 3,78 (м, 6 H) 3,79 - 4,14 (м, 5 H) 4,16 - 4,28 (м, 1 H) 4,29 - 4,42 (м, 1 H) 5,59 - 5,72 (м, 1 H) 5,89 (т, J=4,53 Гц, 1 H) 7,48 (шир. д, J=12,76 Гц, 1 H) 7,62 - 7,74 (м, 1 H) 9,26 (шир. с, 1 H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 150,57, 149,96, 9,87

[0411] **Пример 8: Синтез мономера 5'-концевого кэпа**



1 2 3



Мономер примера 8

Схема синтеза мономера примера 8

[0412] Получение **(2):** К раствору **1** (30 г, 101,07 ммоль, чистота 87%) в CH_3CN (1,2 л) и Ру (60 мл) добавляли I_2 (33,35 г, 131,40 ммоль, 26,47 мл) и PPh_3 (37,11 г, 141,50 ммоль) одной порцией при 10 °С. Реакционную смесь перемешивали при 25 °С в течение 48 ч. По завершении смесь разбавляли насыщенным водн. раствором $Na_2S_2O_3$ (300 мл) и насыщенным водн. раствором $NaHCO_3$ (300 мл), концентрировали для удаления CH_3CN и экстрагировали EtOAc (300 мл * 3). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 330 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~60% Метанол/Дихлорметан @ 100 мл/мин) с получением **2** (28,2 г, выход 72%) в виде твердого вещества коричневого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 369,1 $[M+H]^+$; Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,43 (с, 1Н), 7,68 (д, *J*=8,1 Гц, 1Н), 5,86 (д, *J*=5,5 Гц, 1Н), 5,69 (д, *J*=8,1 Гц, 1Н), 5,46 (д, *J*=6,0 Гц, 1Н), 4,08 - 3,96 (м, 2Н), 3,90 - 3,81 (м, 1Н), 3,60 - 3,51 (м, 1Н), 3,40 (дд, *J*=6,9, 10,6 Гц, 1Н), 3,34 (с, 3Н).

[0413] Получение **(3):** К данному раствору **2** (12 г, 32,6 ммоль) в ДХМ (150 мл) добавляли $AgNO_3$ (11,07 г, 65,20 ммоль), 2,4,6-триметилпиридин (11,85 г, 97,79 ммоль, 12,92 мл) и DMTCl (22,09 г, 65,20 ммоль) при 10 °С, и реакционную смесь перемешивали при 10 °С в течение 16 ч. По завершении реакции смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 120 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~50% Этилацетат/Петролейный эфир@ 60 мл/мин) с получением **3** (17 г, выход 70,78%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 693,1 $[M+Na]^{+1}$; Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,46 (с, 1Н), 7,60 (д, *J*=8,4 Гц, 1Н), 7,49 (д, *J*=7,2 Гц, 2Н), 7,40 - 7,30 (м, 6Н), 7,29 - 7,23 (м, 1Н), 6,93 (д, *J*=8,8 Гц, 4Н), 5,97 (д, *J*=6,0 Гц, 1Н), 5,69 (д, *J*=8,0 Гц, 1Н), 4,05 - 4,02 (м, 1Н), 3,75 (д, *J*=1,2 Гц, 6Н), 3,57 (т, *J*=5,6 Гц, 1Н), 3,27 (с, 4Н), 3,06 (т, *J*=10,4 Гц, 1Н), 2,98 - 2,89 (м, 1Н).

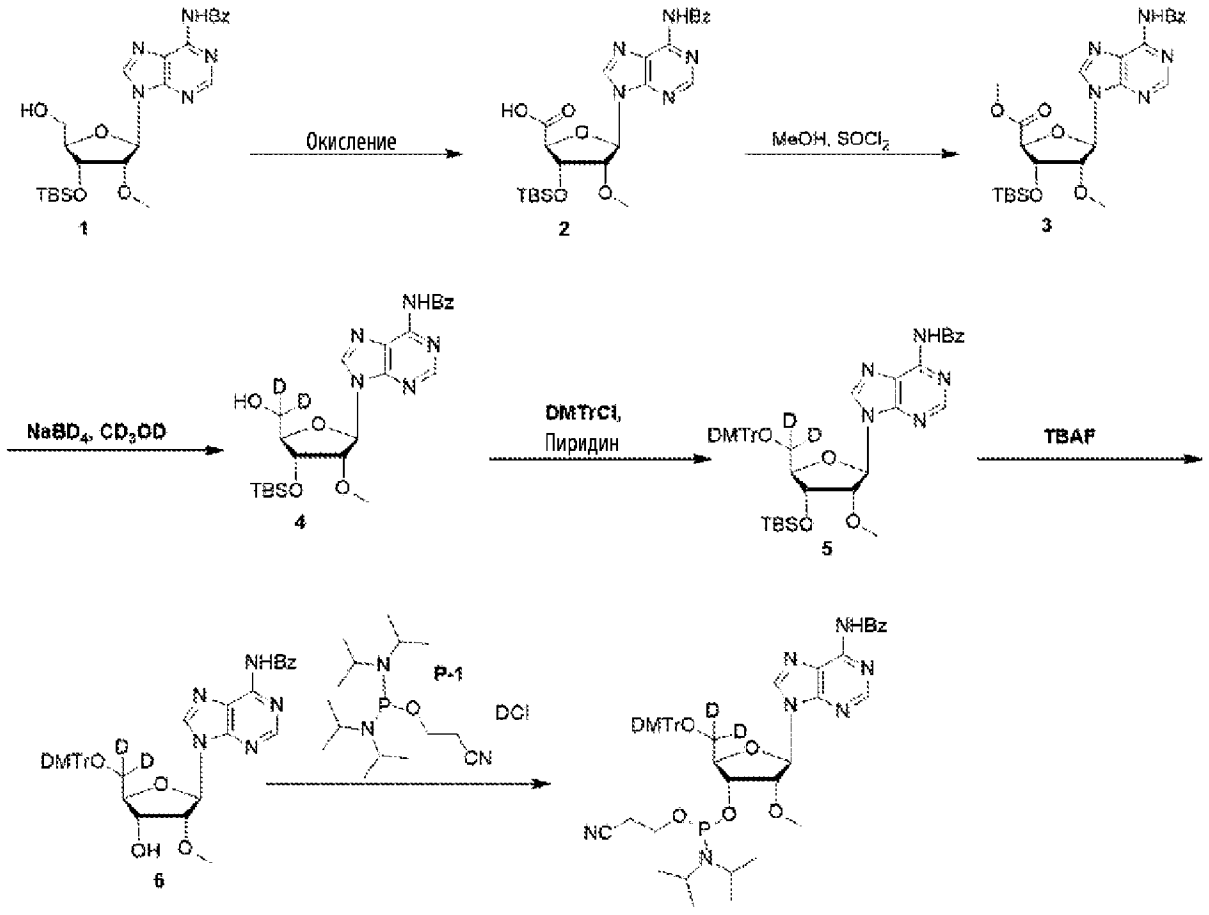
[0414] Получение **(4):** К раствору **3** (17 г, 25,35 ммоль) в ДМФА (200 мл) добавляли AcSK (11,58 г, 101,42 ммоль) при 25 °С, и реакционную смесь перемешивали при 60 °С в

течение 2 ч. Смесь разбавляли H_2O (600 мл) и экстрагировали EtOAc (300 мл * 4). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (300 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением **4** (15,6 г, неочищенное вещество) в виде твердого вещества коричневого цвета, которое использовали непосредственно без дополнительной очистки. ИЭР-ЖХ-МС: 641,3 $[M+H]^+$.

[0415] Получение (**5**): К раствору **4** (15,6 г, 25,21 ммоль) в CH_3CN (200 мл) добавляли DTT (11,67 г, 75,64 ммоль, 11,22 мл) и $LiOH.H_2O$ (1,06 г, 25,21 ммоль) при 10 °C в атмосфере Ar. Реакционную смесь перемешивали при 10 °C в течение 1 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления CH_3CN, и остаток разбавляли H_2O (400 мл) и экстрагировали EtOAc (200 мл * 3). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 220 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~60% этилацетат/петролейный эфир @ 100 мл/мин) с получением **5** (8,6 г, выход 56,78%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 599,3 $[M+Na]^+$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 8,79 (с, 1Н), 7,61 (д, *J*=8,0 Гц, 1Н), 7,56 - 7,46 (м, 2Н), 7,45 - 7,37 (м, 4Н), 7,36 - 7,27 (м, 3Н), 6,85 (дд, *J*=2,8, 8,8 Гц, 4Н), 5,85 (д, *J*=1,3 Гц, 1Н), 5,68 (дд, *J*=2,0, 8,2 Гц, 1Н), 4,33 - 4,29 (м, 1Н), 3,91 (дд, *J*=4,8, 8,2 Гц, 1Н), 3,81 (д, *J*=1,6 Гц, 6Н), 3,33 (с, 3Н), 2,85 - 2,80 (м, 1Н), 2,67 - 2,55 (м, 2Н), 1,11 (т, *J*=8,8 Гц, 1Н).

[0416] Получение **(мономера примера 8):** К раствору **5** (6 г, 10,40 ммоль) в ДХМ (120 мл) добавляли **P1** (4,08 г, 13,53 ммоль, 4,30 мл) и DCI (1,35 г, 11,45 ммоль) одной порцией при 10 °C в атмосфере Ar. Реакционную смесь перемешивали при 10 °C в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли насыщенным водн. $NaHCO_3$ (50 мл) и экстрагировали ДХМ (20 мл * 3). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (колонка: YMC-Triart Prep C18 250*50 мм*10 мкм; подвижная фаза: [вода(10 мМ NH_4HCO_3)-ACN]; B%: 35%-81%, 20 мин) с получением **мономера пример 8** (3,54 г, выход 43,36%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 776,4 $[M+H]^+$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 7,65 - 7,38 (м, 7Н), 7,37 - 7,22 (м, 3Н), 6,90 (д, *J*=8,4 Гц, 4Н), 5,92 (с, 1Н), 5,66 (т, *J*=8,2 Гц, 1Н), 4,13 (д, *J*=4,0 Гц, 1Н), 4,00 - 3,88 (м, 1Н), 3,87 - 3,59 (м, 10Н), 3,33 (д, *J*=5,8 Гц, 3Н), 3,12 - 2,94 (м,1Н), 2,78 - 2,60 (м, 3Н), 2,55-2,48 (м, 1Н), 1,36 - 0,98 (м, 12Н); ^{31}Р ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6) δ = 162,69.

[0417] **Пример 9: Синтез мономера 5'-концевого кэпа**



Мономер примера 9

Схема синтеза мономера примера 9

[0418] Получение **(2):** К раствору **1** (22,6 г, 45,23 ммоль) в ДХМ (500 мл) и H_2O (125 мл) добавляли TEMPO (6,40 г, 40,71 ммоль) и DIB (29,14 г, 90,47 ммоль) при 0 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 20 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, добавляли насыщенный водн. $NaHCO_3$ к данной смеси, чтобы привести к pH >8. Смесь разбавляли H_2O (200 мл) и промывали ДХМ (100 мл * 3). Водный слой собирали, доводили до pH < 5 с помощью HCl (4M), и экстрагировали ДХМ (200 мл * 3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (300 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением **2** (17,5 г, выход 68,55%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 514,2 $[M+H]^+$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,27 (с, 1Н), 8,86 (с, 1Н), 8,78 (с, 1Н), 8,06 (д, *J*=7,5 Гц, 2Н), 7,68 - 7,62 (м, 1Н), 7,59 - 7,52 (м, 2Н), 6,28 (д, *J*=6,8 Гц, 1Н), 4,82 - 4,76 (м, 1Н), 4,54 (дд, *J*=4,1, 6,7 Гц, 1Н), 4,48 (д, *J*=1,8 Гц, 1Н), 3,32 (с, 3Н), 0,94 (с, 9Н), 0,18 (д, *J*=4,8 Гц, 6Н).

[0419] Получение **(3):** К раствору **2** (9,3 г, 18,11 ммоль) в MeOH (20 мл) добавляли $SOCl_2$ (3,23 г, 27,16 ммоль, 1,97 мл) по каплям при 0 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 0,5 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь гасили добавлением насыщенным водн. $NaHCO_3$ (80 мл) и концентрировали при пониженном

давлении для удаления MeOH. Водный слой экстрагировали ДХМ (80 мл * 3). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (200 мл), сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 120 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~5%, MeOH/ДХМ @ 85 мл/мин) с получением **3** (5,8 г, выход 60%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 528,3 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,28 (с, 1H), 8,79 (д, *J*=7,3 Гц, 2H), 8,06 (д, *J*=7,5 Гц, 2H), 7,68 - 7,62 (м, 1H), 7,60 - 7,53 (м, 2H), 6,28 (д, *J*=6,6 Гц, 1H), 4,87 (дд, *J*=2,4, 4,0 Гц, 1H), 4,61 (дд, *J*=4,3, 6,5 Гц, 1H), 4,57 (д, *J*=2,2 Гц, 1H), 3,75 (с, 3H), 3,32 (с, 3H), 0,94 (с, 9H), 0,17 (д, *J*=2,2 Гц, 6H).

[0420] Получение **(4):** К смеси **3** (5,7 г, 10,80 ммоль) в CD_3OD (120 мл) добавляли $NaBD_4$ (1,63 г, 43,21 ммоль) порциями при 0 °C, и смесь перемешивали при 20 °C в течение 1 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь нейтрализовали AcOH (~ 10 мл) и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 40 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~5%, MeOH/ДХМ @ 40 мл/мин) с получением **4** (4,15 г, 7,61 ммоль, выход 70,45%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 502,2 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,23 (с, 1H), 8,76 (с, 2H), 8,04 (д, *J*=7,3 Гц, 2H), 7,69 - 7,62 (м, 1H), 7,60 - 7,52 (м, 2H), 6,14 (д, *J*=6,0 Гц, 1H), 5,18 (с, 1H), 4,60 - 4,51 (м, 2H), 3,98 (д, *J*=3,0 Гц, 1H), 3,32 (с, 3H), 0,92 (с, 9H), 0,13 (д, *J*=1,5 Гц, 6H).

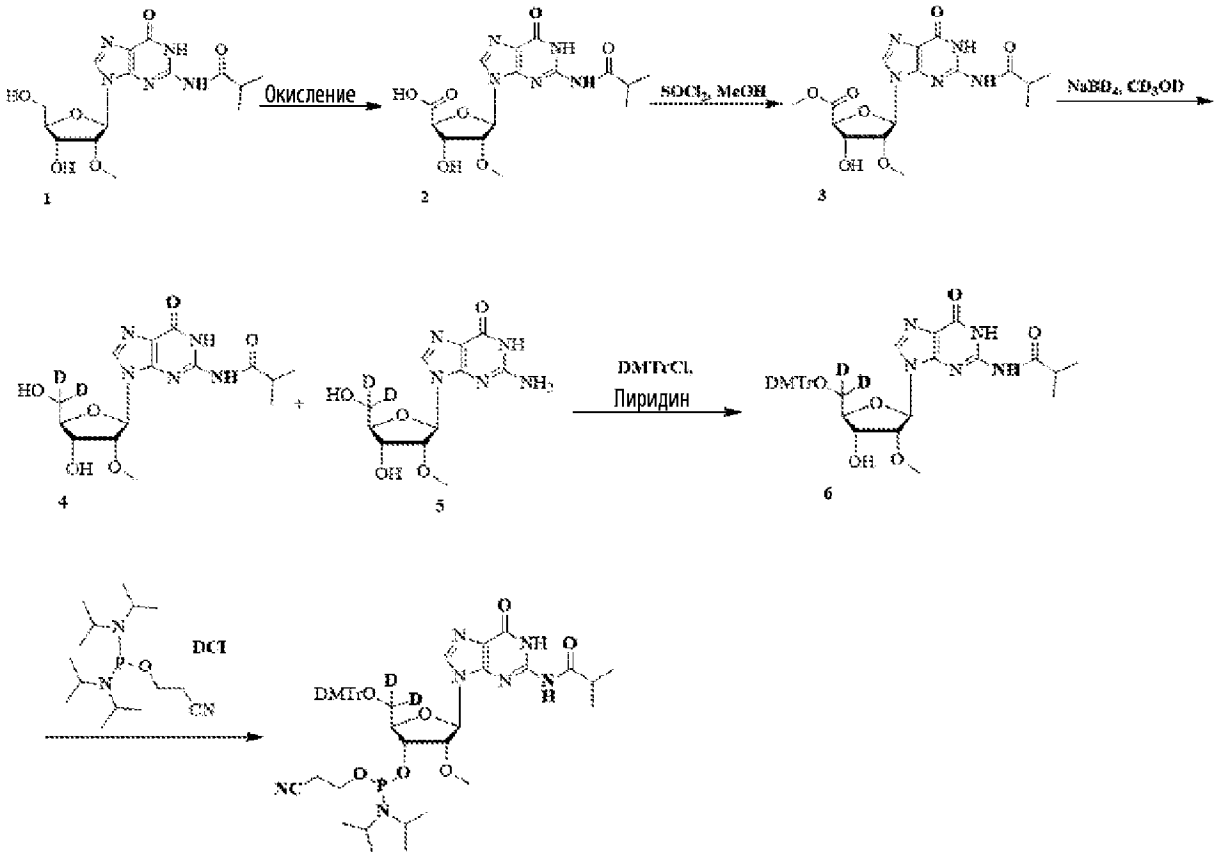
[0421] Получение **(5):** К раствору **4** (4,85 г, 9,67 ммоль) в пиридине (50 мл) добавляли DMTrCl (5,90 г, 17,40 ммоль) при 25 °C, и смесь перемешивали в течение 2 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления пиридина. Остаток разбавляли EtOAc (150 мл) и промывали H_2O (50 мл * 3), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 80 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~70%, EA/PE @ 60 мл/мин) с получением **5** (6,6 г, выход 84,06%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 804,3$[M+H]^+$, ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,22 (с, 1H), 8,68 (д, *J*=11,0 Гц, 2H), 8,03 (д, *J*=7,3 Гц, 2H), 7,68 - 7,60 (м, 1H), 7,58 - 7,49 (м, 2H), 7,37 - 7,30 (м, 2H), 7,27 - 7,16 (м, 7H), 6,88 - 6,79 (м, 4H), 6,17 (д, *J*=4,2 Гц, 1H), 4,72 (т, *J*=5,0 Гц, 1H), 4,60 (т, *J*=4,5 Гц, 1H), 4,03 - 3,98 (м, 1H), 3,71 (с, 6H), 0,83 (с, 9H), 0,12 - 0,03 (м, 6H).

[0422] Получение **(6):** К раствору **5** (6,6 г, 8,21 ммоль) в ТГФ (16 мл) добавляли TBAF (1 М, 8,21 мл,), и смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 ч. После завершения по

данным ЖХ-МС, реакционную смесь разбавляли EA (150 мл) и промывали H_2O (50 мл*3). Органический слой промывали солевым раствором (150 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 80 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 10-100%, EA/PE @ 30 мл/мин) с получением **6** (5,4 г, выход 94,4 %) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 690,3 $[M+H]^+$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,24 (с, 1Н), 8,69 (с, 1Н), 8,62 (с, 1Н), 8,05 (д, *J*=7,3 Гц, 2Н), 7,69 - 7,62 (м, 1Н), 7,60 - 7,52 (м, 2Н), 7,40 - 7,33 (м, 2Н), 7,30 - 7,18 (м, 7Н), 6,84 (дд, *J*=5,9, 8,9 Гц, 4Н), 6,19 (д, *J*=4,8 Гц, 1Н), 5,36 (д, *J*=6,0 Гц, 1Н), 4,59 - 4,52 (м, 1Н), 4,48 (к, *J*=5,1 Гц, 1Н), 4,11 (д, *J*=4,8 Гц, 1Н), 3,72 (д, *J*=1,0 Гц, 6Н), 3,40 (с, 3Н).

[0423] Получение **(мономера примера 9):** К раствору **6** (8,0 г, 11,60 ммоль) в MeCN (150 мл) добавляли **P–1** (4,54 г, 15,08 ммоль, 4,79 мл) при 0 °C, с последующим добавлением DCI (1,51 г, 12,76 ммоль) одной порцией. Смесь нагревали при 20 °C и перемешивали в течение 2 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь гасили добавлением насыщенным водн. $NaHCO_3$ (50 мл) и разбавили ДХМ (250 мл). Органический слой промывали насыщенным водн. $NaHCO_3$ (50 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на флэш-колонке с силикагелем (0% до 60% EA в PE содержит 0,5% TEA) с получением **мономера примера 9** (5,75 г, выход 55,37%, чистота 99,4%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 890,4 $[M+H]^+$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 9,55 (с, 1Н), 8,63 - 8,51 (м, 1Н), 8,34 - 8,24 (м, 1Н), 7,98 (шир. д, *J*=7,5 Гц, 2Н), 7,65 - 7,55 (м, 1Н), 7,53 - 7,46 (м, 2Н), 7,44 - 7,37 (м, 2Н), 7,32 - 7,17 (м, 7Н), 6,84 - 6,77 (м, 4Н), 6,14 (д, *J*=4,3 Гц, 1Н), 4,84 - 4,73 (м, 1Н), 4,72 - 4,65 (м, 1Н), 4,34 - 4,27 (м, 1Н), 3,91 - 3,61 (м, 9Н), 3,50 - 3,43 (м, 3Н), 2,72 - 2,61 (м, 1Н), 2,50 (т, *J*=6,0 Гц, 1Н), 1,21 - 1,15 (м, 10Н), 1,09 (д, *J*=6,8 Гц, 2Н); ^{31}Р ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 150,01, 149,65

[0424] **Пример 10: Синтез мономера 5'-концевого кэпа**



Мономер примера 10

Схема синтеза мономера примера 10

[0425] Получение **(2):** К раствору **1** (10 г, 27,22 ммоль) в CH_3CN (200 мл) и H_2O (50 мл) добавляли TEMPO (3,85 г, 24,50 ммоль) и DIB (17,54 г, 54,44 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 12 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток растирали с EtOAc (600 мл) в течение 30 мин. Полученную суспензию фильтровали, а собранное твердое вещество промывали EtOAc (300 мл*2) с получением **2** (20,09 г, выход 91,5%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 382,0 $[M+H]^+$.

[0426] Получение **(3):** К раствору **2** (6 г, 15,73 ммоль) в MeOH (100 мл) добавляли $SOCl_2$ (2,81 г, 23,60 ммоль, 1,71 мл) по каплям при 0 °C. Смесь перемешивали при 25 °C в течение 12 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь гасили добавлением $NaHCO_3$ (4 г) и перемешивали при 25 °C в течение 30 мин. Реакционную смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением **3** (18,8 г, выход 95,6%) в виде твердого вещества белого цвета. Неочищенный продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. (Реакцию ставили параллельно в 3 порциях и объединяли). ИЭР-ЖХ-МС: 396,1 $[M+H]^+$;^{1}H ЯМР (400 МГц,

ДМСО-d_6) δ= 12,26 - 11,57 (м, 2H), 8,42 - 8,06 (м, 1H), 6,14 - 5,68 (м, 2H), 4,56 (с, 2H), 4,33 (дд, *J*=4,0, 7,3 Гц, 1H), 3,77 (м, 3H), , 3,30 (с, 3H), 2,81 - 2,69 (м, 1H), 1,11 (с, 6H)

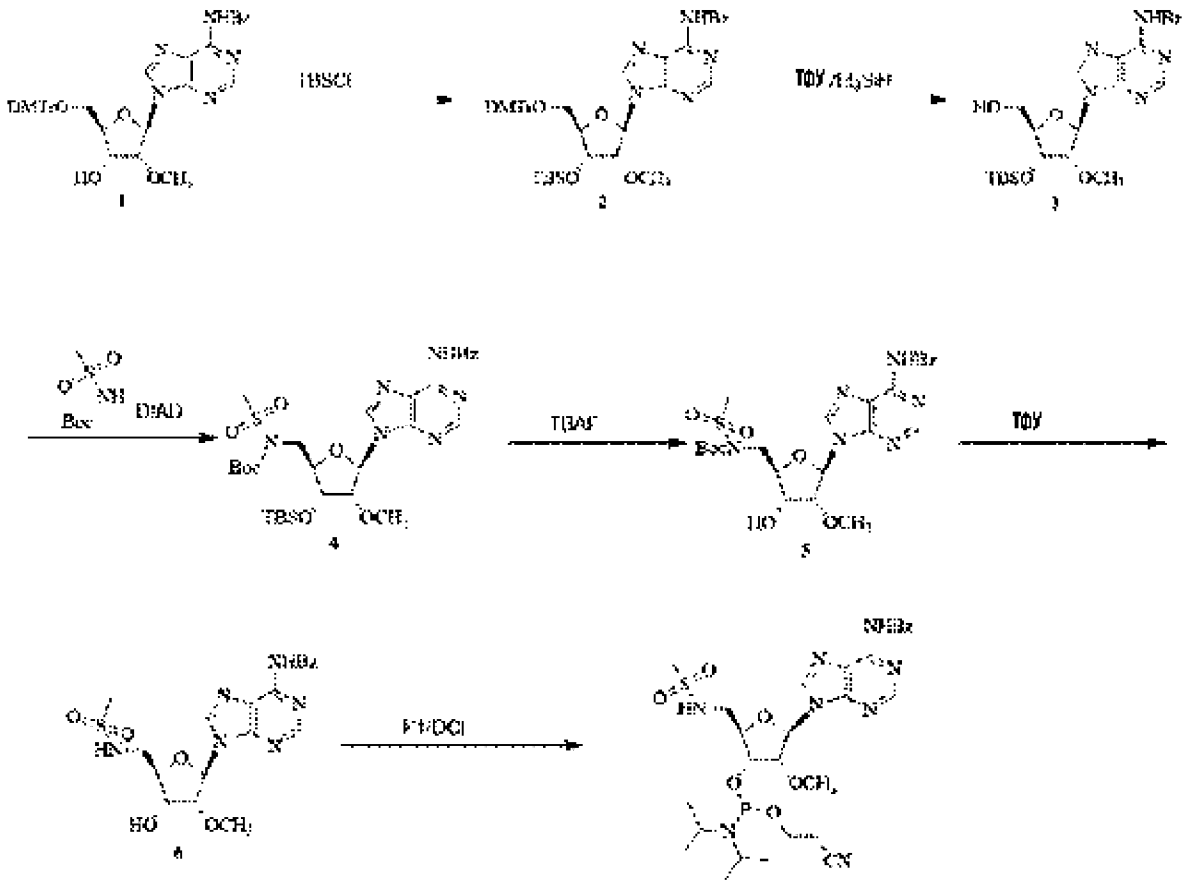
[0427] Получение (**4 и 5**): К смеси **3** (10,1 г, 25,55 ммоль) в CD_3OD (120 мл) добавляли $NaBD_4$ (3,29 г, 86,86 ммоль, 3,4 экв.) порциями при 0 °C. Смесь перемешивали при 25 °C в течение 1 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь нейтрализовали AcOH (~ 15 мл) и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 120 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~7,4%, MeOH/ДХМ @ 80 мл/мин) с получением **4** (2,98 г, 6,88 ммоль, выход 27%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 370,1$[M+H]^+$ и **5** (10,9 г, неочищенное вещество) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 300,1$[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400МГц, CD_3OD) δ = 7,85 (с, 1H), 5,87 (д, J=6,0 Гц, 1H), 4,46 - 4,39 (м, 1H), 4,34 (т, J=5,4 Гц, 1H), 4,08 (д, J=3,1 Гц, 1H), 3,49 - 3,38 (м, 4H)

[0428] Получение **6:** К раствору **4** (1,9 г, 4,58 ммоль, чистота 85,7%) в пиридине (19 мл) добавляли DMTrCl (2,02 г, 5,96 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 2 ч в атмосфере N_2. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь гасили MeOH (10 мл) и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток разбавляли H_2O (10 мл*3) и экстрагировали EA (20 мл*3). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (20 мл), сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 25 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~77%, PE: (EA с 10% EtOH): 1% TEA@ 35 мл/мин) с получением **6** (2,6 г, выход 81,71%, чистота 96,71%) в виде пены белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 672,2 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ= 12,02 (с, 1H), 7,96 (с, 1H), 7,83 (с, 1H),7,51 (д, J=7,4 Гц, 2H), 7,37(д, J=8,6 Гц, 4H), 7,25 - 7,17 (м, 2H),6,80 (т, J=8,4 Гц, 4H), 5,88 (д, J=6,3 Гц, 1H), 4,69 (т, J=5,7 Гц,1H), 4,64 (с, 1H), 4,54 (с, 1H),4,19 (д, J=2,9 Гц, 1H), 3,77 (д, J=4,5 Гц, 6H), 3,60 - 3,38 (м, 3H),2,81 (с, 1H), 1,81 (тд, J=6,9, 13,7Гц, 1H), 0,97 (д, J=6,8 Гц, 3H),0,80 (д, J=6,9 Гц, 3H)

[0429] Получение **мономера примера 10:** К раствору **6** (8,4 г, 12,5 ммоль) в MeCN (80 мл) добавляли P–1 (4,9 г, 16,26 ммоль, 5,16 мл) при 0 °C с последующим добавлением DCI (1,624 г, 13,76 ммоль) одной порцией при 0 °C в атмосфере Ar. Смесь перемешивали при 25 °C в течение 2 ч. После завершения по данным ЖХ-МС, реакционную смесь гасили насыщенным водн. $NaHCO_3$ (20 мл) и экстрагировали ДХМ (50 мл*2). Объединенные органические слои сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали

флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 40 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~52% PE: EA (10%EtOH): 5%TEA, @ 80 мл/мин) с получением **мономера <u>пример 10</u>** (3,4 г, выход 72,1%) в виде пены белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 872,4 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ= 12,46 - 11,07 (м, 1H), 9,29 (с, 1H), 7,84 (д, J=14,6 Гц, 1H), 7,42 (т, J=6,9 Гц, 2H), 7,34 - 7,17 (м, 7H), 6,85 - 6,77 (м, 4H), 5,95 - 5,77 (м, 1H), 4,56 - 4,40 (м, 2H), 4,24 (дд, J=4,0, 13,3 Гц, 1H), 3,72 (д, J=2,0 Гц, 7H), 3,66 - 3,53 (м, 3H), 3,42 (д, J=11,8 Гц, 3H), 2,69 - 2,61 (м, 1H), 2,60 - 2,42 (м, 2H), 1,16 - 1,00 (м, 18H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 149,975, 149,9

[0430] Пример 11: Синтез мономера 5'-концевого кэпа



Мономер примера 11

Схема синтеза мономера примера 11

[0431] <u>Получение **(2):**</u> К раствору **1** (40 г, 58,16 ммоль) в ДМФА (60 мл) одной порцией добавляли имидазол (11,88 г, 174,48 ммоль), NaI (13,08 г, 87,24 ммоль) и TBSCl (17,52 г, 116,32 ммоль) при 20 °C. Реакционную смесь перемешивали при 20 °C в течение 12 ч. По завершении реакции смесь разбавляли EA (200 мл). Органический слой промывали солевым раствором/водой (80 мл/80 мл *4), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и выпарили

с получением **2** (50,8 г, неочищенное вещество) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 802,3 $[M+H]^+$

[0432] Получение **(3):** К раствору **2** (8,4 г, 10,47 ммоль) в ДХМ (120 мл) добавляли Et_3SiH (3,06 г, 26,3 ммоль, 4,2 мл) и ТФУ (1,29 г, 0,84 мл) по каплям при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 ч. Реакционную смесь промывали насыщенным водн. $NaHCO_3$ (15 мл) и солевым раствором (80 мл). Органический раствор сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и выпарили. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле **(**ISCO®; 80 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~83% EA/PE @ 80 мл/мин**)** с получением **3** (2,92 г, выход 55,8%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 500,2 $[M+H]^+$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ= 8,79 (с, 1Н), 8,14 (с, 1Н), 8,02 (д, J=7,6 Гц, 2Н), 7,64 - 7,58 (м,1Н), 7,56 - 7,49 (м, 2Н), 5,98 - 5,93 (м, 1Н), 4,63 - 4,56 (м, 2Н), 4,23 (с, 1Н), 3,98 (дд, J=1,5, 13,1 Гц, 1Н), 3,75 (дд, J=1,5, 13,1 Гц, 1Н), 3,28 (с, 3Н), 2,06 - 1,99 (м, 1Н), 1,00 - 0,90 (м, 9Н), 0,15 (д, J=7,0 Гц, 6Н).

[0433] Получение **(4): 3** (6 г, 12,01 ммоль) и *трет*-бутил-N-метилсульфонилкарбамат (3,52 г, 18,01 ммоль) совместно упаривали с толуолом (50 мл), растворяли в сухом ТГФ (100 мл) и охлаждали до 0 °C. Затем добавляли PPh_3 (9,45 г, 36,03 ммоль) с последующим добавлением по каплям DIAD (7,28 г, 36,03 ммоль, 7,00 мл) в сухом ТГФ (30 мл). Реакционную смесь перемешивали при 20 °C в течение 18 ч. По завершении реакции реакционную смесь затем разбавляли ДХМ (100 мл) и промывали водой (70 мл) и солевым раствором (70 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и выпарили с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 80 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~100% этилацетат/петролейный эфир @ 60 мл/мин) с последующей очисткой обращенно-фазовой ВЭЖХ (0,1% $NH_3.H_2O$ условия, элюент при 74%) с получением **4** (2,88 г, выход 25%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 677,1 $[M+H]^+$; ^{1}Н ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) δ= 9,24 (с, 1Н), 8,84 (с, 1Н), 8,36 (с, 1Н), 8,05 (шир. д,J=7,3 Гц, 2Н), 7,66 - 7,42 (м, 4Н), 6,16 (д, J=5,0 Гц, 1Н), 4,52 (шир т, J=4,5 Гц, 1Н), 4,25 - 4,10 (м, 1Н), 3,97 (шир. дд, J=8,0, 14,8 Гц, 1Н), 3,48 (с, 3Н), 3,27 (с, 3Н), 1,54 (с, 9Н), 0,95 (с, 9Н), 0,14 (д, J=0,8 Гц, 6Н).

[0434] Получение **(5):** К раствору **4** (2,8 г, 4,14 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляли TBAF (4 М, 1,03 мл), и смесь перемешивали при 20 °C в течение 12 ч. Реакционную смесь затем выпаривали. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле **(**ISCO®; 12 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~6% MeOH/этилацетат @ 20 мл/мин**)** с получением **5** (2,1 г, выход 83,92%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 563,1$[M+H]^+$; ^{1}Н ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) δ= 8,85 - 8,77 (м, 1Н), 8,38 (с, 1Н),

8,11 - 7,99 (м, 2H), 7,64 –7,50 (м, 4H), 6,19 (д, J=2,8 Гц, 1H), 4,36 - 4,33 (м, 1H), 4,29 (шир. д, J=4,3 Гц, 1H), 4,22 - 4,02 (м, 2H), 3,65 - 3,59 (м, 3H), 3,28 (с, 3H), 1,54 (с, 9H).

[0435] Получение **(6):** К раствору **5** (2,1 г, 3,73 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли ТФУ (7,70 г, 67,53 ммоль, 5 мл) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при 20 °C в течение 24 ч. По завершении реакцию реакционную смесь гасили насыщенным водн. раствором $NaHCO_3$ до достижения pH 7. Органический слой сушили над Na_2SO_4, фильтровали и выпаривали при низком давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 12 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~7% ДХМ/MeOH @ 20 мл/мин) с получением 1,6 г (с примесями, чистота по ЖХМС 75%), с последующей очисткой препаративной ВЭЖХ [FA условия, колонка: Boston Uni C18 40*150*5 мкм; подвижная фаза: [вода (0,225%FA)-ACN]; B%: 8%–38%, 7,7 мин] с получением **6** (1,04 г, выход 63,7 %) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 485,0 $[M+Na]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ= 11,27 - 11,21 (м, 1H), 8,77 (с, 1H), 8,74 (с, 1H), 8,05 (д, J=7,3 Гц, 2H), 7,68 –7,62 (м, 1H), 7,59 - 7,53 (м, 2H), 7,39 (т, J=6,3 Гц, 1H), 6,16 (д, J=6,0 Гц, 1H), 5,48 (д, J=5,5 Гц, 1H), 4,55 (т,J=5,5 Гц, 1H), 4,43 - 4,37 (м, 1H), 4,08 - 4,02 (м, 1H), 3,41 - 3,36 (м, 1H), 3,35 (с, 3H), 3,31 - 3,22 (м, 1H), 2,91(с, 3H).

[0436] Получение **мономера примера 11:** К раствору **6** (1 г, 2,16 ммоль) в ДХМ (30 мл) добавляли **P1** (977,58 мг, 3,24 ммоль, 1,03 мл) с последующим добавлением DCI (306,43 мг, 2,59 ммоль) при 0 °C одной порцией в атмосфере Ar. Смесь дегазировали и продували Ar 3 раза, нагревали до 20 °C и перемешивали в течение 2 ч в атмосфере Ar. После завершения по данным ЖХ-МС и ТСХ (PE: EtOAc = 4:1), реакционную смесь разбавляли насыщ. водн. $NaHCO_3$ (30 мл) и экстрагировали ДХМ (50 мл*2). Объединенные органические слои сушили над безводным Na_2SO_4, фильтровали, и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Неочищенный продукт очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ (40 г C18 колонка: нейтральные условия, элюент 0~57% 0,3% NH_4HCO_3 в градиенте эфира H_2O/CH_3CN @ 35 мл/мин) с получением **мономера** примера **11** (0,49 г, выход 33,7%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 663,1$[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ= 1,19 - 1,29 (м, 12 H) 2,71 (к, J=5,77 Гц, 2 H) 2,94 (д, J=6,27 Гц, 3 H) 3,35 (д, J=15,56 Гц, 3 H) 3,40 - 3,52 (м, 2 H) 3,61 - 3,97 (м, 4 H) 4,23 - 4,45 (м, 1 H) 4,55 - 4,74 (м, 2 H) 6,02 (дд, J=10,67, 6,40 Гц, 1 H) 7,25 (шир. с, 1 H) 7,47 - 7,57 (м, 2 H) 7,59 - 7,68 (м, 1 H) 8,01 (д, J=7,78 Гц, 2 H) 8,28 (с, 1 H) 8,66 (с, 1 H) 9,69 (шир. с, 1 H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 150,92, 149,78.

[0437] Пример 12. Синтез 5'-стабилизированных концевых кэп-модифицированных олигонуклеотидов

[0438] В данном примере представлен иллюстративном примере способ синтеза миНК, содержащих 5'-стабилизированные концевые кэпы, раскрытые в данном документе. 5'-стабилизированный концевой кэп и/или дейтерированные фосфорамидиты растворяли в безводном ацетонитриле, и синтез олигонуклеотидов проводили на синтезаторе Expedite 8909 с использованием стандартной химии фосфорамидитов. Продолжительное связывание (12 минут) 0,12 М раствора фосфорамидита в безводном CH_3CN в присутствии активатора бензилтиотетразола (БТТ) со связанным на подложке олигонуклеотидом с последующим стандартным кэпированием, окислением и сульфированием привело к получению модифицированных олигонуклеотидов. 0,02 М I2, ТГФ: пиридин; В качестве окислителя использовали воду 7:2:1, а DDTT (диметиламинометилиден)амино)-3H-1,2,4-дитиазаолин-3-тион использовали в качестве агента переноса серы для синтеза олигорибонуклеотидов с фосфоротиоатным остовом. Ступенчатая эффективность связывания всех модифицированных фосфорамидитов достигала около 98%. После синтеза твердый носитель нагревали с водным раствором аммиака (28%) при 45 °C в течение 16 ч или использовали 0,05 М K_2CO_3 в метаноле для снятия защиты с лабильных защитных групп основания. Неочищенные олигонуклеотиды осаждали изопропанолом и центрифугировали (Eppendorf 5810R, 3000g, 4 °C, 15 мин) с получением осадка. Затем неочищенный продукт очищали с помощью ионообменной хроматографии (колонка с гелем TSK, 20 мМ NaH_2PO_4, 10% CH_3CN, 1 М NaBr, градиент 20–60% В в 20 объемах колонки) и фракции анализировали с помощью ионообменной хроматографии на ВЭЖХ. Чистые фракции объединяли, обессоливали на колонке Sephadex G-25 и выпаривали досуха. Чистоту и молекулярную массу определяли анализом ВЭЖХ и анализом ИЭР-МС. Олигонуклеотиды одиночных цепей РНК (смысловые и антисмысловые цепи) отжигали (1:1 в молярных эквивалентах) при 90 °C в течение 3 мин с последующим отжигом при комн. темп. в течение 40 мин) для получения дуплексов.

[0439] Пример 13. Анализы миНК

[0440] В данном примере представлены иллюстративные способы тестирования активности миНК, раскрытых в данном документе.

[0441] *Анализ in vitro*:

[0442] Клетки HepG2.2.15 *Homo sapiens* культивировали в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM) (ATCC 30-2002), содержащей также 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS). Клетки инкубировали при 37 °C в атмосфере с 5% CO2 во влажном инкубаторе. Для трансфекции клеток HepG2.2.15 HBV, нацеливающим миРНК,

клетки высевали с плотностью 15000 клеток/лунку в 96-луночные обычные планшеты для тканевых культур. Трансфекцию клеток проводили с помощью RNAiMAX (Invitrogen/Life Technologies) согласно инструкции производителя. Эксперименты доза-реакция проводили с олигоконцентрациями 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,3125, 0,15625 и 0,07813 нМ. Для каждой обработки миРНК, нацеленной на HBV (например, дц-миРНК, идентифицированной по дц-миНК № в Таблице 6), параллельно трансфицировали четыре лунки, и из каждой лунки собирали данных для отдельных точек. После 24 часов инкубации с миРНК среду удаляли, клетки лизировали и анализировали с помощью набора зондов QuantiGene2.0 с разветвленной ДНК (рДНК), специфичного для генотипа D HBV (также называемого подтипом ayw вируса гепатита B, полный геном из 3182 пар оснований) как присутствует в клеточной линии HepG2.2.15.

[0443] Для каждой лунки уровни мРНК-мишени HBV нормализовали к уровню мРНК GAPDH. Как проиллюстрировано в Таблице 6, активность дц-миРНК, нацеленной на HBV, была выражена в виде EC50, 50% снижения нормализованного уровня РНК HBV при отсутствии лекарственного контроля. Как проиллюстрировано в Таблице 6, цитотоксичность дц-миРНК, нацеленной на HBV, была выражена в виде CC50 50% снижения мРНК GAPDH при отсутствии лекарственного контроля.

[0444] Неконъюгированную миРНК 1) с блокаторами фосфорилирования или без них; и 2) с или без концевых кэпов (например, 5'-стабилизированный концевой кэп) трансфицируют в модели заболеваний *in vitro* или модели токсичности *in vitro*. После трансфекции измеряют снижение мишени и/или жизнеспособности клеток и сравнивают их после периода инкубации. Для HBV иллюстративные модели клеток заболевания включают, но не ограничиваются ими, HepG2.2.15, HepG2.117 или живые HBV-инфицированные HepG2-NTCP или первичные гепатоциты человека.

[0445] *Анализ in vivo:*

[0446] миРНК, конъюгированную с GalNAc, 1) с ингибитором фосфорилирования или без него; и 2) с или без 5'-концевых колпачков дозируют подкожно или внутривенно в животных моделях заболевания. Величину и продолжительность целевого нокдауна измеряют по образцам сыворотки или печени и сравнивают друг с другом и/или с контрольными животными (например, с необработанными больными животными). В некоторых случаях токсичность миРНК сравнивают с помощью обычных анализов Clinpath или Histopath. Для HBV иллюстративные модели эффективности на животных включают, но не ограничиваются ими, мышиную модель AAV-HBV, трансгенную мышиную модель HBV, мышиные модели PXB или FRG.

[0447] **Пример 14. Тестирование дц-миНК на мышиной модели AAV-HBV**

[0448] В данном примере оценивали эффективность дц-миНК при лечении HBV на мышиной модели аденоассоциированного вируса (AAV)-HBV. Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу (a) 5 мл/кг несущей среды; или (b) 5 мг/кг дц-миНК в день 0. Последовательности тестируемых в данном примере дц-миНК представлены в Таблице 7.

[0449] ФИГ. 4 иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0160 (G03), дц-миНК-0165 (G04), дц-миНК-0163 (G05) или дц-миНК-0166 (G06). Данные результаты демонстрируют, что дц-миНК, содержащие различные комбинации 2'-фторнуклеотидов и 2'-*O*-метилнуклеотидов, могут эффективно лечить d HBV.

Таблица 7. Последовательности дц-миНК, протестированные на мышиной модели AAV-HBV

№ дц-миНК	Последовательность смысловой цепи (5'–3')	Последовательность антисмысловой цепи (5'–3')
дц-миНК-0160	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA-p-(PS)2-GalNAc4 (SEQ ID NO: 600)	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC (SEQ ID NO: 272)
дц-миНК-0165	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU-p-(PS)2-GalNAc4 (SEQ ID NO: 601)	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA (SEQ ID NO: 292)
дц-миНК-0163	mGpsmCpsmUmGmCmUfAmUfGfCfCmUmCmAmUmCmUmUmCmUmU-p-(PS)2-GalNAc4 (SEQ ID NO: 602)	mApsfApsmGmAmAfGmAmUmGmAmGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCpsmApsmG (SEQ ID NO: 287)
дц-миНК-0166	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmU-p-(PS)2-GalNAc4 (SEQ ID NO: 603)	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG (SEQ ID NO: 303)

[0450] Пример 15. Анализ активности и тестирование дц-миНК на мышиной модели AAV-HBV

[0451] В данном примере исследуют активность дц-миНК *in vitro* и *in vivo*. Последовательности тестируемых в данном примере дц-миНК представлены в Таблице 8. Как проиллюстрировано в таблице 8, дц-миНК содержат смысловую и антисмысловую цепи, содержащие смесь 2'-фтор и 2'-*O*-метилнуклеотиды. Общее количество 2'-фторнуклеотидов в дц-миНК находятся в пределах 6–8. 2'-Фторнуклеотиды могут находиться в определенных положениях, таких как положения нуклеотидов 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 и/или 17 от 5'-конца смысловой цепи или 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18. 2'-Фторнуклеотиды и 2'-*O*-метилнуклеотиды могут встречаться в определенных структурах на антисмысловой цепи, таких как паттерн с чередованием 1:2 или 1:3, где 1 нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид и 2 или 3 нуклеотида представляют собой 2-*O*-метилнуклеотиды.

[0452] *Анализ активности in vitro*

[0453] Клетки HepG2.2.15 *Homo sapiens* культивировали в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM) (ATCC 30-2002), содержащей также 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS). Клетки инкубировали при 37 °C в атмосфере с 5% CO_2 во влажном инкубаторе. Для трансфекции клеток HepG2.2.15 HBV, нацеливающим миРНК, клетки высевали с плотностью 15000 клеток/лунку в 96-луночные обычные планшеты для тканевых культур. Трансфекцию клеток проводили с помощью RNAiMAX (Invitrogen/Life Technologies) согласно инструкции производителя. Эксперименты доза-реакция проводили с олигоконцентрациями 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,3125, 0,15625 и 0,07813 нМ. Для каждой обработки миРНК, нацеленной на HBV (например, дц-миРНК, идентифицированной по дц-миНК № в Таблице 8), параллельно трансфицировали четыре лунки, и из каждой лунки собирали данных для отдельных точек. После 24 часов инкубации с миРНК среду удаляли, клетки лизировали и анализировали с помощью набора зондов QuantiGene2.0 с разветвленной ДНК (рДНК), специфичного для генотипа D HBV (также называемого подтипом ayw вируса гепатита B, полный геном из 3182 пар оснований) как присутствует в клеточной линии HepG2.2.15.

[0454] Для каждой лунки уровни мРНК-мишени HBV нормализовали к уровню мРНК GAPDH. В таблице 8 проиллюстрирована активность HBV, нацеленная на дц-миРНК, выраженная в виде EC50, которая представляет собой 50% снижение нормализованного уровня РНК HBV по сравнению с отсутствием лекарственного контроля, где A = EC50 < 0,5 нМ; B = 0,5 нМ < EC50 < 1; и C = EC50 > 1.

[0455] *Тестирование in vivo на мышиной модели AAV-HBV:*

[0456] AAV/HBV представляет собой рекомбинантный AAV, несущий реплицируемый геном HBV. Используя преимущество высокой гепатотропности AAV генотипа 8, геном HBV может быть эффективно доставлен в клетки печени мыши. Заражение иммунокомпетентных мышей AAV/HBV может привести к длительной виремии HBV, которая имитирует хроническую инфекцию HBV у пациентов. Модель AAV/HBV можно использовать для оценки активности различных типов анти-HBV агентов in vivo. Мышей инфицировали AAV-HBV на -28 день исследования. Исследуемые образцы или отрицательный контроль (PBS) вводили подкожно (если не указано иное) в виде однократной дозы в день 0 в 5 мг/кг. Серийные заборы крови обычно брали каждые 5 дней на 0, 5, 10 и 15 день и т. д. до окончания исследований. Сывороточный антиген HBV S (HBsAg) анализировали с помощью ИФА.

[0457] Конъюгированные с GalNAc дц-миНК дополнительно тестировали в однократной дозе 5 мг/кг в день 0 на мышиной модели аденоассоциированного вируса (AAV)-HBV. Полученное в результате наименьшее значение $\log_{10}$ снижения содержания

HBsAg в сыворотке представлено в Таблице 8, где X ≥ 1 log_{10} снижения HBsAg, Y представляет собой 0,5 – 1 log_{10} снижения HBsAg и Z представляет собой < 0,5 log_{10} снижения HBsAg.

[0458] ФИГ. 5A иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0160 (G03). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг дц-миНК-0160 в день 0.

[0459] ФИГ. 5B иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0160 (G15). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг дц-миНК-0160 в день 0.

[0460] ФИГ. 5C иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0160 (G03). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0.

[0461] ФИГ. 5D иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0160 (G03) или дц-миНК-0109 (G09). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0.

[0462] На Фиг. 5E–5F иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0169 (G18). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг дц-миНК-0169 в день 0.

[0463] ФИГ. 5G иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0169 (G04). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг дц-миНК-0169 в день 0.

[0464] ФИГ. 5H иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01) или дц-миНК-0169 (G04). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0.

[0465] ФИГ. 5I иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0169 (G04) или дц-миНК-

0147 (G08). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0.

[0466] ФИГ. 5J иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0166 (G06) или дц-миНК-0153 (G14). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0.

[0467] ФИГ. 5K иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0163 (G05) или дц-миНК-0119 (G13). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0.

[0468] Данные результаты демонстрируют, что дц-миНК, содержащие комбинацию 2'-фторнуклеотидов и 2'-*O*-метилнуклеотидов, могут применяться для нацеливания на последовательности генов HBV X и S, что привело к успешному лечению HBV.

[0469] Как показано на примере дц-миНК-0160 и дц-миНК-0165, дц-миНК, содержащая (a) смысловую цепь, содержащую 19 нуклеотидов, где 6 нуклеотидов представляют собой 2'-фторнуклеотиды и 13 нуклеотидов представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды; (b) антисмысловую цепь, содержащую 21 нуклеотид, где 2 нуклеотида представляют собой 2'-фторнуклеотиды, а 19 нуклеотидов представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды; и (c) конъюгированный фрагмент, где конъюгированный фрагмент присоединен к 3'-концу смысловой цепи, приводила к успешному лечению HBV, о чем свидетельствует снижение уровня HBsAg в сыворотке. См. ФИГ. 4 и 5A–5D и Таблицу 8. Для дц-миНК-0160 и дц-миНК-0165 2'-фторнуклеотиды располагались в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5'-конца смысловой цепи и в положениях 2 и 14 от 5'-конца антисмысловой цепи.

[0470] Как показано на примере дц-миНК-0166, дц-миНК, содержащая (a) смысловую цепь, содержащую 19 нуклеотидов, где 4 нуклеотида представляют собой 2'-фторнуклеотиды и 15 нуклеотидов представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды; (b) антисмысловую цепь, содержащую 21 нуклеотид, где 2 нуклеотида представляют собой 2'-фторнуклеотиды, а 19 нуклеотидов представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды; и (c) конъюгированный фрагмент, где конъюгированный фрагмент присоединен к 3'-концу смысловой цепи, приводила к успешному лечению HBV, о чем свидетельствует снижение уровня HBsAg в сыворотке. См. ФИГ. 4 и 5J и Таблицу 8. Для дц-миНК-0166 2'-фторнуклеотиды располагались в положениях 3, 7, 8 и 17 от 5' конца смысловой цепи и в положениях 2 и 14 от 5' конца антисмысловой цепи.

[0471] Как показано на примере дц-миНК-0153, дц-миНК содержащая (a) смысловую цепь, содержащую 19 нуклеотидов; (b) антисмысловую цепь, содержащую 21 нуклеотид, где нуклеотиды в антисмысловой цепи содержат по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3, и где приблизительно 1 нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид и 3 нуклеотида представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды в повторяющемся паттерне; и (c) конъюгированный фрагмент, где конъюгированный фрагмент присоединен к 3'-концу смысловой цепи, приводила к успешному лечению HBV, о чем свидетельствует снижение уровня HBsAg в сыворотке. См. ФИГ. 5J. Для дц-миНК-0153 смысловая цепь состоит из 6 2'-фторнуклеотидов в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5'-конца смысловой цепи. Кроме того, антисмысловая цепь содержит 5 повторов 1:3 паттерна модификации, начиная с положения 2 от 5'-конца антисмысловой цепи.

[0472] Как показано на примере дц-миНК-0109, дц-миНК, содержащая (a) смысловую цепь, содержащую 19 нуклеотидов, где 4 нуклеотида представляют собой 2'-фторнуклеотиды и 15 нуклеотидов представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды; (b) антисмысловую цепь, содержащую 21 нуклеотид, где 4 нуклеотида представляют собой 2'-фторнуклеотиды, а 17 нуклеотидов представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды; и (c) конъюгированный фрагмент, где конъюгированный фрагмент присоединен к 3'-концу смысловой цепи, приводила к успешному лечению HBV, о чем свидетельствует снижение уровня HBsAg в сыворотке. См. ФИГ. 5D. Для дц-миНК-0109 смысловая цепь состоит из 4 2'-фторнуклеотидов в положениях 5 и 7–9 от 5'-конца смысловой цепи. Кроме того, антисмысловая цепь содержит 5 повторов 1:2 паттерна модификации, начиная с положений 2, 5, 8, 14 и 17 от 5'-конца антисмысловой цепи.

[0473] Как показано на примере дц-миНК-0147, дц-миНК содержащая (a) смысловую цепь, содержащую 19 нуклеотидов; (b) антисмысловую цепь, содержащую 21 нуклеотид, где нуклеотиды в антисмысловой цепи содержат по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2, и где приблизительно 1 нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид и 2 нуклеотида представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды в повторяющемся паттерне; и (c) конъюгированный фрагмент, где конъюгированный фрагмент присоединен к 3'-концу смысловой цепи, приводила к успешному лечению HBV, о чем свидетельствует снижение уровня HBsAg в сыворотке. См. ФИГ. 5I. Для дц-миНК-0147 2'-фторнуклеотиды располагались в положениях 5 и 7–9 от 5'-конца смысловой цепи и в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5'-конца антисмысловой цепи.

Таблица 8. Тестирование дц-миНК на мышиной модели AAV-HBV

№ дц-миНК	Последовательность смысловой цепи (5'–3')	Последовательность антисмысловой цепи (5'–3')	EC50 HepG2.2.15*	HBsAg Nadir (Log)**
дц-миНК-0109	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 604)	mUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC (SEQ ID NO: 605)		
дц-миНК-0119	mGpsmCpsmUmGfCmUmAmUfGfCfCmUmCfAmUmCmUmUfCmUmU-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 606)	mApsfApsmGmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCfAmUmAmGmCmAmGmCpsmApsmG (SEQ ID NO: 495)		
дц-миНК-0147	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 607)	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA (SEQ ID NO: 608)		
дц-миНК-0153	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfUmCmGfCmUmUmCmAfCmCmU-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 609)	mApsfGpsmGmUmGfAmAmGmCfGmAmAmGfUmGmCmAfCmApsmCpsmG (SEQ ID NO: 610)		
дц-миНК-0167	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUfUmUmUfCmUmUmGmUfUmGmA-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 611)	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAmAmAmAmAfCmCmCmCmGmCpsmCpsmU (SEQ ID NO: 285)	A	X
дц-миНК-0162	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUmUmUmUmCmUmUmGmUfUmGmA-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 612)	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAmAmAmAmAfCmCmCmCmGmCpsmCpsmU (SEQ ID NO: 285)	C	X
дц-миНК-0165	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 601)	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA (SEQ ID NO: 292)	A	X
дц-миНК-0168	mUpsmCpsmGmUmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 613)	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCmGmApsmGpsmU (SEQ ID NO: 298)	A	X
дц-миНК-0163	mGpsmCpsmUmGmCmUfAmUfGfCfCmUmCmAmUmCmUmUmCmU-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 602)	mApsfApsmGmAmAfGmAmUmGmAmGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCpsmApsmG (SEQ ID NO: 287)	A	Y
дц-миНК-0161	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGfCmCmUfCmAmUmCmUfUmCmU-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 614)	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCmAfUmAmGmCmAmGpsmCpsmA (SEQ ID NO: 277)	A	Y
дц-миНК-0160	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 600)	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC (SEQ ID NO: 272)	A	X
дц-миНК-0169	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUm	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCm	A	X

	CmA-p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 600)	AmCmGmGpsTpsT (SEQ ID NO: 375)		
дц-миНК-0170	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfUmCmGfCmUmUmCmAfCmCmU- p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 609)	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG (SEQ ID NO: 303)	A	X
дц-миНК-0166	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmU-p-(PS)2-GalNAc4 (SEQ ID NO: 615)	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG (SEQ ID NO: 303)	A	X
дц-миНК-0171	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmU- p-(PS)2-GalNac4 (SEQ ID NO: 615)	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsTpsT (SEQ ID NO: 407)	A	X
mX = 2'-*O*-метилнуклеотид; fX = 2'-фторнуклеотид; ps = фосфоротиоатная связь * Для EC50, A = EC50 < 0,5 нМ; B = 0,5 нМ < EC50 < 1; и C = EC50 > 1. **Для HBsAg Nadir, X ≥ 1 $\log_{10}$ снижения содержания HBsAg, Y представляет собой 0,5 – 1 $\log_{10}$ снижения содержания HBsAg, и Z представляет собой < 0,5 $\log_{10}$ снижения содержания HBsAg.				

[0474] Пример 16. Тестирование дц-миНК, имеющих 5'-стабилизированный концевой кэп, на мышиной модели AAV-HBV

[0475] В данном примере исследуют активность дц-миНК, имеющих 5'-стабилизированный концевой кэп, *in vivo*. Последовательности тестируемых в данном примере дц-миНК представлены в Таблице 9.

[0476] ФИГ. 6A иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0160 (G15) (дц-миНК без 5'-стабилизированного концевого кэпа, например, винилфосфоната), или дц-миНК-080 (G14) (дц-миНК с 5'-стабилизированным концевым кэпом, например, винилфосфоната). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0. Полученное в результате наименьшее значение $\log_{10}$ снижения содержания HBsAg в сыворотке представлено в Таблице 9, где X ≥ 1 $\log_{10}$ снижения HBsAg, Y представляет собой 0,5 – 1 $\log_{10}$ снижения HBsAg и Z представляет собой < 0,5 $\log_{10}$ снижения HBsAg.

[0477] ФИГ. 6B иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0169 (G16) (дц-миНК без 5'-стабилизированного концевого кэпа, например, винилфосфоната), или дц-миНК-081 (G13) (дц-миНК с 5'-стабилизированным концевым кэпом, например, винилфосфоната). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0. Полученное в результате наименьшее значение $\log_{10}$

снижения содержания HBsAg в сыворотке представлено в Таблице 9, где X ≥ 1 log_{10} снижения HBsAg, Y представляет собой 0,5 – 1 log_{10} снижения HBsAg и Z представляет собой < 0,5 log_{10} снижения HBsAg.

[0478] ФИГ. 7A иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0165 (G18) (дц-миНК без 5'-стабилизированного концевого кэпа, например, винилфосфоната), или дц-миНК-0127 (G17) (дц-миНК с 5'-стабилизированным концевым кэпом, например, винилфосфоната). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0. Полученное в результате наименьшее значение log_{10} снижения содержания HBsAg в сыворотке представлено в Таблице 9, где X ≥ 1 log_{10} снижения HBsAg, Y представляет собой 0,5 – 1 log_{10} снижения HBsAg и Z представляет собой < 0,5 log_{10} снижения HBsAg.

[0479] ФИГ. 7B иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0168 (G20) (дц-миНК без 5'-стабилизированного концевого кэпа, например, винилфосфоната), или дц-миНК-0150 (G19) (дц-миНК с 5'-стабилизированным концевым кэпом, например, винилфосфоната). Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг каждой дц-миНК в день 0. Полученное в результате наименьшее значение log_{10} снижения содержания HBsAg в сыворотке представлено в Таблице 9, где X ≥ 1 log_{10} снижения HBsAg, Y представляет собой 0,5 – 1 log_{10} снижения HBsAg и Z представляет собой < 0,5 log_{10} снижения HBsAg.

[0480] Данные результаты демонстрируют, что добавление 5'-стабилизированного концевого кэпа может повысить эффективность дц-миНК без 5'-стабилизированного концевого кэпа.

Таблица 9. Последовательности дц-миНК и HBsAg Nadir

№ дц-миНК	Последовательность смысловой цепи (5'–3')	Последовательность антисмысловой цепи (5'–3')	HBsAg Nadir (Log)*
дц-миНК-0160	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA-(PS)2-p-GalNAc4 (SEQ ID NO: 616)	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC (SEQ ID NO: 272)	Y
дц-миНК-080	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA-(PS)2-p-GalNAc4 (SEQ ID NO: 616)	vmUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC (SEQ ID NO: 462)	X
дц-миНК-0169	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA-(PS)2-p-GalNAc4 (SEQ ID NO: 616)	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsTpsT (SEQ ID NO: 375)	Y

дц-миНК-081	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA-(PS)2-p-GalNAc4 (SEQ ID NO: 616)	vmUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsTpsT (SEQ ID NO: 463)	X
дц-миНК-0165	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU-(PS)2-p-GalNAc4 (SEQ ID NO: 617)	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA (SEQ ID NO: 292)	X
дц-миНК-0127	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU-(PS)2-p-GalNAc4 (SEQ ID NO: 617)	vmApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA (SEQ ID NO: 503)	X
дц-миНК-0168	mUpsmCpsmGmUmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-(PS)2-p-GalNAc4 (SEQ ID NO: 618)	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCmGmApsmGpsmU (SEQ ID NO: 298)	Y
дц-миНК-0150	mUpsmCpsmGmUmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-(PS)2-p-GalNAc4 (SEQ ID NO: 618)	vmApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCmGmApsmGpsmU (SEQ ID NO: 523)	X
mX = 2'-*O*-метилнуклеотид; fX = 2'-фторнуклеотид; ps = фосфоротиоатнная связь; VP = винилфосфонат **Для HBsAg Nadir, X ≥ 1 $\log_{10}$ снижения содержания HBsAg, Y представляет собой 0,5 – 1 $\log_{10}$ снижения содержания HBsAg, и Z представляет собой < 0,5 $\log_{10}$ снижения содержания HBsAg.			

[0481] Пример 17. Эффективность комбинированной терапии на мышиной модели AAV-HBV

[0482] В данном примере исследуют эффективность комбинированной терапии, включающей антисмысловой олигонуклеотид (ASO 1, 5' GalNAc4-ps-GalNAc4-ps-GalNAc4-po-mA-po-lnGpslnApslnTpslnApslnApsApsAps(5OH)CpsGps(5m)Cps(5m)CpsGps(5m)CpslnApslnGpslnApscp(5m)C-3'(SEQ ID NO: 534)) и дц-миНК-0160 для лечения HBV на мышиной модели AAV-HBV.

[0483] ФИГ. 8A иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0160 (G06), ASO 1 (G18) или комбинацию дц-миНК-0160 и ASO 1 (G20). Мышам AAV-HBV подкожно вводили (a) 5 мл/кг несущей среды три раза в неделю, со дня 0–42 (G01); (b) однократную дозу 3 мг/кг дц-миНК-0160 в день 0 (G06); (c) 3 мг/кг ASO 1 еженедельно с 0– 21 день (G18); или (d) комбинацию ASO 1 и дц-миНК-0160, причем ASO 1 вводили в дозе 3 мг/кг еженедельно, с 0– 21 дней; и дц-миНК-0160 вводили однократно в дозе 3 мг/кг в день 0.

[0484] ФИГ. 8B иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G01), дц-миНК-0160 (G06), ASO 1 (G18)

или комбинацию дц-миНК-0160 и ASO 1 (G20). Мышам AAV-HBV подкожно вводили (a) 5 мл/кг несущей среды три раза в неделю, со дня 0–42 (G01); (b) однократную дозу 10 мг/кг дц-миНК-0160 в день 0 (G06); (c) 10 мг/кг ASO 1 еженедельно с 0– 21 день (G18); или (d) комбинацию ASO 1 и дц-миНК-0160, причем ASO 1 вводили в дозе 10 мг/кг еженедельно, с 0– 21 дней; и дц-миНК-0160 вводили однократно в дозе 3 мг/кг в день 0.

[0485] ФИГ. 8C проиллюстрирован график синергетического анализа комбинированной терапии *in vitro* с ASO 2 идц-миНК-0164. Для исследований комбинации дц-миНК-0164 с ASO 2 35 000 клеток на лунку подвергали обратной трансфекции в 96-луночном планшете, покрытом коллагеном I (Corning, Biocoat; номер по каталогу 356698). Исследуемые образцы дц-миНК-0164 и ASO 2 разводили в восстановленной сывороткой среде Opti-MEM™ I (Thermo Fisher Scientific; номер по каталогу 31985088) до 40-кратной желаемой конечной концентрации для испытаний, затем последовательно разбавляли (1:3) до 5 или 9 различных концентраций, соответственно. Аликвоту 3,25-мкл каждого разбавленного соединения объединяли в шахматном порядке. Данную комбинацию соединений смешивали с 0,3 мкл реагента для трансфекции Lipofectamine® RNAiMAX (Thermo Fisher Scientific, номер по каталогу 13778150) и 6,2 мкл восстановленной сывороткой среды Opti-MEM™ I. После инкубации в течение 20 минут смесь добавляли к клеткам. Также было отведено место для титрования каждого соединения отдельно в качестве эталонного контроля. Клетки инкубировали с соединениями в течение 3 дней при 37 °C в атмосфере с 5% CO_2. После этого HBsAg в супернатанте клеточной культуры анализировали с помощью ИФА, а жизнеспособность клеток измеряли с помощью Cell Titer Glow, теми же процедурами, что и в разделе анализа HepG2.2.15 in vitro. Синергизм снижения HBsAg между двумя тестируемыми изделиями проанализировали с использованием программного обеспечения MacSynergy.

[0486] Данные результаты показывают, что комбинированная терапия ASO 1 и дц-миНК-0160 приводила к большему снижению уровня HBsAg в сыворотке по сравнению с лечением только ASO 1 или дц-миНК-0160.

[0487] **Пример 18. Анализы миНК**

[0488] В данном примере оценивают активность миНК, представленных в таблице 10 (как определено по № дц-миНК). миРНК синтезировали, как описано в примере 1. Конъюгированный фрагмент (например, мономер лиганда) далее конъюгировали с 3’-концом смысловой цепи (примечание: для дц-миНК-067 и дц-миНК-083 мономер лиганда конъюгировали с 5’-концом смысловой цепи). К 5’-концу антисмысловой цепи некоторых миРНК присоединяли 5’-стабилизированный концевой кэп.

[0489] *Анализ in vitro*:

[0490] Клетки HepG2.2.15 *Homo sapiens* культивировали в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM) (ATCC 30-2002), содержащей также 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS). Клетки инкубировали при 37 °C в атмосфере с 5% CO2 во влажном инкубаторе. Для трансфекции клеток HepG2.2.15 HBV, нацеливающим миРНК, клетки высевали с плотностью 15000 клеток/лунку в 96-луночные обычные планшеты для тканевых культур. Трансфекцию клеток проводили с помощью RNAiMAX (Invitrogen/Life Technologies) согласно инструкции производителя. Эксперименты доза-реакция проводили с олигоконцентрациями 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,3125, 0,15625 и 0,07813 нМ. Для каждой обработки миРНК, нацеленной на HBV (например, дц-миРНК, идентифицированной по дц-миНК № в Таблице 6), параллельно трансфицировали четыре лунки, и из каждой лунки собирали данных для отдельных точек. После 24 часов инкубации с миРНК среду удаляли, клетки лизировали и анализировали с помощью набора зондов QuantiGene2.0 с разветвленной ДНК (рДНК), специфичного для генотипа D HBV (также называемого подтипом ayw вируса гепатита B, полный геном из 3182 пар оснований) как присутствует в клеточной линии HepG2.2.15.

[0491] Для каждой лунки уровни мРНК-мишени HBV нормализовали к уровню мРНК GAPDH. Как проиллюстрировано в таблице 10 активность HBV, нацеленная на дц-миРНК, выражена в виде EC50, представляет собой 50% снижение нормализованного уровня РНК HBV по сравнению с отсутствием лекарственного контроля, где A = EC50 $\leq$5 нМ; B = 5 нМ < EC50 < 10; C = EC50 $\geq$ 10. Как проиллюстрировано в Таблице 10, цитотоксичность дц-миРНК, нацеленной на HBV, была выражена в виде CC50 50% снижения мРНК GAPDH при отсутствии лекарственного контроля.

[0492] *Анализ in vivo:*

[0493] GalNAc-конъюгированную миРНК со стабилизированными 5'-концевыми кэпами или без них вводили подкожно в однократной дозе 5 мг/кг мышам AAV-HBV. Величину нокдауна мишени измеряли по сыворотке. Полученный максимальный нокдаун HBsAg (log_{10}) представлен в Таблице 10, где X $\geq$ 1 log_{10} снижения HBsAg, Y представляет собой 0,5 – 1 log_{10} снижения HBsAg и Z представляет собой < 0,5 log_{10} снижения HBsAg.

[0494] Пример 19: Анализ влияния 5'-стабилизированного концевого кэпа на эффективность миНК

[0495] В данном примере исследовали роль 5'-стабилизированного концевого кэпа в эффективности миНК. В частности, первый нуклеотид на 5'-конце антисмысловой цепи

модифицировали, чтобы содержать 5’-стабилизированный концевой кэп. Исследуемые в данном примере дц-миНК представлены в таблице ниже:

№ дц-миНК	Последовательность смысловой цепи (5’→3’)	Последовательность антисмысловой цепи (5’→3’)
дц-миНК-0166	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmU-p-(PS)2-GalNAc4 (SEQ ID NO: 615)	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG (SEQ ID NO: 303)
дц-миНК-0155	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmU-p-(PS)2-GalNAc4 (SEQ ID NO: 615)	vmApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG (SEQ ID NO: 525)
дц-миНК-0157	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmU-p-(PS)2-GalNAc4 (SEQ ID NO: 615)	d2vmApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG (SEQ ID NO: 529)

mX = 2’-*O*-метилнуклеотид; fX = 2’-фторнуклеотид; vmA = 5’-винилфосфонат 2’-*O*-метиладенозин; d2vmA = дейтерированный 5’-винилфосфонат аденозина; ps = фосфоротиоатная связь

[0496] Мышам AAV-HBV подкожно вводили несущую среду или дц-миНК. дц-миНК-0166, дц-миНК-0155 или дц-миНК-0157 вводили подкожно однократно в дозе 5 мг/кг мышам AAV-HBV. Величину нокдауна мишени измеряли по сыворотке. Как проиллюстрировано на ФИГ. 9, наличие 5’-стабилизированного концевого кэпа в первом нуклеотиде от 5’-конца антисмысловой цепи в дц-миНК-0155 (треугольник) и дц-миНК-0157 (квадрат) повышало эффективность миНК (квадраты и треугольники) по сравнению с миНК без 5’-стабилизированного концевого кэпа (дц-миНК-0166, ромб). Кроме того, присутствие дейтерированного 5’-винилфосфоната в дц-миНК-0157 приводило к большему повышению эффективности дц-миНК по сравнению с присутствием 5’-винилфосфаната в дц-миНК-0155. Данные результаты демонстрируют, что 5’-стабилизированный концевой кэп повышает эффективность миНК, при этом наибольшее улучшение наблюдали у миНК, содержащих дейтерированный 5’-винилфосфонат.

[0497] **Пример 20: Анализ комбинированной терапии HBV миРНК S и X**

[0498] В данном примере исследовали комбинированную терапию с использованием миНК, нацеленной на ген S HBV, и миНК, нацеленной на ген X HBV. Мышей AAV-HBV лечили несущей средой, одиночной терапией миНК или комбинированной терапией миНК, направленной на гены S и гены X HBV. Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократно дозу дц-миНК-0160 или дц-миНК-0165 в день 0. Для комбинированной терапии миНК мышам AAV-HBV однократно вводили подкожно 1,5 мг/кг дц-миНК-0165 (триггер S) и 1,5 мг/кг дц-миНК-0160 (триггер X) в день 0. Как проиллюстрировано на ФИГ. 10, комбинированная терапия с миНК, нацеленная на ген S, и миНК, нацеленная на ген X, была более эффективной, чем одиночная терапия с дц-миНК-0165 или дц-миНК-0160.

[0499] Пример 21. Синтез мономера

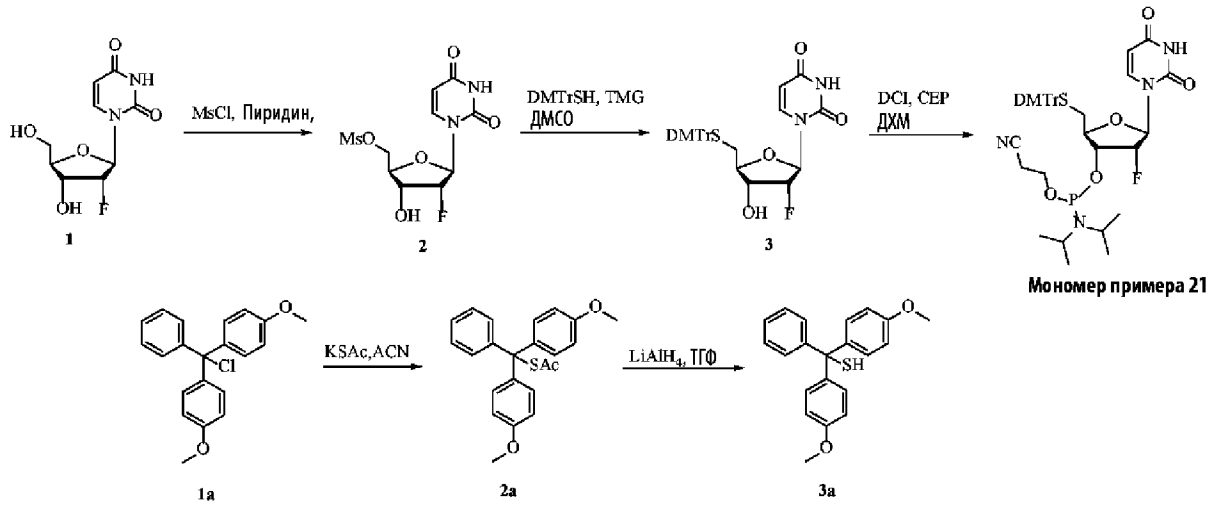


Схема 1

[0500] Получение (**2a**): К раствору **1a** (10,0 г, 29,5 ммоль) в ACN (200,0 мл), KSAc (13,5 г, 118,6 ммоль) добавляли при комн. темп., смесь перемешивали прикомн. темп. в течение 15 ч, ТСХ показала, что **1a** полностью израсходовано. Смесь фильтровали через силикагель и фильтр-прессную лепешку промывали ДХМ (100,0 мл), фильтрат концентрировали с получением неочищенного вещества **2a** (11,1 г) в виде масла. ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): δ 7,32–7,24 (м, 5H), 7,16 (д, *J* = 8,9 Гц, 4H), 6,82 (д, *J* = 8,9 Гц, 4H), 3,82 (с, 6H), 2,28 (с, 3H).

[0501] Получение (**3a**)**:** К раствору неочищенного вещества **2a** (11,1 г, 29,2 ммоль) в ТГФ (290,0 мл) добавляли $LiAlH_4$ (2,0 г, 52,6 ммоль) при 0 °C и выдерживали в течение 10 мин, реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 5 ч в атмосфере N_2, ТСХ показала, что **2a** полностью израсходовано. Смесь выливали в водный раствор $NaHCO_3$ и экстрагировали EA (500,0 мл*2), органическую фазу концентрировали с получением неочищенного вещества, которое очищали колоночной хроматографией (SiO_2, PE/EA = от 30:1 до 10:1) с получением **3a** (8,1 г, чистота 95%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 335,3 $[M-H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): δ 7,33–7,24 (м, 5H), 7,19 (д, *J* = 8,8 Гц, 4H), 6,82 (д, *J* = 8,8 Гц, 4H), 3,83 (с, 6H), 3,09 (с, 1H).

[0502] Получение (**2**): К раствору **1** (20,0 г, 81,3 ммоль) в пиридине (400,0 мл), MsCl (10,23 г, 89,43 ммоль) добавляли по каплям при –10°C, реакционную смесь перемешивали при –10°C в течение 1 ч, ЖХ-МС показала, что **1** полностью израсходовано, добавляли 100,0 мл водного раствора $NaHCO_3$ и экстрагировали ДХМ (100,0 мл*2), органическую фазу концентрировали с получением неочищенного вещества, которое очищали колоночной хроматографией (SiO_2, ДХМ/MeOH = от 30:1 до 10:1) с получением **2** (9,5 г,

чистота 97%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 325,3 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,45 (с, 1H), 7,64–7,62 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 5,92–5,85 (м, 2H), 5,65–5,63 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 5,26–5,11 (м, 1H), 4,53–4,37 (м, 2H), 4,27–4,16 (м, 1H), 4,10–4,04 (м, 1H), 3,23 (с, 3H).

[0503] Получение (**3**): Промежуточное соединение 3 получали в соответствии с условиями реакции, описанными в ссылке *Helvetica Chimica Acta*, **2004**, 87. 2812. К раствору **2** (9,2 г, 28,3 ммоль) в сухом ДМСО (130,0 мл). Добавляли DMTrSH (14,31 г, 42,5 ммоль) с последующим добавлением третраметилгуанидина (3,6 г, 31,2 ммоль) добавляли в атмосфере N_2, реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч, ЖХ-МС показала, что **2** полностью израсходовано. Добавляли 100,0 мл H_2O и экстрагировали ЕА (100,0 мл*2), органическую фазу концентрировали с получением неочищенного вещества, которое очищали колоночной хроматографией (SiO_2, PE/EA = от 5:1 до 1:1) с получением **3** (12,0 г, чистота 97%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 563,2 $[M-H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,43–11,42 (д, J = 4,0 Гц, 1H), 7,57–7,55 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,33–7,17 (м, 9H), 6,89-6,86 (м, 4H), 5,80–5,74 (м, 1H), 5,65–5,62 (м, 1H), 5,58–5,57 (д, J = 4,0 Гц, 1H), 5,16–5,01 (м, 1H), 3,98–3,90 (м, 1H), 3,73 (с, 6H), 3,73–3,67 (м, 1H), 2,50-2,37 (м, 2H).

[0504] Получение мономера примера 21: К раствору **3** (10,0 г, 17,7 ммоль) в дихлорметане (120,0 мл) в инертной атмосфере азота добавляли по очереди CEOP[N(iPr)$_2$]$_2$ (6,4 г, 21,2 ммоль) и DCI (1,8 г, 15,9 ммоль) при комнатной температуре. Полученный раствор перемешивали в течение 1,0 ч при комнатной температуре и разбавляли 50 мл дихлорметана и промывали 2 х 50 мл насыщенного водного раствора гидрокарбоната натрия и 1 х 50 мл насыщенного водного раствора хлорида натрия, соответственно. Органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали до тех пор, пока не осталось растворителя, при пониженном давлении. Остаток очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 6/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 21 (12,8 г, чистота 98%, выход 93%) в виде масла. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 765,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,44 (с, 1H), 7,70–7,66 (м, 1H), 7,32–7,18 (м, 9H), 6,89-6,85 (м, 4H), 5,80–5,64 (м, 2H), 5,38–5,22 (м, 1H), 4,38–4,15 (м, 1H), 3,81–3,70 (м, 8H), 3,61–3,43 (м, 3H), 2,76-2,73 (м, 1H), 2,66-2,63 (м, 1H), 2,50-2,41 (м, 2H), 1,12–1,05 (м, 9H), 0,97-0,95 (м, 3H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6):

δ 149,01, 148,97, 148,74, 148,67; ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,01, 148,97, 148,74, 148,67.

[0505] Пример 22. Синтез мономера

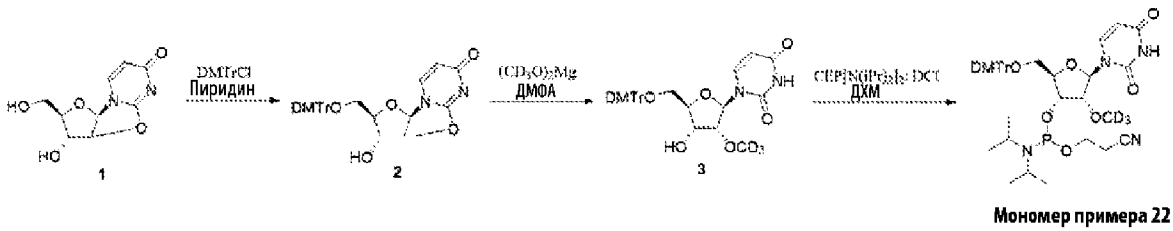


Схема-2

[0506] Получение (**2**): К перемешиваемому раствору **1** (2,0 г, 8,8 ммоль) в пиридине (20 мл) добавляли DMTrCl (3,3 г, 9,7 ммоль) при комн. темп. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали ЕА (100 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент, ДХМ: MeOH=50:1~20:1) с получением **2** (3,7 г, 7,2 ммоль, 80,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 527 $[M-H]^-$.

[0507] Получение (**3**): К данному раствору **2** (2,8 г, 5,3 ммоль) в сухом ДМФА (56 мл) добавляли $(CD_3O)_2Mg$ (2,9 г, 31,8 ммоль) при комн. темп. в атмосфере N_2. Реакционную смесь перемешивали при 100 °C в течение 15 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили насыщенным водн. раствором NH_4Cl и экстрагировали ЕА (300 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **3** (2,0 г, 3,6 ммоль, 67,9%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 562 $[M-H]^-$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,38 (с, 1Н), 7,73 (д, J = 8 Гц, 1Н), 7,46–7,19 (м, 9Н), 6,91 (д, J = 7,4 Гц, 4Н), 5,81–5,76 (АВ, J = 20 Гц, 1Н), 5,30 (д, J = 8 Гц, 1Н), 5,22 (с, 1Н), 4,25–4,15 (м, 1Н), 3,99–3,92 (м, 1Н), 3,85–3,79 (м, 1Н), 3,74 (с, 6Н), 3,34–3,18 (м, 31Н).

[0508] Получение мономер примера 22: К суспензии **3** (2,0 г, 3,5 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли DCI (357 мг, 3,0 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (1,3 г, 4,3 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **3** полностью израсходовано. Раствор

дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 22 (2,1 г, 2,7 ммоль, 77,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 764 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ACN-d_3): δ 9,45-8,90 (м, 1H, обменивался с D_2O), 7,88–7,66 (м, 1H), 7,50–7,18 (м, 9H), 6,93-6,80 (м, 4H), 5,85 (д, J = 8,2 Гц, 1H),5,29–5,16 (м, 1H), 4,57–4,37 (м, 1H), 4,18–4,09 (м, 1H), 3,98–3,90 (м, 1H), 3,90–3,74 (м, 7H), 3,74–3,50 (м, 3H), 3,48–3,31 (м, 2H), 2,70-2,61 (м, 1H), 2,56-2,46 (м, 1H), 1,24–1,12 (м, 9H), 1,09-0,99 (м, 3H). ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ACN-d_3): δ= 149,87, 149,55.

[0509] Пример 23. Синтез мономера

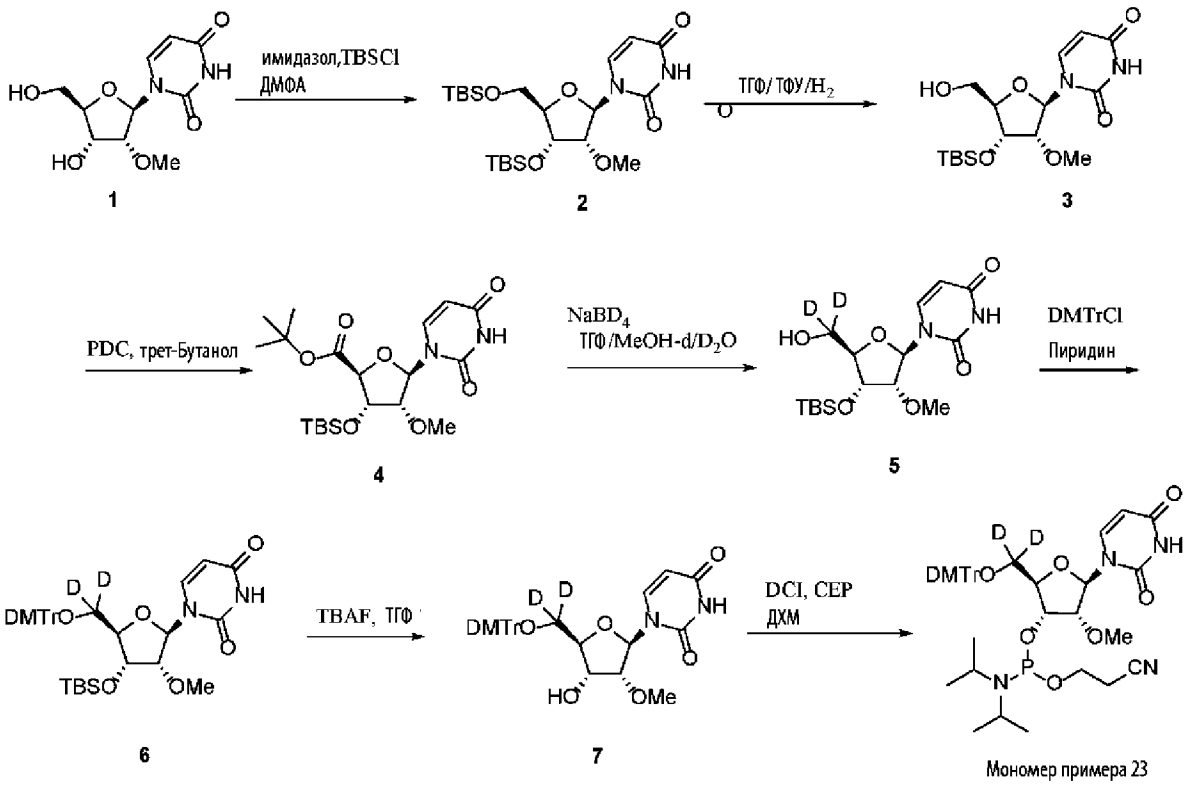


Схема-3

[0510] Получение (**2**): К данному раствору **1** (39,2 г, 151,9 ммоль) в ДМФА (390,0 мл) добавляли имидазол (33,0 г, 485,3 ммоль) и TBSCl (57,2 г, 379,6 ммоль) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч в атмосфере N_2. После добавления воды полученную смесь экстрагировали EA (500,0 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над

Na_2SO_4, концентрировали с получением неочищенного вещества **2** (85,6 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 487,7 $[M+H]^+$.

[0511] Получение (**3**): Раствор неочищенного вещества **2** (85,6 г) в смеси растворителей ТФУ/H_2O = 1/1 (400,0 мл) и ТГФ (400,0 мл) перемешивали при 0 °C в течение 30 мин. После завершения реакции полученную смесь добавляли конц. NH_3*H_2O до pH = 7, а затем экстрагировали ЕА (500,0 мл). Органический слой промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и удаляли с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **3** (36,6 г, 98,4 ммоль, 64,7% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 372,5 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,36 (д, J = 1 Гц, 1H), 7,92 (д, J = 8 Гц, 1H), 5,83 (д, J = 5 Гц, 1H), 5,67–5,65 (м, 1H), 5,19 (с, 1H), 4,30 (т, J = 5 Гц, 1H), 3,85–3,83 (м, 2H), 3,68–3,52 (м, 2H), 0,88 (с, 9H), 0,09 (с, 6H).

[0512] Получение (**4**): К данному раствору **3** (36,6 г, 98,4 ммоль) в сухом ДХМ (200,0 мл) и ДМФА (50,0 мл) добавляли PDC (73,9 г, 196,7 ммоль), трет-бутиловый спирт (188,0 мл) и Ac_2O (93,0 мл) при комн. темп. в атмосфере N_2, реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Растворитель удаляли с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент, PE/EA = 4:1 ~ 2:1) с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **4** (24,3 г, 54,9 ммоль, 55,8%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 443,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,30 (д, J = 1 Гц, 1H), 7,92 (д, J = 8 Гц, 1H), 5,86 (д, J = 6 Гц, 1H), 5,67–5,65 (м, 1H), 4,33–4,31 (м, 1H), 4,13 (д, J = 3 Гц, 1H), 3,73–3,70 (м, 1H), 1,34 (с, 9H), 0,77 (с, 9H), 0,08 (с, 6H).

[0513] Получение (**5**): К данному раствору **4** (18,0 г, 40,7 ммоль) в сухом ТГФ/MeOD/D_2O = 10/2/1 (145,0 мл) добавляли $NaBD_4$ (5,1 г, 122,1 ммоль) три раза в течение часа при 50 °C, реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. После завершения реакции доводили значение pH до 7 с помощью CH_3COOD, после добавления полученную смесь экстрагировали ЕА (300,0 мл). Объединенный

органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **5** (10,4 г, 27,8 ммоль, 68,3%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 375,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,36 (д, J = 1 Гц, 1H), 7,92 (д, J = 8 Гц, 1H), 5,83 (д, J = 5 Гц, 1H), 5,67–5,65 (м, 1H), 5,19 (с, 1H), 4,30 (т, J = 5 Гц, 1H), 3,85–3,83 (м, 2H), 0,88 (с, 9H), 0,09 (с, 6H).

[0514] Получение (**6**): К перемешиваемому раствору **5** (10,4 г, 27,8 ммоль) в пиридине (100,0 мл) добавляли DMTrCl (12,2 г, 36,1 ммоль) при комн. темп. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч, реакционную смесь гасили водой и экстрагировали ЕА (200,0 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **6** (13,5 г, 19,9 ммоль, 71,6%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 677,8 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,39 (д, J = 1 Гц, 1H), 7,86 (д, J = 4 Гц, 1H), 7,35–7,21 (м, 9H), 6,90-6,88 (м, 4H), 5,78 (д, J = 2 Гц, 1H), 5,30–5,27 (м, 1H), 4,33–4,30 (м, 1H), 3,91 (д, J = 7 Гц, 1H), 3,85–3,83 (м, 1H), 3,73 (с, 6H), 3,38 (с, 3H), 0,77 (с, 9H), 0,03 (с, 3H), 0,01 (с, 3H).

[0515] Получение (**7**): К раствору **6** (13,5 г, 19,9 ммоль) в ТГФ (130,0 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (19,0 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,5 ч. ЖХ-МС показала, что **6** полностью израсходовано. Добавляли воду (500,0 мл) и экстрагировали ЕА (300,0 мл), органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **7** (10,9 г, 19,4 ммоль, 97,5%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 563,6 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,39 (с, 1H), 7,23 (д, J = 8 Гц, 1H), 7,73 (д, J = 8 Гц, 1H), 7,36–7,23 (м, 9H), 6,90 (д, J = 8 Гц, 4H), 5,81 (д, J = 3 Гц,

1H), 5,30–5,28 (м, 1H), 5,22 (д, J = 7 Гц, 1H), 4,20 (к, J = 7 Гц, 1H), 3,93 (д, J = 7 Гц, 1H), 3,81 (т, J = 5 Гц, 1H), 3,74 (с, 6H), 3,41 (с, 3H).

[0516] Получение мономер примера 23: К суспензии **7** (10,9 г, 19,4 ммоль) в ДХМ (100,0 мл) добавляли DCI (1,8 г, 15,7 ммоль) и CEP[N(iPr)$_2$]$_2$ (6,1 г, 20,4 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **7** полностью израсходовано. Смесь дважды промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 23 (12,5 г, 14,5 ммоль, 74,7%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 863,6 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,39 (с, 1H), 7,81–7,55 (м, 1H), 7,40–7,22 (м, 9H), 6,92-6,87 (м, 4H), 5,83–5,80 (м, 1H), 5,32–5,25 (м, 1H), 4,46–4,34 (м, 1H), 4,10–3,98 (м, 2H), 3,84–3,73 (м, 7H), 3,60–3,50 (м, 3H), 3,42, 3,40 (с, 3H), 2,78 (т, J = 6 Гц, 1H), 2,62-2,59 (м, 1H), 2,07 (с, 1H), 1,17-0,96 (м, 12H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,37, 149,06.

[0517] **Пример 24. Синтез мономера**

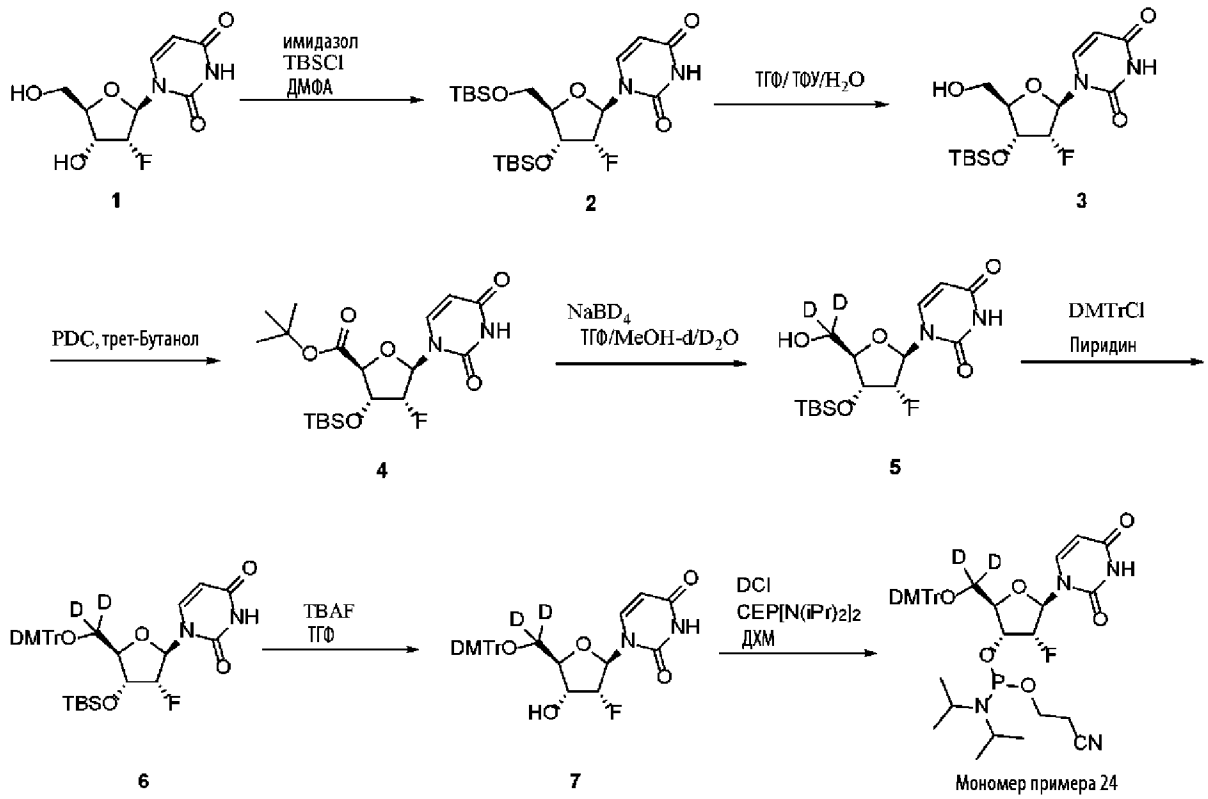


Схема-4

[0518] Получение (**2**): К данному раствору **1** (13,0 г, 52,8 ммоль) в ДМФА (100 мл) добавляли имидазол (12,6 г, 184,8 ммоль) и TBSCl (19,8 г, 132,0 ммоль) при 0 °C, и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч в атмосфере N_2. После добавления воды полученный продукт экстрагировали ЕА (500 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного твердого вещества **2** (30,6 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 475 $[M+H]^+$. WO2017106710A1

[0519] Получение (**3**): Раствор неочищенного вещества **2** (30,6 г) в смеси растворителей ТФУ/H_2O = 1/1 (100 мл) и ТГФ (100 мл) перемешивали при 0 °C в течение 30 мин. После завершения реакции полученную смесь добавляли конц. NH_3*H_2O до pH = 7,5, затем смесь экстрагировали ЕА (500 мл), органический слой промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и удаляли с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **3** (12,0 г, 33,3 ммоль, 65,8% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 361 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,39 (с, J = 1 Гц, 1H, обменивался с D_2O), 7,88 (д, J = 8 Гц, 1H), 5,91–5,86 (м, 1H), 5,66–5,62 (м, 1H), 5,21 (т, J = 5,2 Гц, 1H, обменивался с D_2O), 5,18–5,03 (м, 1H), 4,37–4,29 (м, 1H), 3,87–3,83 (м, 1H), 3,78–3,73 (м, 1H), 3,56–3,51 (м, 1H), 0,87 (с, 9H), 0,09 (с, 6H). WO2017106710A1.

[0520] Получение (**4**): К данному раствору **3** (11,0 г, 30,5 ммоль) в сухом ДХМ (60 мл) и ДМФА (15 мл) добавляли PDC (21 г, 61,0 ммоль), трет-бутиловый спирт (45 мл) и Ac_2O (32 мл) при комн. темп. в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Растворитель удаляли с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент, PE: EA=4:1~2:1) с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **4** (9,5 г, 22,0 ммоль, 72,3%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 431 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,45 (с, J = 1 Гц, 1H, обменивался с D_2O), 7,93 (д, J = 8,5 Гц, 1H), 6,02–5,97 (м, 1H), 5,76–5,74 (м, 1H),

5,29–5,14 (м, 1H), 4,59–4,52 (м, 1H), 4,29–4,27 (м, 1H), 1,46 (с, 9H), 0,89 (с, 9H), 0,12 (с, 6H).

[0521] Получение (**5**): К данному раствору **4** (8,5 г, 19,7 ммоль) в сухом ТГФ/MeOD/D_2O = 10/2/1 (80 мл) добавляли $NaBD_4$ (2,5 г, 59,1 ммоль) три раза за час при 50 °C. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. После завершения реакции доводили значение pH до 7 с помощью CH_3COOD, после добавления воды полученную смесь экстрагировали EA (300 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **5** (3,5 г, 9,7 ммоль, 50,3%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 363 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,41 (с, J = 1 Гц, 1H, обменивался с D_2O), 7,88 (д, J = 8 Гц, 1H), 5,91–5,86 (м, 1H), 5,66–5,62 (м, 1H), 5,19 (т, J = 5,2 Гц, 1H, обменивался с D_2O), 5,18–5,03 (м, 1H), 4,37–4,29 (м, 1H), 3,87–3,83 (м, 1H), 0,88 (с, 9H), 0,10 (с, 6H).

[0522] Получение (**6**): К перемешиваемому раствору **5** (3,4 г, 9,7 ммоль) в пиридине (35 мл) добавляли DMTrCl (3,4 г, 10,1 ммоль) при комн. темп. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали EA (200 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **6** (PCT Int. Appl., 2019173602), (5,5 г, 8,3 ммоль, 85,3%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 665 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,50 (д, J = 1 Гц, 1H, обменивался с D_2O), 7,92 (д, J = 4 Гц, 1H), 7,44–7,27 (м, 9H), 6,96-6,93 (м, 4H), 5,94 (д, J = 20,5 Гц, 1H), 5,39–5,37 (м, 1H), 5,32–5,17 (м, 1H), 4,60–4,51 (м, 1H), 4,01 (д, J = 8,8 Гц, 1H), 3,80 (с, 6H), 0,80 (с, 9H), 0,09 (с, 3H), -0,05 (с, 3H).

[0523] Получение (**7**): К раствору **6** (5,5 г, 8,3 ммоль) в ТГФ (50 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (9 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,5 ч. ЖХ-МС показала, что **6** полностью израсходовано. Добавляли воду (500 мл). Продукт экстрагировали EA (300 мл), и органический слой промывали солевым раствором и

сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **7** (4,1 г, 7,5 ммоль, 90,0%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 551 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,42 (с, 1H, обменивался с D_2O), 7,76 (д, J = 8,2 Гц, 1H), 7,39–7,22 (м, 9H), 6,90-6,88 (м, 4H), 5,83 (д, J = 20,5 Гц, 1H), 5,65 (д, J = 7,0 Гц, 1H, обменивался с D_2O), 5,29 (д, J = 7,2 Гц, 1H), 5,18–5,03 (м, 1H), 4,40–4,28 (м, 1H), 4,01 (д, J = 8,8 Гц, 1H), 3,74 (с, 6H).

[0524] Получение мономера примера 24: К суспензии **7** (4,1 г, 7,5 ммоль) в ДХМ (40 мл) добавляли DCI (0,7 г, 6,4 ммоль) и CEP[N(iPr)$_2$]$_2$ (2,9 г, 9,7 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **7** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 24 (5,0 г, 6,6 ммоль, 90,0%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 751 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,43 (с, 1H), 7,85–7,82 (м, 1H), 7,40–7,23 (м, 9H), 6,90-6,85 (м, 4H), 5,94–5,86 (м, 1H), 5,40–5,24 (м, 2H), 4,74–4,49 (м, 1H), 4,12–4,09 (м, 2H), 3,79–3,47 (м, 10H), 2,78-2,59 (м, 2H), 1,14-0,93 (м, 12H) . ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,67, 149,61, 149,32, 149,27.

[0525] **Пример 25. Синтез мономера**

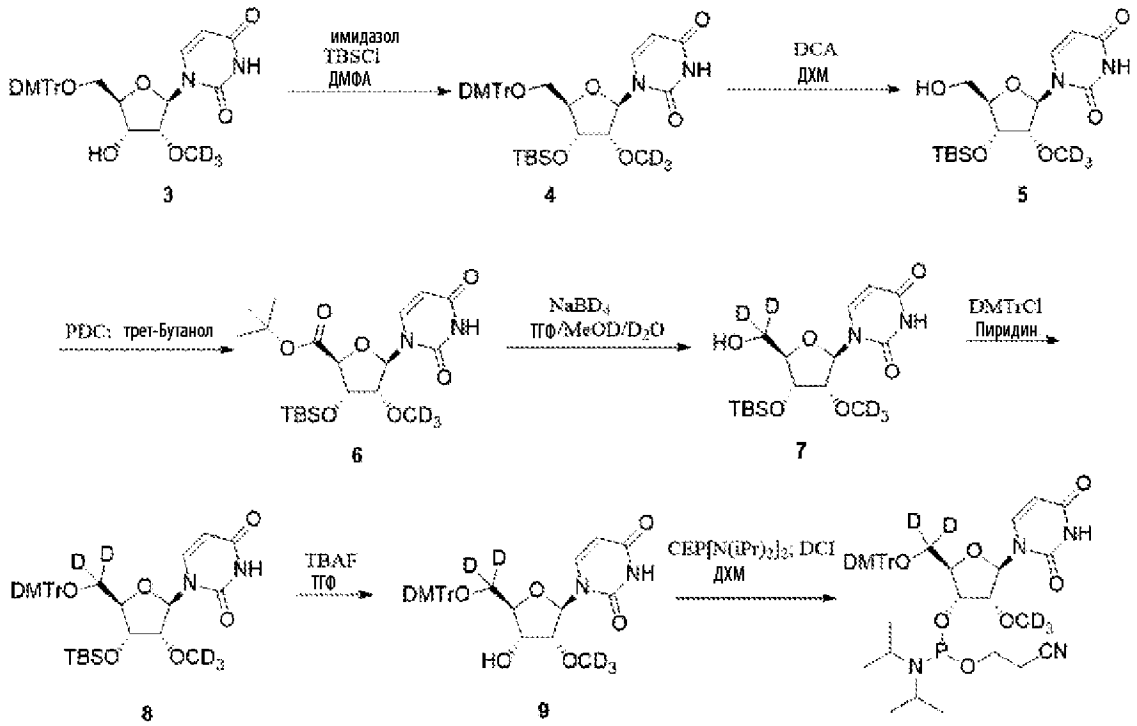


Схема-5

[0526] Получение (**4**): К данному раствору **3** (14,3 г, 25,4 ммоль, Схема 2) в пиридине (150 мл) добавляли имидазол (4,5 г, 66,6 ммоль) и TBSCl (6,0 г, 40,0 ммоль) при 0 °C, и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч в атмосфере N_2. После добавления воды полученную смесь экстрагировали EA (500 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали с получением неочищенного твердого вещества **4** (18,0 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 676 $[M-H]^-$.

[0527] Получение (**5**): К раствору неочищенного вещества **4** (18,0 г) в растворе DCA (6%) в ДХМ (200 мл) добавляли TES (50 мл) при комн. темп., и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5–10 мин. После завершения реакции к полученной смеси добавляли пиридин до pH = 7, а затем растворитель удаляли, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **5** (6,5 г, 17,2 ммоль, 67,7% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 376 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,92 (д, J = 8 Гц, 1H), 5,82 (д, J = 5,2

Гц, 1H), 5,68–5,63 (м, 1H), 5,20–5,15 (м, 1H), 4,32–4,25 (м, 1H), 3,87–3,80 (м, 2H), 3,69–3,61 (м, 1H), 3,57–3,49 (м, 1H), 0,88 (с, 9H), 0,09 (с, 6H).

[0528] Получение (**6**): К данному раствору **5** (6,5 г, 17,2 ммоль) в сухом ДХМ (35 мл) и ДМФА (9 мл) добавляли PDC (12,9 г, 34,3 ммоль), трет-бутиловый спирт (34 мл) и Ac_2O (17 мл) при комн. темп. в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Растворитель удаляли с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент, PE: EA=4:1~2:1) с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **6** (5,5 г, 12,3 ммоль, 70,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 446 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ = 11,29 (с, 1H), 7,91 (д, J = 8,4 Гц, 1H), 5,85 (д, J = 6,4 Гц, 1H), 5,71–5,61 (м, 1H), 4,35–4,28 (м, 1H), 4,12 (д, J = 3,2 Гц, 1H), 3,75–3,67 (м, 1H), 1,33 (с, 9H), 0,76 (с, 9H), 0,00 (д, J = 1,6 Гц, 6H).

[0529] Получение (**7**): К данному раствору **6** (5,4 г, 12,1 ммоль) в ТГФ/MeOD/D_2O= 10/2/1 (44 мл) добавляли $NaBD_4$ (1,5 г, 36,3 ммоль) при комн. темп., и реакционную смесь перемешивали при 50 °C в течение 2 ч. После завершения реакции доводили значение pH до 7 с помощью CH_3COOD. Добавляли воду, полученную смесь экстрагировали EA (500 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **7** (2,6 г, 6,8 ммоль, 56,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 378 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,35 (с, 1H), 7,91 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 5,82 (д, J = 5,2 Гц, 1H), 5,69–5,60 (м, 1H), 5,14 (с, 1H), 4,34–4,20 (м, 1H), 3,88–3,76 (м, 2H), 0,87 (с, 9H), 0,08 (с, 6H).

[0530] Получение (**8**): К перемешиваемому раствору **7** (2,6 г, 6,8 ммоль) в пиридине (30 мл) добавляли DMTrCl (3,5 г, 10,3 ммоль) при комн. темп. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали в EA (200 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая

до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **8** (4,3 г, 6,3 ммоль, 90,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 678 $[M-H]^-$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,39 (с, 1Н), 7,86 (д, J = 8,0 Гц, 1Н), 7,42–7,17 (м, 9Н), 6,96-6,83 (м, 4Н), 5,82–5,69 (м, 2Н), 5,29 (д, J = 8,4 Гц, 1Н), 4,36–4,25 (м, 1Н), 3,90 (д, J = 7,2 Гц, 1Н), 3,86–3,80 (м, 1Н), 3,73 (с, 6Н), 0,75 (с, 9Н), 0,02 (с, 3Н), -0,04 (с, 3Н).

[0531] Получение (**9**): К раствору **8** (4,3 г, 6,3 ммоль) в ТГФ (45 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (6 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,5 ч. ЖХ-МС показала, что **8** полностью израсходовано. Добавляли воду (200 мл). Продукт экстрагировали ЕА (200 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **8** (3,5 г, 6,1 ммоль, 90,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 678 $[M-H]^-$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,38 (д, J = 2,0 Гц, 1Н), 7,23 (д, J = 8,0 Гц, 1Н), 7,41–7,19 (м, 9Н), 6,94-6,85 (м, 4Н), 5,81 (д, J = 4,0 Гц, 1Н), 5,33–5,26 (м, 1Н), 5,21 (д, J = 7,2 Гц, 1Н), 4,06–3,90 (м, 2Н), 3,83–3,77 (м, 1Н), 3,74 (с, 6Н).

[0532] Получение мономера примера 25: К суспензии **9** (2,1 г, 3,7 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли DCI (373 мг, 3,1 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (1,3 г, 4,4 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **9** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 25 (2,2 г, 3,5 ммоль, 80%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 766 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ACN-d_3): δ 9,65-8,86 (м, 1Н, обменивался с D_2O), 7,93–7. 68 (м, 1Н), 7,52–7,19 (м, 9Н), 6,94-6,78 (м, 4Н), 5,95–5,77 (м, 1Н), 5,31–5,17 (м, 1Н), 4,61–4,37 (м, 1Н), 4,20–4,07 (м, 1Н), 4,01–3,51 (м, 10Н), 2,74-2,59 (м, 1Н), 2,57-2,43 (м, 1Н), 1,27–1,10 (м, 9Н), 1,09-0,95 (м, 3Н). ^{31}Р-ЯМР (162 МГц, ACN-d_3): δ= 149,88, 149,55.

[0533] **Пример 26. Синтез мономера**

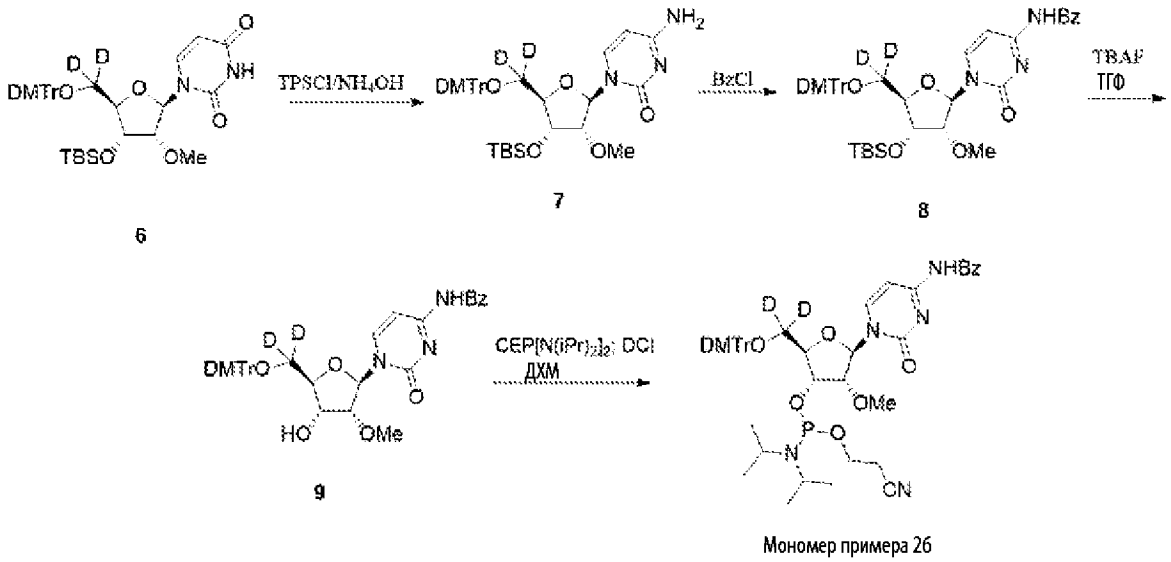


Схема-6

[0534] Получение (7): К раствору **6** (17 г, 25,1 ммоль, **Схема 3**) в ACN (170 мл) добавляли DMAP (6,13 г, 50,3 ммоль) и TEA (5,1 г, 50,3 ммоль, 7,2 мл). Затем добавляли TPSCl (11,4 г, 37,7 ммоль) при 0 °C в атмосфере N_2, и смесь перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч в атмосфере N_2. Затем добавляли конц. $NH_3.H_2O$ (27,3 г, 233,7 ммоль) при комн. темп., и смесь перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали EA (200 мл). Органическую фазу концентрировали с получением неочищенного вещества 7 (17,0 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии.

[0535] Получение (8): К перемешиваемому раствору 7 (17,0 г, 25,1 ммоль) в пиридине (170 мл) добавляли BzCl (4,3 г, 30,1 ммоль) 0 °C в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали EA (200 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **8** (19,0 г, 24,3 ммоль, 95,6% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 780 $[M+H]^+$.

[0536] Получение (9): К раствору **8** (19,0 г, 24,3 ммоль) в ТГФ (190 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (24 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,0 ч. ЖХ-МС показала, что **8** полностью израсходовано. Добавляли воду (500 мл). Продукт

экстрагировали ЕА (300 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **9** (15,2 г, 23,1 ммоль, 95,5%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 666 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,28 (с, 1Н), 8,41 (м, 1Н), 8,00–7,99 (м, 2Н),7,63–7,15 (м, 13Н), 6,93-6,89 (м, 4Н), 5,87(с, 1Н), 5,20(д, J = 7,4 Гц, 1Н), 4,30 (м, 1Н), 4,02 (м, 1Н), 3,75 (с, 7Н), 3,53 (с, 3Н).

[0537] Получение мономера примера 26: К суспензии **9** (10,0 г, 15,0 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли DCI (1,5 г, 12,7 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (5,4 г, 18,0 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **9** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 26 (11,5 г, 13,5 ммоль, 90,7%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 866 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ = 11,28 (с, 1Н), 8,48-8,41 (м, 1Н), 8,00–7,99 (м, 2Н),7,63–7,11 (м, 13Н), 6,93-6,89 (м, 4Н), 5,92(м, 1Н), 4,55–4,44 (м, 1Н), 4,17 (м, 1Н), 3,95 (м, 1Н), 3,80–3,62 (м, 7Н), 3,57–3,46 (м, 5Н), 3,32 (с, 1Н), 2,78 (м, 1Н), 2,62-2,59 (м, 1Н), 1,19-0,94 (м, 12Н); ^{31}Р-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ= 149,52, 148,82.

[0538] **Пример 27. Синтез мономера**

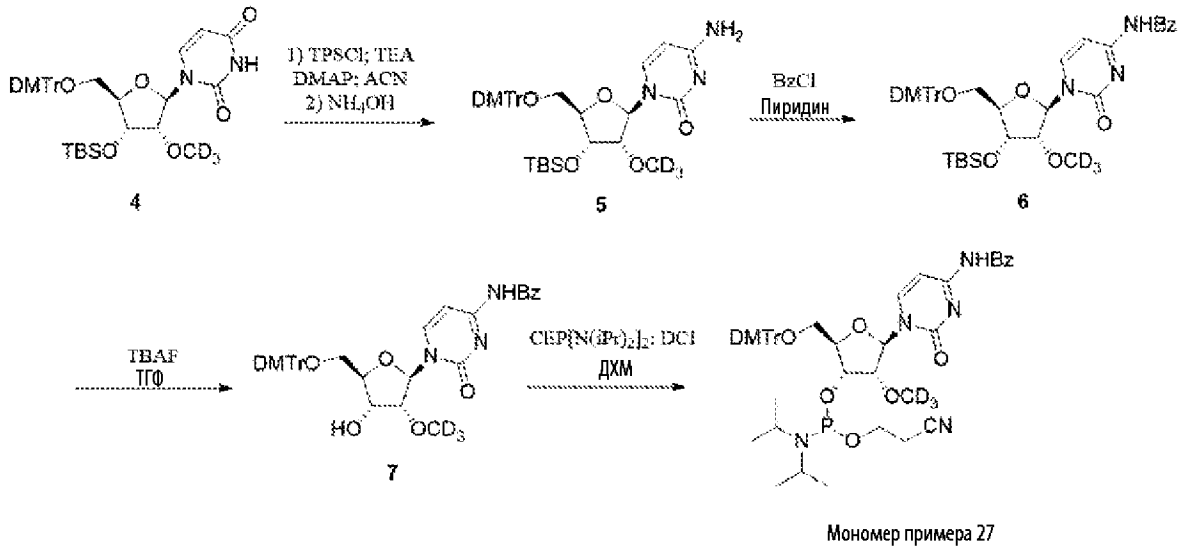


Схема-7

[0539] Получение (**5**): К данному раствору **4** (18,8 г, **Схема 5**) в сухом ACN (200 мл) добавляли TPSCl (16,8 г, 65,2 ммоль) и TEA (5,6 г, 65,2 ммоль) и DMAP (6,8 г, 65,2 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 ч в атмосфере N_2. После добавления воды полученную смесь экстрагировали EA (300 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали с получением неочищенного твердого вещества **5** (22,0 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 677 $[M-H]^+$.

[0540] Получение (**6**): К раствору **5** (22,0 г) в пиридине (150 мл) добавляли BzCl (6,8 г, 48,9 ммоль) на ледяной бане. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. ЖХ-МС показала, что **5** израсходовано. Смесь разбавляли EA и добавляли воду. Продукт экстрагировали EA. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H2O (0,5% NH4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить неочищенное вещество **6** (20,8 г, 26,7 ммоль, выход 82% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 781 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,30 (с, 1H), 8,55 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 8,00–7,98 (м, 2H), 7,74–7,66(м, 1H), 7,60–7,50(м, 2H), 7,47–7,31(м, 4H), 7,30–7,2(м, 5H), 7,20–7,1(м, 1H), 6,91 (д, J = 7,4 Гц, 4H), 5,91–5,86 (AB, J = 20,0 Гц, 1H), 4,30 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 3,87–3,78(с, 1H), 3,78–3,70 (м, 6H), 3,62–3,51 (м, 1H), 3,28–3,2 (м, 1H), 2,15-2,05 (м, 3H), 0,73 (с, 9H), 0,00 (м, 6H).

[0541] Получение (7): К раствору **6** (20,8 г, 26,7 ммоль) в ТГФ (210 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (32 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,5 ч. ЖХ-МС показала, что **6** полностью израсходовано. Добавляли воду (600 мл). Продукт экстрагировали ЕА (400 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **7** (12,4 г, 18,6 ммоль, 70%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 667 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,03 (м, 1Н), 8,51-8,48 (м, 1Н), 8,08–7,95 (м, 2Н), 7,63–7,54(м, 1Н), 7,52–7,19 (м, 9Н), 7,16–7,07(м,1Н), 6,94-6,89 (м, 3Н), 5,95–5,87 (м, 1Н), 5,31–5,17 (м, 1Н), 4,61–4,37 (м, 1Н), 4,20–4,07 (м, 1Н), 3,82–3,47 (м, 7Н), 2,57-2,42 (м, 2Н).

[0542] Получение мономера примера 27: К суспензии **7** (12,4 г, 18,6 ммоль) в ДХМ (120 мл) добавляли DCI (1,7 г, 15,8 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (7,3 г, 24,2 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. ЖХ-МС показала, что **7** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 27 (13,6 г, 15,7 ммоль, 84,0%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 867 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,03 (м, 1Н), 8,51-8,48 (м, 1Н), 8,08–7,95 (м, 2Н), 7,63–7,54(м, 1Н), 7,52–7,19 (м, 9Н), 7,16–7,07(м,1Н), 6,94-6,89 (м, 3Н), 5,95–5,87 (м, 1Н), 5,31–5,17 (м, 1Н), 4,61–4,37 (м, 1Н), 4,20–4,07 (м, 1Н), 3,82–3,47 (м, 10Н), 2,74-2,59 (м, 1Н), 2,57-2,43 (м, 1Н), 1,27–1,10 (м, 9Н), 1,09-0,95 (м, 3Н). ^{31}Р-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,59, 148,85.

[0543] **Пример 28. Синтез мономера**

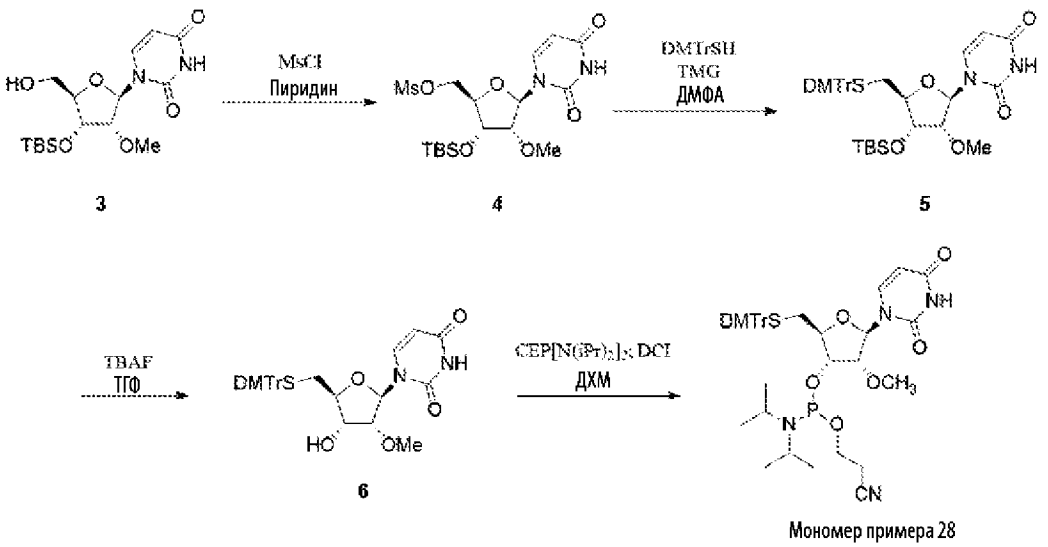


Схема-8

[0544] Получение (**4**): К раствору **3** (13,1 г, 35,2 ммоль, **Схема 3**) в пиридине (130 мл) добавляли MsCl (4,8 г, 42,2 ммоль) при–10~0 °C. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч в атмосфере N_2. ТСХ (ДХМ/MeOH =15:1) показала, что реагенты израсходованы. Смесь разбавляли EA и добавляли воду. Продукт экстрагировали EA. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Это позволило получить данный продукт **4** (14,2 г), который непосредственно использовали на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 451 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ 11,43(м, 1H), 7,67–7,65(м, 1H), 5,90–5,80(м, 1H), 5,75–5,64(м, 1H), 4,52–4,21(м, 3H), 4,12–3,90(м, 2H), 3,48–3,21(м, 6H), 0,95-0,78(с, 9H), 0,13-0,03(с, 6H).

[0545] Получение (**5**): К раствору **4** (14,2 г) в ДМСО (200 мл) добавляли DMTrSH (19,6 г, 63,2 ммоль) итетраметилгуанидин (5,1 г, 47,4 ммоль) при комн. темп. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 3,5 ч в атмосфере N_2. ЖХ-МС показала, что **4** израсходовано. Смесь разбавляли EA и добавляли воду. Продукт экстрагировали EA. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенный продукт очищали на колонке с силикагелем (SiO_2, PE/EA = 10:1 ~1:1) с получением **5** (14,2 г, 20,6 ммоль, выход 58,5% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 689 $[M+H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ 11,39(м, 1H), 7,63–7,61(д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,45–7,1(м, 9H), 6,91-6,81(м, 4H), 5,80–5,70(м, 2H), 4,01–3,91(м, 1H), 3,85–3,78(м, 1H), 3,78–3,65(м, 6H), 3,60–3,51(м, 1H), 3,43–3,2(м, 3H), 2,50-2,32(м, 2H), 0,95-0,77(с, 9H), -0,00-0,02(с, 6H).

[0546] Получение (**6**): К раствору **5** (14,2 г, 20,6 ммоль) в ТГФ (140 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (20 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в атмосфере N_2 в течение 2,5 ч. ЖХ-МС показала, что **5** полностью израсходовано. Прибавляли воду. Продукт экстрагировали ЕА, и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **6** (10,5 г, 18,2 ммоль, 88,5%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 576 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ 11,38(м, 1Н), 7,56–7,54(д, J = 8,0 Гц, 1Н), 7,45–7,1(м, 9Н), 6,91-6,81(м, 4Н), 5,80–5,70(м, 2Н), 4,05–4,00(м, 1Н), 3,81–3,79(м, 1Н), 3,74(м, 2Н), 3,78–3,65(м, 6Н), 3,60–3,51(м, 1Н), 3,43–3,2(м, 3Н), 2,40-2,32(м, 1Н).

[0547] Получение мономера примера 28: К суспензии **9** (10,5 г, 18,2 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли DCI (1,7 г, 15,5 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (7,2 г, 23,7 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **9** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 28 (12,5 г, 16,1 ммоль, 88%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 776 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ 11,41(м, 1Н), 7,64–7,59(м, 1Н), 7,40–7,25(м, 4Н), 7,25–7,10(м, 5Н), 6,89-6,86(м, 4Н), 5,72–5,67(м, 2Н), 4,02–4,00(м, 2Н), 3,76–3,74(м, 8Н), 3,74–3,73(м, 3Н), 3,51–3,49(д, J =8 Гц, 1Н), 3,33–3,29(м, 1Н), 2,77-2,73(м, 1Н) , 2,63-2,60 (м, 1Н), 2,50-2,47(м, 1Н) , 1,12-0,99(м, 12Н). ^{31}Р-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 148,92, 148,84.

[0548] **Пример 29. Синтез мономера**

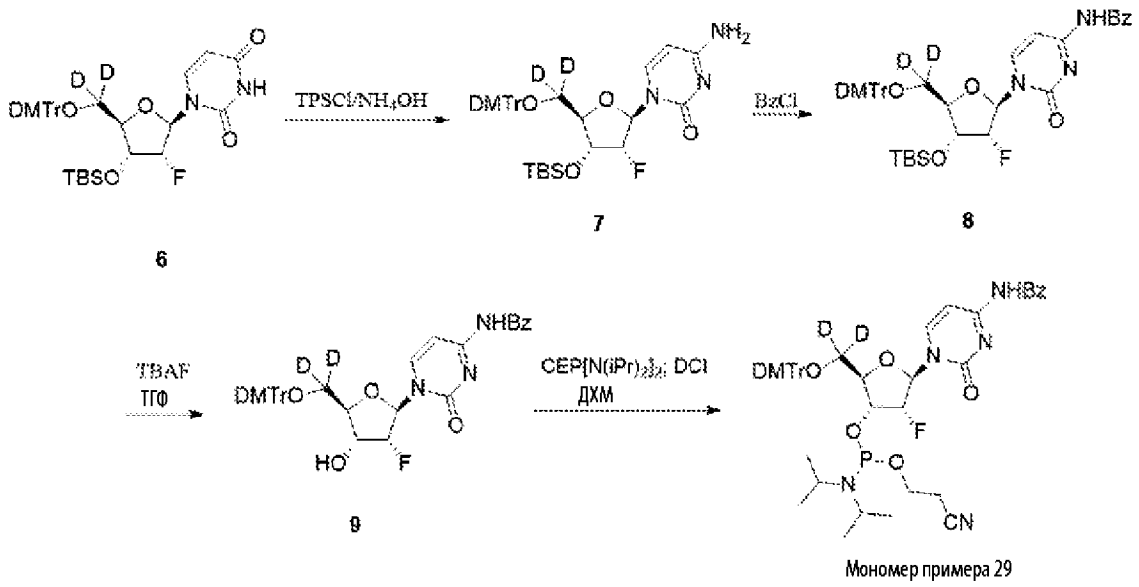


Схема-9

[0549] Получение (7): К раствору **6** (16 г, 24,1 ммоль, **Схема 4**) в ACN (160 мл) добавляли DMAP (5,9 г, 48,2 ммоль) и TEA (4,8 г, 48,2 ммоль), затем добавляли TPSCl (10,9 г, 36,1 ммоль) при 0 °C в атмосфере N_2, и смесь перемешивали при комн. темп. в течение 5 ч в атмосфере N_2. Затем добавляли конц. $NH_3.H_2O$ (30 мл) при комн. темп., и смесь перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. Реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали EA (200 мл). Органическую фазу концентрировали с получением неочищенного вещества **7** (16,0 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии.

[0550] Получение (**8**): К перемешиваемому раствору **7** (16,0 г, 24,1 ммоль) в пиридине (160 мл) добавляли BzCl (4,1 г, 28,9 ммоль) 0°C в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали EA (200 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **8** (18,0 г, 23,4 ммоль, 97,0%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 768 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,31 (с, 1H), 8,47(д, J = 7,2 Гц, 1H), 7,99 (д, J = 7,6 Гц, 2H), 7,65–7,16 (м, 13H), 6,92 (д, J = 8,8 Гц, 4H), 6,01 (д, J = 18,4 Гц, 1H), 5,18–5,04 (дд, 1H), 4,58–4,52 (м, 1H), 4,07 (д, J = 9,6 Гц, 1H), 3,75 (с, 6H), 0,73 (с, 9H), 0,05 (с, 3H), -0,06 (с, 3H).

[0551] Получение (**9**): К раствору **8** (18,0 г, 23,4 ммоль) в ТГФ (180 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (23 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,5 ч. ЖХ-МС показала, что **8** полностью израсходовано. Добавляли воду (500 мл). Продукт экстрагировали ЕА (300 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **7** (13,7 г, 21,1 ммоль, 90,5%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 654,2 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,31 (с, 1Н), 8,35(д, J = 7,4 Гц, 1Н), 8,01 (м, 2Н), 7,65–7,16 (м, 13Н), 6,92 (д, J = 8,8 Гц, 4Н), 5,94 (д, J = 18,0 Гц, 1Н), 5,71 (д, J = 7,0 Гц, 1Н), 5,12–4,98 (дд, 1Н), 4,51–4,36 (м, 1Н), 4,09 (д, J = 9,6 Гц, 1Н), 3,75 (с, 6Н).

[0552] Получение мономера примера 29: К суспензии **9** (10,6 г, 16,2 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли DCI (1,6 г, 13,7 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (5,8 г, 19,4 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **9** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 29 (10,5 г, 14,5 ммоль, 75,9%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 854,3 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,31 (с, 1Н), 8,41-8,37(м, 1Н), 8,01 (д, J = 7,7 Гц, 2Н), 7,65–7,16 (м, 13Н), 6,92-6,88 (м, 4Н), 6,06–5,98 (м, 1Н), 5,33–5,15 (м, 1Н), 4,78–4,58 (м, 1Н), 4,23–4,19 (м, 1Н), 3,81–3,73 (м, 6Н), 3,60–3,50 (м, 3Н), 3,32 (с, 1Н), 2,76 (т, J = 6,0 Гц, 1Н), 2,60 (т, J = 5,8 Гц, 1Н), 1,15-0,94 (м, 12Н) ; ^{31}Р-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 150,23, 150,18, 149,43, 149,38.

[0553] **Пример 30. Синтез мономера**

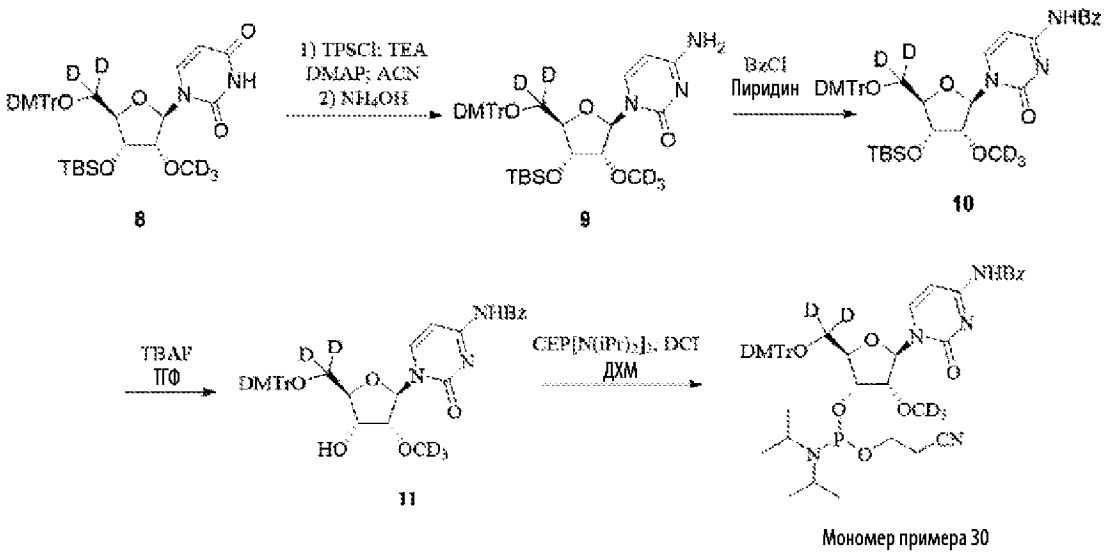


Схема-10

[0554] Получение (**9**): К раствору **8** (18,8 г, 26,4 ммоль, **Схема 5**) в ACN (200 мл) добавляли TPSCl (16,8 г, 55,3 ммоль) и DMAP (5,6 г, 55,3 ммоль) и TEA (6,8 г, 55,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 3,5 ч. ЖХ-МС показала, что реагенты израсходованы. Смесь разбавляли конц. NH_4OH (28 мл). Смесь разбавляли водой и EA. Продукт экстрагировали EA. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества **9** (18,5 г), которое использовали непосредственно для следующей стадии.

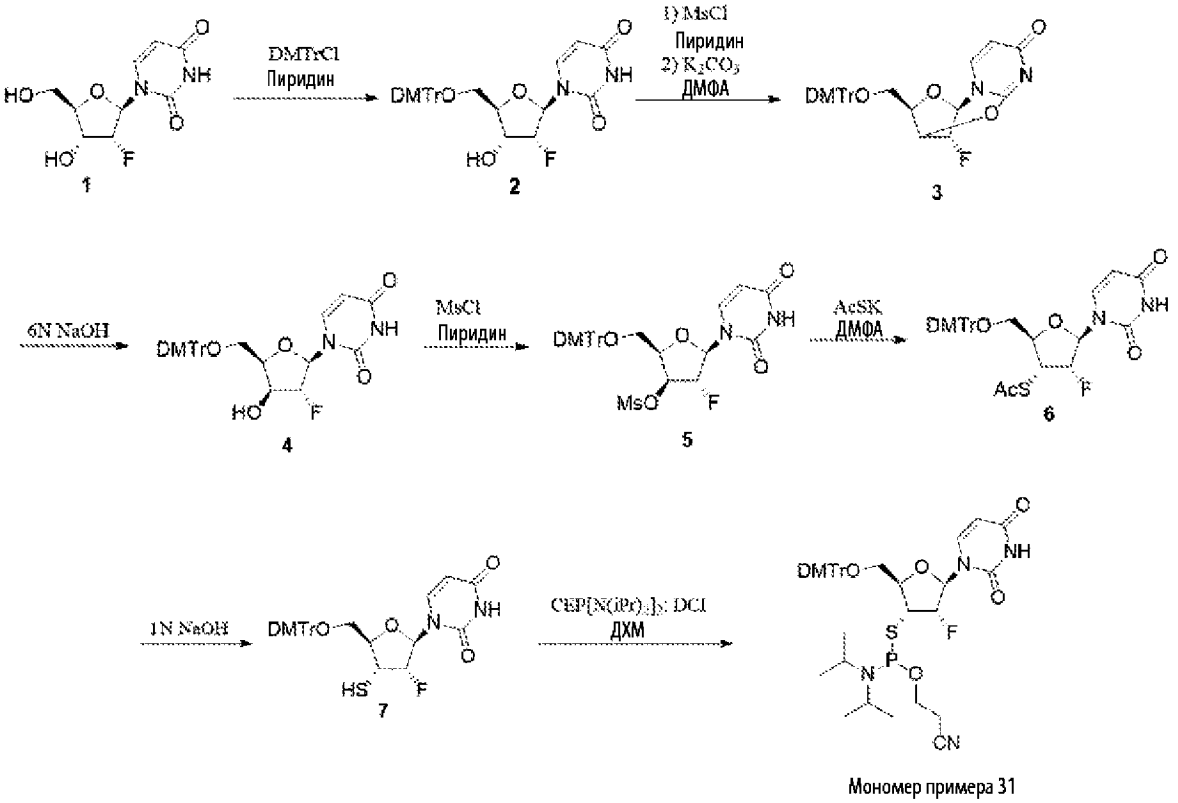
[0555] Получение (**10**): К раствору **9** (18,8 г, 27,69 ммоль) в пиридине (200 мл) добавляли BzCl (5,8 г, 41,5 ммоль) на ледяной бане. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. ЖХ-МС показала, что **9** израсходовано. Смесь разбавляли EA и добавляли воду. Продукт экстрагировали EA. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **10** (19,8 г, 25,3 ммоль, выход 91%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 783 $[M-H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,29 (д, J = 2,0 Гц, 1H), 8,42 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 8,02-8,00(м,2H), 7,64–7,62(м,1H), 7,60–7,41(м,2H),7,47,41–7,19 (м, 9H), 6,94-6,85 (м, 4H), 5,81 (д, J = 4,0 Гц, 1H), 5,33–5,26 (м, 1H), 5,21 (д, J = 7,2 Гц, 1H), 4,06–3,90 (м, 2H), 3,83–3,77 (м, 1H), 3,74 (с, 6H).

[0556] Получение (**11**): К раствору **10** (18,8 г, 26,4 ммоль) в ТГФ (190 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (28 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,5 ч. ЖХ-МС показала, что **10** полностью израсходовано. Добавляли воду (200 мл). Продукт

экстрагировали EA (200 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **11** (17,1 г, 25,6 ммоль, 96%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 669 $[M-H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,29 (д, J = 2,0 Гц, 1H), 8,42 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 8,02-8,00(м,2H), 7,64–7,62(м,1H), 7,60–7,41(м,2H),7,47,41–7,19 (м, 9H), 6,94-6,85 (м, 4H), 5,81 (д, J = 4,0 Гц, 1H), 5,33–5,26 (м, 1H), 5,21 (д, J = 7,2 Гц, 1H), 4,06–3,90 (м, 2H), 3,83–3,77 (м, 1H), 3,74 (с, 6H).

[0557] Получение мономера примера 30: К суспензии **11** (10,8 г, 16,2 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли DCI (1,5 г, 13,7 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (5,8 г, 19,3 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. ЖХ-МС показала, что **11** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 30 (11,3 г, 13 ммоль, 80%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 868 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,03 (м, 1H), 8,51-8,48 (м, 1H), 8,08–7,95 (м, 2H), 7,63–7,54(м, 1H), 7,52–7,19 (м, 9H), 7,16–7,07(м,1H), 6,94-6,89 (м, 3H), 5,95–5,87 (м, 1H), 5,31–5,17 (м, 1H), 4,61–4,37 (м, 1H), 4,20–4,07 (м, 1H), 3,82–3,47 (м, 10H), 2,74-2,59 (м, 1H), 2,57-2,43 (м, 1H), 1,27–1,10 (м, 9H), 1,09-0,95 (м, 3H). ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,52, 148,81.

[0558] **Пример 31. Синтез мономера**



Схема–11

[0559] Получение (**2**): К перемешиваемому раствору **1** (100,0 г, 406,5 ммоль) в пиридине (1000 мл) добавляли DMTrCl (151,2 г, 447,1 ммоль) при комн. темп. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали ЕА (3000 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (SiO_2, дихлорметан: метанол = 100:1) с получением **2** (210,0 г, 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 548,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,43 (д, J = 1,8 Гц, 1H), 7,77 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,40–7,21(м, 9H), 6,92-6,88(м, 4H), 5,89 (д, J = 20,0 Гц, 1H), 5,31–5,29 (м, 1H), 5,19–5,04 (дд, 1H), 4,38–4,31 (м, 1H), 4,02–3,98 (м, 1H), 3,74(с, 6H), 3,30 (д, J = 3,2 Гц, 2H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –199,51.

[0560] Получение (**3**): К перемешиваемому раствору **2** (100,0 г, 182,8 ммоль) в пиридине (1000 мл) добавляли MsCl (31,2 г, 274,2 ммоль) при 0 °C в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали ЕА (200 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением неочищенного вещества (114,0 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. К раствору неочищенного вещества

(114,0 г, 187,8 ммоль) в ДМФА (2000 мл) добавляли K_2CO_3 (71,5 г, 548,4 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при 90 °C в течение 15 ч в атмосфере N_2. После добавления воды полученную смесь экстрагировали ЕА (500 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле. (SiO_2, дихлорметан: метанол = 30:1) с получением **3** (100,0 г, 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 531,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,79 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,40–7,21(м, 9H), 6,89-6,83(м, 4H), 6,14 (д, J = 5,4 Гц, 1H), 6,02–5,90 (дд, 1H), 5,87 (д, J = 20,0 Гц, 1H), 5,45 (м, 1H), 4,61 (м, 1H), 3,73(д, J = 1,9 Гц, 6H), 3,30–3,15 (м, 2H), 1,24–1,16 (м, 1H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ -204,23.

[0561] Получение (**4**): Раствор **3** (100 г, 187,8 ммоль) в ТГФ (1000 мл) добавляли 6N NaOH (34 мл, 206,5 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 6 ч. После завершения реакции полученную смесь добавляли H_2O, затем смесь экстрагировали ЕА, органический слой промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и удаляли с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией с силикагелем (SiO_2, дихлорметан: метанол = 30:1) с получением **4** (90,4 г, 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 548,2 $[M+H]^+$; ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –184,58.

[0562] Получение (**5**): К перемешиваемому раствору **4** (90,4 г, 165,2 ммоль) в пиридине (1000 мл) добавляли MsCl (61,5 г, 495,6 ммоль) при 0 °C в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали ЕА. Органический слой промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и удаляли с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией с силикагелем (SiO_2, PE: EA = 1:1) с получением **5** (75,0 г, 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 626,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,51 (д, J = 1,6 Гц, 1H), 7,43–7,23(м, 10H), 6,92-6,88(м, 4H), 6,08 (д, J = 20,0 Гц, 1H), 5,55–5,39 (м, 2H), 4,59 (м, 1H), 3,74(с, 6H), 3,48–3,28 (м, 2H), 3,17 (с, 3H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –187,72.

[0563] Получение (**6**): К раствору **5** (75,0 г, 120,4 ммоль) в ДМФА (1500 мл) добавляли KSAc (71,5 г, 548,4 ммоль) при 110 °C в атмосфере N_2. После того, как перемешивали реакционную смесь при 110 °C в течение 3 ч добавляли KSAc (71,5 г, 548,4 ммоль) в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. После добавления воды полученную смесь экстрагировали ЕА. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (SiO_2,

PE: EA = 1:1) с получением **6** (29,0 г, 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 605,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,45 (д, J = 1,9 Гц, 1H), 7,95(д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,38–7,21 (м, 9H), 6,92-6,87 (м, 4H), 5,93 (м, 1H), 5,50–5,36 (дд, 1H), 5,25–5,23 (дд, 1H), 4,54–4,42 (м, 1H), 4,17–4,12 (м, 1H), 3,74 (м, 7H), 3,35–3,22 (м, 2H), 2,39 (с,1H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –181,97.

[0564] Получение (7): К раствору **6** (22 г, 36,3 ммоль) в смеси растворителей ТГФ /MeOH (1:1, 200 мл) добавляли 1N NaOMe (70 мл, 72,6 ммоль), перемешивали при 20 °C в течение 4 ч. После завершения реакции полученную смесь добавляли H_2O, затем смесь экстрагировали EA, органический слой промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и удаляли с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/3; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **7** (10,5 г, 14,5 ммоль, 75,9%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 565,1 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,45 (с, 1H), 7,83(д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,40–7,23 (м, 9H), 6,90 (д, J = 8,8 Гц, 4H), 5,88 (м, 1H), 5,29–5,15 (м, 2H), 3,72 (м, 7H), 3,43 (м, 2H), 2,78 (д, J = 10,6 Гц, 1H).

[0565] Получение мономера примера 31: К суспензии **7** (10,5 г, 18,6 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли DCI (1,8 г, 15,7 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (6,7 г, 22,3 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **8** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 31 (10,5 г, 14,5 ммоль, 75,9%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 765,3 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,40 (д, J = 12,2 Гц, 1H), 7,90–7,86(м, 1H), 7,41–7,24 (м, 9H), 6,91-6,89 (м, 4H), 5,97 (м, 1H), 5,33–5,10 (м, 2H), 4,18–4,16 (м, 1H), 3,91–3,39 (м, 17H), 2,81 (т, J = 5,6 Гц, 1H), 2,66 (т, J = 6,0 Гц, 1H), 1,33-0,97 (м, 12H) ; ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 164,57, 160,13.

[0566] Пример 32. Синтез мономера

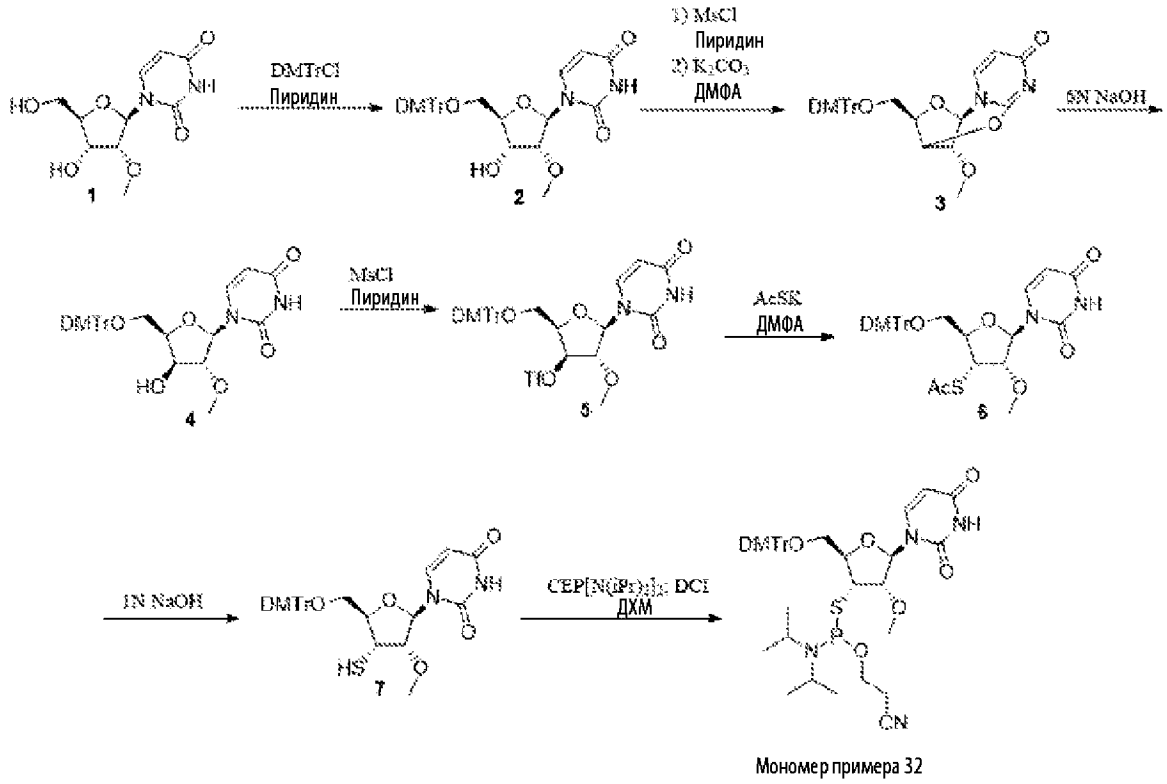


Схема-12

[0567] Получение (**2**): К перемешиваемому раствору **1** (100,0 г, 387,5 ммоль) в пиридине (1000 мл) добавляли DMTrCl (151,2 г, 447,1 ммоль) при комн. темп. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали ЕА (3000 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (SiO_2, дихлорметан: метанол = 100:1) с получением **2** (200,0 г, 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 561 $[M+H]^+$.

[0568] Получение (**3**): К перемешиваемому раствору **2** (73,0 г, 130,3 ммоль) в пиридине (730 мл) добавляли MsCl (19,5 г, 169,2 ммоль) при 0 °C в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали ЕА (200 мл). Органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением неочищенного вещества (80,0 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. К раствору неочищенного вещества (80,0 г, 130,3 ммоль) в ДМФА (1600 мл) добавляли K_2CO_3 (71,5 г, 390,9 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при

90 °C в течение 15 ч в атмосфере N_2. После добавления воды полученную смесь экстрагировали EA (500 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (SiO_2, дихлорметан: метанол = 30:1) с получением **3** (55,0 г, 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 543. $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,68 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,40–7,21(м, 9H), 6,89-6,83(м, 4H), 5,96(с, 1H), 5,83 (д, J = 5,4 Гц, 1H), 5,26 (с, 1H), 4,59 (с, 1H), 4,46 (т, J = 6,0 Гц, 1H), 3,72(с, 6H), 3,44(с, 3H), 3,18–3,12 (м, 2H).

[0569] Получение (**4**): Раствор **3** (55 г, 101,8 ммоль) в ТГФ (550 мл) добавляли 6N NaOH (34 мл, 206,5 ммоль). Смесь перемешивали при 20 °C в течение 6 ч. После завершения реакции полученную смесь добавляли H_2O, затем смесь экстрагировали EA, органический слой промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и удаляли с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией с силикагелем (SiO_2, дихлорметан: метанол = 30:1) с получением **4** (57,4 г, 87%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 561 $[M+H]^+$.

[0570] Получение (**5**): К перемешиваемому раствору **4** (57,4 г, 101,8 ммоль) в пиридине (550 мл) добавляли MsCl (61,5 г, 495,6 ммоль) при 0 °C в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили водой, и продукт экстрагировали EA. Органический слой промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и удаляли с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией с силикагелем (SiO_2, PE: EA = 1:1) с получением **5** (57,0 г, 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 639 $[M+H]^+$.

[0571] Получение (**6**): К раствору **5** (57,0 г, 89,2 ммоль) в ДМФА (600 мл) добавляли KSAc (71,5 г, 448,4 ммоль) при 110 °C в атмосфере N_2. После того, как перемешивали реакционную смесь при 110 °C в течение 3 ч добавляли KSAc (71,5 г, 448,4 ммоль) в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 16 ч. После добавления воды полученную смесь экстрагировали EA. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (SiO_2, PE: EA = 1:1) с получением **6** (29,0 г, 47%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 619,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,41 (с, 1H), 8,06 (с, 1H), 7,40–7,23 (м, 9H), 6,90 (д, J = 8,8 Гц, 4H), 5,82 (с, 1H), 5,10–5,08 (дд, 1H), 4,38–4,34 (м, 1H), 4,08–4,02 (м, 3H), 3,74 (с, 6H), 3,45 (с, 3H),3,25 (м, 2H), 2,37 (с, 3H); ИЭР-ЖХ-МС: m/z 619 $[M+H]^+$.

[0572] Получение (7): К раствору **6** (22 г, 35,3 ммоль) в смеси растворителей ТГФ /MeOH (1:1, 200 мл) добавляли 1N NaOMe (70 мл, 72,6 ммоль), перемешивали при 20 ℃ в течение 4 ч. После завершения реакции полученную смесь добавляли H_2O, затем смесь экстрагировали ЕА, органический слой промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и удаляли с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/3; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **7** (14,0 г, 70,9%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 576,1 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,38 (с, 1H), 7,90(д, J = 8,0 Гц, 1H), 7,40–7,23 (м, 9H), 6,90 (д, J = 8,8 Гц, 4H), 5,80 (с, 1H), 5,15–5,13 (дд, 1H), 3,93 (м, 1H),3,87 (д, J = 5,0 Гц, 1H), 3,74 (с, 6H), 3,59 (м, 2H), 3,49 (с, 3H),3,39 (д, J = 2,2 Гц, 2H), 2,40 (д, J = 10,2 Гц, 1H).

[0573] Получение мономера примера 32: К суспензии **7** (10,5 г, 18,6 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли DCI (1,8 г, 15,7 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (6,7 г, 22,3 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **7** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 32 (10,5 г, 14,5 ммоль, 75,9%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 776,3 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,40 (д, J = 12,2 Гц, 1H), 8,04–7,96(дд, 1H), 7,43–7,24 (м, 9H), 6,92-6,87 (м, 4H), 5,84 (м, 1H), 4,93 (м, 1H), 4,13 (м, 1H), 3,91–3,39 (м, 17H), 2,82 (т, J = 5,6 Гц, 1H), 2,68 (т, J = 6,0 Гц, 1H), 1,22-0,97 (м, 12H) ; ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 165,06, 157,59.

[0574] Пример 33. Синтез мономера 5'-концевого кэпа

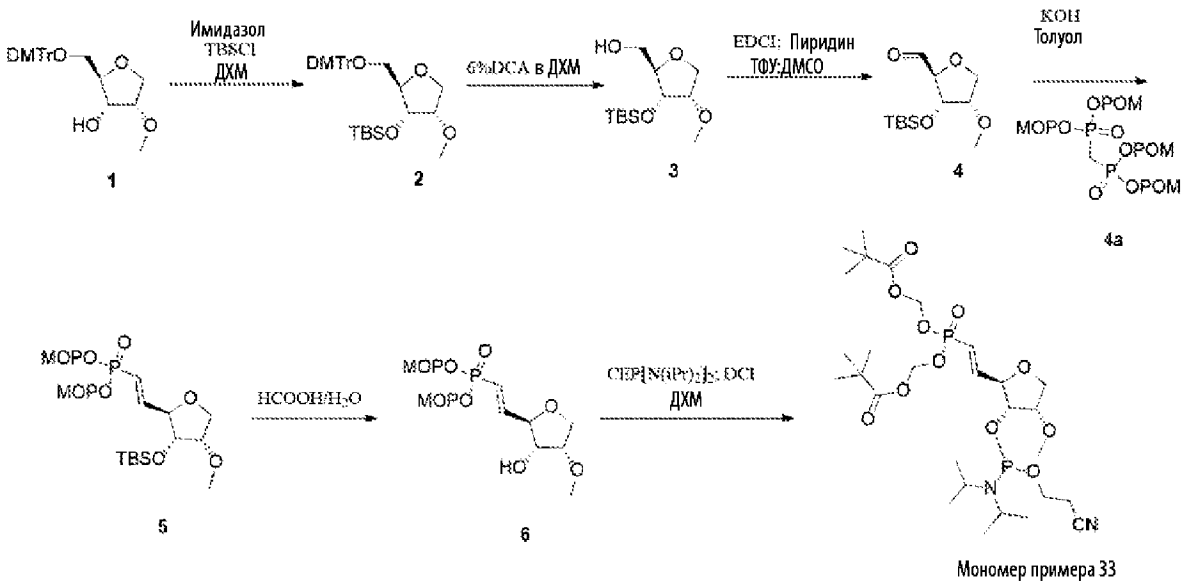


Схема-13

[0575] Получение (**2**): К раствору **1** (11,2 г, 24,7 ммоль) в ДХМ (120 мл) добавляли имидазол (4,2 г, 61,9 ммоль) и TBSCl (5,6 г, 37,1 ммоль) при комн. темп., смесь перемешивали при комн. темп. в течение 15 ч, ЖХ-МС показала, что **1** полностью израсходовано. К смеси добавляли воду (500 мл) и экстрагировали ДХМ (50 мл*2). Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением **2** (16,0 г) в виде масла для следующей стадии.

[0576] Получение (**3**): К раствору **2** (16,0 г, 28,4 ммоль) добавляли 6% DCA в ДХМ (160 мл) и триэтилсилан (40 мл) при комн. темп. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. ТСХ показала, что **2** полностью израсходовано. Добавляли воду (300 мл), смесь экстрагировали ДХМ (50 мл*4), органическую фазу сушили Na_2SO_4, концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали колоночной хроматографией (SiO_2, PE/EA = от 10:1 до 1:1) с получением **3** (4,9 г, выход 65,9%) в виде масла. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 263 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ 4,84–4,50(м, 1H), 4,3–4,09(м, 1H), 3,90–3,80(м, 1H), 3,75–3,67(м, 1H), 3,65–3,57(м, 2H), 3,50–3,44(м, 1H), 3,37–3,28(м, 4H), 0,95-0,78(с, 9H), 0,13-0,03(с, 6H).

[0577] Получение (**4**): К раствору **3** (3,3 г, 12,6 ммоль) в ДМСО (33 мл) добавляли EDCI (7,2 г, 37,7 ммоль). К смеси добавляли пиридин (1,1 г, 13,8 ммоль) и TFA (788,6 мг, 6,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 3 ч. ТСХ (PE/EA = 4:1) показала, что **3** израсходовано. Смесь разбавляли EA и добавляли воду. Продукт экстрагировали EA. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Это позволило получить **4** (3,23 г) в виде масла для следующей стадии.

[0578] Получение (**5**): К раствору **4** (3,3 г, 12,6 ммоль) в толуоле (30 мл) добавляли POM эфир **4a** (ссылка на **4a** *Journal of Medicinal Chemistry,* **2018,** *61* (3), 734–744) (7,9 г, 12,6 ммоль) и KOH (1,3 г, 22,6 ммоль) при комн. темп. Реакционную смесь перемешивали при 40 °C в течение 8 ч. ЖХ-МС показала, что **4** израсходовано. Смесь разбавляли водо и добавляли ЕА. Продукт экстрагировали ЕА. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 91/9; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **5** (5,4 г, 9,5 ммоль, выход 75,9%) в виде масла. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 567,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 6,89-6,77(м, 1H), 6,07–5,96(м, 1H), 5,86–5,55(м, 4H), 4,85 –4,73(м, 1H), 4,36–4,27(м, 1H), 4,05–3,96(м, 1H), 3,95–3,85(м, 1H), 3,73–3,65(м, 1H), 3,44–3,35 (м, 3H), 1,30–1,25(с, 18H), 0,94-0,84(с, 9H), 0,14-0,05(с, 6H). ^{31}P-ЯМР (162 МГц, $CDCl_3$) δ 18,30, 15,11.

[0579] Получение (**6**): К раствору **5** (5,4 г, 9,5 ммоль) в HCOOH (30 мл) /H_2O (30 мл) = 1:1 при комн. темп. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 15 ч. ЖХ-МС показала, что реагенты израсходованы. Смесь разбавляли конц. NH_4OH до pH = 7,5. Продукт экстрагировали ЕА. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5%HCOOH) = 30/70, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% HCOOH) = 70/30 в течение 45 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% HCOOH) = 59/41 Детектор, УФ 220 нм. Это позволило получить **6** (2,4 г, 5,7 ммоль, выход 59,4%) в виде масла. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 453,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ 6,84-6,68(м, 1H), 6,07–5,90(м, 1H), 5,64-5,55(м, 4H), 5,32–5,24(м, 1H), 4,23–4,15(м, 1H), 4,00–3,90(м, 1H), 3,89–3,80(м, 1H), 3,78–3,69(м, 2H), 3,37–3,30(с, 3H), 1,30–1,10(с, 18H). ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6) δ 18,14.

[0580] Получение мономера примера 33: К раствору **6** (2,1 г, 4,5 ммоль) в ДХМ (21 мл) добавляли DCI (452,5 мг, 3,8 ммоль) и CEP[N(iPr)$_2$]$_2$ (1,8 г, 5,9 ммоль) при комн. темп. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 15 ч в атмосфере N_2. ЖХ-МС показала, что **6** израсходовано Смесь разбавляли водой. Продукт экстрагировали ДХМ (30 мл). Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель

C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 28 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 80/20; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 33 (2,8 г, 4,3 ммоль, выход 95,2%) в виде масла. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 653,2 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ 6,89-6,77(м, 1Н), 6,11–5,96(м, 1Н), 5,65–5,50(м, 4Н), 4,39–4,34(д, J = 20 Гц, 1Н), 4,18–3,95(м, 2Н), 3,94–3,48(с, 6Н), 3,40–3,28(м, 4Н), 2,84-2,75 (м, 2Н), 1,26–1,98(с, 30Н). ^{31}Р-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6) δ 149,018, 148,736, 17,775, 17,508.

[0581] Пример 34. Синтез мономера 5'-концевого кэпа

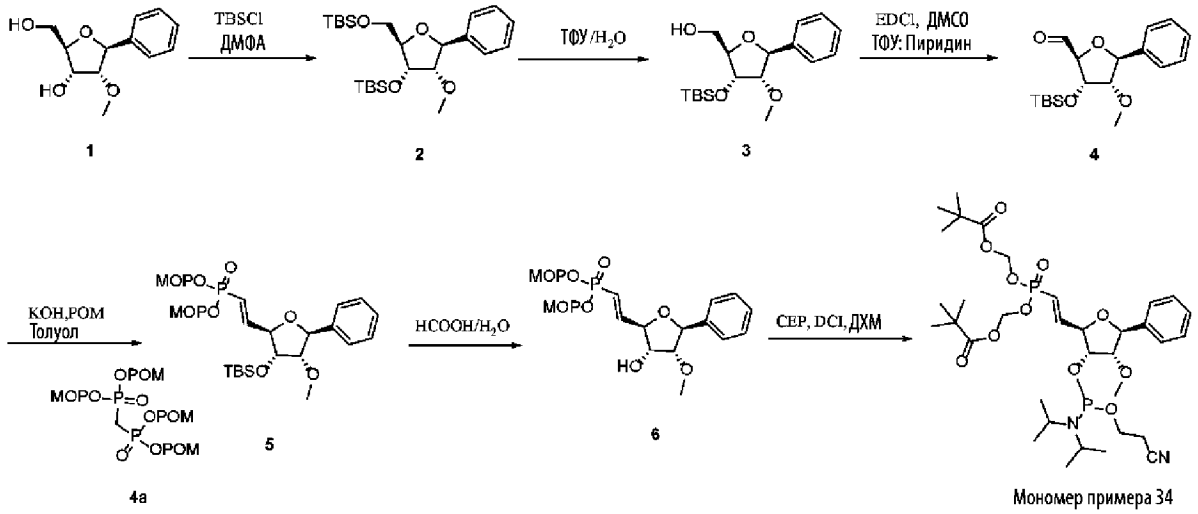


Схема-14

[0582] Получение (**2**): К раствору **1** (ссылка на **1** *Tetrahedron* , 2013, 69, 600-606) (10,60 г, 47,32 ммоль) в ДМФА (106 мл) добавляли имидазол (11,26 г, 165,59 ммоль) и TBSCl (19,88 г, 132,53 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 3,5 ч. ЖХ-МС показала, что **1** полностью израсходовано. Добавляли воду и экстрагировали ЕА, сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением **2** (20,80 г, 45,94 ммоль, выход 97,19%) для следующей стадии.

[0583] Получение (**3**): К раствору **2** (20,80 г, 45,94 ммоль) в ТГФ (248 мл), добавляли ТФУ (124 мл) и H_2O (124 мл) при 0 °С, реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. ЖХ-МС показала, что **2** полностью израсходовано. Потом экстрагировали ЕА, промывали насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5%

NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **3** (10,00 г, 29,59 ммоль, выход 64,31%). ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,33–7,18(м, 5H), 4,83–4,80(м, 1H), 4,61–4,59(м, 1H), 4,21–4,19(м, 1H), 3,75–3,74(м, 1H), 3,23(м, 3H), 3,13(м, 3H),2,41-2,40(м, 1H), 0,81(м, 9H), 0,00(м, 6H).

[0584] Получение (**4**): К раствору **3** (3,70 г, 10,95 ммоль) в ДМСО (37 мл) добавляли EDCI (6,30 г, 32,84 ммоль). Затем добавляли пиридин (0,95 г, 12,05 ммоль) и ТФУ (0,69 г, 6,02 ммоль) добавляли в атмосфере N_2. Смесь перемешивали в течение 3 ч при комн. темп. ЖХ-МС показала, что **3** полностью израсходовано. Выливали в воду и экстрагировали ЕА, промывали насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующей стадии.

[0585] Получение (**5**): К раствору **4** в толуоле (100,00 мл), добавляли **4a** (6,93 г, 10,97 ммоль) и KOH (1,11 г, 19,78 ммоль). Перемешивали в течение 3,5 ч при 40 °C в атмосфере N_2. ТСХ и ЖХ-МС показала, что **4** полностью израсходовано. Потом экстрагировали ЕА, промывали водой и насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **5** (4,30 г, 6,70 ммоль, выход 61,17%). ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): δ 7,27–7,26(м, 4H), 7,17(м, 1H), 6,94-6,82(м, 1H), 6,13-6,02(м, 1H), 5,63–5,56(м, 4H), 4,90–4,89(м, 1H), 4,45–4,41(м, 1H), 3,98–3,95(м, 1H), 3,39–3,29(м, 4H), 1,90(м, 1H), 1,12-0,83(м, 29H), 0,00(м, 7H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, $CDCl_3$): δ 18,021, 14,472.

[0586] Получение (**6**): К раствору **5** (4,30 г, 6,70 ммоль) в ТГФ (43,00 мл) добавляли HCOOH (100 мл) и H_2O (100 мл). Перемешивали в течение ночи при комн. темп. ЖХ-МС показала, что **5** полностью израсходовано. Выливали в NH_4OH и экстрагировали ЕА, промывали насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **6** (2,10 г, 3,98 ммоль, выход 59,32%). ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): δ 7,40–7,28(м, 5H), 7,11–7,00(м, 1H),

6,19-6,14(м, 1H), 5,71–5,68(м, 4H), 4,95–4,94(м, 1H), 4,48–4,47(м, 1H), 4,05–4,03(м, 1H), 3,62–3,61(м, 1H), 3,46(м, 3H), 3,00-2,99(м, 1H), 1,22(м, 18H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, $CDCl_3$): δ 18,134.

[0587] Получение мономера примера 34: К раствору **6** (2,10 г, 3,98 ммоль) в ДХМ (21 мл) добавляли DCI (410 мг, 3,47 ммоль). CEP (1,40 г, 4,65 ммоль) добавляли в атмосфере N_2. ЖХ-МС показала, что **6** полностью израсходовано. Выливали в ДХМ и H_2O, органическую фазу промывали водой и насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении при 40°C с получением неочищенного продукта, который очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 34 (2,10 г, 2,88 ммоль). ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,39–7,32(м, 6H), 6,21-6,11(м, 1H), 5,64–5,61(м, 4H), 4,91–4,85(м, 1H), 4,59(м, 1H), 4,28–4,25(м, 1H), 3,84–3,60(м, 5H), 3,36–3,36(м, 2H), 2,83-2,79(м, 2H), 1,18–1,14(м, 29H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,588, 148,920, 17,355, 17,010.

[0588] **Пример 35. Синтез мономера 5'-концевого кэпа**

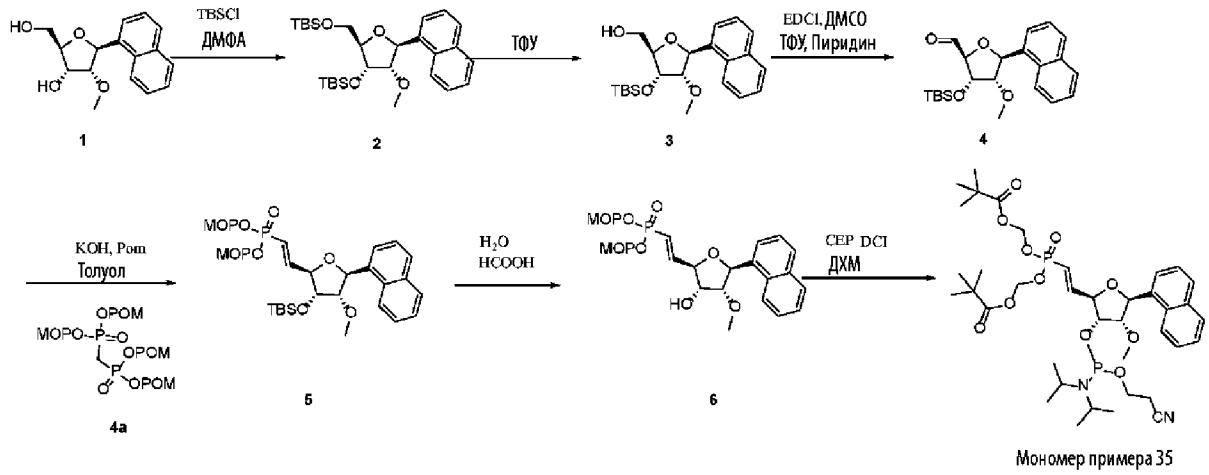


Схема-15

[0589] Получение (2): К раствору **1** (5,90 г, 21,50 ммоль) в ДМФА (60,00 мл) добавляли имидазол (4,39 г, 64,51 ммоль) и TBSCl (7,63 г, 49,56 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 3,5 ч. ЖХ-МС показала, что **1** полностью израсходовано. Добавляли воду и экстрагировали ЕА, сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном

давлении с получением **2** (11,00 г, 21,91 ммоль, выход 98,19%) для следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 225,1 $[M+H]^+$.

[0590] Получение (**3**): К раствору **2** (11,00 г, 21,91 ммоль) в ТГФ (55,00 мл) добавляли ТФУ (110,00 мл) и H_2O (55,00 мл) при 0 °C, реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. ЖХ-МС показала, что **2** полностью израсходовано. Потом экстрагировали ЕА, промывали насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **3** (6,20 г, 16,32 ммоль, выход 72,94%). ИЭР-ЖХ-МС: m/z 411,2 $[M+H]^+$.

[0591] Получение (**4**): К раствору **3** (3,50 г, 9,02 ммоль) в ДМСО (35,00 мл) добавляли EDCI (5,19 г, 27,06 ммоль). Затем добавляли пиридин (0,78 г, 9,92 ммоль) и ТФУ (0,57 г, 4,96 ммоль) в атмосфере N_2. Смесь перемешивали в течение 3 ч при комн. темп. Выливали в воду и экстрагировали ЕА, промывали насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 406,2 $[M+H]^+$.

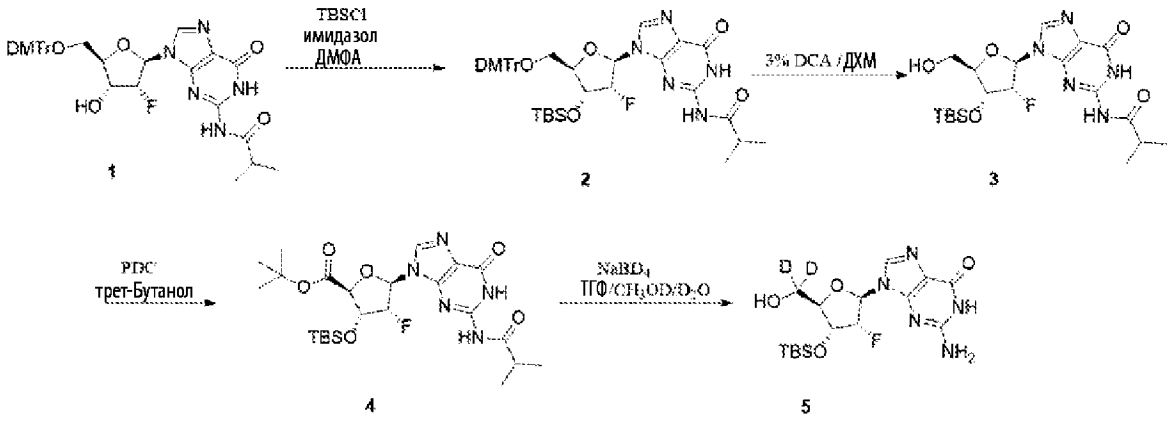
[0592] Получение (**5**): К раствору **4** в толуоле (100,00 мл) добавляли **4a** (5,73 г, 9,07 ммоль) и КОН (916,3 г, 16,33 ммоль). Перемешивали в течение 3,5 ч при 40 °C в атмосфере N_2. Потом экстрагировали ЕА, промывали водой и насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **5** (5,02 г, 7,25 ммоль, выход 80,44%). ИЭР-ЖХ-МС: m/z 693,2 $[M+H]^+$; ^{31}Р-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 17,811

[0593] Получение (**6**): К раствору **5** (4,59 г, 6,63 ммоль) в ТГФ (46,00 мл) добавляли HCOOH (92,00 мл) и H_2O (92,00 мл). Перемешивали в течение ночи при комн. темп. Выливали в NH_4OH и экстрагировали ЕА, промывали насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) =

1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **6** (2,52 г, 4,36 ммоль, выход 65,80%).

[0594] Получение мономера примера 35: К раствору **6** (2,00 г, 3,46 ммоль) в ДХМ (21,00 мл) добавляли DCI (370,00 мг, 3,11 ммоль) и CEP (1,12 г, 4,15 ммоль) добавляли в атмофере N_2. Выливали в ДХМ и H_2O, органическую фазу промывали водой и насыщ. NaCl (водн.), сушили над Na_2SO_4. Фильтрат выпарили при пониженном давлении при 38 °C с получением неочищенного продукта, который очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 35 (2,10 г, 2,70 ммоль, выход 78,07%). ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,39–7,32(м, 6H), 6,21-6,11(м, 1H), 5,64–5,61(м, 4H), 4,91–4,85(м, 1H), 4,59(м, 1H), 4,28–4,25(м, 1H), 3,84–3,60(м, 5H), 3,36–3,36(м, 2H), 2,83-2,79(м, 2H), 1,18–1,14(м, 29H). ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,588, 148,920, 17,355, 17,010.

[0595] **Пример 36. Синтез мономера**



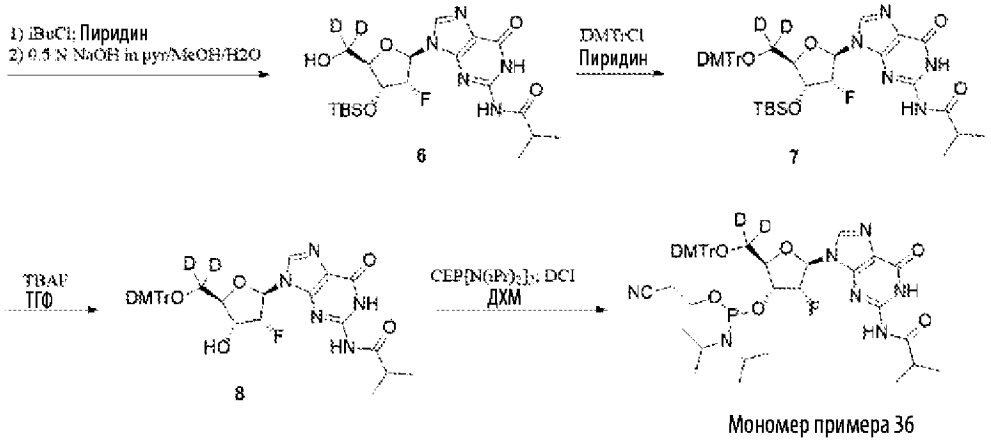


Схема-16

[0596] Получение (**2**): К раствору **1** (35,0 г, 53,2 ммоль) в ДМФА (350 мл) добавляли имидазол (9,0 г, 133,0 ммоль), затем добавляли TBSCl (12,0 г, 79,8 ммоль) при 0 °C. Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 14 ч. ТСХ показала, что **1** полностью израсходовано. Добавляли воду к реакционной смеси. Продукт экстрагировали ЕА, Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного вещества **2** (41,6 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 772 $[M+H]^+$.

[0597] Получение (**3**): К раствору **2** (41,0 г, 53,1 ммоль) в 3% DCA (53,1 ммоль, 350 мл) добавляли Et_3SiH (53,1 ммоль, 100 мл) при 0 °C. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 0,5 ч. ТСХ показала, что **2** полностью израсходовано. $NaHCO_3$ добавляли к реакционной смеси. Продукт экстрагировали ЕА, органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении. Хроматография остатка на колонке с силикагелем (элюент, ДХМ/MeOH = 100:1~20:1). Это позволило получить **3** (20,0 г, 41,7 ммоль, 78,6% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 470 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 12,12 (с, 1H), 11,67 (с, 1H), 8,28 (с, 1H), 6,12-6,07 (дд, J = 15 Гц, 1H), 5,75 (д, J = 5 Гц, 1H), 5,48–5,24 (м, 2H), 4,55–4,49 (м, 1H), 3,97 (с, 1H), 3,75–3,55 (м, 2H), 2,79-2,76 (м, 1H), 1,12 (д, J = 6 Гц, 6H), 0,88 (с, 9H), 0,11(д, J = 6 Гц, 6H).

[0598] Получение (**4**): К данному раствору **3** (20 г, 42,6 ммоль) в сухом ДХМ (100 мл) и ДМФА (60 мл) добавляли PDC (20. г, 85,1 ммоль), трет-бутиловый спирт (63,1 г, 851,8 ммоль) и Ac_2O (43,4 г, 425,9 ммоль) при комн. темп. в атмосфере N_2. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. Растворитель удаляли с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент, PE:

EA=4:1~2:1) с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **4** (16,0 г, 29,0 ммоль, выход 68,2%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 540 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 12,12 (с, 1H), 11,69 (с, 1H), 8,28 (с, 1H), 6,21-6,17 (дд, J = 15 Гц, 1H), 5,63–5,55 (м, 1H), 4,75–4,72 (м, 1H), 4,41 (д, J = 5 Гц, 1H), 2,79-2,76 (м, 1H), 1,46 (с, 9H), 1,13–1,11 (м, 6H), 0,90 (с, 9H), 0,14(д, J = 2 Гц, 6H).

[0599] Получение (**5**): К раствору **4** (16,0 г, 29,6 ммоль) в сухом ТГФ/MeOD/D_2O = 10/2/1 (195 мл) добавляли $NaBD_4$ (3,4 г, 88,9 ммоль) при комн. темп., и реакционную смесь перемешивали при 50 °C в течение 2 ч. После завершения реакции доводят значение pH до 7 с помощью CH_3COOD, после добавления воды, полученную смесь экстрагировали EA (300 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, затем раствор концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного вещества **5** (11,8 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 402 $[M+H]^+$.

[0600] Получение (**6**): К раствору **5** (5,0 г, 12,4 ммоль) в пиридине (50 мл) добавляли iBuCl (2,6 г, 24,9 ммоль) при 0 °C в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 14 ч. ТСХ показала, что **5** полностью израсходовано. Затем раствор разбавляли EA. Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного вещества. К раствору неочищенного вещества в пиридине (50 мл) добавляли 2N NaOH (MeOH/H_2O=4:1, 15 мл) при 0 °C. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 10 мин. Затем данный раствор разбавляли EA. Органический слой промывали NH_4Cl и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **6** (6 г, 10,86 ммоль, выход 87,17%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 472,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 12,12 (с, 1H), 11,67 (с, 1H), 8,28 (с, 1H), 6,12-6,07 (дд, J = 15 Гц, 1H), 5,48–5,24 (м, 2H), 5,22 (с, 1H), 4,55–4,49 (м, 1H), 3,97 (д, J = 5 Гц, 1H), 2,79-2,76 (м, 1H), 1,12 (д, J = 6 Гц, 6H), 0,88 (с, 9H), 0,11(д, J = 6 Гц, 6H).

[0601] Получение (7): К раствору **6** (3,8 г, 8,1 ммоль) в пиридине (40 мл) добавляли DMTrCl (4,1 г, 12,1 ммоль) при 20 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 1 ч. ТСХ показала, что **7** полностью израсходовано. Добавляли воду к реакционной смеси. Продукт экстрагировали ЕА, Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта **7** (6 г, 7,6 ммоль, выход 94,3%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 775 $[M+H]^+$.

[0602] Получение (**8**): К раствору **7** (6,0 г, 7,75 ммоль) в ТГФ (60 мл) добавляли TBAF (2,4 г, 9,3 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ТСХ показала, что **7** полностью израсходовано. Добавляли воду к реакционной смеси. Продукт экстрагировали ЕА, органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **8** (4,0 г, 5,9 ммоль, выход 76,6%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 660 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6): δ 12,12 (с, 1H), 11,67 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 7,34–7,17 (м, 9H), 6,83-6,78 (м, 4H), 6,23-6,18 (м, 1H), 5,66 (д, J = 7 Гц, 1H), 5,48–5,35 (м, 1H), 4,65–4,54 (м, 1H), 3,72 (д, J = 2 Гц, 6H), 2,79-2,73 (м, 1H), 1,19–1,06 (м, 6H).

[0603] Получение мономера примера 36: К раствору **9** (4,0 г, 6,1 ммоль) в ДХМ (40 мл) добавляли DCI (608 мг, 5,1 ммоль) и CEP (2,2 г, 7,3 ммоль) в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 0,5 ч. ТСХ показала, что **9** полностью израсходовано. Продукт экстрагировали ДХМ, органический слой промывали H_2O и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 36 (5,1 г, 5,81 ммоль, выход 95,8%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 860 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 12,12 (с, 1H), 11,67 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 7,34–7,17 (м, 9H), 6,83-6,78 (м, 4H), 6,23-6,18 (м, 1H), 5,67–5,54 (м, 1H), 4,70–4,67 (м, 1H), 4,23–4,20 (м, 1H), 3,72 (м, 6H), 3,60–3,48 (м, 3H), 2,79-2,58 (м, 3H), 1,13-0,94 (м, 18H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 150,31, 150,26, 140,62, 149,57.

[0604] Пример 37: Синтез мономера

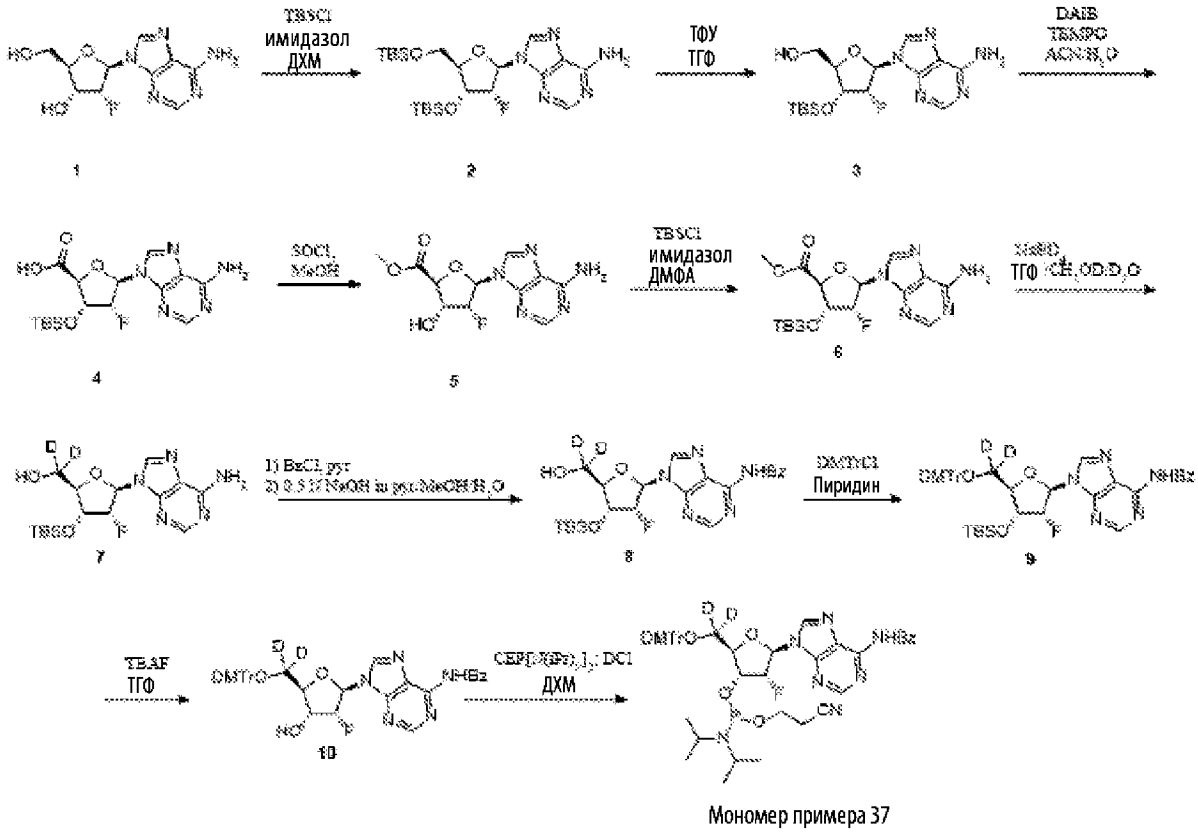


Схема-17

[0605] Получение (**2**): К раствору **1** (35 г, 130,2 ммоль) в ДМФА (350 мл) добавляли имидазол (26,5 г, 390,0 ммоль), затем добавляли TBSCl (48,7 г, 325,8 ммоль) при 0 °C. Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 14 ч. ТСХ показала, что **1** полностью израсходовано. Добавляли воду к реакционной смеси. Продукт экстрагировали ЕА, Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного вещества **2** (64,6 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 498 $[M+H]^+$.

[0606] Получение (**3**): К раствору **2** (64,6 г, 130,2 ммоль) в ТГФ (300 мл) и добавляли ТФУ/H_2O (1:1, 300 мл) при 0 °C. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 2 ч. ТСХ показала, что **2** полностью израсходовано. $NaHCO_3$ добавляли к реакционной смеси. Продукт экстрагировали ЕА, органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали хроматографией на силикагеле (элюент, ДХМ: МЕОН = 100:1~20:1). Это позволило получить **3** (31,3 г, 81,7 ммоль, 62,6% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 384 $[M+H]^+$.

[0607] Получение (**4**): К раствору **3** (31,3 г, 81,7 ммоль) в ACN/ H_2O (1:1, 350 мл) добавляли DAIB (78,0 г, 244,0 ммоль) и Tempo (3,8 г, 24,4 ммоль). Смесь перемешивали при 40 °C в течение 2 ч. ТСХ показала, что **3** полностью израсходовано. Затем фильтровали с получением **4** (22,5 г, 55,5 ммоль, 70,9%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 398 $[M+H]^+$.

[0608] Получение (**5**): К раствору **4** (22,5 г, 55,5 ммоль) в MeOH (225 мл) держали при –15° C на бане лед/MeOH добавляли $SOCl_2$ (7,6 мл, 94,5 ммоль), по каплям с такой скоростью, чтобы температура реакции не превышала 7 °C. После завершения добавления охлаждение удаляли, реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 14 ч. ТСХ показала, что **4** полностью израсходовано. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного вещества **5** (23,0 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 298 $[M+H]^+$.

[0609] Получение (**6**): К раствору **5** (23 г, 55,5 ммоль) в ДМФА (220 мл) добавляли имидазол (11,6 г, 165,0 ммоль), затем добавляли TBSCl (12,3 г, 82,3 ммоль) при 0 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 14 ч. ТСХ показала, что 1 полностью израсходовано. Добавляли воду к реакционной смеси. Продукт экстрагировали EA, органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали хроматографией на силикагеле (элюент, ДХМ: MEOH = 100:1~20:1). Это позволило получить **6** (21,3 г, 51,1 ммоль, 90 % за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 412 $[M+H]^+$.

[0610] Получение (**7**): К раствору **6** (21,0 г, 51,0 ммоль) в сухом ТГФ/MeOD/D_2O = 10/2/1 (260,5 мл) добавляли $NaBD_4$ (6,4 г, 153,1 ммоль) при комн. темп., и реакционную смесь перемешивали при 50 °C в течение 2 ч. После завершения реакции полученную смесь добавляли CH_3COOD до pH = 7, после добавления воды полученную смесь экстрагировали EA (300 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 386 $[M+H]^+$.

[0611] Получение (**8**): К перемешиваемому раствору **7** (14,0 г, 35 ммоль) в пиридине (50 мл) добавляли BzCl (17,2 г, 122,5 ммоль) при 0 °C в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 14 ч. ТСХ показала, что **7** полностью израсходовано. Затем раствор разбавляли EA. Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток

использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. К раствору неочищенного твердого вещества в пиридине (300 мл), затем добавляли 2M NaOH (MeOH: H_2O=4:1, 60 мл) при 0 °C. Смесь перемешивали при 0 °C в течение 10 мин. Затем раствор разбавляли EA. Органический слой промывали NH_4Cl и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **8** (14 г, 28,02 ммоль, выход 69,21%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 490 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,24 (с, 1H), 8,76 (с, 1H), 8,71 (м, 1H), 8,04 (д, *J* = 7 Гц, 2H),7,66–7,10 (м, 5H), 6,40-6,35 (дд, 1H), 5,71–5,56 (м, 1H), 5,16 (с, 1H), 4,79–4,72 (м, 1H), 4,01 (м, 1H), 0,91 (с, 9H), 0,14 (м, 6H).

[0612] Получение (**9**): К раствору **8** (5,1 г, 10,4 ммоль) в пиридине (50 мл) добавляли DMTrCl (5,3 г, 15,6 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ТСХ показала, что **8** полностью израсходовано. Добавляли воду к реакционной смеси. Продукт экстрагировали EA, Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 792 $[M+H]^+$.

[0613] Получение (**10**): К раствору **9** (7,9 г, 10,0 ммоль) в ТГФ (80 мл) добавляли 1M TBAF в ТГФ (12 мл). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ТСХ показала, что **9** полностью израсходовано. Добавляли воду к реакционной смеси. Продукт экстрагировали EA, Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **10** в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 678 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,25 (с, 1H), 8,74 (с, 1H), 8,62 (с, 1H), 8,04 (д, *J* = 7 Гц, 2H),7,66–7,53 (м, 3H), 7,33–7,15 (м, 9H), 6,82-6,78 (м, 4H), 6,43 (д, *J* = 20 Гц,1H), 5,76–5,60 (м, 1H), 4,88–4,80 (м, 1H), 4,13 (д, *J* = 8 Гц, 1H), 3,71 (м, 6H).

[0614] Получение мономера примера 37: К раствору **10** (6,2 г, 9,1 ммоль) в ДХМ (60 мл) добавляли DCI (1,1 г, 9,4 ммоль) и CEP (3,3 г, 10,9 ммоль) в атмосфере N_2. Смесь

перемешивали при 20 °C в течение 0,5 ч. ТСХ показала, что **10** полностью израсходовано. Продукт экстрагировали ДХМ, Органический слой промывали H_2O и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 37 (7,5 г, 8,3 ммоль, 90,7%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 878 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,25 (с, 1H), 8,68-8,65 (дд, 2H), 8,04 (м, 2H),7,66–7,53 (м, 3H), 7,33–7,15 (м, 9H), 6,82-6,78 (м, 4H), 6,53-6,43 (м, 1H), 5,96–5,81 (м, 1H), 5,36–5,15 (м, 1H), 4,21 (м, 1H), 3,86–3,52 (м, 10H), 2,79-2,61 (м, 2H), 1,21-0,99 (м, 12H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,60, 149,56, 149,48.

[0615] Пример 38. Синтез мономера концевого кэпа

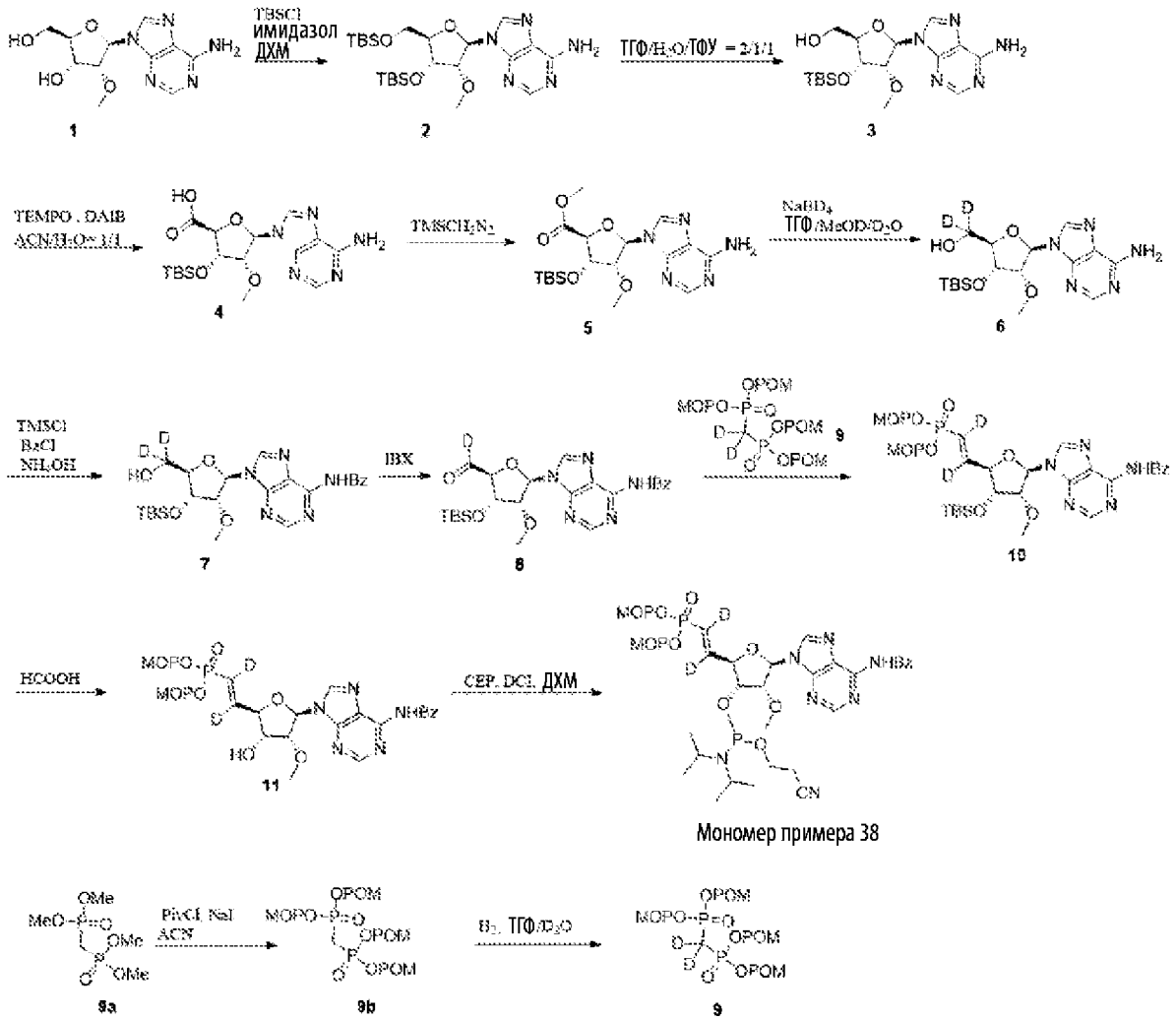


Схема-18

[0616] Получение (**2**): К раствору **1** (20,0 г, 71,2 ммоль) в сухом пиридине (200,0 мл) добавляли TBSCl (26,8 г, 177,9 ммоль) и имидазол (15,6 г, 227,8 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 15 ч. ТСХ показала, что **1** полностью израсходовано. Реакционную смесь концентрировали для удаления остатка. Остаток гасили ДХМ (300,0 мл). Слой ДХМ промывали H_2O (100,0 мл*2) и солевым раствором. Слой ДХМ концентрировали с получением неочищенного вещества **2** (45,8 г) в виде масла желтого цвета. Неочищенное вещество использовали на следующей стадии непосредственно. ИЭР-ЖХ-МС m/z 510,5 $[M+H]^+$.

[0617] Получение (**3**): К смеси раствора **2** (45,8 г) в ТГФ (300,0 мл) добавляли смесь H_2O (100,0 мл) и ТФУ (100,0 мл) при 0 °C за 30 мин. Затем реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 4 ч. ТСХ показала, что **2** полностью израсходовано. pH реакционной смеси доводили до 7–8 с помощью $NH_3.H_2O$ (100 мл). Затем смесь экстрагировали ЕА (500,0 мл*2). Объединенный слой ЕА промывали соляным раствором и концентрировали с получением неочищенного вещества, которое очищали колоночной хроматографией (PE:EA = 5:1 ~ 1:0) с получением соединения **3** (21,0 г, 53,2 ммоль, выход 74,7% за 2 стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС m/z 396,2 $[M+H]^+$.

[0618] Получение (**4**): К раствору **3** (21,0 г, 53,2 ммоль) в ACN (100,0 мл) и воды(100,0 мл) добавляли (диацетоксииод)бензол (51,0 г, 159,5 ммоль) и TEMPO (2,5 г, 15,9 ммоль), Реакционную смесь перемешивали при 40 °C в течение 1 ч. ТСХ показала, что **3** полностью израсходовано. Реакционную смесь охлаждали до комн. темп. и фильтровали, фильтрат концентрировали с получением неочищенного вещества, которое очищали кристаллизацией (ACN) с получением **4** (14,5 г, 35,4 ммоль, выход 66,2%). ИЭР-ЖХ-МС m/z 410,1$[M+H]^+$.

[0619] Получение (**5**): К раствору **4** (14,5 г, 35,4 ммоль) в толуоле (90,0 мл) и MeOH (60,0 мл) добавляли триметилсилилдиазометан (62,5 мл, 2,0 М, 141,8 ммоль) при 0 °C, затем перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. ТСХ показала, что **4** полностью израсходовано. Растворитель удаляли при пониженном давлении, остаток очищали кристаллизацией (ACN) с получением **5** (10,0 г, 23,6 ммоль, выход 66,6%). ИЭР-ЖХ-МС m/z 424,2 $[M+H]^+$

[0620] Получение (**6**): К раствору **5** (10,0 г, 23,6 ммоль) в сухом ТГФ/MeOD/D_2O = 10/2/1 (100,0 мл) добавляли $NaBD_4$ (2,98 г, 70,9 ммоль) три раза в течение часа при 40 °C, реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,0 ч. К полученной смеси добавляли CH_3COOD для изменения до pH = 7,5, после добавления воды полученную смесь экстрагировали ЕА (50,0 мл*3). Объединенный органический слой промывали

водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, концентрировали с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией (PE/EA = 1:1 ~ 1:0). Это позволило получить **6** (6,1 г, 15,4 ммоль, выход 65,3%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС m/z 398,1 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ 8,28 (с, 1H), 8,02 (с, 1H), 7,23 (с, 2H), 5,86 (д, J = 6,4 Гц, 1H), 5,26 (с, 1H), 4,42–4,41(м, 1H), 4,35–4,32 (м,1H), 3,82 (д, J = 2,6 Гц, 1H), 3,14 (с, 3H), 0,78 (с, 9H), 0,00 (д, J = 0,9 Гц, 6H).

[0621] Получение (7): К раствору **6** (6,1 г, 15,4 ммоль) в пиридине (60,0 мл) добавляли бензоилхлорид (6,5 г, 46,2 ммоль) по каплям при 5 °C. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. ТСХ показала, что **6** полностью израсходовано. Реакционную смесь охлаждали до 10 °C и гасили H_2O (20,0 мл), экстрагировали EA (200,0 мл*2), объединяли слои EA. Органическую фазу промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4, концентрировали с получением неочищенного вещества (12,0 г), которое растворяли в пиридине (60,0 мл), охлаждали до 0 °C, 20,0 мл NaOH (2 M в метаноле: H_2O = 4 : 1) добавляли и перемешивали в течение 10 мин. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором хлорида аммония, водный слой экстрагировали EA (200,0 мл*2), объединяли слои EA, промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4, концентрировали. Остаток очищали колоночной хроматографией (PE/EA = 10:1 ~ 1:1) с получением **7** (7,0 г, 13,9 ммоль, выход 90,2%). ИЭР-ЖХ-МС m/z 502,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц,ДМСО-d_6) δ 11,24 (с, 1H, обменивался с D_2O) 8,77 (с, 2H), 8,04-8,06 (м, 2H), 7,64–7,66 (м, 2H), 7,54–7,58 (м, 2H), 6,14-6,16 (д, J = 5,9 Гц, 1H), 5,20–5,23 (м, 1H),4,58–4,60 (м, 1H), 4,52–4,55 (м,1H), 3,99–4,01 (м, 1H), 3,34 (с, 4H), 0,93 (с, 9H), 0,14-0,15 (д, J = 1,44 Гц, 6H).

[0622] Получение (**8**): К перемешиваемому раствору **7** (5,5 г, 10,9 ммоль) в ДМСО (55,0 мл) добавляли EDCI (6,3 г, 32,9 ммоль), пиридин (0,9 г, 10,9 ммоль) и ТФУ (0,6 г, 5,5 ммоль), реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 15 ч. Реакционную смесь гасили водой и экстрагировали EA (100,0 мл). Органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка **8** (4,8 г), который использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 517,1 $[M+H_2O]^+$.

[0623] Получение (**9b**): Раствор **9a** (35,0 г, 150,8 ммоль) и NaI (90,5 г, 603,4 ммоль) в сухом ACN (180,0 мл) добавляли хлорметилпивалат (113,6 г, 754,3 ммоль) при комн. темп., реакционную смесь перемешивали при 80 °C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждали до комн. темп. и гасили водой, затем смесь экстрагировали EA (500,0 мл *3), объединенный органический слой промывали насыщенным раствором хлорида аммония, затем солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой

концентрировали с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией, что позволило получить **9b** (38,0 г, 60,1 ммоль, выход 39,8%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС m/z 655,2 $[M+Na]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): δ 5,74–5,67 (м, 8H), 2,67 (т, J = 21,6 Гц, 2H), 1,23 (с, 36H).

[0624] Получение (**9**): 3,8 г 10% Pd/C промывали сухим ТГФ (30,0 мл) три раза. Затем переносили в круглодонную колбу, в которую загружен **9b** (38,0 г, 60,1 ммоль) и растворитель (сухой ТГФ:D_2O=5:1, 400,0 мл), смесь перемешивали при 80 °C в атмосфере H_2 из шарика на 1 л в течение 15 ч. Реакцию охлаждали до комн. темп. и экстрагировали ЕА (500,0 мл *3), объединенный органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Остаток **9** (3,0 г, 3,7 ммоль, выход 38,8%) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки. ИЭР-ЖХ-МС m/z 657,2 $[M+Na]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): δ 5,74–5,67 (м, 8H), 1,23 (с, 36H).

[0625] Получение (**10**): Раствор **8** (4,8 г, 9,6 ммоль), **9** (7,3 г, 11,5 ммоль) и K_2CO_3 (4,0 г, 38,8 ммоль) в сухом ТГФ (60,0 мл) и D_2O (20,0 мл) перемешивали при комн. темп. в течение 18 ч. ЖХ-МС показала, что **8** полностью израсходовано. Продукт экстрагировали ЕА (300,0 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией (PE/EA = 5:1 ~ 1:1) и СДЖХ. Это позволило получить **10** (3,0 г, 3,7 ммоль, выход 38,8%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС m/z 806,4$[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,25 (с, 1H, обменивался с D_2O) 8,75 (с, 2H), 8,07-8,05 (д, J = 8,0 Гц, 2H), 7,67–7,54 (м, 3H), 6,05 (д, J = 5,1 Гц, 1H), 5,65–5,58 (м, 4H), 4,80–4,70 (м, 2H), 4,59–4,57 (м,1H), 3,36 (с, 3H), 1,11 (с, 9H), 1,10 (с, 9H), 0,94 (с, 9H), 0,17-0,16 (м, 6H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6) δ 17,02.

[0626] Получение (**11**): В круглодонную колбу добавляли **10** (3,0 г, 3,7 ммоль) в смеси H_2O (30,0 мл), HCOOH (30,0 мл). Реакционную смесь перемешивали при 40 °C в течение 15 ч. ЖХ-МС показала, что **10** полностью израсходовано. Реакционную смесь доводили до pH = 6–7 с помощью конц. $NH_3.H_2O$ (100,0 мл). Затем смесь концентрировали с ДХМ (100,0 мл*3). Объединенный слой ДХМ сушили над Na_2SO_4. Фильтровали и фильтрат концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях. (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/2, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2; детектор, УФ 254 нм. С получением продукта **11** (1,8 г, 2,6 ммоль, выход 70,3%). ИЭР-ЖХ-МС m/z = 692,2$[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,11 (с,

1H, обменивался с D_2O) 8,71-8,75 (д, *J*=14,4, 2H), 8,04-8,06 (м, 2H), 7,64–7,65 (м, 1H), 7,54–7,58 (м, 2H), 6,20-6,22 (д, *J*=5,4, 2H), 5,74–5,75 (д, *J*=5,72, 2H), 5,56–5,64 (м, 4H), 4,64–4,67 (м, 1H), 4,58–4,59(м, 1H), 4,49–4,52 (м, 1H), 3,37 (с, 3H), 1,09–1,10 (д, *J*=1,96, 18H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6) δ 17,46.

[0627] Получение мономера примера 38: К раствору **11** (1,8 г, 2,6 ммоль) в ДХМ (18,0 мл) добавляли DCI (276,0 мг, 2,3 ммоль), затем добавляли $CEP[N(ipr)_2]_2$ (939,5 мг, 3,1 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ТСХ показала, что **11** полностью израсходовано. Реакционную смесь промывали H_2O (50,0 мл*2) и солевым раствором (50,0 мл*2), сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества, которое очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 9/1; детектор, УФ 254 нм. Продукт концентрировали с получением мономера примера 38 (2,0 г, 2,2 ммоль, выход 86,2%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС m/z 892,3$[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,27 (с, 1H, обменивался с D_2O) 8,72-8,75 (м, 2H), 8,04-8,06 (м, 2H), 7,54–7,68 (м, 3H), 6,20-6,26 (м, 1H), 5,57–5,64 (м, 4H), 4,70–4,87 (м, 3H), 3,66–3,88 (м, 4H), 3,37–3,41 (м, 3H),2,82-2,86 (м, 2H) , 1,20–1,21 (м, 12H) , 1,08–1,09 (м, 18H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 150,03, 149,19, 17,05, 16,81.

[0628] **Пример 39. Синтез мономера 5'-концевого кэпа**

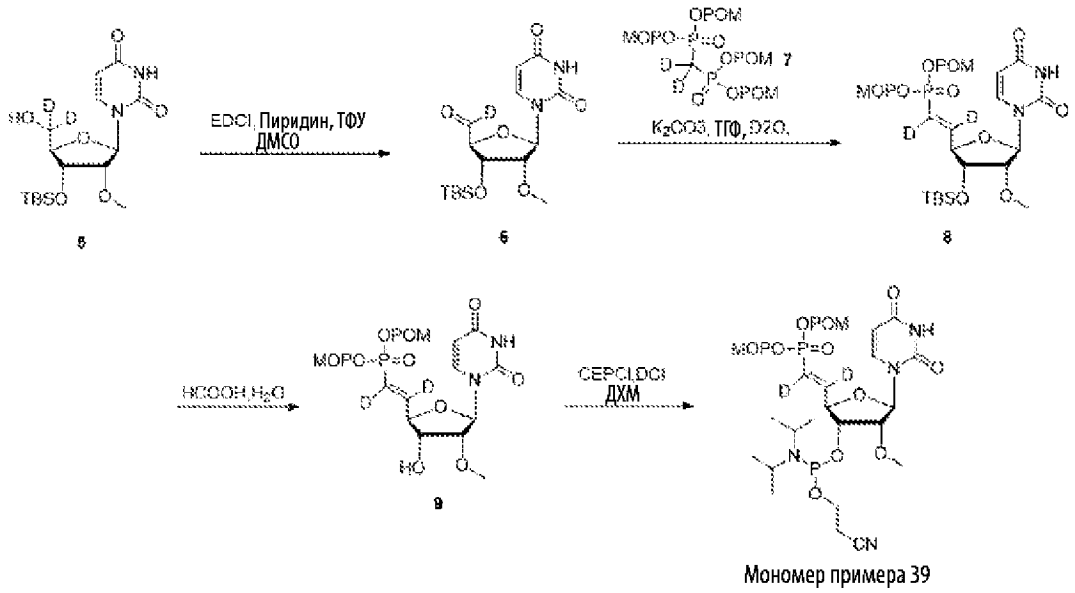


Схема-19

[0629] Получение (**6**): К перемешиваемому раствору **5** (8,0 г, 21,3 ммоль, **Схема 3**) в ДМСО (80,0 мл) добавляли EDCI (12,2 г, 63,9 ммоль), пиридин (1,7 г, 21,3 ммоль), ТФУ (1,2 г, 10,6 ммоль) при комн. темп. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,5 ч. Реакционную смесь гасили водой и экстрагировали ЕА (200,0 мл). Органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка **6**, который использовали непосредственно на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 372,3 $[M+H]^+$.

[0630] Получение (**8**): К раствору K_2CO_3 (5,5 г, 8,3 ммоль) в сухом ТГФ (60,0 мл) и D_2O (20,0 мл) добавляли раствор **6** (8,0 г, 21,5 ммоль) в сухом ТГФ (10,0 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение ночи. ЖХ-МС показала, что **6** полностью израсходовано. Продукт экстрагировали ЕА (300,0 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **8** (5,0 г, 7,3 ммоль, 40,0%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 679,3 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, Хлороформ-d): δ 9,91 (с, 1H), 7,29 (д, J = 8,1 Гц, 1H), 5,82 (д, J = 2,7 Гц, 1H), 5,72 (д, J = 8,1 Гц, 1H), 5,65 – 5,54 (м, 4H), 4,43 (дд, J = 7,2, 3,2 Гц, 1H), 3,92 (дд, J = 7,2, 5,0 Гц, 1H), 3,65 (дд, J = 5,1, 2,7 Гц, 1H), 3,44 (с, 3H), 1,13 (с, 18H), 0,82 (с, 9H), 0,01 (д, J = 4,8 Гц, 6H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, Хлороформ-d): δ 16,40.

[0631] Получение (**9**): К раствору HCOOH (50,0 мл) и H_2O (50,0 мл) добавляли **8** (5,0 г, 7,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 40 °C в течение ночи. ЖХ-МС показала, что 8 полностью израсходовано. Добавляли раствор $NaHCO_3$ (500,0 мл). Продукт экстрагировали ЕА (300,0 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **9** (3,0 г, 5,4 ммоль, 73,2%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 565,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,43 (с, 1H), 7,64 (д, J = 8,1 Гц, 1H), 5,83 (д, J = 4,3 Гц, 1H), 5,69 – 5,56 (м, 5H), 5,54 (д, J = 6,7 Гц,

1H), 4,37 (дд, J = 6,1, 2,9 Гц, 1H), 4,12 (к, J = 6,1 Гц, 1H), 3,96 (дд, J = 5,4, 4,3 Гц, 1H), 3,39 (с, 3H), 1,16 (с, 18H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 17,16.

[0632] Получение мономера примера 39: К суспензии **9** (2,6 г, 4,6 ммоль) в ДХМ (40,0 мл) добавляли DCI (0,5 г, 5,6 ммоль) и CEP[N(iPr)$_2$]$_2$ (1,7 г, 5,6 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,0 ч. ЖХ-МС показала, что 9 полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 39 (3,0 г, 3,9 ммоль, 85,2%) в виде твердого вещества белого цвета. .ИЭР-ЖХ-МС: m/z 765,3 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,44 (с, 1H), 7,71 (дд, J = 8,1, 3,8 Гц, 1H), 5,81 (дд, J = 4,4, 2,5 Гц, 1H), 5,74–5,53 (м, 5H), 4,59–4,33 (м, 2H), 4,20–4,14 (м, 1H), 3,88–3,53 (м, 4H), 3,39 (д, J = 16,2 Гц, 3H), 2,80 (тд, J = 5,9, 2,9 Гц,2H), 1,16 (д, J = 1,9 Гц, 30H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 147,68, 149,16, 16,84, 16,55.

[0633] **Пример 40. Синтез мономера**

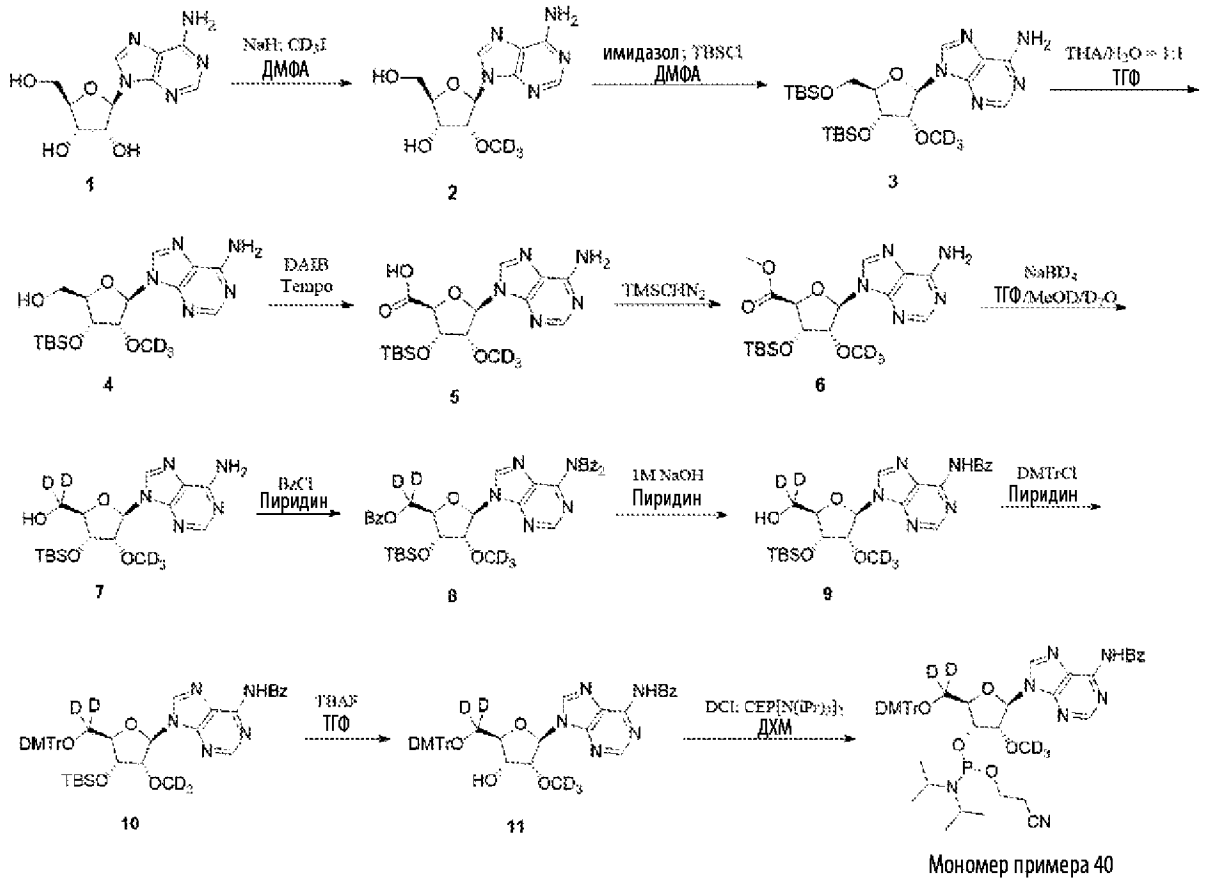


Схема-20

[0634] Получение (**2**): К раствору **1** (26,7 г*2, 0,1 моль) в ДМФА (400 мл) добавляли гидрид натрия (4,8 г, 0,1 моль) в течение 30 мин, затем добавляли CD_3I (16 г, 0,1 моль) при 0 °C в течение 2,5 ч (см. условия реакции селективного 2'-O-алкилирования *J. Org. Chem.* 1991, 56, 5846–5859). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение дополнительного 1 ч. ЖХ-МС показала, что реагенты израсходованы. Смесь фильтровали, прозрачный раствор выпаривали досуха и упаривали с CH_3OH. Неочищенный продукт очищали на колонке с силикагелем (SiO_2, ДХМ/MeOH = 50:1~15:1). Это позволило получить данный продукт **2** (35,5 г, 124,6 ммоль, выход 62%) в виде твердого вещества. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 285 $[M+H]^+$.

[0635] Получение (**3**): К раствору **2** (35,5 г, 124,6 ммоль) в пиридине (360 мл) добавляли имидазол (29,7 г, 436,1 ммоль) и TBSCl (46,9 г, 311,5 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение ночи. ЖХ-МС показала, что **2** полностью израсходовано. Реакционную смесь погасили водой (500 мл). Продукт экстрагировали этилацетатом (1 л). Органический слой промывали солевым раствором и сушили над безводным Na_2SO_4. Неочищенный продукт очищали на колонке с силикагелем (SiO_2, PE/EA = 4:1~1:1). Это позволило получить данный продукт **3** (20,3 г, 39,6 ммоль, выход

31,8%) в виде твердого вещества. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 513 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 8,32 (м, 1H), 8,13 (м, 1H), 7,31 (м, 2H), 6,02-6,01(д, J = 4,0 Гц, 1H), 4,60–4,58 (м, 1H), 4,49–4,47(м,1H), 3,96–3,86 (м, 2H), 3,72–3,68 (м, 1H), 0,91-0,85 (м, 18H), 0,13-0,01 (м, 12H).

[0636] Получение (**4**): К раствору **3** (20,3 г, 39,6 ммоль) в ТГФ (80 мл) добавляли ТФУ (20 мл) и воду (20 мл) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 5 ч. ЖХ-МС показала, что **3** полностью израсходовано. Добавляли конц. NH_4OH к смеси при 0 °C для гашения реакционной смеси до pH = 7,5. Продукт экстрагировали этилацетатом (200 мл). Органический слой промывали солевым раствором и сушили над безводным Na_2SO_4. Раствор затем концентрировали при пониженном давлении, и остаток промывали PE/EA = 5:1. Это позволило получить **4** (10,5 г, 26,4 ммоль, выход 66,6%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 399 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 8,41 (м, 1H), 8,14 (м, 1H), 7,37 (м, 2H), 5,99–5,97(д, J = 8,0 Гц, 1H), 5,43 (м, 1H), 4,54–4,44 (м,2H), 3,97–3,94 (м, 1H), 3,70–3,53 (м, 2H), 0,91 (м, 9H), 0,13-0,12 (м, 6H).

[0637] Получение (**5**): К раствору **4** (10,5 г, 26,4 ммоль) в ACN/H_2O = 1:1 (100 мл) добавляли DAIB (25,4 г, 79,2 ммоль) и TEMPO (1,7 г, 7,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 40 °C в течение 2 ч. ЖХ-МС показала, что **4** израсходовано. Смесь разбавляли EA и добавляли воду. Продукт экстрагировали EA. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над безводным Na_2SO_4. Раствор затем концентрировали при пониженном давлении, и остаток промывали ACN. Это позволило получить **5** (6,3 г, 15,3 ммоль, выход 57,9%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 413 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ = 8,48 (м, 1H), 8,16 (м, 1H), 7,41 (м, 2H), 6,12-6,10(д, J = 8,0 Гц, 1H), 4,75–4,73 (м, 1H), 4,42–4,36 (м, 2H), 3,17 (м, 6H), 2,07 (м, 2H), 0,93 (м, 9H), 0,17-0,15 (м, 6H).

[0638] Получение (**6**): К раствору **5** (6,3 г, 15,3 ммоль) в толуоле (36 мл) и метаноле (24 мл) добавляли (триметилсилил)диазометан (7,0 г, 61,2 ммоль) до исчезновения желтой окраски при комн. темп. в течение 2 мин. ЖХ-МС показала, что реагенты израсходованы. Растворитель удаляли с получением неочищенного вещества **6** (6,0 г) в виде твердого вещества, которое использовали для следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 427 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 8,45 (м, 1H), 8,15 (м, 1H), 7,35 (м, 2H), 6,12-6,10(д, J = 8,0 Гц, 1H), 4,83–4,81 (м, 1H), 4,50–4,46 (м, 1H), 3,73 (м, 3H), 3,31 (м, 1H), 0,93 (м, 9H), 0,15-0,14 (м, 6H).

[0639] Получение (**7**): К данному раствору **6** (6 г) в сухом ТГФ/MeOD/D_2O = 10/2/1 (78 мл) добавляли $NaBD_4$ (2,3 г, 54,8 ммоль) при комн. темп. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. После завершения реакции доводили

значение pH до 7 с помощью CH_3COOD, после добавления воды полученную смесь экстрагировали EA (100 мл). Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением **7** (5,7 г), которое использовали на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 401 $[M+H]^+$.

[0640] Получение (**8**): К раствору **7** (5,7 г) в пиридине (60 мл) добавляли BzCl (10,0 г, 71,3 ммоль) на ледяной бане. Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. ЖХ-МС показала, что **7** израсходовано. Смесь разбавляли EA и добавляли воду. Продукт экстрагировали EA. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 7/3; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить неочищенное вещество **8** (6,2 г, 8,7 ммоль, выход 57%, за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 713 $[M+H]^+$.

[0641] Получение (**9**): К раствору **8** (6,2 г, 8,7 ммоль) в пиридине (70 мл) добавляли 1M NaOH ($MeOH/H_2O$ = 4/1) (24 мл). ЖХ-МС показала, что **8** израсходовано Смесь добавляли насыщенным NH_4Cl до pH = 7,5. Смесь разбавляли водой и EA. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 67/33; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить данный продукт **10** (4,3 г, 8,5 ммоль, выход 98%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 505 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,23 (м, 1H), 8,77 (м, 2H), 8,06-8,04 (м, 2H), 7,66–7,63 (м, 2H), 7,57–7,53 (м, 3H), 6,16-6,14 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 5,17 (м, 1H), 4,60–4,52 (м, 2H), 3,34 (м, 1H), 0,93 (м, 9H), 0,14 (м, 6H).

[0642] Получение (**10**): К перемешиваемому раствору **9** (4,3 г, 8,5 ммоль) в пиридине (45 мл) добавляли DMTrCl (3,3 г, 9,8 ммоль) при комн. темп. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили воды экстрагировали в EA. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин,

элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 97/3; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить данный продукт **10** (6,5 г, 8,1 ммоль, выход 95%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 807 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,23 (м, 1H), 8,70-8,68 (м, 2H), 8,04-8,02 (м, 2H), 7,66–7,62 (м, 1H), 7,56–7,52 (м, 2H), 7,35–7,26 (м, 2H), 7,25–7,17 (м, 7H), 6,85-6,82 (м, 4H), 6,18-6,16 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 4,73–4,70 (м, 1H), 4,61–4,58 (м, 1H), 3,71 (м, 6H), 3,32 (м, 1H), 0,83 (м, 9H), 0,09-0,03 (м, 6H).

[0643] Получение (**11**): К раствору **10** (3,5 г, 4,3 ммоль) в ТГФ (35 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,5 ч. ЖХ-МС показала, что **10** полностью израсходовано. Добавляли воду (100 мл). Продукт экстрагировали ЕА (100 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na2SO4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 62/38; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **11** (2,7 г, 3,9 ммоль, 90,7%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 693 $[M+H]^+$.

[0644] Получение мономера примера 40: К суспензии **11** (2,7 г, 3,9 ммоль) в ДХМ (30 мл) добавляли DCI (0,39 г, 3,3 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (1,4 г, 4,7 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. ЖХ-МС показала, что **11** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 73/27; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 40 (3,3 г, 3,7 ммоль, 94,9%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 893 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ = 11,24 (м, 1H), 8,66-8,64 (м, 2H), 8,06-8,03 (м, 2H), 7,65–7,53(м, 3H), 7,42–7,38 (м, 2H), 7,37–7,34 (м, 2H), 7,25–7,19 (м, 7H), 6,86-6,80 (м, 4H), 6,20-6,19 (д, J = 4,0 Гц, 1H), 4,78 (м, 2H), 4,22–4,21 (м, 1H), 3,92–3,83 (м, 1H), 3,72 (м, 6H), 3,62–3,57 (м, 3H), 2,81-2,78 (м, 1H), 2,64-2,61 (м, 1H), 1,17–1,04 (м, 12H); ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,51, 149,30.

[0645] **Пример 41. Синтез мономера**

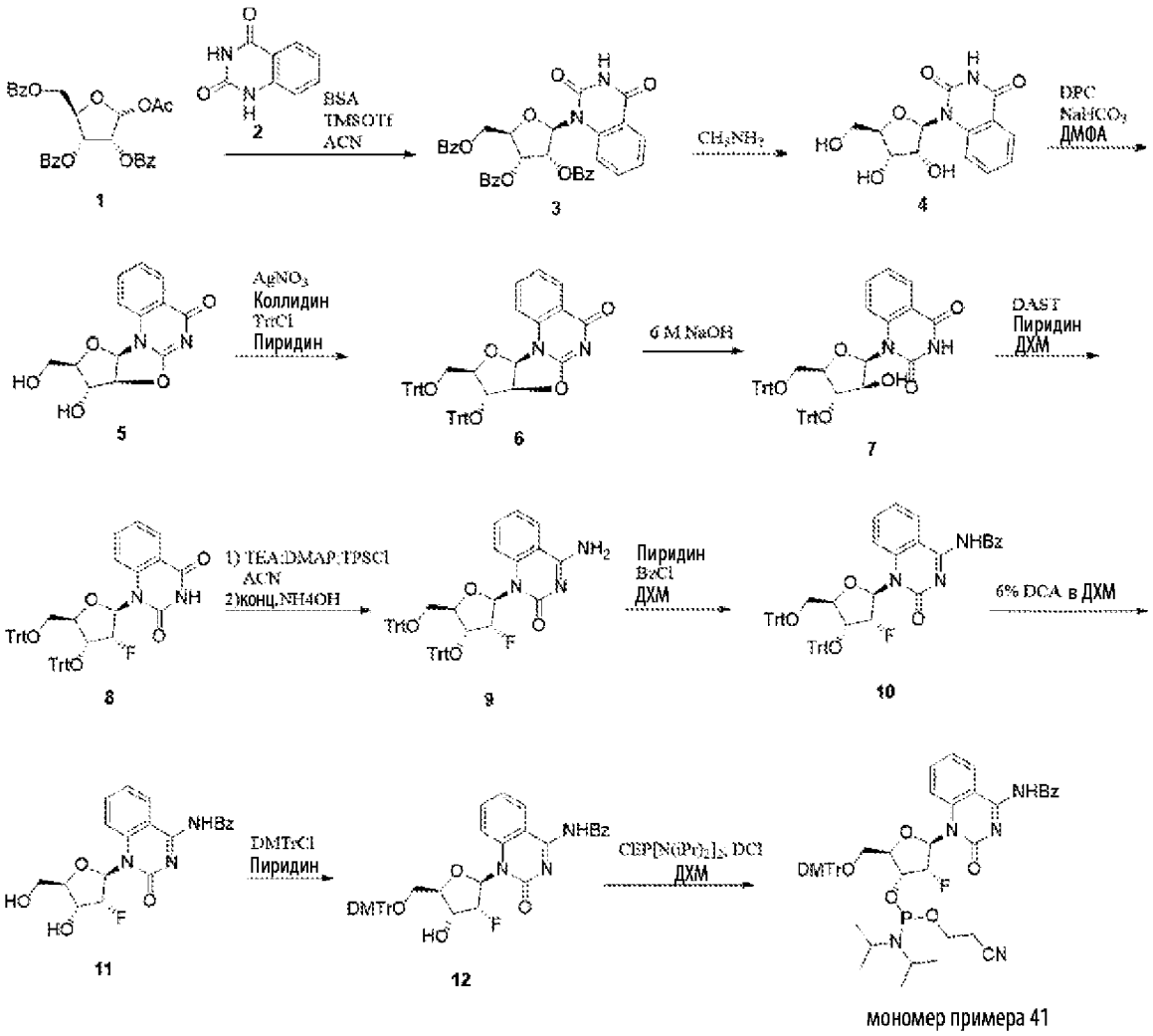


Схема-21

[0646] Получение (**3**): К данному раствору **1** (70 г, 138,9 ммоль) в сухом ацетонитриле (700 мл) добавляли **2** (27,0 г, 166,7 ммоль), BSA (112,8 г, 555,5 ммоль). Смесь перемешивали при 50 ℃ в течение 1 ч. Затем смесь охлаждали до –5 ℃ и медленно добавляли TMSOTf (46,2 г, 208,3 ммоль) к смеси. Затем реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 48 ч. Затем раствор охлаждали до 0 ℃ и добавляли насыщенный водн. раствор $NaHCO_3$, и полученную смесь экстрагировали EA. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент, PE: EA=3:1~1:1) с получением **3** (70 г, 115,3 ммоль, 81,6%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 605 $[M-H]^+$.

[0647] Получение (**4**): К данному раствору **3** (70,0 г, 115,3 ммоль) в растворе метиламмония (1 М, 700 мл), и реакционную смесь перемешивали при 40 ℃ в течение 15

ч. После завершения реакции полученную смесь концентрировали. Остаток кристаллизовали из ЕА. Твердое вещество выделяли фильтрацией, промывали РЕ и сушили в течение ночи при 45°C в вакууме с получением **4** (31,0 г, 105,4 ммоль, 91,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 295 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО): δ 11,63 (с, 1H) , 8,07–7,99 (м, 1H) , 7,81 (д, *J* = 8,4 Гц, 1H), 7,72–7,63 (м, 1H), 7,34–7,26 (м, 1H), 6,18 (д, *J* = 6,4 Гц, 1H), 5,24 (с, 1H), 5,00 (с, 2H), 4,58–4,47 (м, 1H), 4,19–4,10 (м, 1H), 3,85–3,77 (м, 1H), 3,75–3,66 (м, 1H), 3,66–3,57 (м, 1H).

[0648] Получение (**5**): К раствору **4** (20,0 г, 68,0 ммоль) в сухом ДМФА (200 мл) добавляли DPC (18,9 г, 88,0 ммоль) и $NaHCO_3$ (343 мг, 4 ммоль) при комн. темп., и реакционную смесь перемешивали при 150 °C в течение 35 мин. После завершения реакции полученную смесь выливали в трет-бутилметиловый эфир (4 л). Твердое вещество выделяли фильтрованием, промывали РЕ и сушили в вакууме с получением неочищенного вещества **5** (21,0 г) в виде твердого вещества коричневого цвета, которое использовали непосредственно на следующей стадии (ссылка на **5**, *Journal of Organic Chemistry,* 1989, vol. 33, p. 1219 – 1225). ИЭР-ЖХ-МС: m/z 275 $[M-H]^-$.

[0649] Получение (**6**): К данному раствору **5** (неочищенное вещество, 21,0 г) в пиридине (200 мл) добавляли $AgNO_3$ (31,0 г, 180,0 ммоль) и коллидин (88,0 г, 720 ммоль) и TrtCl (41,5 г, 181 ммоль) при комн. темп., и реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 15 ч. После добавления воды полученную смесь экстрагировали ЕА. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенный продукт получали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **6** (10,0 г, 13,1 ммоль, 20% выход за 3 стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 761 $[M+H]^+$.

[0650] Получение (**7**): К данному раствору **6** (10,0 г, 13,1 ммоль) в ТГФ (100 мл) добавляли 6 N NaOH (30 мл) при комн. темп., и реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. После добавления NH_4Cl полученную смесь экстрагировали ЕА. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) =

9/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **7** (9,3 г, 11,9 ммоль, 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 777 $[M-H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,57 (с, 1H) , 8,02 (д, J = 8,7 Гц, 1H), 7,88–7,81 (м, 1H), 7,39–7,18 (м, 30H), 7,09–6,99 (м, 30H), 6,92–6,84 (м, 30H), 6,44 (д, J = 4,0 Гц, 1H), 4,87 (д, J = 4,0 Гц, 1H), 4,37–4,29 (м, 1H), 4,00–3,96 (м, 1H), 3,76–3,70 (м, 1H), 3,22–3,13 (м, 1H), 3,13–3,04 (м, 1H).

[0651] Получение (**8**): К данному раствору **7** (8,3 г, 10,7 ммоль) в сухом ДХМ (80 мл) добавляли пиридин (5,0 г, 64,2 ммоль) и DAST (6,9 г, 42,8 ммоль) при 0 ℃, и реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 15 ч. После добавления NH_4Cl полученную смесь экстрагировали ДХМ. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **8** (6,8 г, 8,7 ммоль, 81,2%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 779 $[M-H]^+$; ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –183,05.

[0652] Получение (**9**): К данному раствору **8** (5,8 г, 7,5 ммоль) в сухом ACN (60 мл) добавляли TEA (1,5 г, 15,1 ммоль), DMAP (1,84 г, 15,1 ммоль) и TPSCl (4,1 г, 13,6 ммоль) при комн. темп., и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч в атмосфере N_2. После завершения реакции к смеси добавляли $NH_3.H_2O$ (12 мл). После добавления воды полученную смесь экстрагировали EA. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **9** (5,5 г, 7 ммоль, 90,2%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 780 $[M+H]^+$.

[0653] Получение (**10**): К раствору **9** (5,5 г, 7 ммоль) в ДХМ (50 мл) в инертной атмосфере азота добавляли пиридин (5,6 г, 70,0 ммоль) и BzCl (1,2 г, 8,5 ммоль) по очереди при 0 °C. Реакционный раствор перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре. Раствор разбавляли ДХМ (100 мл), и объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле. (элюент, PE: EA=5:1~2:1) с получением **10** (5,4 г, 6,1

ммоль, 90,6%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 884 $[M+H]^+$; ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –183,64.

[0654] Получение (**11**): К раствору 10 (5,4 г, 6,1 ммоль) в растворе DCA (6%) в ДХМ (60 мл) добавляли TES (15 мл) при комн. темп., и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5–10 мин. После завершения реакции полученную смесь добавляли $NaHCO_3$, полученную смесь экстрагировали ДХМ. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали при пониженном давлении, и остаток кристаллизовали из ЕА. Твердое вещество выделяли фильтрацией, промывали РЕ и сушили в течение ночи при 45°С в вакууме с получением **11** (2,0 г, 5,0 ммоль, 83,2%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 400 $[M+H]^+$.

[0655] Получение (**12**): К раствору **11** (2,0 г, 5,0 ммоль) в сухом пиридине (20 мл) добавляли DMTrCl (2,0 г, 6,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. ЖХ-МС показала, что **11** израсходовано, и добавляли воду (200 мл). Продукт экстрагировали ЕА (200 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество очищали колоночной хроматографией (РЕ: ЕА = 4:1~1:1) с получением неочищенного вещества **12**. Неочищенное вещество дополнительно очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **12** (2,1 г, 3 ммоль, 60%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 702 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 12,63 (с, 1Н), 8,54 (д, J = 7,8 Гц, 1Н), 8,25 (д, J = 7,2 Гц, 2Н), 7,82 (д, J = 3,6 Гц, 2Н), 7,67–7,58 (м, 1Н), 7,57–7,49 (м, 2Н), 7,49–7,39 (м, 1Н), 7,39–7,31 (м, 2Н), 7,27–7,09 (м, 7Н), 6,82-6,69 (м, 4Н), 6,23 (д, J = 26,1 Гц, 1Н), 5,59–5,49 (м, 1Н), 4,83–4,61 (м, 1Н), 4,15–4,01 (м, 1Н), 3,74–3,59 (м, 6Н), 3,33–3,28 (м, 1Н), 3,16–3,05 (м, 1Н). ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –191,66.

[0656] Получение мономера примера 41: К суспензии **12** (2,1 г, 3,0 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли DCI (310 мг, 2,6 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (1,1 г, 3,7 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **12** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенный продукт получали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5%

NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 41 (2,1 г, 2,3 ммоль, 80,0%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 902 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 12,64 (с, 1H), 8,54 (д, J = 7,6 Гц, 1H), 8,24 (д, J = 7,7 Гц, 2H), 7,93–7,88 (м, 2H), 7,67–7,58 (м, 1H), 7,56–7,42 (м, 3H), 7,41–7,29 (м, 2H), 7,27–7,08 (м, 7H), 6,82-6,64 (м, 4H), 6,37-6,18 (м, 1H), 6,03–5,72 (м, 1H), 5,26–4,83 (м, 1H), 4,28–4,12 (м, 1H), 3,88–3,72 (м, 1H), 3,71–3,37 (м, 9H), 3,15–3,00 (м, 1H), 2,83-2,75 (м, 1H), 2,66-2,57 (м, 1H), 1,21-0,88 (м, 12H). ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –189,71. ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,48, 149,50, 148,95, 148,88.

[0657] Пример 42. Синтез мономера

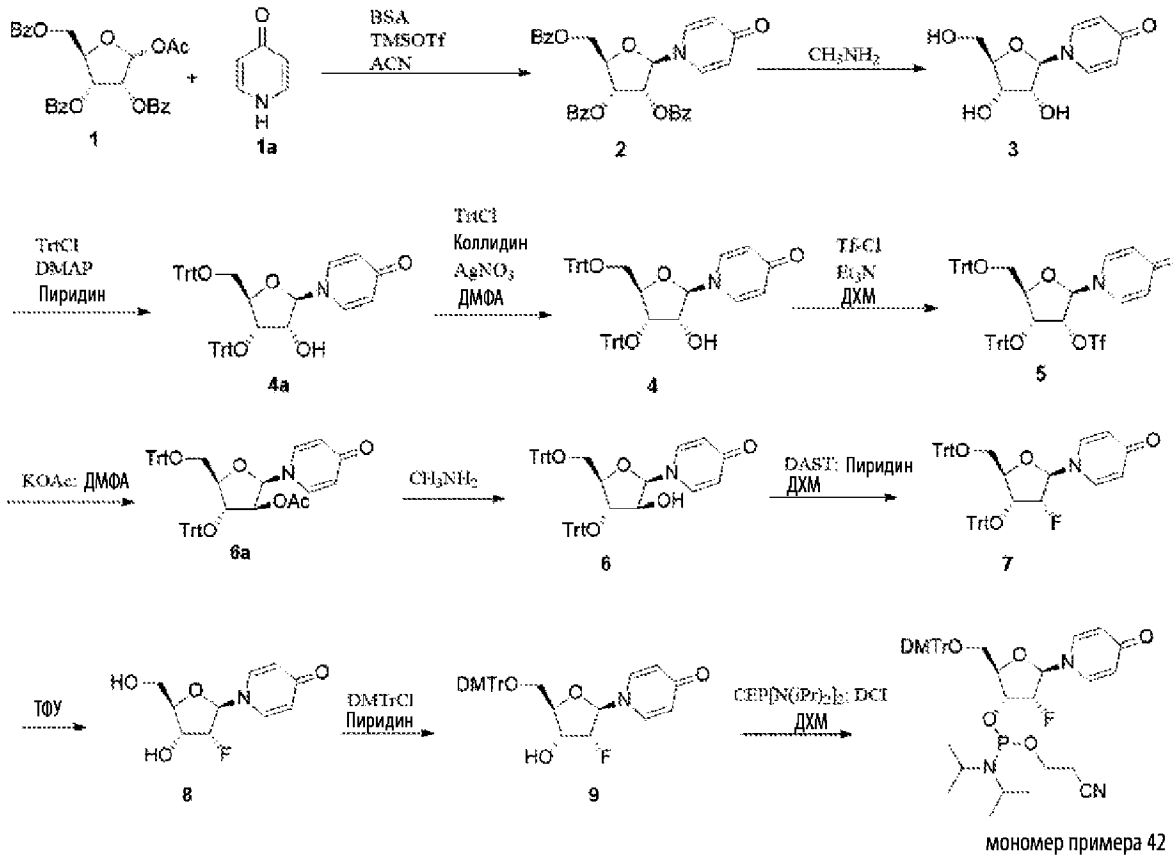


Схема-22

[0658] Получение (**2**): К раствору **1** (40,0 г, 79,3 ммоль), **1a** (7,6 г, 80,1 ммоль) в ACN (100 мл). Затем добавляли BSA (35,2 г, 174,4 ммоль) в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 50 °C в течение 1 ч до того, как раствор стал прозрачным. Затем охлаждали до 0 °C и прикапывали TMSOTf (18,5 г, 83,2 ммоль). Смесь перемешивали при 75 °C в течение 1 ч, ТСХ показала, что **1** полностью израсходовано. Затем раствор разбавляли EA, дважды промывали H_2O. Растворитель концентрировали при пониженном давлении, и остаток использовали на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 540 $[M+H]^+$.

[0659] Получение (**3**): К раствору **2** (37,1 г, 68,7 ммоль) в 30% растворе CH_2NH_2/MeOH (200 мл). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 2 ч. ТСХ показала, что **2** полностью израсходовано. Растворитель концентрировали при пониженном давлении, и остаток дважды промывали EA с получением **3** (12,5 г, 55,2 ммоль) (ссылка на промежуточное соединение **3** *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* 1996, Vol. 6, No. 4, pp. 373–378,), которое непосредственно использовали на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 228 $[M+H]^+$.

[0660] Получение (**4**): К раствору **3** (12,5 г, 55,2 ммоль) в пиридине (125 мл) и добавляли DMAP (1,3 г, 11,0 ммоль), TrtCl (30,7 г, 110,5 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 24 ч. ТСХ показала, что **3** полностью израсходовано. H_2O добавляли к данной смеси. Затем фильтровали, и раствор разбавляли EA. Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Растворитель концентрировали при пониженном давлении, а затем добавляли ACN, фильтровали с получением **4a** (17,0 г, 35,4 ммоль, выход 64%) в виде твердого вещества белого цвета.

[0661] К раствору **4a** (17,0 г, 35,4 ммоль) в ДМФА (200 мл), коллидине (5,2 г, 43,5 ммоль) добавляли TrCl (13,1 г, 47,1 ммоль) через 2 ч, а затем снова через 3 ч добавляли TrCl (13,1 г, 47,1 ммоль), AgNO3 (8,0 г, 47,1 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 24 ч. ТСХ показала **4a** полностью израсходовано. Затем фильтровали, и раствор разбавляли EA. Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Растворитель концентрировали при пониженном давлении, а затем добавляли ACN, фильтровали с получением **4** (14,2 г, 19,5 ммоль, выход 54%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 712 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,83 (д, J = 8 Гц, 2H), 7,42–7,20 (м, 30H), 6,18 (д, J = 7 Гц, 1H), 6,09 (д, J = 8 Гц, 2H), 5,60 (д, J = 7 Гц, 1H), 4,22 (м, 1H), 3,90 (д, J = 5 Гц, 1H), 2,85 (д, J = 10 Гц, 1H), 2,76 (с, 1H), 2,55-2,50 (дд, 1H).

[0662] Получение (**5**): К раствору **4** (14,2 г, 19,9 ммоль) в ДХМ (150 мл) добавляли DMAP (2,4 г, 19,9 ммоль), TEA (4,0 г, 39,9 ммоль, 5,6 мл). Затем охлаждали до 0 °C, прикапывали TfCl (6,7 г, 39,9 ммоль), растворенный в ДХМ (150 мл). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 1 ч. ТСХ показала **4** полностью израсходовано. Затем фильтровали, и раствор разбавляли EA. Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением **5** (16,8 г, 19,9 ммоль) в виде твердого вещества коричневого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 844 $[M+H]^+$.

[0663] Получение (**6**): К раствору **5** (16,8 г, 19,9 ммоль) в ДМФА (200 мл) добавляли KOAc (9,7 г, 99,6 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 14 ч, и 50°C в течение 3 ч, ТСХ показала, что **5** полностью израсходовано. Затем фильтровали, и раствор разбавляли EA. Органический слой промывали H_2O и солевым раствором. Растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением **6a** (15,0 г, 18,9 ммоль, выход 90%) в виде твердого вещества коричневого цвета. К раствору **6a** (15,0 г, 19,9 ммоль) добавляли 30% раствор CH_3NH_2/MeOH (100 мл). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 2 ч, ТСХ показала, что **6a** полностью израсходовано. Затем растворитель концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной

хроматографией (0–5% MeOH в ДХМ) с получением **6** (11,6 г, 16,3 ммоль, выход 82%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 712 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,59 (д, J = 8 Гц, 2H), 7,37–7,22 (м, 30H), 6,01 (д, J = 8 Гц, 2H), 5,84 (д, J = 3 Гц, 1H), 5,42 (д, J = 4 Гц, 1H), 3,78–3,70 (м, 3H), 3,10 (т, J = 9 Гц, 1H), 2,53 (д, J = 4 Гц, 6H), 1,77 (с, 6H).

[0664] Получение (7): К раствору **6** (11,6 г, 16,32 ммоль) в ДХМ (200 мл) добавляли DAST (7,9 г, 48,9 ммоль) при 0 °C. Смесь перемешивали при 25 °C в течение 16 ч, ТСХ показала, что **6** полностью израсходовано. Затем раствор разбавляли EA, дважды промывали $NaHCO_3$, растворитель концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **7** (11,6 г, 13,8 ммоль, выход 84 %) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 714 $[M+H]^+$.

[0665] Получение (**8**): К раствору **7** (11,6 г, 16,2 ммоль) в ДХМ (100 мл) добавляли ТФУ (10 мл). Смесь перемешивали при 20 °C в течение 1 ч. ТСХ показала, что **7** полностью израсходовано. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали на колонке с силикагелем (0~20% MeOH в ДХМ) и препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 0/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/3 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 0/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **9** (1,7 г, 7,2 ммоль, выход 45%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 229,9 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,91 (д, J = 8 Гц, 2H), 6,14 (д, J = 8 Гц, 2H), 5,81–5,76 (м, 2H), 5,28 (т, J = 5 Гц, 1H), 5,13–4,97 (т, J = 4 Гц, 1H), 4,23 (м, 1H), 3,97 (м, 1H), 3,74–3,58 (м, 2H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ -206,09.

[0666] Получение (**9**): К раствору **8** (1,4 г, 6,1 ммоль) в пиридине (14 мл) добавляли DMTrCl (2,5 г, 7,3 ммоль) при 20 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 1 ч. ТСХ показала,что **8** полностью израсходовано. Добавляли воду к реакционной смеси. Продукт экстрагировали EA, Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали

при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **9** (2,5 г, 4,6 ммоль, выход 76) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 532,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,87–7,84 (м, 2H), 7,40–7,22 (м, 9H), 6,91-6,87(м, 4H), 5,98–5,95 (м, 2H), 5,88–5,77 (м, 2H), 5,16–5,02 (м, 1H), 4,42 (м, 1H), 4,05 (м, 1H), 3,74 (с, 6H), 3,35 (м, 2H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ -202,32.

[0667] Получение мономера примера 42: К раствору **9** (2,2 г, 4,1 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли DCI (415 мг, 3,5 ммоль) и CEP (1,5 г, 4,9 ммоль) в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 0,5 ч. ТСХ показала, что **9** полностью израсходовано. Продукт экстрагировали ДХМ, Органический слой промывали H_2O и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 42 (2,6 г, 3,5 ммоль, выход 85%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 732,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,87–7,84 (м, 2H), 7,40–7,22 (м, 9H), 6,91-6,87(м, 4H), 5,98–5,95 (м, 2H), 5,90–5,88 (м, 1H), 5,30–5,17 (м, 1H), 4,62 (м, 1H), 4,19 (м, 1H), 3,78–3,73 (м, 7H), 3,62–3,35 (м, 5H), 2,78 (т, J = 5 Гц, 1H), 2,63 (т, J = 6 Гц, 1H),1,14-0,96 (м, 12H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ -200,77, 200,80, 201,62, 201,64. ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 150,31, 150,24, 149,66, 149,60.

[0668] **Пример 43. Синтез мономера концевого кэпа**

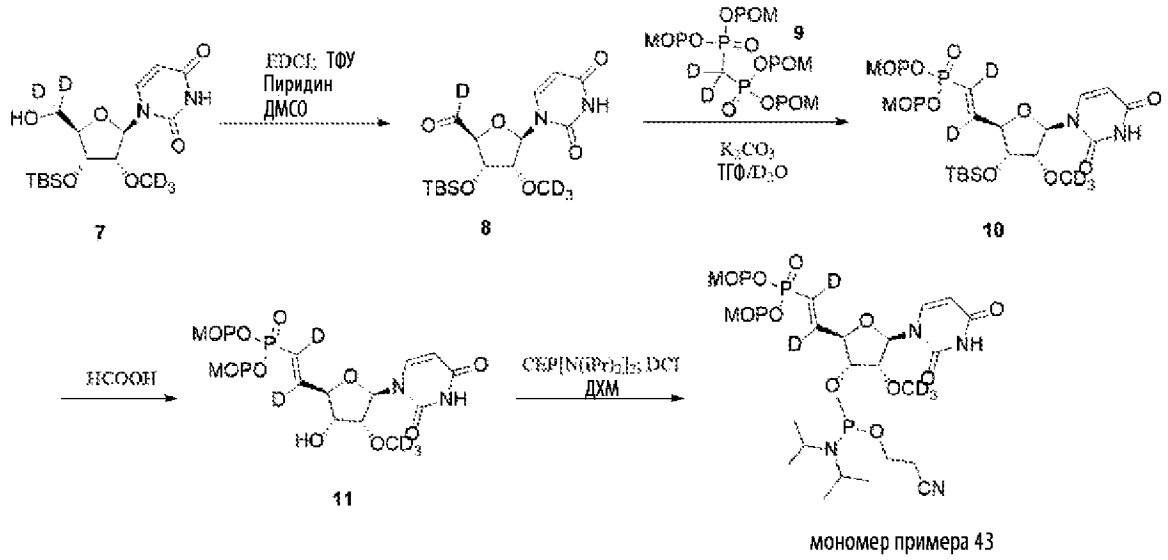


Схема-23

[0669] Получение (**8**): К перемешиваемому раствору **7** (13,4 г, 35,5 ммоль, **Схема 5**) в ДМСО (135 мл) добавляли EDCI (6,3 г, 32,9 ммоль) и пиридине (0,9 г, 10,9 ммоль), ТФУ (0,6 г, 5,5 ммоль) при комн. темп. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. ЖХ-МС показала, что **7** полностью израсходовано. Реакционную смесь гасили водой и продукт экстрагировали ЕА (1800 мл). Органическую фазу промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, органическую фазу выпарили досуха при пониженном давлении с получением остатка **8** (13,2 г, 35,3 ммоль, выход 99,3%), который непосредственно использовали на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z =375 $[M+H_2O]^+$

[0670] Получение (**10**): Раствор **8** (13,2 г, 35,3 ммоль), **9** (26,8 г, 42,3 ммоль, **Схема 18**) и K_2CO_3 (19,5 г, 141,0 ммоль) в сухом ТГФ (160 мл) и D_2O (53 мл) перемешивали при комн. темп. 17 ч. ЖХ-МС показала, что большая часть **8** израсходована. Продукт экстрагировали ЕА (2500 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией (PE: EA = 10:1 ~ 1:2) с получением продукта **10** (8,1 г, 11,8 ммоль, выход 33,4%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС m/z = 682 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,42 (с, 1H), 7,69–7,71 (д, *J* = 8,1 Гц, 1H), 5,78–5,79 (д, *J* = 3,7 Гц, 1H), 5,65–5,67 (м, 1H), 5,59–5,63 (м, 4H), 4,29–4,35 (м, 2H), 3,97–3,99 (м, 1H), 1,15 (с, 18H), 0,87 (с, 9H), 0,07-0,08 (д, *J*=5,1 Гц, 6H). ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6) δ 16,62.

[0671] Получение (**11**): В круглодонную колбу добавляли **10** (7,7 г, 11,1 ммоль) в смеси HCOOH (80 мл) и H_2O (80 мл). Реакционную смесь перемешивали при 40 °C в течение 3 ч. ЖХ-МС показала, что **10** полностью израсходовано. Реакционную смесь доводили до pH = 7,0 с помощью конц. $NH_3.H_2O$ (100 мл). Затем смесь концентрировали с ДХМ (100 мл*3). Объединенный слой ДХМ сушили над Na_2SO_4. Фильтровали и фильтрат концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях. (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/2, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. С получением продукта **11** (5,5 г, 9,6 ммоль, выход 86,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС m/z = 568 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц,ДМСО-d_6): δ 11,42 (с, 1H, обменивался с D_2O), 7,62–7,64 (д, *J*=8,1, 1H), 5,81–5,82 (д, *J*=4,3, 1H), 5,58–5,66 (м, 5H), 5,52–5,53 (д, *J*=6,6, 1H), 4,34–4,37 (м, 1H), 4,09–4,13 (м, 1H), 3,94–3,96 (т, *J*=9,7, 1H), 1,15 (с, 18H), 0 (с, 1H). ^{31}P ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6) δ 17,16.

[0672] Получение мономера примера 43: К раствору **11** (5,3 г, 9,3 ммоль) в ДХМ (40 мл) добавляли DCI (1,1 г, 7,9 ммоль), затем добавляли CEP[N(ipr)$_2$]$_2$ (3,4 г, 11,2 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **11** полностью израсходовано. Реакционную смесь промывали H_2O (50 мл*2) и солевым раствором (50 мл*1). Сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества, которое очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Продукт концентрировали с получением мономера примера 43 (6,2 г, 8,0 ммоль, выход 85,6%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС m/z = 768 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 11,43 (с, 1H), 7,68–7,71 (м, 1H), 5,79–5,81 (м, 1H), 5,58–5,67 (м, 5H), 4,34–4,56 (м, 2H), 4,14–4,17 (м, 1H), 3,54–3,85 (м, 4H), 2,78-2,81 (м, 2H), 1,13–1,17 (м, 30H). ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,66, 149,16, 16,84, 16,56.

[0673] Пример 44. Синтез мономера

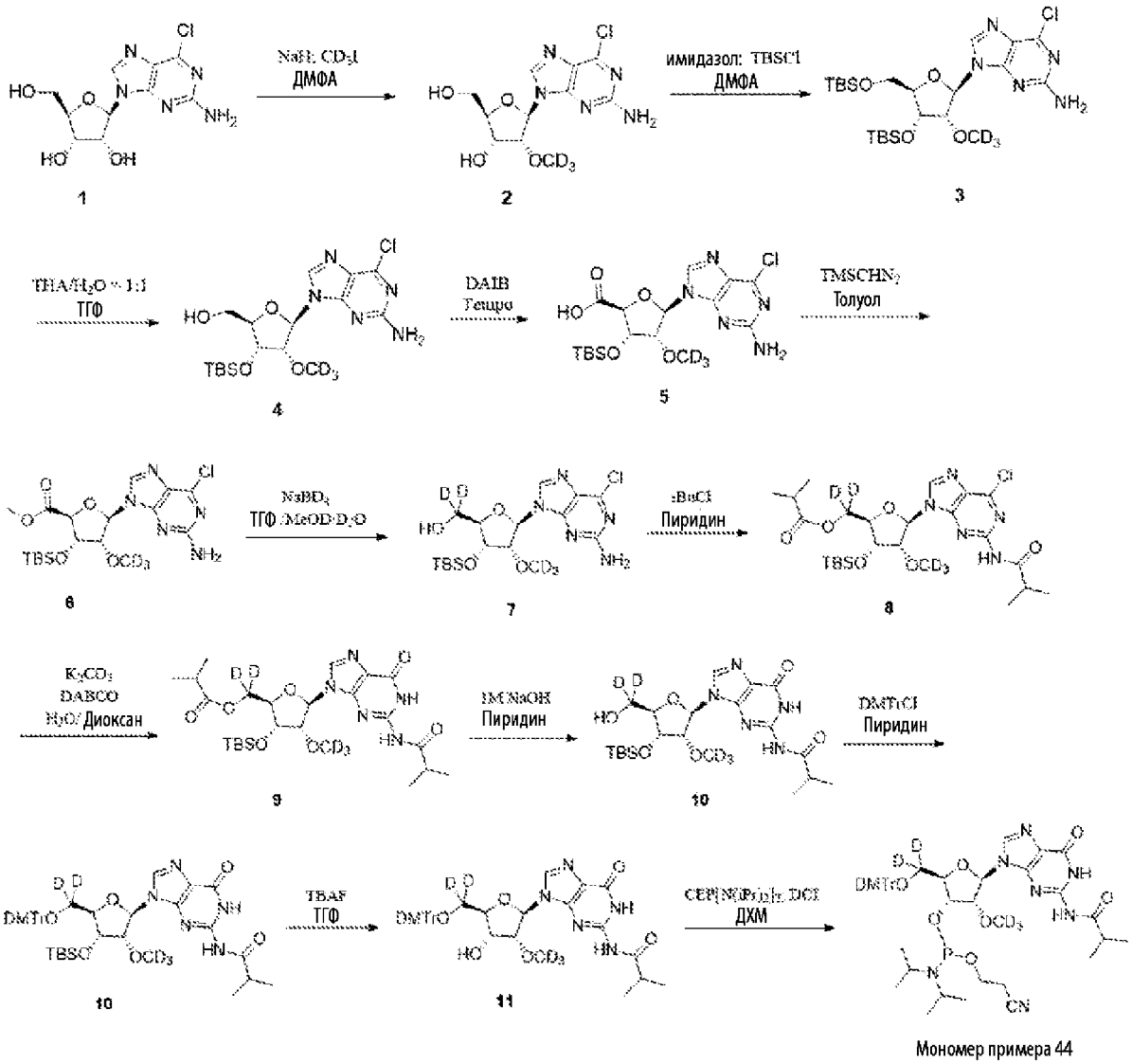


Схема-24

[0674] Получение (**2**): К раствору **1** (20,0 г, 66,4 ммоль) в сухом ДМФА (400 мл) добавляли гидрид натрия (1,9 г, 79,7 ммоль) в течение 30 мин, затем добавляли CD_3I (9,1 г, 79,7 ммоль) в сухом ДХМ (40 мл) при -20 °C в течение 5,5 ч. ЖХ-МС показала, что реагенты израсходованы. Смесь фильтровали, прозрачный раствор выпаривали досуха и упаривали с CH_3OH. Неочищенный продукт очищали на колонке с силикагелем (SiO_2, ДХМ/MeOH = 50:1~10:1). Это позволило получить данный продукт **2** (7,5 г, 23,5 ммоль, выход 35,5%) в виде твердого вещества. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 319 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_3): δ = 8,38 (м, 1H), 6,97 (м, 2H), 5,93–5,81 (м, 1H), 5,27–5,26 (д, J= 4 Гц, 1H), 5,13–5,11 (м, 1H), 4,39–4,31 (м, 1H), 4,31–4,25 (м, 1H), 3,96–3,94 (м, 1H), 3,66–3,63 (м, 1H), 3,63–3,56 (м, 1H).

[0675] Получение (**3**): К раствору **2** (7,5 г, 23,5 ммоль) в сухом ДМФА (75 мл) добавляли имидазол (5,6 г, 82,3 ммоль) и TBSCl (8,9 г, 58,8 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение ночи. ЖХ-МС показала, что **2** полностью израсходовано. Реакционную смесь погасили водой (300 мл). Продукт экстрагировали этилацетатом (100 мл). Органический слой промывали солевым раствором и сушили над безводным Na_2SO_4. Растворитель удаляли с получением неочищенного вещества **3** (9,8 г) в виде твердого вещества, которое использовали для следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 547 $[M+H]^+$.

[0676] Получение (**4**): К раствору **3** (9,8 г) в ТГФ (40 мл) добавляли ТФУ (10 мл) и воду (10 мл) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 5 ч. ЖХ-МС показала, что **3** полностью израсходовано. Конц. NH_4OH к смеси при 0 °C для гашения реакционной смеси до pH = 7,5. Продукт экстрагировали этилацетатом (200 мл). Органический слой промывали солевым раствором и сушили над безводным Na_2SO_4. Растворитель удаляли с получением неочищенного вещества **4** (8,4 г) в виде твердого вещества, которое использовали для следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 433 $[M+H]^+$.

[0677] Получение (**5**): К раствору **4** (8,4 г) в ДХМ/H_2O = 2:1 (84 мл) добавляли DAIB (18,8 г, 58,4 ммоль) и TEMPO (0,87 г, 5,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 40 °C в течение 2 ч. ЖХ-МС показала, что **4** израсходовано. Смесь разбавляли ДХМ и добавляли воду. Продукт экстрагировали ДХМ. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над безводным Na_2SO_4. Раствор затем концентрировали при пониженном давлении. Это позволило получить **5** (14,4 г) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 447 $[M+H]^+$.

[0678] Получение (**6**): К раствору **5** (14,4 г) в толуоле (90 мл) и метаноле (60 мл) добавляли 2M $TMSCHN_2$ (8,9 г, 78,1 ммоль) до исчезновения желтой окраски при комн. темп. в течение 10 мин. ЖХ-МС показала, что **5** израсходовано. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 65/35; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить данный продукт **6** (3,5 г, 7,6 ммоль, выход 32,3% за три стадии, чистота 70%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 461 $[M+H]^+$.

[0679] Получение (**7**): К данному раствору **6** (3,5 г, 7,6 ммоль) в сухом ТГФ/MeOD/D_2O = 10/2/1 (45 мл) добавляли $NaBD_4$ (0,96 г, 22,8 ммоль). И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. После завершения реакции полученную смесь добавляли CH_3COOD до pH = 7, после добавления воды полученную смесь экстрагировали ЕА (100 мл). Объединенный органический слой промывали водой и

солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением **7** (3,3 г), которое использовали на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 435 $[M+H]^+$.

[0680] Получение (**8**): К раствору **7** (3,3 г) в сухом ДХМ (30 мл) добавляли пиридин (5,9 г, 74,5 ммоль) и iBuCl (2,4 г, 22,4 ммоль) в ДХМ (6 мл) на ледяной бане. Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 2,5 ч. ЖХ-МС показала, что **7** израсходовано Смесь разбавляли ЕА и добавляли воду. Продукт экстрагировали ЕА. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 87/13; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить неочищенное вещество **8** (1,6 г, 2,8 ммоль, выход 36,8% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 575 $[M+H]^+$.

[0681] Получение (**9**): К раствору **8** (1,6 г, 2,8 ммоль) в H_2O/диоксане = 1:1 (30 мл) добавляли K_2CO_3 (772,8 мг, 5,6 ммоль) и DABCO (739,2 мг, 2,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 50 °C в течение 3 ч. ЖХ-МС показала, что **8** израсходовано Смесь разбавляли ЕА и добавляли воду. Продукт экстрагировали ЕА. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали с получением **9** (1,8 г), которое использовали на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 557 $[M+H]^+$.

[0682] Получение (**10**): К раствору **9** (1,8 г) в пиридине (20 мл) и добавляли 2М NaOH (MeOH/H_2O = 4/1) (5 мл) при 0 °C в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **9** израсходовано. Смесь добавляли насыщенным NH_4Cl до pH = 7,5. Смесь разбавляли водой и ЕА. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Это позволило получить данный продукт **10** (1,5 г) в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 487 $[M+H]^+$.

[0683] Получение (**11**): К перемешиваемому раствору **10** (1,5 г) в пиридине (20 мл) добавляли DMTrCl (1,1 г, 3 ммоль) при комн. темп. И реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2,5 ч. При охлаждении на ледяной бане реакционную смесь гасили воды экстрагировали в ЕА. Органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH3CN/H2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 7/3 детектор, УФ 254 нм. Это

позволило получить данный продукт **11** (1,9 г, 2,4 ммоль, выход 85,7% за две стадии) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 789,3 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 12,10 (м, 1H), 11,63 (м, 1H), 8,20 (м, 1H), 7,35 –7,33 (м, 2H), 7,29–7,19 (м, 7H), 6,86-6,83 (м, 4H), 5,89–5,88 (д, J= 4 Гц, 1H), 4,40–4,28 (м, 2H), 3,72 (м, 6H), 2,81-2,76 (м, 1H), 1,13–1,11 (м, 6H), 0,80 (м, 9H), 0,05—0,01(м, 7H).

[0684] Получение (**12**): К раствору **11** (1,9 г, 2,4 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляли 1 М раствор TBAF (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1,5 ч. ЖХ-МС показала, что **11** полностью израсходовано. Добавляли воду (100 мл). Продукт экстрагировали ЕА (50 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем органический слой концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H2O (0,5% NH4HCO_3) = 58/42; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **12** (1,5 г, 2,2 ммоль, выход 91,6%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 675,3 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 12,09 (м, 1H), 11,60 (м, 1H), 8,14 (м, 1H), 7,35 –7,27 (м, 2H), 7,25–7,20 (м, 7H), 6,85-6,80 (м, 4H), 5,96–5,94 (д, J= 8 Гц, 1H), 5,26–5,24 (м, 1H), 4,35–4,28 (м, 2H), 3,72 (м, 6H), 3,32 (м, 1H), 2,79-2,72 (м, 1H), 1,13–1,11 (м, 6H).

[0685] Получение мономера примера 44: К суспензии **11** (1,5 г, 2,2 ммоль) в ДХМ (15 мл) добавляли DCI (220,8 мг, 1,9 ммоль) и CEP[N(iPr)$_2$]$_2$ (795,7 мг, 2,6 ммоль) в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. ЖХ-МС показала, что **11** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 44 (1,6 г, 1,8 ммоль, выход 83%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 875 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 12,12 (м, 1H), 11,60 (м, 1H), 8,15 (м, 1H), 7,37 –7,29 (м, 2H), 7,27–7,20 (м, 7H), 6,86-6,81 (м, 4H), 5,94–5,88 (м, 1H), 4,54–4,51 (м, 2H), 4,21–4,20 (м, 1H), 3,73–3,54 (м, 10H), 2,80-2,75 (м, 1H), 2,61-2,58 (м, 1H), 1,19–1,11 (м, 19H). ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ= 149,77, 149,71.

[0686] Пример 45. Синтез мономера

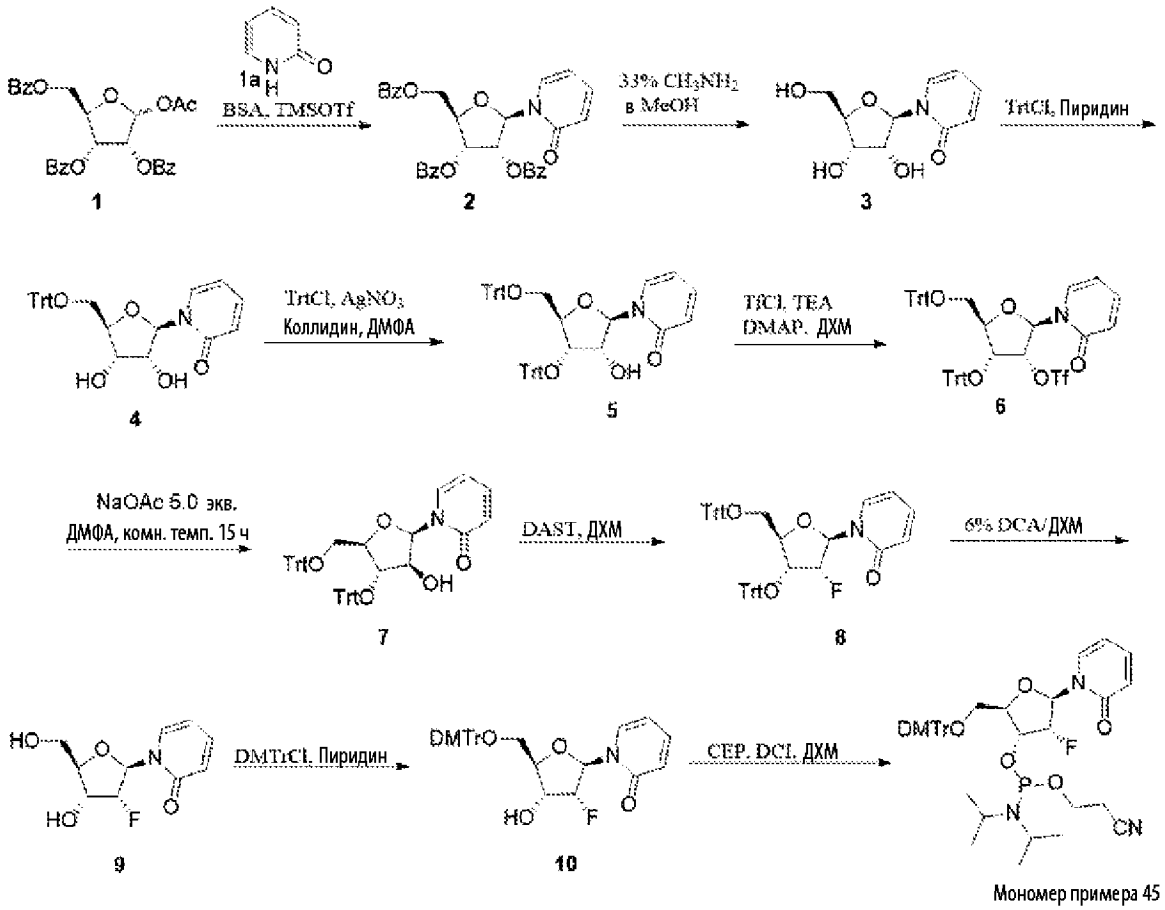


Схема-25

[0687] Получение (**2**): К раствору **1** (50,0 г, 99,2 ммоль) и **1a** (11,3 г, 119,0 ммоль) в ACN (500,0 мл). Затем добавляли BSA (53,2 г, 218,0 ммоль) в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 50 °C в течение 1 ч до того, как раствор стал прозрачным. Затем охлаждали до 0 °C и прикапывали TMSOTf (26,4 г, 119,0 ммоль). Смесь перемешивали при 75 °C в течение 1 ч, ТСХ показала, что **1** полностью израсходовано. Реакционную смесь гасили раствором гидрокарбоната натрия при 0 °C, затем раствор разбавляли ЕА, дважды промывали H_2O. Растворитель концентрировали при пониженном давлении, и неочищенное вещество **2** (60,1 г) использовали на следующей стадии. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 540,2 $[M+H]^+$.

[0688] Получение (**3**): К раствору **2** (60,1 г) в CH_3NH_2/этаноле (500,0 мл). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 2 ч. ТСХ показала, что **2** полностью израсходовано. Растворитель концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (MeOH:ДХМ = 50:1 ~ 10:1) с получением **3** (22,0 г, 96,9 ммоль, выход 97,3% за две стадии). ИЭР-ЖХ-МС: m/z 228,0 $[M+H]^+$; ^{1}Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 8,01–7,98 (м, 1Н), 7,43–7,38 (м, 1Н), 6,37-6,35 (м, 1Н), 6,27-6,23 (м, 1Н),

6,03 (д, J = 3,5 Гц, 1H), 5,39 (д, J = 4,2 Гц, 1H), 5,11 (т, J = 5,1 Гц, 1H), 5,03 (д, J = 5,1 Гц, 1H), 3,98–3,95 (м, 2H), 3,91–3,88 (м, 1H), 3,74–3,57 (м, 2H).

[0689] Получение (**4**): К раствору **3** (22,0 г, 96,9 ммоль) в пиридине (250,0 мл) добавляли TrtCl (30,7 г, 110,5 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 24 ч. ТСХ показала, что **3** полностью израсходовано, к смеси добавляли H_2O. Затем фильтровали, и фильтрат разбавляли EA, органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Растворитель концентрировали при пониженном давлении, а затем очищали колоночной хроматографией (PE/EA = 5:1 ~ 0:1) с получением **4** (38,8 г, 82,5 ммоль, выход 85,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 470,1 $[M+H]^+$.

[0690] Получение (**5**): К раствору **4** (38,8 г, 82,5 ммоль) в ДМФА (500,0 мл), коллидине (10,0 г, 107,3 ммоль) добавляли TrtCl (27,6 г, 99,1 ммоль) с последующим добавлением $AgNO_3$ (18,0 г, 105,1 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 4 ч. ТСХ показала **4** полностью израсходовано. Затем фильтровали, и фильтрат разбавляли EA. Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Растворитель концентрировали при пониженном давлении, а затем очищали колоночной хроматографией (PE/EA = 5:1 ~ 1:1) с получением смеси **5** (52,3 г, 73,5 ммоль, выход 86,3%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 711,1 $[M+H]^+$.

[0691] Получение (**6**): К раствору **5** (52,3 г, 73,5 ммоль) в ДХМ (500,0 мл) добавляли DMAP (8,9 г, 73,5 ммоль), TEA (14,9 г, 147,3 ммоль, 20,6 мл) охлаждали до 0 °C, прикапывали TfCl (16,1 г, 95,6 ммоль), растворенный в ДХМ (100,0 мл). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 1 ч. ТСХ показала **5** полностью израсходовано. Затем фильтровали, и раствор разбавляли EA. Органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Растворитель концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного вещества **6** (60,2 г) в виде твердого вещества коричневого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 844,2 $[M+H]^+$.

[0692] Получение (**7**): К раствору **6** (60,2 г) в ДМФА (500,0 мл) добавляли KOAc (36,1 г, 367,8 ммоль). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 14 ч, а 50 °C в течение 3 ч, ТСХ показала **6** полностью израсходовано. Затем фильтровали, и раствор разбавляли EA. Органический слой промывали H_2O и солевым раствором. Растворитель концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали колоночной хроматографией (PE/EA = 5:1 ~ 1:1) с получением **7** (28,0 г, 39,3 ммоль, выход 53,5%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 710,2 $[M-H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,37–7,25 (м, 33H), 6,34-6,31 (м, 2H), 6,13-6,10 (м, 1H), 5,08 (д, J = 4,2 Гц, 1H), 3,99 (д, J = 7,6 Гц, 1H), 3,74 (с, 1H), 3,12 (т, J = 9,2 Гц, 1H), 2,72-2,69 (м, 1H).

[0693] Получение (**8**): К раствору **7** (28,0 г, 39,3 ммоль) в ДХМ (300,0 мл), DAST (31,6 г, 196,6 ммоль) добавляли при 0 °C, смесь перемешивали при 25 °C в течение 16 ч, ТСХ показала, что **7** полностью израсходовано. Затем раствор разбавляли EA, дважды промывали $NaHCO_3$, растворитель удаляли при пониженном давлении, остаток очищали колоночной хроматографией (PE/EA = 5:1 ~ 3:1) с получением **8** (5,0 г, 7,0 ммоль, выход 17,8%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 748,2 $[M+2NH_4]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,57–7,18 (м, 35H), 6,30 (д, J = 8,8 Гц, 1H), 6,00 (д, J = 19,5 Гц, 1H), 5,92–5,88 (м, 1H), 4,22–4,17 (м, 2H), 3,94 (с, 0,5H), 3,80 (с, 0,5H), 3,35–3,31 (м, 1H), 3,14–3,10 (м, 1H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –193,54.

[0694] Получение (**9**): К раствору **8** (5,0 г, 7,0 ммоль) в ДХМ (60,0 мл) добавляли DCA (3,6 мл) и TES (15,0 мл). Смесь перемешивали при 20 °C в течение 1 ч, ТСХ показала, что **8** полностью израсходовано. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 0/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/3 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 0/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **9** (1,6 г, 6,9 ммоль, выход 98,5%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 229,9 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 8,06-8,04 (м, 1H), 7,48–7,43 (м, 1H), 6,39 (д, J = 9,0 Гц, 1H), 6,31-6,27 (м, 1H), 6,16-6,11 (м, 1H), 5,63 (с, 1H), 5,26 (с, 1H), 4,95–4,81 (м, 1H), 4,20–411 (м, 1H), 3,95 (д, J = 8,2 Гц, 1H), 3,84 (д, J =12,4 Гц, 1H), 3,64 (д, J =12,1 Гц, 1H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ -201,00.

[0695] Получение (**10**): К раствору **9** (1,6 г, 6,9 ммоль) в пиридине (20,0 мл) добавляли DMTrCl (3,5 г, 10,5 ммоль) при 20 °C и перемешивали в течение 1 ч. ТСХ показала, что **9** полностью израсходовано. Добавляли воду и экстрагировали EA, органический слой промывали $NaHCO_3$ и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **10** (2,2 г, 4,2 ммоль, выход 60,8%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 530,1 $[M-H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,93–7,91 (м, 1H), 7,47–7,23 (м, 10H), 6,91-6,89 (м, 4H), 6,41 (д, J =8,8 Гц, 1H), 6,13 (д, J =18,8 Гц, 1H), 6,00–5,96 (м, 1H), 5,68 (д, J = 6,6 Гц, 1H), 5,01 (д, J = 4,2 Гц, 0,5H), 4,88 (д, J = 4,2 Гц, 0,5H), 4,42–4,31 (м, 1H), 4,10–4,08 (м, 1H), 3,74 (с, 6H),3,40–3,34 (м, 2H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –199,49.

[0696] Получение мономера примера 45: К раствору **10** (2,2 г, 4,2 ммоль) в ДХМ (20,0 мл) добавляли DCI (415 мг, 3,5 ммоль) и CEP (1,5 г, 4,9 ммоль) в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 0,5 ч. ТСХ показала, что **10** полностью израсходовано. Продукт экстрагировали ДХМ, органический слой промывали H_2O и солевым раствором. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении, и остаток очищали колоночной хроматографией (PE/EA = 5:1 ~ 1:1) и препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 45 (2,1 г, 3,0 ммоль, выход 73,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР- ИЭР-ЖХ-МС: m/z 732,2 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,98–7,92 (м, 1H), 7,42–7,24 (м, 10H), 6,91-6,85 (м, 4H), 6,43-6,39 (м, 1H), 6,18-6,11 (м, 1H), 6,01–5,97 (м, 1H), 5,22–5,19 (м, 0,5H), 5,09–5,06 (м, 0,5H), 4,73–4,52 (м, 1H), 4,21–4,19 (м, 1H), 3,79–3,62 (м, 7H), 3,57–3,47 (м, 4H), 3,32–3,28 (м, 1H), 2,75-2,58 (м, 1H), 1,13-0,92 (м, 12H); ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –196,82, –196,84, –197,86, –197,88; ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,88, 149,83, 149,39, 149,35.

[0697] **Пример 46. Синтез мономера**

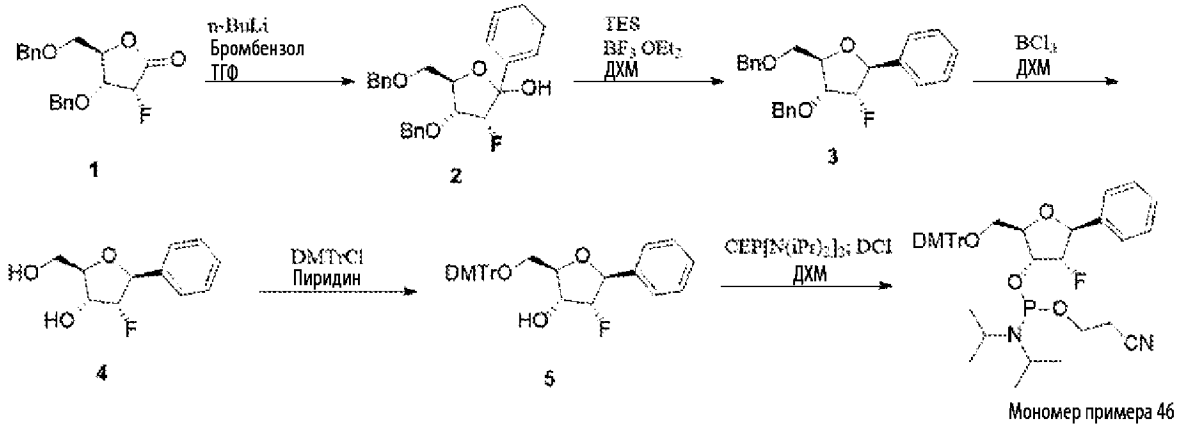


Схема-26

[0698] Получение (**2**): К данному раствору бромбензола (2,1 г, 13,6 ммоль) в сухом ТГФ (15 мл) по каплям добавляли 1,6 M n-BuLi (7 мл, 11,8 ммоль) при –78 °C. Смесь перемешивали при –78 °C в течение 0,5 ч. Затем **1** (3,0 г, 9,1 ммоль, Wang, Guangyi et al , Journal of Medicinal Chemistry, 2016,59(10), 4611–4624) растворяли в ТГФ (15 мл) и добавляли в смесь по каплям при температуре –78 °C. Затем реакционную смесь

перемешивали при –78 °C в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **1** полностью израсходовано. Затем раствор добавляли к насыщенному водн. NH_4Cl и полученную смесь экстрагировали ЕА. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 3/2; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **2** (3,0 г, 7,3 ммоль, 80,0%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 391 $[M-OH]^+$.

[0699] Получение (**3**): К данному раствору **2** (4,0 г, 9,8 ммоль) в ДХМ (40 мл) добавляли TES (1,9 г, 11,7 ммоль) при -78 °C, и смесь по каплям добавляли $BF_3.OEt_2$ (2,1 г, 14,7 ммоль) при -78 °C. Смесь перемешивали при -40 °C в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **2** полностью израсходовано. Затем раствор добавляли к насыщенному водн. $NaHCO_3$ и полученную смесь экстрагировали ДХМ. Объединенный органический слой промывали водой и солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали с помощью препаративной флэш-ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash–1): Колонка, силикагель С18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 2/3, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 4/1 в течение 25 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 7/3; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **3** (3,1 г, 5,3 ммоль, 54,0%) в виде водянистого прозрачного масла. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 410 $[M+H_2O]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$: δ 7,48–7,25 (м, 15H), 5,24–5,13 (м, 1H), 4,93–4,74 (м, 1H), 4,74–4,46 (м, 4H), 4,37–4,25 (м, 1H), 4,19–4,05 (м, 1H), 4,00–3,80 (м, 1H), 3,77–3,63 (м, 1H). ^{19}F-ЯМР (376 МГц, $CDCl_3$): δ –196,84.

[0700] Получение (**4**): К данному раствору **3** (2,1 г, 5,3 ммоль) в сухом ДХМ (20 мл) по каплям добавляли 1 М BCl_3 (25 мл, 25,5 ммоль) при –78 °C, и реакционную смесь перемешивали при –78 °C в течение 0,5 ч. ЖХ-МС показала, что **3** полностью израсходовано. После завершения реакции полученную смесь выливали в воду (50 мл). Раствор экстрагировали ДХМ, и объединенный органический слой концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество в MeOH (4 мл) добавляли 1 М NaOH (15 мл), и смесь перемешивали при комн. темп. в течение 5~10 мин. Смесь экстрагировали ЕА. Объединенный органический слой промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4, и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали колоночной хроматографией на

силикагеле (элюент, ДХМ: MeOH = 40:1~15:1) с получением **4** (1,0 г, 4,7 ммоль, 88,6%) в виде водянистого бесцветного масла. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 211 $[M-H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,58–7,19 (м, 5H), 5,41 (д, J = 6,1 Гц, 1H), 5,09–5,95 (м, 1H), 5,95–4,84 (м, 1H), 4,82–4,59 (м, 1H), 4,14–3,94 (м, 1H), 3,89–3,80 (м, 1H), 3,78–3,67 (м, 1H), 3,65–3,53 (м, 1H). ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –196,46.

[0701] Получение (**5**): К раствору **4** (1,0 г, 4,7 ммоль) в пиридине (10 мл) добавляли DMTrCl (2,0 г, 5,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комн. темп. в течение 2 ч. ЖХ-МС показала, что **4** израсходовано и добавляли воду (100 мл). Продукт экстрагировали EA (100 мл), и органический слой промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4 и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество дополнительно очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 9/1; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить **5** (2,1 г, 4,1 ммоль, 87,0%) в виде масла красного цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 513 $[M-H]^-$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,56–7,16 (м, 14H), 6,94-9,80 (м, 4H), 5,45 (д, J = 6,3 Гц, 1H), 5,21–5,09 (м, 1H), 4,89–4,68 (м, 1H), 4,18–4,03 (м, 2H), 3,74 (с, 6H), 3,33–3,29 (м, 1H), 3,26–3,17 (м, 1H). ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –194,08.

[0702] Получение мономера примера 46: К суспензии **5** (2,1 г, 4,1 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли DCI (410 мг, 3,4 ммоль) и $CEP[N(iPr)_2]_2$ (1,5 г, 4,9 ммоль). Смесь перемешивали при комн. темп. в течение 1 ч. ЖХ-МС показала, что **5** полностью израсходовано. Раствор дважды промывали водой и промывали солевым раствором и сушили над Na_2SO_4. Затем концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество очищали препаративной флэш- ВЭЖХ в следующих условиях (IntelFlash-1): Колонка, силикагель C18; подвижная фаза, CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/1, повышая до CH_3CN/H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0 в течение 20 мин, элюированный продукт собирали при CH_3CN/ H_2O (0,5% NH_4HCO_3) = 1/0; детектор, УФ 254 нм. Это позволило получить мономер примера 46 (2,1 г, 2,9 ммоль, 70,0%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 715 $[M+H]^+$; ^{1}H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6): δ 7,59–7,16 (м, 14H), 6,94-9,80 (м, 4H), 5,26–5,12 (м, 1H), 5,06–4,77 (м, 1H), 4,50–4,20 (м, 1H), 4,20–4,10 (м, 1H), 3,83–3,63 (м, 7H), 3,59–3,37 (м, 4H), 3,25–3,13 (м, 1H), 2,80-2,66 (м, 1H), 2,63-2,53 (м, 1H), 1,18-0,78 (м, 12H). ^{19}F-ЯМР (376 МГц, ДМСО-d_6): δ –194,40, –194,42, –194,50, –194,53. ^{31}P-ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6): δ 149,38, 149,30, 149,02, 148,98.

[0703] Пример 47. Дейтерированный винилфосфонат повышает активность миНК

[0704] В данном примере исследуется, улучшает ли дейтерированный винилфосфонат активность миНК у мышей AAV-HBV. Мышам AAV-HBV подкожно вводили несущую среду, дц-миНК-0165 (например, миНК без дейтерированного винилфосфоната) или дц-миНК-0144 (например, миНК с дейтерированным винилфосфонатом). Для мышей AAV-HBV, получавших миНК, мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мг/кг миНК. Как проиллюстрировано на ФИГ. 11, молекулы миНК, имеющие 2'-фторнуклеотиды в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5'-конца смысловой цепи и 2'-фторнуклеотиды в положениях 2 и 14 от 5'-конца антисмысловой цепи по меньшей мере, приводили к 0,5-log снижению в содержании HBsAg, при этом наибольшее снижение HBsAg было обнаружено у мышей, получавших дейтерированный винилфосфонат миНК (дц-миНК-0165). Так, ФИГ. 11 демонстрирует, что присутствие дейтерированного винилфосфоната улучшает активность миНК.

[0705] Пример 48. Дейтерированный винилфосфонат приводит к большему снижению уровня HBsAg в сыворотке крови

[0706] Мышам AAV-HBV подкожно вводили несущую среду, дц-миНК-0163 (например, миНК без винилфосфоната), дц-миНК-0122 (например, миНК с винилфосфонатом) или дц-миНК-0123 (например, миНК с дейтерированным винилфосфонатом). Для мышей AAV-HBV, получавших миНК, мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мг/кг миНК. Как проиллюстрировано на ФИГ. 12, молекулы миНК, имеющие 2'-фторнуклеотиды в положениях 7, 9–11 от 5'-конца смысловой цепи и 2'-фторнуклеотиды в положениях 2 и 14 от 5'-конца антисмысловой цепи по меньшей мере, приводили к 0,5-log снижению в содержании HBsAg, при этом наибольшее снижение HBsAg было обнаружено у мышей, получавших дейтерированный винилфосфонат миНК (дц-миНК-0165). Так, ФИГ. 12 демонстрирует, что присутствие дейтерированного винилфосфоната улучшает эффективность миНК по сравнению с миНК без винилфосфоната и миНК с винилфосфонатом.

[0707] Пример 49: Синтез мономера 5'-концевого кэпа

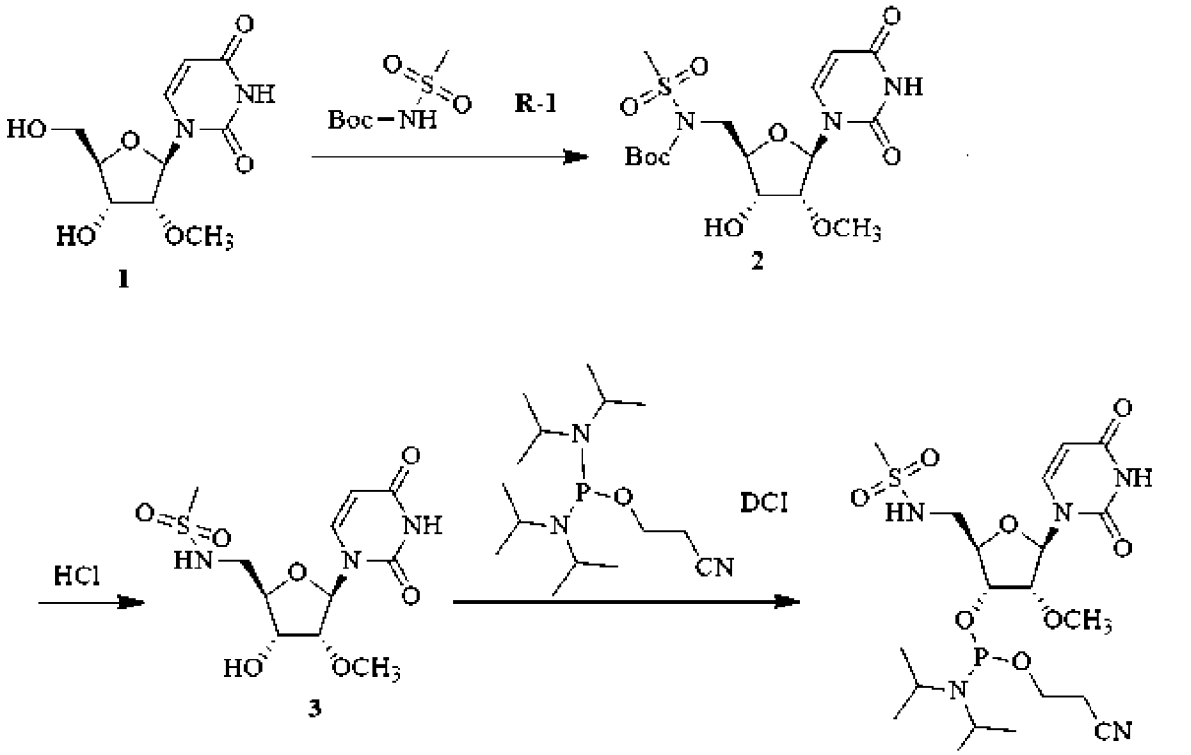


Схема синтеза мономера примера 49

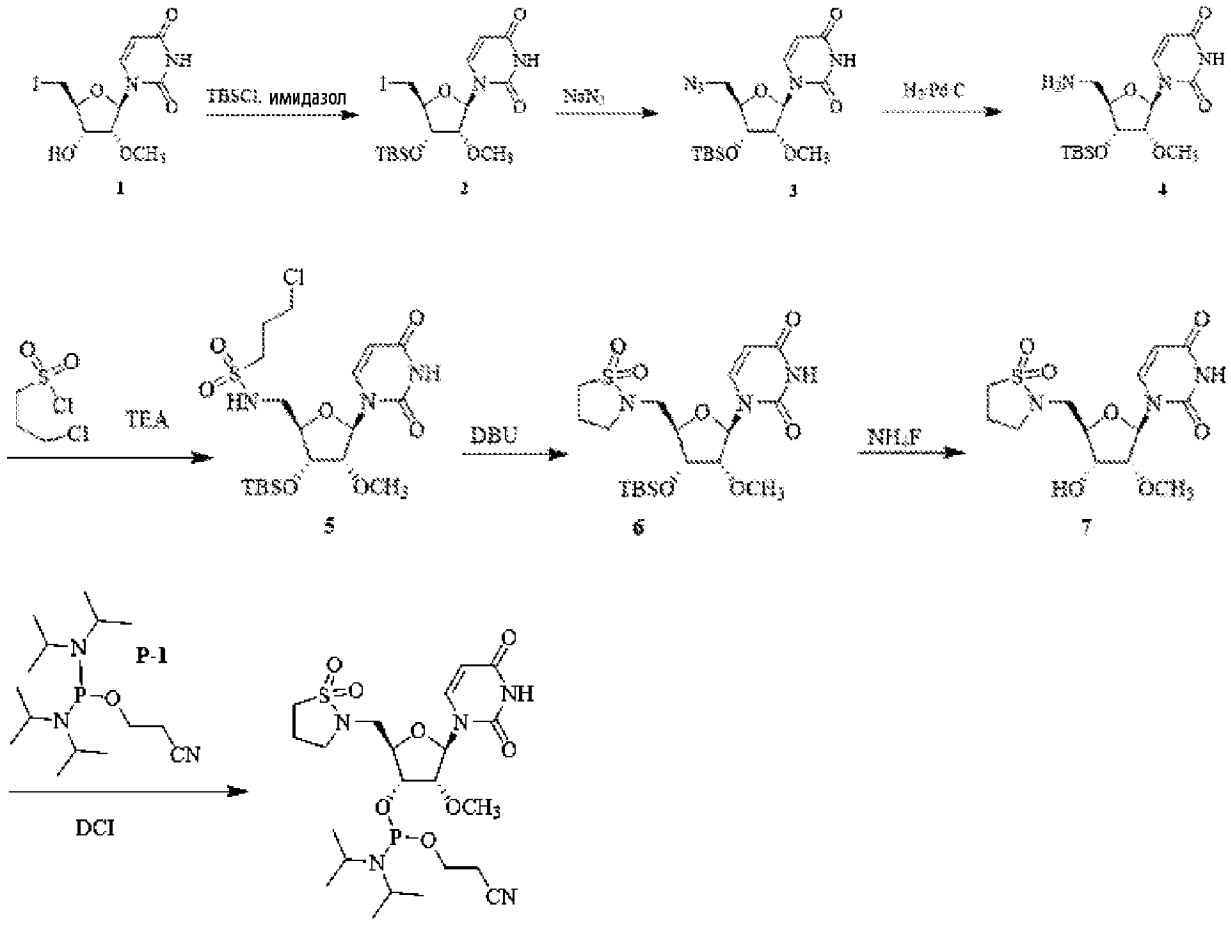
[0708] Получение (**2**): **1** (15 г, 58,09 ммоль) и *трет*-бутил-N-метилсульфонилкарбамат (17,01 г, 87,13 ммоль) растворяли в ТГФ (250 мл) и добавляли PPh_3 (30,47 г, 116,18 ммоль) с последующим добавлением по каплям DIAD (23,49 г, 116,18 ммоль, 22,59 мл) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при 15 °C в течение 12 ч. После завершения по данным ТСХ (ДХМ/MeOH=10/1), реакционную смесь выпаривали с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 120 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~20% MeOH/ДХМ @ 60 мл/мин) с получением **2** (6,9 г, выход 24,28%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 457,9 $[M+Na]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ = 8,64 (шир. с, 1H), 7,64 (д, J=8,2 Гц, 1H), 5,88 (д, J=1,9 Гц, 1H), 5,80 (дд, J=2,2, 8,2 Гц, 1H), 4,19 - 4,01 (м, 3H), 3,90 (дт, J=5,5, 8,2 Гц, 1H), 3,82 - 3,78 (м, 1H), 3,64 (с, 3H), 3,32 (с, 3H), 2,75 (д, J=8,9 Гц, 1H), 1,56 (с, 9H).

[0709] Получение (**3**): **2** (6,9 г, 15,85 ммоль) растворяли в MeOH (40 мл), и добавляли по каплям раствор HCl/MeOH (4 M, 7,92 мл). Реакционную смесь перемешивали при 15 °C в течение 12 ч, а затем выпаривали с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 40 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~10% MeOH/ДХМ @ 40 мл/мин) с получением **3** (2,7 г, выход 50,30%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 336,0 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 9,20 (шир. с, 1H), 7,52 (д, J=8,1 Гц, 1H), 5,75 (д, J=3,8 Гц, 1H), 5,64 (дд,

J=2,0, 8,1 Гц, 1H), 5,60 - 5,52 (м, 1H), 4,15 - 3,99 (м, 1H), 3,96 - 3,81 (м, 2H), 3,46 (с, 3H), 3,44 - 3,35 (м, 1H), 3,34 - 3,26 (м, 1H), 2,92 (с, 3H).

[0710] Получение (**мономер примера 49**): К раствору **3** (2,14 г, 6,38 ммоль) в ДХМ (20 мл) добавляли по каплям 3-бис(диизопропиламино)фосфанилоксипропаннитрил (2,50 г, 8,30 ммоль, 2,63 мл) при 0 °C с последующим добавлением 1H-имидазол-4,5-дикарбонитрила (829 мг, 7,02 ммоль), и смесь продували Ar 3 раза. Реакционную смесь перемешивали при 15 °C в течение 2 ч. По завершении реакции реакционную смесь гасили 5% $NaHCO_3$ (20 мл), экстрагировали ДХМ (20 мл*2), промывали солевым раствором (15 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и выпаривали с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 40 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~10% (Фаза B: i-PrOH/ДХМ=1/2)/Фаза A: ДХМ с градиентов 5% TEA @ 40 мл/мин) с получением **мономера примера 49** (1,73 г, выход 48,59%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 536,3 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 7,58 - 7,48 (м, 1H), 5,83 - 5,78 (м, 1H), 5,71 - 5,64 (м, 1H), 4,40 - 4,29 (м, 1H), 4,19 - 4,07 (м, 1H), 3,98 (тд, J=5,3, 13,3 Гц, 1H), 3,90 - 3,78 (м, 2H), 3,73 - 3,59 (м, 3H), 3,41 (д, J=14,8 Гц, 4H), 2,92 (шир. д, J=7,0 Гц, 3H), 2,73 - 2,63 (м, 2H), 1,23 - 1,11 (м, 12H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 149,81, 150,37.

[0711] **Пример 50: Синтез мономера 5'-концевого кэпа**



Мономер примера 50

Схема синтеза мономера примера 50

[0712] Получение (**2**): К раствору **1** (10 г, 27,16 ммоль) в ДМФА (23 мл) добавляли имидазол (3,70 г, 54,33 ммоль) и TBSCl (8,19 г, 54,33 ммоль) при 25 °C. Смесь перемешивали при 25 °C в течение 2 ч. По завершении реакции реакционную смесь разбавляли H_2O (20 мл) и экстрагировали EA (30 мл * 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (20 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением **2** (13 г, выход 99,2%) в виде вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 482,9 $[M+H]^+$.

[0713] Получение (**3**): К раствору **2** (35,00 г, 72,56 ммоль) в ДМФА (200 мл) добавляли NaN_3 (14,15 г, 217,67 ммоль). Смесь перемешивали при 60 °C в течение 17 ч. По завершении реакции реакционную смесь разбавляли H_2O (200 мл) и экстрагировали EA (200 мл* 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (100 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением **3** (31,8 г, неочищенное вещество) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 398,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ=11,21 (д, *J*=1,3 Гц, 1H),

7,50 (д, *J*=8,1 Гц, 1H), 5,57 (д, *J*=4,5 Гц,1H), 5,46 (дд, *J*=2,1, 8,0 Гц, 1H), 4,06 (т, *J*=5,2 Гц, 1H), 3,81 - 3,64 (м, 2H), 3,44 - 3,30 (м, 2H), 2,31 -2,25 (м, 3H), 0,65 (с, 9H), -0,13 (с, 6H).

[0714] Получение (**4**): К раствору **3** (7 г, 17,61 ммоль) в ТГФ (60 мл) добавляли Pd/C (2 г) при 25 °C. Реакционную смесь перемешивали при 25 °C в течение 3 ч в атмосфере H_2 (15 фунтов на кв. дюйм). Реакционную смесь фильтровали, и фильтрат концентрировали с получением **4** (5,4 г, выход 75,11%) в виде твердого вещества серого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 372,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ =7,93 (д, *J*=8,0 Гц, 1H), 5,81 (д, *J*=5,5 Гц, 1H), 5,65 (д, *J*=8,3 Гц,1H), 4,28 (т, *J*=4,6 Гц, 1H), 3,88 (т, *J*=5,3 Гц, 1H), 3,74 (к, *J*=4,6 Гц,1H), 3,31 (с, 3H), 2,83 - 2,66 (м,2H), 0,88 (с, 9H), 0,09 (с, 6H).

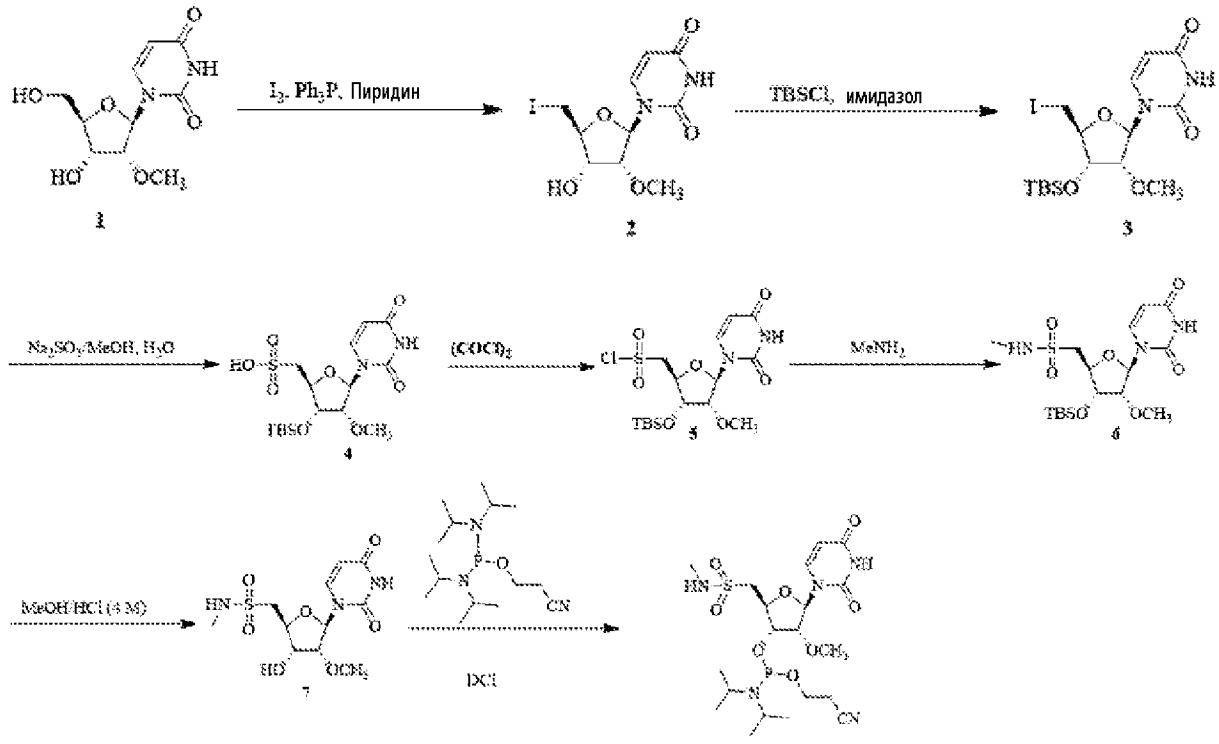
[0715] Получение (**5**): К раствору **4** (3 г, 8,08 ммоль) в ДХМ (30 мл) добавляли TEA (2,45 г, 24,23 ммоль, 3,37 мл) с последующим добавлением по каплям 3-хлорпропан-1-сульфонилхлорида (1,50 г, 8,48 ммоль, 1,03 мл) при 25 °C. Реакционную смесь перемешивали при 25 °C в течение 18 ч в атмосфере N_2. По завершении реакции реакционную смесь разбавляли H_2O (50 мл) и экстрагировали ДХМ (50 мл * 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл* 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 24 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~30% MeOH/ДХМ @ 50 мл/мин) с получением **5** (3,6 г, выход 84,44%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 512,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ =11,42 (с, 1H), 7,75 (д, *J*=8,1 Гц,1H), 7,49 (т, *J*=6,2 Гц, 1H), 5,83 (д, *J*=5,8 Гц, 1H), 5,70 - 5,61 (м, 1H), 4,33 - 4,23 (м, 1H), 3,95 (т, *J*=5,5Гц, 1H), 3,90 - 3,78 (м, 1H), 3,73(т, *J*=6,5 Гц, 2H), 3,30 (с, 3H), 3,26- 3,12 (м, 4H), 2,14 - 2,02 (м, 2H), 0,88 (с, 9H), 0,11 (д, *J*=3,3 Гц, 6H).

[0716] Получение (**6**): К раствору **5** (5 г, 9,76 ммоль) в ДМФА (45 мл) добавляли DBU (7,43 г, 48,82 ммоль, 7,36 мл). Смесь перемешивали при 25 °C в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрировали с получением остатка, разбавляли H_2O (50 мл) и экстрагировали EA (50 мл * 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (50 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 24 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~80% EA/PE @ 40 мл/мин) с получением **6** (4,4 г, выход 89,06%) в виде вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 476,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ =11,43 (д, *J*=1,7 Гц, 1H), 7,72 (д, *J*=8,1 Гц, 1H), 5,82 (д, *J*=4,8 Гц,1H), 5,67 (дд, *J*=2,1, 8,1 Гц, 1H), 4,22 (т, *J*=5,1 Гц, 1H), 3,99 - 3,87 (м, 2H), 3,33 - 3,27 (м, 6H), 3,09 (дд, *J*=6,6, 14,7 Гц, 1H), 2,26 - 2,16 (м, 2H), 0,88 (с, 9H), 0,10 (д, *J*=3,8 Гц, 6H).

[0717] Получение (7): К раствору **6** (200 мг, 420,49 мкмоль) в MeOH (2 мл) добавляли NH_4F (311,48 мг, 8,41 ммоль, 20 экв.), и смесь перемешивали при 80 °C в течение 2 ч. Смесь фильтровали и концентрировали получением остатка, который очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 4 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~50% MeOH/ДХМ @ 20 мл/мин) с получением **7** (120 мг, выход 76,60%) в виде вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 362,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ =11,37 (шир. с, 1H), 7,68 (д, *J*=8,1 Гц,1H), 5,81 (д, *J*=4,6 Гц, 1H), 5,65 (д, *J*=8,0 Гц, 1H), 4,02 (к, *J*=5,6 Гц,1H), 3,95 - 3,83 (м, 2H), 3,34 (с, 9H), 3,09 (дд, *J*=6,9, 14,6 Гц, 1H), 2,26 - 2,14 (м, 2H).

[0718] Получение (**мономер примера 50**): К раствору **7** (1,5 г, 4,15 ммоль) в CH_3CN (12 мл) добавляли 3-бис(диизопропиламино)фосфанилоксипропаннитрил (1,63 г, 5,40 ммоль, 1,71 мл) и 1H-имидазол–4,5-дикарбонитрил (539,22 мг, 4,57 ммоль) одной порцией при 0 °C. Реакционную смесь постепенно нагревали при 25 °C. Реакционную смесь перемешивали при 25 °C в течение 2 ч в атмосфере N_2. По завершении реакции реакционную смесь разбавляли $NaHCO_3$ (20 мл) и экстрагировали ДХМ (20 мл * 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (20 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 12 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~85% EA /PE с 0,5% TEA @ 30 мл/мин с получением **мономера пример 50** (800 мг, выход 33,6%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 562,3 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 9,28 (шир. с,1H), 7,55 (шир. дд, *J*=8,3, 12,8 Гц,1H), 5,86 (шир. д, *J*=3,9 Гц, 1H), 5,65(шир. д, *J*=8,0 Гц, 1H), 4,33 - 4,06 (м, 2H), 4,00 - 3,89 (м, 1H), 4,08 - 3,86(м, 1H), 3,89 - 3,72 (м, 4H), 3,43 (шир. д, *J*=15,1 Гц, 6H), 3,23 - 3,05 (м, 3H), 2,69 (шир. с, 2H), 2,36 - 2,24 (м, 2H), 1,26 - 1,10 (м, 12H) ; ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 149,94 , 149,88.

[0719] **Пример 51: Синтез мономера 5'-концевого кэпа**



Мономер примера 51

Схема синтеза мономера примера 51

[0720] Получение (**2**): К раствору **1** (30 г, 101,07 ммоль, чистота 87%) в CH_3CN (1,2 л) и Ру (60 мл) добавляли I_2 (33,35 г, 131,40 ммоль, 26,47 мл) и PPh_3 (37,11 г, 141,50 ммоль) одной порцией при 10 °C. Реакционную смесь перемешивали при 25 °C в течение дополнительных 48 ч. Смесь разбавляли водн. $Na_2S_2O_3$ (300 мл) и водн. $NaHCO_3$ (300 мл), концентрировали для удаления CH_3CN, а затем экстрагировали EtOAc (300 мл * 3). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 330 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~60% Метанол/Дихлорметан @ 100 мл/мин) с получением **2** (28,2 г, выход 72,00%, чистота 95%) в виде твердого вещества коричневого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 369,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,43 (с, 1H), 7,68 (д, *J*=8,1 Гц, 1H), 5,86 (д, *J*=5,5 Гц, 1H), 5,69 (д, *J*=8,1 Гц, 1H), 5,46 (д, *J*=6,0 Гц, 1H), 4,08 - 3,96 (м, 2H), 3,90 - 3,81 (м, 1H), 3,60 - 3,51 (м, 1H), 3,40 (дд, *J*=6,9, 10,6 Гц, 1H), 3,34 (с, 3H).

[0721] Получение (**3**): К раствору **2** в ДМФА (90 мл) добавляли имидазол (4,25 г, 62,48 ммоль) и TBSCl (6,96 г, 46,18 ммоль) одной порцией при 15 °C. Смесь перемешивали при 15 °C в течение 6 ч. Реакционную смесь гасили добавлением H_2O (300 мл) и экстрагировали EtOAc (300 мл * 2). Объединенные органические слои промывали

солевым раствором (300 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением **3** (13,10 г, неочищенное вещество) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 483,0 $[M+H]^+$.

[0722] Получение (**4**): К раствору **3** (10 г, 20,73 ммоль) в MeOH (20 мл), H_2O (80 мл) и диоксане (20 мл) добавляли Na_2SO_3 (15,68 г, 124,38 ммоль), и смесь перемешивали при 80 °C в течение 24 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления MeOH. Водный слой экстрагировали EtOAc (80 мл * 2) и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток растирали с MeOH (100*3 мл) с получением **4** (9,5 г, выход 94,48%, чистота 90%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 437,0 $[M+H]^+$.

[0723] Получение (**5**): К раствору **4** (11 г, 21,42 ммоль, чистота 85%) в ДХМ (120 мл) добавляли ДМФА (469,65 мг, 6,43 ммоль, 494,37 мкл) при 0 °C с последующим добавлением по каплям оксалилхлорида (13,59 г, 107,10 ммоль, 9,37 мл). Смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 ч. Реакционную смесь гасили добавлением воды (60 мл), и органический слой **5** (0,1125 М, 240 мл ДХМ) использовали непосредственно на следующей стадии. (Данную реакцию ставили в двух повторах и порции объединяли) ИЭР-ЖХ-МС: m/z 455,0 $[M+H]^+$.

[0724] Получение (**6**): **5** (186,4 мл, 0,1125 М в ДХМ) разбавляли ДХМ (60 мл) и обрабатывали метиламином (3,26 г, 41,93 ммоль, чистота 40%). Смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 40 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~10%, MeOH/ДХМ @ 40 мл/мин) с получением **AGS-9–3-008** (1,82 г, выход 18,53%, чистота 96%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 472,0 $[M+Na]^+$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ = 9,08 (с, 1Н), 7,31 (д, *J*=8,1 Гц, 1Н), 5,78 (д, *J*=8,1 Гц, 1Н), 5,57 (д, *J*=3,8 Гц, 1Н), 4,61 - 4,48 (м, 1Н), 4,41 - 4,27 (м, 2Н), 4,13 - 4,03 (м, 1Н), 3,46 (с, 3Н), 3,43 - 3,33 (м, 2Н), 2,78 (д, *J*=5,2 Гц, 3Н), 0,92 (с, 9Н), 0,13 (с, 6Н).

[0725] Получение (**7**): К раствору **6** (2,3 г, 5,12 ммоль) в MeOH (12 мл) добавляли HCl/MeOH (4 М, 6,39 мл). Смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 24 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~15%, MeOH/ДХМ @ 30 мл/мин) с получением **7** (1,4 г, выход 79,98%) в виде твердого вещества розового цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 336,1 $[M+H]^+$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ = 9,12 (с, 1Н), 7,39 (д, *J*=8,0 Гц, 1Н), 5,79 (д, *J*=3,3 Гц, 1Н),

5,66 (дд, *J*=2,1, 8,2 Гц, 1H), 5,13 (с, 1H), 4,13 (т, *J*=4,0, 7,4 Гц, 1H), 4,07 - 4,02 (м, 1H), 3,87 (дд, *J*=3,3, 5,5 Гц, 1H), 3,47 (с, 3H), 3,43 - 3,37 (м, 2H), 2,65 (д, *J*=4,5 Гц, 3H).

[0726] Получение (**мономер примера 51**): К смеси **7** (1,7 г, 5,07 ммоль) и 4A MS (1,4 г) в MeCN (18 мл) добавляли 3-бис(диизопропиламино)фосфанилоксипропаннитрил (1,99 г, 6,59 ммоль, 2,09 мл) при 0 °C с последующим добавлением 1H-имидазол-4,5-дикарбонитрила (658,57 мг, 5,58 ммоль) одной порцией при 0 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 ч. По завершении реакции реакционную смесь гасили добавлением насыщ. раствором $NaHCO_3$ (20 мл) и разбавляли ДХМ (40 мл). Органический слой промывали насыщ. $NaHCO_3$ (20 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали на флэш-колонке с силикагелем (от 0% до 5% i-PrOH в ДХМ с 5% TEA) с получением **мономерапример 51** (1,30 г, выход 46,68%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 536,2 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 9,00 (с, 1H), 7,40 (д, *J*=8,0 Гц, 1H), 5,85 - 5,76 (м, 1H), 5,64 (д, *J*=8,0 Гц, 1H), 5,08 (д, *J*=5,0 Гц, 1H), 4,42 - 4,21 (м, 2H), 4,00 (тд, *J*=4,6, 9,3 Гц, 1H), 3,89 - 3,61 (м, 4H), 3,47 - 3,40 (м, 4H), 3,37 - 3,22 (м, 1H), 2,71 - 2,60 (м, 5H), 1,21 - 1,16 (м, 11H), 1,21 - 1,16 (м, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 150,07, 149,97

[0727] **Пример 52: Синтез мономера 5'-концевого кэпа**

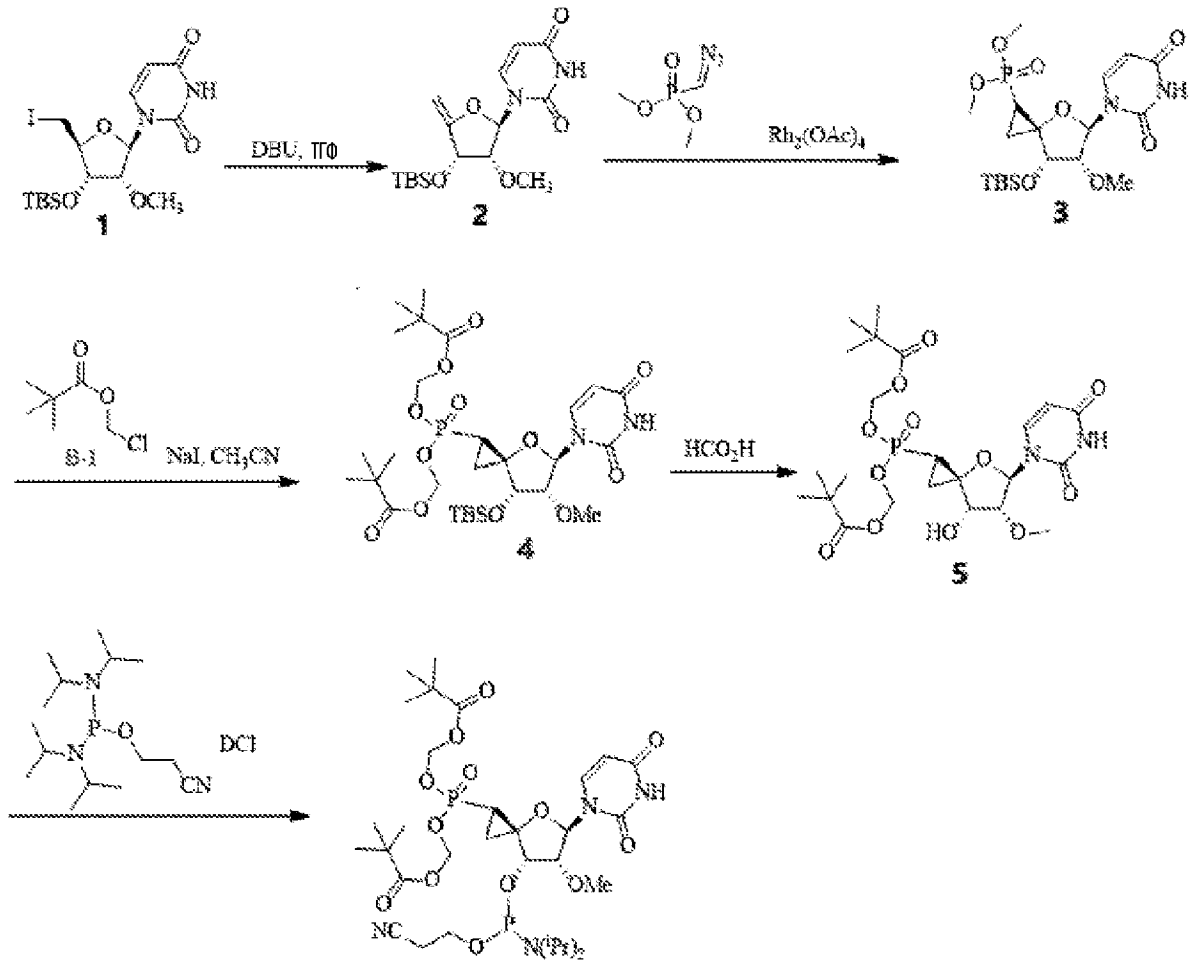


Схема синтеза мономера примера 52

[0728] Получение (**2**): К раствору **1** (13,10 г, 27,16 ммоль) в ТГФ (100 мл) добавляли DBU (20,67 г, 135,78 ммоль, 20,47 мл). Смесь перемешивали при 60 °C в течение 6 ч. По завершении реакции реакционную смесь гасили добавлением насыщ. раствора NH_4Cl (600 мл) и экстрагировали EA (600 мл * 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (100 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 120 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~50% (Фаза B: этилацетат:дихлорметан=1:1) / Фаза A: градиент петролейного эфира @ 45 мл/мин) с получением **2** (5,9 г, выход 60,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 355,1 $[M+H]^+$; ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,61 - 11,30 (м, 1H), 7,76 - 7,51 (м, 1H), 6,04 (д, *J*=5,4 Гц, 1H), 5,75 (с, 1H), 5,73 - 5,67 (м, 1H), 4,78 (д, *J*=4,9 Гц, 1H), 4,41 (д, *J*=1,1 Гц, 1H), 4,30 (т, *J*=4,8 Гц, 1H), 4,22 (д, *J*=1,4 Гц, 1H), 4,13 (т, *J*=5,1 Гц, 1H), 4,06 - 3,97 (м, 1H), 3,94 - 3,89 (м, 1H), 3,82 - 3,75 (м, 1H), 3,33 (с, 3H), 3,30 (с, 2H), 1,17 (т, *J*=7,2 Гц, 1H), 0,89 (с, 9H), 0,16 - 0,09 (м, 6H).

[0729] Получение (**3**): К раствору **2** (4 г, 11,28 ммоль) в ДХМ (40 мл) добавляли Ru(II)-Pheox (214,12 мг, 338,53 мкмоль) одной порцией с последующим добавлением диазо(диметоксифосфорил)метана (2,54 г, 16,93 ммоль) по каплям при 0 °C в атмосфере N_2. Реакционную смесь перемешивали при 20 °C в течение 16 ч. По завершении реакции реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 80 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~4% MeOH/ДХМ@ 60 мл/мин) с получением **3** (5 г, выход 86,47%) в виде жидкости красного цвета. ИЭР-ЖХ-МС: m/z 477,1 $[M+H]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,46 (с, 1H), 7,49 (д, *J*=8,0 Гц, 1H), 6,01 - 5,87 (м, 1H), 5,75 (дд, *J*=2,0, 8,0 Гц, 1H), 4,58 (д, *J*=3,8 Гц, 1H), 4,23 (дд, *J*=3,8, 7,8 Гц,1H), 3,80 - 3,68 (м, 6H), 3,30 (с, 3H), 1,65 - 1,46 (м, 2H), 1,28 - 1,16 (м, 1H), 0,91 (с, 9H), 0,10 (д, *J*=4,3 Гц, 6H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, ДМСО-d_6) δ = 27,5

[0730] Получение (**4**): К смеси **3** (2,8 г, 5,88 ммоль) и NaI (1,76 г, 11,75 ммоль) в CH_3CN (30 мл) добавляли хлорметил-2,2-диметилпропаноат (2,21 г, 14,69 ммоль, 2,13 мл) при 25 °C. Смесь перемешивали при 80 °C в течение 40 ч в атмосфере Ar. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 40 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~50%этилацетат/петролейный эфир @ 40 мл/мин) с получением **4** (2,1 г, выход 51,23%, чистота 97%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 677,3 $[M+H]^+$.

[0731] Получение (**5**): Смесь **4** (2,09 г, 3,09 ммоль) в H_2O (1,5 мл) и HCOOH (741,81 мг, 15,44 ммоль, 6 мл) перемешивали при 15°C в течение 40 ч. По завершении реакции реакционную смесь гасили насыщенным водн. $NaHCO_3$ (300 мл) и экстрагировали ЕА (300 мл * 2). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над Na_2SO_4, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 20 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~5% Метанол/Дихлорметан@ 45 мл/мин) с получением **5** (1,51 г, выход 85,19%) в виде твердого вещества желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 585,1 $[M+Na]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ = 11,45 (д, J=1,8 Гц, 1H), 7,44 (д, J=8,2 Гц, 1H), 6,04 (д, J=7,5 Гц,1H), 5,78 – 5,51 (м, 6H), 4,39 (т, J=4,4 Гц, 1H), 4,15 (дд, J=4,3, 7,4 Гц, 1H), 4,03 (к, J=7,1 Гц, 1H),1,99 (с, 1H), 1,66 (дд, J=8,6, 10,8 Гц, 1H), 1,55 - 1,29 (м, 2H), 1,18 (д, J=2,0 Гц, 18H).

[0732] Получение (**мономер примера 52**): К раствору **5** (2,5 г, 4,44 ммоль) в MeCN (30 мл) добавляли 3-бис(диизопропиламино)фосфанилоксипропаннитрил (1,74 г, 5,78 ммоль, 1,84 мл) при 0 °C с последующим добавлением 1H-имидазол-4,5-дикарбонитрила (577,36

мг, 4,89 ммоль) одной порцией в атмосфере Ar. Смесь постепенно нагревали до 20 °C и перемешивали при 20 °C в течение 1 ч. Реакционную смесь гасили добавлением насыщ. раствором $NaHCO_3$ (50 мл) и разбавляли ДХМ (250 мл). Органический слой промывали насыщ. раствором $NaHCO_3$ (50 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали на флэш-колонке с силикагелем (0% до 50% EA / PE с 0,5% TEA) с получением **мономера примера 52** (1,85 г, выход 54,1%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 785,2 $[M+Na]^+$; ^{1}H ЯМР (400 МГц, CD_3CN) δ = 9,18 (с, 1H), 7,31 (д, *J*=8,3 Гц, 1H), 6,06 (д, *J*=7,8 Гц, 1H), 5,72 - 5,60 (м, 5H), 4,85 - 4,76 (м, 1H), 4,27 (м, 1H), 3,93 - 3,64 (м, 4H), 3,41 (д, *J*=16,6 Гц, 3H), 2,80 - 2,62 (м, 2H), 1,76 - 1,49 (м, 3H), 1,23 - 1,19 (м, 30H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 150,66 (s), 150,30 , 24,77 , 24,66.

[0733] Пример 53: Синтез мономера 5'-концевого кэпа

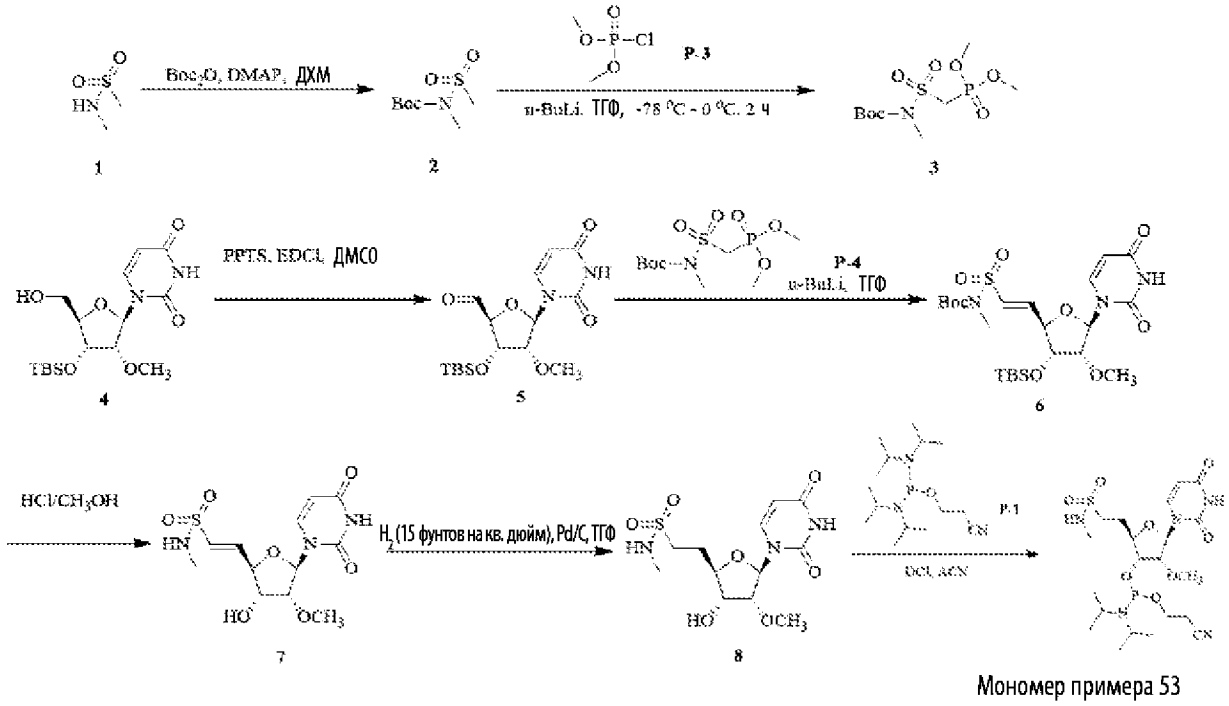


Схема синтеза мономера примера 53

[0734] Получение (**2**): К раствору **1** (15 г, 137,43 ммоль) в ДХМ (75 мл) добавляли Boc_2O (31,49 г, 144,30 ммоль, 33,15 мл) и DMAP (839,47 мг, 6,87 ммоль, 0,05 экв.) при 0 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 16 ч, и концентрировали при пониженном давлении с получением **2** (29,9 г, неочищенное вещество) в виде масла желтого цвета. ^{1}H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) δ = 3,23 (с, 3H), 3,16 (с, 3H), 1,51 (с, 9H).

[0735] Получение (**3**): К раствору **2** (24,9 г, 118,99 ммоль) в ТГФ (250 мл) добавляли n-BuLi (2,5 M, 47,60 мл) по каплям при –78 °C в атмосфере Ar и перемешивали при –78 °C в течение 1 ч. **P–3** (17,19 г, 118,99 ммоль, 12,83 мл) добавляли при 0 °C и перемешивали в

течение 1 ч. Реакционную смесь гасили насыщенным водн. NH_4Cl (100 мл), а затем экстрагировали EA (100 мл * 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (100 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 80 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюент 0~50% этилацетат/петролейный эфир @ 65 мл/мин) с получением **3** (7,1 г, выход 18,62%) в виде масла желтого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 339,9 $[M+Na]^+$; ^1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ = 4,12 (с, 1H), 4,08 (с, 1H), 3,83 (с, 3H), 3,81 (с, 3H), 3,22 (с, 3H), 1,51 (с, 9H).

[0736] Получение (**5**): К смеси **4** (15 г, 40,27 ммоль) и PPTS (10,12 г, 40,27 ммоль) в ДМСО (75 мл) добавляли EDCI (23,16 г, 120,81 ммоль) при 20 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли водой (150 мл) и экстрагировали EA (150 мл*2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (150 мл*2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением **5** (12 г, неочищенное вещество) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 371,2$[M+H]^+$; ^1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) δ = 9,77 (с, 1H), 7,62 (д, J=8,1 Гц, 1H), 5,83 - 5,76 (м, 2H), 4,53 (д, J=4,3 Гц, 1H), 4,43 (шир т, J=4,4 Гц, 1H), 3,95 (шир т, J=4,7 Гц, 1H), 3,47 - 3,35 (м, 5H), 0,92 (с, 9H), 0,13 (д, J=5,8 Гц, 6H).

[0737] Получение (**6**): К раствору P**4** (8,02 г, 25,27 ммоль) в ТГФ (40 мл) добавляли n-BuLi (2,5 М, 8,42 мл) по каплям в атмосфере Ar при –78 °C, и смесь перемешивали при –78 °C в течение 0,5 ч. Раствор **4** (7,8 г, 21,05 ммоль) в ТГФ (40 мл) добавляли по каплям. Смесь оставили нагреваться до 0 °C и перемешивали дополнительные 2 ч. Реакционную смесь гасили насыщенным водн. раствором NH_4Cl (80 мл) и экстрагировали EA (80 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (80 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 80 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~38% этилацетат/петролейный эфир @ 60 мл/мин) с получением **7** (7,7 г, 13,43 ммоль, выход 63,8%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 506,2 $[M-tBu]^+$; ^1H ЯМР (400МГц, $CDCl_3$) δ = 8,97 (с, 1H), 7,25 (д, J=8,3 Гц, 1H), 6,95 - 6,88 (м, 1H), 6,87 - 6,81 (м, 1H), 5,83 - 5,77 (м, 2H), 4,58 (дд, J=4,4, 6,7 Гц, 1H), 4,05 (дд, J=5,0, 7,5 Гц, 1H), 3,82 - 3,77 (м, 1H), 3,53 (с, 3H), 3,20 (с, 3H), 1,50 (с, 9H), 0,91 (с, 9H), 0,11 (д, J=2,5 Гц, 6H).

[0738] Получение (**7**): К раствору **6** (7,7 г, 13,71 ммоль) в MeOH (10 мл) добавляли HCl/MeOH (4 М, 51,40 мл) при 20 °C. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 16 ч. По завершению реакции реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления MeOH. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 80 г

флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, элюент 0~4% MeOH/ДХМ @ 60 мл/мин) с получением **7** (4,1 г, выход 86,11%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 369,9 $[M+Na]^+$; ^{1}Н ЯМР (400МГц, ДМСО-d_6) δ = 11,44 (с, 1Н), 7,66 (д, J=8,3 Гц, 1Н), 7,11 (к, J=4,9 Гц, 1Н), 6,69 (дд, J=6,0, 15,1 Гц, 1Н), 6,56 - 6,47 (м, 1Н), 5,82 (д, J=4,0 Гц, 1Н), 5,67 (дд, J=2,0, 8,0 Гц, 1Н), 5,56 (шир. с, 1Н), 4,42 (т, J=6,1 Гц, 1Н), 4,13 (т, J=5,8 Гц, 1Н), 3,97 (т, J=4,8 Гц, 1Н), 3,39 (с, 3Н), 2,48 (д, J=5,3 Гц, 3Н)

[0739] Получение (**8**): К раствору **7** (2,5 г, 7,20 ммоль) в ТГФ (25 мл) добавляли Pd/C (2,5 г, чистота 10%) в атмосфере H_2, и суспензию дегазировали и продували H_2 3 раза. Смесь перемешивали в атмосфере H_2 (15 фунтов на кв. дюйм) при 20 °C в течение 1 ч. По завершении реакции реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 25 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 0~5% этилацетат/петролейный эфир @ 50 мл/мин) с получением **8** (2,2 г, выход 87,49%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 372,1 $[M+Na]^+$; ^{1}Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ = 11,40 (с, 1Н), 7,62 (д, J=8,0 Гц, 1Н), 6,93 (к, J=4,9 Гц, 1Н), 5,76 (д, J=4,5 Гц, 1Н), 5,66 (д, J=8,0 Гц, 1Н), 5,26 (д, J=6,3 Гц, 1Н), 3,97 (к, J=5,9 Гц, 1Н), 3,91 - 3,79 (м, 2Н), 3,36 (с, 3Н), 3,14 - 3,00 (м, 2Н), 2,56 (д, J=5,0 Гц, 3Н), 2,07 - 1,87 (м, 2Н).

[0740] Получение (**мономер примера 53**): К раствору **8** (2,2 г, 6,30 ммоль, 1 экв.) в CH_3CN (25 мл) добавляли **P-1** (2,47 г, 8,19 ммоль, 2,60 мл, 1,3 экв.) при 0 °C, а затем добавляли 1Н-имидазол-4,5-дикарбонитрил (818,07 мг, 6,93 ммоль, 1,1 экв.) одной порцией при 0 °C в атмосфере Ar. Смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 ч. По завершении реакции реакционную смесь гасили насыщенным водн. $NaHCO_3$ (25 мл), и экстрагировали ДХМ (25 мл * 2). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (25 мл * 2), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле (ISCO®; 40 г флэш-колонка SepaFlash® с силикагелем, градиент элюента 40~85% этилацетат/петролейный эфир @ 40 мл/мин) с получением мономера примера 53 (2,15 г, выход 61,32%) в виде твердого вещества белого цвета. ИЭР-ЖХ-МС: 572,2 $[M+Na]^+$;^{1}Н ЯМР (400МГц, CD_3CN) δ = 9,32 (шир. с, 1Н), 7,39 (д, J=8,1 Гц, 1Н), 5,82 - 5,75 (м, 1Н), 5,66 (дд, J=0,7, 8,1 Гц, 1Н), 5,14 (кд, J=4,9, 9,4 Гц, 1Н), 4,24 - 4,02 (м, 2Н), 3,99 - 3,93 (м, 1Н), 3,90 - 3,60 (м, 4Н), 3,43 (д, J=17,5 Гц, 3Н), 3,18 - 3,08 (м, 2Н), 2,74 - 2,61 (м, 5Н), 2,19 - 2,11 (м, 1Н), 2,09 - 1,98 (м, 1Н), 1,19 (ддд, J=2,4, 4,0, 6,6 Гц, 12Н),3^{1}Р ЯМР (162 МГц, CD_3CN) δ = 149,77 (с), 149,63 (шир. с).

[0741] Пример 54. Долгосрочная эффективность миНК в мышиной модели AAV-HBV

[0742] AAV/HBV представляет собой рекомбинантный AAV, несущий реплицируемый геном HBV. Используя преимущество высокой гепатотропности AAV генотипа 8, геном HBV может быть эффективно доставлен в клетки печени мыши. Заражение иммунокомпетентных мышей AAV/HBV может привести к длительной виремии HBV, которая имитирует хроническую инфекцию HBV у пациентов. Модель AAV/HBV можно использовать для оценки активности различных типов анти-HBV агентов in vivo. Мышей инфицировали AAV-HBV на -28 день исследования. Мышам AAV-HBV подкожно вводили однократную дозу 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг дц-миНК-0147 в день 0. Серийные заборы крови обычно брали каждые 5 дней на 0, 5, 10 и 15 день и т. д. до окончания исследования. Сывороточный антиген HBV S (HBsAg) анализировали с помощью ИФА. ФИГ. 13 иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G 15) или дц-миНК-0147 (G 19). Как проиллюстрировано на ФИГ. 13, дц-миНК-0147 была эффективна в снижении уровней HBsAg в сыворотке, и снижение уровней HBsAg в сыворотке наблюдали на протяжении всего исследования (т. е. 100 дней). Так, ФИГ. 13 демонстрирует, что дц-миНК-0147 эффективна и долговечна после однократного приема 5 мг/кг.

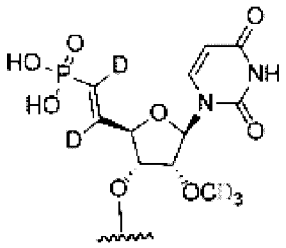
№ дц-миНК		Последовательность цепи	SEQ ID NO:
дц-миНК-0147	Смысловая	5’-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-ps2-GalNAc4-3’	438
	Антисмысловая	3’-mApsmGpsmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsfUpsmA-5’	501

[0743] Пример 55. Дейтерированный винилфосфонат повышает активность миНК

[0744] В данном примере исследуется, улучшает ли дейтерированный винилфосфонат активность миНК у мышей AAV-HBV. Мышам AAV-HBV подкожно вводили несущую среду, дц-миНК-0109 (например, миНК без дейтерированного винилфосфоната) или дц-миНК-0172 (например, миНК с дейтерированным винилфосфонатом). Мышам AAV-HBV однократно вводили подкожно 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг дц-миНК-0149 или дц-миНК-0172 в день 0. Серийные заборы крови обычно брали каждые 5 дней на 0, 5, 10 и 15 день и т. д. до окончания исследования. Сывороточный антиген HBV S (HBsAg) анализировали с помощью ИФА.

[0745] Как проиллюстрировано на ФИГ. 14, молекулы миНК, имеющие 2’-фторнуклеотиды в положениях 5, 7–9 от 5’-конца смысловой цепи и 2’-фторнуклеотиды в положениях 2, 5, 8, 14 и 17 от 5’-конца антисмысловой цепи, приводили более, чем

приводили более, чем к 0,5-log снижению в содержании HBsAg, при этом наибольшее снижение HBsAg было обнаружено у мышей, получавших дейтерированный винилфосфонат миНК (дц-миНК-0172). Кроме того, продолжительность снижения уровня HBsAg в сыворотке была значительно больше для дейтерированного винилфосфоната миНК. (дц-миНК-0172). Так, ФИГ. 14 демонстрирует, что присутствие дейтерированного винилфосфоната улучшает активность и долговечность миНК.

№ дц-миНК		Последовательность цепи	SEQ ID NO:
дц-миНК-0109	Смысловая	5'-mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4	424
	Антисмысловая	3'-mCpsmUpsmGmGfCmAmCfAmCmGmUmGmAfAmGmCfGmAmApsfGpsmU-5'	485
дц-миНК-0172	Смысловая	5'-mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA-p-ps2-GalNAc4-3'	424
	Антисмысловая	3'-mCpsmUpsmGmGfCmAmCfAmCmGmUmGmAfAmGmCfGmAmApsfGpsd2vd3U-5'	536
d2vd3U = 			

[0746] Пример 56. Сравнение миНК

[0747] AAV/HBV представляет собой рекомбинантный AAV, несущий реплицируемый геном HBV. Используя преимущество высокой гепатотропности AAV генотипа 8, геном HBV может быть эффективно доставлен в клетки печени мыши. Заражение иммунокомпетентных мышей AAV/HBV может привести к длительной виремии HBV, которая имитирует хроническую инфекцию HBV у пациентов. Модель AAV/HBV можно использовать для оценки активности различных типов анти-HBV агентов in vivo. Мышей инфицировали AAV-HBV на -28 день исследования. Мышам AAV-HBV однократно вводили подкожно 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг дц-миНК-0109, дц-миНК-0119 или дц-миНК-0153 в день 0. Серийные заборы крови обычно брали каждые 5 дней на 0, 5, 10 и 15 день и т. д. до окончания исследования. Сывороточный антиген HBV S (HBsAg) анализировали с помощью ИФА. ФИГ. 15 иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G 01, круг), дц-миНК-0109 (G 07, квадрат), дц-миНК-0119 (G11, треугольник) или дц-миНК-0153 (G13, ромб). Как проиллюстрировано на ФИГ. 14, все три дц-миНК были эффективны в снижении уровней HBsAg в сыворотке, и снижение уровней HBsAg в

сыворотке наблюдали на протяжении всего исследования (например, 100 дней), с наилучшей эффективностью и долговечностью, наблюдаемой для для дц-миНК-0153. Так, ФИГ. 15 демонстрирует, что дц-миНК-0109, дц-миНК-0119 и дц-миНК-0153 были эффективны и долговечны после однократного приема 5 мг/кг.

№ дц-миНК		Последовательность цепи	SEQ ID NO:
дц-миНК-0109	Смысловая	5’-mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4	424
	Антисмысловая	3’-mCpsmUpsmGmGfCmAmCfAmCmGmUmGmAfAmGmCfGmAmApsfGpsmU-5’	485
дц-миНК-0119	Смысловая	5’-mGpsmCpsmUmGfCmUmAmUfGfCfCmUmCfAmUmCmUmUfCmUmU-p-ps2-GalNAc4	430
	Антисмысловая	3’-mGpsmApsmCmGmAmCmGmAmUfAmCmGmGmAmGmUmAmGmAmAmGpsfApsmA-5’	595
дц-миНК-0153	Смысловая	5’-mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfUmCmGfCmUmUmCmAfCmCmU-p-ps2-GalNAc4-3’	441
	Антисмысловая	3’-mGpsmCpsmAfCmAmCmGfUmGmAmAfGmCmGmAfAmGmUmGpsfGpsmA-5	526

[0748] Пример 57. Эффективность комбинированной терапии на мышиной модели AAV-HBV

[0749] В данном примере исследуют эффективность комбинированной терапии, включающей антисмысловой олигонуклеотид (ASO 1, 5’ GalNAc4-ps-GalNAc4-ps-GalNAc4-po-mA-po-lnGpslnApslnTpslnApslnApsApsAps(5OH)CpsGps(5m)Cps(5m)CpsGps(5m)CpslnApslnGpslnApscp(5m)C-3’(SEQ ID NO: 534)) и дц-миНК-0147 для лечения HBV на мышиной модели AAV-HBV.

[0750] Мышам AAV-HBV подкожно вводили (a) 5 мл/кг несущей среды три раза в неделю в дни 0, 7 и 14 (G 01); (b) 5 мг/кг ASO 1 еженедельно в дни 0, 7 и 14 (G 20); (c) однократную дозу 5 мг/кг дц-миНК-0147 в день 0 (G 24); или (d) комбинацию ASO 1 и дц-миНК-0147, где ASO 1 вводили в дозе 5 мг/кг еженедельно, в дни 0, 7 и 14; и дц-миНК-0160 вводили однократно в дозе 5 мг/кг в день 0 (G25). Серийные заборы крови обычно брали каждые 5 дней на 0, 5, 10 и 15 день и т. д. до окончания исследования. Сывороточный антиген HBV S (HBsAg) анализировали с помощью ИФА. ФИГ. 16 иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G 01, круг), ASO 1 (G 20, квадрат), дц-миНК-0147 (G 24, ромб) или комбинацию дц-миНК-0147 и ASO 1 (G 25, треугольник). Как проиллюстрировано на ФИГ. 16, обработка ASO 1, дц-миНК-0147 или комбинацией ASO 1 и дц-миНК-0147 приводила к снижению содержания в сыворотке крови, при этом

наибольшее снижение наблюдали у мышей, получавших комбинацию ASO 1 и дц-миНК-0147.

№ дц-миНК		Последовательность цепи	SEQ ID NO:
дц-миНК-0147	Смысловая	5’-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-ps2-GalNAc4-3’	438
	Антисмысловая	3’-mApsmGpsmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsfUpsmA-5’	501

[0751] Пример 58. Эффективность комбинированной терапии на мышиной модели AAV-HBV

[0752] В данном примере исследуют эффективность комбинированной терапии, включающей антисмысловой олигонуклеотид (ASO 1, 5’ GalNAc4-ps-GalNAc4-ps-GalNAc4-po-mA-po-lnGpslnApslnTpslnApslnApsApsAps(5OH)CpsGps(5m)Cps(5m)CpsGps(5m)CpslnApslnGpslnApscp(5m)C-3’(SEQ ID NO: 534)) и дц-миНК-0109 для лечения HBV на мышиной модели AAV-HBV.

[0753] Мышам AAV-HBV подкожно вводили (a) 5 мл/кг несущей среды три раза в неделю в дни 0, 7 и 14 (G 01); (b) 5 мг/кг ASO 1 еженедельно в дни 0, 7 и 14 (G 20); (c) однократную дозу 5 мг/кг дц-миНК-0109 в день 0 (G 26); или (d) комбинацию ASO 1 и дц-миНК-0109, где ASO 1 вводили в дозе 5 мг/кг еженедельно, в дни 0, 7 и 14; и дц-миНК-0160 вводили однократно в дозе 5 мг/кг в день 0 (G27). Серийные заборы крови обычно брали каждые 5 дней на 0, 5, 10 и 15 день и т. д. до окончания исследования. Сывороточный антиген HBV S (HBsAg) анализировали с помощью ИФА. ФИГ. 17 иллюстрирует график изменения содержания HBsAg в сыворотке мышей AAV-HBV, получавших несущую среду (G 01, круг), ASO 1 (G 20, квадрат), дц-миНК-0109 (G 26, ромб) или комбинацию дц-миНК-0109 и ASO 1 (G 27, треугольник). Как проиллюстрировано на ФИГ. 17, обработка ASO 1, дц-миНК-0109 или комбинацией ASO 1 и дц-миНК-0109 приводила к снижению содержания в сыворотке крови, при этом наибольшее снижение наблюдали у мышей, получавших комбинацию ASO 1 и дц-миНК-0109.

№ дц-миНК		Последовательность цепи	SEQ ID NO:
дц-миНК-0109	Смысловая	5’-mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmAp-ps2-GalNAc4	424
	Антисмысловая	3’-mCpsmUpsmGmGfCmAmCfAmCmGmUmGmAfAmGmCfGmAmApsfGpsmU-5’	485

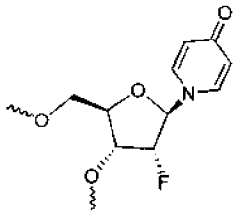
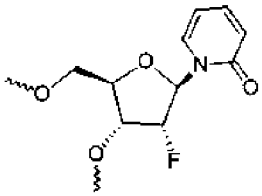
[0754] Пример 59. Роль 2’-фторомиметиков в активности миНК

[0755] В данном примере исследуют роль 2'-фтормиметиков, мономеров f4P и f2P, на активность миНК. Мономер f4P получали, как описано в примере 42. Мономер f2P получали, как описано в примере 45.

[0756] Активность дц-миНК-0173, дц-миНК-0174 и дц-миНК-0175 определяли с помощью анализа секреции HBsAg *in vitro* с использованием клеток HepG2.2.15. Как правило, клетки HepG2.2.15 поддерживали в среде DMEM с 10% фетальной бычьей сывороткой (FBS) и 1% пенициллином/стрептомицином, 1% глутамином, 1% заменимыми аминокислотами, 1% пируватом натрия и 250 мкг/мл G418. Клетки поддерживали при 37 °C в 5% атмосфере CO^2. Для анализа высвобождения HBsAg готовили среду для анализа, состоящую из среды DMEM с 5% FBS, 1% пенициллина/стрептомицина, 1% глутамина и 1% ДМСО. За день до анализа клетки HepG2.2.15 трипсинизировали и один раз промывали средой для анализа, затем центрифугировали при 250g x 5 минут, ресуспендировали в среде для анализа. Ресуспендированные клетки высевали по 50 000/лунку в среду для анализа в покрытые коллагеном 96-луночные планшеты. На следующий день миРНК разбавляли Opti-MEM, 9-pt, 3-кратным разведением и разбавляли Lipofectamine RNAiMAX (Invitrogen) согласно инструкции производителя. Разведение миРНК и разведение RNAiMAX смешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 минут. 15 мкл смеси миРНК/RNAiMax добавляли в каждую лунку покрытого коллагеном 96-луночного планшета. Планшеты помещали при 37°C, 5% CO^2 в инкубатор на 4 дня. После инкубации супернатант собирали и измеряли на HBsAg с помощью набора ИФА (Diasino). Жизнеспособность клеток измеряли с помощью CellTiter-Glo (Promega). EC50, концентрацию препарата, необходимую для снижения секреции HBsAg на 50% по отношению к необработанному клеточному контролю, рассчитывали с помощью Prism Graphpad. CC50, концентрацию лекарственного средства, необходимую для снижения жизнеспособности клеток на 50% по отношению к необработанному клеточному контролю, рассчитывали с помощью того же программного обеспечения. Значения EC50 и CC50 проиллюстрированы в таблице. 11.

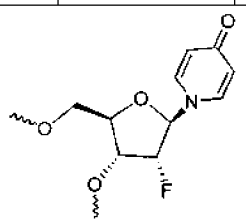
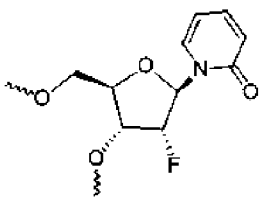
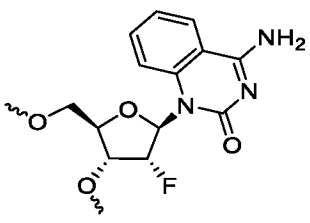
Таблица 11. Активность миНК

№ дц-миНК		**Последовательность цепи**	**SEQ ID NO:**	**EC50 (нМ)***	**CC50 (нМ)**
дц-миНК-0173	Смысловая	5'-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU	438	C	>1
	Антисмысловая	3'-mApsmGpsmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsf4PpsmA-5'	537		
	Смысловая	5'-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU	438	A	>1

дц-миНК-0174	Антисмысловая	3’-mApsmGpsmCmAmCfCmAf2PmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsfUpsmA-5’	538		
дц-миНК-0175 (контроль)	Смысловая	5’-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU	438	B	>1
	Антисмысловая	5’-mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA-3’	501		
*A = EC50 < 0,2 нМ; B = 0,2 нМ < EC50 < 0,1; C = EC50 > 0,1 нМ					
f4P =  ; f2P = 					

[0757] Пример 60. Роль 2’-фторомиметиков в активности миНК

[0758] В данном примере исследуют роль 2’-фторомиметиков, мономеров f4P, f2P и fx, на активность миНК в миНК, конъюгированных с GalNAc4. Мономер f4P получали, как описано в примере 42. Мономер f2P получали, как описано в примере 45. Мономер fx получали, как описано в примере 41.

№ дц-миНК		Последовательность цепи	SEQ ID NO:
дц-миНК-0176	Смысловая	5’-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(PS)2-GalNAc4	438
	Антисмысловая	3’-mApsmGpsmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsf4PpsmA-5’	537
дц-миНК-0177	Смысловая	5’-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(PS)2-GalNAc4	438
	Антисмысловая	3’-mApsmGpsmCmAmCfCmAf2PmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsfUpsmA-5’	538
дц-миНК-0178	Смысловая	5’-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-(PS)2-GalNAc4	438
	Антисмысловая	3’-mApsmGpsmCmAmCfCmAfXmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsfUpsmA-5’	539
дц-миНК-0147	Смысловая	5’-mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU-p-ps2-GalNAc4	438
	Антисмысловая	3’-mApsmGpsmCmAmCfCmAfCmCmUmGmAmAmGmAfGmAmGmUpsfUpsmA-5’	501
f4P =  ; f2P =  ; fX = 			

[0759] Активность дц-миНК-017, дц-миНК-017, дц-миНК-017 и дц-миНК-0147 можно определить методами *in vitro* или *in vivo*. Иллюстративный пример анализа *in vitro* можно провести следующим образом:

[0760] Клетки HepG2.2.15 *Homo sapiens* культивируют в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM) (ATCC 30-2002), содержащей также 10% фетальной телячьей сыворотки (FCS). Клетки инкубировали при 37 °C в атмосфере с 5% CO2 во влажном инкубаторе. Для трансфекции клеток HepG2.2.15 миРНК, нацеленными на HBV, клетки высевают с плотностью 15 000 клеток/лунку в 96-луночные обычные планшеты для тканевых культур. Трансфекцию клеток проводят с помощью RNAiMAX (Invitrogen/Life Technologies) согласно инструкции производителя. Эксперименты доза-реакция проводят с олигоконцентрациями 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,3125, 0,15625 и 0,07813 нМ. Для каждой обработки миРНК, нацеленной на HBV (например, дц-миНК-0176, дц-миНК-0177, дц-миНК-0178 или дц-миНК-0147), параллельно трансфицировали четыре лунки, и из каждой собирали данные для отдельных точек данных. После 24 часов инкубации с миРНК среду удаляют, клетки лизируют и анализируют с помощью набора зондов QuantiGene2.0 с разветвленной ДНК (рДНК), специфичного для генотипа D HBV (также называемого подтипом ayw вируса гепатита B, полный геном из 3182 пар оснований) как присутствует в клеточной линии HepG2.2.15.

[0761] Для каждой лунки уровни мРНК-мишени HBV нормализуют к уровню мРНК GAPDH. Активность дц-миРНК, нацеленных на HBV, может быть выражена в виде EC50, 50% снижения нормализованного уровня РНК HBV при отсутствии лекарственного контроля. Цитотоксичность дц-миРНК, нацеленных на HBV, может быть выражена в виде CC50 50% снижения мРНК GAPDH при отсутствии лекарственного контроля.

[0762] Модель AAV/HBV можно использовать для оценки активности лечения миРНК in vivo (например, дц-миНК-0173, дц-миНК-0174, дц-миНК-0175 и дц-миНК-0147). Мышей инфицируют AAV-HBV на -28 день исследования. Мышам AAV-HBV однократно вводят подкожно 5 мл/кг несущей среды или 5 мг/кг дц-миНК-0173, дц-миНК-0174, дц-миНК-0175 или дц-миНК-0147 в день 0. Серийные заборы крови могут быть отобраны каждые 5 дней на 0, 5, 10 и 15 день и т. д. до окончания исследования. Сывороточный антиген HBV S (HBsAg) может быть проанализирован с помощью ИФА.

Иллюстративные примеры вариантов осуществления изобретения

[0763] Ниже приведены иллюстративные примеры вариантов осуществления изобретения:

1. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-O-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-O-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид.

2. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид.

3. миНК по варианту осуществления 1 или 2, отличающаяся тем, что первая последовательность нуклеотидов содержит 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида.

4. миНК по варианту осуществления 1 или 2, отличающаяся тем, что 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% нуклеотидов в первой нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида.

5. миНК по любому варианту осуществления 1-4, отличающаяся тем, что по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотида первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды.

6. миНК по любому варианту осуществления 1–5, отличающаяся тем, что не более чем 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды.

7. миНК по любому варианту осуществления 1–6, отличающаяся тем, что по меньшей мере 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды.

8. миНК по любому варианту осуществления 1–7, отличающаяся тем, что не более чем 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды.

9. миРНК по любому варианту осуществления 1–8, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность содержит 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида.

10. миНК по любому варианту осуществления 1–9, отличающаяся тем, что 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% нуклеотидов во второй нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида.

11. миНК по любому варианту осуществления 1–10, отличающаяся тем, что по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды.

12. миНК по любому варианту осуществления 1–11, отличающаяся тем, что меньше чем или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды.

13. миНК по любому варианту осуществления 1-12, отличающаяся тем, что по меньшей мере 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды.

14. миНК по любому варианту осуществления 1–12, отличающаяся тем, что по меньшей мере или ровно 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды.

15. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину;

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один

модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и

(iii) содержит 1 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину;

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и

(iii) содержит 1 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей.

16. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем

по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2’-О-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид,

причем миНК дополнительно содержит блокатор фосфорилирования, галактозамин или 5’-стабилизированный концевой кэп.

17. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 и/или 17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотид.

18. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 3 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

19. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 5 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

20. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 7 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

21. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 8 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

22. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 9 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

23. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 12 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

24. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

25. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 10 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

26. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 11 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

27. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, или 9 нуклеотидов в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотид.

28. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 2 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

29. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 5 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

30. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 6 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

31. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 8 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

32. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 10 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

33. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 14 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

34. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотиды в положении 16 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотид.

35. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 17 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

36. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотид в положении 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2’-фторнуклеотид.

37. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, и причем 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды.

38. миНК по варианту осуществления 37, где паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз.

39. миНК по варианту осуществления 37 или 38, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно.

40. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 37-39, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно.

41. миНК по любому из пп. 37–40, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттерна модификации с чередованием 1:3 начинаются в положении нуклеотида 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

42. миНК по любому из пп. 37–41, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи.

43. миНК по любому из пп. 37–42, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 6 от 5’-конца антисмысловой цепи.

44. миНК по любому из пп. 37–43, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 10 от 5’-конца антисмысловой цепи.

45. миНК по любому из пп. 37–44, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи.

46. миНК по любому из пп. 37–45, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

47. миНК по любому из вариантов осуществления 1–37, где нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:2, и причем 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 2 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды.

48. миНК по варианту осуществления 47, где паттерн модификации с чередованием 1:2 встречается 2–5 раз.

49. миНК по варианту осуществления 47 или 48, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются последовательно.

50. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 47–49, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются непоследовательно.

51. миНК по любому из пп. 47–50, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттерна модификации с чередованием 1:2 начинаются в положении нуклеотида 2, 5, 8, 14 и/или 17 от 5’-конца антисмысловой цепи.

52. миНК по любому из пп. 47–51, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи.

53. миНК по любому из пп. 47–52, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 5 от 5’-конца антисмысловой цепи.

54. миНК по любому из пп. 47–53, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 8 от 5’-конца антисмысловой цепи.

55. миНК по любому из пп. 47–54, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи.

56. миНК по любому из пп. 47–55, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 17 от 5’-конца антисмысловой цепи.

57. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), представленная формулой (VIII):

5’-$A_n^1B_n^2A_n^3B_n^4A_n^5B_n^6A_n^7B_n^8A_n^9$-3’

3’-$C_q^1A_q^2B_q^3A_q^4B_q^5A_q^6B_q^7A_q^8B_q^9A_q^{10}B_q^{11}A_q^{12}$-5’

где:

верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

нижняя цепь представляет собой антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

каждый A независимо представляет собой 2’-*O*-метилнуклеотид или нуклеотид, содержащий 5’-стабилизированный концевой кэп или блокатор фосфорилирования;

B представляет собой 2’-фторнуклеотид;

C представляет собой выступающие нуклеотиды и представляет собой 2’-*O*-метилнуклеотид;

n^1 = составляет 1–4 нуклеотидов в длину;

каждый n^2, n^6, n^8, q^3, q^5, q^7, q^9, q^{11} и q^{12} независимо составляет 0–1 нуклеотидов в длину;

каждое n^3 и n^4 независимо составляет 1–3 нуклеотидов в длину;

n^5 составляет 1–10 нуклеотидов в длину;

n^7 составляет 0-4 нуклеотидов в длину;

каждое n^9, q^1 и q^2 независимо составляет 0–2 нуклеотидов в длину;

q^4 составляет 0–3 нуклеотидов в длину;

q^6 составляет 0–5 нуклеотидов в длину;

q^8 составляет 2–7 нуклеотидов в длину; и

q^{10} составляет 2–11 нуклеотидов в длину.

58. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), представленная формулой (IX):

5’-$A_{2-4}B_1A_{1-3}$ B_{2-3} $A_{2-10}B_{0-1}A_{0-4}B_{0-1}A_{0-2}$-3’

3’-$C_2A_{0-2}B_{0-1}A_{0-3}B_{0-1}A_{0-5}B_{0-1}A_{2-7}B_1A_{2-11}B_1A_1$-5’

где:

верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

нижняя цепь представляет собой антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

каждый A независимо представляет собой 2’-*O*-метилнуклеотид или нуклеотид, содержащий 5’-стабилизированный концевой кэп или блокатор фосфорилирования;

B представляет собой 2’-фторнуклеотид;

C представляет собой выступающие нуклеотиды и представляет собой 2’-*O*-метилнуклеотид;

59. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 2, 4–6, 10, 11 и 13–16 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 2 и 14 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–13 и 15–17 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

60. Молекула миНК по варианту осуществления 59, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида.

61. Молекула миНК по варианту осуществления 60, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

62. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 59–61, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

63. Молекула миНК по варианту осуществления 62, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

64. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 3, 7, 8 и 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 2, 4–6 и 9–16 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 2 и 14 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–13 и 15–17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

65. Молекула миНК по варианту осуществления 64, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида.

66. Молекула миНК по варианту осуществления 65, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

67. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 64-66, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

68. Молекула миНК по варианту осуществления 67, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

69. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 2, 4–6, 10, 11 и 13–16 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды.

70. Молекула миНК по варианту осуществления 69, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида.

71. Молекула миНК по варианту осуществления 70, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

72. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 69–71, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

73. Молекула миНК по варианту осуществления 72, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 19–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

74. Молекула миРНК по любому из вариантов осуществления 69–73, где паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз.

75. Молекула миРНК по любому из вариантов осуществления 69–74, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно.

76. Молекула миРНК по любому из вариантов осуществления 69–75, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно.

77. миНК по любому из вариантов осуществления 69–76, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттерна модификации с чередованием 1:3 начинаются в положении нуклеотида 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

78. миНК по любому из вариантов осуществления 69-77, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи.

79. миНК по любому из вариантов осуществления 69-78, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 6 от 5’-конца антисмысловой цепи.

80. миНК по любому из вариантов осуществления 69-79, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 10 от 5’-конца антисмысловой цепи.

81. миНК по любому из вариантов осуществления 69-80, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи.

82. миНК по любому из вариантов осуществления 69-81, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

83. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 5 и 7–9 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6 и 10–17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, и при этом 1 нуклеотид представляет

собой 2’-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды.

84. Молекула миНК по варианту осуществления 83, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида.

85. Молекула миНК по варианту осуществления 84, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности.

86. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 83-85, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

87. Молекула миНК по варианту осуществления 86, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 19–21 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

88. Молекула миРНК по любому из вариантов осуществления 83–87, где паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз.

89. Молекула миРНК по любому из вариантов осуществления 83-88, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно.

90. Молекула миРНК по любому из вариантов осуществления 83–89, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно.

91. миНК по любому из вариантов осуществления 83–90, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттерна модификации с чередованием 1:3 начинаются в положении нуклеотида 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

92. миНК по любому из вариантов осуществления 83–91, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи.

93. миНК по любому из вариантов осуществления 83–92, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 6 от 5’-конца антисмысловой цепи.

94. миНК по любому из вариантов осуществления 83–93, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 10 от 5’-конца антисмысловой цепи.

95. миНК по любому из вариантов осуществления 83–94, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи.

96. миНК по любому из вариантов осуществления 83–95, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:3 начинается в положении нуклеотида 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

97. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 5 и 7–9 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6 и 10–17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:2, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 2 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды.

98. Молекула миНК по варианту осуществления 97, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида.

99. Молекула миНК по варианту осуществления 98, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности.

100. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 97–99, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

101. Молекула миНК по варианту осуществления 100, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

102. Молекула миРНК по любому из вариантов осуществления 97–101, где паттерн модификации с чередованием 1:2 встречается 2–5 раз.

103. Молекула миРНК по любому из вариантов осуществления 97-102, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются последовательно.

104. Молекула миРНК по любому из вариантов осуществления 97-103, где по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются непоследовательно.

105. миНК по любому из вариантов осуществления 97–104, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттерна модификации с чередованием 1:2 начинаются в положении нуклеотида 2, 5, 8, 14 и/или 17 от 5’-конца антисмысловой цепи.

106. миНК по любому из вариантов осуществления 97-105, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 2 от 5’-конца антисмысловой цепи.

107. миНК по любому из вариантов осуществления 97–106, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 5 от 5’-конца антисмысловой цепи.

108. миНК по любому из вариантов осуществления 97–107, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 8 от 5’-конца антисмысловой цепи.

109. миНК по любому из вариантов осуществления 74–85, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 14 от 5’-конца антисмысловой цепи.

110. миНК по любому из вариантов осуществления 97–109, отличающаяся тем, что по меньшей мере один паттерн модификации с чередованием 1:2 начинается в положении нуклеотида 17 от 5’-конца антисмысловой цепи.

111. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 5 и 7–9 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6 и 10–17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–5, 7–13, 15 и 17 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

112. Молекула миНК по варианту осуществления 111, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотида.

113. Молекула миНК по варианту осуществления 112, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

114. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 111–113, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

115. Молекула миНК по варианту осуществления 114, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

116. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 5, 9–11 и 14 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6–8 и 12–17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 2 и 14 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–13 и 15–17 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

117. Молекула миНК по варианту осуществления 116, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

118. Молекула миНК по варианту осуществления 117, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

119. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 116–118, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 23 нуклеотидов.

120. Молекула миНК по варианту осуществления 119, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–23 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

121. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающаяся тем, что смысловая цепь дополнительно содержит последовательность TT, примыкающую к первой нуклеотидной последовательности.

122. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающаяся тем, что смысловая цепь дополнительно содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей.

123. миНК по варианту осуществления 122, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

124. миНК по варианту осуществления 122 или 123, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

125. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающаяся тем, что антисмысловая цепь дополнительно содержит последовательность TT, примыкающую ко второй нуклеотидной последовательности.

126. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающаяся тем, что антисмысловая цепь дополнительно содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей.

127. миНК по варианту осуществления 126, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

128. миНК по варианту осуществления 126 или 127, отличающаяся тем, что по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

129. миНК по любому варианту осуществления 126–128, где по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 3’-конца второй нуклеотидной последовательности.

130. миНК по любому варианту осуществления 126–129, где по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 3’-конца второй нуклеотидной последовательности.

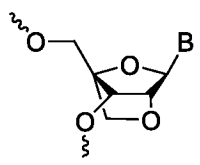
131. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающийся тем, что первый нуклеотид от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности содержит 5’-стабилизирующий концевой кэп.

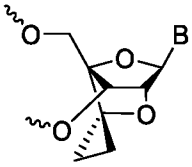
132. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающийся тем, что первый нуклеотид от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности содержит 5’-стабилизирующий концевой кэп.

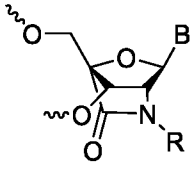
133. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающаяся тем, что первый нуклеотид от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности содержит блокатор фосфорилирования.

134. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающаяся тем, что первый нуклеотид от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности содержит блокатор фосфорилирования.

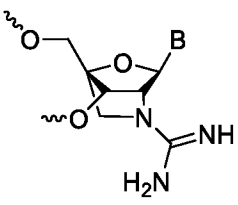
135. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность или вторая нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид, выбранный из

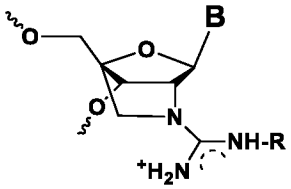


(LNA),


(ScpBNA или «cp»);


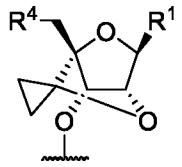
(AmNA), где R представляет собой H или алкил (или AmNA(N-Me)), когда R представляет собой алкил);



(GuNA); и


GuNA(N-R), R = Me, Et, iPr, tBu, где B представляет собой азотистое основание.

136. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) блокатор фосфорилирования формулы (IV): 

,

где

R^1 представляет собой азотистое основание,

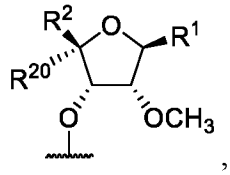
R^4 представляет собой $–O-R^{30}$ или $–NR^{31}R^{32}$,

R^{30} представляет собой C_1-C_8 замещенный или незамещенный алкил; и

R^{31} и R^{32} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; и

(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

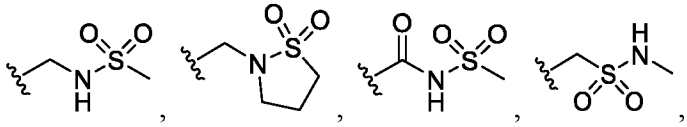
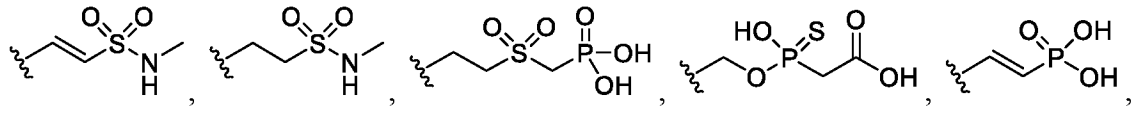
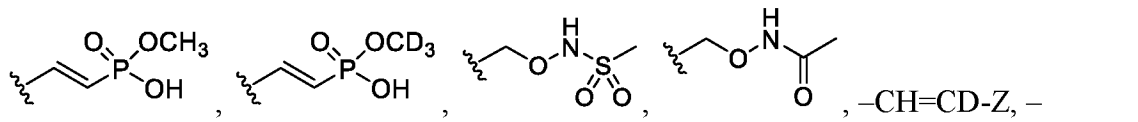
137. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (Ia): 

,

где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , , , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, $–(CR^{21}R^{22})_n$-Z или $–(C_2$-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $-OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $-SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $-SO_2NR^{23}R^{25}$, $-NR^{23}R^{24}$,

R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $-C(O)R^{25}$; или

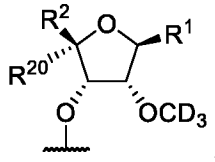
R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равно 1, 2, 3 или 4; а также

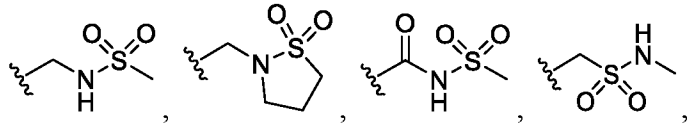
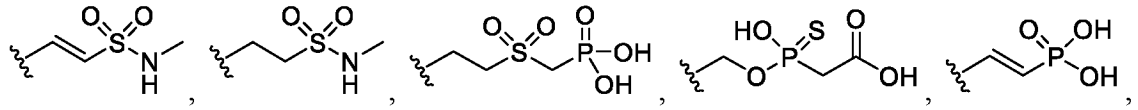
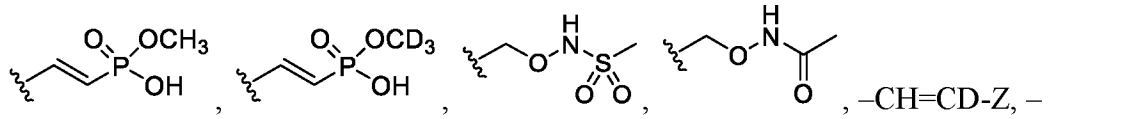
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

138. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) 5’-стабилизированный концевой кэп формулы (Ib): ,

где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , , , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, $–(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $-OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $-SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $-SO_2NR^{23}R^{25}$, $-NR^{23}R^{24}$,

R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $-C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

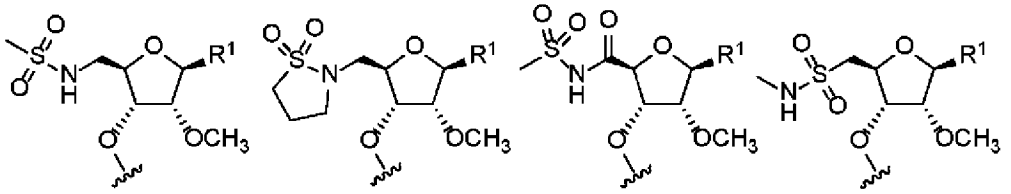
R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равно 1, 2, 3 или 4; а также

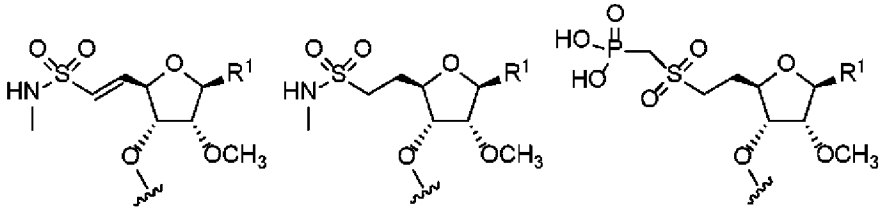
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

139. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

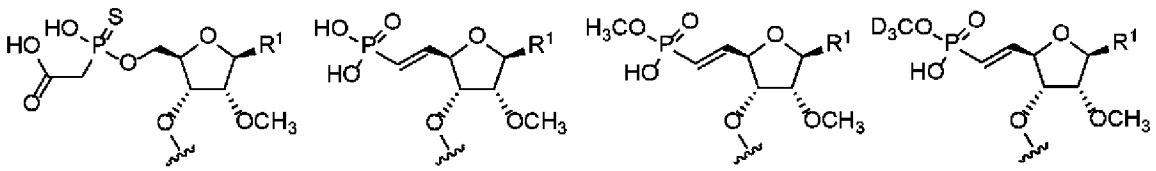
(a) 5’-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формулы (1)–формулы (15), формулы (9X)–формулы (12X) и формулы (9Y)–формулы (12Y):



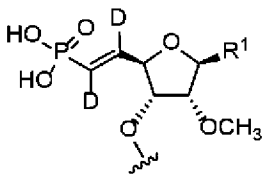
Формула (1) Формула (2) Формула (3) Формула (4)



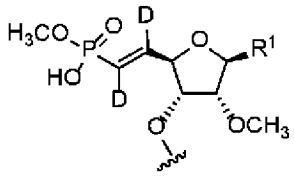
Формула (5) Формула (6) Формула (7)



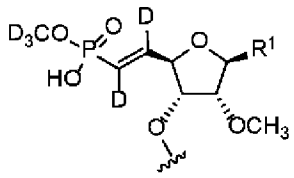
Формула (8) Формула (9) Формула (9X) Формула (9Y)



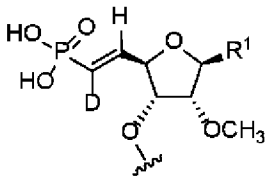
Формула (10)



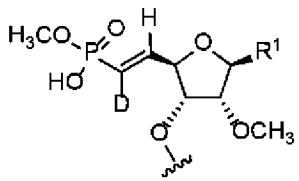
Формула (10X)



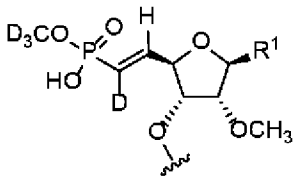
Формула (10Y)



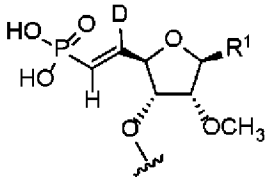
Формула (11)



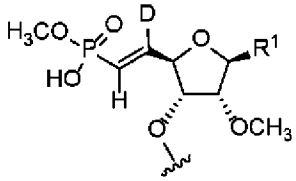
Формула (11X)



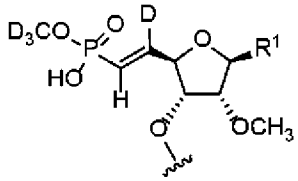
Формула (11Y)



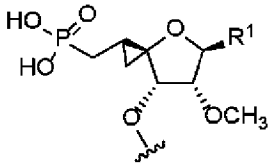
Формула (12)



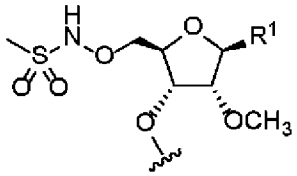
Формула (12X)



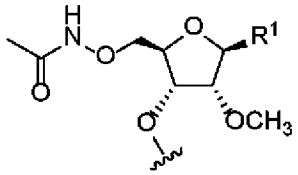
Формула (12Y)



Формула (13)



Формула (14)



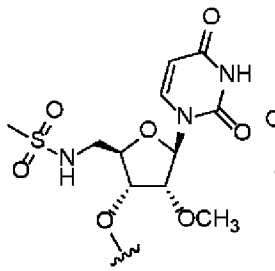
Формула (15)

, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H; и

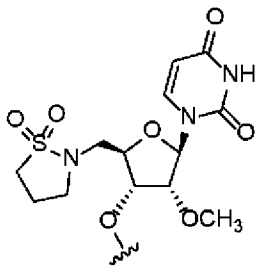
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

140. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

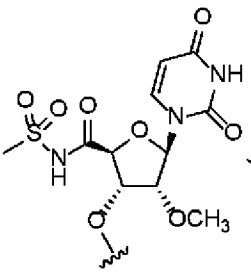
(a) 5’-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формул (1A)–(15A), формул (9B)–(12B), формул (9AX)–(12AX), формул (9AY)–(12AY), формул (9BX)–(12BX) и формул (9BY)–(12BY):



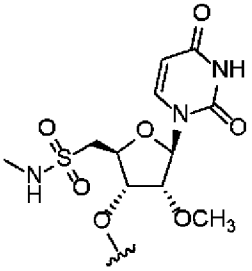
Формула (1A)



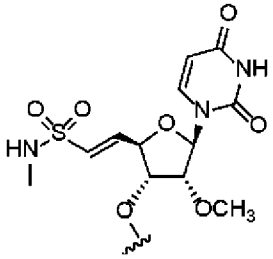
Формула (2A)



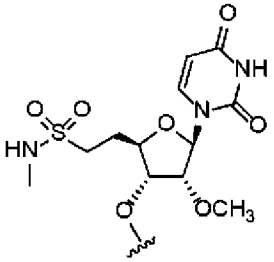
Формула (3A)



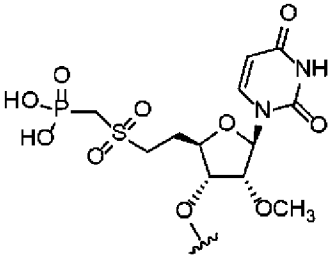
Формула (4A)



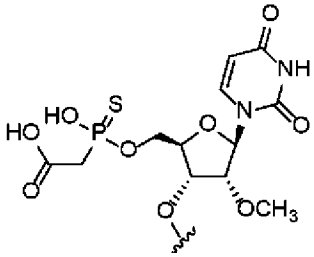
Формула (5A)



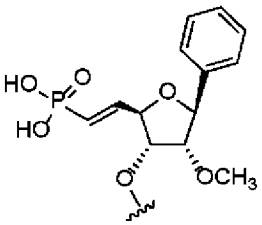
Формула (6A)



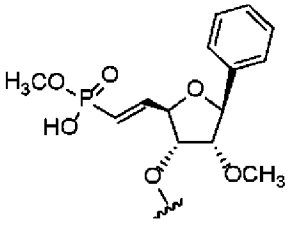
Формула (7A)



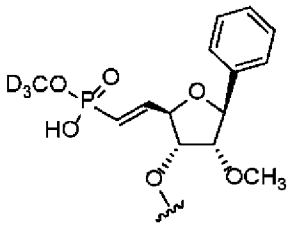
Формула (8A)



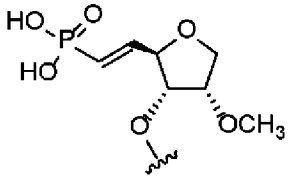
Формула (9A)



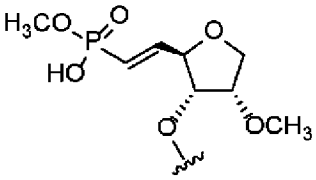
Формула (9AX)



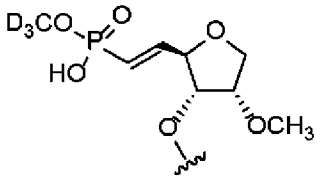
Формула (9AY)



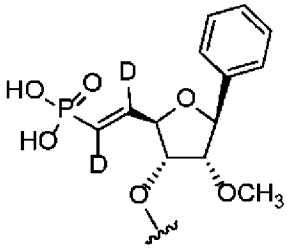
Формула (9B)



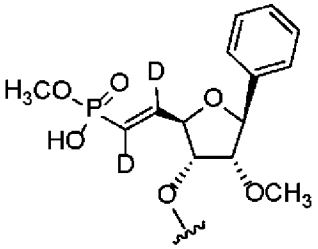
Формула (9BX)



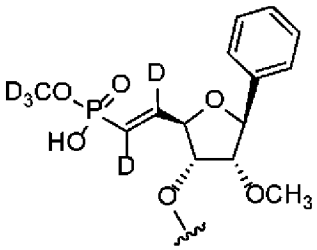
Формула (9BY)



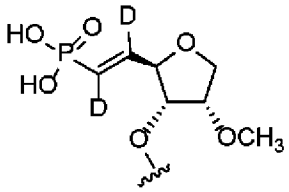
Формула (10A)



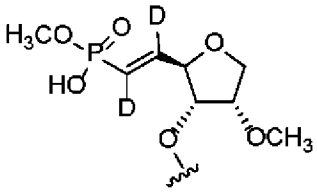
Формула (10AX)



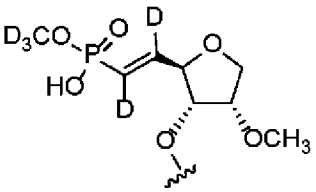
Формула (10AY)



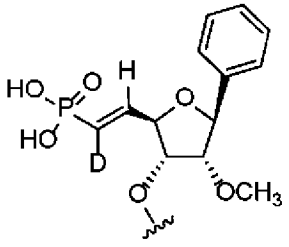
Формула (10B)



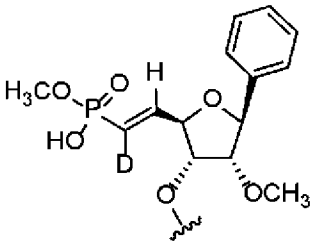
Формула (10BX)



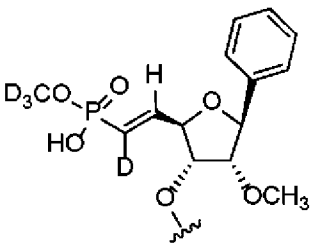
Формула (10BY)



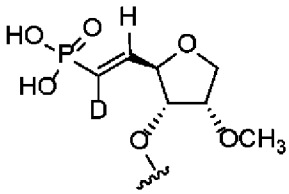
Формула (11A)



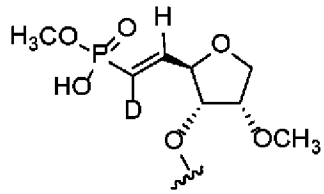
Формула (11AX)



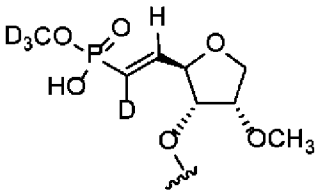
Формула (11AY)



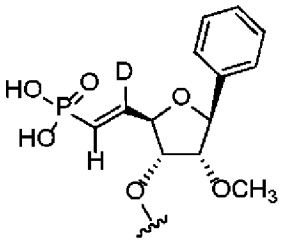
Формула (11B)



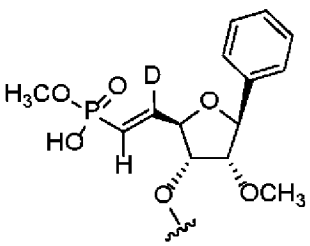
Формула (11BX)



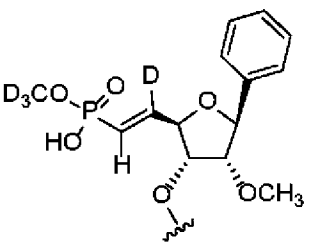
Формула (11BY)



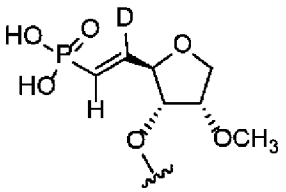
Формула (12A)



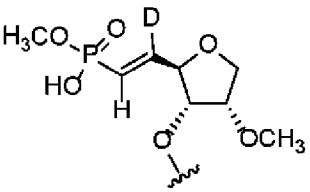
Формула (12AX)



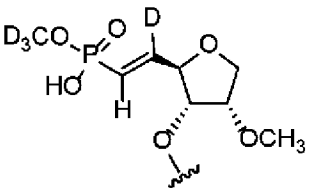
Формула (12AY)



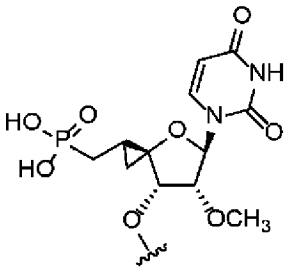
Формула (12B)



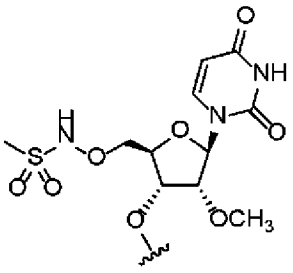
Формула (12BX)



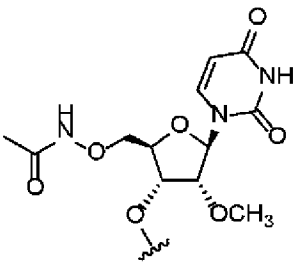
Формула (12BY)



Формула (13A)



Формула (14A)



Формула (15A)

, и

(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

141. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 136–140, где миНК содержит смысловую цепь по любому из вариантов осуществления 1–135.

142. Молекула миНК по любому из вариантов осуществления 136–141, где миНК содержит антисмысловую цепь по любому из вариантов осуществления 1–135.

143. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая составляет по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260; и

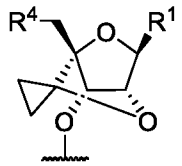
(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306.

144. Молекула интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539.

145. миНК по любому из вариантов осуществления 1–132, 135 и 137–144, где миНК дополнительно содержит блокатор фосфорилирования.

146. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 133, 134 и 145, где блокатор фосфорилирования имеет структуру формулы (IV): 

, где

R^1 представляет собой азотистое основание,

R^4 представляет собой $–O-R^{30}$ или $–NR^{31}R^{32}$, R^{30} представляет собой C_1-C_8 замещенный или незамещенный алкил; и

R^{31} и R^{32} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

147. миНК по варианту осуществления 136 или 146, где R^4 представляет собой $–OCH_3$ или $–N(CH_2CH_2)_2O$.

148. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 133, 134, 136 и 145–147, отличающаяся тем, что блокатор фосфорилирования присоединен к 5’-концу смысловой цепи.

149. миНК по варианту осуществления 148, отличающаяся тем, что блокатор фосфорилирования присоединен к 5’-концу смысловой цепи с помощью одного или более

линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

150. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 133, 134, 136 и 145–147, отличающаяся тем, что блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу смысловой цепи.

151. миНК по варианту осуществления 150, отличающаяся тем, что блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

152. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 133, 134, 136 и 145–147, отличающаяся тем, что блокатор фосфорилирования присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи.

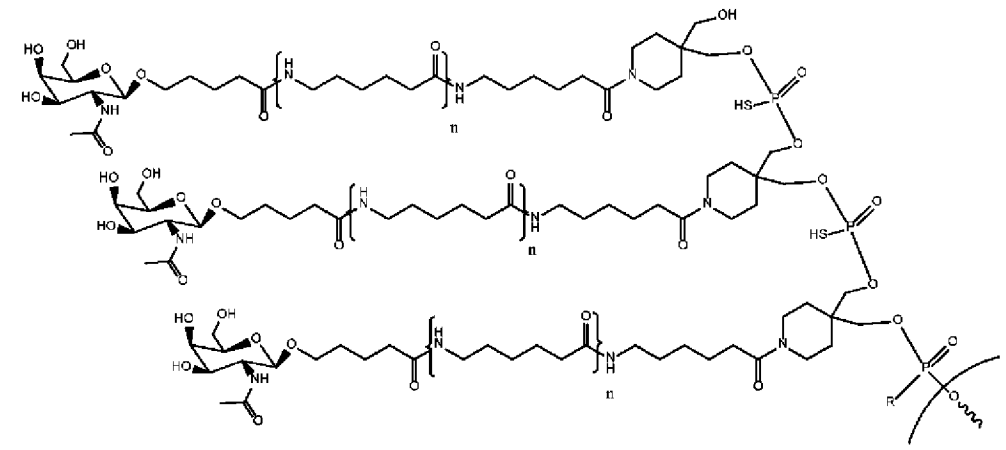
153. миНК по варианту осуществления 152, отличающаяся тем, что блокатор фосфорилирования присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

154. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 133, 134, 136 и 144–147, отличающаяся тем, что блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи.

155. миНК по варианту осуществления 154, отличающаяся тем, что блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

156. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающаяся тем, что миНК дополнительно содержит галактозамин.

157. миНК по варианту осуществления 16 или 156, где галактозамин представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc) формулы (VII):

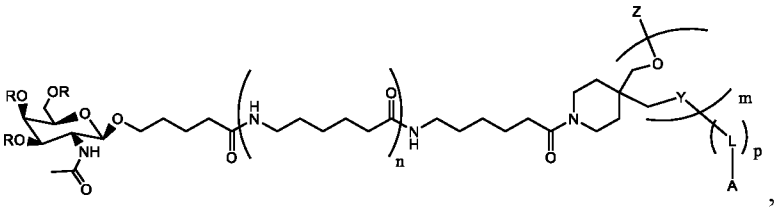


R = OH или SH

,

где каждое n независимо равно 1 или 2.

158. миНК по варианту осуществления 16 или 156, где галактозамин представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc) формулы (VI):



, где

m равно 1, 2, 3, 4 или 5;

каждое n независимо равно 1 или 2;

p равно 0 или 1;

каждый R независимо представляет собой H;

каждый Y независимо выбран из –O-P(=O)(SH)–, –O-P(=O)(O)–, –O-P(=O)(OH)– и -O-P(S)S-;

Z представляет собой H или вторую защитную группу;

либо L представляет собой линкер, либо L и Y в комбинации представляют собой линкер; и

A представляет собой H, OH, третью защитную группу, активированную группу или олигонуклеотид.

159. миНК по варианту осуществления 158, где A представляет собой олигонуклеотид.

160. миНК по варианту осуществления 158, где A представляет собой 1–2 олигонуклеотида.

161. миНК по любому варианту осуществления 158–160, где олигонуклеотид представляет собой dTdT.

162. миНК по любому из вариантов осуществления 16 и 156–161, где галактозамин присоединен к 3’-концу смысловой цепи.

163. миНК по варианту осуществления 162, где галактозамин присоединен к 3’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

164. миНК по любому из вариантов осуществления 16 и 156–161, где галактозамин присоединен к 5’-концу смысловой цепи.

165. миНК по варианту осуществления 164, где галактозамин присоединен к 5’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

166. миНК по любому из вариантов осуществления 16 и 156–161, где галактозамин присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи.

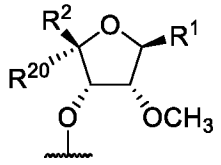
167. миНК по варианту осуществления 166, где галактозамин присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

168. миНК по любому из вариантов осуществления 16 и 156–161, где галактозамин присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи.

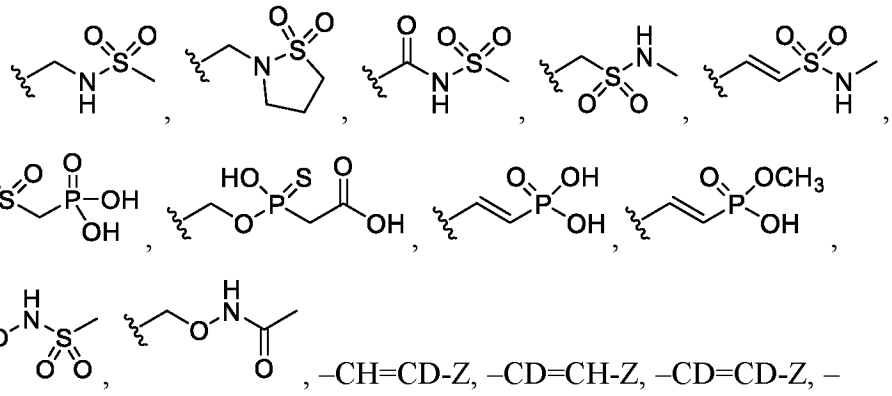
169. миНК по варианту осуществления 168, где галактозамин присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

170. миНК по любому из вариантов осуществления 1–130, 133–136 и 139–169, отличающийся тем, что миНК дополнительно содержит 5’-стабилизированный концевой кэп.

171. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 131, 132 и 170, где 5’-стабилизированный концевой кэп представляет собой 5’-винилфосфонат или дейтерированный 5’-винилфосфонат.

172. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 131, 132 и 170, где 5'-стабилизированный концевой кэп имеет структуру формулы (Ia): , где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$ или $–NR^{23}SO_2R^{24}$;

R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

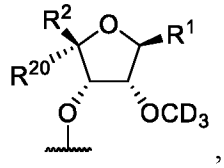
R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или

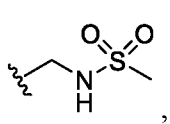
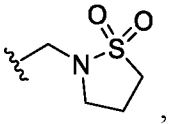
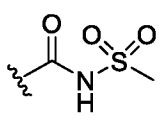
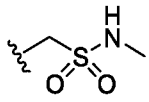
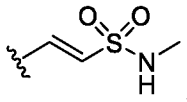
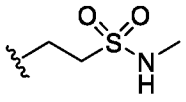
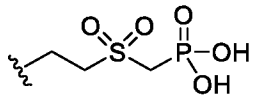
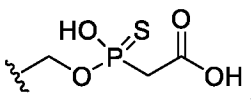
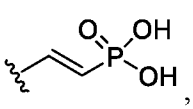
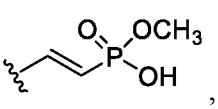
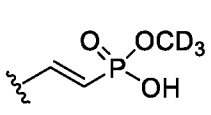
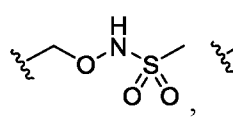
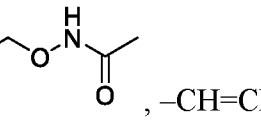
R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равен 1, 2, 3 или 4.

173. миНК по любому из вариантов осуществления 131, 132 и 170, где 5'-стабилизированный концевой кэп имеет структуру формулы (Ib): , где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , , , , , , , , , , , , , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой –$ONR^{23}R^{24}$, –$OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$P(O)(OH)_2$, -P(O)(OH)($OCH_3$), -P(O)(OH)($OCD_3$), –$SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, –$SO_2NR^{23}R^{25}$, –$NR^{23}R^{24}$ или –$NR^{23}SO_2R^{24}$;

R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой –SO_2R^{25} или –$C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

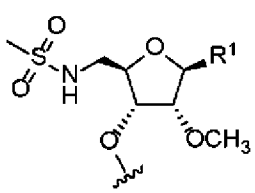
R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равен 1, 2, 3 или 4.

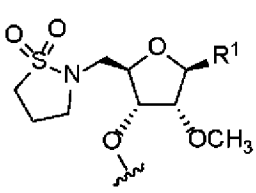
174. миНК по варианту осуществления 172 или 173, где R^1 представляет собой арил.

175. миНК по варианту осуществления 174, где арил представляет собой фенил.

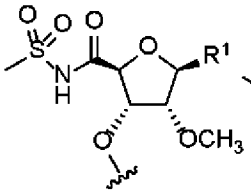
176. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 131, 132 и 170, где 5’-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формулы (1)–формулы (15), формулы (9X)–формулы (12X) и формулы (9Y)–формулы (12Y):



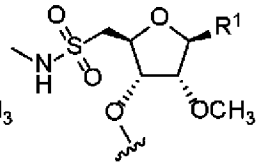
Формула (1)



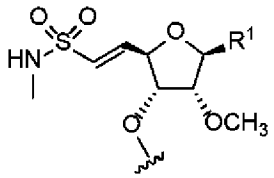
Формула (2)



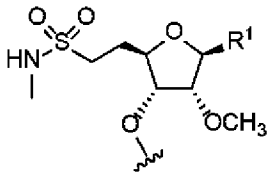
Формула (3)



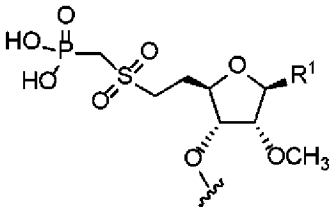
Формула (4)



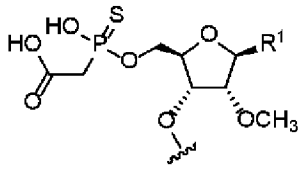
Формула (5)



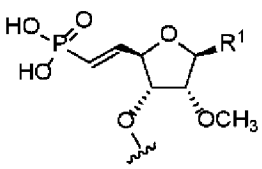
Формула (6)



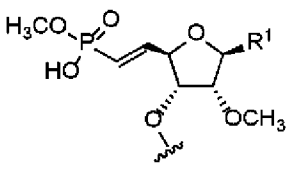
Формула (7)



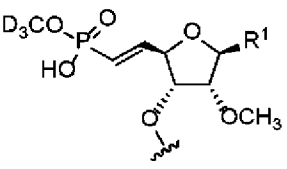
Формула (8)



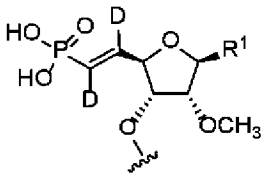
Формула (9)



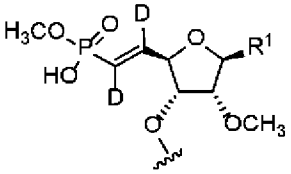
Формула (9X)



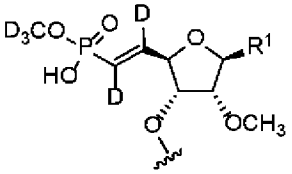
Формула (9Y)



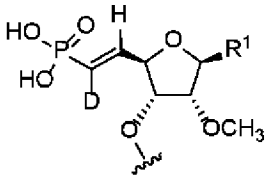
Формула (10)



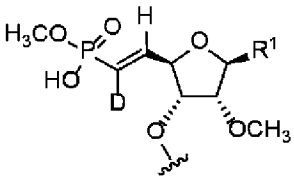
Формула (10X)



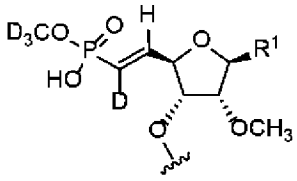
Формула (10Y)



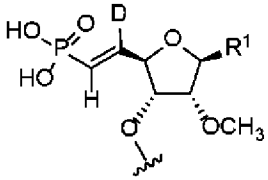
Формула (11)



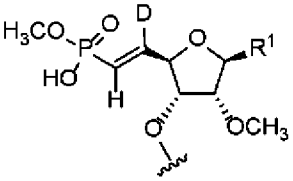
Формула (11X)



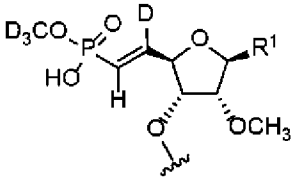
Формула (11Y)



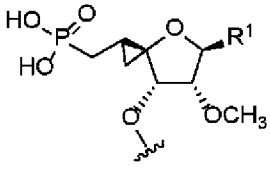
Формула (12)



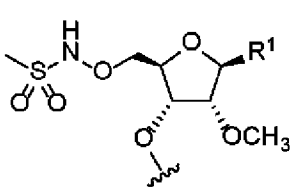
Формула (12X)



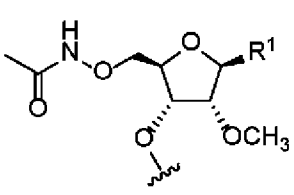
Формула (12Y)



Формула (13)



Формула (14)

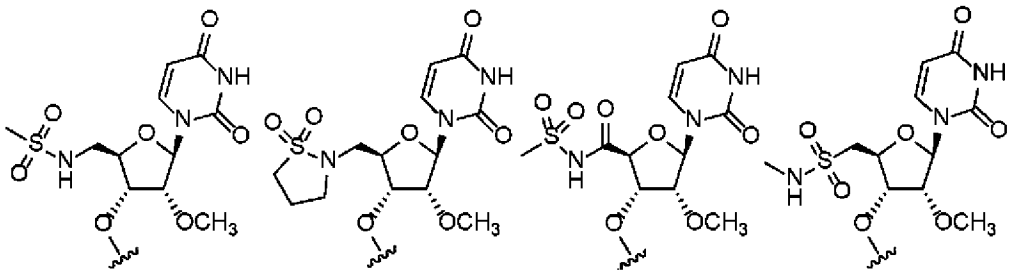


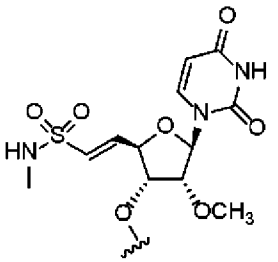
Формула (15)

, где

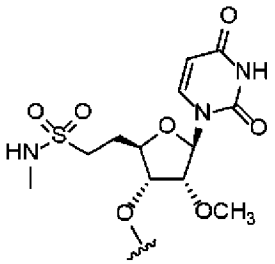
R^1представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H.

177. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 131, 132 и 170, где 5'-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формул (1A)–(15A), формул (9B)–(12B), формул (9AX)–(12AX), формул (9AY)–(12AY), формул (9BX)–(12BX) и формул (9BY)–(12BY):

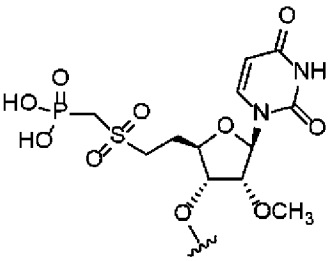




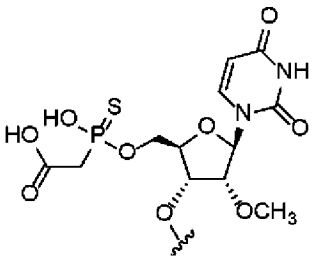
Формула (5A)



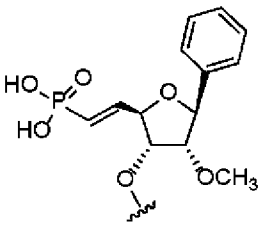
Формула (6A)



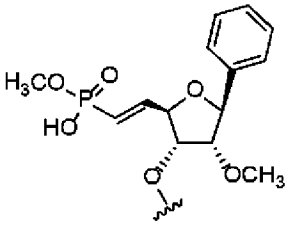
Формула (7A)



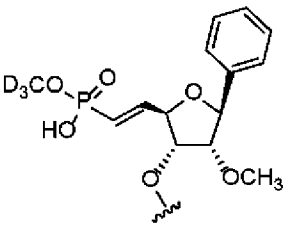
Формула (8A)



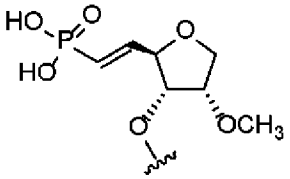
Формула (9A)



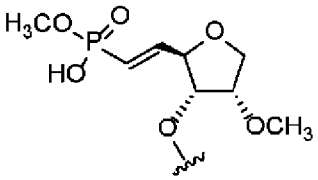
Формула (9AX)



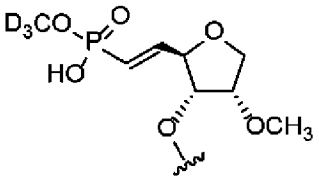
Формула (9AY)



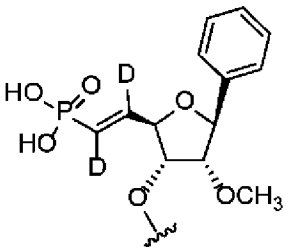
Формула (9B)



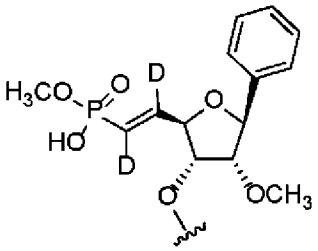
Формула (9BX)



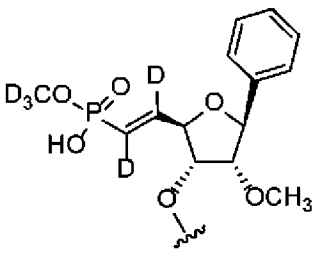
Формула (9BY)



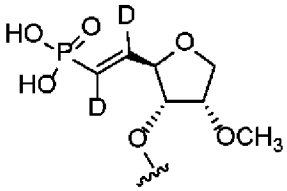
Формула (10A)



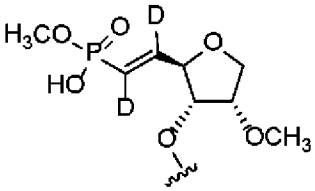
Формула (10AX)



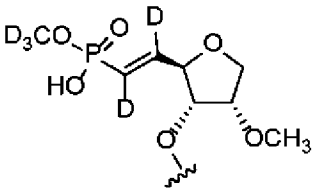
Формула (10AY)



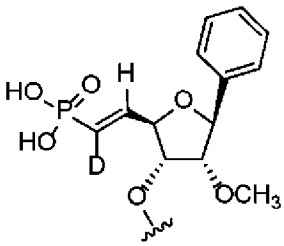
Формула (10B)



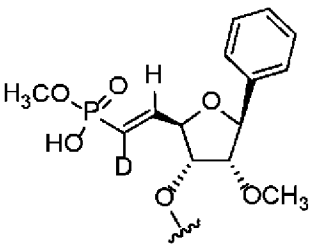
Формула (10BX)



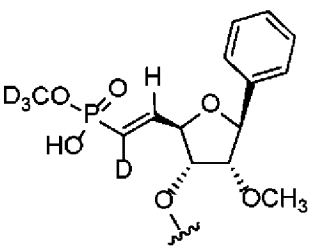
Формула (10BY)



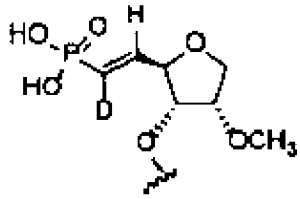
Формула (11A)

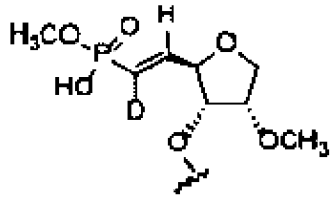


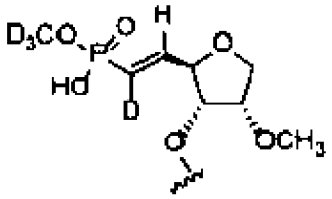
Формула (11AX)

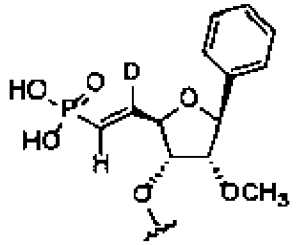


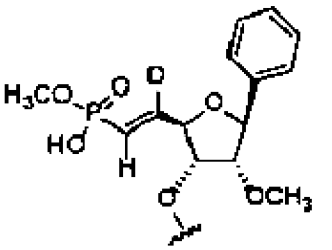
Формула (11AY)

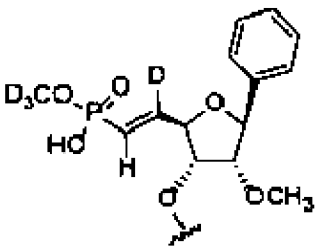

Формула (11B)

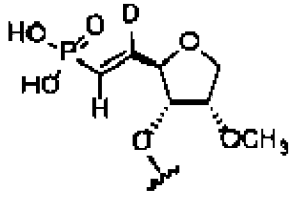

Формула (11BX)

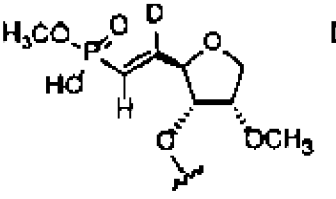

Формула (11BY)

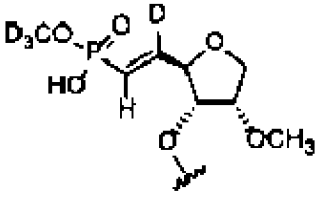

Формула (12A)

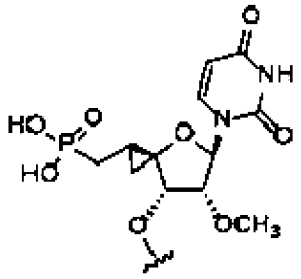

Формула (12AX)

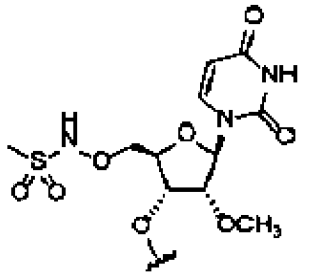

Формула (12AY)

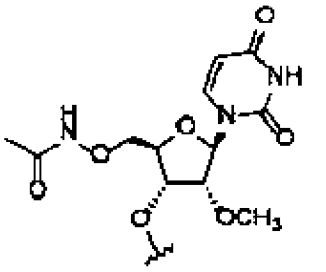

Формула (12B)

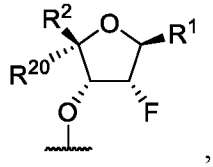

Формула (12BX)


Формула (12BY)

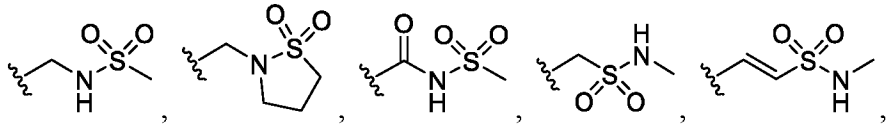

Формула (13A)

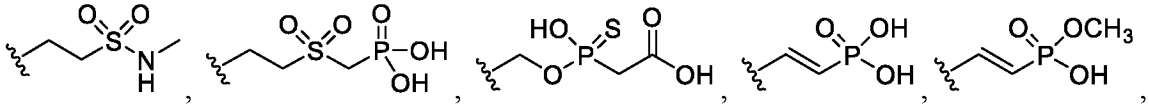

Формула (14A)

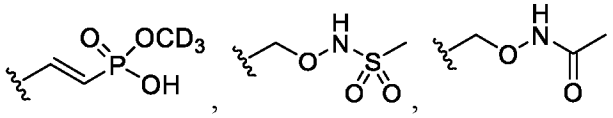

Формула (15A)

178. миНК по любому из вариантов осуществления 131, 132 и 170, где 5'-стабилизированный концевой кэп имеет структуру формулы (Ic): , где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой ,

,


, –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой –$ONR^{23}R^{24}$, –$OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$P(O)(OH)_2$, -P(O)(OH)($OCH_3$), -P(O)(OH)($OCD_3$), –$SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, –$SO_2NR^{23}R^{25}$, –$NR^{23}R^{24}$ или –$NR^{23}SO_2R^{24}$;

R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой –SO_2R^{25} или –$C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

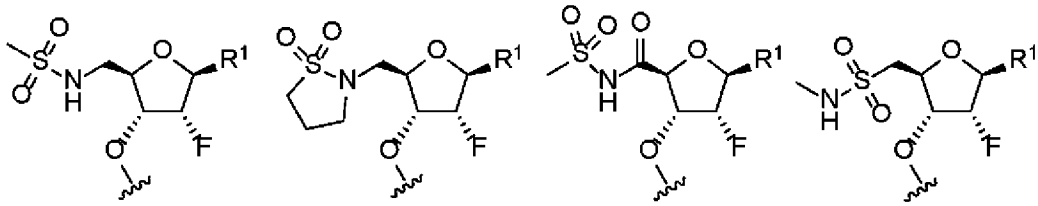
R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

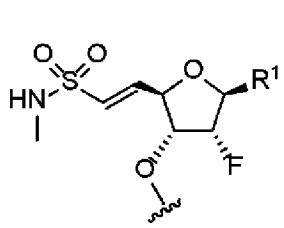
m равен 1, 2, 3 или 4.

179. миНК по варианту осуществления 178, где R^1 представляет собой арил.

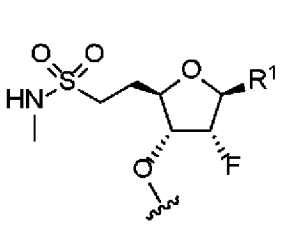
180. миНК по варианту осуществления 179, где арил представляет собой фенил.

181. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 131, 132 и 170, где 5'-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формулы (21)–формулы (35):

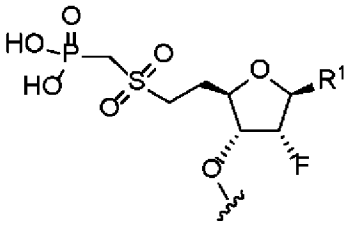

Формула (21) Формула (22) Формула (23) Формула (24)



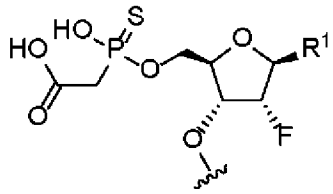
Формула (25)



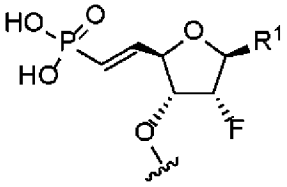
Формула (26)



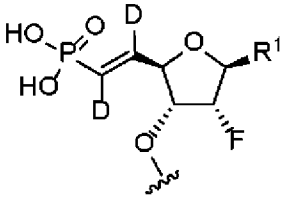
Формула (27)



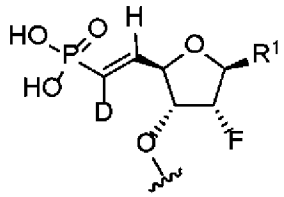
Формула (28)



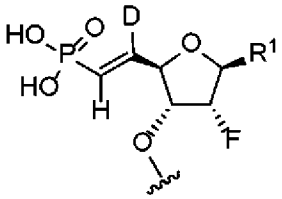
Формула (29)



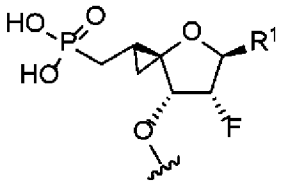
Формула (30)



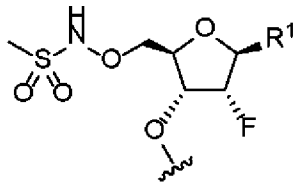
Формула (31)



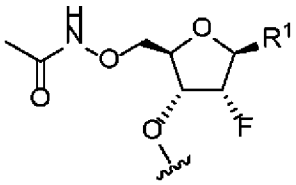
Формула (32)



Формула (33)



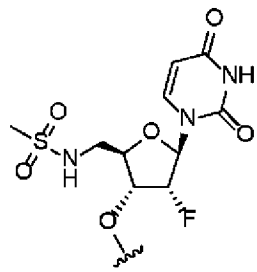
Формула (34)



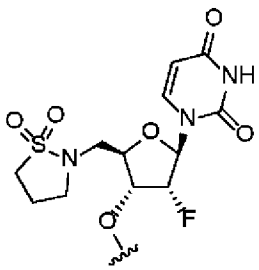
Формула (35)

, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

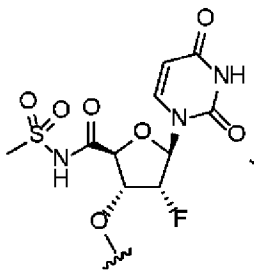
182. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 131, 132 и 170, где 5'-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формул (21A)–(35A), формул (29B)–(32B), формул (29AX)–(32AX), формул (29AY)–(32AY), формул (29BX)–(32BX) и формул (29BY)–(32BY):



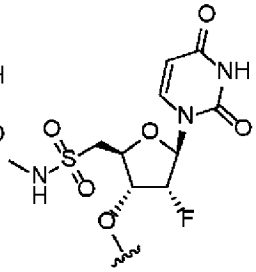
Формула (21A)



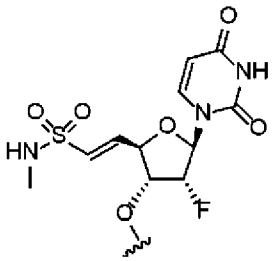
Формула (22A)



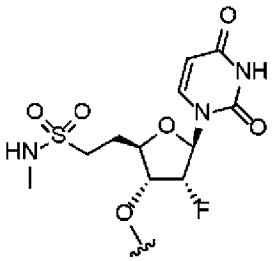
Формула (23A)



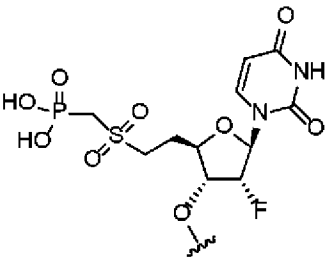
Формула (24A)



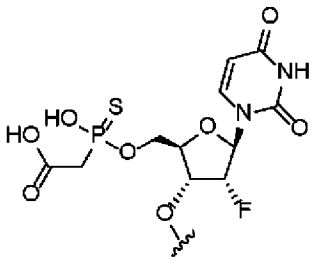
Формула (25A)



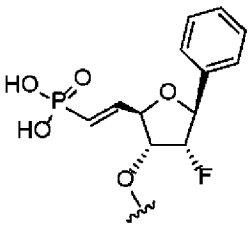
Формула (26A)



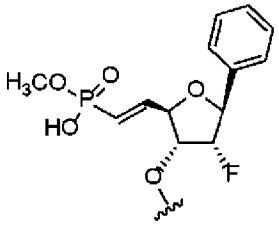
Формула (27A)



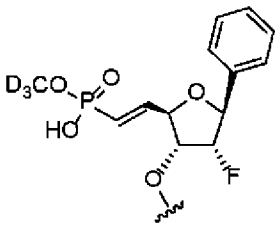
Формула (28A)



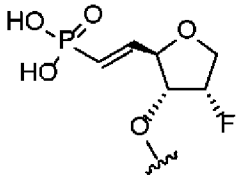
Формула (29A)



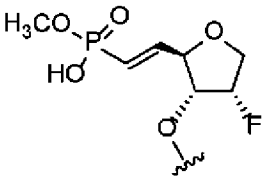
Формула (29AX)



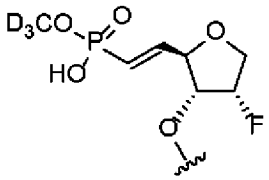
Формула (29AY)



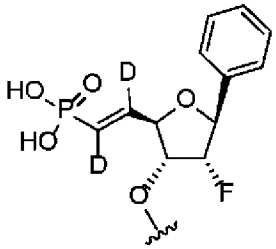
Формула (29B)



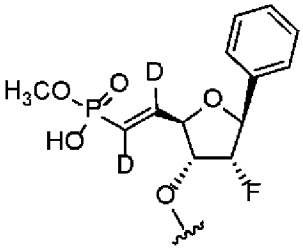
Формула (29BX)



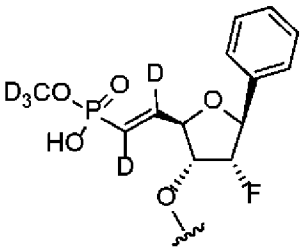
Формула (29BY)



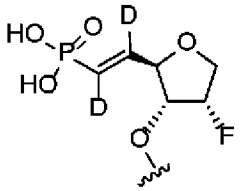
Формула (30A)



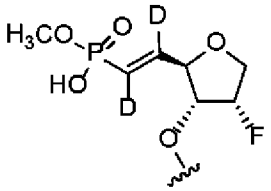
Формула (30AX)



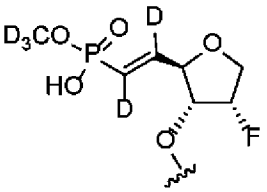
Формула (30AY)



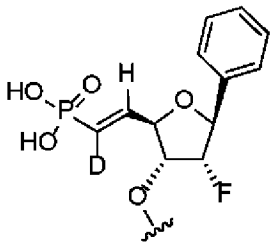
Формула (30B)



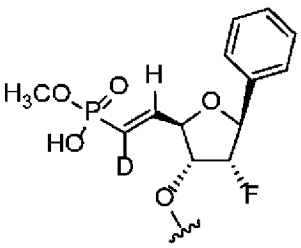
Формула (30BX)



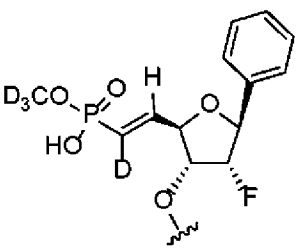
Формула (30BY)



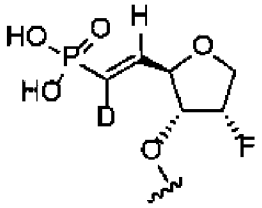
Формула (31A)



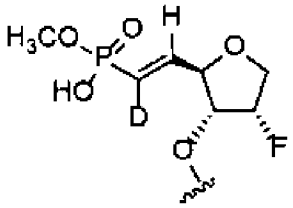
Формула (31AX)



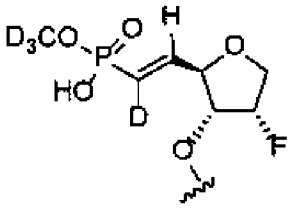
Формула (31AY)



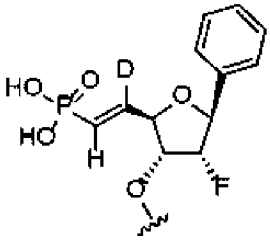
Формула (31B)



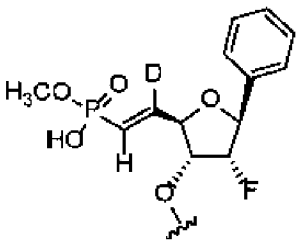
Формула (31BX)



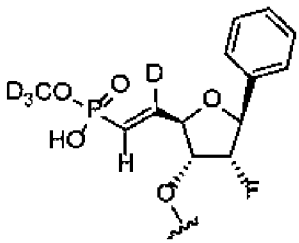
Формула (31BY)



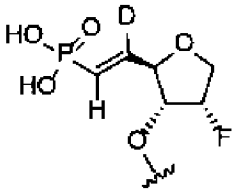
Формула (32A)



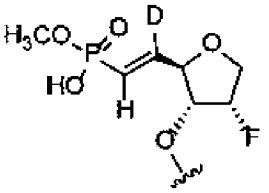
Формула (32AX)



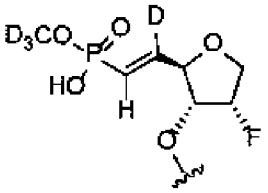
Формула (32AY)



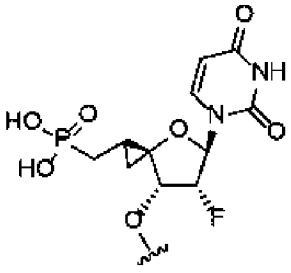
Формула (32B)



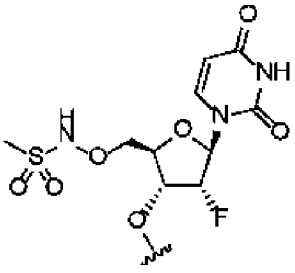
Формула (32BX)



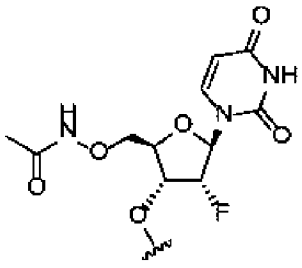
Формула (32BY)



Формула (33A)

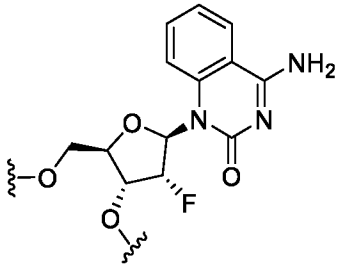


Формула (34A)

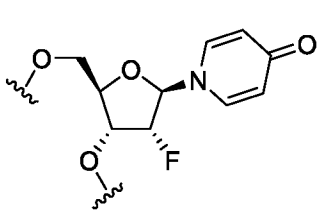


Формула (35A)

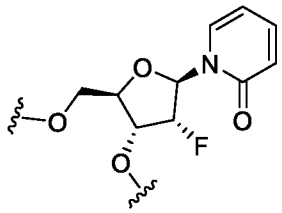
183. миНК по любому из вариантов осуществления 1–182, где антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один термодестабилизируемый нуклеотид, выбранный из:



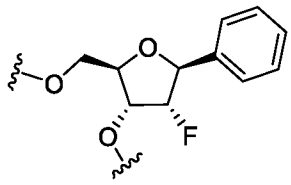
,



,

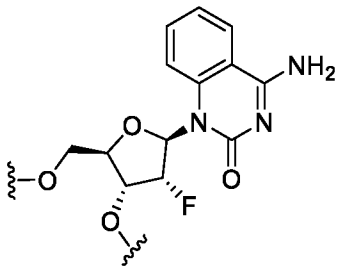
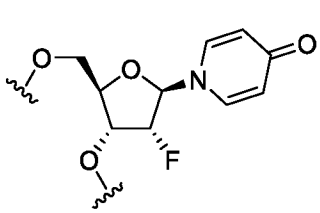
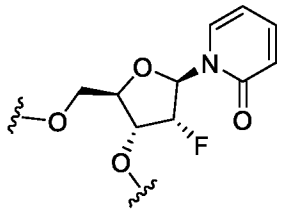
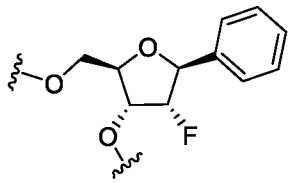


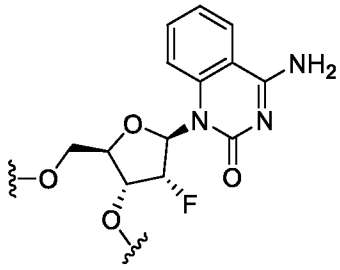
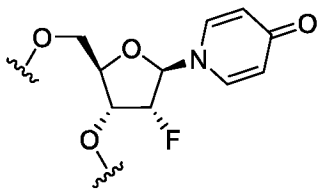
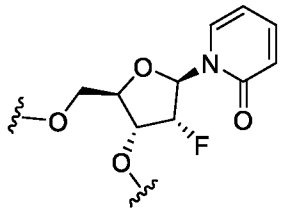
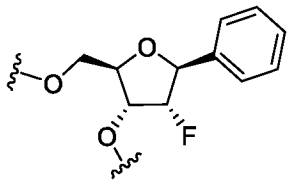
и

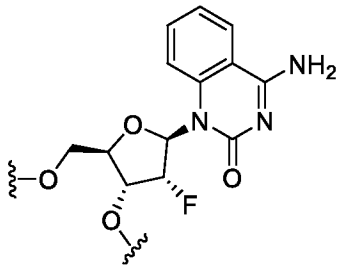
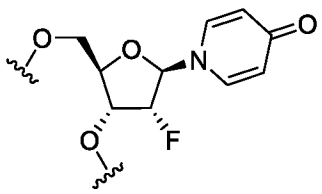
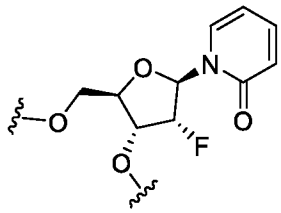
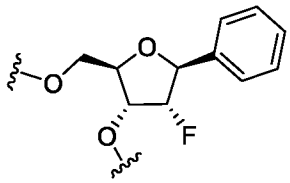


.

184. миНК по любому из вариантов осуществления 1–182, где смысловая цепь содержит по меньшей мере один термодестабилизируемый нуклеотид, выбранный из:




и

.

185. миНК по любому из вариантов осуществления 1–182, где первая нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере один термодестабилизируемый нуклеотид, выбранный из:




и .

186. миНК по любому из вариантов осуществления 1–182, где вторая нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере один термодестабилизируемый нуклеотид, выбранный из:




и .

187. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 131, 132 и 170–186, где 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи.

188. миНК по варианту осуществления 187, где 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

189. миНК по любому из вариантов осуществления 16, 131, 132 и 170–186, где 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5’-концу смысловой цепи.

190. миНК по варианту осуществления 189, где 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к 5’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

191. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, при этом ген-мишень представляет собой вирусный ген.

192. миНК по варианту осуществления 191, отличающаяся тем, что вирусный ген происходит от ДНК-вируса

193. миНК по варианту осуществления 192, отличающаяся тем, что ДНК-вирус представляет собой двухцепочечный ДНК (дцДНК) вирус.

194. миНК по варианту осуществления 193, отличающаяся тем, что дцДНК вирус представляет собой гепаднавирус.

195. миНК по варианту осуществления 194, отличающаяся тем, что гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV).

196. миНК по варианту осуществления 195, отличающаяся тем, что HBV выбран из генотипов HBV A-J.

197. миНК по варианту осуществления 195 или 196, отличающаяся тем, что ген-мишень выбран из гена S или гена X HBV.

198. миНК по любому из вариантов осуществления 1–197, причем вторая нуклеотидная последовательность составляет по меньшей мере около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%,

90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам в положениях 200–720 или 1100–1700 из SEQ ID NO: 410.

199. миНК по любому из вариантов осуществления 1–197, причем вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15 –30 нуклеотидам в положениях 200-280, 300–445, 460–510, 650–720, 1170–1220, 1250–1300 или 1550–1630 из SEQ ID NO: 410.

200. миНК по любому из вариантов осуществления 1–197, причем вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15 –30 нуклеотидам в положениях 200–230, 250–280, 300–330, 370–400, 405–445, 460–500, 670–700, 1180–1210, 1260–1295, 1520–1550 или 1570–1610 из SEQ ID NO: 410.

201. миНК по любому из вариантов осуществления 1–197, причем вторая нуклеотидная последовательность составляет по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам, начиная от положения 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 или 1584 из SEQ ID NO: 410.

202. миНК по любому из вариантов осуществления 1–201, причем первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30 нуклеотидам в положениях 200–720 или 1100–1700 из SEQ ID NO: 410.

203. миНК по любому из вариантов осуществления 1–201, причем первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30 нуклеотидам в положениях 200–280, 300–445, 460–510, 650–720, 1170–1220, 1250–1300 или 1550–1630 из SEQ ID NO: 410.

204. миНК по любому из вариантов осуществления 1–201, причем первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична 15–30 нуклеотидам в положениях 200–230, 250–280, 300–330, 370–400, 405–445, 460–500, 670–700, 1180–1210, 1260–1295, 1520–1550 или 1570–1610 из SEQ ID NO: 410.

205. миНК по любому из вариантов осуществления 1–201, причем первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%

или 100% идентична 15–30 нуклеотидам, начиная от положения 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 или 1584 из SEQ ID NO: 410.

206. миНК в соответствии с любым предыдущим вариантом осуществления, где первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любого из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260.

207. миНК в соответствии с любым предыдущим вариантом осуществления, где вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любого из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306.

208. миНК в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любого из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444.

209. миНК в соответствии с любым из предыдущих вариантов осуществления, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любого из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539.

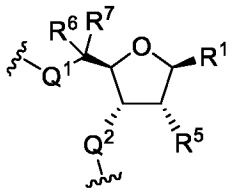
210. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где по меньшей мере один конец миНК является тупым концом.

211. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где по меньшей мере один конец миНК содержит выступающий конец, при этом выступающий конец содержит по меньшей мере один нуклеотид.

212. миНК по любому из вариантов осуществления 1–209, где оба конца миНК содержат выступающий конец, при этом выступающий конец содержит по меньшей мере один нуклеотид.

213. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где миНК выбрана из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178.

214. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, отличающаяся тем, что по меньшей мере один 2'-фторнуклеотид или 2'-*O*-метилнуклеотид представляет собой миметик 2'-фтор или 2-О-метилнуклеотида формулы (V):



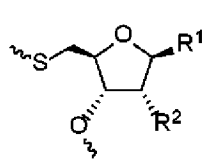
, где

R^1 независимо представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, Q^1 и Q^2 независимо представляют собой S или O,

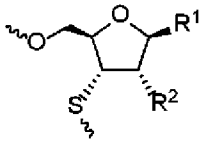
R^5 независимо представляет собой $–OCD_3$, –F или $–OCH_3$, и

R^6 и R^7 независимо представляют собой H, D или CD3.

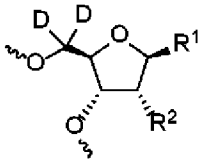
215. миНК по варианту осуществления 214, где миметик 2’-фтор или 2’-O-метилнуклеотида представляет собой миметик нуклеотида формулы (16) – формулы (20):



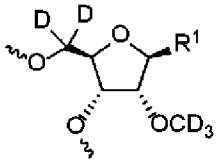
Формула (16)



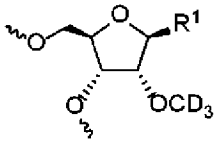
Формула (17)



Формула (18)



Формула (19)



Формула (20)

, где R^1 представляет собой азотистое основание и R^2 независимо представляет собой F или $–OCH_3$.

216. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где по меньшей мере один 2’-фторнуклеотид представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

217. миНК по варианту осуществления 216, где по меньшей мере один 2’-фторнуклеотид на антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

218. миНК по варианту осуществления 216 или 217, где нуклеотид в положении 2 от 5’-конца антисмысловой цепи, или вторая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

219. миНК по любому из вариантов осуществления 216–218, где нуклеотид в положении 5 от 5’-конца антисмысловой цепи или вторая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

220. миНК по любому из вариантов осуществления 216–219, где нуклеотид в положении 6 от 5’-конца антисмысловой цепи или вторая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

221. миНК по любому из вариантов осуществления 216–220, где нуклеотид в положении 8 от 5’-конца антисмысловой цепи или вторая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

222. миНК по любому из вариантов осуществления 216–221, где нуклеотид в положении 10 от 5’-конца антисмысловой цепи или вторая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

223. миНК по любому из вариантов осуществления 216–222, где нуклеотид в положении 14 от 5’-конца антисмысловой цепи или вторая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

224. миНК по любому из вариантов осуществления 216–223, где нуклеотид в положении 16 от 5’-конца антисмысловой цепи или вторая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

225. миНК по любому из вариантов осуществления 216–224, где нуклеотид в положении 17 от 5’-конца антисмысловой цепи или вторая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

226. миНК по любому из вариантов осуществления 216–225, где по меньшей мере один 2’-фторнуклеотид на смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

227. миНК по любому из вариантов осуществления 216–226, где нуклеотид в положении 3 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

228. миНК по любому из вариантов осуществления 216–227, где нуклеотид в положении 5 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

229. миНК по любому из вариантов осуществления 216–228, где нуклеотид в положении 7 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

230. миНК по любому из вариантов осуществления 216–229, где нуклеотид в положении 8 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

231. миНК по любому из вариантов осуществления 216–230, где нуклеотид в положении 9 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

232. миНК по любому из вариантов осуществления 216–231, где нуклеотид в положении 10 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

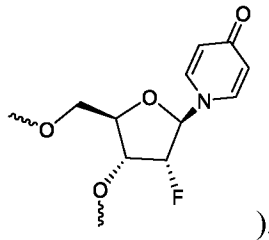
233. миНК по любому из вариантов осуществления 216–232, где нуклеотид в положении 11 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

234. миНК по любому из вариантов осуществления 216–233, где нуклеотид в положении 12 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

235. миНК по любому из вариантов осуществления 216–234, где нуклеотид в положении 14 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

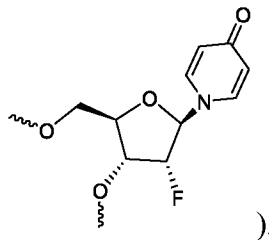
236. миНК по любому из вариантов осуществления 216–235, где нуклеотид в положении 17 от 5’-конца смысловой цепи или первая нуклеотидная последовательность представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

237. миНК по любому из вариантов осуществления 216–236, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более миметиков 2’-фторнуклеотидов представляют собой нуклеотид f4P (

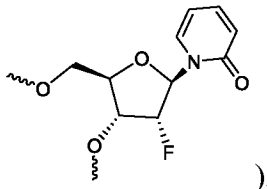


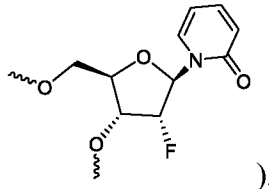
).

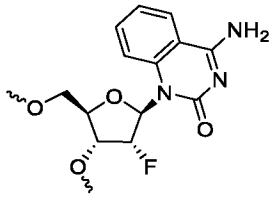
238. миНК по любому из вариантов осуществления 216–237, где меньше или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 миметика 2’-фторнуклеотида представляют собой нуклеотид f4P (

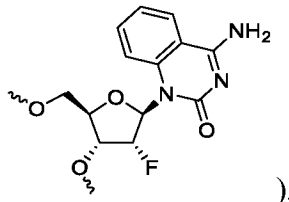


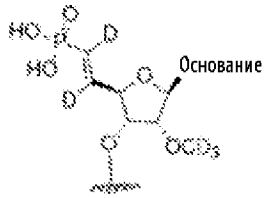
).

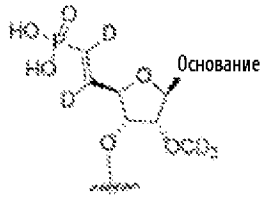
239. миНК по любому из вариантов осуществления 216–238, где 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более миметиков 2’-фторнуклеотидов представляют собой нуклеотид f2P ().

240. миНК по любому из вариантов осуществления 216–239, где меньше или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 миметика 2’-фторнуклеотида представляют собой нуклеотид f2P ().

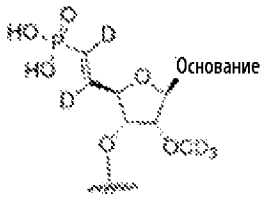
241. миНК по любому из вариантов осуществления 216–240, где 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более миметиков 2’-фторнуклеотидов представляют собой нуклеотид fX ().

242. миНК по любому из вариантов осуществления 216–241, где меньше или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 миметика 2’-фторнуклеотида представляют собой нуклеотид fX ().

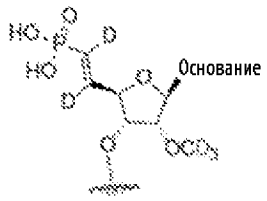
243. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где первый нуклеотид от 5’-конца смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности представляет собой нуклеотид d2vd3 ().

244. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где первый нуклеотид от 3’-конца смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности представляет собой нуклеотид d2vd3 (

).

245. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где первый нуклеотид от 5’-конца антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности представляет собой нуклеотид d2vd3 (

).

246. миНК по любому предыдущему варианту осуществления, где первый нуклеотид от 3’-конца антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности представляет собой нуклеотид d2vd3 (

).

247. Композиция, содержащая миНК по любому из вариантов осуществления 1–246.

248. Композиция, содержащая 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более миНК по любому из вариантов осуществления 1–246.

249. Композиция по варианту осуществления 248, отличающаяся тем, что менее чем по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более миНК нацелены на ген S HBV.

250. Композиция по варианту осуществления 248 или 249, отличающаяся тем, что менее чем по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более миНК нацелены на ген X HBV.

251. Композиция по любому из вариантов осуществления 247–250, дополнительно содержащая дополнительный агент для лечения HBV.

252. Композиция по варианту осуществления 251, отличающаяся тем, что агент для лечения HBV выбран из аналога нуклеотида, аналога нуклеозида, модулятора сборки

капсида (CAM), рекомбинантного интерферона, ингибитора проникновения, низкомолекулярного иммуномодулятора и олигонуклеотидной терапии.

253. Композиция по варианту осуществления 252, отличающийся тем, что олигонуклеотидная терапия представляет собой дополнительную миНК.

254. Композиция по варианту осуществления 253, отличающаяся тем, что дополнительная миНК выбрана из любой от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178.

255. Композиция по варианту осуществления 252, отличающаяся тем, что олигонуклеотидная терапия представляет собой антисмысловой олигонуклеотид (ASO), NAP или STOPS™

256. Композиция по варианту осуществления 255, где ASO представляет собой ASO 1 или ASO 2.

257. Композиция по варианту осуществления 251 или 252, отличающаяся тем, что дополнительный агент для лечения HBV выбран из HBV STOPS™ ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1, рекомбинантного интерферона альфа 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, ламивудина, телбивудина, адефовира дипивоксила, клевудина, энтекавира, тенофовира алафенамида, тенофовира дизопроксила, NVR3–778, BAY41–4109, JNJ-632, JNJ–3989 (ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB–729, VIR-2218, RG6346 (DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ–440, NZ–4, RG7907, EDP–514, AB–423, AB–506, ABI-H03733 и ABI-H2158.

258. Способ лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту миНК по любому из вариантов осуществления 1–246.

259. Способ лечения заболевания у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту композиции по любому из вариантов осуществления 247-257.

260. Способ по варианту осуществления 258 или 259, отличающийся тем, что заболевание представляет собой вирусное заболевание.

261. Способ по варианту осуществления 260, отличающийся тем, что вирусное заболевание вызывается ДНК-вирусом.

262. Способ по варианту осуществления 261, отличающийся тем, что ДНК-вирус представляет собой двухцепочечный ДНК (дцДНК) вирус.

263. Способ по варианту осуществления 262, отличающийся тем, что дцДНК вирус представляет собой гепаднавирус.

264. Способ по варианту осуществления 263, отличающийся тем, что гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV).

265. Способ по варианту осуществления 264, отличающийся тем, что HBV выбран из генотипов HBV A-J.

266. Способ по любому из вариантов осуществления 258–265, дополнительно включающий введение дополнительного средства для лечения HBV.

267. Способ по варианту осуществления 266, отличающийся тем, что миНК или композицию и дополнительный агент для лечения HBV вводят параллельно.

268. Способ по варианту осуществления 266, отличающийся тем, что миНК или композицию и дополнительный агент для лечения HBV вводят последовательно.

269. Способ по варианту осуществления 266, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят перед введением дополнительного средства для лечения HBV.

270. Способ по варианту осуществления 266, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят после введения дополнительного средства для лечения HBV.

271. Способ по любому из вариантов осуществления 266–270, отличающийся тем, что агент для лечения HBV выбран из аналога нуклеотида, аналога нуклеозида, модулятора сборки капсида (CAM), рекомбинантного интерферона, ингибитора проникновения, низкомолекулярного иммуномодулятора и олигонуклеотидной терапии.

272. Способ по варианту осуществления 271, отличающийся тем, что олигонуклеотидная терапия представляет собой дополнительную миНК.

273. Способ по варианту осуществления 272, отличающийся тем, что дополнительная миНК выбрана из любой от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178.

274. Способ по варианту осуществления 271, отличающаяся тем, что олигонуклеотидная терапия представляет собой антисмысловой олигонуклеотид (ASO), NAP или STOP.

275. Способ по варианту осуществления 274, где ASO представляет собой ASO 1 или ASO 2.

276. Способ по варианту осуществления 270 или 271, отличающаяся тем, что дополнительный агент для лечения HBV выбран из HBV STOPS™ ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1, рекомбинантного интерферона альфа 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, ламивудина, телбивудина, адефовира дипивоксила, клевудина, энтекавира, тенофовира алафенамида, тенофовира дизопроксила, NVR3–778, BAY41–4109, JNJ-632, JNJ–3989 (ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB–729, VIR-2218, RG6346 (DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ–440, NZ–4, RG7907, EDP–514, AB–423, AB–506, ABI-H03733 и ABI-H2158.

277. Способ по варианту осуществления 258 или 259, отличающийся тем, что заболевание представляет собой заболевание печени.

278. Способ по варианту осуществления 277, отличающийся тем, что заболевание печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК).

279. Способ по варианту осуществления 278, отличающийся тем, что НАЖБП представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

280. Способ по любому из вариантов осуществления 277–279, дополнительно включающий введение субъекту средства для лечения заболевания печени.

281. Способ по варианту осуществления 280, отличающийся тем, что средство для лечения заболевания печени выбрано из агониста рецептора активатора пролиферации пероксисом (PPAR), агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR), средства, изменяющего липидный состав, и терапии на основе инкретина.

282. Способ по варианту осуществления 281, отличающийся тем, что агонист PPAR выбран из агониста PPARα, двойного агониста PPARα/δ, агониста PPARγ и двойного агониста PPARα/γ.

283. Способ по варианту осуществления 282, отличающийся тем, что двойной агонист PPARα представляет собой фибрат.

284. Способ по варианту осуществления 282, отличающийся тем, что агонист PPARα/δ представляет собой элафибранор.

285. Способ по варианту осуществления 282, отличающийся тем, что агонист PPARγ представляет собой тиазолидиндион (TZD).

286. Способ по варианту осуществления 282, отличающийся тем, что TZD представляет собой пиоглитазон.

287. Способ по варианту осуществления 282, отличающийся тем, что двойной агонист PPARα/γ представляет собой сароглитазар.

288. Способ по варианту осуществления 281, отличающийся тем, что агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту (OCA).

289. Способ по варианту осуществления 281, отличающийся тем, что агент, изменяющий липидный состав, представляет собой арамхол.

290. Способ по варианту осуществления 281, отличающийся тем, что терапия на основе инкретинов представляет собой агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1) или ингибитор дипептидилпептидазы 4 (DPP-4).

291. Способ по варианту осуществления 290, отличающийся тем, что агонист рецептора GLP-1 представляет собой эксенатид или лираглутид.

292. Способ по варианту осуществления 290, отличающийся тем, что ингибитор DPP-4 представляет собой ситаглиптин или вилдаплиптин.

293. Способ по любому из вариантов осуществления 280–292, отличающийся тем, что миНК или композицию и средство для лечения заболевания печени вводят параллельно.

294. Способ по любому из вариантов осуществления 280–292, отличающийся тем, что миНК или композицию и средство для лечения заболевания печени вводят последовательно.

295. Способ по любому из вариантов осуществления 280–292, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят перед введением средства для лечения заболевания печени.

296. Способ по любому из вариантов осуществления 280–292, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят после введения средства для лечения заболевания печени.

297. Способ по любому из вариантов осуществления 258–296, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в дозе по меньшей мере 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг, 4 мг/кг, 5

мг/кг, 6 мг/кг, 7 мг/кг, 8 мг/кг, 9 мг/кг, 10 мг/кг, 11 мг/кг, 12 мг/кг, 13 мг/кг 14 мг/кг или 15 мг/кг.

298. Способ по любому из вариантов осуществления 258–296, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в дозе от 0,5 мг/кг до 50 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 40 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 30 мг/кг, от 1 мг/кг до 50 мг/кг, от 1 мг/кг до 40 мг/кг, от 1 мг/кг 30 мг/кг, от 1 мг/кг 20 мг/кг, от 3 мг/кг до 50 мг/кг, от 3 мг/кг до 40 мг/кг, от 3 мг/кг до 30 мг/кг, от 3 мг/кг до 20 мг/кг, от 3 мг/кг до 15 мг/кг, от 3 мг/кг до 10 мг/кг, от 4 мг/кг до 50 мг/кг, от 4 мг/кг до 40 мг/кг, от 4 мг/кг до 30 мг/кг, от 4 мг/кг до 20 мг/кг, от 4 мг/кг до 15 мг/кг, от 4 мг/кг до 10 мг/кг, от 5 мг/кг до 50 мг/кг, от 5 мг/кг до 40 мг/кг, от 5 мг/кг до 30 мг/кг, от 5 мг/кг до 20 мг/кг, от 5 мг/кг до 15 мг/кг или от 5 мг/кг до 10 мг/кг.

299. Способ по любому из вариантов осуществления 258–298, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз.

300. Способ по любому из вариантов осуществления 258–298, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз в день, по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз в неделю, или по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 раз в месяц.

301. Способ по любому из вариантов осуществления 258–300, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят по меньшей мере один раз в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 день.

302. Способ по любому из вариантов осуществления 258–301, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в течение периода по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 дня, или по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 35, 40, 45, 50, 51, 52, 53, 54 или 55 недель.

303. Способ по любому из вариантов осуществления 258–302, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в виде однократной дозы 5 мг/кг.

304. Способ по любому из вариантов осуществления 258–302, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в виде однократной дозы 10 мг/кг.

305. Способ по любому из вариантов осуществления 258–302, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в трех дозах по 10 мг/кг один раз в неделю.

306. Способ по любому из вариантов осуществления 258–302, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в трех дозах по 10 мг/кг один раз в три дня.

307. Способ по любому из вариантов осуществления 258–302, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в пяти дозах по 10 мг/кг один раз в три дня.

308. Способ по любому из вариантов осуществления 258–302, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в шести дозах в диапазоне от 1 мг/кг до 15 мг/кг, от 1 мг/кг до 10 мг/кг, от 2 мг/кг до 15 мг/кг, от 2 мг/кг до 10 мг/кг, от 3 мг/кг до 15 мг/кг или **от** 3 мг/кг до 10 мг/кг.

309. Способ по варианту осуществления 308, отличающийся тем, что первую дозу и вторую дозу вводят с интервалом не менее 3 дней.

310. Способ по варианту осуществления 308 или 309, отличающийся тем, что вторую дозу и третью дозу вводят с интервалом не менее 4 дней.

311. Способ по любому из вариантов осуществления 308–310, отличающийся тем, что третью дозу и четвертую дозу, четвертую дозу и пятую дозу или пятую дозу и шестую дозу вводят с интервалом не менее 7 дней.

312. Способ по любому из вариантов осуществления 258–311, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят в частице или вирусном векторе.

313. Способ по варианту осуществления 312, отличающийся тем, что вирусный вектор представляет собой вектор аденовируса, аденоассоциированного вируса (AAV), альфавируса, флавивируса, вируса простого герпеса, лентивируса, вируса кори, пикорнавируса, поксвируса, ретровируса или рабдовируса.

314. Способ по варианту осуществления 312, отличающийся тем, что вирусный вектор представляет собой рекомбинантный вирусный вектор.

315. Способ по любому из вариантов осуществления 312–314, где вирусный вектор выбран из AAVrh.74, AAVrh.10, AAVrh.20, AAV-1, AAV-2, AAV-3, AAV-4, AAV-5, AAV-6, AAV-7, AAV-8, AAV-9, AAV-10, AAV-11, AAV-12 и AAV-13.

316. Способ по любому из вариантов осуществления 258–315, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят системно.

317. Способ по любому из вариантов осуществления 258–315, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят местно.

318. Способ по любому из вариантов осуществления 258–317, отличающийся тем, что миНК или композицию вводят внутривенно, подкожно или внутримышечно.

319. Применение миНК по любому из вариантов осуществления 1–246 или композиции по любому из вариантов осуществления 247–257 в производстве лекарственного средства для лечения заболевания.

320. Способ по варианту осуществления 319, отличающийся тем, что заболевание представляет собой вирусное заболевание.

321. Применение по варианту осуществления 320, отличающееся тем, что вирусное заболевание вызывается ДНК-вирусом.

322. Применение по варианту осуществления 321, отличающееся тем, что ДНК-вирус представляет собой двухцепочечный ДНК (дцДНК) вирус.

323. Применение по варианту осуществления 321, отличающееся тем, что дцДНК вирус представляет собой гепаднавирус.

324. Применение по варианту осуществления 323, отличающееся тем, что гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV).

325. Применение по варианту осуществления 324, отличающееся тем, что HBV выбран из генотипов HBV A-J.

326. Применение по любому из вариантов осуществления 319–325, дополнительно включающее дополнительный агент для лечения HBV при производстве лекарственного средства.

327. Применение по варианту осуществления 326, отличающаяся тем, что агент для лечения HBV выбран из аналога нуклеотида, аналога нуклеозида, модулятора сборки капсида (CAM), рекомбинантного интерферона, ингибитора проникновения, низкомолекулярного иммуномодулятора и олигонуклеотидной терапии.

328. Применение по варианту осуществления 327, отличающийся тем, что олигонуклеотидная терапия представляет собой дополнительную миНК.

329. Применение по варианту осуществления 328, отличающийся тем, что дополнительная миНК выбрана из любой от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178.

330. Применение по варианту осуществления 327, отличающееся тем, что олигонуклеотидная терапия представляет собой антисмысловой олигонуклеотид (ASO), NAP или STOP.

331. Применение по варианту осуществления 330, где ASO представляет собой ASO 1 или ASO 2.

332. Применение по варианту осуществления 326 или 327, отличающаяся тем, что дополнительный агент для лечения HBV выбран из HBV STOPS^{TM} ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1, рекомбинантного интерферона альфа 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, ламивудина, телбивудина, адефовира дипивоксила, клевудина, энтекавира, тенофовира алафенамида, тенофовира дизопроксила, NVR3–778, BAY41–4109, JNJ-632, JNJ–3989 (ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB–729, VIR-2218, RG6346 (DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ–440, NZ–4, RG7907, EDP–514, AB–423, AB–506, ABI-H03733 и ABI-H2158.

333. Применение по варианту осуществления 319, отличающееся тем, что заболевание представляет собой заболевание печени.

334. Применение по варианту осуществления 333, отличающийся тем, что заболевание печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК).

335. Применение по варианту осуществления 334, отличающееся тем, что НАЖБП представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

336. Применение по любому из пп. 333–335, дополнительно включающее средство для лечения заболевания печени при производстве лекарственного средства.

337. Применение по варианту осуществления 336, отличающееся тем, что средство для лечения заболевания печени выбрано из агониста рецептора активатора пролиферации пероксисом (PPAR), агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR), средства, изменяющего липидный состав, и терапии на основе инкретина.

338. Применение по варианту осуществления 337, отличающееся тем, что агонист PPAR выбран из агониста PPARα, двойного агониста PPARα/δ, агониста PPARγ и двойного агониста PPARα/γ.

339. Применение по варианту осуществления 338, отличающееся тем, что двойной агонист PPARα представляет собой фибрат.

340. Применение по варианту осуществления 338, отличающееся тем, что агонист PPARα/δ представляет собой элафибранор.

341. Применение по варианту осуществления 338, отличающееся тем, что агонист PPARγ представляет собой тиазолидиндион (TZD).

342. Применение по варианту осуществления 341, отличающееся тем, что TZD представляет собой пиоглитазон.

343. Применение по варианту осуществления 338, отличающееся тем, что двойной агонист PPARα/γ представляет собой сароглитазар.

344. Применение по варианту осуществления 337, отличающееся тем, что агонист FXR представляет собой обетихолевую кислоту (OCA).

345. Применение по варианту осуществления 337, отличающееся тем, что агент, изменяющий липидный состав, представляет собой арамхол.

346. Применение по варианту осуществления 337, отличающееся тем, что терапия на основе инкретинов представляет собой агонист рецептора глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1) или ингибитор дипептидилпептидазы 4 (DPP-4).

347. Применение по варианту осуществления 346, отличающееся тем, что агонист рецептора GLP-1 представляет собой эксенатид или лираглутид.

348. Применение по варианту осуществления 346, отличающееся тем, что ингибитор DPP-4 представляет собой ситаглиптин или вилдаплиптин.

349. миНК по любому из вариантов осуществления 1–246 для применения в качестве лекарственного средства.

350. Композиция по любому из вариантов осуществления 247–257 для применения в качестве лекарственного средства.

351. миНК по любому из вариантов осуществления 1–246 для применения при лечении заболевания.

352. миНК по варианту осуществления 351, отличающаяся тем, что заболевание представляет собой вирусное заболевание.

353. миНК по варианту осуществления 352, отличающаяся тем, что вирусное заболевание вызывается ДНК-вирусом.

354. миНК по варианту осуществления 353, отличающаяся тем, что ДНК-вирус представляет собой двухцепочечный ДНК (дцДНК вирус).

355. миНК по варианту осуществления 354, отличающаяся тем, что дцДНК вирус представляет собой гепаднавирус.

356. миНК по варианту осуществления 355, отличающаяся тем, что гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV).

357. миНК по варианту осуществления 356, отличающаяся тем, что HBV выбран из генотипов HBV A-J.

358. миНК по варианту осуществления 351, отличающаяся тем, что заболевание представляет собой заболевание печени.

359. миНК по варианту осуществления 358, отличающееся тем, что заболевание печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК).

360. миНК по варианту осуществления 359, отличающееся тем, что НАЖБП представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

361. Композиция по любому из вариантов осуществления 247–257 для применения при лечении заболевания.

362. Композиция по варианту осуществления 361, отличающаяся тем, что заболевание представляет собой вирусное заболевание.

363. Композиция по варианту осуществления 362, отличающаяся тем, что вирусное заболевание вызывается ДНК-вирусом.

364. Композиция варианта осуществления 363, отличающаяся тем, что ДНК-вирус представляет собой двухцепочечный ДНК (дцДНК вирус).

365. Композиция по варианту осуществления 364, отличающаяся тем, что дцДНК вирус представляет собой гепаднавирус.

366. Композиция по варианту осуществления 365, отличающаяся тем, что гепаднавирус представляет собой вирус гепатита B (HBV).

367. Композиция по варианту осуществления 366, отличающаяся тем, что заболевание представляет собой заболевание печени.

368. Композиция по варианту осуществления 367, отличающаяся тем, что заболевание печени представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК).

369. Композиция по варианту осуществления 368, отличающаяся тем, что НАЖБП представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

Таблицы

Таблица 1. Немодифицированные нуклеотидные последовательности

SEQ ID NO.	Первая нуклеотидная последовательность (5'–3')	SEQ ID NO.	Вторая нуклеотидная последовательность (5'–3'
1	ACCGUGUGCACUUCGCUUC	57	GAAGCGAAGUGCACACGGUCC
2	ACCGUGUGCACUUCGCUUC	58	GAAGCGAAGUGCACACGGU
3	ACUUCGCUUCACCUCUGCA	59	UGCAGAGGUGAAGCGAAGUGC
4	AGUGUUUGCUGACGCAACC	60	GGUUGCGUCAGCAAACACUUG
5	CAGGCGGGGUUUUUCUUGU	61	ACAAGAAAAACCCCGCCUGUA
6	CAGGCGGGGUUUUUCUUGU	62	ACAAGAAAAAACCCCGCCUG
7	CAGUUUACUAGUGCCAUUU	63	AAAUGGCACUAGUAAACUGAG
8	CAGUUUACUAGUGCCAUUU	64	AAAUGGCACUAGUAAACUG
9	CAUCCUGCUGCUAUGCCUC	65	GAGGCAUAGCAGCAGGAUGAA
10	CAUCCUGCUGCUAUGCCUCAU	66	AUGAGGCAUAGCAGCAGGAUGAA
11	CAUCCUGCUGCUAUGCCUC	67	GAGGCAUAGCAGCAGGAUG
12	CCGUGUGCACUUCGCUUCA	68	UGAAGCGAAGUGCACACGGUC
13	CCGUGUGCACUUCGCUUCA	69	UGAAGCGAAGUGCACACGG
14	CCUGCUGCUAUGCCUCAUCUU	70	AAGAUGAGGCAUAGCAGCAGGAU
15	CUCAGUUUACUAGUGCCAU	71	AUGGCACUAGUAAACUGAGCC

Таблица 1. Немодифицированные нуклеотидные последовательности			
SEQ ID NO.	**Первая нуклеотидная последовательность (5'–3')**	**SEQ ID NO.**	**Вторая нуклеотидная последовательность (5'–3'**
16	CUCAGUUUACUAGUGCCAU	71	AUGGCACUAGUAAACUGAGCC
17	CUCAGUUUACUAGUGCCAU	71	AUGGCACUAGUAAACUGAGCC
18	CUCAGUUUACUAGUGCCAU	72	AUGGCACUAGUAAACUGAG
19	CUCAGUUUACUAGUGCCAU	72	AUGGCACUAGUAAACUGAG
20	CUGCUAUGCCUCAUCUUCU	73	AGAAGAUGAGGCAUAGCAGCA
21	CUGCUAUGCCUCAUCUUCU	73	AGAAGAUGAGGCAUAGCAGCA
22	CUGCUAUGCCUCAUCUUCU	74	AGAAGAUGAGGCAUAGCAG
23	CUGCUAUGCCUCAUCUUCU	74	AGAAGAUGAGGCAUAGCAG
24	CUGCUGCUAUGCCUCAUCU	75	AGAUGAGGCAUAGCAGCAGGA
25	CUGCUGCUAUGCCUCAUCU	76	AGAUGAGGCAUAGCAGCAG
26	CUGCUGCUAUGCCUCAUCU	76	AGAUGAGGCAUAGCAGCAG
27	CUUCGCUUCACCUCUGCACGU	77	ACGUGCAGAGGUGAAGCGAAGUG
28	GCACUUCGCUUCACCUCUGCA	78	UGCAGAGGUGAAGCGAAGUGCAC
29	GCCGAUCCAUACUGCGGAA	79	UUCCGCAGUAUGGAUCGGCAG
30	GCCGGGUUUUUCUUGUUGA	80	UUCCGCAGUAUGGAUCGGC
31	GCGGGGUUUUUCUUGUUGA	81	UCAACAAGAAAAACCCCGCCU
32	GCGGGGUUUUUCUUGUUGA	81	UCAACAAGAAAAACCCCGCCU
33	GCGGGGUUUUUCUUGUUGA	82	UCAACAAGAAAAACCCCGC
34	GCGGGGUUUUUCUUGUUGA	82	UCAACAAGAAAAACCCCGC
35	GCUGCUAUGCCUCAUCUUCUU	83	AAGAAGAUGAGGCAUAGCAGCAG
36	GGAUGUGUCUGCGGCGUUUUA	84	UAAAACGCCGCAGACACAUCCAG
37	GGCCAAAAUUCGCAGUCCC	85	GGGACUGCGAAUUUUGGCCAA
38	GGCGCACCUCUCUUUACGC	86	GCGUAAAGAGAGGUGCGCCCC
39	GUAUGUUGCCCGUUUGUCC	87	GGACAAACGGGCAACAUACCU
40	GUGGUGGACUUCUCUCAAU	88	AUUGAGAGAAGUCCACCACGA
41	GUGUGCACUUCGCUUCACC	89	GGUGAAGCGAAGUGCACACGG
42	GUUGCCCGUUUGUCCUCUA	90	UAGAGGACAAACGGGCAACAU
43	GUUGCCCGUUUGUCCUCUA	91	UAGAGGACAAACGGGCAAC
44	UCCAUACUGCGGAACUCCU	92	AGGAGUUCCGCAGUAUGGAUC
45	UCCAUACUGCGGAACUCCU	93	AGGAGUUCCGCAGUAUGGA
46	UCGUGGUGGACUUCUCUCAAU	94	AUUGAGAGAAGUCCACCACGAGU
47	UGCACUUCGCUUCACCUCU	95	AGAGGUGAAGCGAAGUGCACA
48	UGCCGAUCCAUACUGCGGA	96	UCCGCAGUAUGGAUCGGCAGA
49	UGCCGAUCCAUACUGCGGA	97	UCCGCAGUAUGGAUCGGCA
50	UGCUAUGCCUCAUCUUCUU	98	AAGAAGAUGAGGCAUAGCAGC
51	UGUGCACUUCGCUUCACCU	99	AGGUGAAGCGAAGUGCACACG
52	UGUGCACUUCGCUUCACCU	99	AGGUGAAGCGAAGUGCACACG
53	UGUGCACUUCGCUUCACCU	100	AGGUGAAGCGAAGUGCACA
54	UGUGCACUUCGCUUCACCU	100	AGGUGAAGCGAAGUGCACA
55	UUGCCCGUUUGUCCUCUAA	101	UUAGAGGACAAACGGGCAACA
56	UUGCCCGUUUGUCCUCUAA	102	UUAGAGGACAAACGGGCAA

Таблица 2. 2'-OMe и 2'-F-модифицированные нуклеотидные последовательности			
SEQ ID NO.	**Первая нуклеотидная последовательность (5'–3')**	**SEQ ID NO.**	**Вторая нуклеотидная последовательность (5'–3')**
103	mAmCfCmGmUmGfUfGfCmA mCfUmUmCmGmCfUmUmC	159	mGfAmAmGmCmGmAmAmGm UmGmCmAfCmAmCmGmGmUm CmC
104	mAmCfCmGmUmGfUfGfCmA mCfUmUmCmGmCfUmUmC	160	mGfAmAmGmCmGmAmAmGm UmGmCmAfCmAmCmGmGmU
105	mAmCfUmUmCmGfCfUfUmC mAfCmCmUmCmUfGmCmA	161	mUfGmCmAmGmAmGmGmUm GmAmAmGfCmGmAmAmGmU mGmC
106	mAmGfUmGmUmUfUfGfCmU mGfAmCmGmCmAfAmCmC	162	mGfGmUmUmGmCmGmUmCmA mGmCmAfAmAmCmAmCmUmU mG
107	mCmAfGmGmCmGfGfGfGmU mUfUmUmUmCmUfUmGmU	163	mAfCmAmAmGmAmAmAmAm AmCmCmCfCmGmCmCmUmGm UmA
108	mCmAfGmGmCmGfGfGfGmU mUfUmUmUmCmUfUmGmU	164	mAfCmAmAmGmAmAmAmAm AmAmCmCmCfCmGmCmCmUm G
109	mCmAfGmUmUmUfAfCfUmA mGfUmGmCmCmAfUmUmU	165	mAfAmAmUmGmGmCmAmCmU mAmGmUfAmAmAmCmUmGm AmG
110	mCmAfGmUmUmUfAfCfUmA mGfUmGmCmCmAfUmUmU	166	mAfAmAmUmGmGmCmAmCmU mAmGmUfAmAmAmCmUmG
111	mCmAfUmCmCmUfGfCfUmG mCfUmAmUmGmCfCmUmC	167	mGfAmGmGmCmAmUmAmGmC mAmGmCfAmGmGmAmUmGm AmA
112	mCmAmUmCmCmUfGmCfUfG fCmUmAmUmGmCmCmUmCm AmU	168	mAfUmGmAmGfGmCmAmUmA mGmCmAfGmCfAmGmGmAmU mGmAmA
113	mCmAfUmCmCmUfGfCfUmG mCfUmAmUmGmCfCmUmC	169	mGfAmGmGmCmAmUmAmGmC mAmGmCfAmGmGmAmUmG
114	mCmCfGmUmGmUfGfCfAmC mUfUmCmGmCmUfUmCmA	170	mUfGmAmAmGmCmGmAmAm GmUmGmCfAmCmAmCmGmGm UmC
115	mCmCfGmUmGmUfGfCfAmC mUfUmCmGmCmUfUmCmA	171	mUfGmAmAmGmCmGmAmAm GmUmGmCfAmCmAmCmGmG
116	mCmCmUmGmCmUfGmCfUfA fUmGmCmCmUmCmAmUmCm UmU	172	mAfAmGmAmUfGmAmGmGmC mAmUmAfGmCfAmGmCmAmG mGmAmU
117	mCmUfCmAmGmUfUfUfAmC mUfAmGmUmGmCfCmAmU	173	mAfUmGmGmCmAmCmUmAmG mUmAmAfAmCmUmGmAmGmC mC
118	mCmUmCmAmGmUfUmUmAm CmUmAmGmUmGmCmCmAm U	173	mAfUmGmGmCmAmCmUmAmG mUmAmAfAmCmUmGmAmGmC mC
119	mCmUfCmAmGmUfUfUmAmC mUmAmGmUmGmCfCmAmU	173	mAfUmGmGmCmAmCmUmAmG mUmAmAfAmCmUmGmAmGmC mC
120	mCmUfCmAmGmUfUfUfAmC mUfAmGmUmGmCfCmAmU	174	mAfUmGmGmCmAmCmUmAmG mUmAmAfAmCmUmGmAmG

Таблица 2. 2’-OMe и 2’-F-модифицированные нуклеотидные последовательности			
SEQ ID NO.	**Первая нуклеотидная последовательность (5’–3’)**	**SEQ ID NO.**	**Вторая нуклеотидная последовательность (5’–3’)**
121	mCmUfCmAmGmUfUfUmAmCmUmAmGmUmGmCfCmAmU	174	mAfUmGmGmCmAmCmUmAmGmUmAmAfAmCmUmGmAmG
122	mCmUfGmCmUmAfUfGfCmCmUfCmAmUmCmUfUmCmU	175	mAfGmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCmAfUmAmGmCmAmGmCmA
123	mCmUfGmCmUmAfUfGmCmCmUmCmAmUmCmUfUmCmU	175	mAfGmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCmAfUmAmGmCmAmGmCmA
124	mCmUfGmCmUmAfUfGfCmCmUfCmAmUmCmUfUmCmU	176	mAfGmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCmAfUmAmGmCmAmG
125	mCmUfGmCmUmAfUfGmCmCmUmCmAmUmCmUfUmCmU	176	mAfGmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCmAfUmAmGmCmAmG
126	mCmUfGmCmUmGfCfUfAmUmGfCmCmUmCmAfUmCmU	177	mAfGmAmUmGmAmGmGmCmAmUmAmGfCmAmGmCmAmGmGmA
127	mCmUfGmCmUmGfCfUfAmUmGfCmCmUmCmAfUmCmU	178	mAfGmAmUmGmAmGmGmCmAmUmAmGfCmAmGmCmAmG
128	mCmUfGmCmUmGfCfUmAmUmGmCmCmUmCmAfUmCmU	178	mAfGmAmUmGmAmGmGmCmAmUmAmGfCmAmGmCmAmG
129	mCmUmUmCmGmCfUmUfCfAfCmCmUmCmUmGmCmAmCmGmU	179	mAfCmGmUmGfCmAmGmAmGmGmUmGfAmAfGmCmGmAmAmGmUmG
130	mGmCmAmCmUmUfCmGfCfUfUmCmAmCmCmUmCmUmGmCmA	180	mUfGmCmAmGfAmGmGmUmGmAmAmGfCmGfAmAmGmUmGmCmAmC
131	mGmCfCmGmAmUfCfCfAmUmAfCmUmGmCmGfGmAmA	181	mUfUmCmCmGmCmAmGmUmAmUmGmGfAmUmCmGmGmCmAmG
132	mGmCfCmGmGmGfUfUfUmUmUfCmUmUmUmGmUfUmGmA	182	mUfUmCmCmGmCmAmGmUmAmUmGmGfAmUmCmGmGmC
133	mGmCfGmGmGmGfUfUfUmUmUfCmUmUmUmGmUfUmGmA	183	mUfCmAmAmCmAmAmGmAmAmAmAmAfCmCmCmCmGmCmCmU
134	mGmCfGmGmGmGfUfUmUmUmUmCmUmUmUmGmUfUmGmA	183	mUfCmAmAmCmAmAmGmAmAmAmAmAfCmCmCmCmGmCmCmU
135	mGmCfGmGmGmGfUfUfUmUmUfCmUmUmUmGmUfUmGmA	184	mUfCmAmAmCmAmAmGmAmAmAmAmAfCmCmCmCmGmC
136	mGmCfGmGmGmGfUfUmUmUmUmCmUmUmUmGmUfUmGmA	184	mUfCmAmAmCmAmAmGmAmAmAmAmAfCmCmCmCmGmC
137	mGmCmUmGmCmUfAmUfGfCfCmUmCmAmUmCmUmUmCmUmU	185	mAfAmGmAmAfGmAmUmGmAmGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCmAmG
138	mGmGmAmUmGmUfGmUfCfUfGmCmGmGmCmGmUmUmUmUmA	186	mUfAmAmAmAfCmGmCmCmGmCmAmGfAmCfAmCmAmUmCmCmAmG

Таблица 2. 2'-OMe и 2'-F-модифицированные нуклеотидные последовательности			
SEQ ID NO.	**Первая нуклеотидная последовательность (5'–3')**	**SEQ ID NO.**	**Вторая нуклеотидная последовательность (5'–3')**
139	mGmGfCmCmAmAfAfAfUmU mCfGmCmAmGmUfCmCmC	187	mGfGmGmAmCmUmGmCmGmA mAmUmUfUmUmGmGmCmCmA mA
140	mGmGfCmGmCmAfCfCfUmCm UfCmUmUmUmAfCmGmC	188	mGfCmGmUmAmAmAmGmAm GmAmGmGfUmGmCmGmCmCm CmC
141	mGmUfAmUmGmUfUfGfCmC mCfGmUmUmUmGfUmCmC	189	mGfGmAmCmAmAmAmCmGmG mGmCmAfAmCmAmUmAmCmC mU
142	mGmUfGmGmUmGfGfAfCmU mUfCmUmCmUmCfAmAmU	190	mAfUmUmGmAmGmAmGmAm AmGmUmCfCmAmCmCmAmCm GmA
143	mGmUfGmUmGmCfAfCfUmU mCfGmCmUmUmCfAmCmC	191	mGfGmUmGmAmAmGmCmGm AmAmGmUfGmCmAmCmAmCm GmG
144	mGmUfUmGmCmCfCfGfUmU mUfGmUmCmCmUfCmUmA	192	mUfAmGmAmGmGmAmCmAm AmAmCmGfGmGmCmAmAmCm AmU
145	mGmUfUmGmCmCfCfGfUmU mUfGmUmCmCmUfCmUmA	193	mUfAmGmAmGmGmAmCmAm AmAmCmGfGmGmCmAmAmC
146	mUmCfCmAmUmAfCfUfGmC mGfGmAmAmCmUfCmCmU	194	mAfGmGmAmGmUmUmCmCmG mCmAmGfUmAmUmGmGmAm UmC
147	mUmCfCmAmUmAfCfUfGmC mGfGmAmAmCmUfCmCmU	195	mAfGmGmAmGmUmUmCmCmG mCmAmGfUmAmUmGmGmA
148	mUmCmGmUmGmGfUmGfGfA fCmUmUmCmUmCmUmCmAm AmU	196	mAfUmUmGmAfGmAmGmAmA mGmUmCfCmAfCmCmAmCmG mAmGmU
149	mUmGfCmAmCmUfUfCfGmC mUfUmCmAmCmCfUmCmU	197	mAfGmAmGmGmUmGmAmAm GmCmGmAfAmGmUmGmCmAm CmA
150	mUmGfCmCmGmAfUfCfCmA mUfAmCmUmGmCfGmGmA	198	mUfCmCmGmCmAmGmUmAmU mGmGmAfUmCmGmGmCmAmG mA
151	mUmGfCmCmGmAfUfCfCmA mUfAmCmUmGmCfGmGmA	199	mUfCmCmGmCmAmGmUmAmU mGmGmAfUmCmGmGmCmA
152	mUmGfCmUmAmUfGfCfCmU mCfAmUmCmUmUfCmUmU	200	mAfAmGmAmAmGmAmUmGm AmGmGmCfAmUmAmGmCmAm GmC
153	mUmGfUmGmCmAfCfUfUmC mGfCmUmUmCmAfCmCmU	201	mAfGmGmUmGmAmAmGmCm GmAmAmGfUmGmCmAmCmAm CmG
154	mUmGfUmGmCmAfCfUmUmC mGmCmUmUmCmAfCmCmU	201	mAfGmGmUmGmAmAmGmCm GmAmAmGfUmGmCmAmCmAm CmG
155	mUmGfUmGmCmAfCfUfUmC mGfCmUmUmCmAfCmCmU	202	mAfGmGmUmGmAmAmGmCm GmAmAmGfUmGmCmAmCmA
156	mUmGfUmGmCmAfCfUmUmC mGmCmUmUmCmAfCmCmU	202	mAfGmGmUmGmAmAmGmCm GmAmAmGfUmGmCmAmCmA

Таблица 2. 2’-OMe и 2’-F-модифицированные нуклеотидные последовательности			
SEQ ID NO.	**Первая нуклеотидная последовательность (5’–3’)**	**SEQ ID NO.**	**Вторая нуклеотидная последовательность (5’–3’)**
157	mUmUfGmCmCmCfGfUmUmU mGmUmCmCmUmCfUmAmA	203	mUfUmAmGmAmGmGmAmCm AmAmAmCfGmGmGmCmAmAm CmA
158	mUmUfGmCmCmCfGfUfUmU mGfUmCmCmUmCfUmAmA	204	mUfUmAmGmAmGmGmAmCm AmAmAmCfGmGmGmCmAmA
mX = 2’-*O*-метилнуклеотид; fX = 2’-фторнуклеотид			

Таблица 3. 2’-*O*-метил- и 2’-фтор-модифицированные нуклеотидные последовательности с фосфоротиоатными связями			
SEQ ID NO.	**Первая нуклеотидная последовательность (5’–3’)**	**SEQ ID NO.**	**Вторая нуклеотидная последовательность (5’–3’**
205	mApsmCpsfCmGmUmGfUfGfC mAmCfUmUmCmGmCfUmUmC	261	mGpsfApsmAmGmCmGmAmAmGm UmGmCmAfCmAmCmGmGmUpsmC psmC
206	mApsmCpsfCmGmUmGfUfGfC mAmCfUmUmCmGmCfUmUmC	262	mGpsfApsmAmGmCmGmAmAmGm UmGmCmAfCmAmCmGmGmU
207	mApsmCpsfUmUmCmGfCfUfU mCmAfCmCmUmCmUfGmCmA	263	mUpsfGpsmCmAmGmAmGmGmUm GmAmAmGfCmGmAmAmGmUpsm GpsmC
208	mApsmGpsfUmGmUmUfUfGfC mUmGfAmCmGmCmAfAmCmC	264	mGpsfGpsmUmUmGmCmGmUmCm AmGmCmAfAmAmCmAmCmUpsmU psmG
209	mCpsmApsfGmGmCmGfGfGfG mUmUfUmUmUmCmUfUmGm U	265	mApsfCpsmAmAmGmAmAmAmAm AmCmCmCfCmGmCmCmUmGpsmU psmA
210	mCpsmApsfGmGmCmGfGfGfG mUmUfUmUmUmCmUfUmGm U	266	mApsfCpsmAmAmGmAmAmAmAm AmAmCmCmCfCmGmCmCmUmG
211	mCpsmApsfGmUmUmUfAfCfU mAmGfUmGmCmCmAfUmUm U	267	mApsfApsmAmUmGmGmCmAmCm UmAmGmUfAmAmAmCmUmGpsm ApsmG
212	mCpsmApsfGmUmUmUfAfCfU mAmGfUmGmCmCmAfUmUm U	268	mApsfApsmAmUmGmGmCmAmCm UmAmGmUfAmAmAmCmUmG
213	mCpsmApsfUmCmCmUfGfCfU mGmCfUmAmUmGmCfCmUmC	269	mGpsfApsmGmGmCmAmUmAmGm CmAmGmCfAmGmGmAmUmGpsm ApsmA
214	mCpsmApsmUmCmCmUfGmCf UfGfCmUmAmUmGmCmCmUm CmAmU	270	mApsfUpsmGmAmGfGmCmAmUmA mGmCmAfGmCfAmGmGmAmUmGp smApsmA
215	mCpsmApsfUmCmCmUfGfCfU mGmCfUmAmUmGmCfCmUmC	271	mGpsfApsmGmGmCmAmUmAmGm CmAmGmCfAmGmGmAmUmG
216	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	272	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAm GmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmU psmC
217	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	273	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAm GmUmGmCfAmCmAmCmGmG

Таблица 3. 2'-*O*-метил- и 2'-фтор-модифицированные нуклеотидные последовательности с фосфоротиоатными связями			
SEQ ID NO.	**Первая нуклеотидная последовательность (5'–3')**	**SEQ ID NO.**	**Вторая нуклеотидная последовательность (5'–3'**
218	mCpsmCpsmUmGmCmUfGmCfUfAfUmGmCmCmUmCmAmUmCmUmU	274	mApsfApsmGmAmUfGmAmGmGmCmAmUmAfGmCfAmGmCmAmGmGpsmApsmU
219	mCpsmUpsfCmAmGmUfUfUfAmCmUfAmGmUmGmCfCmAmU	275	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmGmUmAmAfAmCmUmGmAmGpsmCpsmC
220	mCpsmUpsmCmAmGmUfUmUmAmCmUmAmGmUmGmCmCmAmU	275	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmGmUmAmAfAmCmUmGmAmGpsmCpsmC
221	mCpsmUpsfCmAmGmUfUfUmAmCmUmAmGmUmGmCfCmAmU	275	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmGmUmAmAfAmCmUmGmAmGpsmCpsmC
222	mCpsmUpsfCmAmGmUfUfUfAmCmUfAmGmUmGmCfCmAmU	276	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmGmUmAmAfAmCmUmGmAmG
223	mCpsmUpsfCmAmGmUfUfUmAmCmUmAmGmUmGmCfCmAmU	276	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmGmUmAmAfAmCmUmGmAmG
224	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGfCmCmUfCmAmUmCmUfUmCmU	277	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCmAfUmAmGmCmAmGpsmCpsmA
225	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGmCmCmUmCmAmUmCmUfUmCmU	277	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCmAfUmAmGmCmAmGpsmCpsmA
226	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGfCmCmUfCmAmUmCmUfUmCmU	278	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCmAfUmAmGmCmAmG
227	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGmCmCmUmCmAmUmCmUfUmCmU	278	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCmAfUmAmGmCmAmG
228	mCpsmUpsfGmCmUmGfCfUfAmUmGfCmCmUmCmAfUmCmU	279	mApsfGpsmAmUmGmAmGmGmCmAmUmAmGfCmAmGmCmAmGpsmGpsmA
229	mCpsmUpsfGmCmUmGfCfUfAmUmGfCmCmUmCmAfUmCmU	280	mApsfGpsmAmUmGmAmGmGmCmAmUmAmGfCmAmGmCmAmG
230	mCpsmUpsfGmCmUmGfCfUmAmUmGmCmCmUmCmAfUmCmU	280	mApsfGpsmAmUmGmAmGmGmCmAmUmAmGfCmAmGmCmAmG
231	mCpsmUpsmUmCmGmCfUmUfCfAfCmCmUmCmUmGmCmAmCmGmU	281	mApsfCpsmGmUmGfCmAmGmAmGmGmUmGfAmAfGmCmGmAmAmGpsmUpsmG
232	mGpsmCpsmAmCmUmUfCmGfCfUfUmCmAmCmCmUmCmUmGmCmA	282	mUpsfGpsmCmAmGfAmGmGmUmGmAmAmGfCmGfAmAmGmUmGmCpsmApsmC
233	mGpsmCpsfCmGmAmUfCfCfAmUmAfCmUmGmCmGfGmAmA	283	mUpsfUpsmCmCmGmCmAmGmUmAmUmGmGfAmUmCmGmGmCpsmApsmG

Таблица 3. 2'-*O*-метил- и 2'-фтор-модифицированные нуклеотидные последовательности с фосфоротиоатными связями			
SEQ ID NO.	**Первая нуклеотидная последовательность (5'–3')**	**SEQ ID NO.**	**Вторая нуклеотидная последовательность (5'–3'**
234	mGpsmCpsfCmGmGmGfUfUfU mUmUfCmUmUmGmUfUmGm A	284	mUpsfUpsmCmCmGmCmAmGmUm AmUmGmGfAmUmCmGmGmC
235	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUfU mUmUfCmUmUmGmUfUmGm A	285	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAm AmAmAmAfCmCmCmCmGmCpsmC psmU
236	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUmU mUmUmCmUmUmGmUfUmGm A	285	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAm AmAmAmAfCmCmCmCmGmCpsmC psmU
237	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUfU mUmUfCmUmUmGmUfUmGm A	286	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAm AmAmAmAfCmCmCmCmGmC
238	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUmU mUmUmCmUmUmGmUfUmGm A	286	mUpsfCmAmAmCmAmAmGmAmA mAmAmAfCmCmCmCmGmC
239	mGpsmCpsmUmGmCmUfAmUf GfCfCmUmCmAmUmCmUmUm CmUmU	287	mApsfApsmGmAmAfGmAmUmGmA mGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCp smApsmG
240	mGpsmGpsmAmUmGmUfGmUf CfUfGmCmGmGmCmGmUmUm UmUmA	288	mUpsfApsmAmAmAfCmGmCmCmG mCmAmGfAmCfAmCmAmUmCmCp smApsmG
241	mGpsmGpsfCmCmAmAfAfAfU mUmCfGmCmAmGmUfCmCmC	289	mGpsfGpsmGmAmCmUmGmCmGm AmAmUmUfUmUmGmGmCmCpsm ApsmA
242	mGpsmGpsfCmGmCmAfCfCfU mCmUfCmUmUmUmAfCmGmC	290	mGpsfCpsmGmUmAmAmAmGmAm GmAmGmGfUmGmCmGmCmCpsmC psmC
243	mGpsmUpsfAmUmGmUfUfGfC mCmCfGmUmUmUmGfUmCmC	291	mGpsfGpsmAmCmAmAmAmCmGm GmGmCmAfAmCmAmUmAmCpsmC psmU
244	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	292	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAm AmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmG psmA
245	mGpsmUpsfGmUmGmCfAfCfU mUmCfGmCmUmUmCfAmCmC	293	mGpsfGpsmUmGmAmAmGmCmGm AmAmGmUfGmCmAmCmAmCpsmG psmG
246	mGpsmUpsfUmGmCmCfCfGfU mUmUfGmUmCmCmUfCmUmA	294	mUpsfApsmGmAmGmGmAmCmAm AmAmCmGfGmGmCmAmAmCpsmA psmU
247	mGpsmUpsfUmGmCmCfCfGfU mUmUfGmUmCmCmUfCmUmA	295	mUpsfApsmGmAmGmGmAmCmAm AmAmCmGfGmGmCmAmAmC
248	mUpsmCpsfCmAmUmAfCfUfG mCmGfGmAmAmCmUfCmCmU	296	mApsfGpsmGmAmGmUmUmCmCm GmCmAmGfUmAmUmGmGmApsm UpsmC
249	mUpsmCpsfCmAmUmAfCfUfG mCmGfGmAmAmCmUfCmCmU	297	mApsfGpsmGmAmGmUmUmCmCm GmCmAmGfUmAmUmGmGmA

Таблица 3. 2'-*O*-метил- и 2'-фтор-модифицированные нуклеотидные последовательности с фосфоротиоатными связями			
SEQ ID NO.	**Первая нуклеотидная последовательность (5'–3')**	**SEQ ID NO.**	**Вторая нуклеотидная последовательность (5'–3'**
250	mUpsmCpsmGmUmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU	298	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCmGmApsmGpsmU
251	mUpsmGpsfCmAmCmUfUfCfGmCmUfUmCmAmCmCfUmCmU	299	mApsfGpsmAmGmGmUmGmAmAmGmCmGmAfAmGmUmGmCmApsmCpsmA
252	mUpsmGpsfCmCmGmAfUfCfCmAmUfAmCmUmGmCfGmGmA	300	mUpsfCpsmCmGmCmAmGmUmAmUmGmGmAfUmCmGmGmCmApsmGpsmA
253	mUpsmGpsfCmCmGmAfUfCfCmAmUfAmCmUmGmCfGmGmA	301	mUpsfCpsmCmGmCmAmGmUmAmUmGmGmAfUmCmGmGmCmA
254	mUpsmGpsfCmUmAmUfGfCfCmUmCfAmUmCmUmUfCmUmU	302	mApsfApsmGmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCfAmUmAmGmCmApsmGpsmC
255	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfUmCmGfCmUmUmCmAfCmCmU	303	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG
256	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmU	303	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG
257	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfUmCmGfCmUmUmCmAfCmCmU	304	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmA
258	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmU	304	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmA
259	mUpsmUpsfGmCmCmCfGfUmUmUmGmUmCmCmUmCfUmAmA	305	mUpsfUpsmAmGmAmGmGmAmCmAmAmAmCfGmGmGmCmAmApsmCpsmA
260	mUpsmUpsfGmCmCmCfGfUfUmUmGfUmCmCmUmCfUmAmA	306	mUpsfUpsmAmGmAmGmGmAmCmAmAmAmCfGmGmGmCmAmA
mX = 2'-*O*-метилнуклеотид; fX = 2'-фторнуклеотид; ps = фосфоротиоатная связь			

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
307	mApsmCpsfCmGmUmGfUfGfCmAmCfUmUmCmGmCfUmUmC	363	mGpsfApsmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCmAfCmAmCmGmGmUpsmCpsmC
308	mApsmCpsfCmGmUmGfUfGfCmAmCfUmUmCmGmCfUmUmCTT	364	mGpsfApsmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCmAfCmAmCmGmGmUpsTpsT
309	mApsmCpsfUmUmCmGfCfUfUmCmAfCmCmUmCmUfGmCmA	365	mUpsfGpsmCmAmGmAmGmGmUmGmAmAmGfCmGmAmAmGmUpsmGpsmC

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
310	mApsmGpsfUmGmUmUfUfGfC mUmGfAmCmGmCmAfAmCmC	366	mGpsfGpsmUmUmGmCmGmUmCmA mGmCmAfAmAmCmAmCmUpsmUps mG
311	mCpsmApsfGmGmCmGfGfGfG mUmUfUmUmUmCmUfUmGm U	367	mApsfCpsmAmAmGmAmAmAmAmA mCmCmCfCmGmCmCmUmGpsmUps mA
312	mCpsmApsfGmGmCmGfGfGfG mUmUfUmUmUmCmUfUmGm UTT	368	mApsfCpsmAmAmGmAmAmAmAmA mAmCmCmCfCmGmCmCmUmGpsTp sT
313	mCpsmApsfGmUmUmUfAfCfU mAmGfUmGmCmCmAfUmUm U	369	mApsfApsmAmUmGmGmCmAmCmU mAmGmUfAmAmAmCmUmGpsmAps mG
314	mCpsmApsfGmUmUmUfAfCfU mAmGfUmGmCmCmAfUmUm UTT	370	mApsfApsmAmUmGmGmCmAmCmU mAmGmUfAmAmAmCmUmGpsTpsT
315	mCpsmApsfUmCmCmUfGfCfU mGmCfUmAmUmGmCfCmUmC	371	mGpsfApsmGmGmCmAmUmAmGmC mAmGmCfAmGmGmAmUmGpsmAps mA
316	mCpsmApsmUmCmCmUfGmCf UfGfCmUmAmUmGmCmCmUm CmAmU	372	mApsfUpsmGmAmGfGmCmAmUmA mGmCmAfGmCfAmGmGmAmUmGps mApsmA
317	mCpsmApsfUmCmCmUfGfCfU mGmCfUmAmUmGmCfCmUmC TT	373	mGpsfApsmGmGmCmAmUmAmGmC mAmGmCfAmGmGmAmUmGpsTpsT
318	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	374	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
319	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA TT	375	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsTpsT
320	mCpsmCpsmUmGmCmUfGmCf UfAfUmGmCmCmUmCmAmUm CmUmU	376	mApsfApsmGmAmUfGmAmGmGmC mAmUmAfGmCfAmGmCmAmGmGps mApsmU
321	mCpsmUpsfCmAmGmUfUfUfA mCmUfAmGmUmGmCfCmAmU	377	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmG mUmAmAfAmCmUmGmAmGpsmCps mC
322	mCpsmUpsmCmAmGmUfUmU mAmCmUmAmGmUmGmCmC mAmU	377	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmG mUmAmAfAmCmUmGmAmGpsmCps mC
323	mCpsmUpsfCmAmGmUfUfUmA mCmUmAmGmUmGmCfCmAm U	377	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmG mUmAmAfAmCmUmGmAmGpsmCps mC
324	mCpsmUpsfCmAmGmUfUfUfA mCmUfAmGmUmGmCfCmAmU TT	378	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmG mUmAmAfAmCmUmGmAmGpsTpsT
325	mCpsmUpsfCmAmGmUfUfUmA mCmUmAmGmUmGmCfCmAm UTT	378	mApsfUpsmGmGmCmAmCmUmAmG mUmAmAfAmCmUmGmAmGpsTpsT

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
326	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGfC mCmUfCmAmUmCmUfUmCmU	379	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmG mGmCmAfUmAmGmCmAmGpsmCps mA
327	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGmC mCmUmCmAmUmCmUfUmCm U	379	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmG mGmCmAfUmAmGmCmAmGpsmCps mA
328	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGfC mCmUfCmAmUmCmUfUmCmU TT	380	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmG mGmCmAfUmAmGmCmAmGpsTpsT
329	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGmC mCmUmCmAmUmCmUfUmCm UTT	380	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmG mGmCmAfUmAmGmCmAmGpsTpsT
330	mCpsmUpsfGmCmUmGfCfUfA mUmGfCmCmUmCmAfUmCmU	381	mApsfGpsmAmUmGmAmGmGmCmA mUmAmGfCmAmGmCmAmGpsmGps mA
331	mCpsmUpsfGmCmUmGfCfUfA mUmGfCmCmUmCmAfUmCmU TT	382	mApsfGpsmAmUmGmAmGmGmCmA mUmAmGfCmAmGmCmAmGpsTpsT
332	mCpsmUpsfGmCmUmGfCfUmA mUmGmCmCmUmCmAfUmCm UTT	383	mApsfGpsmAmUmGmAmGmGmCmA mUmAmGfCmAmGmCmAmGpsTpsT
333	mCpsmUpsmUmCmGmCfUmUf CfAfCmCmUmCmUmGmCmAm CmGmU	384	mApsfCpsmGmUmGfCmAmGmAmG mGmUmGfAmAfGmCmGmAmAmGp smUpsmG
334	mGpsmCpsmAmCmUmUfCmGf CfUfUmCmAmCmCmUmCmUm GmCmA	385	mUpsfGpsmCmAmGfAmGmGmUmG mAmAmGfCmGfAmAmGmUmGmCps mApsmC
335	mGpsmCpsfCmGmAmUfCfCfA mUmAfCmUmGmCmGfGmAm A	386	mUpsfUpsmCmCmGmCmAmGmUmA mUmGmGfAmUmCmGmGmCpsmAps mG
336	mGpsmCpsfCmGmGmGfUfUfU mUmUfCmUmUmGmUfUmGm ATT	387	mUpsfUpsmCmCmGmCmAmGmUmA mUmGmGfAmUmCmGmGmCpsTpsT
337	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUfU mUmUfCmUmUmGmUfUmGm A	388	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAmA mAmAmAfCmCmCmCmGmCpsmCps mU
338	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUmU mUmUmCmUmUmGmUfUmGm A	388	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAmA mAmAmAfCmCmCmCmGmCpsmCps mU
339	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUfU mUmUfCmUmUmGmUfUmGm ATT	389	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAmA mAmAmAfCmCmCmCmGmCpsTpsT
340	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUmU mUmUmCmUmUmGmUfUmGm ATT	389	mUpsfCmAmAmCmAmAmGmAmAm AmAmAfCmCmCmCmGmCpsTpsT
341	mGpsmCpsmUmGmCmUfAmUf GfCfCmUmCmAmUmCmUmUm CmUmU	390	mApsfApsmGmAmAfGmAmUmGmA mGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCps mApsmG

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
342	mGpsmGpsmAmUmGmUfGmUfCfUfGmCmGmGmCmGmUmUmUmUmA	391	mUpsfApsmAmAmAfCmGmCmCmGmCmAmGfAmCfAmCmAmUmCmCpsmApsmG
343	mGpsmGpsfCmCmAmAfAfAfUmUmCfGmCmAmGmUfCmCmC	392	mGpsfGpsmGmAmCmUmGmCmGmAmAmUmUfUmUmGmGmCmCpsmApsmA
344	mGpsmGpsfCmGmCmAfCfCfUmCmUfCmUmUmUmAfCmGmC	393	mGpsfCpsmGmUmAmAmAmGmAmGmAmGmGfUmGmCmGmCmCpsmCpsmC
345	mGpsmUpsfAmUmGmUfUfGfCmCmCfGmUmUmUmGfUmCmC	394	mGpsfGpsmAmCmAmAmAmCmGmGmGmCmAfAmCmAmUmAmCpsmCpsmU
346	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	395	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA
347	mGpsmUpsfGmUmGmCfAfCfUmUmCfGmCmUmUmCfAmCmC	396	mGpsfGpsmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGmUfGmCmAmCmAmCpsmGpsmG
348	mGpsmUpsfUmGmCmCfCfGfUmUmUfGmUmCmCmUfCmUmA	397	mUpsfApsmGmAmGmGmAmCmAmAmAmCmGfGmGmCmAmAmCpsmApsmU
349	mGpsmUpsfUmGmCmCfCfGfUmUmUfGmUmCmCmUfCmUmATT	398	mUpsfApsmGmAmGmGmAmCmAmAmAmCmGfGmGmCmAmAmCpsTpsT
350	mUpsmCpsfCmAmUmAfCfUfGmCmGfGmAmAmCmUfCmCmU	399	mApsfGpsmGmAmGmUmUmCmCmGmCmAmGfUmAmUmGmGmApsmUpsmC
351	mUpsmCpsfCmAmUmAfCfUfGmCmGfGmAmAmCmUfCmCmUTT	400	mApsfGpsmGmAmGmUmUmCmCmGmCmAmGfUmAmUmGmGmApsTpsT
352	mUpsmCpsmGmUmGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU	401	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCmGmApsmGpsmU
353	mUpsmGpsfCmAmCmUfUfCfGmCmUfUmCmAmCmCfUmCmU	402	mApsfGpsmAmGmGmUmGmAmAmGmCmGmAfAmGmUmGmCmApsmCpsmA
354	mUpsmGpsfCmCmGmAfUfCfCmAmUfAmCmUmGmCfGmGmA	403	mUpsfCpsmCmGmCmAmGmUmAmUmGmGmAfUmCmGmGmCmApsmGpsmA
355	mUpsmGpsfCmCmGmAfUfCfCmAmUfAmCmUmGmCfGmGmATT	404	mUpsfCpsmCmGmCmAmGmUmAmUmGmGmAfUmCmGmGmCmApsTpsT
356	mUpsmGpsfCmUmAmUfGfCfCmUmCfAmUmCmUmUfCmUmU	405	mApsfApsmGmAmAmGmAmUmGmAmGmGmCfAmUmAmGmCmApsmGpsmC
357	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfUmCmGfCmUmUmCmAfCmCmU	406	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	Последовательность смысловой цепи (5'-3')	SEQ ID NO.	Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')
358	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmU	406	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCpsmG
359	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfUmCmGfCmUmUmCmAfCmCmUTT	407	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsTpsT
360	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmUmCmGmCmUmUmCmAfCmCmUTT	407	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsTpsT
361	mUpsmUpsfGmCmCmCfGfUmUmUmGmUmCmCmUmCfUmAmA	408	mUpsfUpsmAmGmAmGmGmAmCmAmAmAmCfGmGmGmCmAmApsmCpsmA
362	mUpsmUpsfGmCmCmCfGfUfUmUmGfUmCmCmUmCfUmAmATT	409	mUpsfUpsmAmGmAmGmGmAmCmAmAmAmCfGmGmGmCmAmApsTpsT
415	5dcd3Cps5dcd3CpsfG5dcd3UmG5dcd3UfG5dfCfA5dcd3C5dcd3U5dfU5dcd3CmG5dcd3C5dcd3U5dfU5dcd3CmA	445	5dcd3UpsfGpsmAmAmG5dcd3CmGmAmAmG5dcd3UmG5dcd3CfA5dcd3CmA5dcd3CmGmGps5dcd3Ups5dcd3U
415	5dcd3Cps5dcd3CpsfG5dcd3UmG5dcd3UfG5dfCfA5dcd3C5dcd3U5dfU5dcd3CmG5dcd3C5dcd3U5dfU5dcd3CmA	446	5dcd3UpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGps5dcd3Ups5dcd3U
415	5dcd3Cps5dcd3CpsfG5dcd3UmG5dcd3UfG5dfCfA5dcd3C5dcd3U5dfU5dcd3CmG5dcd3C5dcd3U5dfU5dcd3CmA	447	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmU
416	fCpsmCpsfGmUfGmUfGfCfAmCfUmUfCmGfCmUfUmCfA	448	mUpsfGpsmAfAmGfCmGfAmAfGmUmGmCfAmCfAmCfGmGpsmUpsmC
416	fCpsmCpsfGmUfGmUfGfCfAmCfUmUfCmGfCmUfUmCfA	449	vmUpsfGpsmAfAmGfCmGfAmAfGmUmGmCfAmCfAmCfGmGpsmUpsmC
416	fCpsmCpsfGmUfGmUfGmCfAmCfUmUfCmGfCmUfUmCfA	450	mUpsfGpsmAfAmGfCmGfAmAfGmUfGmCfAmCfAmCfGmGpsmUpsmC
416	fCpsmCpsfGmUfGmUfGmCfAmCfUmUfCmGfCmUfUmCfA	451	vmUpsfGpsmAfAmGfCmGfAmAfGmUfGmCfAmCfAmCfGmGpsmUpsmC
417	fCpsmUpsfGmCfUmAfUmGfCmCfUmCfAmUfCmUfUmCfU	452	mApsfGpsmAfAmGfAmUfGmAfGmGfCmAfUmAfGmCfAmGpsmUpsmU
417	fCpsmUpsfGmCfUmAfUmGfCmCfUmCfAmUfCmUfUmCfU	452	mApsfGpsmAfAmGfAmUfGmAfGmGfCmAfUmAfGmCfAmGpsmUpsmU
417	fCpsmUpsfGmCfUmAfUmGfCmCfUmCfAmUfCmUfUmCfU	452	mApsfGpsmAfAmGfAmUfGmAfGmGfCmAfUmAfGmCfAmGpsmUpsmU
417	fCpsmUpsfGmCfUmAfUmGfCmCfUmCfAmUfCmUfUmCfU	452	mApsfGpsmAfAmGfAmUfGmAfGmGfCmAfUmAfGmCfAmGpsmUpsmU
418	fGpsmUpsfGmGfUmGfGfAfCmUfUmCfUmCfUmCfAmAfU	453	mApsfUpsmUfGmAfGmAfGmAfAmGmUmCfCmAfCmCfAmCpsmGpsmA
418	fGpsmUpsfGmGfUmGfGfAfCmUfUmCfUmCfUmCfAmAfU	454	vmApsfUpsmUfGmAfGmAfGmAfAmGmUmCfCmAfCmCfAmCpsmGpsmA
419	fGpsmUpsfGmGfUmGfGmAfCmUfUmCfUmCfUmCfAmAfU	455	mApsfUpsmUfGmAfGmAfGmAfAmGfUmCfCmAfCmCfAmCpsmGpsmA

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
419	fGpsmUpsfGmGfUmGfGmAfCmUfUmCfUmCfUmCfAmAfU	456	vmApsfUpsmUfGmAfGmAfGmAfAmGfUmCfCmAfCmCfAmCpsmGpsmA
420	mCpsmCpsfGmUfGmUfGfCfAmCmUmUmCmGmCmUmUmCmA	457	mUpsfGpsmAmAmGfCmGmAmAmGmUmGmCfAmCfAmCmGmGpsmUpsmC
421	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmAmUfUmCmGmCmUfUmCmA	458	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC
422	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	459	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmU3smU
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	460	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmG5smU5smU
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	461	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmU5smU
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	458	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	458	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	458	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	462	vmUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	463	vmUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsTpsT
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	447	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmU
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	458	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	457	mUpsfGpsmAmAmGfCmGmAmAmGmUmGmCfAmCfAmCmGmGpsmUpsmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	464	mUpsfGpsmAmAmGfCmGmAmAfGmUmGmCfAmCmAmCfGmGpsmUpsmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	465	vmBpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfAmCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	466	mesnmUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsmC

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	467	cmUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAm GmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmU psmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	468	mesnomUpsfGpsmAmAmGmCmGmA mAmGmUmGmCfAmCmAmCmGmGp smUpsmC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	469	mUpsfGpsmAmAmGfCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	470	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG fUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	471	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUfGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	472	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCfAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	473	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	474	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCfGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	475	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGfGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	476	mUpsfGpsmAfAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	477	mUpsfGpsmAmAfGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	478	mUpsfGpsmAmAmGmCfGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	479	mUpsfGpsmAmAmGmCmGfAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	480	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAfAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	481	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAfG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	482	d2vmUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmA mGmUmGmCfAmCmAmCmGmGpsm UpsmC

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUmUmCmGmCmUfUmCm A	483	mUpsfGpsmAfAmGfCmGfAmAmGm UmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUpsm C
597	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfC mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	458	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCmA mCmUmUmCmGmCmUfUmCm A	458	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
424	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfA mCmUmUmCmGmCmUmUmC mA	457	mUpsfGpsmAmAmGfCmGmAmAmG mUmGmCfAmCfAmCmGmGpsmUps mC
424	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfA mCmUmUmCmGmCmUmUmC mA	484	mUpsfGpsmAmAmGfCmGfAfAmGm UmGmCfAmCfAmCmGmGpsmUpsmC
424	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfA mCmUmUmCmGmCmUmUmC mA	485	mUpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAmGm UmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUpsmC
425	mCpsmUpsmGmCfUmAfUfGfC mCmUmCmAmUmCmUmUmC mU	486	mApsfGpsmAmAmGfAmUmGmAfGm GmCmAfUmAmGmCfAmGpsmCpsm A
425	mCpsmUpsmGmCfUmAfUfGfC mCmUmCmAmUmCmUmUmC mU	487	mApsfGpsmAmAmGfAmUmGmAmG mGmCmAfUmAfGmCmAmGpsmCps mA
425	mCpsmUpsmGmCfUmAfUfGfC mCmUmCmAmUmCmUmUmC mU	488	mApsfGpsmAmAfGmAmUfGmAmGm GmCmAfUmAmGfCmAmGpsmCpsm A
426	mCpsmUpsmGmCfUmAfUmGfC mCmUfCmAmUmCmUfUmCmU	489	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmG mGmCmAfUmAmGmCmAmGpsmCps mA
427	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUfU mUmUfCmUmUmGmUfUmGm A	490	vmUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAm AmAmAmAfCmCmCmCmGmCpsmCp smU
428	mGpsmCpsfGmGmGmGfUmUm UmUmUmCmUmUmGmUfUmG mA	491	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAmA mAmAmAfCmCmCmCmGmCpsmCps mU
429	mGpsmCpsmGmGfGmGfUfUfU mUmUmCmUmUmGmUmUmG mA	492	mUpsfCpsmAmAmCfAmAmGmAfAm AmAmAfCmCmCmCfGmCpsmCpsmU
429	mGpsmCpsmGmGfGmGfUfUfU mUmUmCmUmUmGmUmUmG mA	493	mUpsfCpsmAmAmCfAmAmGmAmA mAmAmAfCmCfCmCmGmCpsmCpsm U
429	mGpsmCpsmGmGfGmGfUfUfU mUmUmCmUmUmGmUmUmG mA	494	mUpsfCpsmAmAfCmAmAfGmAmAm AmAmAfCmCmCfCmGmCpsmCpsmU
430	mGpsmCpsmUmGfCmUmAmUf GfCfCmUmCfAmUmCmUmUfC mUmU	495	mApsfApsmGmAmAmGmAmUmGmA mGmGmCfAmUmAmGmCmAmGmCp smApsmG

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
430	mGpsmCpsmUmGfCmUmAmUfGfCfCmUmCfAmUmCmUmUfCmUmU	496	mApsfApsmGmAmAfGmAmUmGmAmGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCpsmApsmG
431	mGpsmCpsmUmGmCmUfAmUfGfCfCmUmCmAmUfCmUmUfCmUmU	497	mApsfApsmGmAmAfGmAfUfGmAmGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCpsmApsmG
432	mGpsmCpsmUmGmCmUfAmUfGfCfCmUmCmAmUmCmUmUmCmUmU	498	vmApsfApsmGmAmAfGmAmUmGmAmGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCpsmApsmG
432	mGpsmCpsmUmGmCmUfAmUfGfCfCmUmCmAmUmCmUmUmCmUmU	500	d2vmApsfApsmGmAmAfGmAmUmGmAmGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCpsmApsmG
433	mGpsmUpsfGmGfUmGfGfAfCmUmUmCmUmCmUmCmAmAmU	501	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA
434	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfAmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	502	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA
598	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmGmUfCmUmCmUmCfAmAmU	502	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	503	vmApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	501	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	504	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAfAmGmUmCfCmAmCmCfAmCpsmGpsmA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	505	vmNpsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	506	vmUpsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	507	cmUpsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	508	mesnmUpsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	509	mesnomUpsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfCmUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	510	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsmA

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	511	mApsfUpsmUfGmAmGmAmGmAmA mGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGps mA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	512	mApsfUpsmUmGfAmGmAmGmAmA mGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGps mA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	513	mApsfUpsmUmGmAmGfAmGmAmA mGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGps mA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	514	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGfAmA mGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGps mA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	515	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAfA mGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGps mA
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	516	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmA mGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsm A
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	517	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmA mGmUmCfCmAmCmCfAmCpsmGpsm A
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	518	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmA mGmUmCfCmAmCmCmAfCpsmGpsm A
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	519	d2vmApsfUpsmUmGmAmGmAmGmA mAmGmUmCfCmAmCmCmAmCpsm GpsmA
436	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUmCmUmCmUmCfUmAm U	520	mApsfUpsmUfGmAfGmAfGmAmAm GmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGpsm A
437	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAmC mUmUmCmUmCmUmCfAmAm U	502	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmA mGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGps mA
438	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfC mUmUmCmUmCmUmCmAmA mU	501	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmA mGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsm A
438	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfC mUmUmCmUmCmUmCmAmA mU	521	mApsfUpsmUmGmAfGmAfGfAmAm GmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsmA
438	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfC mUmUmCmUmCmUmCmAmA mU	522	mApsfUpsmUmGfAmGmAfGmAmAm GmUmCfCmAmCfCmAmCpsmGpsmA
439	mUpsmCpsmGmUmGmGfUmGf GfAfCmUmUmCmUmCmUmCm AmAmU	523	vmApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmA mGmUmCfCmAfCmCmAmCmGmAps mGpsmU
440	mUpsmGpsfCmCmGmAfUfCfC mAmUfAmCmUmGmCfGmGm A	524	vmUpsfCpsmCmGmCmAmGmUmAm UmGmGmAfUmCmGmGmCmApsmG psmA

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
441	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfU mCmGfCmUmUmCmAfCmCmU	525	vmApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCm GmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmC psmG
441	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfU mCmGfCmUmUmCmAfCmCmU	526	mApsfGpsmGmUmGfAmAmGmCfGm AmAmGfUmGmCmAfCmApsmCpsm G
441	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfU mCmGfCmUmUmCmAfCmCmU	527	mApsfGpsmGmUmGfAmAmGmCmG mAmAmGfUmGfCmAmCmApsmCps mG
442	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmU mCmGmCmUmUmCmAfCmCm U	525	vmApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCm GmAmAmGfUmGmCmAmCmApsmC psmG
442	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmU mCmGmCmUmUmCmAfCmCm U	528	vmApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCm GmAmAmGfUmGmCmAmCmApsTps T
442	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmU mCmGmCmUmUmCmAfCmCm U	529	d2vmApsfGpsmGmUmGmAmAmGmC mGmAmAmGfUmGmCmAmCmApsm CpsmG
443	unCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	458	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
444	unGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	502	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmA mGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGps mA
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	458	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsmUps mC
224	mCpsmUpsfGmCmUmAfUfGfC mCmUfCmAmUmCmUfUmCmU	489	mApsfGpsmAmAmGmAmUmGmAmG mGmCmAfUmAmGmCmAmGpsmCps mA
236	mGpsmCpsfGmGmGmGfUfUmU mUmUmCmUmUmGmUfUmGm A	491	mUpsfCpsmAmAmCmAmAmGmAmA mAmAmAfCmCmCmCmGmCpsmCps mU
432	mGpsmCpsmUmGmCmUfAmUf GfCfCmUmCmAmUmCmUmUm CmUmU	496	mApsfApsmGmAmAfGmAmUmGmA mGmGmCfAmUfAmGmCmAmGmCps mApsmG
435	mGpsmUpsfGmGmUmGfGfAfC mUmUfCmUmCmUmCfAmAmU	502	mApsfUpsmUmGmAmGmAmGmAmA mGmUmCfCmAmCmCmAmCpsmGps mA
442	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmU mCmGmCmUmUmCmAfCmCm U	530	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmG mAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCps mG
439	mUpsmCpsmGmUmGmGfUmGf GfAfCmUmUmCmUmCmUmCm AmAmU	531	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmA mGmUmCfCmAfCmCmAmCmGmAps mGpsmU
423	mCpsmCpsfGmUmGmUfGfCfA mCmUfUmCmGmCmUfUmCmA	532	mUpsfGpsmAmAmGmCmGmAmAmG mUmGmCfAmCmAmCmGmGpsTpsT

Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**
441	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUfU mCmGfCmUmUmCmAfCmCmU	530	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmG mAmAmGfUmGmCmAmCmApsmCps mG
442	mUpsmGpsfUmGmCmAfCfUmU mCmGmCmUmUmCmAfCmCm U	533	mApsfGpsmGmUmGmAmAmGmCmG mAmAmGfUmGmCmAmCmApsTpsT
424	mCpsmCpsmGmUfGmUfGfCfA mCmUmUmCmGmCmUmUmC mA	536	d2vd3UpsfGpsmAmAfGmCmGfAmAm GmUmGmCfAmCmAfCmGmGpsmUp smC
438	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfC mUmUmCmUmCmUmCmAmA mU	537	mApsf4PpsmUmGmAfGmAmGmAmA mGmUmCfCmAfCmCmAmCpsmGpsm A
438	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfC mUmUmCmUmCmUmCmAmA mU	538	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmA mGmUmCf2PmAfCmCmAmCpsmGps mA
438	mGpsmUpsmGmGfUmGfGfAfC mUmUmCmUmCmUmCmAmA mU	599	mApsfUpsmUmGmAfGmAmGmAmA mGmUmCfCmAfXmCmAmCpsmGps mA

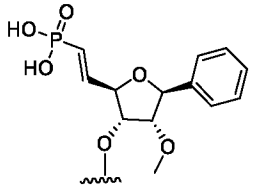
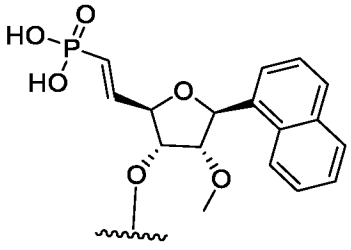
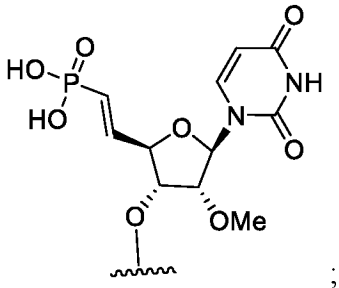
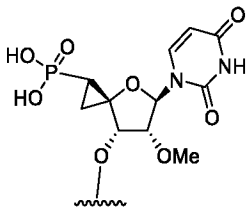
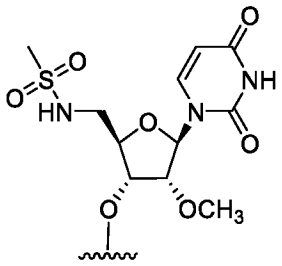
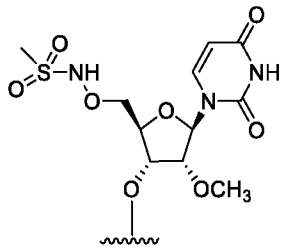
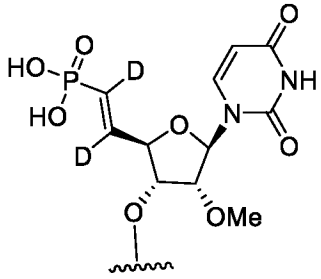
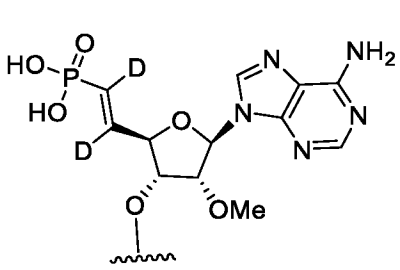
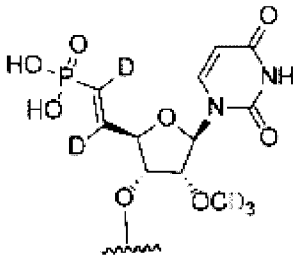
mX = 2'-*O*-метилнуклеотид; fX = 2'-фторнуклеотид; 5dcd3X = нуклеотид формулы 17; 5dfX = нуклеотид формулы 16; vX= 5'-винилфосфонатный нуклеотид; d2vX = дейтерированный 5'-винилфосфонатный нуклеотид; vmX = 5'-винилфосфонат, 2'-*O*-метилнуклеотид; vmB = ; vmN = ; VmU = ; cmU = ; mesnmU = ; mesnomU = ; d2vmU = ; d2vmA =

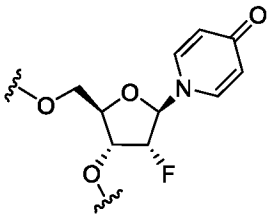
Таблица 4. Последовательности миНК			
SEQ ID NO.	**Последовательность смысловой цепи (5'-3')**	**SEQ ID NO.**	**Последовательность антисмысловой цепи (5'-3')**



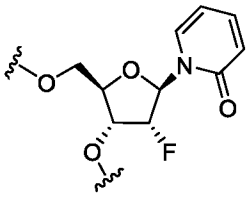
; d2vd3U =



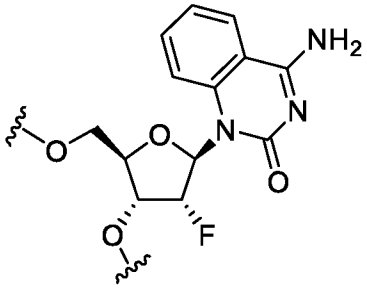
; f4P =



; f2P =



; fX =



ps= фосфоротиоатная связь

Таблица 5		
SEQ ID NO:	**Описание**	**Последовательность[+]**
410	Вирус гепатита B (№ доступа в базе данных Genbank U95551.1)	aattccacaaccttt caccaaactctgcaagatcccagagtgagaggcctgtatttccctgctggtgg ctccagttcaggagcagtaaaccctgttccgactactgcctctcccttatcgtcaatcttctcgaggatt ggggaccctgcgctgaacatggagaacatcacatcaggattcctaggacccctt ctcgtgttacagg cggggtttttcttgttgacaagaatcctcacaataccgcagagtctagactcgtggtggacttctctca attttctaggggaactaccgtgtgtcttggccaaaattcgcagtccccaacctccaatcactcacca acctcctgtcctccaacttgtcctggttatcgctggatgtgtctgcggcgttttatcatcttcctcttcatc ctgctgctatgcctcatcttcttgttggttcttctggactatcaaggtatgttgcccgtttgtcctctaattc caggatcctcaaccaccagcacgggaccatgccgaacctgcatgactactgctcaaggaacctcta tgtatccctcctgttgctgtaccaaaccttcggacggaaattgcacctgtattcccatcccatcatcctg ggctttcggaaaattcctatgggagtgggcctcagcccgtttctcctggctcagtttactagtgccattt gttcagtggttcgtagggctttcccccactgtttggctttcagttatatggatgatgtggtattgggggc caagtctgtacagcatcttgagtccctttttaccgctgttaccaattttcttttgtctttgggtatacatttaa accctaacaaaacaaagagatggggttactctctgaattttatgggttatgtcattggaagttatgggtc cttgccacaagaacacatcatacaaaaaatcaaagaatgttttagaaaacttcctattaacaggcctat tgattggaaagtatgtcaacgaattgtgggtcttttgggttttgctgccccatttacacaatgtggttatc ctgcgttaatgcccttgtatgcatgtattcaatctaagcaggctttcactttctcgccaacttacaaggcc tttctgtgtaaacaatacctgaacctttaccccgttgcccggcaacggccaggtctgtgccaagtgttt gctgacgcaacccccactggctggggcttggtcatgggccatcagcgcgtgcgtggaacctttt cg gctcctctgccgatccatactgcggaactcctagccgcttgttttgctcgcagcaggtctggagcaaa cattatcgggactgataactctgttgtcctctcccgcaaatatacatcgtatccatggctgctaggctgt gctgccaactggatcctgcgcgggacgtccttt gtttacgtcccgtcggcgctgaatcctgcggacg acccttctcggggtcgcttgggactctctcgtccccttctccgtctgccgttccgaccgaccacgggg cgcacctctctttacgcggactccccgtctgtgccttctcatctgccggaccgtgtgcacttcgcttca cctctgcacgtcgcatggagaccaccgtgaacgcccaccgaatgttgcccaaggtcttacataaga ggactcttggactctctgcaatgtcaacgaccgaccttgaggcatacttcaaagactgtttgtttaaag actgggaggagttgggggaggagattagattaaaggtctttgtactaggaggctgtaggcataaatt ggtctgcgcaccagcaccatgcaacttttcacctctgcctaatcatctcttgttcatgtcctactgttca

Таблица 5		
SEQ ID NO:	**Описание**	**Последовательность[+]**
		agcctccaagctgtgccttgggtggctttggggcatggacatcgacccttataaagaatttggagcta ctgtggagttactctcgtttttgccttctgacttctttccttcagtacgagatcttctagataccgcctcag ctctgtatcgggaagccttagagtctcctgagcattgttcacctcaccatactgcactcaggcaagca attctttgctgggggggaactaatgactctagctacctgggtgggtgttaatttggaagatccagcatct agagacctagtagtcagttatgtcaacactaatatgggcctaaagttcaggcaactcttgtggtttcac atttcttgtctcacttttggaagagaaaccgttatagagtatttggtgtctttcggagtgtggattcgcact cctccagcttatagaccaccaaatgcccctatcctatcaacacttccggaaactactgttgttagacga cgaggcaggtcccctagaagaagaactccctcgcctcgcagacgaaggtctcaatcgccgcgtcg cagaagatctcaatctcgggaacctcaatgttagtattccttggactcataaggtggggaactttactg gtctttattcttctactgtacctgtctttaatcctcattggaaaacaccatcttttcctaatatacatttacacc aagacattatcaaaaaatgtgaacagtttgtaggcccacttacagttaatgagaaaagaagattgcaa ttgattatgcctgctaggttttatccaaaggttaccaaatatttaccattggataagggtattaaaccttat tatccagaacatctagttaatcattacttccaaactagacactatttacacactctatggaaggcgggta tattatataagagagaaacaacacatagcgcctcattttgtgggtcaccatattcttgggaacaagatc tacagcatggggcagaatctttccaccagcaatcctctgggattctttcccgaccaccagttggatcc agccttcagagcaaacacagcaaatccagattgggacttcaatcccaacaaggacacctggccag acgccaacaaggtaggagctggagcattcgggctgggtttcaccccaccgcacggaggccttttg gggtggagccctcaggctcagggcatactacaaactttgccagcaaatccgcctcctgcctccacc aatcgccagacaggaaggcagcctaccccgctgtctccacctttgagaaacactcatcctcaggcc atgcagtgg
411	MCJ мРНК (№ доступа в базе данных Genbank NM_013238.3)	agtcactgccgcggcgccttgagtctccgggccgccttgccatggctgcccgtggtgtcatcgctc cagttggcgagagtttgcgctacgctgagtacttgcagccctcggccaaacggccagacgccgac gtcgaccagcagagactggtaagaagtttgatagctgtaggactgggtgttgcagctcttgcatttgc aggtcgctacgcatttcggatctggaaacctctagaacaagttatcacagaaactgcaaagaagattt caactcctagcttttcatcctactataaaggaggatttgaacagaaaatgagtaggcgagaagctggt cttattttaggtgtaagcccatctgctggcaaggctaagattagaacagctcataggagagtcatgatt ttgaatcacccagataaaggtggatctccttacgtagcagccaaaataaatgaagcaaaagacttgct agaaacaaccaccaaacattgatgcttaaggaccacactgaaggaaaaaaaaaagaggggacttcg aaaaaaaaaaaaagccctgcaaaatattctaaaacatggtcttcttaattttctatatggattgaccacag tcttatcttccaccattaagctgtataacaataaaatgttaatagtcttgctttttattatcttttaaagatctc cttaaattctataactgatctttttttcttattttgtttgtgacattcatacatttttaagattttttgttatgttctgaa ttcccccctacacacacacacacacacacacacacacacacgtgcaaaaaatatgatcaagaatgc aattgggatttgtgagcaatgagtagacctcttattgtttatatttgtaccctcattgtcaatttttttttagg gaatttgggactctgcctatataaggtgttttaaatgtcttgagaacaagcactggctgatacctcttgg agatatgatctgaaatgtaatggaatttattaaatggtgtttagtaaagtaggggttaaggacttgttaaa gaaccccactatctctgagaccctatagccaaagcatgaggacttggagagctactaaaatgattca ggtttacaaaatgagccctgtgaggaaaggttgagagaagtctgaggagtttgtatttaattatagtctt ccagtactgtatattcattcattactcattctacaaatatttattgaccccttttgatgtgcaaggcactatc gtgcgtcccctgagagttgcaagtatgaagcagtcatggatcatgaaccaaaggaacttatatgtag aggaaggataaatcacaaatagtgaatactgttagatacagatgatatattttaaaagttcaaaggaag aaaagaatgtgttaaacactgcatgagaggaggaataagtggcatagagctaggctttagaaaaga aaaatattccgataccatatgattggtgaggtaagtgttattctgagatgagaattagcagaaatagat atatcaatcggagtgattagagtgcagggtttctggaaagcaaggtttggacagagtggtcatcaaa ggccagccctgtgacttacactgcattaaattaatttcttagaacatagtccctgatcattatcactttact attccaaaggtgagagaacagattcagatagagtgccagcattgtttcccagtattcctttacaaatctt gggttcattccaggtaaactgaactactgcattgtttctatcttaaaatacttttagatatcctagatgcat ctttcaacttctaacattctgtagtttaggagttctcaaccttggcattattgacatgttaggccaaataatt ttttttgtgggaggtctcttgtgcgttttagatgattagcaataatccctgacctgttatctactaaagact agtcgtttctcatcagttgtgacaacaaaaatggttccagatattgccaaatgccctttagaggacagt

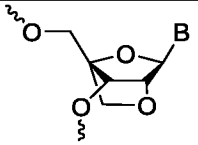
Таблица 5		
SEQ ID NO:	**Описание**	**Последовательность[+]**
		aatcgccccagttgagaaccatttcagtaaaactttaattactatttttttcttttggtttataaaataatgat cctgaattaaattgatggaaccttgaagtcgataaaatatatttcttgctttaaagtccccatacgtgtcct actaattttctcatgctttagtgttttcacttttctcctgttatccttgtacctaagaatgccatcccaatccc cagatgtccacctgcccaaagtctaggcatagctgaaggccaagctaaaatgtatccctctttttctgg tacatgcagcaaaagtaatatgaattatcagctttctgagagcaggcattgtatctgtcttgtttggtgtt acattggcacccaataaatatttgttgagtgaatgaataaattcccatagcactttattcttcacatggta cataactataggggctatagcttggtaccttgtgaagcaactcttggtgtaacataccttatttctcatac taaaatgcaagaacctttagagcaaggatcttgccattcatctttgtaacctctttactctggagcacttg catttagcaggcatcataaagttttacgtaccaagaaaatgttgctgttttctgaatactatgcatcaaaa aatgttaccactaatttttaaagctctgctaaggaatattggggcaccctcagatgcacctttttaattgat gtcatattttcctaatccatactttattcatgagaatttgagtcaccccagcattagcttggaatttccttatt tcccatttgctttgcaggtgccttggagtcagatctggttttgaatactatcttcctgttatgtgatcttgg gcagttacttaattttctagtcaataacccgtatctataaaatagagaaaataatcctacacaccggggg cctgttgtggggcggggagagggggggagggatcgcatttggagatatactaatgtaaatgacaagt taattggtgcagcacaccaacatggctcatgtctacatatgtaacaaacctgcacgttgtgcacatgtg ccctagaacttaaagtataataaaaagaaattttaaaaaatcctgtcaaataaggttatagtagagaata aggatgtgtaaagcatttagtcacgtaaatgcttaaaaaaatgtaatttttacttctttcactgcctcattta attagttttatctttaataatacctggattcagggtaaagtttcagttatgtcccagtaatcatttatttttacc ctcgaatctgcaatttggatagaacatggtggggacagctcgtctctattccttgcagcattaacagg ctggaggcaccacttctctggccagcaagttgggcctggttgttggctgagagcctcagttcctttct gcacaggttcctctttacataggcttctcaacagggctactagagcatcgtcaccatagcagctgtctt ataacagagagtggtcggtctgagagacaaaaaatggaagctgccaaattgttctgggtctggaaa ctgtcagggcatcacttgtgccatattcagttggcctaagaattacagagcctgcctcgattcaaagg gagaggatagagaggactgaaggaatcagtgctcatctttaatatgcagcaggacaggtttgggatt ttttttccccccttgagtctgtgaaggcattacttaagaacaaagtcaggcatgtataattgaactacagtt acttgaaatataagcccagaaagtttcagataataaatacaactatttttctgctgttacccttgtacctaa agatgccatcctaatccccagatctccacaactatacctacatagtagaaggttaaaatgtatccctctt tttctggtgcatccagcaaaagtaatatcatgaattatgagctctctgagagcaaggatcatatcagtct tgtttattgttgcagtgaacaagtacagttgcagatattcaggagtaattatctaaatggcagtaggctt ataaaactgaattttcaccagccacaccctccccccaactccttatctgtaaaaagcttatttgagtggt tacctgtcttcagtaaagattgcgcttgcatatttgctgtcattgcatattctgcttaattaagctctgttga tattgcagtttctgtgcatacttacatcttagatgcaatctgagggcctaggaaggccttttaaaaataa aacaattccgattgcagagaaagtgtaagtcaaggacagttaattcaaggggaacatagaaagctat ttagattttagttgatggtgccagtcttcagcgtaaagtcaaaagtggagggaagtttagtaaggaaa aaatgttgggcttggaatacattgtttagtcttcaaagcactttacttttatgaaatatattttagacattca gcaaatattgaatacttactatatcaggcagtaaagatataaattcattcttaaaatgtgcaacatgttca aactgaaaaaaatacattcttaaacaggaaacttttccttcatacttttaattaacaagacatataaga gttgcattaatgggcgtgcttatgattgatcacccagcagcatcattagaaataatatattttattcatgt gcagaaatcttttggttgtcctggggaaccttgaacacagaaaagagcttttattgataaggtaattga acacacttgacaattagcttaatatggtttaataccatttgtgggagaagatgaatcagccaggctctttt acgtcaagaatatgaagtttctcttgagtcaaccaacttaagatgagctacggagactgcagtgaaaa gttaaatatccaagtacaccagccaatttcacacagtggaaccatgctgtcctcgggcaccctgcac ctcgcccaacagtcatcaactagatggaggctcctggctgcaaggaggatttgatgggaatgagta aatgtgtcagcatagtccgtcccttctaatggaaaagcaacccaaagagcaaatcctattaatggctg gatcagtatcatctacttgtcaaaaacattccatgaattatgagtcaaaatttttatttatggtggcattaca cacattaagagatgaggacttctgttagcataatttattagctggaaaagttgagaaggttctctggact cattttataggtggaacctaagtgatctggataattgcccaccagcaaaattgctgggcatggtgga caaagaaaatgttccttctaatgatttttatgagctgagtagctattgttcccagctgagtgctcttttcct cttttattgttgctgagcaaaagaatttataaaaagctctttcttttgtattaaaaaccctgctcaattgaa

Таблица 5		
SEQ ID NO:	**Описание**	**Последовательность[+]**
		atgcaagttcattaagtaatcttcatttctcttcctgccataataacccttccctctctgttcgattcaaca gtatctagcagcactgctccaaattttaagtctgaacagactatattacatagatgtagagaaatactca atcttcagcattaagagggagcttaatttcacacgggtggaatatgatcactcaggctagatgttggc cataaatttcaaattagtatctcaacttagcaggggggatcaacagtggcaaacttcaattatgacagg ataaaaatcacatagagatattggttcaatatggacatctaaactataatgctaaaagccaataattaga ataagttcattttaagaaaagcattaataatattagctaacgtttagtacctgtgccaaacattctacctat gttaccttgattttcatagccagcctaagaggtactattatgtatccccattttacaggttaagaaacagg ctcagaggagtttaggatcttttccaagattacatagccagtaagtggtggcactaggaaccaaattc agactctgaatcgcatgctgtttatattatattgcactcattctaaatatgtgggaatcagaatgaaggg gcttgtatgacttttggctcatttttgatgcatgtgacctgggattataaatgtgaaattaggtttacgaa aggatccagtgtcattgtgcatcatgggcaaggagtacctaatctctttaattcttccctggaagcttac gatgtccatccaagtgcacatagcaaaagttctgttgtaaagtttagcagagtgactttctttgactcag agtgatgacggaggaagctttgataagattttatctgaaatgttcatggacaagagctttcaaggaga acatccagagcaaggttctgaagacagctcatgaaggtgaagcagcagacctggcacaagaaatg aagagagagctcagtgtattaaagatgaaaacaagaaaaccgaatatattgaaaggagcagagag gcaatgaaaacaagacaactgaaatgaggtaacttgcagcaattgaaagggaatttcagtacttttat agaattcttaaaaattgtttcctgctgtttattttcaattttgaacagggttatttgtccatgccatacttttttt gccaaattccaaaattgtgtatagttctatagttgtctggtggagtcaatggaactttagttaccagtcta agaatgtgtctttgagattgtccagttaattctctatttccagtagctgtaataaatggtgaaaaggtttct gactcctggagaaagtttctaactccttatgactaatattcataacagacttgtgagttccttgaacatgg atacacctatatgcaagagtgtattccaaagctaactcagtgatctttccatttatctattcttggattagt ggtgcctttgctctttccttctgtaaatgtgaatagttaagagttgactgcagaagtgtttacactttggct tccatgcctctggaatgtttgtgctttggtggtgagatgtgagactatatttgtatagtctgcatctctcag gctgccccagaatgttgtacagtgcagtgctgaagaaagcagcaggtacacacagaaatgcagcc tttcctggttaaccctgcttggatctgagttacactttgtttcctgacttcttgggacttaggtaatcagttt gccttctactctatctcattttgtactcgcttacatactacattcttgtttgggctttcgtttcttcttgtaagc agagatttttttaaaatccaatatgtgaaaatacggatgcactacaattaaataaataaaatgctgttgtgt ttgttttgctttaaaattgtaaaggataaacaataagatagttttatctatgtggttttcccgatgcagttaa aataaaacctaatctgctaaaattgaa
412	TAZ (№ доступа в базе данных Genbank NM_000116.5)	gctttccggcggttgcaccgggccggggtgccagcgcccgccttcccgtttcctcccgttccgcag cgcgcccacggcctgtgaccccggcgaccgctccccagtgacgagagagcggggccgggcgc tgctccggcctgacctgcgaagggacctcggtccagtcccctgttgcgccgcgccccgtccgtcc gtgcgcgggccagtcaggggccagtgtctcgagcggtcgaggtcgcagacctagaggcgcccc acaggccggcccggggcgctgggagcgccggccgcgggccgggtggggatgcctctgcacgt gaagtggccgttccccgcggtgccgccgctcacctggaccctggccagcagcgtcgtcatgggct tggtgggcacctacagctgcttctggaccaagtacatgaaccacctgaccgtgcacaacagggag gtgctgtacgagctcatcgagaagcgaggcccggccacgcccctcatcaccgtgtccaatcacca gtcctgcatggacgaccctcatctctgggggatcctgaaactccgccacatctggaacctgaagttg atgcgttggacccctgcagctgcagacatctgcttcaccaaggagctacactcccacttcttcagctt gggcaagtgtgtgcctgtgtgccgaggagcagaatttttccaagcagagaatgaggggaaaggtg ttctagacacaggcaggcacatgccaggtgctggaaaaagaagagagaaaggagatggcgtcta ccagaaggggatggacttcattttggagaagctcaaccatggggactgggtgcatatcttcccagaa gggaaagtgaacatgagttccgaattcctgcgtttcaagtggggaatcgggcgcctgattgctgagt gtcatctcaaccccatcatcctgcccctgtggcatgtcggaatgaatgacgtccttcctaacagtccg ccctacttcccccgctttggacagaaaatcactgtgctgatcgggaagcccttcagtgccctgcctgt actcgagcggctccgggcggagaacaagtcggctgtggagatgcggaaagccctgacggacttc attcaagaggaattccagcatctgaagactcaggcagagcagctccacaaccacctccagcctgg gagataggccttgcttgctgccttctggattcttggcccgcacagagctggggctgagggatggact gatgcttttagctcaaacgtggcttttagacagatttgttcatagaccctctcaagtgccctctccgagc

Таблица 5		
SEQ ID NO:	**Описание**	**Последовательность[+]**
		tggtaggcattccagctcctccgtgcttcctcagttacacaaaggacctcagctgcttctcccacttgg ccaagcagggaggaagaagcttaggcagggctctctttccttcttgccttcagatgttctctcccagg ggctggcttcaggagggagcatagaaggcaggtgagcaaccagttggctaggggagcaggggg cccaccagagctgtggagaggggaccctaagactcctcggcctggctcctacccaccgcccttgc cgaaccaggagctgctcactacctcctcagggatggccgttggccacgtcttccttctgcctgagctt ccccccccaccacaggccctttcctcaggcaaggtctggcctcaggtgggccgcaggcgggaaaa gcagcccttggccagaagtcaagcccagccacgtggagcctagagtgagggcctgaggtctggc tgcttgcccccatgctggcgccaacaacttctccatcctttctgcctctcaacatcacttgaatcctagg gcctgggttttcatgtttttgaaacagaaccataaagcatatgtgttggcttgttgtaaaa
413	ANGPTL3 (№ доступа в базе данных Genbank NM_014495.4)	agaagaaaacagttccacgttgcttgaaattgaaaatcaagataaaaatgttcacaattaagctccttc ttttattgttcctctagttatttcctccagaattgatcaagacaattcatcatttgattctctatctccagag ccaaaatcaagatttgctatgttagacgatgtaaaaattttagccaatggcctccttcagttgggacatg gtcttaaagactttgtccataagacgaagggccaaattaatgacatatttcaaaaactcaacatatttga tcagtctttttatgatctatcgctgcaaaccagtgaaatcaaagaagaagaaaaggaactgagaaga actacatataaactacaagtcaaaaatgaagaggtaaagaatatgtcacttgaactcaactcaaaactt gaaagcctcctagaagaaaaaattctacttcaacaaaaagtgaaatatttagaagagcaactaactaa cttaattcaaaatcaacctgaaactccagaacacccagaagtaacttcacttaaaacttttgtagaaaa acaagataatagcatcaaagaccttctccagaccgtggaagaccaatataaacaattaaaccaacag catagtcaaataaaagaaatagaaaatcagctcagaaggactagtattcaagaacccacagaaattt ctctatcttccaagccaagagcaccaagaactactccctttcttcagttgaatgaaataagaaatgtaa aacatgatggcattcctgctgaatgtaccaccatttataacagaggtgaacatacaagtggcatgtat gccatcagacccagcaactctcaagttttcatgtctactgtgatgttatatcaggtagtccatggacatt aattcaacatcgaatagatggatcacaaaacttcaatgaaacgtgggagaactacaaatatggttttg ggaggcttgatggagaattttggttgggcctagagaagatatactccatagtgaagcaatctaattat gttttacgaattgagttggaagactggaaagacaacaaacattatattgaatattctttttacttgggaaa tcacgaaaccaactatacgctacatctagttgcgattactggcaatgtccccaatgcaatcccggaaa acaaagatttggtgttttctacttgggatcacaaagcaaaaggacacttcaactgtccagagggttatt caggaggctggtggtggcatgatgagtgtggagaaaacaacctaaatggtaaatataacaaaccaa gagcaaaatctaagccagagaggagaagaggattatcttggaagtctcaaaatggaaggttatactc tataaaatcaaccaaaatgttgatccatccaacagattcagaaagctttgaatgaactgaggcaaattt aaaaggcaataatttaaacattaacctcattccaagttaatgtggtctaataatctggtattaaatccttaa gagaaagcttgagaaatagatttttttttatcttaaagtcactgtctatttaagattaaacatacaatcacat aaccttaaagaataccgtttacatttctcaatcaaaattcttataatactatttgttttaaattttgtgatgtg ggaatcaattttagatggtcacaatctagattataatcaataggtgaacttattaaataacttttctaaata aaaaatttagagacttttatttttaaaaggcatcatatgagctaatatcacaactttcccagtttaaaaaact agtactcttgttaaaactctaaacttgactaaatacagaggactggtaattgtacagttcttaaatgttgt agtattaatttcaaaactaaaaatcgtcagcacagagtatgtgtaaaaatctgtaatacaaatttttaaac tgatgcttcattttgctacaaaataatttggagtaaatgtttgatatgatttatttatgaaacctaatgaagc agaattaaatactgtattaaaataagttcgctgtctttaaacaaatggagatgactactaagtcacattg actttaacatgaggtatcactataccttatttgttaaaatatatactgtatacattttatatattttaacactta atactatgaaaacaaataattgtaaaggaatcttgtcagattacagtaagaatgaacatatttgtggcat cgagttaaagtttatatttcccctaaatatgctgtgattctaatacattcgtgtaggttttcaagtagaaat aaacctcgtaacaagttactgaacgtttaaacagcctgacaagcatgtatatatgtttaaaattcaataa acaaagacccagtccctaaattatagaaatttaaattattcttgcatgtttatcgacatcacaacagatcc ctaaatccctaaatccctaaagattagatacaaatttttaccacagtatcacttgtcagaatttatttttaa atatgatttttaaaactgccagtaagaaattttaaattaaacccatttgttaaaggatatagtgcccaagt tatatggtgacctacctttgtcaatacttagcattatgtatttcaaattatccaatatacatgtcatatatattt ttatatgtcacatatataaaagatatgtatgatctatgtgaatcctaagtaaatattttgttccagaaaagt acaaaataataaaggtaaaaataatctataattttcaggaccacagactaagctgtcgaaattaacgct

Таблица 5		
SEQ ID NO:	**Описание**	**Последовательность[+]**
		gatttttttagggccagaataccaaaatggctcctctcttcccccaaaattggacaatttcaaatgcaaa ataattcattatttaatatatgagttgcttcctctatttggtttcc
414	DGAT2 (№ доступа в базе данных Genbank NM_001253891.1)	tgccccgttgtgaggtgataaagtgttgcgctccgggacgccagcgccgcggctgccgcctctgct ggggtctaggctgtttctctcgcgccaccactggccgccggccgcagctccaggtgtcctagccgc ccagcctcgacgccgtcccgggacccctgtgctctgcgcgaagccctggccccgggggccgggg gcatgggccaggggcgcggggtgaagcggcttccgcggggccgtgactgggcgggcttcagc catgaagaccctcatagccgcctactccggggtcctgcgcggcgagcgtcaggccgaggctgac cggagccagcgctctcacggaggacctgcgctgtcgcgcgaggggtctgggagatggggagtg gcctgcagtgccatcctcatgtacatattctgcactgattgctggctcatcgctgtgctctacttcacttg gctggtgtttgactggaacacacccaagaaaggtggcaggaggtcacagtgggtccgaaactggg ctgtgtggcgctactttcgagactactttcccatccagctggtgaagacacacaacctgctgaccacc aggaactatatctttggataccacccccatggtatcatgggcctgggtgccttctgcaacttcagcac agaggccacagaagtgagcaagaagttcccaggcatacggccttacctggctacactggcaggca acttccgaatgcctgtgttgagggagtacctgatgtctggaggtatctgccctgtcagccgggacac catagactatttgctttcaaagaatgggagtggcaatgctatcatcatcgtggtcgggggtgcggctg agtctctgagctccatgcctggcaagaatgcagtcaccctgcggaaccgcaagggctttgtgaaact ggccctgcgtcatggagctgacctggttcccatctactcctttggagagaatgaagtgtacaagcag gtgatcttcgaggagggctcctggggccgatgggtccagaagaagttccagaaatacattggtttcg ccccatgcatcttccatggtcgaggcctcttctcctccgacacctgggggctggtgccctactccaag cccatcaccactgttgtgggagagcccatcaccatccccaagctggagcacccaacccagcaaga catcgacctgtaccacaccatgtacatggaggccctggtgaagctcttcgacaagcacaagaccaa gttcggcctcccggagactgaggtcctggaggtgaactgagccagccttcggggccaattccctg gaggaaccagctgcaaatcacttttttgctctgtaaatttggaagtgtcatgggtgtctgtgggttattta aaagaaattataacaattttgctaaaccattacaatgttaggtctttttaagaaggaaaaagtcagtattt caagttctttcacttccagcttgccctgttctaggtggtggctaaatctgggcctaatctgggtggctca gctaacctctcttcttcccttcctgaagtgacaaaggaaactcagtcttcttggggaagaaggattgcc attagtgacttggaccagttagatgattcacttttgcccctagggatgagaggcgaaagccacttctc atacaagccccttattgccactaccccacgctcgtctagtcctgaaactgcaggaccagtttctctgc caaggggaggagttggagagcacagttgccccgttgtgtgagggcagtagtaggcatctggaatg ctccagtttgatctcccttctgccacccctacctcacccctagtcactcatatcggagcctggactggc ctccaggatgaggatgggggtggcaatgacaccctgcaggggaaaggactgccccccatgcacc attgcagggaggatgccgccaccatgagctaggtggagtaactggtttttcttgggtggctgatgac atggatgcagcacagactcagccttggcctggagcacatgcttactggtggcctcagtttaccttccc cagatcctagattctggatgtgaggaagagatccctcttcagaaggggcctggccttctgagcagca gattagttccaaagcaggtggcccccgaacccaagcctcacttttctgtgccttcctgaggggggttg ggccggggaggaaacccaaccctctcctgtgtgttctgttatctcttgatgagatcattgcaccatgtc agacttttgtatatgccttgaaaataaatgaaagtgagaatcctctaaaaaaaaaaaa
596	HBV № KC315400.1 доступа в базе данных Genbank	ctccaccactttccaccaaactcttcaagatcccagagtcagggccctgtactttcctgctggtggctc aagttccggaacagtaaaccctgctccgactactgcctctcccatatcgtcaatcttctcgaggactg gggaccctgtaccgaatatggagagcaccacatcaggattcctaggacccctgctcgtgttacagg cggggtttttcttgttgacaagaatcctcacaataccacagagtctagactcgtggtggacttctctca attttctagggggagcacccacgtgtcctggccaaaatttgcagtccccaacctccaatcactcacca acctcttgtcctccaatttgtcctggttatcgctggatgtgtctgcggcgttttatcatcttcctcttcatcc tgctgctatgcctcatcttcttgttggttcttctggactaccaaggtatgttgcccgtttgtcctctacttcc aggaacatcaactaccagcaccggaccatgcaaaacctgcacaactactgctcaagggacctctat gtttccctcatgttgctgtacaaaacctacggacggaaactgcacctgtattcccatcccatcatcttgg gctttcgcaaaatacctatgggagtgggcctcagtccgtttctcttggctcagtttactagtgccatttgt tcagtggttcgtagggctttcccccactgtctggctttcagttatatggatgatgtggttttgggggcca agtctgtacaacatcttgagtccctttataccgctgttaccaattttcttttatctttgggtatacatttaaac

Таблица 5		
SEQ ID NO:	**Описание**	**Последовательность[+]**
		cctcacaaaacaaaaagatggggatattcccttaacttcatgggatatgtaattgggagttggggcac tttgcctcaggaacatattgtacaaaaaatcaagcaatgttttaggaaacttcctgtaaacaggcctatt gattggaaagtatgtcaacraattgtgggtcttttggggtttgccgccccctttcacgcaatgtggatatc ctgctttaatgcctttatatgcatgtatacaagctaagcaggcttttactttctcgccaacttacaaggcct ttctgtgtaaacaatatctgaaccttttaccccgttgctcggcaacggtcaggtctttgccaagtgtttgct gacgcaacccccactggttggggcttggccataggccatcagcgcatgcgtggaacctttgtggct cctctgccgatccatactgcggaactcctagcagcttgttttgctcgcagccggtctggagcaaaact tatcggcaccgacaactctgttgtcctctctcggaaatacacctcctttccatggctgctaggatgtgct gccaactggatcctgcgcgggacgtcctttgtctacgtcccgtcggcgctgaatcccgcggacgac ccatctcggggccgtttgggactctaccgtccccttctgcgtctgccgttccgcccgaccacggggc gcacctctctttacgcggtctccccgtctgtgccttctcatctgccggaccgtgtgcacttcgcttcacc tctgcacgtcgcatggagaccaccgtgaacgcccacgggaacctgcccaaggtcttgcataagag gactcttggactttcagcaatgtcaacgaccgaccttgaggcatacttcaaagactgtgtgtttactga gtgggaggagttgggggaggaggttaggttaaaggtctttgtactaggaggctgtaggcataaattg gtgtgttcaccagcaccatgcaacttttcacctctgcctaatcatctcatgttcatgtcctactgttcaag cctccaagctgtgccttgggtggctttggggcatggacattgacccgtataaagaatttggagcttct gtggagttactctcttttttgccttctgacttctttccttctattcgagatctcctcgacaccgcctctgctct gtatcgggaggccttagagtctccggaacattgttcacctcaccatacggcactcaggcaagcaatt ctgtgttggggtgagttaatgaatctagccacctgggtgggaagtaatttggaagatccagcatcca gggaattagtagtcagctatgtcaacgttaatatgggcctaaaaatcagacaactattgtggtttcaca tttcctgtcttacttttgggagagaaactgttcttgaatatttggtgtcttttggagtgtggattcgcactcc tcctgcatatagaccacaaaatgcccctatcttatcaacacttccggaaactactgttgttagacgaag aggcaggtcccctagaagaagaactccctcgcctcgcagacgaaggtctcaatcgccgcgtcgca gaagatctcaatctcgggaatctcaatgttagtattccttggacacataaggtgggaaactttacggg gctttattcttctacggtaccttgctttaatcctaaatggcaaactccttcttttcctgacattcatttgcag gaggacattgttgatagatgtaagcaatttgtggggccccttacagtaaatgaaaacaggagacttaa attaattatgcctgctaggttttatcccaatgttactaaatatttgcccttagataaagggatcaaaccgta ttatccagagtatgtagttaatcattacttccagacgcgacattatttacacactctttggaaggcgggg atcttatataaaagagagtccacacgtagcgcctcattttgcgggtcaccatattcttgggaacaagat ctacagcatgggaggttggtcttccaaacctcgaaaaggcatggggacaaatctttctgtccccaatc ccctgggattcttccccgatcatcagttggaccctgcattcaaagccaactcagaaaatccagattgg gacctcaacccacacaaggacaactggccggacgccaacaaggtgggagtgggagcattcggg ccagggttcacccctcctcatgggggactgttggggtggagccctcaggctcagggcatattcaca acagtgccagcagctcctcctcctgcctccaccaatcggcagtcaggaaggcagcctactcccttct ctccacctctaagagacactcatcctcaggccatgcagtggaa
534	ASO 1	GalNAc4-ps-GalNAc4-ps-GalNAc4-po-mA-po- lnGpslnApslnTpslnApslnApsApsAps(5OH)CpsGps(5m)Cps(5m)Cps Gps(5m)CpslnApslnGpslnApscp(5m)C
535	ASO 2	mA-po- lnGpslnApslnTpslnApslnApsApsAps(5OH)CpsGps(5m)Cps(5m)Cps Gps(5m)CpslnApslnGpslnApscp(5m)C

[+]ln = Заблокированная нуклеиновая кислота (LNA) = 

; lnA = Заблокированная нуклеиновая кислота (LNA) A; ln(5m)C = ln(5m)C = Заблокированная нуклеиновая кислота (LNA)–5 метил C; lnG= Заблокированная нуклеиновая кислота (LNA) G; lnT= Заблокированная нуклеиновая кислота (LNA) T; (5m)C=5 метил C; cp = scp

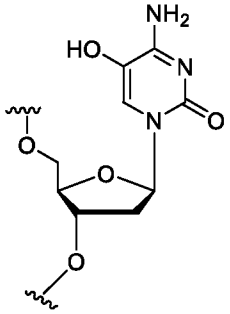
Таблица 5		
SEQ ID NO:	**Описание**	**Последовательность[+]**
= циклопропил; cpC = scpC = циклопропил C; scp(5m)C =циклопропил–5 метил C; (5OH)C  = ; po = фосфодиэфирная связь; ps = фосфоротиоатная связь		

Таблица 6. Активность миНК				
№ дц-миНК	**Смысловая цепь SEQ ID NO.**	**Антисмысловая цепь SEQ ID NO.**	**HepG2.2.15 in vitro EC50***	**HepG2.2.15 in vitro CC50 (нМ)**
дц-миНК-001	307	363	A	>40
дц-миНК-002	308	364	A	>40
дц-миНК-003	309	365	B	>40
дц-миНК-004	310	366	B	>40
дц-миНК-005	311	367	B	>40
дц-миНК-006	312	368	C	>40
дц-миНК-007	313	369	A	>40
дц-миНК-008	314	370	A	>40
дц-миНК-009	315	371	B	>40
дц-миНК-010	316	372	A	>40
дц-миНК-011	317	373	B	>40
дц-миНК-012	318	374	A	>40
дц-миНК-013	319	375	A	>40
дц-миНК-014	320	376	B	>40
дц-миНК-015	321	377	A	>40
дц-миНК-016	322	377	C	>40
дц-миНК-017	323	377	A	>40
дц-миНК-018	324	378	A	>40
дц-миНК-019	325	378	A	>40
дц-миНК-020	326	379	A	>40
дц-миНК-021	327	379	B	>40
дц-миНК-022	328	380	A	>40
дц-миНК-023	329	380	B	>40
дц-миНК-024	330	381	A	>40
дц-миНК-025	331	382	A	>40
дц-миНК-026	332	383	C	>40
дц-миНК-027	333	384	A	>40
дц-миНК-028	334	385	B	>40
дц-миНК-029	335	386	A	>40
дц-миНК-030	336	387	C	>40
дц-миНК-031	337	388	A	>40

Таблица 6. Активность миНК				
№ дц-миНК	**Смысловая цепь SEQ ID NO.**	**Антисмысловая цепь SEQ ID NO.**	**HepG2.2.15 in vitro EC50***	**HepG2.2.15 in vitro CC50 (нМ)**
дц-миНК-032	338	388	C	>40
дц-миНК-033	339	389	B	>40
дц-миНК-034	340	389	C	>40
дц-миНК-035	341	390	A	>40
дц-миНК-036	342	391	A	>40
дц-миНК-037	343	392	B	>40
дц-миНК-038	344	393	A	>40
дц-миНК-039	345	394	A	>40
дц-миНК-040	346	395	A	>40
дц-миНК-041	347	396	C	>40
дц-миНК-042	348	397	A	>40
дц-миНК-043	349	398	B	>40
дц-миНК-044	350	399	A	>40
дц-миНК-045	351	400	A	>40
дц-миНК-046	352	401	A	>40
дц-миНК-047	353	402	A	>40
дц-миНК-048	354	403	A	>40
дц-миНК-049	355	404	B	>40
дц-миНК-050	356	405	A	>40
дц-миНК-051	357	406	A	>40
дц-миНК-052	358	406	A	>40
дц-миНК-053	359	407	A	>40
дц-миНК-054	360	407	A	>40
дц-миНК-055	361	408	A	>40
дц-миНК-056	362	409	A	>40
дц-миНК-0164	423	482		
*A = EC50 < 0,5 нМ; B = 0,5 нМ < EC50 < 1; C = EC50 > 1 нМ				

Таблица 10. Активность миНК						
№ дц-миНК	**Смысловая цепь SEQ ID NO.**	**Мономер 3' лиганда$^{+}$**	**Антисмысловая цепь SEQ ID NO**	**HepG2.2.15 EC50***	**HepG2.2.15 CC50 (нМ)**	**Максимальный нокдаун HBsAg (Log_{10}) ****
дц-миНК-057	415	p-(PS)2-GalNac4	445	НО	НО	X
дц-миНК-058	415	p-(PS)2-GalNac4	446	НО	НО	X
дц-миНК-059	415	p-(PS)2-GalNac4	447	НО	НО	Y
дц-миНК-060	416	p-(PS)2-GalNac4	448	НО	НО	Y

Таблица 10. Активность миНК						
№ дц-миНК	**Смысловая цепь SEQ ID NO.**	**Мономер 3' лиганда+**	**Антисмысловая цепь SEQ ID NO**	**HepG2.2.15 EC50***	**HepG2.2.15 CC50 (нМ)**	**Максимальный нокдаун HBsAg (Log_{10}) ****
дц-миНК-061	416	p-(PS)2-GalNac4	449	НО	НО	Y
дц-миНК-062	416	p-(PS)2-GalNac4	450	НО	НО	Y
дц-миНК-063	416	p-(PS)2-GalNac4	451	НО	НО	X
дц-миНК-064	417	5'-GalNAc4-(PS)2-p-TEG-p	452	НО	НО	Y
дц-миНК-065	417	5'-GalNAc4-(PS)2-p-HEG-p	452	НО	НО	Y
дц-миНК-066	417	5'-GalNAc4-(PS)2-p-(HEG-p)2	452	НО	НО	Y
дц-миНК-067	417	5'-GalNAc4-(PS)2-p-(HEG-p)2	452	НО	НО	Z
дц-миНК-068	418	p-(PS)2-GalNac4	453	НО	НО	Y
дц-миНК-069	418	p-(PS)2-GalNac4	454	НО	НО	Y
дц-миНК-070	419	p-(PS)2-GalNac4	455	НО	НО	Y
дц-миНК-071	419	p-(PS)2-GalNac4	456	НО	НО	Y
дц-миНК-072	420	p-(PS)2-GalNac4	457	НО	НО	X
дц-миНК-073	421	p-(PS)2-GalNac4	458	НО	НО	X
дц-миНК-074	422	p-(PS)2-GalNac4	459	НО	НО	Y
дц-миНК-075	423	p-(PS)2-GalNac4	460	НО	НО	Y
дц-миНК-076	423	p-(PS)2-GalNac4	461	НО	НО	Y
дц-миНК-077	423	5'-GalNAc4-(PS)2-p-TEG-p	458	НО	НО	Y
дц-миНК-078	423	5'-GalNAc4-(PS)2-p-HEG-p	458	НО	НО	X
дц-миНК-079	423	5'-GalNAc4-(PS)2-p-(HEG-p)2	458	НО	НО	Y

Таблица 10. Активность миНК						
№ дц-миНК	**Смысловая цепь SEQ ID NO.**	**Мономер 3' лиганда+**	**Антисмысловая цепь SEQ ID NO**	**HepG2.2.15 EC50***	**HepG2.2.15 CC50 (нМ)**	**Максимальный нокдаун HBsAg (Log_{10}) ****
дц-миНК-080	423	p-(PS)2-GalNac4	462	НО	НО	X
дц-миНК-081	423	p-(PS)2-GalNac4	463	НО	НО	X
дц-миНК-082	423	p-(PS)2-GalNac4	447	НО	НО	X
дц-миНК-083	423	5'-GalNAc4-(PS)2-p-(HEG-p)2	458	НО	НО	Z
дц-миНК-084	423	p-(PS)2-GalNac4	457	НО	НО	X
дц-миНК-085	423	p-(PS)2-GalNac4	464	НО	НО	X
дц-миНК-086	423	p-(PS)2-GalNac4	465	НО	НО	X
дц-миНК-087	423	p-(PS)2-GalNac4	466	НО	НО	Y
дц-миНК-088	423	p-(PS)2-GalNac4	467	НО	НО	Z
дц-миНК-089	423	p-(PS)2-GalNac4	468	НО	НО	Z
дц-миНК-090	423	p-(PS)2-GalNac4	469	B	>1000	X
дц-миНК-091	423	p-(PS)2-GalNac4	470	C	>1000	НО
дц-миНК-092	423	p-(PS)2-GalNac4	471	B	>1000	НО
дц-миНК-093	423	p-(PS)2-GalNac4	472	B	>1000	НО
дц-миНК-094	423	p-(PS)2-GalNac4	473	B	>1000	НО
дц-миНК-095	423	p-(PS)2-GalNac4	474	C	>1000	НО
дц-миНК-096	423	p-(PS)2-GalNac4	475	B	>1000	НО
дц-миНК-097	423	p-(PS)2-GalNac4	476	B	>1000	НО
дц-миНК-098	423	p-(PS)2-GalNac4	477	A	>1000	НО
дц-миНК-099	423	p-(PS)2-GalNac4	478	B	>1000	НО

Таблица 10. Активность миНК						
№ дц-миНК	**Смысловая цепь SEQ ID NO.**	**Мономер 3' лиганда$^{+}$**	**Антисмысловая цепь SEQ ID NO**	**HepG2.2.15 EC50***	**HepG2.2.15 CC50 (нМ)**	**Максимальный нокдаун HBsAg (Log_{10}) ****
дц-миНК-0100	423	p-(PS)2-GalNac4	479	B	>1000	НО
дц-миНК-0101	423	p-(PS)2-GalNac4	480	B	>1000	НО
дц-миНК-0102	423	p-(PS)2-GalNac4	481	A	>1000	НО
дц-миНК-0103	423	p-(PS)2-GalNac4	482	НО	НО	НО
дц-миНК-0104	423	p-(PS)2-GalNac4	483	НО	НО	НО
дц-миНК-0105	423	p-(PS)2-GalNac4	458	НО	НО	Z
дц-миНК-0106	423	p-(PS)2-GalNac4	458	НО	НО	Y
дц-миНК-0107	424	p-(PS)2-GalNac4	457	НО	НО	X
дц-миНК-0108	424	p-(PS)2-GalNac4	484	НО	НО	X
дц-миНК-0109	424	p-(PS)2-GalNac4	485	НО	НО	X
дц-миНК-0110	425	p-(PS)2-GalNac4	486	НО	НО	НО
дц-миНК-0111	425	p-(PS)2-GalNac4	487	НО	НО	НО
дц-миНК-0112	425	p-(PS)2-GalNac4	488	НО	НО	НО
дц-миНК-0113	426	p-(PS)2-GalNac4	489	НО	НО	НО
дц-миНК-0114	427	p-(PS)2-GalNac4	490	НО	НО	X
дц-миНК-0115	428	p-(PS)2-GalNac4	491	НО	НО	Y
дц-миНК-0116	429	p-(PS)2-GalNac4	492	НО	НО	НО
дц-миНК-0117	429	p-(PS)2-GalNac4	493	НО	НО	НО
дц-миНК-0118	429	p-(PS)2-GalNac4	494	НО	НО	НО
дц-миНК-0119	430	p-(PS)2-GalNac4	495	НО	НО	X
дц-миНК-0120	430	p-(PS)2-GalNac4	496	НО	НО	НО

Таблица 10. Активность миНК						
№ дц-миНК	**Смысловая цепь SEQ ID NO.**	**Мономер 3' лиганда$^{+}$**	**Антисмысловая цепь SEQ ID NO**	**HepG2.2.15 EC50***	**HepG2.2.15 CC50 (нМ)**	**Максимальный нокдаун HBsAg (Log_{10}) ****
дц-миНК-0121	431	p-(PS)2-GalNac4	497	НО	НО	Y
дц-миНК-0122	432	p-(PS)2-GalNac4	498	НО	НО	НО
дц-миНК-0123	432	p-(PS)2-GalNac4	500	НО	НО	НО
дц-миНК-0124	433	p-(PS)2-GalNac4	501	НО	НО	НО
дц-миНК-0125	434	p-(PS)2-GalNac4	502	НО	НО	Y
дц-миНК-0126	435	p-(PS)2-GalNac4	502	НО	НО	Y
дц-миНК-0127	435	p-(PS)2-GalNac4	503	НО	НО	X
дц-миНК-0128	435	p-(PS)2-GalNac4	501	НО	НО	X
дц-миНК-0129	435	p-(PS)2-GalNac4	504	НО	НО	Y
дц-миНК-0130	435	p-(PS)2-GalNac4	505	НО	НО	Z
дц-миНК-0131	435	p-(PS)2-GalNac4	506	НО	НО	Y
дц-миНК-0132	435	p-(PS)2-GalNac4	507	НО	НО	Z
дц-миНК-0133	435	p-(PS)2-GalNac4	508	НО	НО	Z
дц-миНК-0134	435	p-(PS)2-GalNac4	509	НО	НО	Z
дц-миНК-0135	435	p-(PS)2-GalNac4	510	НО	НО	Y
дц-миНК-0136	435	p-(PS)2-GalNac4	511	B	>1000	НО
дц-миНК-0137	435	p-(PS)2-GalNac4	512	B	>1000	НО
дц-миНК-0138	435	p-(PS)2-GalNac4	513	A	>1000	НО
дц-миНК-0139	435	p-(PS)2-GalNac4	514	B	>1000	НО
дц-миНК-0140	435	p-(PS)2-GalNac4	515	C	>1000	НО
дц-миНК-0141	435	p-(PS)2-GalNac4	516	A	>1000	НО

Таблица 10. Активность миНК						
№ дц-миНК	**Смысловая цепь SEQ ID NO.**	**Мономер 3' лиганда$^{+}$**	**Антисмысловая цепь SEQ ID NO**	**HepG2.2.15 EC50***	**HepG2.2.15 CC50 (нМ)**	**Максимальный нокдаун HBsAg (Log_{10}) ****
дц-миНК-0142	435	p-(PS)2-GalNac4	517	C	>1000	НО
дц-миНК-0143	435	p-(PS)2-GalNac4	518	C	>1000	НО
дц-миНК-0144	435	p-(PS)2-GalNac4	519	НО	НО	НО
дц-миНК-0145	436	p-(PS)2-GalNac4	520	НО	НО	НО
дц-миНК-0146	437	p-(PS)2-GalNac4	502	НО	НО	Y
дц-миНК-0147	438	p-(PS)2-GalNac4	501	НО	НО	X
дц-миНК-0148	438	p-(PS)2-GalNac4	521	НО	НО	X
дц-миНК-0149	438	p-(PS)2-GalNac4	522	НО	НО	X
дц-миНК-0150	439	p-(PS)2-GalNac4	523	НО	НО	X
дц-миНК-0151	440	p-(PS)2-GalNac4	524	НО	НО	Y
дц-миНК-0152	441	p-(PS)2-GalNac4	525	НО	НО	Y
дц-миНК-0153	441	p-(PS)2-GalNac4	526	НО	НО	X
дц-миНК-0154	441	p-(PS)2-GalNac4	527	НО	НО	НО
дц-миНК-0155	442	p-(PS)2-GalNac4	525	НО	НО	X
дц-миНК-0156	442	p-(PS)2-GalNac4	528	НО	НО	Y
дц-миНК-0157	442	p-(PS)2-GalNac4	529	НО	НО	НО
дц-миНК-0158	443	p-(PS)2-GalNac4	458	НО	НО	Y
дц-миНК-0159	444	p-(PS)2-GalNac4	502	НО	НО	Y
дц-миНК-0160	423	p-(PS)2-GalNac4	458	НО	НО	НО
дц-миНК-0161	533	p-(PS)2-GalNac4	489	НО	НО	НО
дц-миНК-0162	534	p-(PS)2-GalNac4	491	НО	НО	НО

Таблица 10. Активность миНК						
№ дц-миНК	**Смысловая цепь SEQ ID NO.**	**Мономер 3' лиганда+**	**Антисмысловая цепь SEQ ID NO**	**HepG2.2.15 EC50***	**HepG2.2.15 CC50 (нМ)**	**Максимальный нокдаун HBsAg (Log_{10}) ****
дц-миНК-0163	432	p-(PS)2-GalNac4	496	НО	НО	НО
дц-миНК-0165	435	p-(PS)2-GalNac4	502	НО	НО	НО
дц-миНК-0166	442	p-(PS)2-GalNac4	530	НО	НО	НО
дц-миНК-0167	427	p-(PS)2-GalNAc4	491	НО	НО	НО
дц-миНК-0168	439	p-(PS)2-GalNac4	531	НО	НО	НО
дц-миНК-0169	423	p-(PS)2-GalNac4	532	НО	НО	НО
дц-миНК-0170	441	p-(PS)2-GalNAc4	530	НО	НО	НО
дц-миНК-0171	442	p-(PS)2-GalNAc4	533	НО	НО	НО
дц-миНК-0172	424	p-(PS)2-GalNAc4	536	A	>1	НО
дц-миНК-0173	438	НЕТ	537			
дц-миНК-0174	438	НЕТ	538			
дц-миНК-0175	438	НЕТ	501			
дц-миНК-0176	438	p-(PS)2-GalNAc4	537			
дц-миНК-0177	438	p-(PS)2-GalNAc4	538			
дц-миНК-0178	438	p-(PS)2-GalNAc4	539			

+Мономеры лигандов присоединены к 3'-концу смысловой цепи, если только мономер лиганда не помечен в 5'-м положении, в котором мономер лиганда присоединен к 5'-концу смысловой цепи. Линкеры представлены как p-(PS)2, (PS)2-p-TEG-p, (PS)2-p-HEG-p или (PS)2-p-(HEG-p)2.

* Для EC50, A = EC50 ≤ 5 нМ; B = 5 нМ < EC50 < 10; C = EC50 ≥ 10.
**Для максимального нокдауна HBsAg, X ≥ 1 log_{10} снижения содержания HBsAg, Y представляет собой 0,5 – 1 log_{10} снижения содержания HBsAg, и Z представляет собой < 0,5 log_{10} снижения содержания HBsAg.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-O-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 17 и/или 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-O-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид.

2. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один

модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид и нуклеотид в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности представляет собой 2'-фторнуклеотид.

3. миНК по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что первая последовательность нуклеотидов содержит 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида.

4. миНК по п. 1 или 2, отличающаяся тем, что 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% нуклеотидов в первой нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида.

5. миНК по любому из пп. 1–4, где:

(i) по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды;

(ii) не более чем 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды;

(iii) по меньшей мере 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды; и/или

(iv) не более чем 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотидов первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды.

6. миРНК по любому из пп. 1–5, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность содержит 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида.

7. миНК по любому из пп. 1–6, отличающаяся тем, что 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% нуклеотидов во второй нуклеотидной последовательности представляют собой модифицированные нуклеотиды, независимо выбранные из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида.

8. миНК по любому из пп. 1–7, где:
(i) по меньшей мере 2, 3, 4, 5 или 6 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды;
(ii) меньше чем или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-фторнуклеотиды;
(iii) по меньшей мере 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22 модифицированных нуклеотидов второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды; и/или
(iv) по меньшей мере или ровно 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 модифицированных нуклеотида второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2'-*O*-метилнуклеотиды.

9. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:
(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность:
(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину;
(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и
(iii) содержит 1 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей; и
(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%,

80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину;

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и

(iii) содержит 1 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей.

10. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность:

(i) составляет 15–30 нуклеотидов в длину; и

(ii) содержит 15 или более модифицированных нуклеотидов, независимо выбранных из 2'-*O*-метилнуклеотида и 2'-фторнуклеотида, причем по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-O-метилнуклеотид, и по меньшей мере один модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-фторнуклеотид,

причем миНК дополнительно содержит блокатор фосфорилирования, галактозамин или 5’-стабилизированный концевой кэп.

11. миНК по любому предыдущему пункту, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 нуклеотидов в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12 и/или 17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотид.

12. миНК по любому предыдущему пункту, где по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, или 9 нуклеотидов в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16, 17 и/или 18 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности представляют собой 2’-фторнуклеотид.

13. миНК по любому предыдущему пункту, где нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, и причем 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды.

14. миНК по п. 13, где паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз.

15. миНК по п. 13 или 14, где:
(i) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно.
(ii) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно; и/или
(iii) по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:3 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

16. миНК по любому из пп. 1–12, где:
(i) нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:2, и
(ii) 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 2 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды.

17. миНК по п. 16, где паттерн модификации с чередованием 1:2 встречается 2–5 раз.

18. миНК по п. 16 или 17, где:
(i) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются последовательно;

(ii) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются непоследовательно; и/или

(iii) по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:2 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 5, 8, 14 и/или 17 от 5'-конца антисмысловой цепи.

19. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), представленная формулой (VIII):

5'-$A_n^1B_n^2A_n^3B_n^4A_n^5B_n^6A_n^7B_n^8A_n^9$-3'

3'-$C_q^1A_q^2B_q^3A_q^4B_q^5A_q^6B_q^7A_q^8B_q^9A_q^{10}B_q^{11}A_q^{12}$-5'

где:

верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

нижняя цепь представляет собой антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

каждый A независимо представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид или нуклеотид, содержащий 5'-стабилизированный концевой кэп или блокатор фосфорилирования;

B представляет собой 2'-фторнуклеотид;

C представляет собой выступающие нуклеотиды и представляет собой 2'-*O*-метилнуклеотид;

n^1 = составляет 1–4 нуклеотидов в длину;

каждый n^2, n^6, n^8, q^3, q^5, q^7, q^9, q^{11} и q^{12} независимо составляет 0–1 нуклеотидов в длину;

каждое n^3 и n^4 независимо составляет 1–3 нуклеотидов в длину;

n^5 составляет 1–10 нуклеотидов в длину;

n^7 составляет 0-4 нуклеотидов в длину;

каждое n^9, q^1 и q^2 независимо составляет 0–2 нуклеотидов в длину;

q^4 составляет 0–3 нуклеотидов в длину;

q^6 составляет 0–5 нуклеотидов в длину;

q^8 составляет 2–7 нуклеотидов в длину; и

q^{10} составляет 2–11 нуклеотидов в длину.

20. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), представленная формулой (IX):

5’-$A_{2-4}B_1A_{1-3}$ B_{2-3} $A_{2-10}B_{0-1}A_{0-4}B_{0-1}A_{0-2}$-3’

3’-$C_2A_{0-2}B_{0-1}A_{0-3}B_{0-1}A_{0-5}B_{0-1}A_{2-7}B_1A_{2-11}B_1A_1$-5’

где:

верхняя цепь представляет собой смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени, причем первая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

нижняя цепь представляет собой антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или на 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит 15–30 нуклеотидов;

каждый A независимо представляет собой 2’-*O*-метилнуклеотид или нуклеотид, содержащий 5’-стабилизированный концевой кэп или блокатор фосфорилирования;

B представляет собой 2’-фторнуклеотид;

C представляет собой выступающие нуклеотиды и представляет собой 2’-*O*-метилнуклеотид.

21. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 2, 4–6, 10, 11 и 13–16 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 2 и 14 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–13 и 15–17 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

22. Молекула миНК по п. 21, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотидов.

23. Молекула миНК по п. 22, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

24. Молекула миНК по любому из пп. 21–23, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

25. Молекула миНК по п. 24, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

26. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 3, 7, 8 и 17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 2, 4–6 и 9–16 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2'-фторнуклеотиды находятся в положениях 2 и 14 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–13 и 15–17 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

27. Молекула миНК по п. 26, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотидов.

28. Молекула миНК по п. 27, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5'-конца первой нуклеотидной последовательности.

29. Молекула миНК по любому из пп. 26–28, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

30. Молекула миНК по п. 29, отличающаяся тем, что 2'-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5'-конца второй нуклеотидной последовательности.

31. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 3, 7–9, 12 и 17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 2, 4–6, 10, 11 и 13–16 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды.

32. Молекула миНК по п. 31, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотидов.

33. Молекула миНК по п. 32, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности.

34. Молекула миНК по любому из пп. 31–33, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

35. Молекула миНК по п. 34, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 19–21 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

36. Молекула миРНК по любому из пп. 31–35, где:

(i) паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз.

(ii) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно.

(iii) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно; и/или

(iv) по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:3 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

37. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в

положениях 5 и 7–9 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6 и 10–17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:3, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 3 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды.

38. Молекула миНК по п. 37, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотидов.

39. Молекула миНК по п. 38, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности.

40. Молекула миНК по любому из пп. 37–39, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

41. Молекула миНК по п. 40, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 19–21 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

42. Молекула миРНК по любому из пп. 37–41, где:

(i) паттерн модификации с чередованием 1:3 встречается 2–5 раз.

(ii) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются последовательно.

(iii) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:3 встречаются непоследовательно; и/или

(iv) по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:3 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 6, 10, 14 и/или 18 от 5’-конца антисмысловой цепи.

43. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 5 и 7–9 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6 и 10–17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем нуклеотиды во второй нуклеотидной последовательности расположены в виде паттерна модификации с чередованием 1:2, и при этом 1 нуклеотид представляет собой 2’-фторнуклеотид, а 2 нуклеотида представляют собой 2’-*O*-метилнуклеотиды.

44. Молекула миНК по п. 43, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотидов.

45. Молекула миНК по п. 44, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности.

46. Молекула миНК по любому из пп. 43–45, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

47. Молекула миНК по п. 46, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

48. Молекула миРНК по любому из пп. 43–47, где:

(i) паттерн модификации с чередованием 1:2 встречается 2–5 раз.

(ii) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются последовательно.

(iii) по меньшей мере два паттерна модификации с чередованием 1:2 встречаются непоследовательно; и/или

(iv) по меньшей мере 1, 2, 3, 4 или 5 паттернов модификации с чередованием 1:2 начинаются в положениях нуклеотидов 2, 5, 8, 14 и/или 17 от 5’-конца антисмысловой цепи.

49. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 5 и 7–9 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6 и 10–17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 2, 6, 14 и 16 от 5’-конца второй

нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–5, 7–13, 15 и 17 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

50. Молекула миНК по п. 49, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 19 нуклеотидов.

51. Молекула миНК по п. 50, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18 и 19 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности.

52. Молекула миНК по любому из пп. 49–51, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

53. Молекула миНК по п. 52, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

54. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 5, 9–11 и 14 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1–4, 6–8 и 12–17 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, состоящую из 17–23 нуклеотидов, причем 2’-фторнуклеотиды находятся в положениях 2 и 14 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности, и при этом 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 1, 3–13 и 15–17 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

55. Молекула миНК по п. 54, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность состоит из 21 нуклеотида.

56. Молекула миНК по п. 55, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–21 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности.

57. Молекула миНК по любому из пп. 53–55, отличающаяся тем, что вторая нуклеотидная последовательность состоит из 23 нуклеотида.

58. Молекула миНК по п. 57, отличающаяся тем, что 2’-*O*-метилнуклеотиды находятся в положениях 18–23 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности.

59. миНК по любому предыдущему пункту, отличающаяся тем, что смысловая цепь дополнительно содержит последовательность TT, примыкающую к первой нуклеотидной последовательности.

60. миНК по любому предыдущему пункту, отличающаяся тем, что смысловая цепь дополнительно содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей.

61. миНК по п. 60, где:

(i) по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности;

(ii) по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности.

62. миНК по любому предыдущему пункту, отличающаяся тем, что антисмысловая цепь дополнительно содержит последовательность TT, примыкающую ко второй нуклеотидной последовательности.

63. миНК по любому предыдущему пункту, отличающаяся тем, что антисмысловая цепь дополнительно содержит по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей.

64. миНК по п. 63, где:

(i) по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности;

(ii) по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности;

(iii) по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 1 и 2 от 3’-конца второй нуклеотидной последовательности; и/или

(iv) по меньшей мере одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится между нуклеотидами в положениях 2 и 3 от 3’-конца второй нуклеотидной последовательности.

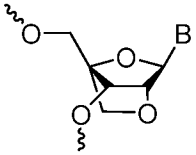
65. миНК по любому предыдущему пункту, где

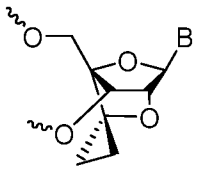
(i) первый нуклеотид от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности содержит 5’-стабилизирующий концевой кэп;

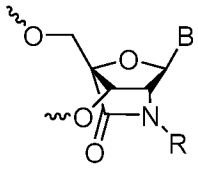
(ii) первый нуклеотид от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности содержит 5’-стабилизирующий концевой кэп;

(iii) первый нуклеотид от 5’-конца первой нуклеотидной последовательности содержит блокатор фосфорилирования; и/или

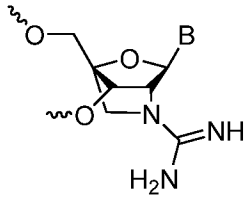
(iv) первый нуклеотид от 5’-конца второй нуклеотидной последовательности содержит блокатор фосфорилирования.

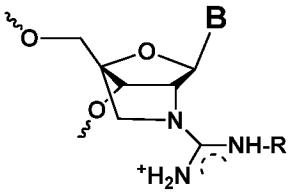
66. миНК по любому предыдущему варианту пункту, отличающаяся тем, что первая нуклеотидная последовательность или вторая нуклеотидная последовательность содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид, выбранный из 

(LNA), 

(ScpBNA или «cp»); 

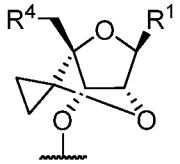
(AmNA), где R представляет собой H или алкил (или AmNA(N-Me)), когда R представляет собой алкил);



(GuNA); и 

GuNA(N-R), R = Me, Et, iPr, tBu, где B представляет собой азотистое основание.

67. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) блокатор фосфорилирования формулы (IV): 

,

где

R^1 представляет собой азотистое основание,

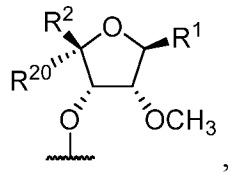
R^4 представляет собой $–O-R^{30}$ или $–NR^{31}R^{32}$,

R^{30} представляет собой C_1-C_8 замещенный или незамещенный алкил; и

R^{31} и R^{32} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо; и

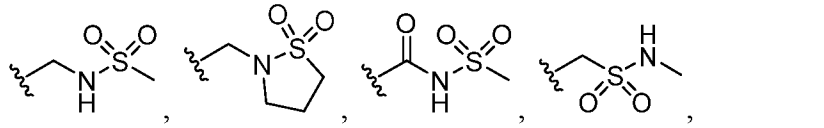
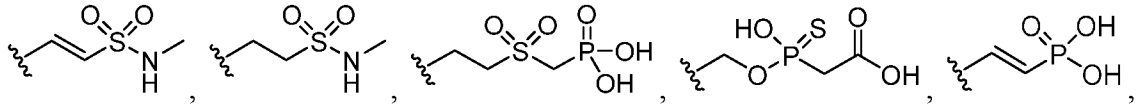
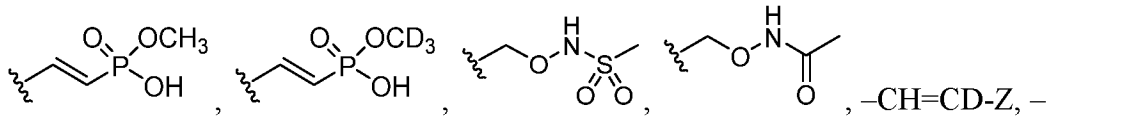
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

68. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (Ia): ,

где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , , , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, $–(CR^{21}R^{22})_n$-Z или $–(C_2$-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное $–(CR^{21}R^{22})_n$-Z или $–(C_2$-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $-OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $-SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $-SO_2NR^{23}R^{25}$, $-NR^{23}R^{24}$,

R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $-C(O)R^{25}$; или

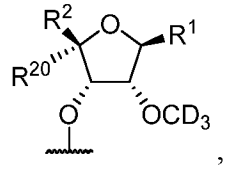
R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равно 1, 2, 3 или 4; а также

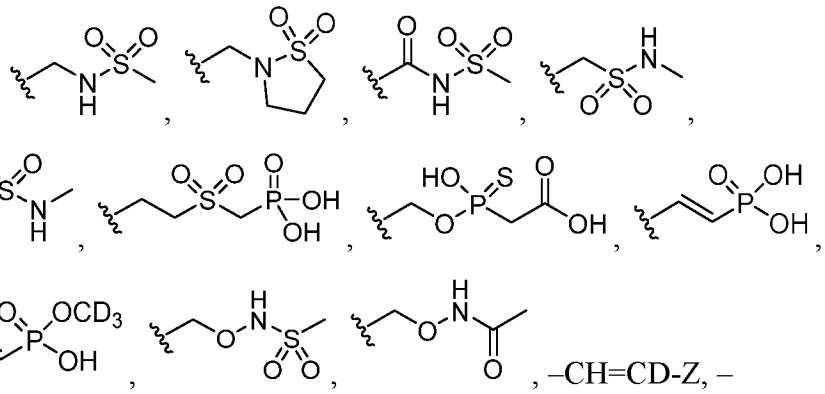
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

69. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) 5'-стабилизированный концевой кэп формулы (Ib): ,

где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, $-(CR^{21}R^{22})_n$-Z или $-(C_2$-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное $-(CR^{21}R^{22})_n$-Z или $-(C_2$-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $-ONR^{23}R^{24}$, $-OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $-P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $-SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $-SO_2NR^{23}R^{25}$, $-NR^{23}R^{24}$,

R^{21} и R^{22} независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил; R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $-SO_2R^{25}$ или $-C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

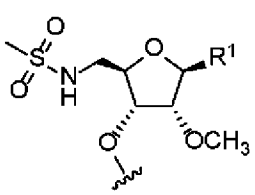
R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равно 1, 2, 3 или 4; а также

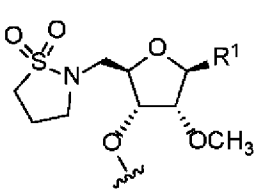
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

70. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

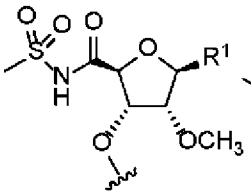
(a) 5’-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формулы (1)–формулы (15), формулы (9X)–формулы (12X) и формулы (9Y)–формулы (12Y):



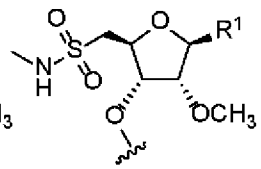
Формула (1)



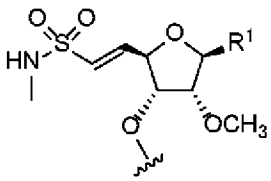
Формула (2)



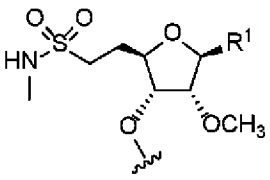
Формула (3)



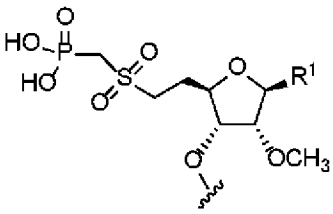
Формула (4)



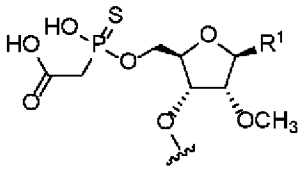
Формула (5)



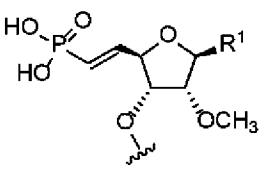
Формула (6)



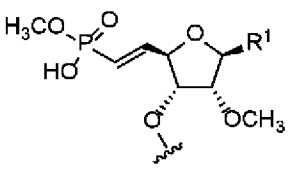
Формула (7)



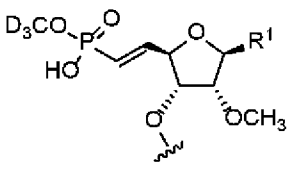
Формула (8)



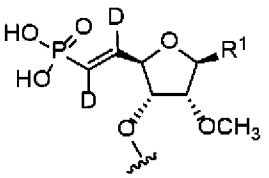
Формула (9)



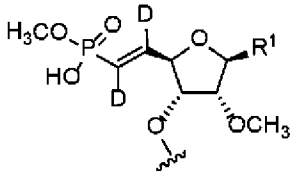
Формула (9X)



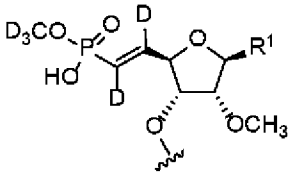
Формула (9Y)



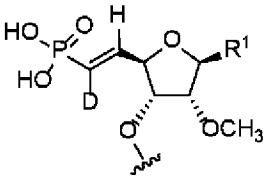
Формула (10)



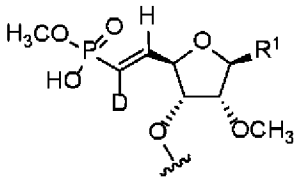
Формула (10X)



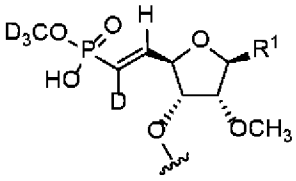
Формула (10Y)



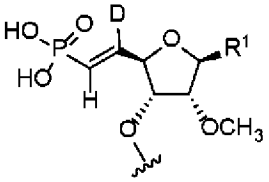
Формула (11)



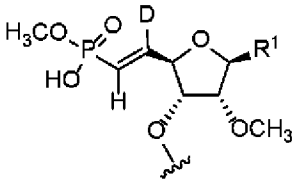
Формула (11X)



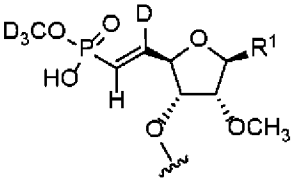
Формула (11Y)



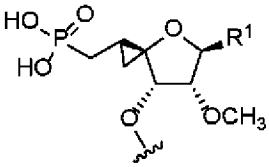
Формула (12)



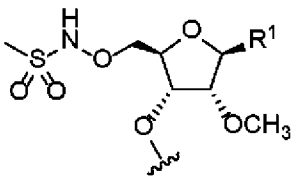
Формула (12X)



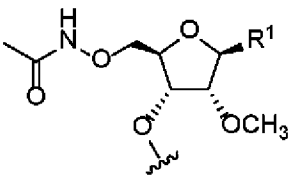
Формула (12Y)



Формула (13)



Формула (14)



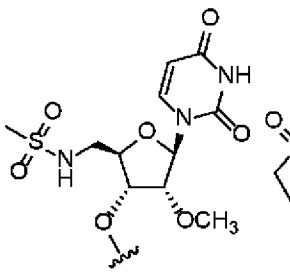
Формула (15)

, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H; и

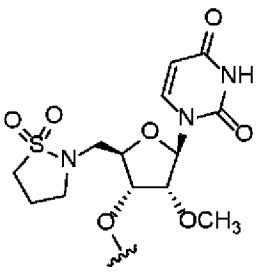
(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

71. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

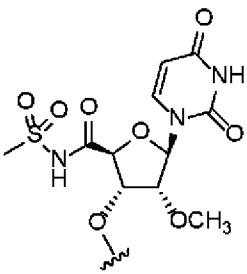
(a) 5’-стабилизированный концевой кэп, выбранный из группы, состоящей из формул (1A)–(15A), формул (9B)–(12B), формул (9AX)–(12AX), формул (9AY)–(12AY), формул (9BX)–(12BX) и формул (9BY)–(12BY):



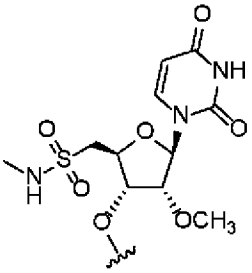
Формула (1A)



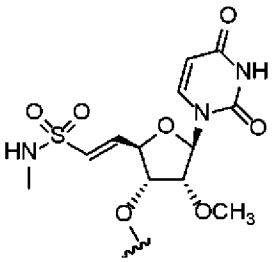
Формула (2A)



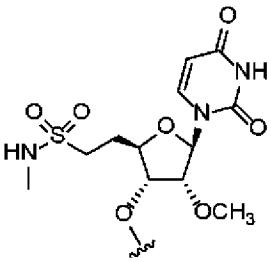
Формула (3A)



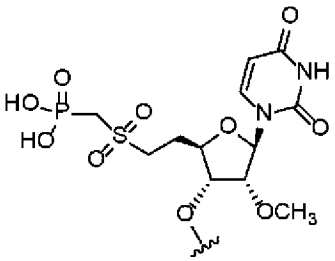
Формула (4A)



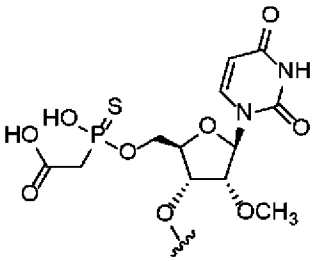
Формула (5A)



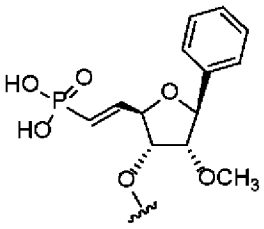
Формула (6A)



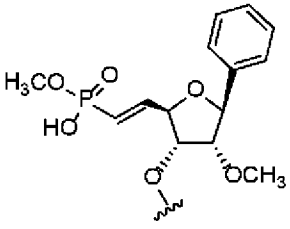
Формула (7A)



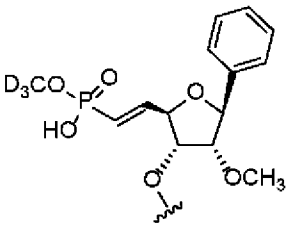
Формула (8A)



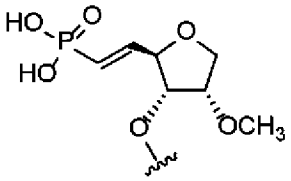
Формула (9A)



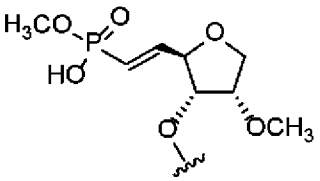
Формула (9AX)



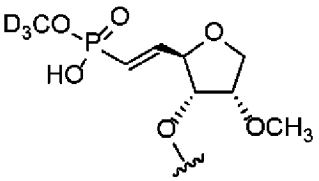
Формула (9AY)



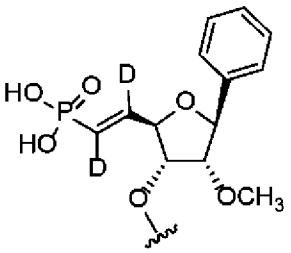
Формула (9B)



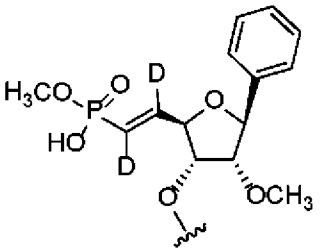
Формула (9BX)



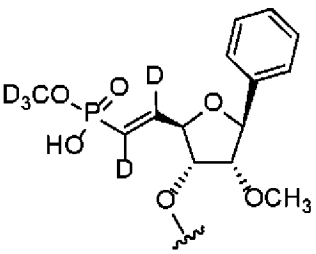
Формула (9BY)



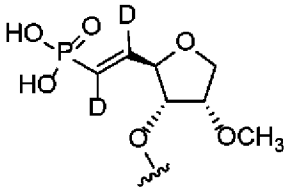
Формула (10A)



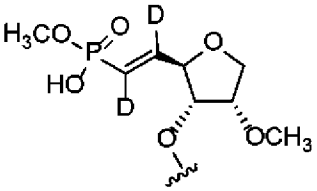
Формула (10AX)



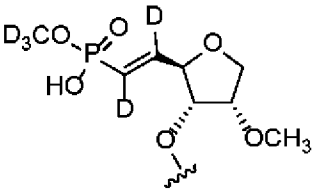
Формула (10AY)



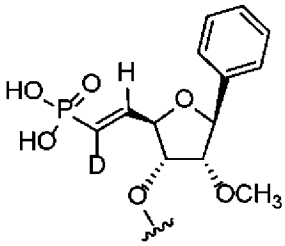
Формула (10B)



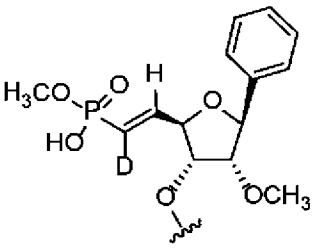
Формула (10BX)



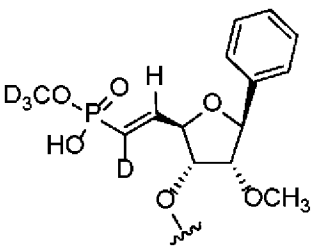
Формула (10BY)



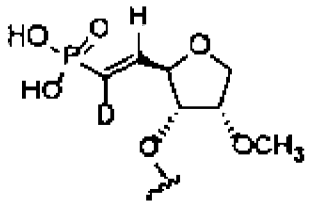
Формула (11A)



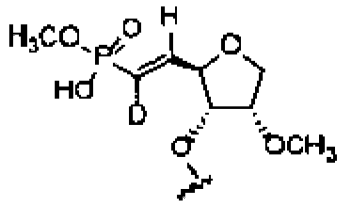
Формула (11AX)



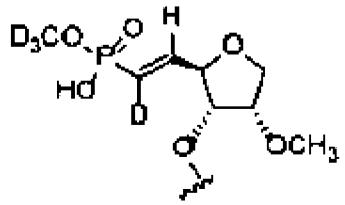
Формула (11AY)



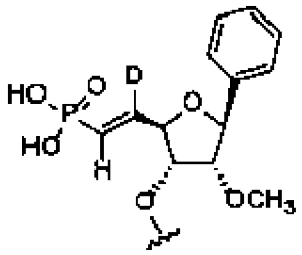
Формула (11B)



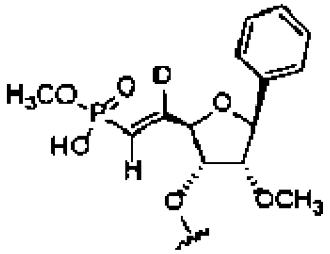
Формула (11BX)



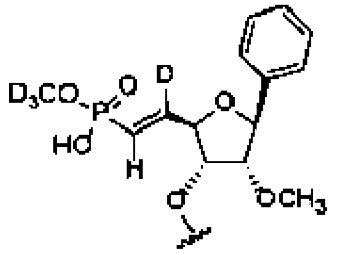
Формула (11BY)



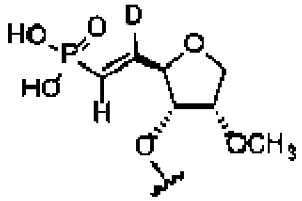
Формула (12A)



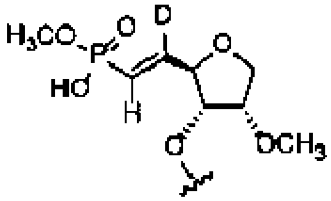
Формула (12AX)



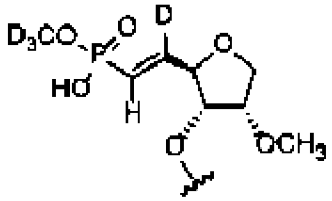
Формула (12AY)



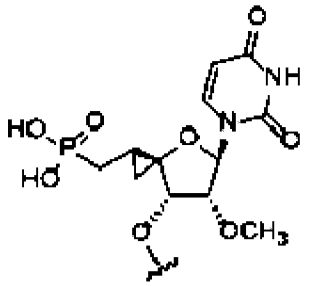
Формула (12B)



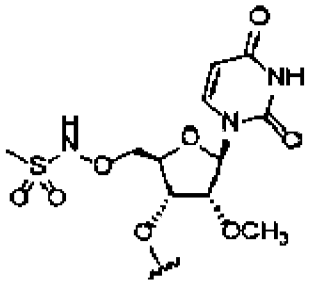
Формула (12BX)



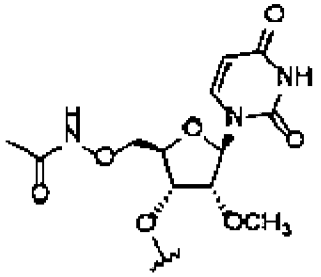
Формула (12BY)



Формула (13A)



Формула (14A)



Формула (15A)

, и

(b) малую интерферирующую нуклеиновую кислоту (миНК).

72. Молекула миНК по любому из пп. 67–71, где миНК содержит смысловую цепь по любому из пп. 1–66.

73. Молекула миНК по любому из пп. 67–72, где миНК содержит антисмысловую цепь по любому из пп. 1–66.

74. Молекула малой интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую первую нуклеотидную последовательность, которая составляет по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% идентична РНК, соответствующей гену-мишени,

причем первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260; и

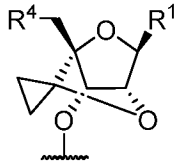
(b) антисмысловую цепь, содержащую вторую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна РНК, соответствующей гену-мишени, причем вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306.

75. Молекула интерферирующей нуклеиновой кислоты (миНК), содержащая:

(a) смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444; и

(b) антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539.

76. миНК по любому из пп. 1–66 и 68–75, где миНК дополнительно содержит блокатор фосфорилирования.

77. миНК по любому из пп. 10, 65 и 76, где блокатор фосфорилирования имеет структуру формулы (IV): , где

R^1 представляет собой азотистое основание,

R^4 представляет собой $–O-R^{30}$ или $–NR^{31}R^{32}$, R^{30} представляет собой C_1-C_8 замещенный или незамещенный алкил; и

R^{31} и R^{32} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

78. миНК по п. 67 или 77, где R^4 представляет собой $–OCH_3$ или $–N(CH_2CH_2)_2O$.

79. миНК по любому из пп. 10, 65, 67 и 76–78, где: (i) блокатор фосфорилирования присоединен к 5'-концу смысловой цепи; (ii) блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу смысловой цепи; (iii) блокатор фосфорилирования присоединен к 5’-концу антисмысловой цепи; или (iv) блокатор фосфорилирования присоединен к 3’-концу антисмысловой цепи.

80. миНК по п. 78, где:

(i) блокатор фосфорилирования присоединен к 5'-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера;

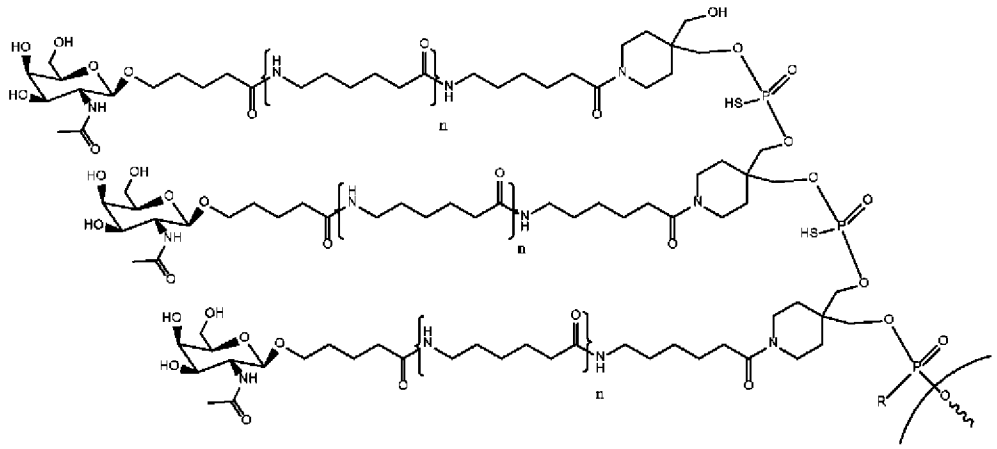
(ii) блокатор фосфорилирования присоединен к 3'-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера;

(iii) блокатор фосфорилирования присоединен к 5'-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера; или

(iv) блокатор фосфорилирования присоединен к 3'-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера и фосфородитиоатного линкера.

81. миНК по любому предыдущему пункту, отличающаяся тем, что миНК дополнительно содержит галактозамин.

82. миНК по п. 10 или 81, где галактозамин представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc) формулы (VII):

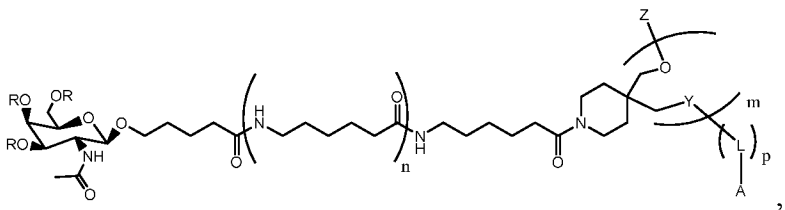


R = OH или SH

, ,

где каждое n независимо равно 1 или 2.

83. миНК по п. 10 или 81, где галактозамин представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc) формулы (VI):



, где m равно 1, 2, 3, 4 или 5;

каждое n независимо равно 1 или 2;

p равно 0 или 1;

каждый R независимо представляет собой H;

каждый Y независимо выбран из –O-P(=O)(SH)–, –O-P(=O)(O)–, –O-P(=O)(OH)– и -O-P(S)S-;

Z представляет собой H или вторую защитную группу;

либо L представляет собой линкер, либо L и Y в комбинации представляют собой линкер; и

A представляет собой H, OH, третью защитную группу, активированную группу или олигонуклеотид.

84. миНК по п. 83, где: (i) A представляет собой олигонуклеотид;

или (ii) A представляет собой 1–2 олигонуклеотида.

85. миНК по любому из п. 84, где данный олигонуклеотид представляет собой dTdT.

86. миНК по любому из пп. 10, 84 и 85, где галактозамин присоединен к (i) 3’-концу смысловой цепи; (ii) 5’-концу смысловой цепи; (iii) 3’-концу антисмысловой цепи; или (iv) 5’-концу антисмысловой цепи.

87. миНК по п. 86, где галактозамин присоединен к:

(i) 3’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера;

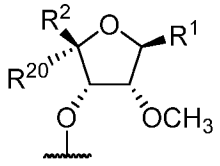
(ii) 5’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера;

(iii) 3’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера; или

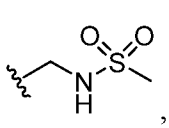
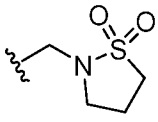
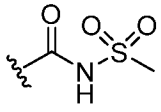
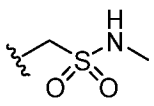
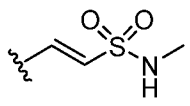
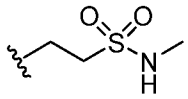
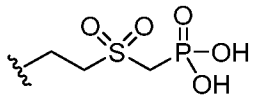
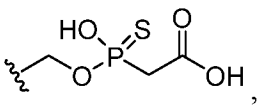
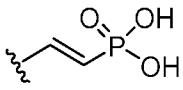
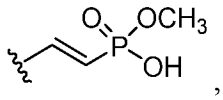
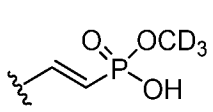
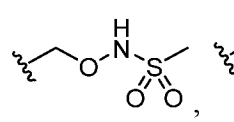
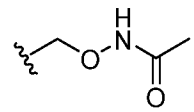
(iv) 5’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

88. миНК по любому из пп. 1–67 и 70–87, где миНК дополнительно содержит 5’-стабилизированный концевой кэп.

89. миНК по любому из пп. 10, 65 и 88, где 5’-стабилизированный концевой кэп представляет собой 5’-винилфосфонат или дейтерированный 5’-винилфосфонат.

90. миНК по любому из пп. 10, 65 и 88, где 5’-стабилизированный концевой кэп имеет структуру формулы (Ia): , где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , , , , , , , , , , , , , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой $–ONR^{23}R^{24}$, $–OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, $–P(O)(OH)_2$, $-P(O)(OH)(OCH_3)$, $-P(O)(OH)(OCD_3)$, $–SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, $–SO_2NR^{23}R^{25}$, $–NR^{23}R^{24}$ или $–NR^{23}SO_2R^{24}$;

R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

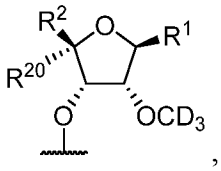
R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или

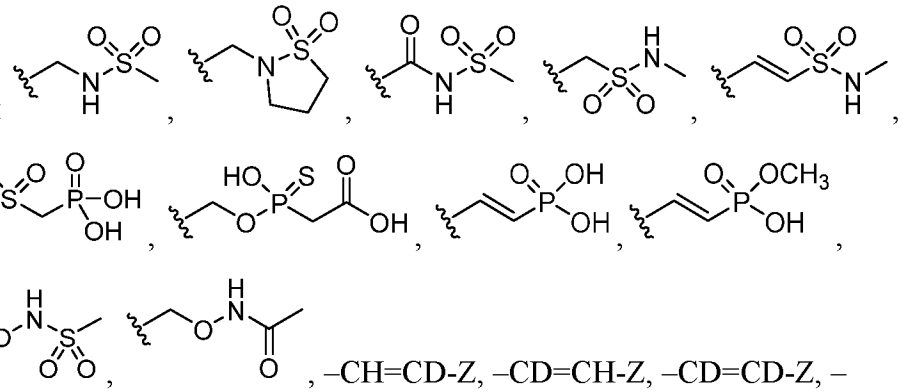
R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равен 1, 2, 3 или 4.

91. миНК по любому из пп. 65 и 88, где 5’-стабилизированный концевой кэп имеет структуру формулы (Ib): , где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой –$ONR^{23}R^{24}$, –$OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$P(O)(OH)_2$, -P(O)(OH)($OCH_3$), -P(O)(OH)($OCD_3$), –$SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, –$SO_2NR^{23}R^{25}$, –$NR^{23}R^{24}$ или –$NR^{23}SO_2R^{24}$;

R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой –SO_2R^{25} или –$C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

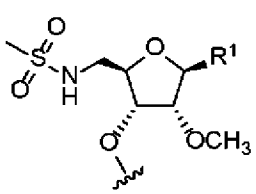
R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равен 1, 2, 3 или 4.

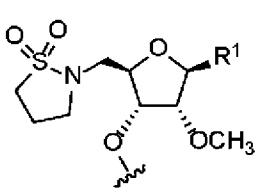
92. миНК по п. 90 или 91, где R^1 представляет собой арил.

93. миНК по п. 92, где арил представляет собой фенил.

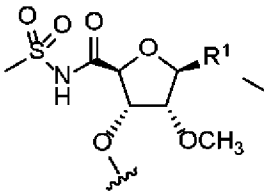
94. миНК по любому из пп. 10, 65 и 88, где 5’-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формулы (1)–формулы (15), формулы (9X)–формулы (12X) и формулы (9Y)–формулы (12Y):



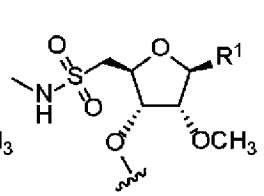
Формула (1)



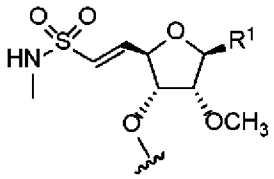
Формула (2)



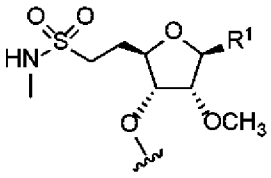
Формула (3)



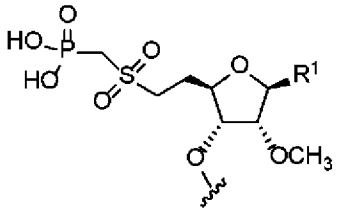
Формула (4)



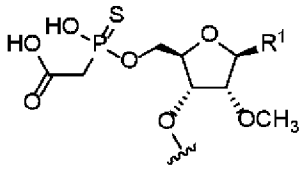
Формула (5)



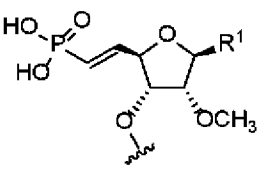
Формула (6)



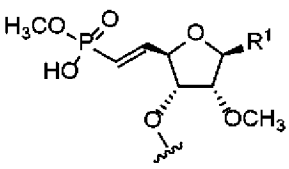
Формула (7)



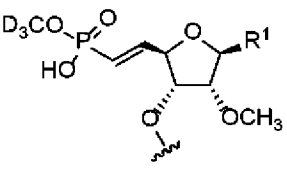
Формула (8)



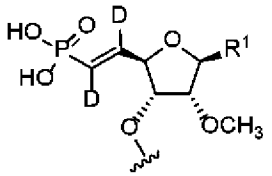
Формула (9)



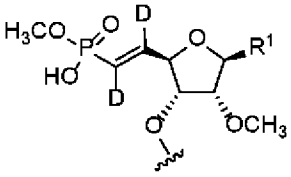
Формула (9X)



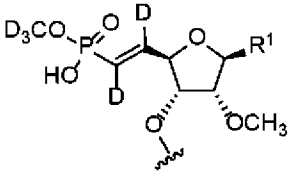
Формула (9Y)



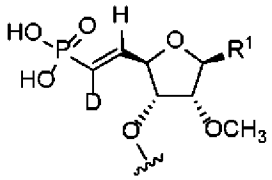
Формула (10)



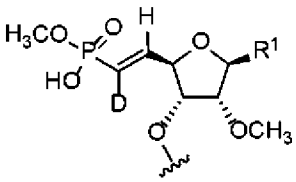
Формула (10X)



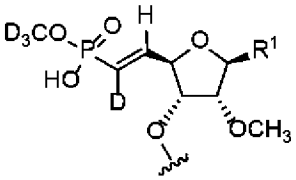
Формула (10Y)



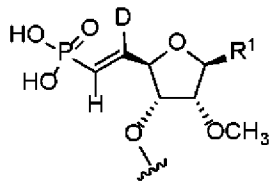
Формула (11)



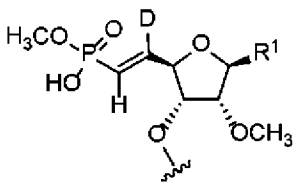
Формула (11X)



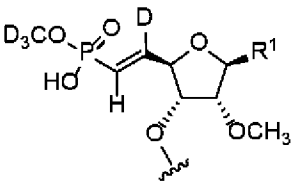
Формула (11Y)



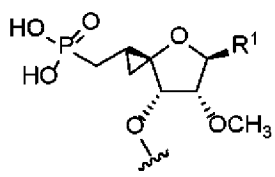
Формула (12)



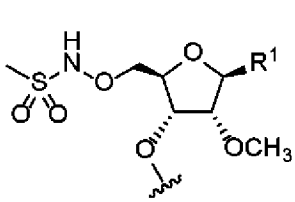
Формула (12X)



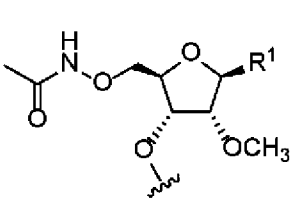
Формула (12Y)



Формула (13)



Формула (14)

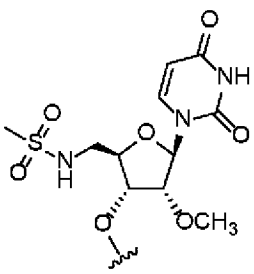


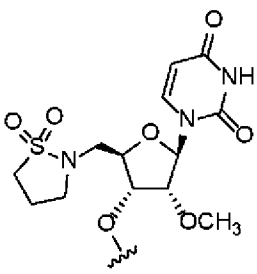
Формула (15)

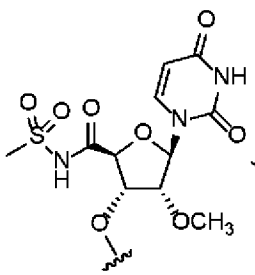
, где R^1

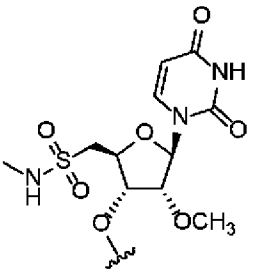
представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H.

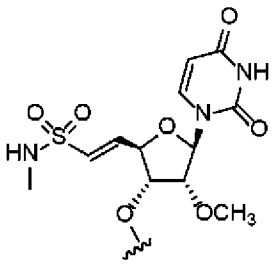
95. миНК по любому из пп. 10, 65 и 88, где 5’-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формул (1A)–(15A), формул (9B)–(12B), формул (9AX)–(12AX), формул (9AY)–(12AY), формул (9BX)–(12BX) и формул (9BY)–(12BY):

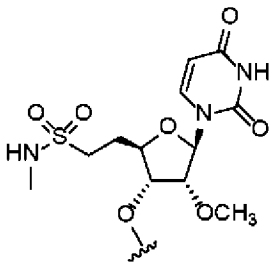

Формула (1A)

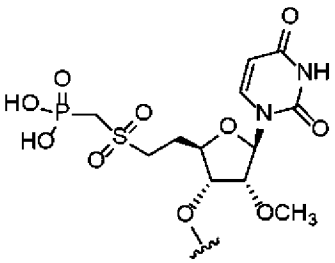

Формула (2A)

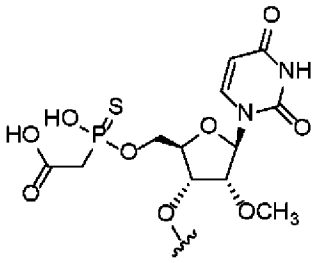

Формула (3A)

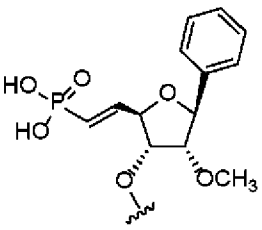

Формула (4A)

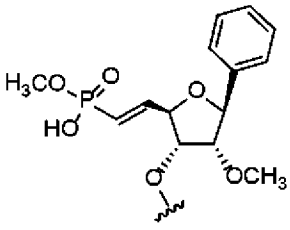

Формула (5A)

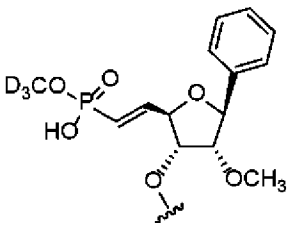

Формула (6A)

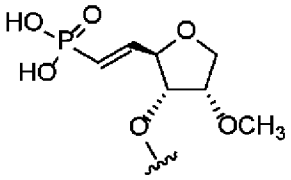

Формула (7A)


Формула (8A)

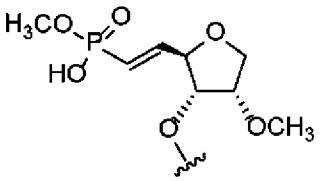

Формула (9A)


Формула (9AX)

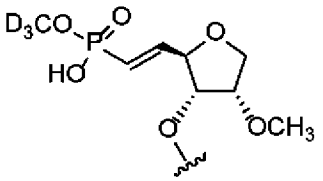

Формула (9AY)



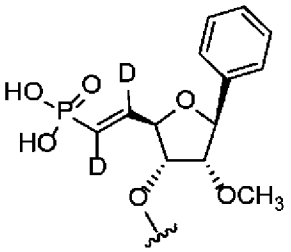
Формула (9B)



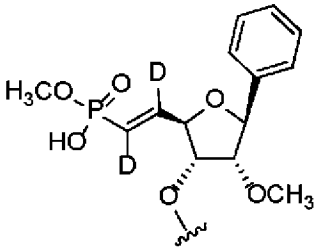
Формула (9BX)



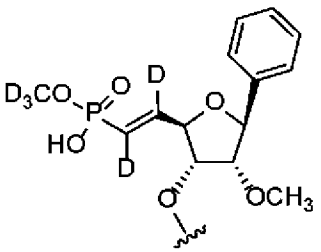
Формула (9BY)



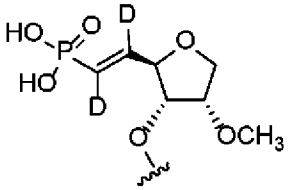
Формула (10A)



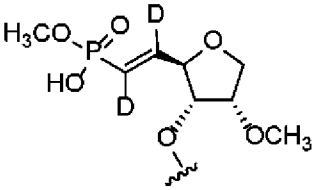
Формула (10AX)



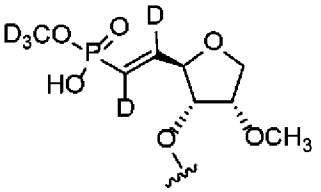
Формула (10AY)



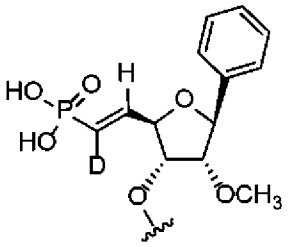
Формула (10B)



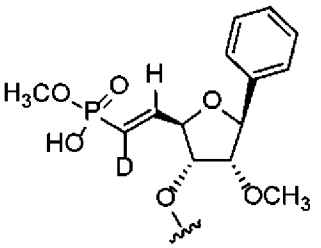
Формула (10BX)



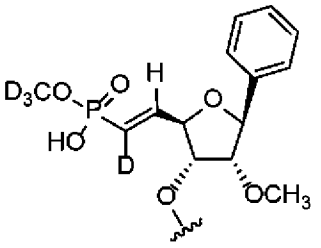
Формула (10BY)



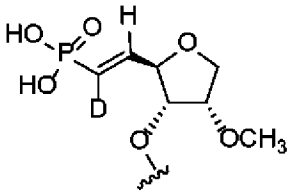
Формула (11A)



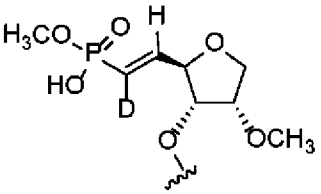
Формула (11AX)



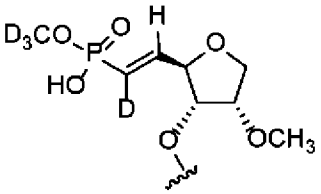
Формула (11AY)



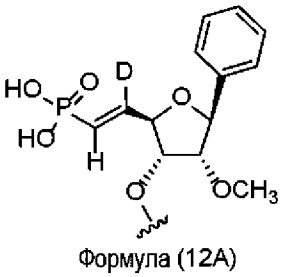
Формула (11B)



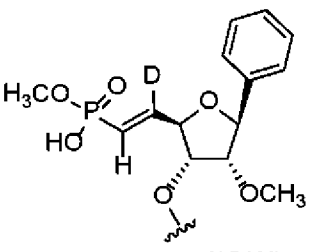
Формула (11BX)



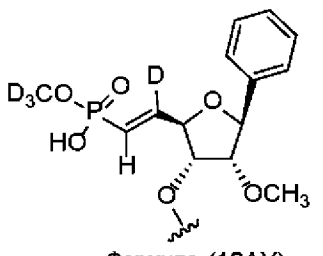
Формула (11BY)



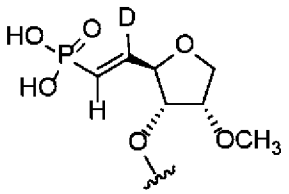
Формула (12A)



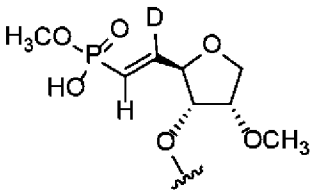
Формула (12AX)



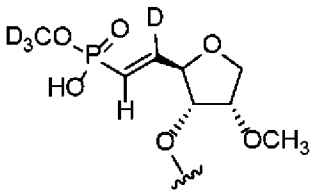
Формула (12AY)



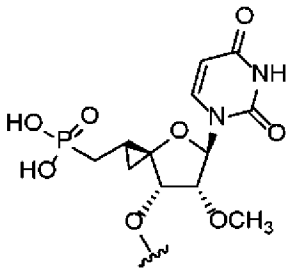
Формула (12B)



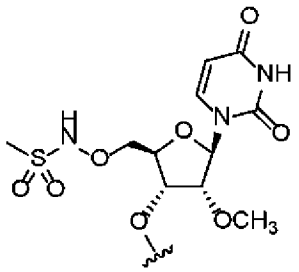
Формула (12BX)



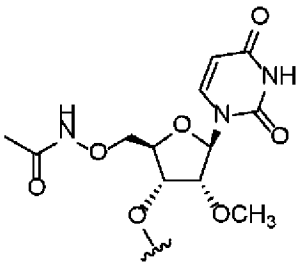
Формула (12BY)



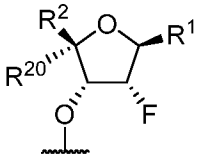
Формула (13A)



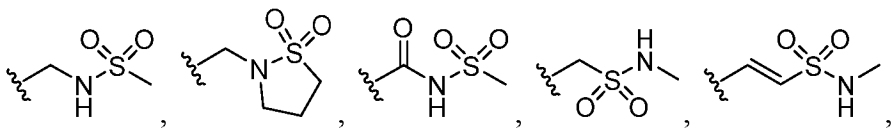
Формула (14A)



Формула (15A)

96. миНК по любому из пп. 65 и 88, где 5'-стабилизированный концевой кэп имеет структуру формулы (Ic):  , где

R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

R^2 представляет собой  , –CH=CD-Z, –CD=CH-Z, –CD=CD-Z, –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z и R^{20} представляет собой водород; или

R^2 и R^{20} вместе образуют 3–7-членное карбоциклическое кольцо, замещенное –$(CR^{21}R^{22})_n$-Z или –(C_2-C_6 алкенилен)-Z;

n равно 1, 2, 3 или 4;

Z представляет собой –$ONR^{23}R^{24}$, –$OP(O)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$OP(S)OH(CH_2)_mCO_2R^{23}$, –$P(O)(OH)_2$, -P(O)(OH)($OCH_3$), -P(O)(OH)($OCD_3$), –$SO_2(CH_2)_mP(O)(OH)_2$, –$SO_2NR^{23}R^{25}$, –$NR^{23}R^{24}$ или –$NR^{23}SO_2R^{24}$;

R^{21} и R^{22} как независимо представляют собой водород или C_1-C_6 алкил, так и R^{21} и R^{22} вместе образуют оксо-группу;

R^{23} представляет собой водород или C_1-C_6 алкил;

R^{24} представляет собой $–SO_2R^{25}$ или $–C(O)R^{25}$; или

R^{23} и R^{24} вместе с азотом, к которому они присоединены, образуют замещенное или незамещенное гетероциклическое кольцо;

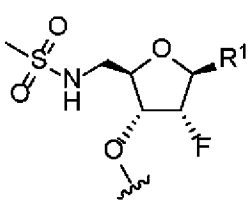
R^{25} представляет собой C_1-C_6 алкил; и

m равен 1, 2, 3 или 4.

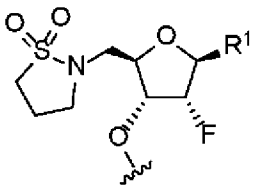
97. миНК по п. 96, где R^1 представляет собой арил.

98. миНК по п. 97, где арил представляет собой фенил.

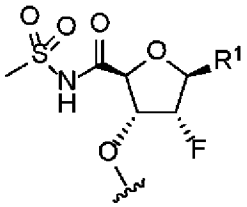
99. миНК по любому из пп. 10, 65 и 88, где 5’-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формулы (21)–формулы (35):



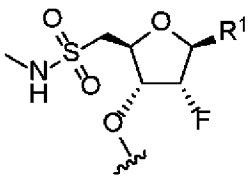
Формула (21)



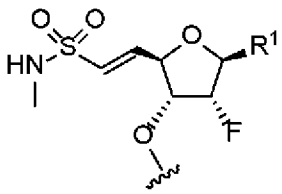
Формула (22)



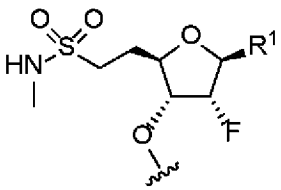
Формула (23)



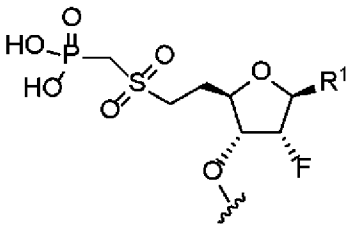
Формула (24)



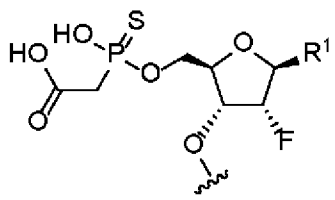
Формула (25)



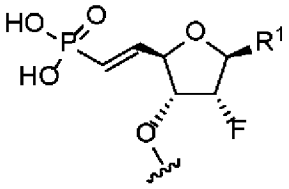
Формула (26)



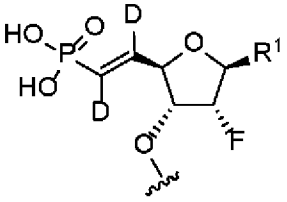
Формула (27)



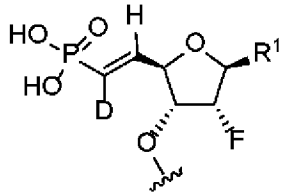
Формула (28)



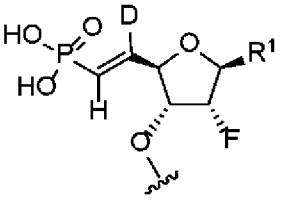
Формула (29)



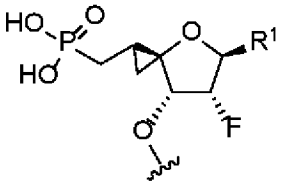
Формула (30)



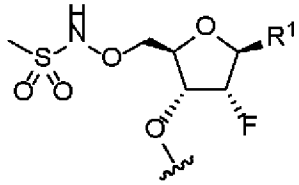
Формула (31)



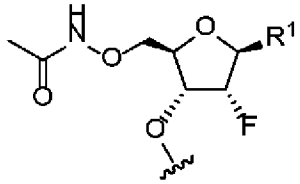
Формула (32)



Формула (33)



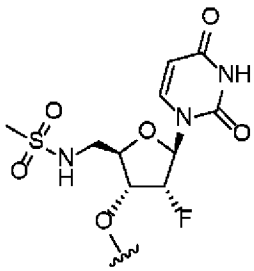
Формула (34)



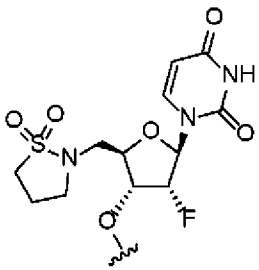
Формула (35)

, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

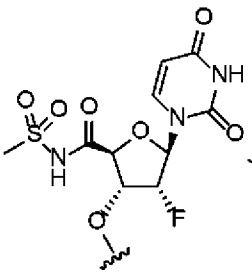
100. миНК по любому из пп. 10, 65 и 88, где 5’-стабилизированный концевой кэп выбран из группы, состоящей из формул (21A)–(35A), формул (29B)–(32B), формул (29AX)–(32AX), формул (29AY)–(32AY), формул (29BX)–(32BX) и формул (29BY)–(32BY):



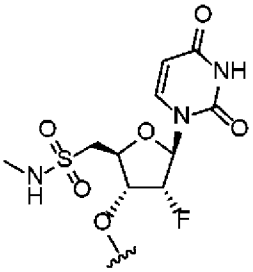
Формула (21A)



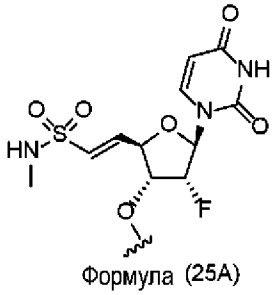
Формула (22A)



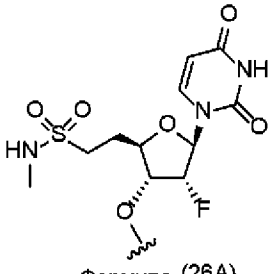
Формула (23A)



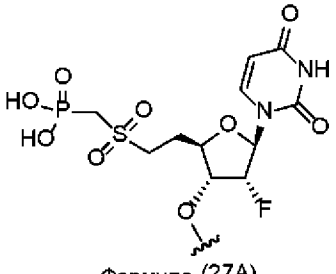
Формула (24A)



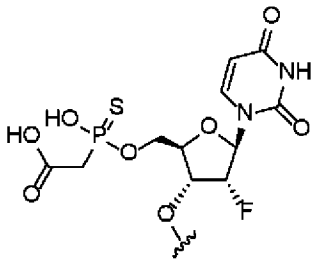
Формула (25A)



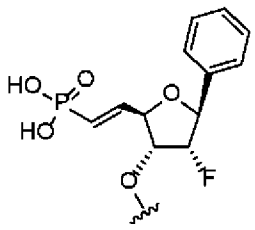
Формула (26A)



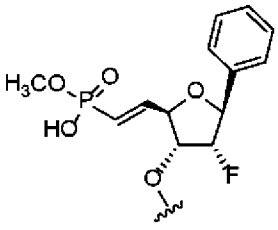
Формула (27A)



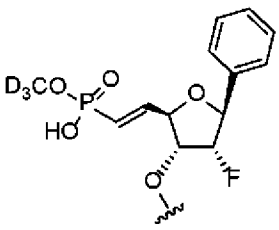
Формула (28A)



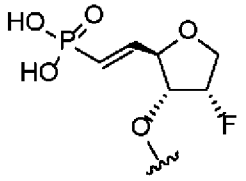
Формула (29A)



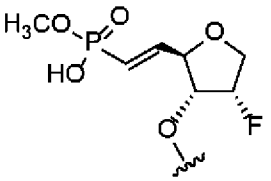
Формула (29AX)



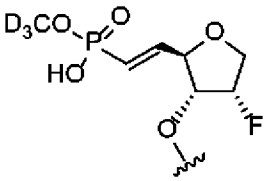
Формула (29AY)



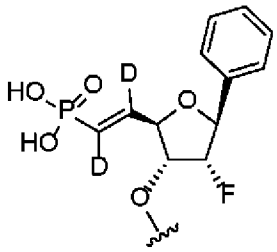
Формула (29B)



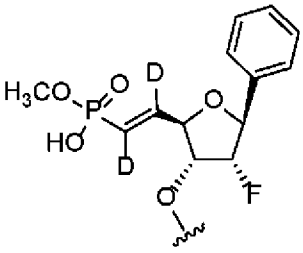
Формула (29BX)



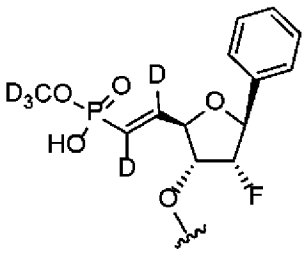
Формула (29BY)



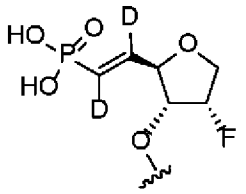
Формула (30A)



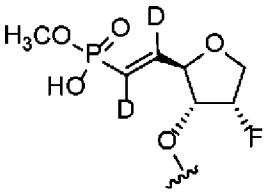
Формула (30AX)



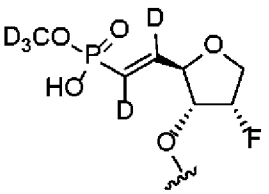
Формула (30AY)



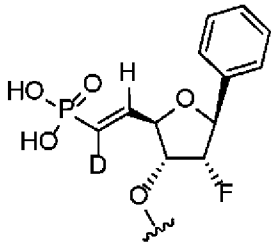
Формула (30B)



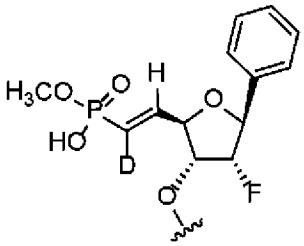
Формула (30BX)



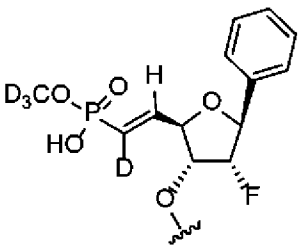
Формула (30BY)



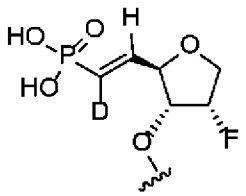
Формула (31A)



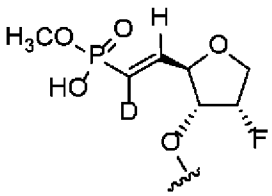
Формула (31AX)



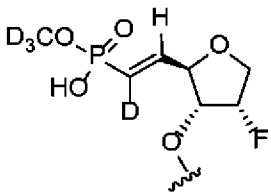
Формула (31AY)



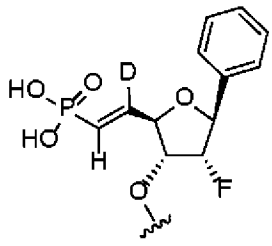
Формула (31B)

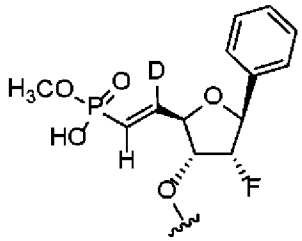


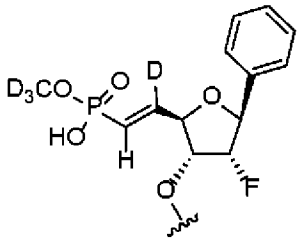
Формула (31BX)

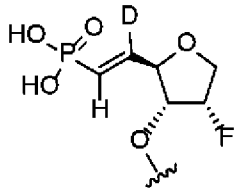


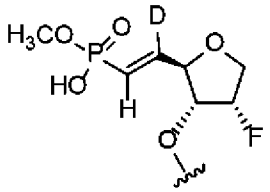
Формула (31BY)

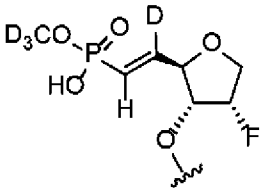

Формула (32A)

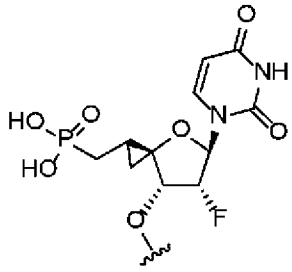

Формула (32AX)

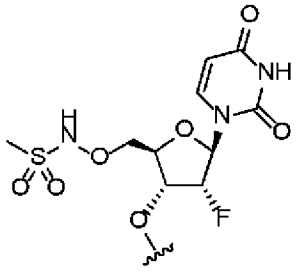

Формула (32AY)

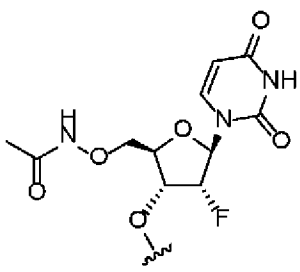

Формула (32B)


Формула (32BX)


Формула (32BY)

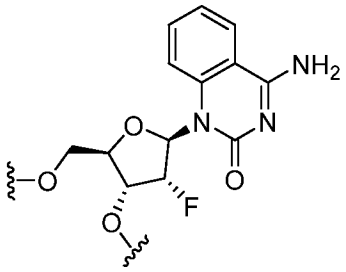

Формула (33A)

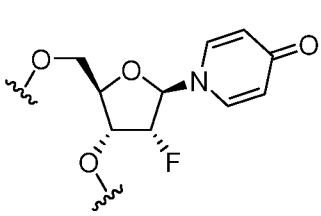

Формула (34A)

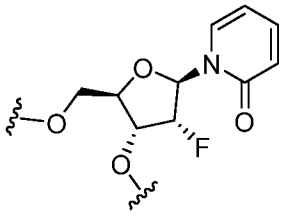

Формула (35A)

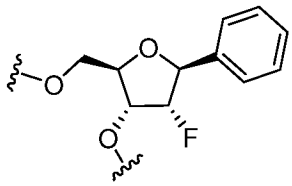
, где R^1 представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H,

101. миНК по любому из пп. 1–100, где антисмысловая цепь, смысловая цепь, первая нуклеотидная последовательность и/или вторая нуклеотидная последовательность содержат по меньшей мере один термодестабилизируемый нуклеотид, выбранный из:


,


,


и


.

102. миНК по любому из пп. 10, 65 и 88–101, где 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к (i) 5’-концу антисмысловой цепи; или (ii) 5’-концу смысловой цепи.

103. миНК по п. 102, где 5’-стабилизированный концевой кэп присоединен к:

(i) 5’-концу антисмысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера; или

(ii) 5’-концу смысловой цепи с помощью одного или более линкеров, независимо выбранных из фосфодиэфирного линкера, фосфоротиоатного линкера или фосфородитиоатного линкера.

104. миНК по любому предыдущему пункту, где;

(i) ген-мишень представляет собой вирусный ген;

(ii) ген-мишень представляет собой ген из ДНК-вируса.

(iii) ген-мишень представляет собой ген из двухцепочечной ДНК (дцДНК) вируса; .

(iv) ген-мишень представляет собой ген гепаднавируса;

(v) ген-мишень представляет собой ген вируса гепатита B (HBV);

(vi) ген-мишень представляет собой ген HBV любого из генотипов A-J; или

(vii) ген-мишень выбран из гена S или гена X HBV.

105. миНК по любому из пп. 1–104, где:

(i) вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам в положениях 200–720 или 1100-1700 из SEQ ID NO: 410;

(ii) вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам в положениях 200–280, 300–445, 460–510, 650–720, 1170–1220, 1250–1300 или 1550–1630 из SEQ ID NO: 410;

(iii) вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам в положениях 200–230, 250–280, 300–330, 370–400, 405–445, 460–500, 670–700, 1180–1210, 1260–1295, 1520–1550 или 1570–1610 из SEQ ID NO: 410;

(iv) вторая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% комплементарна 15–30 нуклеотидам, начиная от положения 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 или 1584 из SEQ ID NO: 410;

(v) первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95 % или 100% идентична 15 –30 нуклеотидам в положениях 200–720 или 1100–1700 из SEQ ID NO: 410;

(vi) первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95 % или 100% идентична 15–30 нуклеотидам в положениях 200–280, 300–445, 460–510, 650–720, 1170–1220, 1250–1300 или 1550–1630 из SEQ ID NO: 410;

(vii) первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95 % или 100% идентична 15–30 нуклеотидам в положениях 200–230, 250-280, 300–330, 370–400, 405–445, 460–500, 670–700, 1180–1210, 1260–1295, 1520–1550 или 1570–1610 из SEQ ID NO: 410; и/или

(viii) первая нуклеотидная последовательность по меньшей мере на около 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95 % или 100% идентична 15–30 нуклеотидам, начиная от положения 203, 206, 254, 305, 375, 409, 412, 415, 416, 419, 462, 466, 467, 674, 676, 1182, 1262, 1263, 1268, 1526, 1577, 1578, 1580, 1581, 1583 или 1584 из SEQ ID NO: 410.

106. миНК по любому предыдущему пункту, где

(i) первая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 1–56, 103–158 и 205–260;

(ii) вторая нуклеотидная последовательность содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 57–102, 159–204 и 261–306; (iii) смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 307–362 и 415–444; и/или

(iv) антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 363–409, 445–533 и 536–539.

107. миНК по любому предыдущему пункту, где

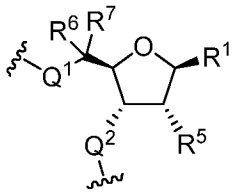
(i) по меньшей мере один конец миНК является тупым концом;

(ii) по меньшей мере один конец миНК содержит выступ, причем выступ содержит по меньшей мере один нуклеотид; или

(iii) оба конца миНК содержат выступ, причем выступ содержит по меньшей мере один нуклеотид.

108. миНК по любому предыдущему пункту, где миНК выбрана из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178.

109. миНК по любому предыдущему пункту, где по меньшей мере один 2’-фторнуклеотид или 2’-*O*-метилнуклеотид представляет собой миметик 2’-фтор или 2-О-метилнуклеотида формулы (V):



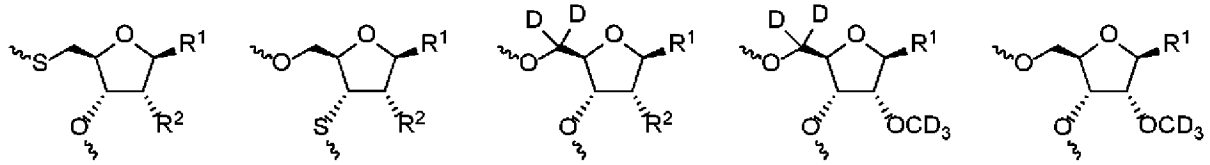
, где

R^1 независимо представляет собой азотистое основание, арил, гетероарил или H, Q^1 и Q^2 независимо представляют собой S или O,

R^5 независимо представляет собой $–OCD_3$, –F или $–OCH_3$, и

R^6 и R^7 независимо представляют собой H, D или CD3.

110. миНК по п. 109, где миметик 2’-фтор или 2’-O-метилнуклеотида представляет собой миметик нуклеотида формулы (16) – формулы (20):



Формула (16) Формула (17) Формула (18) Формула (19) Формула (20)

, где R^1 представляет собой азотистое основание и R^2 независимо представляет собой F или $–OCH_3$.

111. миНК по любому предыдущему пункту, где по меньшей мере один 2’-фторнуклеотид представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

112. миНК по п. 111, где:

(i) по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более 2’-фторнуклеотидов на антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности представляют собой миметик 2’-фторнуклеотида;

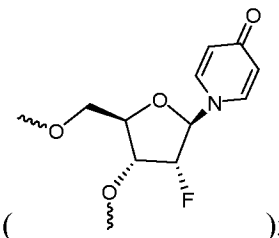
(ii) нуклеотид в положении 2, 5, 6, 8, 10, 14, 16 и/или 17 от 5’-конца антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида;

(iii) по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более 2’-фторнуклеотидов в смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности представляют собой миметик 2’-фторнуклеотида; и/или

(iv) нуклеотид в положении 3, 5, 7, 8, 9, 10, 11,12, 14 и/или 17 от 5’-конца смысловой цепи или первой нуклеотидной последовательности представляет собой миметик 2’-фторнуклеотида.

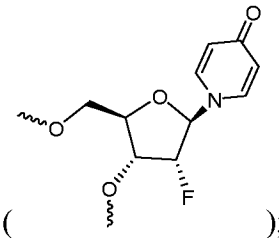
113. миНК по любому из пп. 111–112, где:

(i) по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более миметиков 2'-фторнуклеотида



представляют собой нуклеотид f4P ( );

(ii) меньше чем или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 миметика 2'-фторнуклеотида



представляют собой нуклеотид f4P ( );

(iii) 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более миметика 2'-фторнуклеотида представляют собой



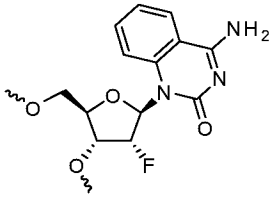
нуклеотид f2P ( );

(iv) меньше чем или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 миметика 2'-фторнуклеотида



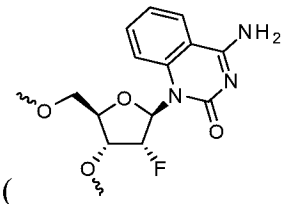
представляют собой нуклеотид f2P ( );

(v) 1, 2, 3, 4, 5, 6 или более миметиков 2'-фторнуклеотида представляет собой



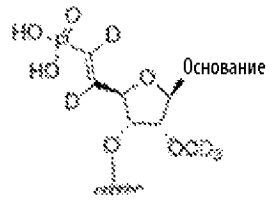
нуклеотид fX ( ); и/или

(vi) меньше чем или ровно 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2 миметика 2'-фторнуклеотида



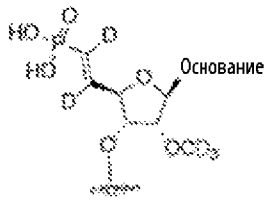
представляют собой нуклеотид fX ( ).

114. миНК по любому предыдущему пункту, где

(i) первый нуклеотид от 5’-конца антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности представляет собой нуклеотид d2vd3 (

);

и/или

(ii) первый нуклеотид от 3’-конца антисмысловой цепи или второй нуклеотидной последовательности представляет собой нуклеотид d2vd3 (

).

115. Композиция, содержащая:

(I) (a) миНК по любому из пп. 1–114; и (b) фармацевтически приемлемый эксципиент;

(II) 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более миНК по любому из пп. 1–114; или

(III) (a) 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более миНК по любому из пп. 1–114; и (b) фармацевтически приемлемый эксципиент;

116. Композиция по п. 115, где:

(i) по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более миНК нацелены на ген S HBV; и/или

(ii) по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5 или более миНК нацелены на ген X HBV.

117. Композиция по любому из пп. 115–116, дополнительно содержащая:

(i) дополнительный агент для лечения HBV;

(ii) дополнительный агент для лечения HBV, выбранный из аналога нуклеотида, аналога нуклеозида, модулятора сборки капсида (CAM), рекомбинантного интерферона, ингибитора проникновения, низкомолекулярного иммуномодулятора и олигонуклеотидной терапии;

(iii) дополнительную миНК;

(iv) дополнительную миНК, выбранную из любого из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178;

(v) олигонуклеотидную терапию, выбранную из антисмыслового олигонуклеотида (ASO), NAP или STOP;

(vi) ASO, выбранного из ASO 1 или ASO 2; и/или

(vii) дополнительный агент для лечения HBV, выбранный из HBV STOPS™ ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1, рекомбинантного интерферона альфа 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, ламивудина, телбивудина, адефовира дипивоксила, клевудина, энтекавира, тенофовира алафенамида, тенофовира дизопроксила, NVR3–778, BAY41–4109, JNJ-632, JNJ–3989 (ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB–729, VIR-2218, RG6346 (DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ–440, NZ–4, RG7907, EDP–514, AB–423, AB–506, ABI-H03733 и ABI-H2158.

118. Применение миНК по любому из пп. 1–114 или композиции по любому из пп. 115–117 в производстве лекарственного средства для лечения заболевания.

119. Применение по п. 118, где:

(i) заболевание является вирусным заболеванием;

(ii) заболевание вызывается ДНК-содержащим вирусом;

(iii) заболевание вызывается двухцепочечной ДНК (дцДНК вируса);

(iv) заболевание вызывается гепаднавирусом;

(v) заболевание вызывается вирусом гепатита B (HBV); или

(vi) заболевание вызывается HBV любого из генотипов HBV A-J.

120. Применение по любому из пп. 118–119, дополнительно включающее:

(i) дополнительный агент для лечения HBV при производстве лекарственного средства;

(ii) дополнительный агент для лечения HBV, выбранный из аналога нуклеотида, аналога нуклеозида, модулятора сборки капсида (CAM), рекомбинантного интерферона, ингибитора проникновения, низкомолекулярного иммуномодулятора и олигонуклеотидной терапии;

(iii) дополнительную миНК;

(iv) дополнительную миНК, выбранную из любого из от дц-миНК-001 до дц-миНК-0178;

(v) олигонуклеотидную терапию, выбранную из антисмыслового олигонуклеотида (ASO), NAP или STOP; (vi) ASO, выбранный из ASO 1 и ASO 2; и/или

(vii) дополнительный агент для лечения HBV, выбранный из HBV STOPS™ ALG-010133, HBV CAM ALG-000184, ASO 1, рекомбинантного интерферона альфа 2b, IFN-a, PEG-IFN-a-2a, ламивудина, телбивудина, адефовира дипивоксила, клевудина, энтекавира, тенофовира алафенамида, тенофовира дизопроксила,

NVR3–778, BAY41–4109, JNJ-632, JNJ–3989 (ARO-HBV), RG6004, GSK3228836, REP-2139, REP-2165, AB–729, VIR-2218, RG6346 (DCR-HBVS), JNJ-6379, GLS4, ABI-HO731, JNJ–440, NZ–4, RG7907, EDP–514, AB–423, AB–506, ABI-H03733 и ABI-H2158.

121. Применение по п. 118, где:

(i) заболевание представляет собой заболевание печени;

(ii) заболевание представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК); или

(iii) заболевание представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

122. Применение по любому из пп. 118 и 121, дополнительно включающее средство для лечения заболевания печени при производстве лекарственного средства.

123. Применение по п. 122, где:

(i) средство для лечения заболевания печени выбрано из агониста рецептора активатора пролиферации пероксисом (PPAR), агониста фарнезоидного X-рецептора (FXR), средства, изменяющего липидный состав, и терапии на основе инкретина;

(ii) средство для лечения заболевания печени представляет собой агонист PPAR, выбранный из агониста PPARα, двойного агониста PPARα/δ, агониста PPARγ и двойного агониста PPARα/γ; или

(iii) средство для лечения заболевания печени выбрано из фибрата, элафибранора, тиазолидиндиона (TZD), пиоглитазона, сароглитазара, обетихолевой кислоты (OCA), арамхола, агониста рецептора глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1), ингибитор дипептидилпептидазы 4 (DPP-4), эксенатида, лираглутида, ситаглиптина и вилдаплиптина.

124. миНК по любому из пп. 1–114 для применения в качестве лекарственного средства.

125. Композиция по любому из пп. 115–117 для применения в качестве лекарственного средства.

126. миНК по любому из пп. 1–114 для применения при лечении заболевания.

127. миНК по п. 126, где:

(i) заболевание является вирусным заболеванием;

(ii) заболевание вызывается ДНК-содержащим вирусом;

(iii) заболевание вызывается двухцепочечной ДНК (дцДНК вируса);

(iv) заболевание вызывается гепаднавирусом;

(v) заболевание вызывается вирусом гепатита B (HBV);

(vi) заболевание вызывается HBV любого из генотипов HBV A-J.

(vii) заболевание представляет собой заболевание печени;

(viii) заболевание представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК); или

(ix) заболевание представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

128. Композиция по любому из пп. 115–117 для применения при лечении заболевания.

129. Композиция по п. 128, где:

(i) заболевание является вирусным заболеванием;

(ii) заболевание вызывается ДНК-содержащим вирусом;

(iii) заболевание вызывается двухцепочечной ДНК (дцДНК вируса);

(iv) заболевание вызывается гепаднавирусом;

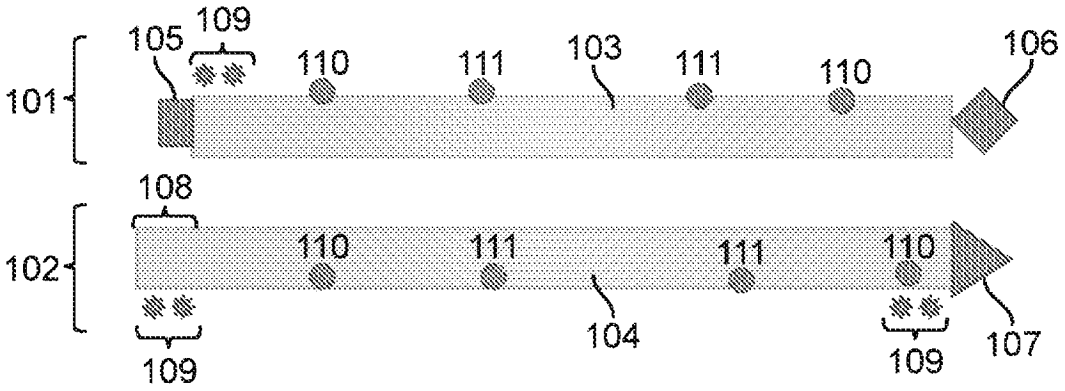
(v) заболевание вызывается вирусом гепатита B (HBV);

(vi) заболевание вызывается HBV любого из генотипов HBV A-J.

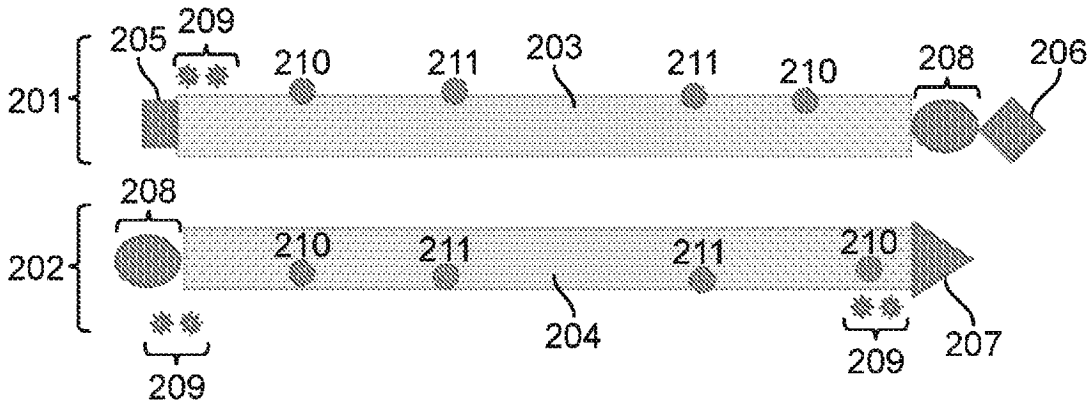
(vii) заболевание представляет собой заболевание печени;

(viii) заболевание представляет собой неалкогольную жировую болезнь печени (НАЖБП) или гепатоцеллюлярную карциному (ГЦК); или

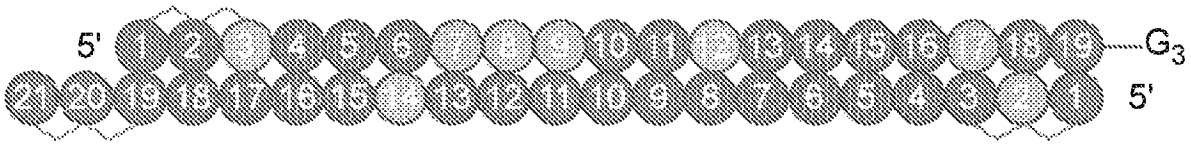
(ix) заболевание представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).


101
105
109
110
111
103
111
110
106
102
108
110
111
111
110
109
104
109
107

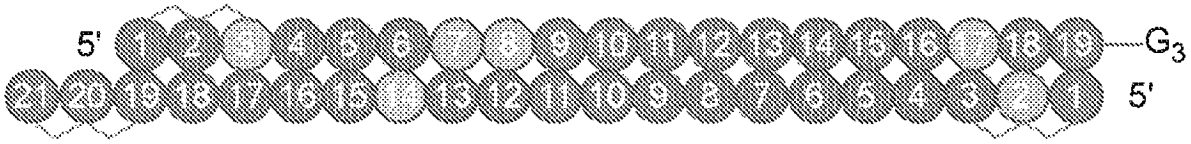
Фиг. 1


201
205
209
210
211
203
211
210
208
206
202
208
210
211
211
210
209
204
209
207

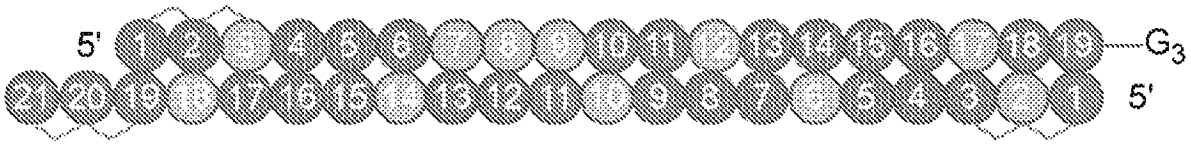
Фиг. 2



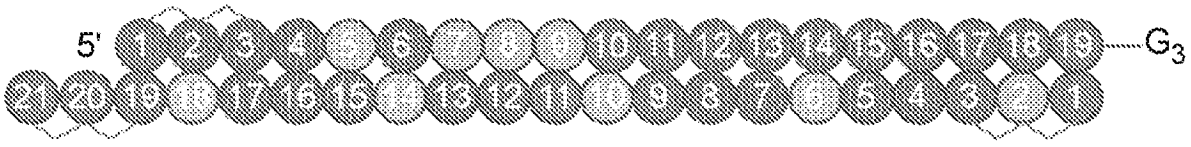
Фиг. 3A



Фиг. 3B

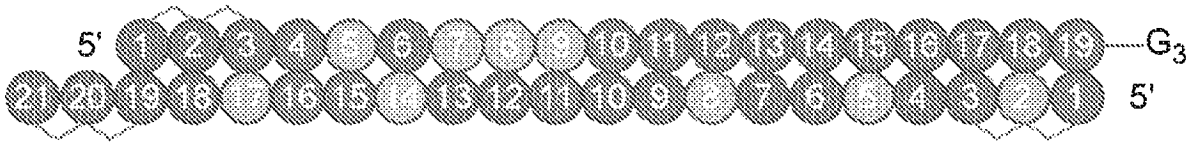


Фиг. 3C

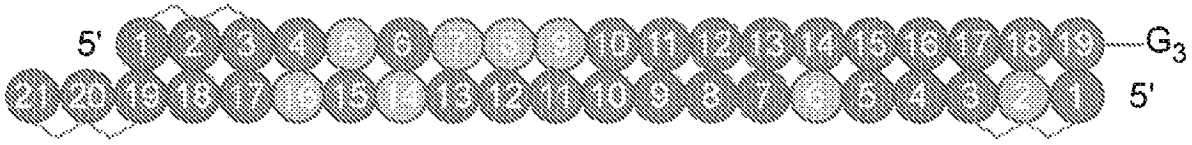


Фиг. 3D





Фиг. 3E

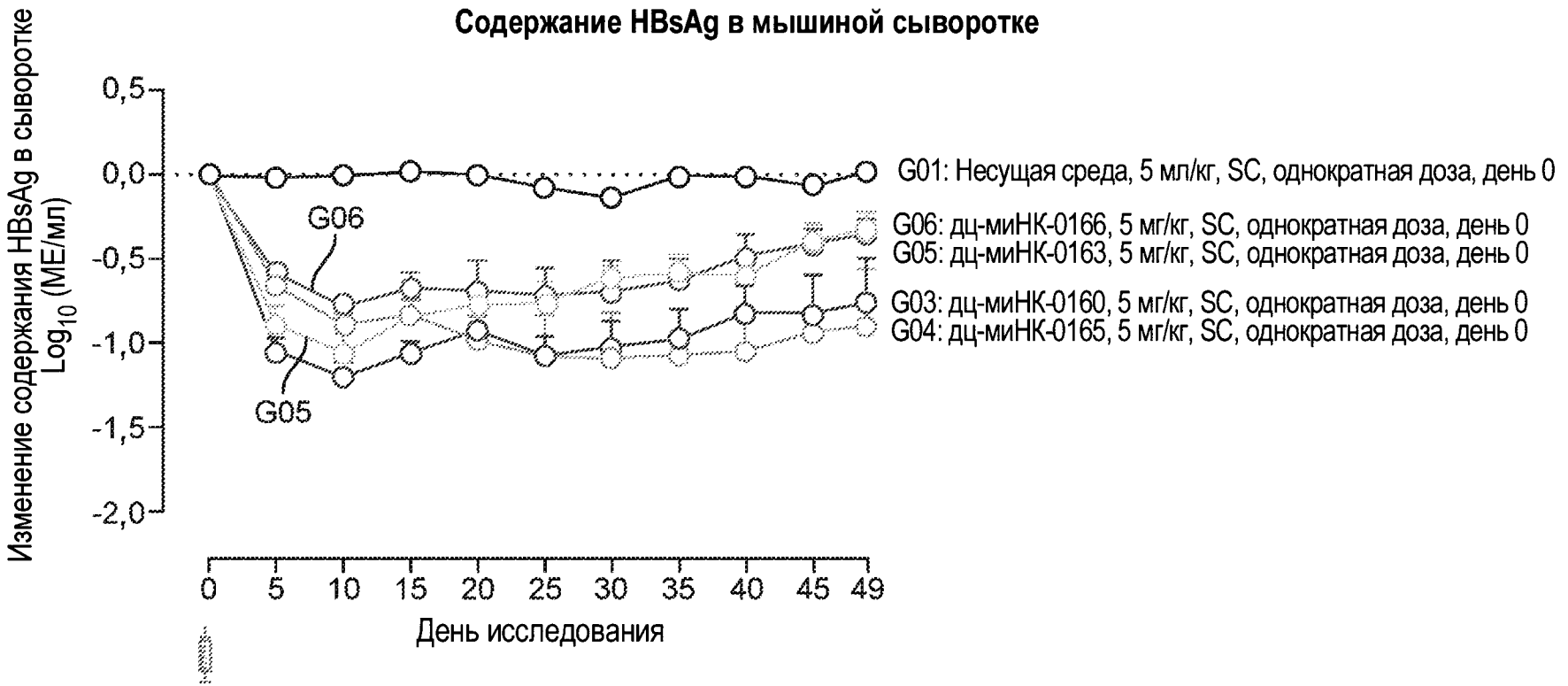


Фиг. 3F

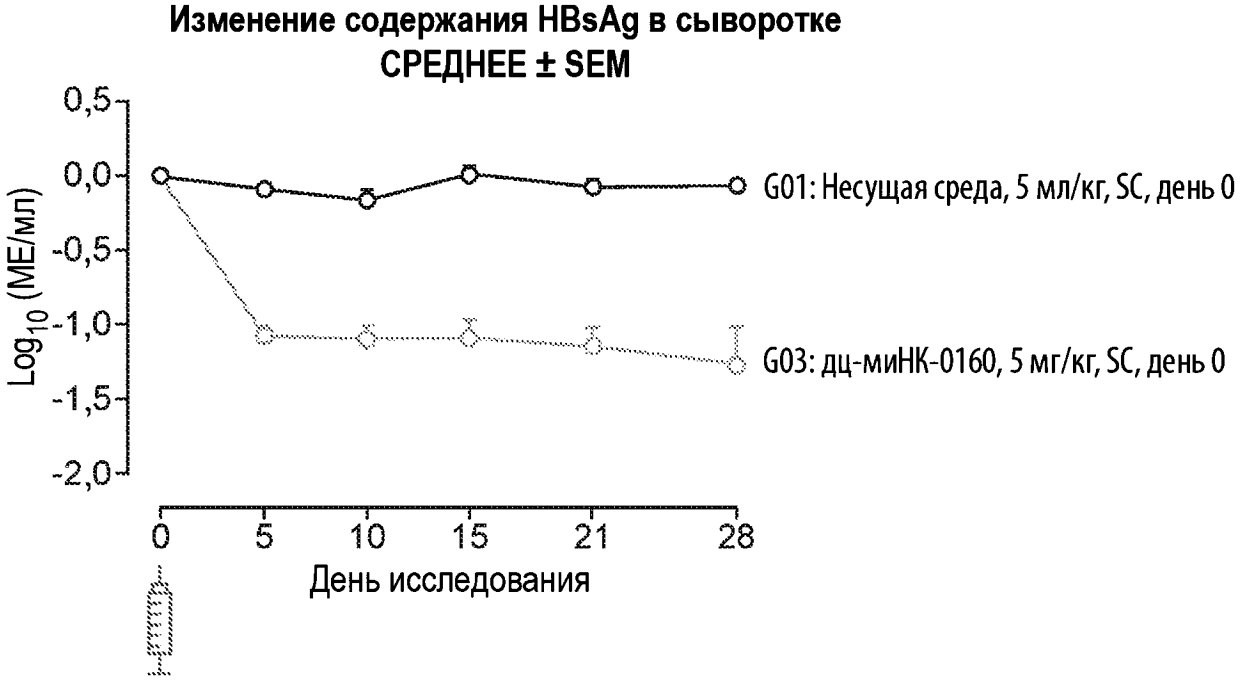


Фиг. 3G

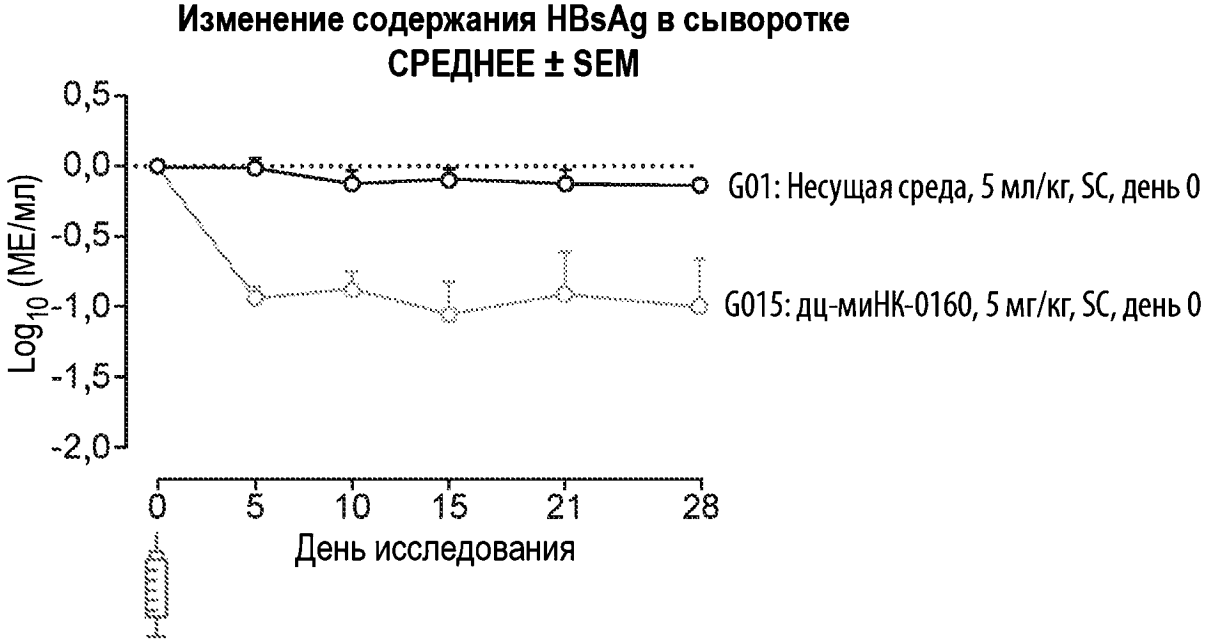



Содержание HBsAg в мышиной сыворотке
Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
G06
G05
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
49
День исследования
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, однократная доза, день 0
G06: дц-миНК-0166, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0
G05: дц-миНК-0163, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0
G03: дц-миНК-0160, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0
G04: дц-миНК-0165, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0

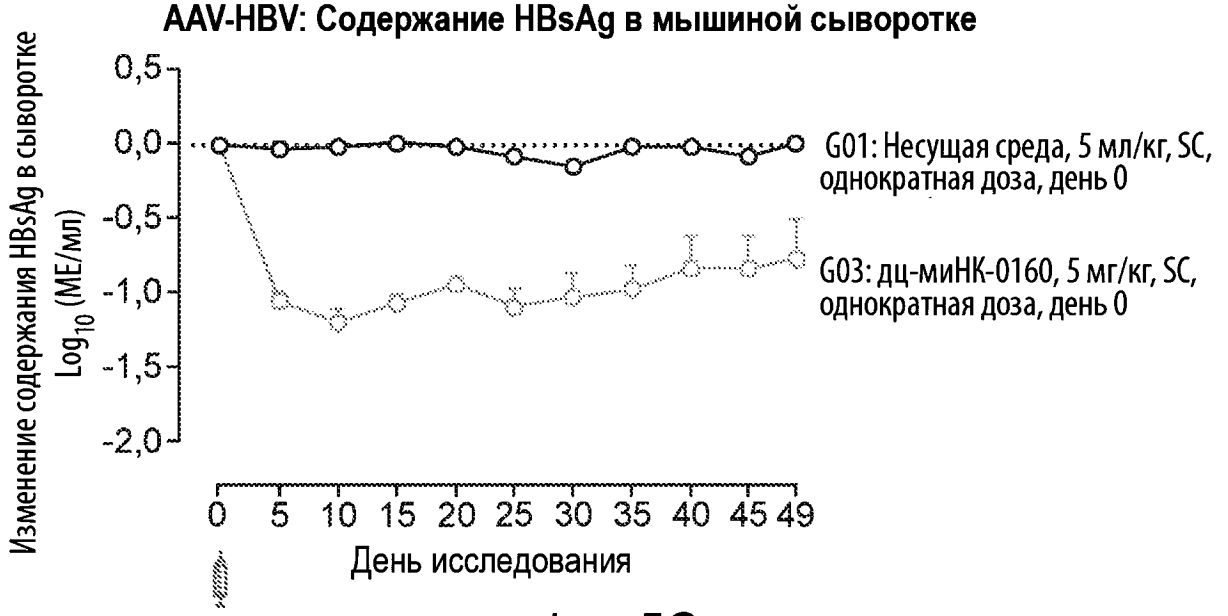
Фиг. 4


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
Log10 (МЕ/мл)
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G03: дц-миНК-0160, 5 мг/кг, SC, день 0
0
5
10
15
21
28
День исследования

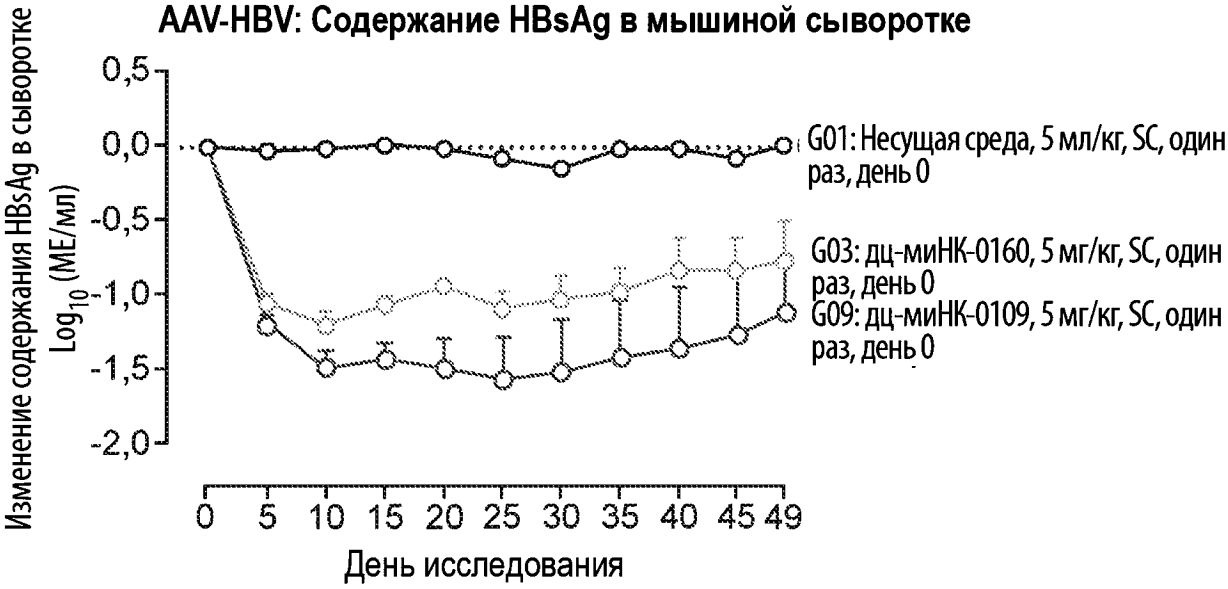
Фиг. 5A


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
Log10 (МЕ/мл)
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G015: дц-миНК-0160, 5 мг/кг, SC, день 0
0
5
10
15
21
28
День исследования

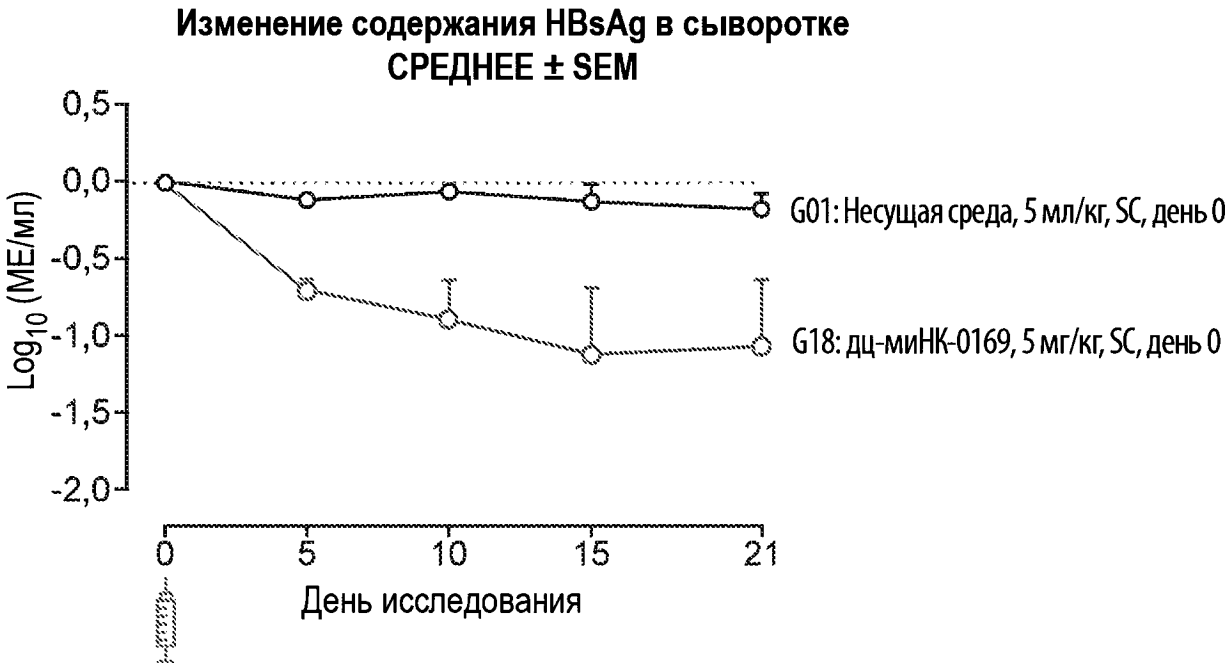
Фиг. 5B


AAV-HBV: Содержание HBsAg в мышиной сыворотке
Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 49
День исследования
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, однократная доза, день 0
G03: дц-миНК-0160, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0

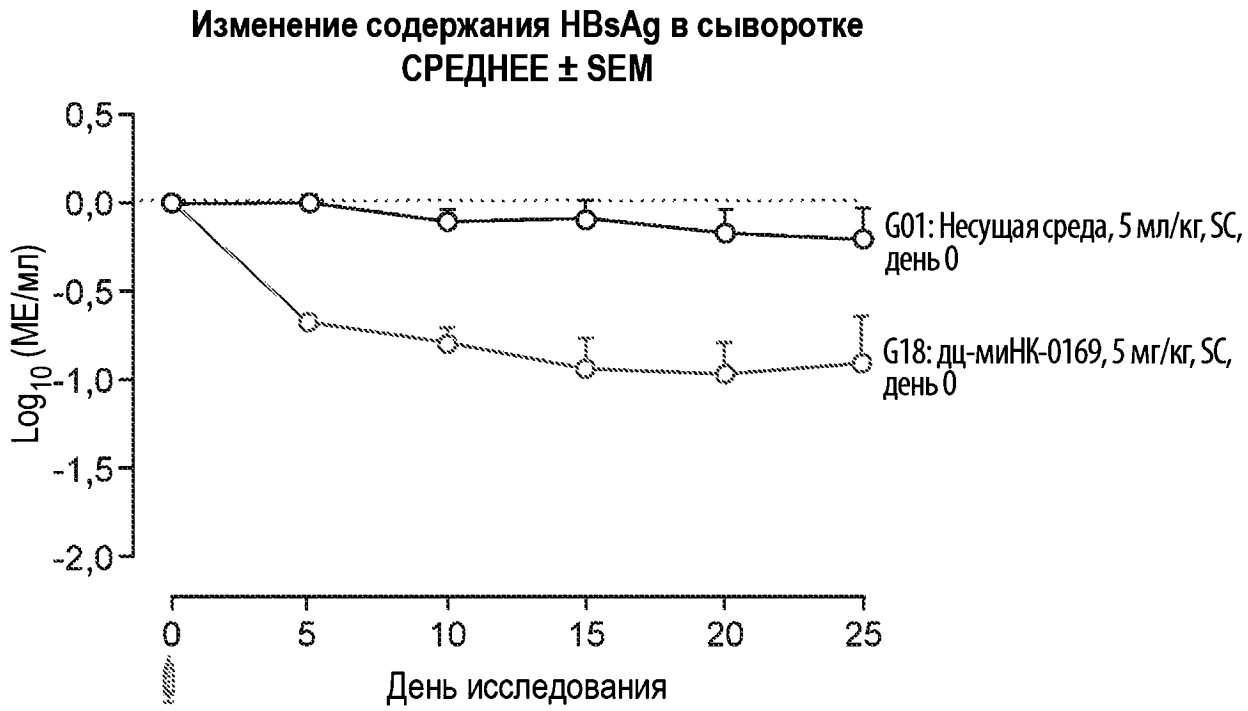
Фиг. 5C


AAV-HBV: Содержание HBsAg в мышиной сыворотке
Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 49
День исследования
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, один раз, день 0
G03: дц-миНК-0160, 5 мг/кг, SC, один раз, день 0
G09: дц-миНК-0109, 5 мг/кг, SC, один раз, день 0

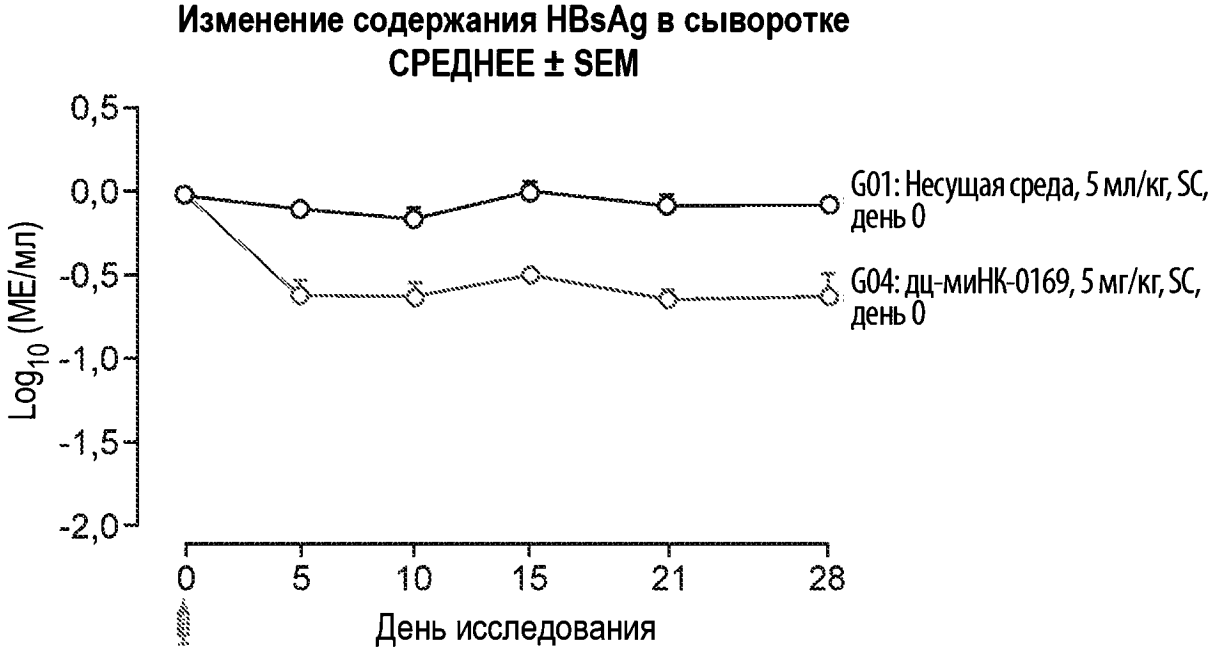
Фиг. 5D


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
Log10 (МЕ/мл)
0
5
10
15
21
День исследования
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G18: дц-миНК-0169, 5 мг/кг, SC, день 0

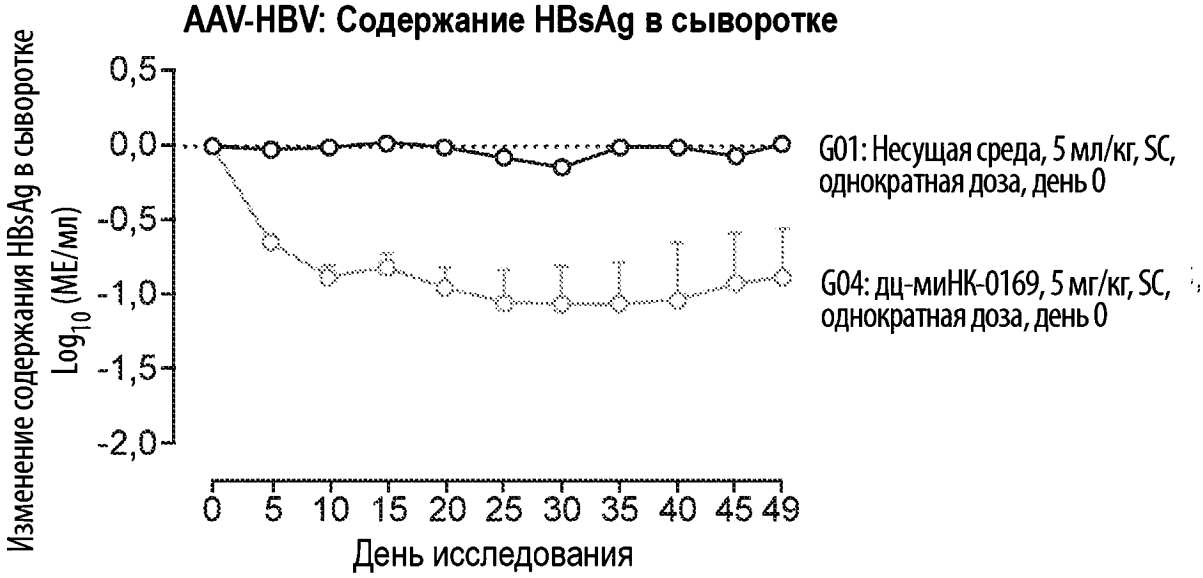
Фиг. 5E


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
Log10 (МЕ/мл)
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G18: дц-миНК-0169, 5 мг/кг, SC, день 0
0
5
10
15
20
25
День исследования

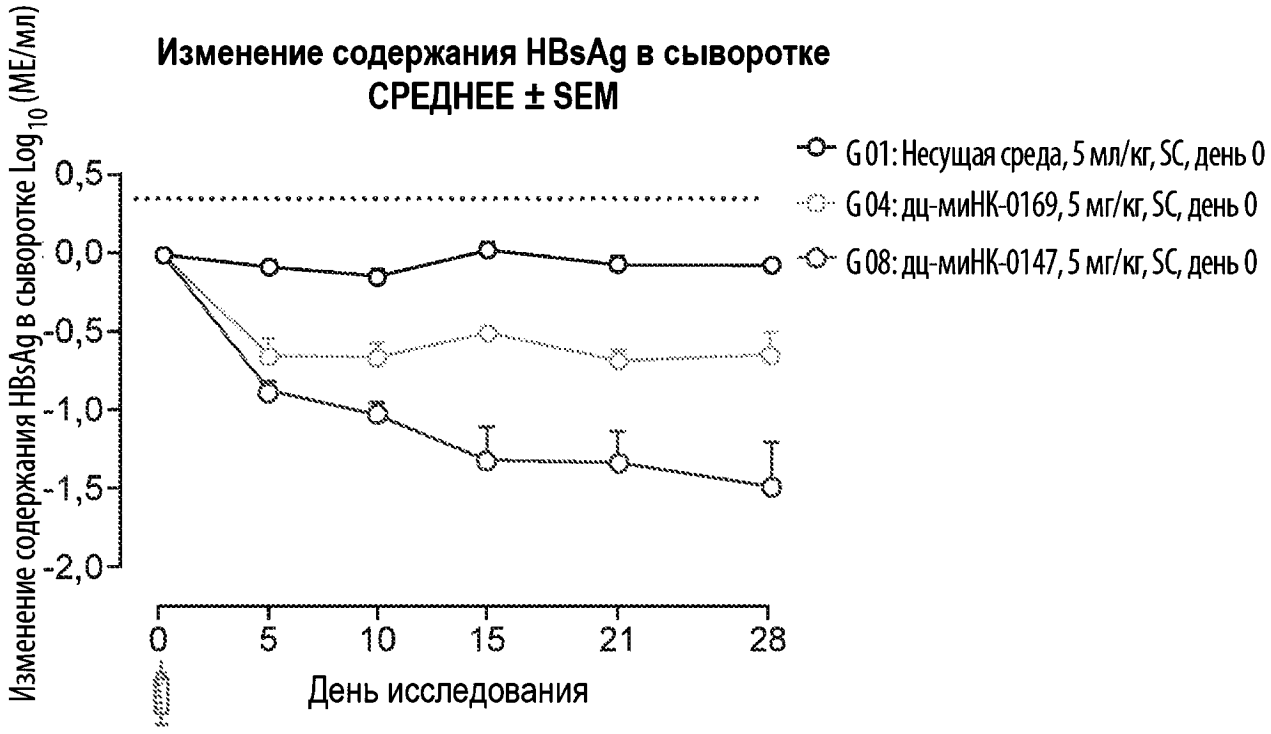
Фиг. 5F


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
Log10 (МЕ/мл)
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G04: дц-миНК-0169, 5 мг/кг, SC, день 0
0
5
10
15
21
28
День исследования

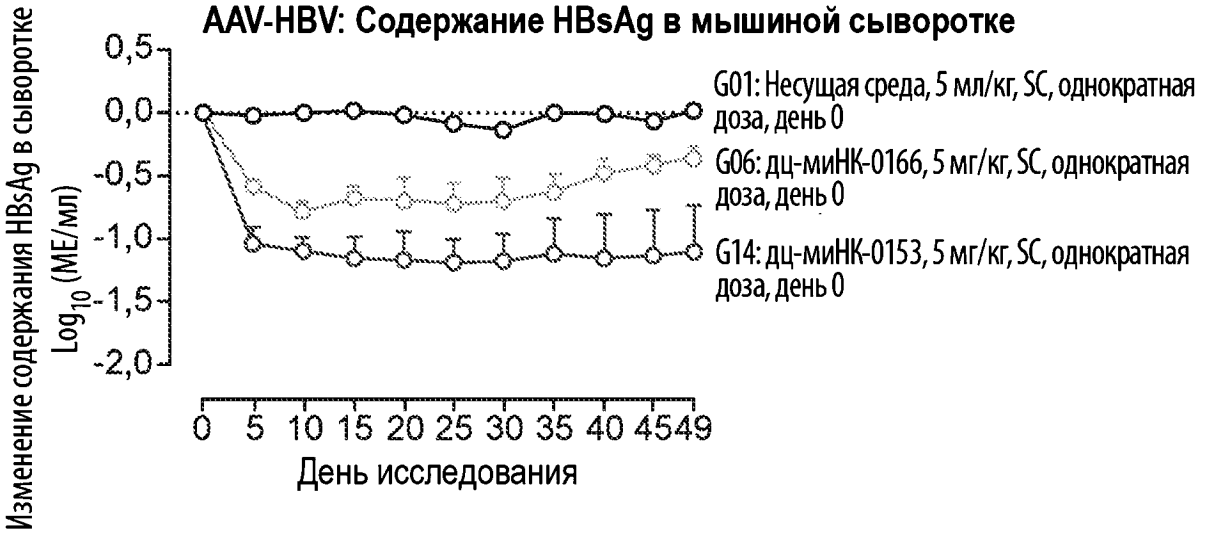
Фиг. 5G


AAV-HBV: Содержание HBsAg в сыворотке
Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (ME/мл)
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 49
День исследования
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, однократная доза, день 0
G04: дц-миНК-0169, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0

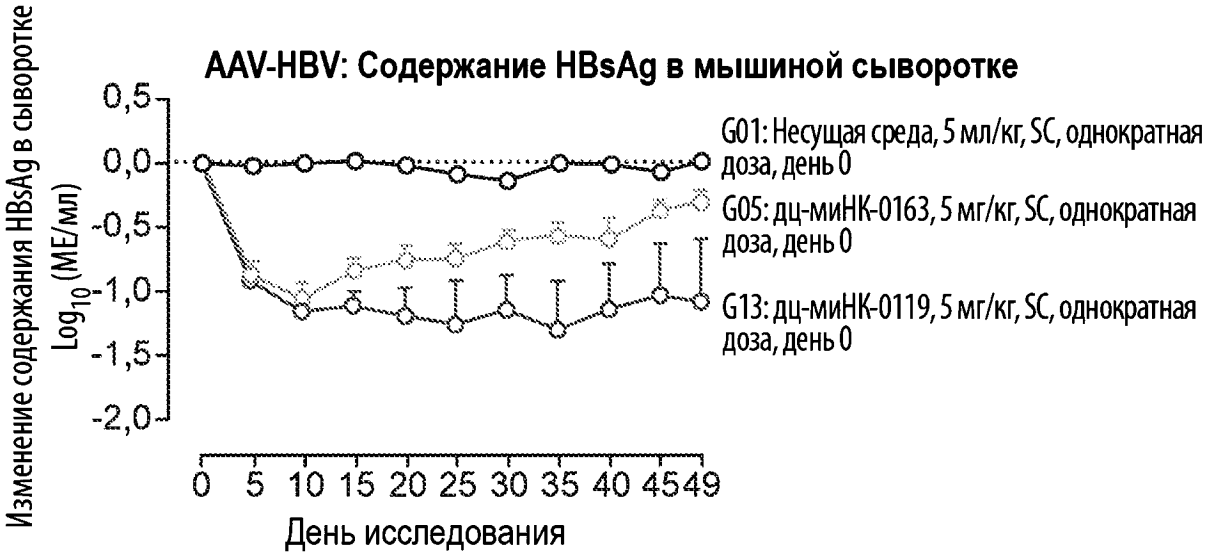
Фиг. 5H


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
Изменение содержания HBsAg в сыворотке Log10 (ME/мл)
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
0 5 10 15 21 28
День исследования
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G 04: дц-миНК-0169, 5 мг/кг, SC, день 0
G 08: дц-миНК-0147, 5 мг/кг, SC, день 0

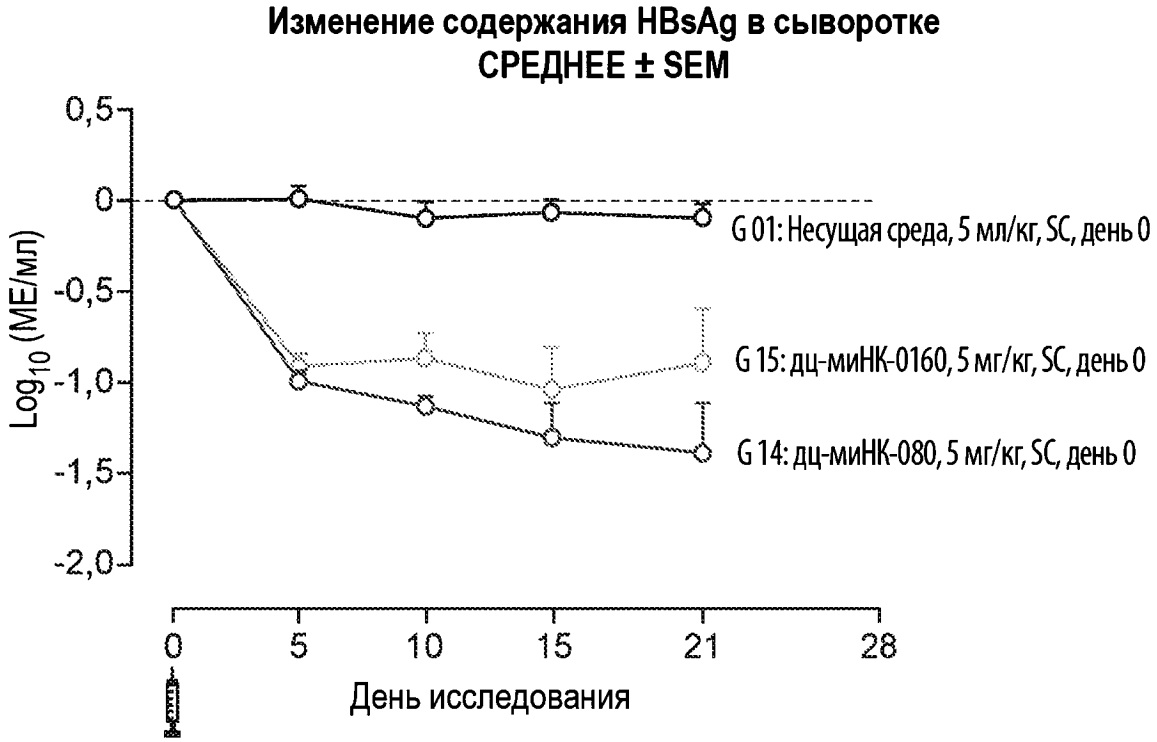
Фиг. 5I


AAV-HBV: Содержание HBsAg в мышиной сыворотке
Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 4549
День исследования
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, однократная доза, день 0
G06: дц-миНК-0166, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0
G14: дц-миНК-0153, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0

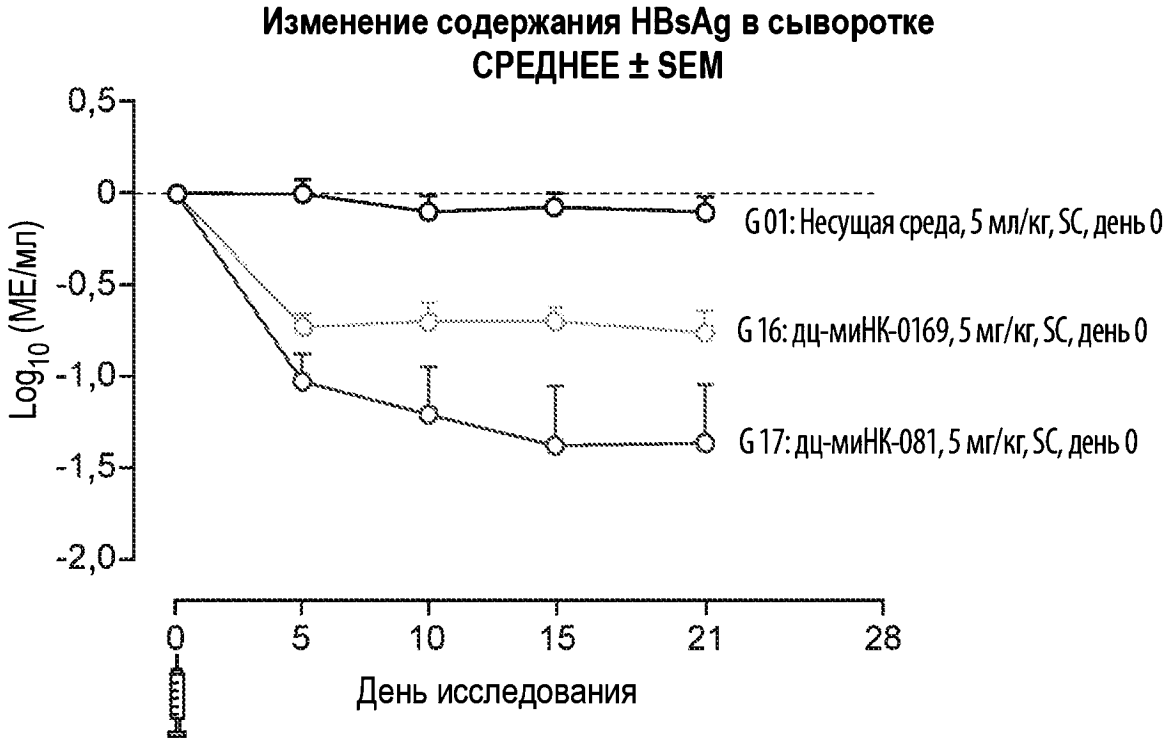
Фиг. 5J


AAV-HBV: Содержание HBsAg в мышиной сыворотке
Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
0,5
0,0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 4549
День исследования
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, однократная доза, день 0
G05: дц-миНК-0163, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0
G13: дц-миНК-0119, 5 мг/кг, SC, однократная доза, день 0

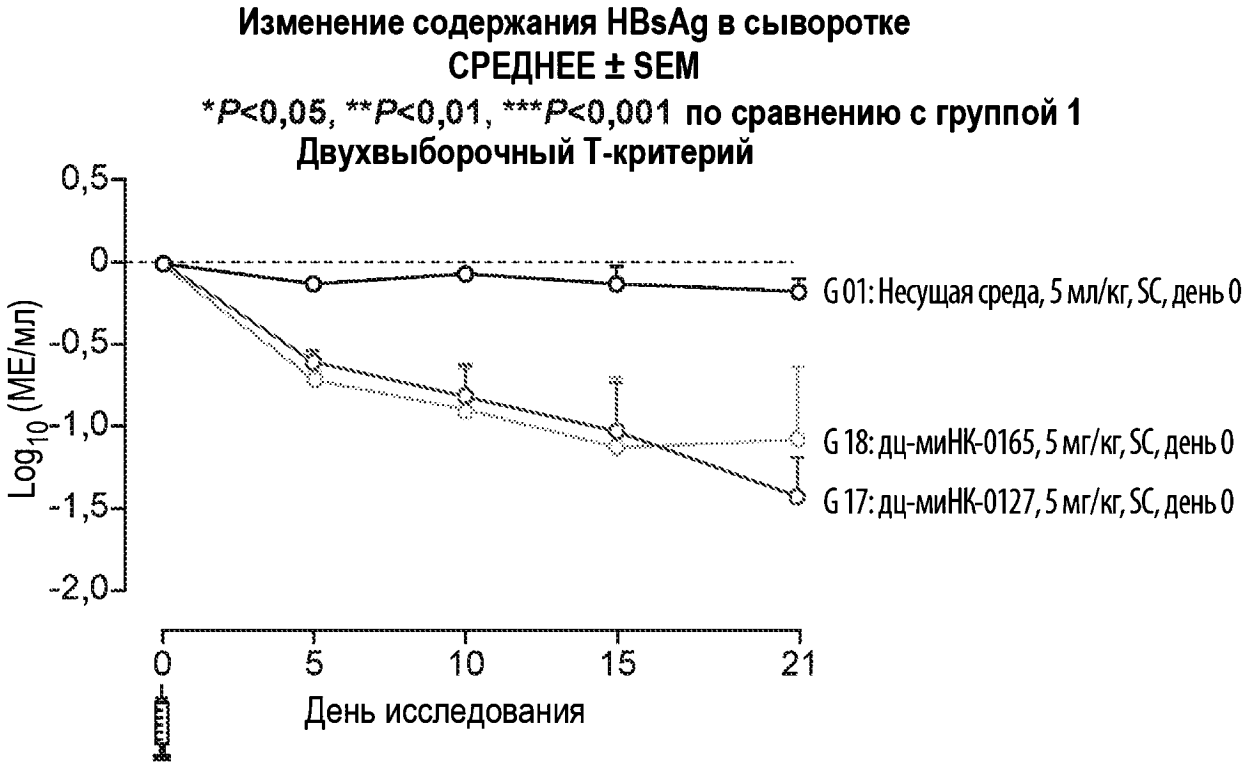
Фиг. 5k


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
Log10 (МЕ/мл)
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G 15: дц-миНК-0160, 5 мг/кг, SC, день 0
G 14: дц-миНК-080, 5 мг/кг, SC, день 0
0
5
10
15
21
28
День исследования

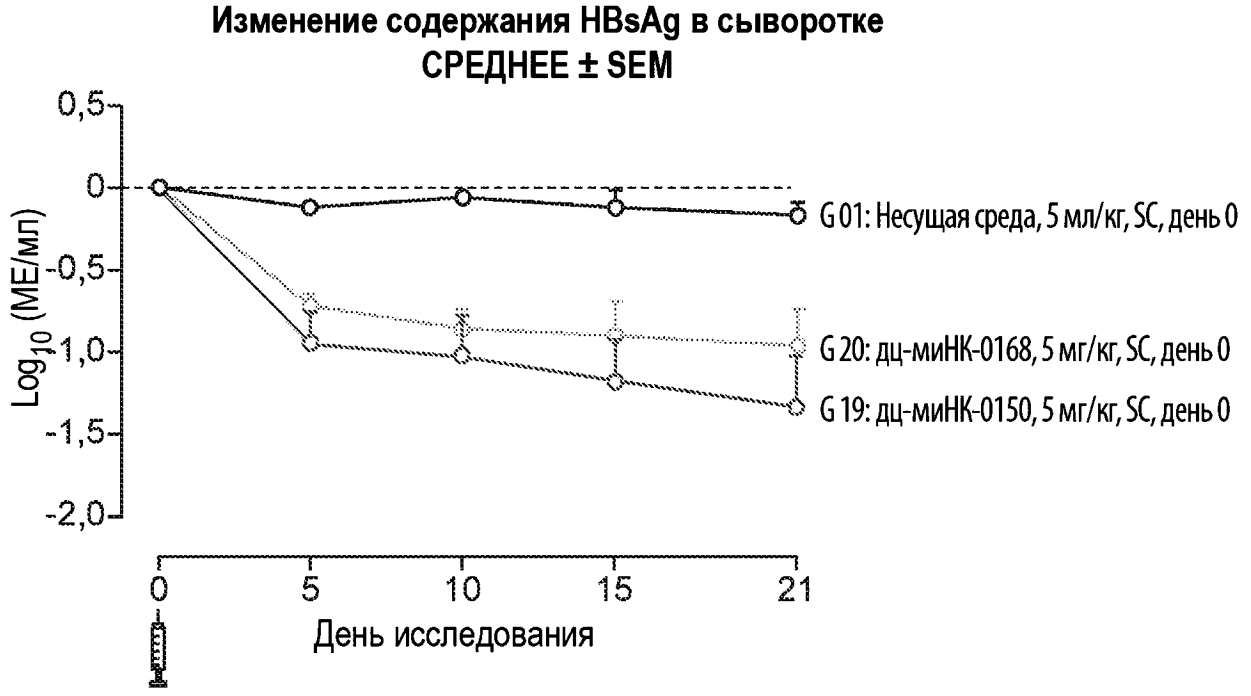
Фиг. 6A


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
Log10 (МЕ/мл)
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G 16: дц-миНК-0169, 5 мг/кг, SC, день 0
G 17: дц-миНК-081, 5 мг/кг, SC, день 0
0
5
10
15
21
28
День исследования

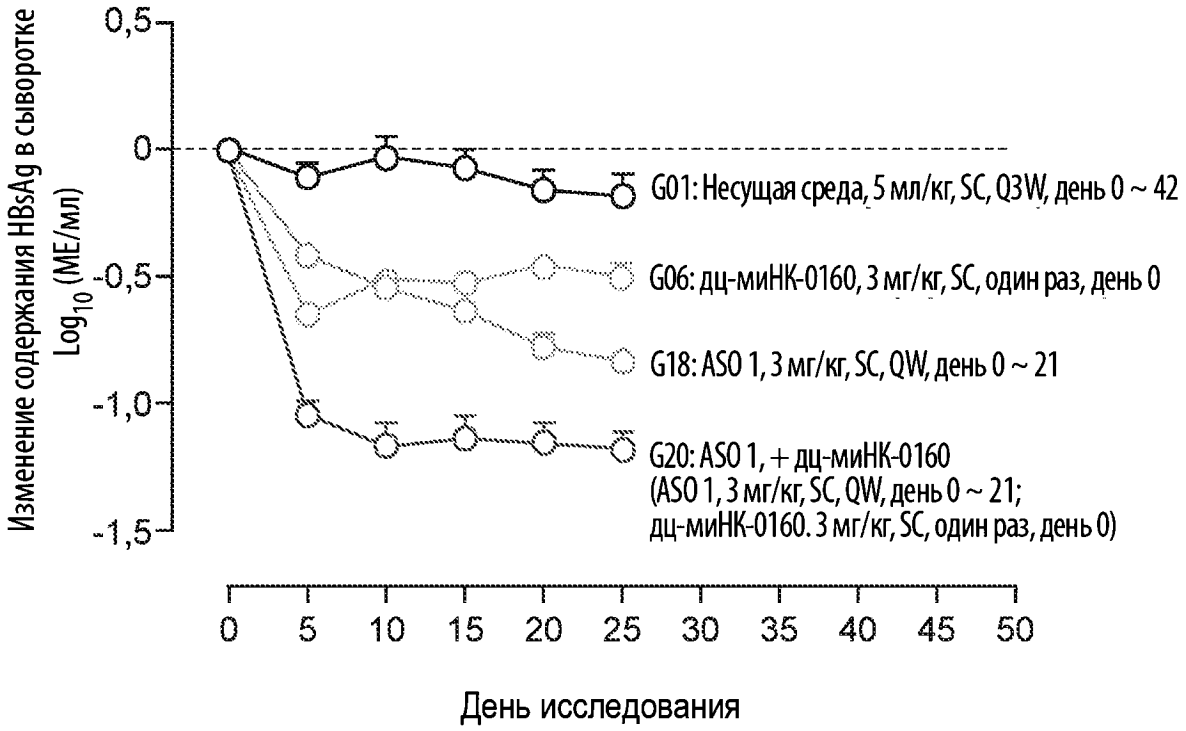
Фиг. 6B


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
*P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001 по сравнению с группой 1
Двухвыборочный Т-критерий
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
Log10 (МЕ/мл)
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G 18: дц-миНК-0165, 5 мг/кг, SC, день 0
G 17: дц-миНК-0127, 5 мг/кг, SC, день 0
0
5
10
15
21
День исследования

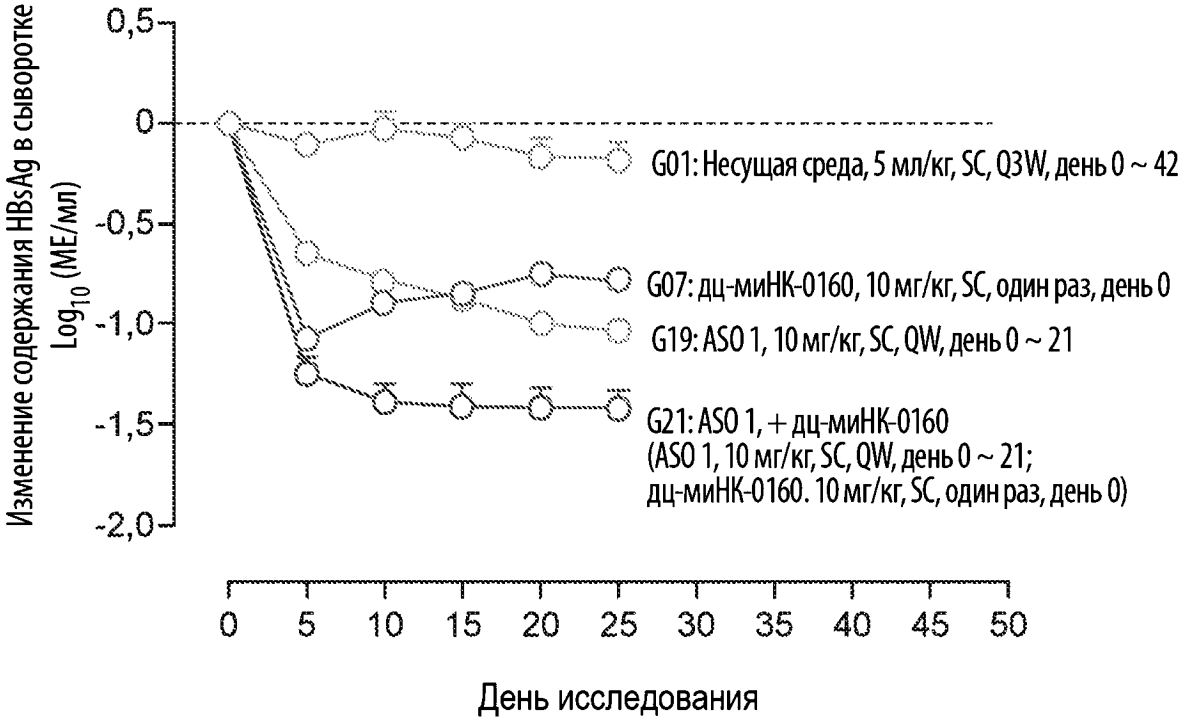
Фиг. 7A


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
Log10 (МЕ/мл)
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G 20: дц-миНК-0168, 5 мг/кг, SC, день 0
G 19: дц-миНК-0150, 5 мг/кг, SC, день 0
0
5
10
15
21
День исследования

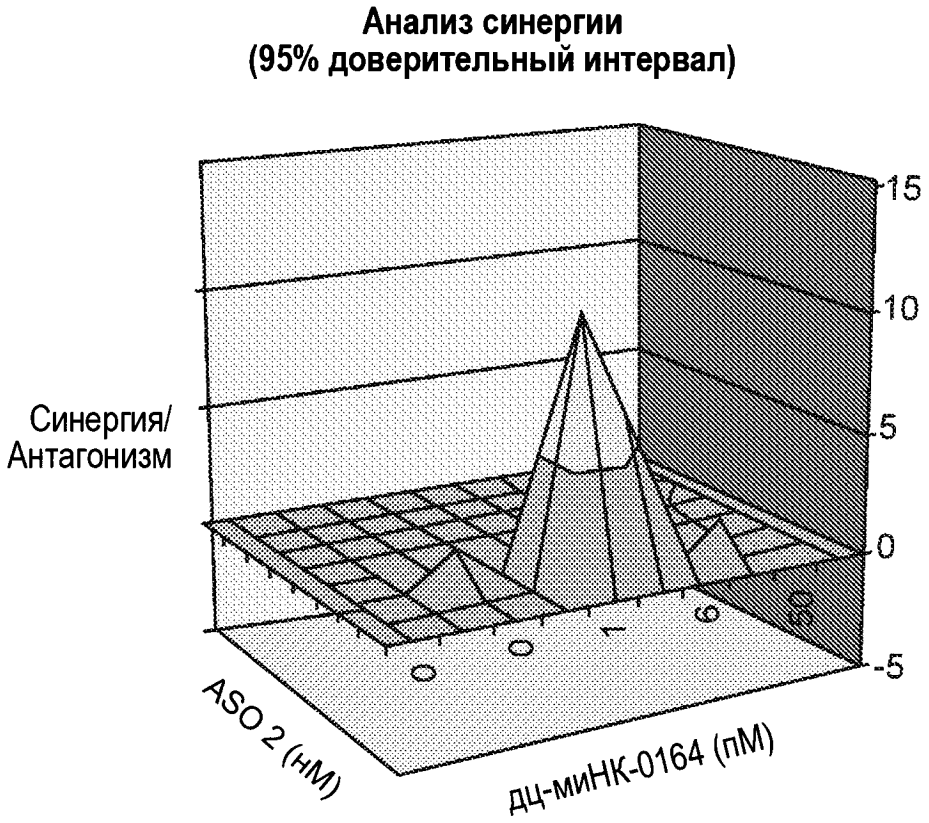
Фиг. 7B


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, Q3W, день 0 ~ 42
G06: дц-миНК-0160, 3 мг/кг, SC, один раз, день 0
G18: ASO 1, 3 мг/кг, SC, QW, день 0 ~ 21
G20: ASO 1, + дц-миНК-0160
(ASO 1, 3 мг/кг, SC, QW, день 0 ~ 21;
дц-миНК-0160. 3 мг/кг, SC, один раз, день 0)
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50
День исследования

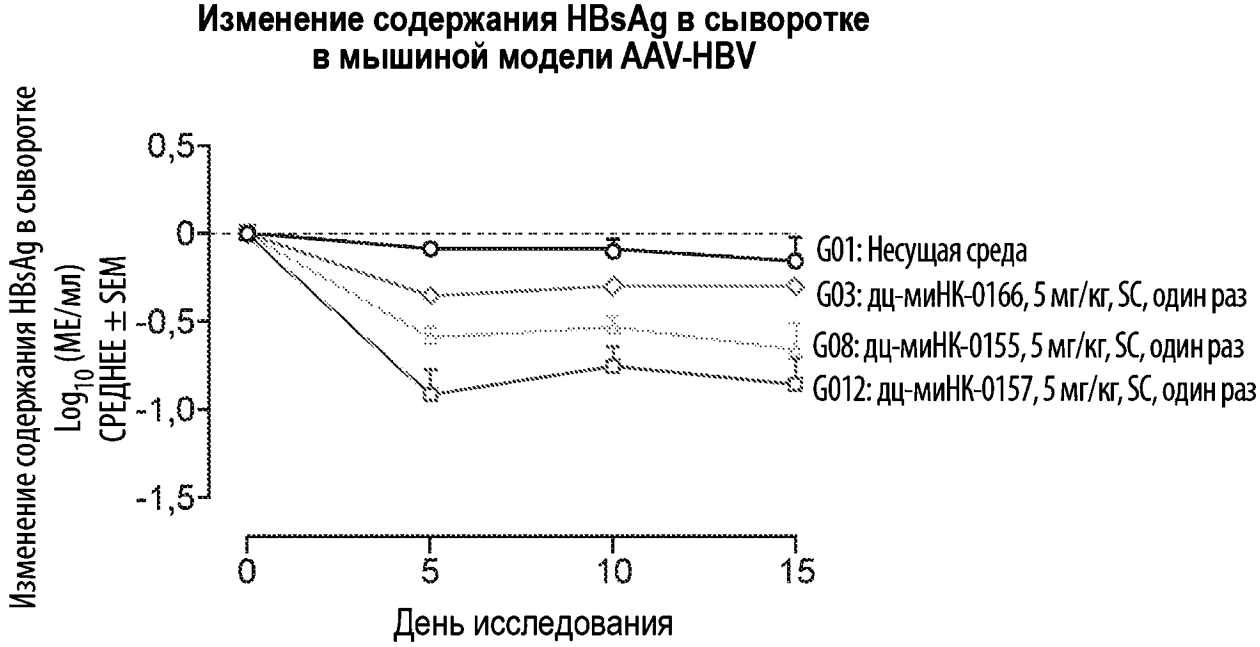
Фиг. 8A


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
-2,0
G01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, Q3W, день 0 ~ 42
G07: дц-миНК-0160, 10 мг/кг, SC, один раз, день 0
G19: ASO 1, 10 мг/кг, SC, QW, день 0 ~ 21
G21: ASO 1, + дц-миНК-0160
(ASO 1, 10 мг/кг, SC, QW, день 0 ~ 21;
дц-миНК-0160. 10 мг/кг, SC, один раз, день 0)
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50
День исследования

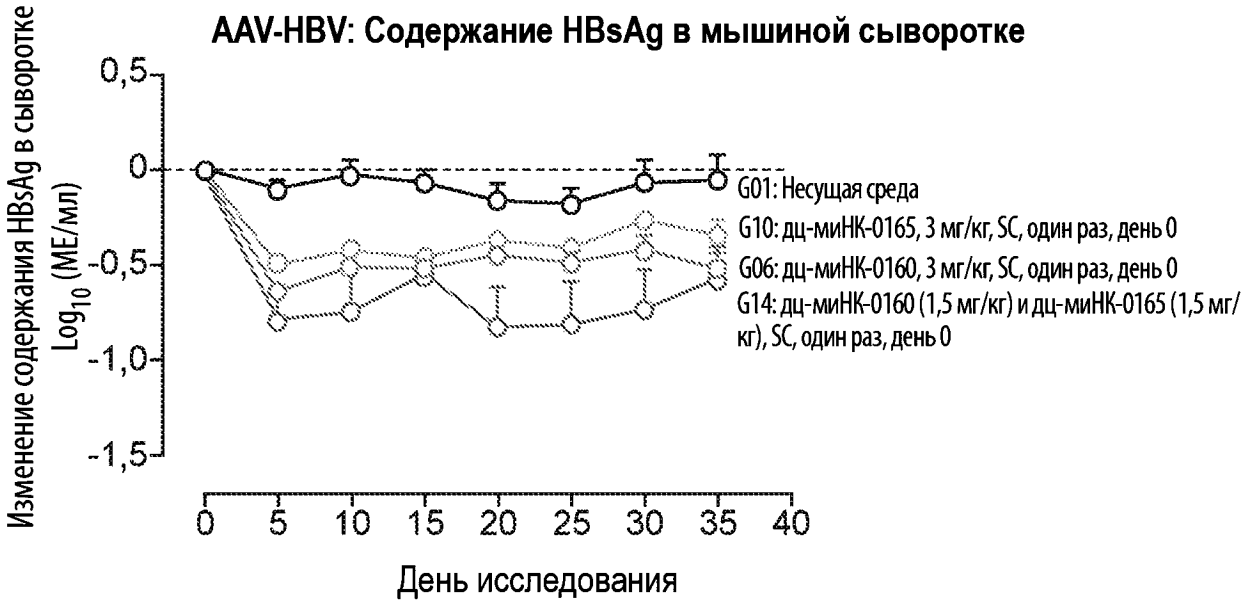
Фиг. 8B


Анализ синергии
(95% доверительный интервал)
Синергия/
Антагонизм
15
10
5
0
-5
ASO 2 (нМ)
дц-миНК-0164 (пМ)
0
0
1
9
50

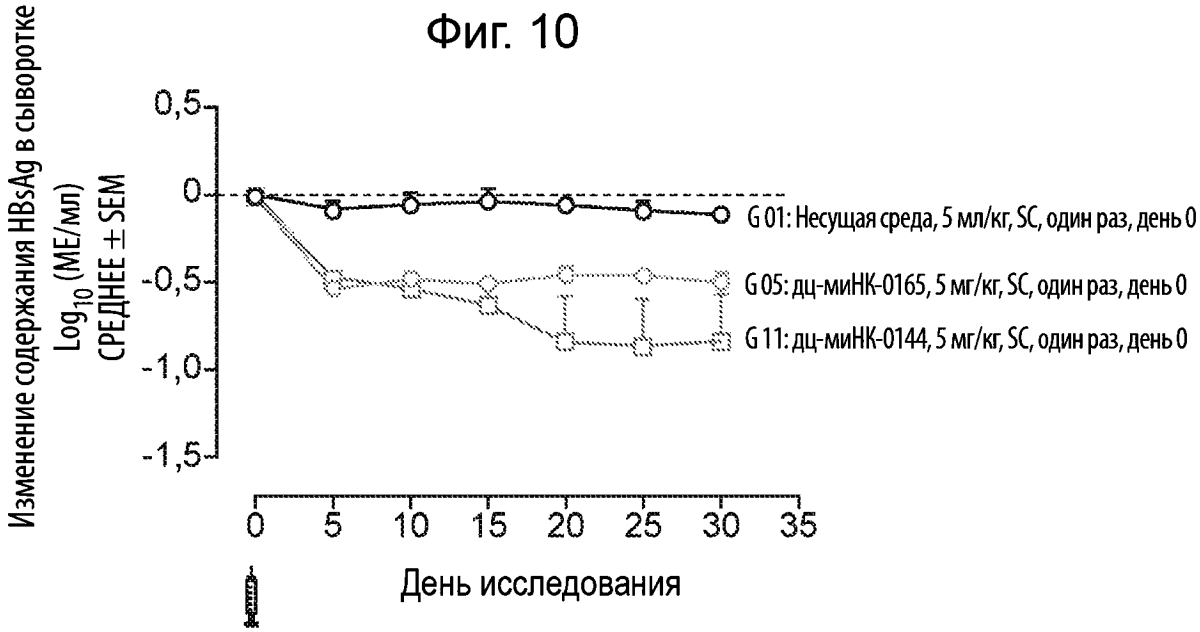
Фиг. 8C


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
в мышиной модели AAV-HBV
Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
0
5
10
15
День исследования
G01: Несущая среда
G03: дц-миНК-0166, 5 мг/кг, SC, один раз
G08: дц-миНК-0155, 5 мг/кг, SC, один раз
G012: дц-миНК-0157, 5 мг/кг, SC, один раз

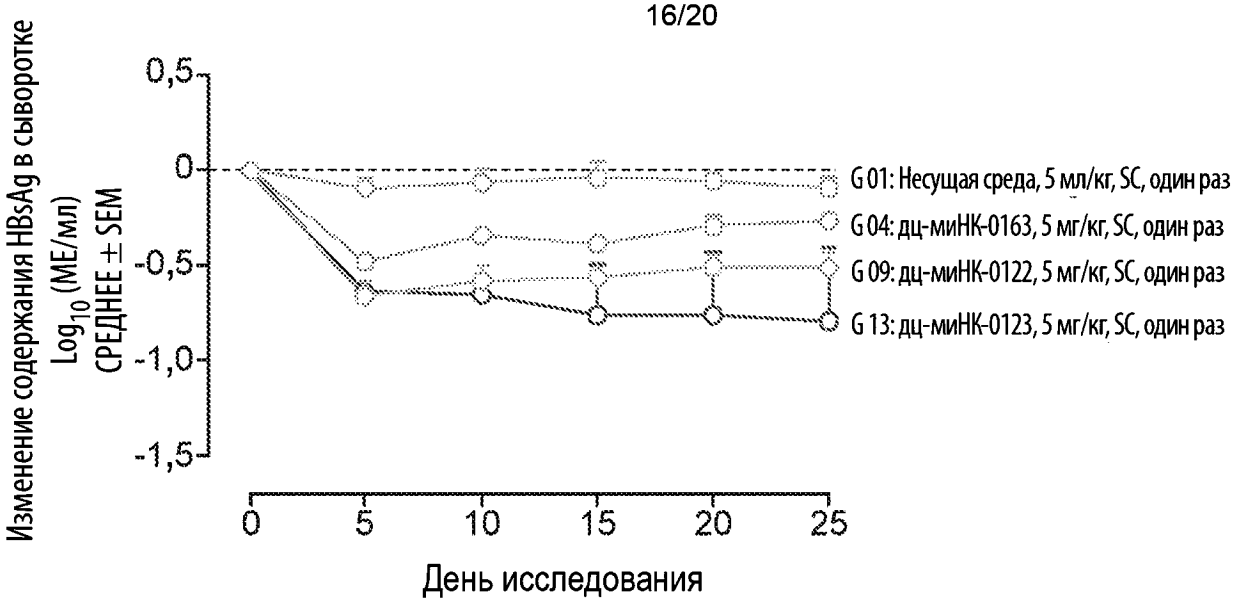
Фиг. 9


AAV-HBV: Содержание HBsAg в мышиной сыворотке
Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
0
5
10
15
20
25
30
35
40
День исследования
G01: Несущая среда
G10: дц-миНК-0165, 3 мг/кг, SC, один раз, день 0
G06: дц-миНК-0160, 3 мг/кг, SC, один раз, день 0
G14: дц-миНК-0160 (1,5 мг/кг) и дц-миНК-0165 (1,5 мг/кг), SC, один раз, день 0

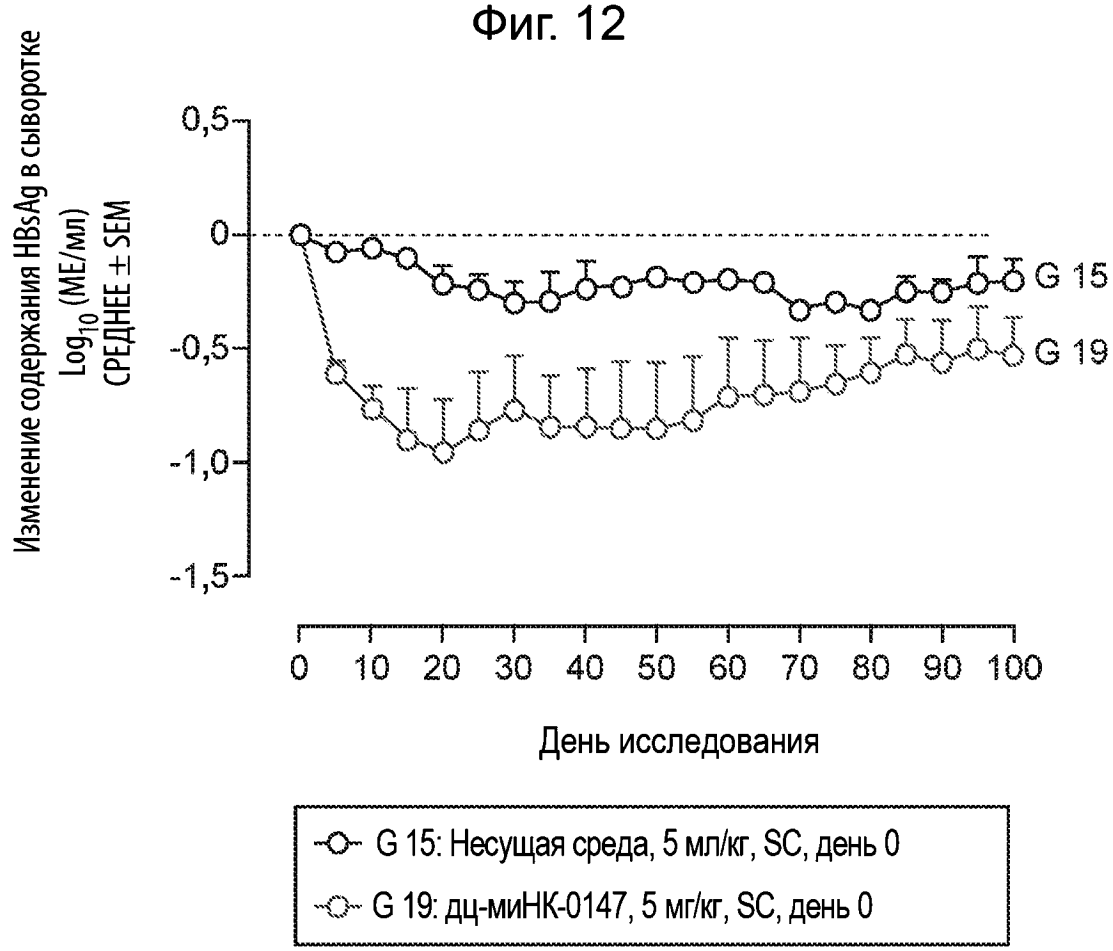
Фиг. 10


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
0
5
10
15
20
25
30
35
День исследования
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, один раз, день 0
G 05: дц-миНК-0165, 5 мг/кг, SC, один раз, день 0
G 11: дц-миНК-0144, 5 мг/кг, SC, один раз, день 0

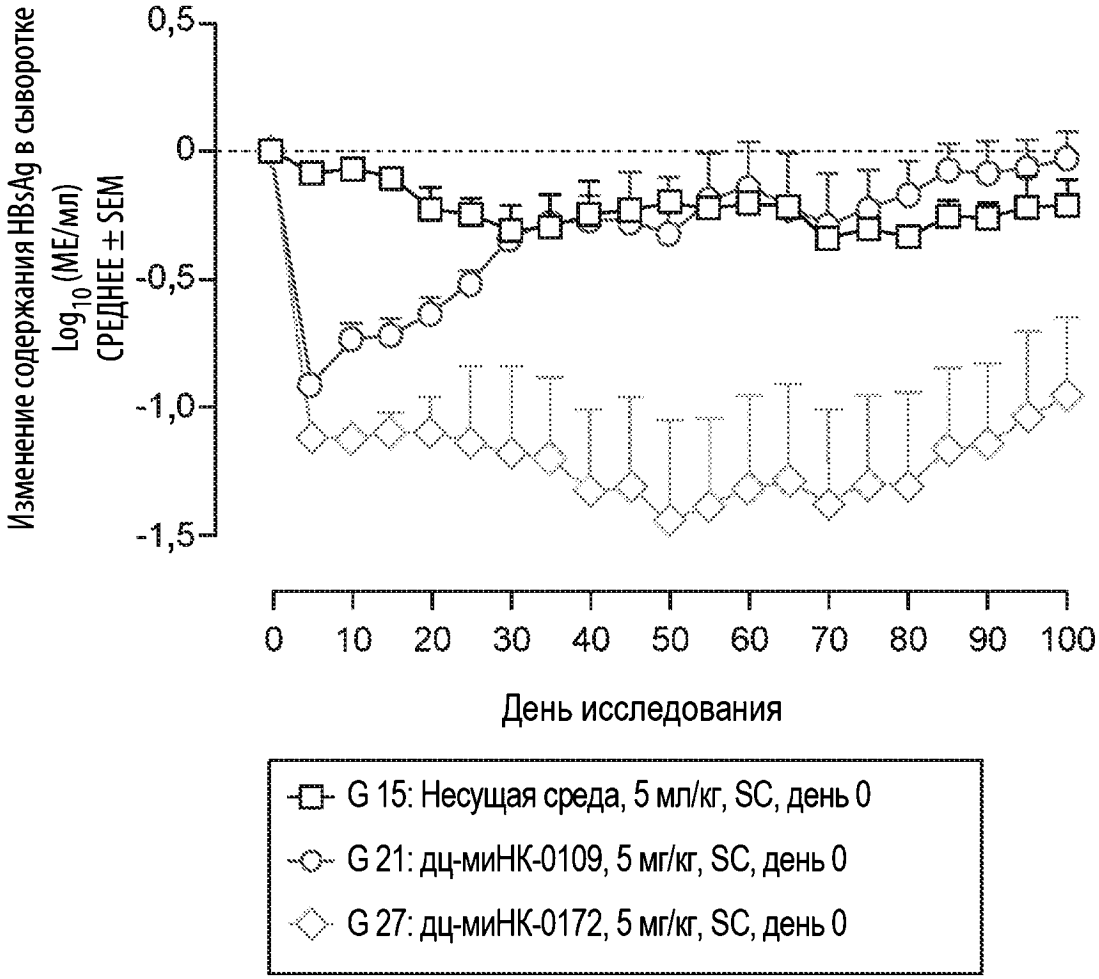
Фиг. 11


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
0
5
10
15
20
25
День исследования
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, один раз
G 04: дц-миНК-0163, 5 мг/кг, SC, один раз
G 09: дц-миНК-0122, 5 мг/кг, SC, один раз
G 13: дц-миНК-0123, 5 мг/кг, SC, один раз

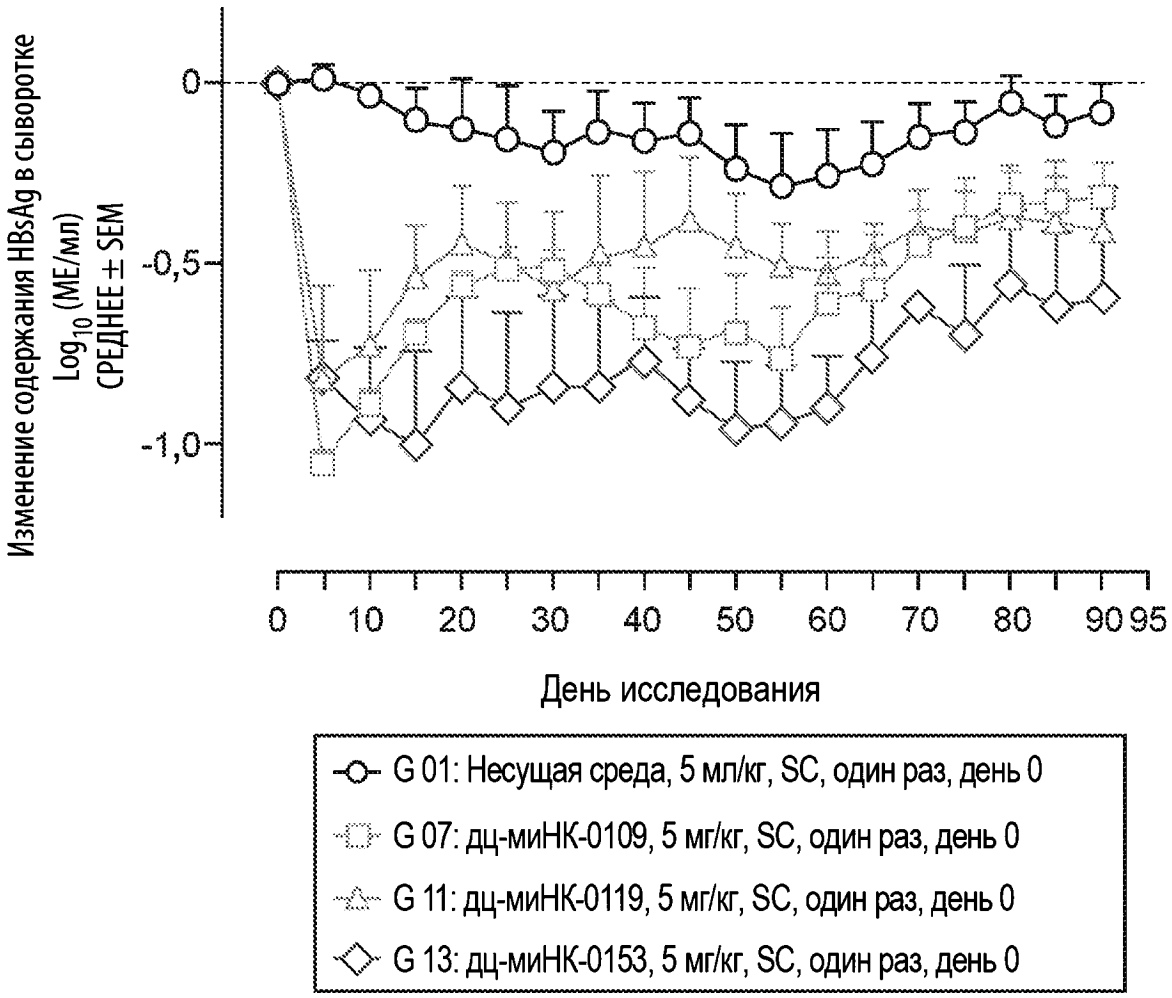
Фиг. 12


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
День исследования
G 15
G 19
G 15: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G 19: дц-миНК-0147, 5 мг/кг, SC, день 0

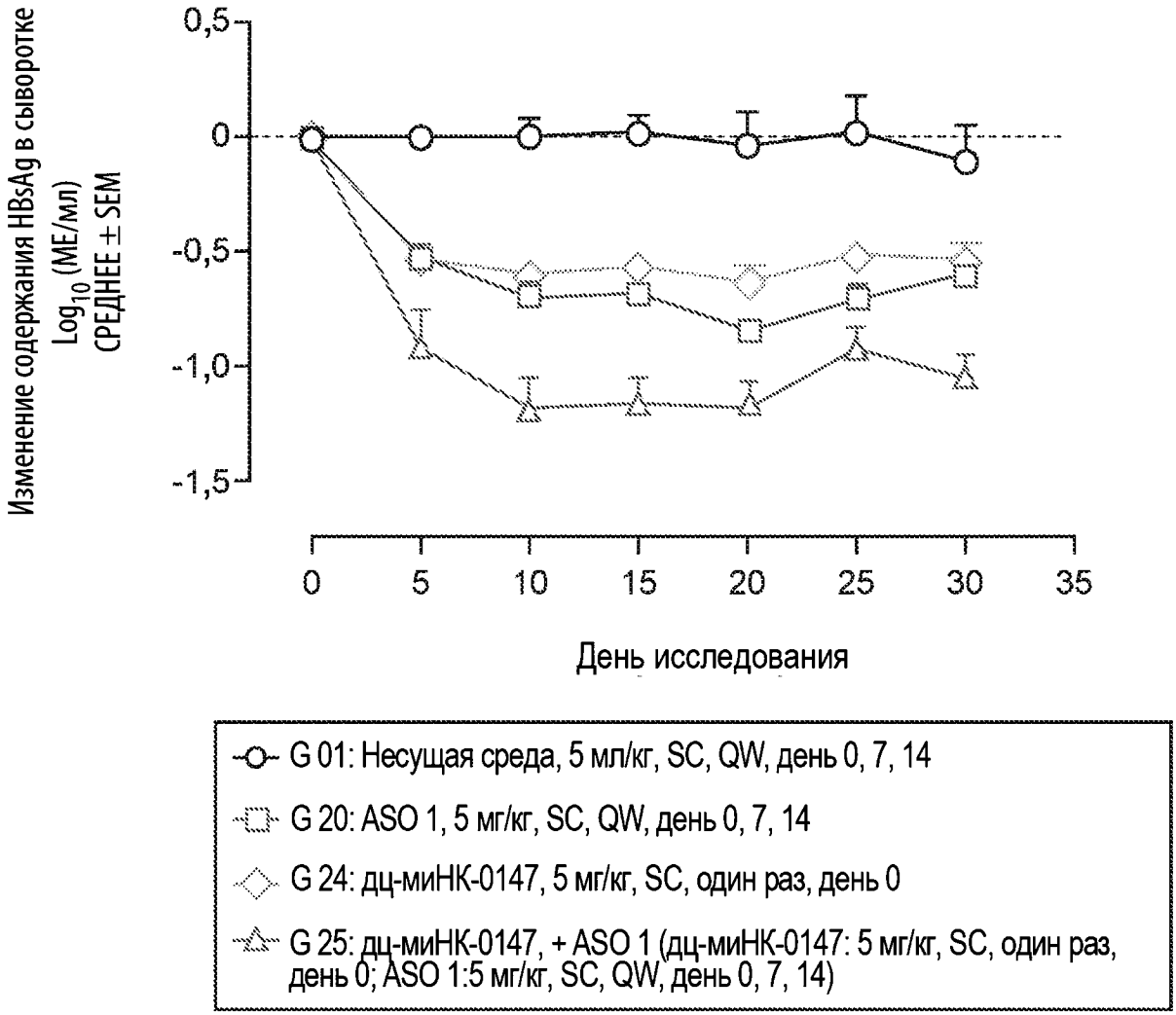
Фиг. 13


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
День исследования
G 15: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, день 0
G 21: дц-миНК-0109, 5 мг/кг, SC, день 0
G 27: дц-миНК-0172, 5 мг/кг, SC, день 0

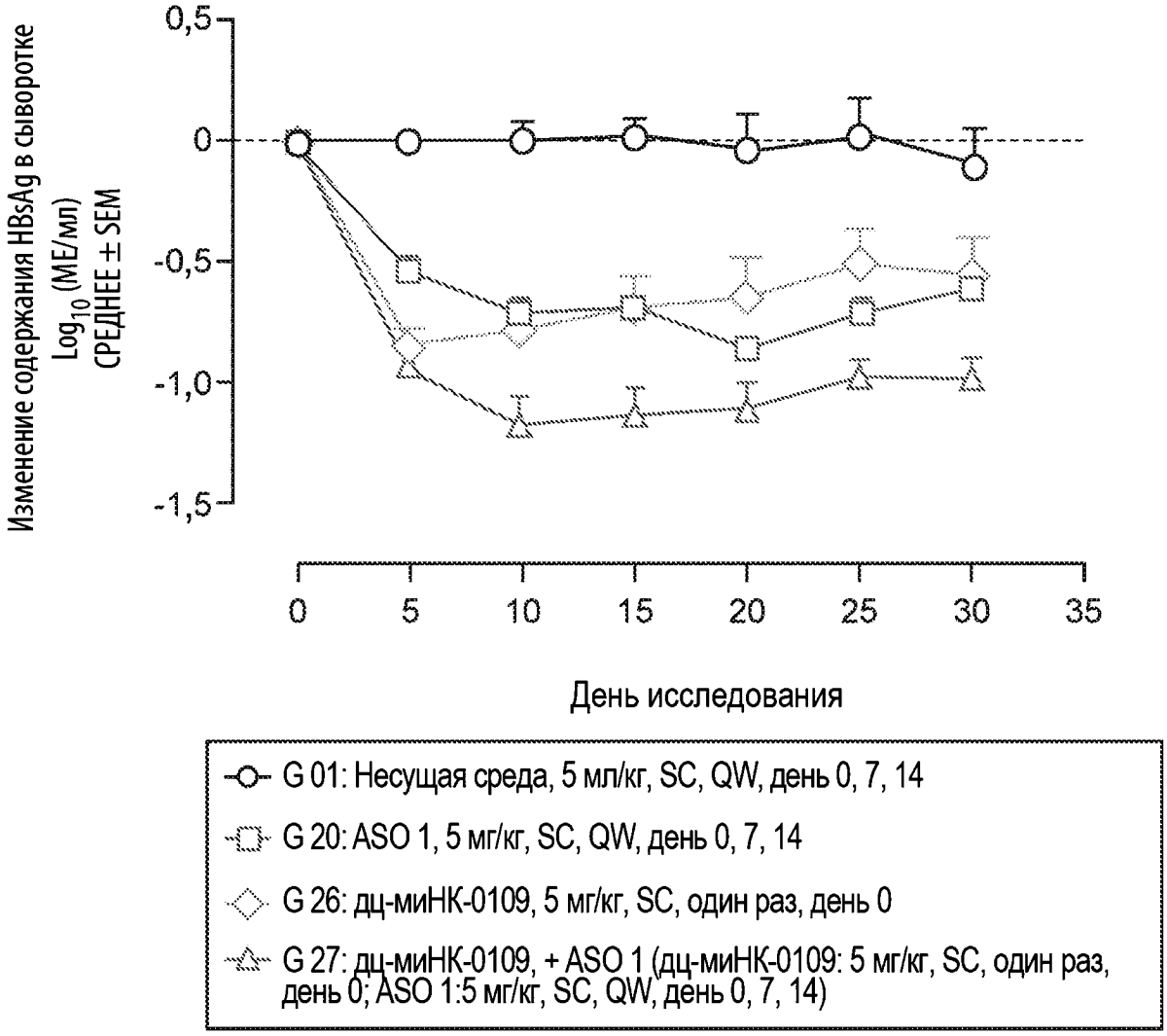
Фиг. 14


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
СРЕДНЕЕ ± SEM
0
-0,5
-1,0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
95
День исследования
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, один раз, день 0
G 07: дц-миНК-0109, 5 мг/кг, SC, один раз, день 0
G 11: дц-миНК-0119, 5 мг/кг, SC, один раз, день 0
G 13: дц-миНК-0153, 5 мг/кг, SC, один раз, день 0

Фиг. 15


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
0
5
10
15
20
25
30
35
День исследования
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, QW, день 0, 7, 14
G 20: ASO 1, 5 мг/кг, SC, QW, день 0, 7, 14
G 24: дц-миНК-0147, 5 мг/кг, SC, один раз, день 0
G 25: дц-миНК-0147, + ASO 1 (дц-миНК-0147: 5 мг/кг, SC, один раз, день 0; ASO 1:5 мг/кг, SC, QW, день 0, 7, 14)

Фиг. 16


Изменение содержания HBsAg в сыворотке
Log10 (МЕ/мл)
СРЕДНЕЕ ± SEM
0,5
0
-0,5
-1,0
-1,5
0
5
10
15
20
25
30
35
День исследования
G 01: Несущая среда, 5 мл/кг, SC, QW, день 0, 7, 14
G 20: ASO 1, 5 мг/кг, SC, QW, день 0, 7, 14
G 26: дц-миНК-0109, 5 мг/кг, SC, один раз, день 0
G 27: дц-миНК-0109, + ASO 1 (дц-миНК-0109: 5 мг/кг, SC, один раз, день 0; ASO 1:5 мг/кг, SC, QW, день 0, 7, 14)

Фиг. 17