

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392789 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.01.16(51) Int. Cl. A61K 31/713 (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)(22) Дата подачи заявки
2022.04.07

(54) СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ РНКи, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ, СОДЕРЖАЩИЕ ИХ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/172,301; 63/322,603

(32) 2021.04.08; 2022.03.22

(33) US

(86) PCT/US2022/023813

(87) WO 2022/216920 2022.10.13

(71) Заявитель:
ЭРРОУХЕД ФАРМАСЬЮТИКЛЗ,
ИНК. (US)

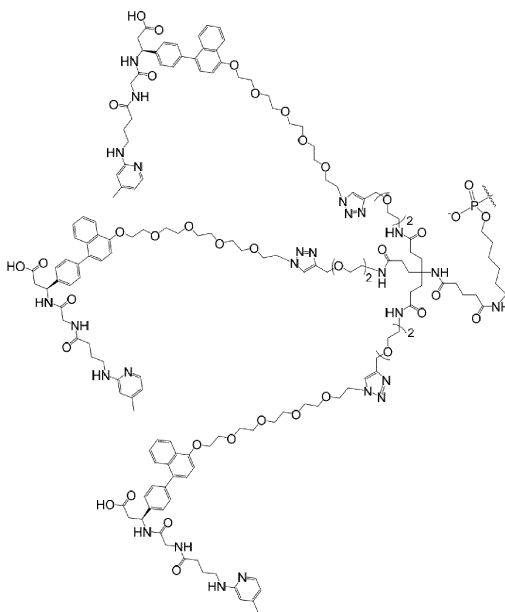
(72) Изобретатель:

Николас Энтони, Буш Эрик У.,
Касахара Дэвид Итиро, Шинибек
Каси М. (US)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) В изобретении описаны средства на основе РНКи, композиции, которые содержат средства на основе РНКи, и способы ингибирования гена рецептора конечных продуктов гликирования (AGER или RAGE). Конъюгаты воздействующих на RAGE средств на основе РНКи и средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, подавляют экспрессию гена AGER. В изобретении также описаны фармацевтические композиции, которые содержат одно или большее количество воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, необязательно вместе с одним или большим количеством дополнительных терапевтических средств. Проводимая *in vivo* доставка описанных воздействующих на RAGE средств на основе РНКи в клетки легких обеспечивает подавление экспрессии гена AGER и уменьшение активности мембранного RAGE, это может обеспечить терапевтическое преимущество для субъектов, включая являющихся людьми субъектов, при лечении различных заболеваний, включая легочные воспалительные заболевания, такие как тяжелая астма.



A1

202392789

202392789

A1

СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ РНК_и, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЕ ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ
ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРА КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ГЛИКИРОВАНИЯ,
5 СОДЕРЖАЩИЕ ИХ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

По настоящей заявке испрашивается преимущество по предварительной
заявке на патент США № 63/172,301, поданной 8 апреля, 2021 г., и
10 предварительной заявке на патент США № 63/322,603, поданной 22 марта,
2022 г., содержание каждой из которых во всей его полноте включено в
настоящее изобретение в качестве ссылки.

Перечень последовательностей

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, которая
15 представлена в формате ASCII и во всей ее полноте включена в настоящее
изобретение в качестве ссылки. Документ в формате ASCII назван
SEQLIST_30691.txt и его размер равен 223 КБ.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к средствам, действующим в
20 соответствии с механизмом РНК-интерференции (средства на основе РНК_и, РНК
= рибонуклеиновая кислота), например, средствам на основе двухцепочечных
иРНК (интерферирующие РНК), предназначенным для подавления экспрессии
гена рецептора конечных продуктов гликирования ("RAGE" или "AGER"),
композициям, которые содержат воздействующие на RAGE средства на основе
25 РНК_и, и способам их применения.

Уровень техники

Рецептор конечных продуктов гликирования ("RAGE" или "AGER")
представляет собой обладающий молекулярной массой, равной 35 кДа,
трансмембранный белок надсемейства иммуноглобулинов, который действует,
30 как провоспалительный рецептор распознавания образов. Находящийся в
полноразмерной и связанной с мембраной форме этот рецептор содержит три
функциональных домена: внеклеточный домен связывания лиганда,
гидрофобный трансмембранный домен и цитоплазматический домен, который

опосредует зависимую от лиганда передачу сигнала. Вторая не связанная с мембраной растворимая форма рецептора (sRAGE) содержит только внеклеточный домен связывания лиганда; она образуется вследствие протеолитического расщепления полноразмерного связанного с мембраной RAGE (или вследствие альтернативного сплайсинга), sRAGE препятствует функции RAGE, поскольку он связывает лиганды, но у него отсутствует цитоплазматический домен передачи сигнала.

RAGE в значительной степени конститутивно экспрессируется в легких и в основном расположен в альвеолярных эпителиальных клетках типа 1. В других тканях организма RAGE экспрессируется в низкой степени, однако он подвергается повышающей регуляции в присутствии лигандов RAGE и при хроническом воспалении. Поскольку RAGE является рецептором распознавания образцов, он связывает целый ряд эндогенных лигандов, включая конечные продукты гликирования (модифицированные сахаром белки или липиды), белок 1 группы белков с высокой подвижностью (HMGB1) и белки S100. С помощью разных лигандов RAGE могут быть активированы различные промежуточные пути передачи сигнала (например, ERK1/2, p38 и JAK/STAT), в результате этого происходит образование реакционноспособных кислородсодержащих соединений, устойчивая активация NF-κB и транскрипция провоспалительных генов (например, интерлейкинов, интерферона, TNF-альфа). Транскрипция гена, кодирующего RAGE, обеспечивается с помощью NF-κB, это обеспечивает цикл с позитивной обратной связью, при котором поддерживается хроническое воспаление.

RAGE связывали с хроническим патологическим воспалением, которое, способствует различным заболеваниям, включая: заболевание легких (астма, острый респираторный дистресс-синдром, идиопатический фиброз легких, хроническое обструктивное заболевание легких, муковисцидоз, пневмония, рак легких, бронхолегочная дисплазия), сердечно-сосудистое заболевание (атеросклероз, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, заболевание периферических сосудов), рак, диабет, хроническое заболевание почек, нейродегенеративное заболевание, ревматоидный артрит, неалкогольный стеатогепатит, повреждение, вызванное некоторыми вирусными инфекциями,

включая SARS-CoV-2, некоторые воспалительные глазные патологические состояния и атрофию скелетных мышц.

При заболевании легких лишенные рецептора RAGE мышцы полностью защищены, физиологически и гистологически, от аллергической астмы, индуцированной аллергеном - клещом домашней пыли или овальбумином. Аналогичным образом, лишенные рецептора RAGE мышцы защищены от гипероксии или индуцированных липополисахаридом острого поражения легких и воспаления. (см., например, публикацию Oczypok et al., Paediatr Respir Rev., 23: 40-49 (2017); Wang et al., Shock, 50: 472-482 (2018)). В исследованиях по методике полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) установлена связь между вариантом обладающего приобретенной функцией аллеля RAGE (G82S) и усиленным воспалением, ухудшенной функцией легких и вероятностью возникновения астмы (см., например, публикацию Hancock et al., Nat Genet., 42: 45-52 (2010); Repapi et al., Nat Genet., 42: 36-44 (2010)).

Несмотря на потенциальную привлекательность RAGE, как мишени лекарственного средства, установлено, что разработка эффективных и селективных ингибиторов RAGE является чрезвычайно затруднительной. Вместо связывания с отдельным доменом большое количество лигандов RAGE взаимодействуют с множеством центров связывания, расположенных в подобном антителу внеклеточном домене (см., например, публикацию Rojas et al., Current Drug Targets, 20: 340-346 (2019)). Хотя некоторые средства на основе РНКи, способные подавлять экспрессию RAGE *in vitro*, ранее идентифицированы и описаны в различных исследованиях или они имеются в продаже, известные конструкции средств на основе РНКи не являются ни достаточно эффективными, ни достаточно специфичными для того, чтобы они являлись пригодными в качестве кандидатов в терапевтические лекарственные средства. Таким образом, необходимы воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, подходящие для применения в качестве терапевтических средств для лечения связанных с RAGE заболеваний и нарушений.

Краткое изложение сущности изобретения

Сохраняется необходимость в новых средствах, действующих в соответствии с механизмом РНК-интерференции (РНКи) (называющиеся средствами на основе РНКи, триггерами на основе РНКи или триггерами),

например, в средствах на основе двухцепочечных иРНК, которые способны селективно и эффективно подавлять экспрессию гена RAGE (AGER), включая предназначенные для применения в качестве терапевтического средства или лекарственного средства. Кроме того, необходимы композиции, содержащие новые специфичные по отношению к RAGE средства на основе РНКи, предназначенные для лечения заболеваний или нарушений, связанных с патологическим воспалением, и/или нарушений, которые могут быть по меньшей мере отчасти опосредованы экспрессией гена AGER и/или уровнями рецептора RAGE.

10 Нуклеотидные последовательности и химические модификации воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, раскрытых в настоящем изобретении, а также их комбинации с некоторыми конкретными направленно действующими лигандами, подходящими для проводимой *in vivo* селективной и эффективной доставки воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, 15 отличаются от ранее раскрытых или известных в данной области техники. Как показано, например, в различных примерах, приведенных в настоящем изобретении, раскрытые воздействующие на RAGE средства на основе РНКи обеспечивают чрезвычайно активное и эффективное подавление экспрессии гена AGER (RAGE).

20 Настоящее изобретение в целом относится к специфичным по отношению к гену RAGE средствам на основе РНКи, композициям, которые содержат воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, и способам подавления экспрессии гена AGER (RAGE) *in vitro* и/или *in vivo* с применением 25 воздействующих на RAGE средств на основе РНКи и композиций, которые содержат воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, описанные в настоящем изобретении. Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, описанные в настоящем изобретении, способны селективно и эффективно уменьшать или подавлять экспрессию гена AGER и, таким образом, уменьшать экспрессию рецептора RAGE и уменьшать активацию пути передачи сигнала рецептора RAGE, включая NF-κB, это в конечном счете приводит к уменьшению 30 воспаления.

Описанные воздействующие на RAGE средства на основе РНКи можно применять в способах терапевтического лечения (включая предупредительное

или профилактическое лечение) симптомов и заболеваний, включая, но не ограничиваясь только ими различные заболевания легких (астма, острый респираторный дистресс-синдром, идиопатический фиброз легких, хроническое обструктивное заболевание легких, муковисцидоз, пневмония, рак легких, бронхолегочная дисплазия), сердечно-сосудистые заболевания (атеросклероз, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, заболевание периферических сосудов), рак, диабет, хроническое заболевание почек, нейродегенеративное заболевание, ревматоидный артрит, неалкогольный стеатогепатит, воспалительное повреждение, вызванное некоторыми вирусными инфекциями, включая SARS-CoV-2, некоторые воспалительные глазные патологические состояния и атрофию скелетных мышц.

Одним объектом настоящего изобретения являются средства на основе РНКи, предназначенные для подавления экспрессии гена RAGE (AGER), где средство на основе РНКи включает смысловую цепь (также называемую пассажирской цепью) и антисмысловую цепь (также называемую направляющей цепью). Смысловая цепь и антисмысловая цепь могут быть частично, в основном или полностью комплементарны друг другу. Длина каждой из смысловых цепей средства на основе РНКи, описанного в настоящем изобретении, может составлять от 15 до 49 нуклеотидов. Длина каждой из антисмысловых цепей средства на основе РНКи, описанного в настоящем изобретении, может составлять от 18 до 49 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длины смысловой и антисмысловой цепей независимо составляют от 18 до 26 нуклеотидов. Смысловая и антисмысловая цепи могут обладать одинаковой длиной или разными длинами. В некоторых вариантах осуществления длины смысловой и антисмысловой цепей независимо составляют от 21 до 26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длины смысловой и антисмысловой цепей независимо составляют от 21 до 24 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длины и смысловой цепи, и антисмысловой цепи составляют 21 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длины антисмысловых цепей независимо составляют 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длины смысловых цепей независимо составляют 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 или 49 нуклеотидов. После доставки средств на основе РНКи, описанных в настоящем изобретении, в клетку, экспрессирующую RAGE, такую как клетка легких (точнее, включая альвеолярные эпителиальные клетки типа 1), они подавляют экспрессию одного или большего количества вариантов гена *AGER in vivo* и/или *in vitro*.

Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, направлены действуют на ген *AGER* человека (см., например, SEQ ID NO:1). В некоторых вариантах осуществления воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, направлены действуют на участок гена *AGER*, обладающий последовательностью, соответствующей любой из последовательностей, раскрытых в таблице 1.

Другим объектом настоящего изобретения являются композиции, включая фармацевтические композиции, которые содержат одно или большее количество раскрытых воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, которые способны селективно и эффективно подавлять экспрессию гена *AGER*.
Композиции, которые содержат одно или большее количество воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, описанных в настоящем изобретении, можно вводить субъекту, такому как являющийся человеком или животным субъект, для лечения (включая профилактическое лечение или подавление) симптомов и заболеваний, связанных с активностью рецептора RAGE.

Примеры смысловых цепей и антисмысловых цепей воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, которые можно использовать в воздействующем на RAGE средстве на основе РНКи, приведены в таблицах 3, 4, 5 и 6. Примеры дуплексов воздействующего на RAGE средства на основе РНКи приведены в таблицах 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б и 10. Примеры состоящих из 19 нуклеотидов последовательностей корового участка, из которых могут состоять смысловые цепи и антисмысловые цепи некоторых воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, раскрытых в настоящем изобретении, или которые могут быть включены в них, приведены в таблице 2.

Другим объектом настоящего изобретения являются способы проводимой *in vivo* доставки воздействующих на RAGE средств на основе РНКи в эпителиальные клетки легких субъекта, такого как млекопитающее. В

настоящем изобретении также описаны композиции, предназначенные для применения в таких способах. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам проводимой *in vivo* доставки воздействующих на RAGE средств на основе РНКи в клетки легких (включая эпителиальные клетки, макрофаги, клетки гладких мышц, эндотелиальные клетки, и 5 предпочтительно альвеолярные эпителиальные клетки типа 1) субъекта. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой являющийся человеком субъект.

Способы, раскрытые в настоящем изобретении, включают введение одного или большего количества воздействующих на RAGE средств на основе РНКи 10 субъекту, например, являющемуся человеком или животным субъекту, проводимое любыми подходящими путями, известными в данной области техники. Фармацевтические композиции, раскрытые в настоящем изобретении, которые содержат одно или большее количество раскрытых воздействующих на 15 RAGE средств на основе РНКи, можно вводить самыми разными путями в зависимости от того, необходимо ли местное или системное лечение. Введением может являться, но не ограничивается только ими, например, внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутрибрюшинное, субдермальное (например, с помощью имплантированного устройства) и внутривисцеральное введение. 20 В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в настоящем изобретении, вводят путем ингаляции (например, путем ингаляции или вдувания порошка или аэрозоля), путем внутриназального введения, внутритрахеального введения или введения путем ротоглоточной аспирации.

25 В некоторых вариантах осуществления предпочтительно, если воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, описанные в настоящем изобретении, подавляют экспрессию гена AGER в легочном эпителии, для этого введение проводят путем ингаляции (например, с помощью устройства для ингаляции, такого как дозирующий ингалятор, или небулайзера, такого как 30 струйный небулайзер или меш-небулайзер с вибрирующей сеткой, или мягко распыляющий ингалятор).

Одно или большее количество воздействующих на RAGE средств на основе РНКи можно доставить в целевые клетки или ткани с использованием любой

технологии доставки олигонуклеотидов, известной в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи доставляют в клетки или ткани путем ковалентного связывания средства на основе РНКи с направленно действующей группой. В некоторых вариантах осуществления направленно действующая группа может включать лиганд клеточного рецептора, такой как лиганд, направленно действующий на интегрин. Интегрины представляют собой семейство трансмембранных рецепторов, которые способствуют адгезии между клеткой и внутриклеточным матриксом (ВКМ). В частности, интегрин альфа-v-бета-6 ($\alpha v\beta 6$) является специфичным по отношению к эпителию интегрин, для которого известно, что он является рецептором белков ВКМ и TGF-бета, связанного с латентно ассоциированным пептидом (LAP), и он экспрессируется в различных клетках и тканях. Известно, что интегрин $\alpha v\beta 6$ подвергается повышающей регуляции в поврежденном легочном эпителии. В некоторых вариантах осуществления воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, описанные в настоящем изобретении, связаны с лигандом, направленно действующим на интегрин, который обладает сродством к интегрину $\alpha v\beta 6$. В настоящем изобретении термин "лиганд, направленно действующий на интегрин $\alpha v\beta 6$ " означает соединение, которое обладает сродством к интегрину $\alpha v\beta 6$, которое можно использовать в качестве лиганда для содействия направленному воздействию и доставке средства на основе РНКи, к которому он присоединен, в необходимые клетки и/или ткани (т. е. в клетки, экспрессирующие интегрин $\alpha v\beta 6$). В некоторых вариантах осуществления с воздействующим на RAGE средством на основе РНКи связано множество лигандов, направленно действующих на интегрин $\alpha v\beta 6$, или кластеры лигандов, направленно действующих на интегрин $\alpha v\beta 6$. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты воздействующее на RAGE средство на основе РНКи - лиганд, направленно действующий на интегрин $\alpha v\beta 6$, селективно интернализируются эпителиальными клетками легких по механизму опосредуемого рецептором эндоцитоза или по другим механизмам.

Примеры направленно действующих групп, подходящих для доставки воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, которые включают лиганды, направленно действующие на интегрин $\alpha v\beta 6$, раскрыты, например, в публикации

заявки на международный патент № WO 2018/085415 и публикации заявки на международный патент № WO 2019/089765, содержание каждой из которых во всей его полноте включено в настоящее изобретение в качестве ссылки.

5 Направленно действующая группа может быть связана с 3'- или 5'-концом смысловой цепи или антисмысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления направленно действующая группа связана с 3'- или 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления направленно действующая группа связана с 3'- или 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления направленно действующая группа связана с нуклеотидом, находящимся внутри смысловой
10 цепи и/или антисмысловой цепи средства на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления направленно действующая группа связана со средством на основе РНКи с помощью мостика.

15 Другим объектом настоящего изобретения являются композиции, которые содержат одно или большее количество раскрытых воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, которые обладают структурами дуплексов, раскрытыми в таблицах 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б и 10.

20 Применение воздействующих на RAGE средств на основе РНКи приводит к способам терапевтического (включая профилактическое) лечения заболеваний или нарушений, для которых уменьшение активности рецептора RAGE может оказать терапевтическое воздействие. Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, можно применять для лечения различных респираторных заболеваний, включая заболевание легких (астма, острый респираторный дистресс-синдром, идиопатический фиброз
25 легких, хроническое обструктивное заболевание легких, муковисцидоз, пневмония, рак легких, бронхолегочная дисплазия), сердечно-сосудистое заболевание (атеросклероз, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, заболевание периферических сосудов), рак, диабет, хроническое заболевание почек, нейродегенеративное заболевание, ревматоидный артрит, неалкогольный
30 стеатогепатит, повреждение, вызванное некоторыми вирусными инфекциями, включая SARS-CoV-2, некоторые воспалительные глазные патологические состояния и атрофию скелетных мышц. В некоторых вариантах осуществления воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем

изобретении, можно применять для лечения воспалительного заболевания или патологического состояния легких. Кроме того, воздействующие на RAGE средства на основе РНКи можно применять для лечения, например, различных воспалительных глазных заболеваний и нарушений. Такие способы лечения включают введение воздействующего на RAGE средства на основе РНКи человеку или животному, у которого уровень рецептора RAGE или активность рецептора RAGE повышены или увеличены до значений, превышающих желательные.

Одним объектом настоящего изобретения является средство на основе РНКи, предназначенное для подавления экспрессии гена рецептора конечных продуктов гликирования, включающее:

- (i) антисмысловую цепь, содержащую не менее 17 смежных нуклеотидов, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в любой из последовательностей, указанных в таблице 3;
- (ii) смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи; и
- (iii) один или большее количество направленно действующих лигандов.

Другим объектом настоящего изобретения является средство на основе РНКи, способное подавлять экспрессию гена рецептора конечных продуктов гликирования, включающее:

- (i) антисмысловую цепь, обладающую длиной, составляющей от 18 до 49 нуклеотидов, которая по меньшей мере частично комплементарна гену рецептора конечных продуктов гликирования (SEQ ID NO:1);
- (ii) смысловую цепь, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи; и
- (iii) направленно действующий лиганд, связанный со смысловой цепью.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из последовательности нуклеиновых оснований, в которой 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3') UUGUGUUCAGUUCCAUCG (SEQ ID NO: 7), или содержит ее. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на

основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой не более, чем 1 нуклеотид отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3') UUGUGUUCAGUUUCCAUCCG (SEQ ID NO: 7), или содержит ее, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из последовательности нуклеиновых оснований, в которой 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3') UUGUGUUCAGUUUCCAUCCG (SEQ ID NO: 7), или содержит ее, где SEQ ID NO: 7 находится в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой не более, чем 1 нуклеотид отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3') usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO: 2), или содержит ее, где а, с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи. Для специалиста с общей подготовкой в данной области техники должно быть совершенно понятно, что включение фосфоротиоатного мостика, как это показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, раскрытых в настоящем изобретении, означает, что он заменяет сложный фосфодиэфирный мостик, обычно содержащийся в олигонуклеотидах (см, например, фиг. 11А - 11К, на которых представлены все межнуклеозидные мостики). В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности (5' → 3') usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO: 2), или содержит ее, где а,

с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи.

5 В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой не более, чем 1 нуклеотид отличается от

10 содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3') cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO: 3), или содержит ее, где а, с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; сPrpu обозначает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-

15 метилуридин; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности (5' (3')

20 cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO: 3), или содержит ее, где а, с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; сPrpu обозначает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-

25 метилуридин; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в

30 нуклеотидной последовательности (5' → 3') UUCAUCCUGUUCAUUGCCU (SEQ ID NO: 8). В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной

последовательности, в которой не более, чем 1 нуклеотид отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3')

UUCCAUUCCUGUUCAUUGCCU (SEQ ID NO: 8), или содержит ее, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами. В

5 некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из последовательности нуклеиновых оснований, в которой 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3')

10 UUCCAUUCCUGUUCAUUGCCU (SEQ ID NO: 8), или содержит ее, где SEQ ID NO: 8 находится в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой не более, чем 1 нуклеотид отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3')

15 usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu (SEQ ID NO: 4), или содержит ее, где а, с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи. Для специалиста с общей подготовкой в данной области техники должно быть совершенно понятно, что включение фосфоротиоатного мостика, как это

20 показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, раскрытых в настоящем изобретении, означает, что он заменяет сложный фосфодиэфирный мостик, обычно содержащийся в олигонуклеотидах (см, например, фиг. 11А - 11К, на которых представлены все межнуклеозидные мостики). В некоторых

вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности (5' → 3')

30 usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu (SEQ ID NO: 4), или содержит ее, где а, с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин

и уридин соответственно; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи.

5 В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из последовательности нуклеиновых оснований, в которой 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3') UGAUGUUUUGAGCACCUACUC (SEQ ID NO: 9), или содержит ее. В

10 некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой не более, чем 1 нуклеотид отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3') UGAUGUUUUGAGCACCUACUC

15 (SEQ ID NO: 9), или содержит ее, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из последовательности нуклеиновых оснований, в которой 0

20 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3') UGAUGUUUUGAGCACCUACUC (SEQ ID NO: 9), или содержит ее, где SEQ ID NO: 7 находится в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

25 В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой не более, чем 1 нуклеотид отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3') usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO: 5), или содержит ее, где a, c, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно;

30 Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи. Для

специалиста с общей подготовкой в данной области техники должно быть совершенно понятно, что включение фосфоротиоатного мостика, как это показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, раскрытых в настоящем изобретении, означает, что он заменяет сложный фосфодиэфирный мостик, обычно содержащийся в олигонуклеотидах (см, например, фиг. 11А - 11К, на которых представлены все межнуклеозидные мостики). В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности (5' → 3') usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO: 5), или содержит ее, где а, с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи.

15 В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой не более, чем 1 нуклеотид отличается от содержащихся в нуклеотидной последовательности (5' → 3')

20 cPrpusGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO: 6), или содержит ее, где а, с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; cPrpu обозначает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по

25 меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности (5' → 3')

30 cPrpusGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO: 6), или содержит ее, где а, с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; cPrpu обозначает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-

метилуридин; и s обозначает фосфоротиоатный мостик, и где смысловая цепь по меньшей мере в основном комплементарна антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

UUGUGUUCAGUUCCAUCG (SEQ ID NO:7);

10 UCCAUCUGUUCAGUUCCAUCG (SEQ ID NO:8); или

UGAUGUUUUGAGCACCUACUC (SEQ ID NO: 9);

где воздействующее на RAGE средство на основе РНКи дополнительно включает смысловую цепь, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи; и где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся и в антисмысловой цепи, и в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

UUGUGUUCAGUUCCAUCG (SEQ ID NO:7);

UCCAUCUGUUCAGUUCCAUCG (SEQ ID NO:8); или

25 UGAUGUUUUGAGCACCUACUC (SEQ ID NO: 9);

где воздействующее на RAGE средство на основе РНКи дополнительно включает смысловую цепь, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи; где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся и в антисмысловой цепи, и в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами; и где смысловая цепь дополнительно содержит обращенные абазические остатки, расположенные на 3'-конце и на 5'-конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также содержит направленно действующий лиганд, который ковалентно связан с 5'-концом, где направленно

действующий лиганд включает соединение, обладающее сродством к рецептору интегрин.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

UUGUGUUCAGUUCCAUCG (SEQ ID NO:7);

10 UCCAUCUGUUCAGUUCG (SEQ ID NO:8); или

UGAUGUUUUGAGCACCUACUC (SEQ ID NO: 9);

где воздействующее на RAGE средство на основе РНКи дополнительно включает смысловую цепь, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи; где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся и в антисмысловой цепи, и в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами; и где смысловая цепь дополнительно содержит обращенные абазические остатки, расположенные на 3'-конце и на 5'-конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также содержит направленно действующий лиганд, который ковалентно связан с 5'-концом, где направленно действующий лиганд включает соединение, обладающее сродством к рецептору интегрин; и где соответствующая антисмысловая цепь находится в положениях 1-21 антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, где антисмысловая цепь и смысловая цепь состоят, в основном состоят из нуклеотидных последовательностей, в которых 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже пар нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержат их:

UUGUGUUCAGUUCCAUCG (SEQ ID NO:7) и

30 CGGAAUGGAAACUGAACACAA (SEQ ID NO: 19);

UCCAUCUGUUCAGUUCG (SEQ ID NO:8) и

AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA (SEQ ID NO: 21); или

UGAUGUUUUGAGCACCUACUC (SEQ ID NO: 9) и

GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA (SEQ ID NO: 20);

где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся и в антисмысловой цепи, и в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую
5 цепь и смысловую цепь, где антисмысловая цепь и смысловая цепь состоят, в основном состоят из нуклеотидных последовательностей, в которых 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже пар нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержат их:

10 UUGUGUUCAGUUCCAUCG (SEQ ID NO:7) и
CGGAAUGGAAACUGAACACAA (SEQ ID NO: 19);
UCCAUCUGUUCUUGCCU (SEQ ID NO:8) и
AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA (SEQ ID NO: 21); или
UGAUGUUUUGAGCACCUACUC (SEQ ID NO: 9) и
15 GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA (SEQ ID NO: 20);

где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся и в антисмысловой цепи, и в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами; и где смысловая цепь дополнительно содержит обращенные абазические остатки, расположенные на 3'-конце и на 5'-конце нуклеотидной последовательности, и
20 смысловая цепь также содержит направленно действующий лиганд, который ковалентно связан с 5'-концом, где направленно действующий лиганд включает соединение, обладающее сродством к рецептору интегрина.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую
25 цепь, которая состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:2);
30 cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:3);
usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:5);
cPrpusGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:6);
usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu (SEQ ID NO:4);

где a, c, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; cPrpu обозначает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин; s обозначает фосфоротиоатный мостик; и где воздействующее на RAGE средство на основе РНКи дополнительно включает смысловую цепь, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи; и где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:2);
cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:3);
usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:5);
cPrpusGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:6);
usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu (SEQ ID NO:4);

где воздействующее на RAGE средство на основе РНКи дополнительно включает смысловую цепь, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи; где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами; где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся и в антисмысловой цепи, и в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами; и где смысловая цепь дополнительно содержит обращенные абазические остатки, расположенные на 3'-конце и на 5'-конце нуклеотидной последовательности, и смысловая цепь также содержит направленно действующий лиганд, который ковалентно связан с 5'-концом, где направленно действующий лиганд включает соединение, обладающее сродством к рецептору интегрина.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, которые состоят, в основном состоят из одной из

приведенных ниже пар нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержат их:

usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:2) и
csggaauggAfAfAfcugaacacaaa (SEQ ID NO:13);

5 cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO: 3) и
csggaauggAfAfAfcugaacacaaa (SEQ ID NO: 13);

usGfsasuguuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:5) и
gsaguagGfuGfcUfcaaaacauca (SEQ ID NO: 14);

10 cPrpusGfsasuguuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:6) и
gsaguagGfuGfcUfcaaaacauca (SEQ ID NO:14); и

usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu (SEQ ID NO:4) и
asggcaaugAfAfCfaggaauigaa (SEQ ID NO:15);

где а, с, g, i и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин, инозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин,

15 гуанозин и уридин соответственно; cPrpu обозначает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин; Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-(TA14) обозначает тридентатный лиганд, направленno действующий на $\alpha\upsilon\beta$ 6 эпителиальных клеток, обладающий химической структурой, представленной на фиг. 1; и s обозначает

20 фосфоротиоатный мостик; и где смысловая цепь также содержит направленno действующий лиганд, обладающий сродством к рецептору интегрина, где направленno действующий лиганд необязательно связан с 5'-концом смысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую

25 цепь и смысловую цепь, которые состоят, в основном состоят из модифицированных нуклеотидных последовательностей, в которых 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже пар нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержат их:

usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:2) и

30 Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-(TA14)csggaauggAfAfAfcugaacacaas(invAb) (SEQ ID NO:10);

cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO: 3) и

Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-(TA14)csggaauggAfAfAfcugaacacaas(invAb) (SEQ ID NO: 10);

usGfsasuguuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:5) и

Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gsaguagGfuGfcUfcaaaacaucas(invAb) (SEQ ID NO: 11);
cPrpusGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:6) и

Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gsaguagGfuGfcUfcaaaacaucas(invAb) (SEQ ID NO:11); и
usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu (SEQ ID NO:4) и

5 Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)asggcaaugAfAfCfaggaauigaas(invAb) (SEQ ID NO:12);

где a, c, g, i и u обозначают 2'-О-метиладенозин, цитидин, гуанозин, инозин и уридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, цитидин, гуанозин и уридин соответственно; cPrpu обозначает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин; Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14) обозначает тридентатный лиганд,
10 направленно действующий на $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ эпителиальных клеток, обладающий химической структурой, представленной на фиг. 1; (invAb) обозначает обращенный абазический дезоксирибонуклеотид (см. также таблицу 11), и s обозначает фосфоротиоатный мостик.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство
15 на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая содержит последовательность нуклеиновых оснований, в которой 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в нуклеотидных последовательностях, выбранных из группы, состоящей из следующих (5' → 3'):
UUGUGUUCAGUUCCAUC (SEQ ID NO: 55);
20 UCCAUCCUGUUC AUUGC (SEQ ID NO: 69); и
UGAUGUUUGAGCACCUAC (SEQ ID NO: 65).

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство
на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь, которая содержит последовательность нуклеиновых оснований, в которой
25 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в нуклеотидных последовательностях, выбранных из группы, состоящей из следующих (5' → 3'):
UUGUGUUCAGUUCCAUC (SEQ ID NO: 55);
UCCAUCCUGUUC AUUGC (SEQ ID NO: 69); и
UGAUGUUUGAGCACCUAC (SEQ ID NO: 65).

30 где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую

цепь, которая содержит последовательность нуклеиновых оснований, в которой 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в нуклеотидных последовательностях, выбранных из группы, состоящей из следующих (5' → 3'):

UUGUGUUCAGUUCCAUC (SEQ ID NO: 55);

5 UCCAUCCUGUUCAUUGC (SEQ ID NO: 69); и

UGAUGUUUUGAGCACCUAC (SEQ ID NO: 65).

где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, и где SEQ ID NO:55, SEQ ID NO: 69 и SEQ ID NO: 65 соответственно находятся в положениях нуклеотидов 1-19 (5' → 3')

10 антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, каждая из которых содержит последовательности нуклеиновых оснований, в которых 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в парах нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из следующих (5' → 3'):

15 UUGUGUUCAGUUCCAUC (SEQ ID NO: 55) и GAAUGGAAACUGAACACAA (SEQ ID NO: 298);

20 UCCAUCCUGUUCAUUGC (SEQ ID NO: 69) и GCAAUGAACAGGAAUIGAA (SEQ ID NO: 316); или

UGAUGUUUUGAGCACCUAC (SEQ ID NO: 65) и GUAGGUGCUCAAAACAUCA (SEQ ID NO:308).

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, каждая из которых содержит последовательности нуклеиновых оснований, в которых 0 или 1 нуклеиновое основание отличается от содержащихся в парах нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из следующих (5' → 3'):

25 UUGUGUUCAGUUCCAUC (SEQ ID NO: 55) и GAAUGGAAACUGAACACAA (SEQ ID NO: 298);

30 UCCAUCCUGUUCAUUGC (SEQ ID NO: 69); и GCAAUGAACAGGAAUIGAA (SEQ ID NO: 316); или

UGAUGUUUUGAGCACCUAC (SEQ ID NO: 65) и GUAGGUGCUCAAAAACAUCA (SEQ ID NO:308); и

где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

5 Определения

При использовании в настоящем изобретении термины "олигонуклеотид" и "полинуклеотид" означают полимер, состоящий из связанных нуклеозидов, каждый из которых независимо может являться модифицированным или немодифицированным.

10 При использовании в настоящем изобретении термин "средство на основе РНКи" (также называемый "триггером на основе РНКи") означает композицию, которая содержит РНК или РНК-подобную (например, химически модифицированную РНК) олигонуклеотидную молекулу, которая способна нарушать или подавлять (например, нарушать или подавлять при подходящих

15 условиях) трансляцию транскриптов матричной РНК (мРНК) целевого гена специфичным по отношению к последовательности образом. При использовании в настоящем изобретении средства на основе РНКи могут действовать в соответствии с механизмом РНК-интерференции (т. е. индуцировать РНК-интерференцию путем взаимодействия с компонентами пути РНК-

20 интерференции (РНК-индуцируемый комплекс выключения гена или RISC) в клетках млекопитающего) или в соответствии с любым альтернативным механизмом (механизмами) или путем (путями). Хотя полагают, что средства на основе РНКи в основном действуют в соответствии с механизмом РНК-интерференции, поскольку этот термин используется в настоящем изобретении,

25 действие раскрытых средств на основе РНКи не связано с определенным путем или механизмом и не ограничено им. Средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, состоят из смысловой цепи и антисмысловой цепи и включают, но не ограничиваются только ими: короткие (или малые) интерферирующие РНК (киРНК), двухцепочечные РНК (дцРНК), микро-РНК (миРНК), короткие образующие шпильки РНК (кшРНК) и субстраты Dicer.

30 Антисмысловая цепь средств на основе РНКи, описанных в настоящем изобретении, по меньшей мере частично комплементарна целевой мРНК (т. е. мРНК гена AGER). Средства на основе РНКи могут включать один или большее

количество модифицированных нуклеотидов и/или один или большее количество не являющихся фосфодиэфирами мостиков.

При использовании в настоящем изобретении в отношении экспрессии определенного гена термины "выключать", "уменьшать", "подавлять", "понижать регуляцию" или "разрушать" означают, что экспрессия заданного гена, 5 определенная, как количество РНК, транскрибированной из гена, или количество полипептида, белка или белковой субъединицы, транслируемой из мРНК в клетку, группу клеток, ткань, орган или у субъекта, у которого транскрибирован ген, уменьшена, если в клетку, группу клеток, ткань, орган или субъекту вводят 10 средства на основе РНКи, описанные в настоящем изобретении, по сравнению со второй клеткой, группой клеток, тканью, органом или субъектом, которым не проводят или не проводили такое введение.

При использовании в настоящем изобретении термины "последовательность" и "нуклеотидная последовательность" означают 15 последовательность или порядок расположения нуклеиновых оснований или нуклеотидов, описанный с помощью последовательности букв с использованием стандартной номенклатуры.

При использовании в настоящем изобретении термин "основание", "нуклеотидное основание" или "нуклеиновое основание" означает 20 гетероциклическое пиримидиновое или пуриновое соединение, которое является компонентом нуклеотида, и включает первичные пуриновые основания, аденин и гуанин, и первичные пиримидиновые основания, цитозин, тимин и урацил. Нуклеиновое основание может быть дополнительно модифицировано и включает, но не ограничивается только ими, универсальные основания, 25 гидрофобные основания, нерегулярные основания, удлиненные основания и фторированные основания (см, например, публикацию Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008). Синтез таких модифицированных нуклеиновых оснований (включая фосфорамидитные соединения, которые включают модифицированные 30 нуклеиновые основания) известен в данной области техники.

При использовании в настоящем изобретении и, если не указано иное, если термин "комплементарный" при использовании для описания взаимосвязи первого нуклеинового основания или нуклеотидной последовательности

(например, смысловой цепи средства на основе РНКи или целевой мРНК) и второго нуклеинового основания или нуклеотидной последовательности (например, антисмысловой цепи средства на основе РНКи или одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида) означает способность олигонуклеотида или полинуклеотида, включающего первую нуклеотидную последовательность, 5 гибридизироваться (образовывать водородные связи между спаренными основаниями при физиологических условиях организма млекопитающего (или при сходных условиях *in vivo* или *in vitro*)) и при определенных стандартных условиях образовывать дуплекс или двойную спиральную структуру с 10 олигонуклеотидом или полинуклеотидом, включающим вторую нуклеотидную последовательность. Специалист с общей подготовкой в данной области техники может определить набор условий, наиболее подходящих для исследования гибридации. Комплементарные последовательности включают спаренные основания, образующиеся по Уотсону-Крику, или спаренные основания, 15 образующиеся не по Уотсону-Крику, и включают природные или модифицированные нуклеотиды или миметики нуклеотидов по меньшей мере в таком количестве, что удовлетворены требования описанной выше гибридации. Совпадение или комплементарность последовательностей не зависит от модификации. Так, например, с целью определения совпадения или 20 комплементарности а и Af, определенные в настоящем изобретении, комплементарны U (или T) и совпадают с A.

При использовании в настоящем изобретении термин "совершенно комплементарный" или "полностью комплементарный" означает, что в 25 гибридизированной паре нуклеиновых оснований или молекул нуклеотидной последовательности все (100%) основания в смежной последовательности первого олигонуклеотида гибридируются с таким же количеством оснований в смежной последовательности второго олигонуклеотида. Смежная последовательность может включать всю или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.

30 При использовании в настоящем изобретении термин "частично комплементарный" означает, что в гибридизированной паре нуклеиновых оснований или молекул нуклеотидной последовательности по меньшей мере 70% оснований, но не все основания, в смежной последовательности первого

олигонуклеотида гибридизируются с таким же количеством оснований в смежной последовательности второго олигонуклеотида. Смежная последовательность может включать всю или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.

5 При использовании в настоящем изобретении термин "в основном комплементарный" означает, что в гибридизированной паре нуклеиновых оснований или молекул нуклеотидной последовательности по меньшей мере 85% оснований, но не все основания, в смежной последовательности первого олигонуклеотида гибридизируются с таким же количеством оснований в
10 смежной последовательности второго олигонуклеотида. Смежная последовательность может включать всю или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.


При использовании в настоящем изобретении термины "комплементарный", "полностью комплементарный", "частично комплементарный" и "в основном
15 комплементарный" используют для описания степени совпадения нуклеинового основания или нуклеотида смысловой цепи и антисмысловой цепи средства на основе РНКи, или антисмысловой цепи средства на основе РНКи и последовательности мРНК гена AGER.

При использовании в настоящем изобретении в отношении
20 последовательности нуклеиновых кислот термин "в основном совпадающая" или "существенное совпадение" означает, что совпадение нуклеотидной последовательности (или части нуклеотидной последовательности) с эталонной последовательностью составляет по меньшей мере примерно 85% или более, например, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по меньшей мере
25 99%. Выраженную в процентах степень совпадения определяют путем сопоставления двух оптимально построенных последовательностей с помощью окна сравнения. Выраженное в процентах значение рассчитывают путем определения количества положений, в которых в обеих последовательностях находится основание нуклеиновой кислоты одинакового типа с получением
30 количества совпадающих положений, деления количества совпадающих положений на полное количество положений в окне сравнения и умножения результата на 100 с получением выраженной в процентах степени совпадения последовательностей. В объем настоящего изобретения входят нуклеотидные

последовательности, в основном совпадающие с раскрытыми в настоящем изобретении.

При использовании в настоящем изобретении термины "лечить", "лечение" и т. п., означают способы или стадии, проводимые для обеспечения облегчения или уменьшения количества, тяжести и/или частоты проявления одного или большего количества симптомов заболевания у субъекта. При использовании в настоящем изобретении термины "лечить" и "лечение" могут включать предупредительное лечение, лечение, профилактическое лечение и/или подавление или уменьшение количества, тяжести и/или частоты проявления одного или большего количества симптомов заболевания у субъекта.

При использовании в настоящем изобретении в отношении средства на основе РНКи выражение "введение в клетку" означает функциональную доставку средства на основе РНКи в клетку. Выражение "функциональная доставка" означает доставку средства на основе РНКи в клетку таким образом, что средство на основе РНКи обладает ожидаемой биологической активностью, например, специфичным по отношению к последовательности подавлением экспрессии гена.

Если не указано иное, в настоящем изобретении использование знака  означает, что любая группа или группы могут быть связаны (или соединены) с ним, это находится в соответствии с объемом описанного изобретения.

При использовании в настоящем изобретении термин "изомеры" означает соединения, которые описываются одинаковыми молекулярными формулами, но обладают разной природой или последовательностью соединения их атомов, или расположением их атомов в пространстве. Изомеры, которые различаются расположением их атомов в пространстве, называются "стереоизомерами". Стереои́зомеры, которые не являются зеркальными отображениями друг друга, называются "диастереоизомерами" и стереои́зомеры, которые не являются накладывающимися зеркальными отображениями друг друга, называются "энантиомерами" или иногда оптическими изомерами. Атом углерода, соединенный с четырьмя разными заместителями называется "хиральным центром".

При использовании в настоящем изобретении, если явно не указано, что структура обладает определенной конформацией, в случае каждой структуры,

содержащей асимметрические центры, наличие которых приводит к существованию энантиомеров, диастереоизомеров или других стереоизомерных конфигураций, каждая структура, раскрытая в настоящем изобретении, описывает все такие возможные изомеры, включая их оптически чистые и рацемические формы. Так, например, структуры, раскрытые в настоящем изобретении, включают смеси диастереоизомеров, а также отдельные стереоизомеры.

При использовании в пункте формулы изобретения выражение "состоящий из" исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не указанный в пункте формулы изобретения. При использовании в пункте формулы изобретения выражение "в основном состоящий из" ограничивает объем пункта формулы изобретения указанными материалами или стадиями и теми, которые не оказывают существенное влияние на основную и новую характеристику (характеристики) заявленного изобретения.

Для специалиста с общей подготовкой в данной области техники должно быть совершенно понятно и очевидно, что соединения и композиции, раскрытые в настоящем изобретении, могут содержать определенные атомы (например, атомы N, O или S), находящиеся в протонированной или депротонированной форме в зависимости от среды, в которую помещают соединение или композицию. Соответственно, при использовании в настоящем изобретении структуры, раскрытые в настоящем изобретении, предусматривают, что определенные функциональные группы, такие как, например, OH, SH или NH, могут являться протонированными или депротонированными. В объем настоящего изобретения входят раскрытые соединения и композиции, независимо от их степени протонирования, зависящей от среды (например, значения pH), как это совершенно очевидно для специалиста с общей подготовкой в данной области техники. Соответственно, соединения, описанные в настоящем изобретении, содержащие подвижные протоны или основные атомы, также означают соли соответствующего соединения. Соединения, описанные в настоящем изобретении, могут находиться в форме свободной кислоты, свободного основания или в форме соли. Фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящем изобретении, входят в объем настоящего изобретения.

При использовании в настоящем изобретении термин "связанный" или "конъюгированный" в отношении связывания двух соединений или молекул означает, что два соединения или две молекулы связаны ковалентной связью. Если не указано иное, при использовании в настоящем изобретении термины "связанный" и "конъюгированный" могут означать связь между первым соединением и вторым соединением при наличии или при отсутствии каких-либо промежуточных атомов или групп атомов.

При использовании в настоящем изобретении термин "включая" означает выражение "включая, но не ограничиваясь только ими" и они используются взаимозаменяемым образом. Термин "или" при использовании в настоящем изобретении означает термин "и/или" и они используются взаимозаменяемым образом, если из контекста явно не следует иное.

Если не приведено другое определение, то все технические и научные термины, использованные в настоящем изобретении, обладают такими же значениями, которые обычно подразумевает специалист с общей подготовкой в данной области техники. Хотя при осуществлении и проверке настоящего изобретения можно использовать способы и материалы, сходные с описанными в настоящем изобретении или эквивалентные им, ниже описаны подходящие способы, устройства и материалы. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другая литература, указанная в настоящем изобретении, во всей их полноте включены в настоящее изобретение в качестве ссылки. В случае противоречия, определяющим является настоящее описание, включая определения. Кроме того, материалы, методики и примеры являются лишь иллюстративными и не являются ограничивающими.

Другие объекты, особенности, характеристики и преимущества настоящего изобретения станут понятны из приведенного ниже подробного описания, прилагаемых чертежей и из формулы изобретения.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1. Химическая структура тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta6$ эпителиальных клеток, в настоящем изобретении обозначенного, как Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -(TA14).

Фиг. 2. Химическая структура лиганда, направленно действующего на пептид $\alpha\beta6$ эпителиальных клеток, в настоящем изобретении обозначенного, как $\alpha\beta6$ -пер1.

5 Фиг. 3А - 3Д. Химическая структура конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, АС000292, представленного в виде свободной кислоты.

Фиг. 4А - 4Д. Химическая структура конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, АС000292, представленного в виде натриевой соли.

10 Фиг. 5А - 5Д. Химическая структура конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, АС001266, представленного в виде свободной кислоты.

Фиг. 6А - 6Д. Химическая структура конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, АС001266, представленного в виде натриевой соли.

15 Фиг. 7А - 7Д. Химическая структура конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, АС001267, представленного в виде свободной кислоты.

Фиг. 8А - 8Д. Химическая структура конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, АС001267, представленного в виде натриевой соли.

20 Фиг. 9А - 9Д. Химическая структура конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, АС001268, представленного в виде свободной кислоты.

Фиг. 10А - 10Д. Химическая структура конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, АС001268, представленного в виде натриевой соли.

25 Фиг. 11А. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой АС000286 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего тридентатный лиганд, направленно действующий на $\alpha\beta6$ эпителиальных клеток, присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

30 На чертежах 11А-11К использовали следующие аббревиатуры: а, с, g, i и u обозначают модифицированные 2'-О-метилом нуклеотиды; Af, Cf, Gf и Uf обозначают модифицированные 2'-фтором нуклеотиды; о обозначает фосфодиэфирный мостик; s обозначает фосфоротиоатный мостик; invAb

обозначает обращенный абазический остаток (см., например, таблицу 11); cPrpu обозначает модифицированный 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридином нуклеотид (м., например, таблицу 11); Tri-SM6.1- $\alpha\nu\beta6$ -(TA14) обозначает тридентатный лиганд, направленно действующий на $\alpha\nu\beta6$ эпителиальных клеток, обладающий структурой, представленной на фиг. 1; и (TriAlk14) обозначает мостиковую группу, указанную в таблице 11, которая является подходящей для проведения последующего присоединения к направленно действующим лигандам (см. также пример 1, приведенный в настоящем изобретении).

Фиг. 11Б. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой AC000292 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего тридентатный лиганд, направленно действующий на $\alpha\nu\beta6$ эпителиальных клеток, присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

Фиг. 11В. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой AC001266 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего тридентатный лиганд, направленно действующий на $\alpha\nu\beta6$ эпителиальных клеток, присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

Фиг. 11Г. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой AC001267 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего тридентатный лиганд, направленно действующий на $\alpha\nu\beta6$ эпителиальных клеток, присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

Фиг. 11Д. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой AC001268 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего тридентатный лиганд, направленно действующий на $\alpha\nu\beta6$ эпителиальных клеток, присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

Фиг. 11Е. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей дуплекса воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой AD07474 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего мостик (TriAlk14), присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

Фиг. 11Ж. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой AC000286 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего мостик (TriAlk14), присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

5 Фиг. 11З. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой AC000286 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего мостик (TriAlk14), присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

10 Фиг. 11И. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой AC000286 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего мостик (TriAlk14), присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

15 Фиг. 11К. Схематическое представление модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, обладающего структурой AC000286 (см, например, таблицы 8 и 10), содержащего мостик (TriAlk14), присоединенный к 5'-концу смысловой цепи.

Подробное описание

Средства на основе РНКи

20 В настоящем изобретении описаны средства на основе РНКи, предназначенные для подавления экспрессии гена AGER (или RAGE) (в настоящем изобретении называемые воздействующими на RAGE средствами на основе РНКи или воздействующими на RAGE триггерами на основе РНКи). Каждое воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, раскрытое в настоящем изобретении, включает смысловую цепь и антисмысловую цепь.

25 Длины описанных в настоящем изобретении смысловых цепей средства на основе РНКи в каждом случае могут составлять от 15 до 49 нуклеотидов. Длины описанных в настоящем изобретении антисмысловых цепей средства на основе РНКи в каждом случае могут составлять от 18 до 49 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длины смысловой и антисмысловой цепей независимо

30 составляют от 18 до 26 нуклеотидов. Смысловая и антисмысловая цепи могут обладать одинаковой длиной или разной длиной. В некоторых вариантах осуществления длины смысловой и антисмысловой цепей независимо составляют от 21 до 26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления

длины смысловой и антисмысловой цепей независимо составляют от 21 до 24 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь и антисмысловая цепь обе обладают длиной, составляющей 21 нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления длины антисмысловых цепей независимо составляют 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длины смысловых цепей независимо составляют 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 или 49 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления двухцепочечное средство на основе РНКи включает дуплекс, обладающий длиной, составляющей примерно 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 нуклеотида.

Примеры нуклеотидных последовательностей, используемых для получения воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, приведены в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 и 10. Примеры дуплексов средства на основе РНКи, которые включают последовательности смысловых цепей и антисмысловых цепей, приведенные в таблицах 2, 3, 4, 5, 6, приведены в таблицах 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б и 10.

В некоторых вариантах осуществления длина участка, где смысловая цепь и антисмысловая цепь являются совершенно, в основном или частично комплементарными, составляет 15-26 (например, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26) нуклеотидов и он находится на 5'-конце антисмысловой цепи или вблизи него (например, этот участок может быть отделен от 5'-конца антисмысловой цепи с помощью 0, 1, 2, 3 или 4 нуклеотидов, которые не являются совершенно, в основном или частично комплементарными).

Смысловая цепь воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, описанных в настоящем изобретении, содержит не менее 15 смежных нуклеотидов, она по меньшей мере на 85% совпадает с состоящей из такого же количества нуклеотидов последовательностью корового участка (в настоящем изобретении также называющегося "коровым участком" или "коровой последовательностью"), содержащейся мРНК гена AGER. В некоторых вариантах осуществления последовательность корового участка смысловой цепи на 100% (совершенно) комплементарна или по меньшей мере примерно на 85% (в основном) комплементарна последовательности корового участка

антисмысловой цепи и, таким образом, последовательность корового участка смысловой цепи обычно совершенно совпадает или по меньшей мере примерно на 85% совпадает с обладающей такой же длиной нуклеотидной последовательностью (иногда называемой, например, целевой последовательностью), содержащейся в целевой мРНК гена AGER. В некоторых вариантах осуществления длина этого корового участка смысловой цепи составляет 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления длина этого корового участка смысловой цепи составляет 17 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длина этого корового участка смысловой цепи составляет 19 нуклеотидов.

Антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, описанного в настоящем изобретении, содержит не менее 15 смежных нуклеотидов, она по меньшей мере на 85% комплементарна состоящему из такого же количества нуклеотидов коровому участку, содержащемуся в мРНК гена AGER, и состоящему из такого же количества нуклеотидов коровому участку, содержащемуся в соответствующей смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления коровый участок антисмысловой цепи на 100% (совершенно) комплементарен или по меньшей мере примерно на 85% (в основном) комплементарен обладающей такой же длиной нуклеотидной последовательности (например, целевой последовательности), содержащейся в целевой мРНК гена AGER. В некоторых вариантах осуществления длина этого корового участка антисмысловой цепи составляет 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длина этого корового участка антисмысловой цепи составляет 19 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления длина этого корового участка антисмысловой цепи составляет 17 нуклеотидов. Последовательность корового участка смысловой цепи и соответствующая коровая последовательность антисмысловой цепи могут обладать одинаковой длиной или они могут обладать разной длиной.

Смысловую и антисмысловую цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи отжигают с получением дуплекса. Смысловая цепь и антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи могут быть частично, в основном или полностью комплементарны друг другу. На

комплементарном участке дуплекса последовательность корового участка смысловой цепи по меньшей мере на 85% комплементарна или на 100% комплементарна последовательности корового участка антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления последовательность корового участка смысловой цепи включает последовательность, состоящую из не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18, не менее 19, не менее 20, не менее 21, не менее 22 или не менее 23 нуклеотидов, которая по меньшей мере на 85% комплементарна или на 100% комплементарна соответствующей состоящей из 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотидов последовательности корового участка антисмысловой цепи (т. е. последовательности коровых участков смысловой и антисмысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи включают участок, содержащий не менее 15, не менее 16, не менее 17, не менее 18, не менее 19, не менее 20, не менее 21, не менее 22 или не менее 23 нуклеотидов, по меньшей мере 85% из которых образуют пары оснований или 100% из которых образуют пары оснований)

В некоторых вариантах осуществления в антисмысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из последовательностей антисмысловых цепей, указанных в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах осуществления в смысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из последовательностей смысловых цепей, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь и/или антисмысловая цепь необязательно и независимо содержат дополнительные 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов (удлинение) на 3'-конце, на 5'-конце, или и на 3'-конце, и на 5'-конце последовательностей коровых участков. Дополнительные нуклеотиды антисмысловой цепи, если они содержатся, могут являться или могут не являться комплементарными содержащимся в соответствующей последовательности мРНК гена AGER. Дополнительные нуклеотиды смысловой цепи, если они содержатся, могут являться или могут не являться совпадающими с содержащимися в соответствующей последовательности мРНК гена AGER.

Дополнительные нуклеотиды антисмысловой цепи, если они содержатся, могут являться или могут не являться комплементарными соответствующим дополнительным нуклеотидам смысловой цепи, если они содержатся.

При использовании в настоящем изобретении удлинение включает 1, 2, 3, 5 4, 5 или 6 нуклеотидов, расположенных на 5'- и/или 3'-конце последовательности корового участка смысловой цепи и/или последовательности корового участка антисмысловой цепи. Удлиняющие нуклеотиды, содержащиеся в смысловой цепи, могут являться или могут не являться комплементарными нуклеотидам, содержащимся в последовательности корового участка соответствующей 10 антисмысловой цепи, или удлиняющим нуклеотидам, содержащимся в соответствующей антисмысловой цепи. С другой стороны, удлиняющие нуклеотиды, содержащиеся в антисмысловой цепи, могут являться или могут не являться комплементарными нуклеотидам, содержащимся в коровом участке соответствующей смысловой цепи, или удлиняющим нуклеотидам, 15 содержащимся в соответствующей смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления и смысловая цепь, и антисмысловая цепь средства на основе РНКи содержит удлинения, расположенные на 5'- и 3'-конце. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество удлиняющих нуклеотидов, расположенных на 3'-конце одной цепи, образуют пары оснований 20 с одним или большим количеством удлиняющих нуклеотидов, расположенных на 5'-конце другой цепи. В других вариантах осуществления один или большее количество удлиняющих нуклеотидов, расположенных на 3'-конце одной цепи, не образуют пары оснований с одним или большим количеством удлиняющих нуклеотидов, расположенных на 5'-конце другой цепи. В некоторых вариантах 25 осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает антисмысловую цепь, содержащую удлинение на 3'-конце, и смысловую цепь, содержащую удлинение на 5'-конце. В некоторых вариантах осуществления удлиняющий нуклеотид (нуклеотиды) являются неспаренными и образуют выступ. При использовании в настоящем изобретении термин "выступ" означает 30 участок, включающий один или большее количество неспаренных нуклеотидов, расположенный на конце смысловой цепи или антисмысловой цепи, который не является частью гибридного или образующего дуплекс фрагмента средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает антисмысловую цепь, содержащую на 3'-конце удлинение, обладающее длиной, составляющей 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. В других вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает антисмысловую цепь, содержащую на 3'-конце удлинение, обладающее длиной, составляющей 1, 2 или 3 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество удлиняющих нуклеотидов, содержащихся в антисмысловой цепи, представляют собой нуклеотиды, которые комплементарны соответствующей последовательности мРНК гена AGER. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество удлиняющих нуклеотидов, содержащихся в антисмысловой цепи, представляют собой нуклеотиды, которые не комплементарны соответствующей последовательности мРНК гена AGER.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает смысловую цепь, содержащую на 3'-конце удлинение, обладающее длиной, составляющей 1, 2, 3, 4 или 5 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество удлиняющих нуклеотидов, содержащихся в смысловой цепи, представляют собой аденозин, урацил или тимидин, АТ-динуклеотиды или нуклеотиды, которые соответствуют нуклеотидам, содержащимся в последовательности мРНК гена AGER, или совпадают с ними. В некоторых вариантах осуществления содержащееся на 3'-конце смысловой цепи удлинение включает, но не ограничивается только ими: одну из следующих последовательностей: T, UT, TT, UU, UUT, TTT или TTTT (в каждом случае в направлении от 5'-конца к 3'-концу), или состоит из них.

Смысловая цепь может содержать удлинение на 3'-конце и/или удлинение на 5'-конце. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает смысловую цепь, содержащую на 5'-конце удлинение, обладающее длиной, составляющей 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество удлиняющих нуклеотидов, содержащихся в смысловой цепи, представляют собой нуклеотиды, которые соответствуют нуклеотидам, содержащимся в последовательности мРНК гена AGER, или совпадают с ними.

Примеры последовательностей, используемых для получения
воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, приведены в таблицах 2, 3,
4, 5, 6 и 10. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь
воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержит
5 последовательность, соответствующую любой из последовательностей,
указанных в таблицах 2, 3 или 10. В некоторых вариантах осуществления
антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи
содержит любую из модифицированных последовательностей, указанных в
таблице 3, или состоит из нее. В некоторых вариантах осуществления
10 антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи
содержит последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-конец → 3'-конец)
1-17, 2-15, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21 или 2-21, содержащихся в
любой из последовательностей, указанных в таблицах 2 или 3. В некоторых
вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего на RAGE средства
15 на основе РНКи содержит последовательность, соответствующую любой из
последовательностей, указанных в таблицах 2, 4, 5 или 6. В некоторых
вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего на RAGE средства
на основе РНКи содержит последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-
конец → 3'-конец) 1-18, 1-19, 1-20, 1-21, 2-19, 2-20, 2-21, 3-20, 3-21 или 4-21,
20 содержащихся в любой из последовательностей, указанных в таблицах 2, 4, 5
или 6. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего
на RAGE средства на основе РНКи содержит модифицированную
последовательность, соответствующую любой из модифицированных
последовательностей, указанных в таблице 4, 5, 6 или 10, или состоит из нее.
25 В некоторых вариантах осуществления смысловая и антисмысловая цепи
средств на основе РНКи, описанных в настоящем изобретении, содержат
одинаковое количество нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления
смысловая и антисмысловая цепи средств на основе РНКи, описанных в
настоящем изобретении, содержат разное количество нуклеотидов. В некоторых
30 вариантах осуществления 5'-конец смысловой цепи и 3'-конец антисмысловой
цепи средства на основе РНКи образуют тупой конец. В некоторых вариантах
осуществления 3'-конец смысловой цепи и 5'-конец антисмысловой цепи
средства на основе РНКи образуют тупой конец. В некоторых вариантах

осуществления оба конца средства на основе РНКи являются тупыми концами. В некоторых вариантах осуществления ни один из концов средства на основе РНКи не является тупым концом. При использовании в настоящем изобретении термин "тупой конец" означает конец двухцепочечного средства на основе РНКи, где концевые нуклеотиды, содержащиеся в двух отождженных цепях, являются комплементарными (образуют комплементарную пару оснований).

В некоторых вариантах осуществления 5'-конец смысловой цепи и 3'-конец антисмысловой цепи средства на основе РНКи образуют потертый конец. В некоторых вариантах осуществления 3'-конец смысловой цепи и 5'-конец антисмысловой цепи средства на основе РНКи образуют потертый конец. В некоторых вариантах осуществления оба конца средства на основе РНКи являются потертыми концами. В некоторых вариантах осуществления ни один из концов средства на основе РНКи не является потертым концом. При использовании в настоящем изобретении термин "потертый конец" означает конец двухцепочечного средства на основе РНКи, где концевые нуклеотиды, содержащиеся в двух отождженных цепях, образуют пару (т. е. не образуют выступ), но не являются комплементарными (т. е. образуют некомплеметарную пару). В некоторых вариантах осуществления один или большее количество неспаренных нуклеотидов, находящихся на конце одной цепи двухцепочечного средства на основе РНКи, образуют выступ. Неспаренные нуклеотиды могут содержаться в смысловой цепи или в антисмысловой цепи и образуют выступы на 3'- или 5'-конце. В некоторых вариантах осуществления средство на основе РНКи включает: тупой конец и потертый конец, тупой конец и выступ на 5'-конце, тупой конец и выступ на 3'-конце, потертый конец и выступ на 5'-конце, потертый конец и выступ на 3'-конце, два выступа на 5'-концах, два выступа на 3'-концах, выступ на 5'-конце и выступ на 3'-конце, два потертых конца или два тупых конца. Выступы, если они содержатся, обычно расположены на 3'-конце смысловой цепи, 3'-конце антисмысловой цепи или на 3'-концах смысловой цепи и антисмысловой цепи.

Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, также могут включать один или большее количество модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления в основном все нуклеотиды смысловой цепи и в основном все нуклеотиды

антисмысловой цепи воздействующего на RAGE средство на основе РНКи являются модифицированными нуклеотидами. Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, также могут включать один или большее количество модифицированных межнуклеозидных мостиков, например, один или большее количество фосфоротиоатных мостиков. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает один или большее количество модифицированных нуклеотидов и один или большее количество модифицированных межнуклеозидных мостиков. В некоторых вариантах осуществления 2'-модифицированный нуклеозид объединен с модифицированным межнуклеозидным мостиком.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи получают или предоставляют в виде соли, смешанной соли или свободной кислоты. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи получают или предоставляют в виде фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи получают в виде фармацевтически приемлемой натриевой соли. Такие формы, которые хорошо известны в данной области техники, входят в объем настоящего изобретения.

Модифицированные нуклеотиды

При использовании модифицированных нуклеотидов в различных конструкциях олигонуклеотидов они могут обеспечивать сохранение активности соединения в клетках и в то же время увеличивать стабильность этих соединений в сыворотке, а также сводить к минимуму вероятность инициирования активности интерферона у людей при введении конструкции олигонуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи содержит один или большее количество модифицированных нуклеотидов. При использовании в настоящем изобретении термин "модифицированный нуклеотид" означает нуклеотид, отличающийся от рибонуклеотида (2'-гидроксинуклеотида). В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 50% (например, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей

мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) нуклеотидов являются модифицированными нуклеотидами. При использовании в настоящем изобретении модифицированные нуклеотиды могут включать, но не ограничиваются только ими, дезоксирибонуклеотиды, миметики нуклеотидов, абазические нуклеотиды, модифицированные в положении 2' нуклеотиды, обращенные нуклеотиды, содержащие модифицированные нуклеиновые основания нуклеотиды, мостиковые нуклеотиды, пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК), миметики 2',3'-секонуклеотидов (неблокированные аналоги нуклеиновых оснований), блокированные нуклеотиды, 3'-О-метоксинуклеотиды (связанные с 2' межнуклеозидным мостиком), 2'-F-арабинонуклеотиды, 5'-Me,2'-фторнуклеотид, морфолиновые нуклеотиды, содержащие винилфосфонатную группу дезоксирибонуклеотиды, содержащие винилфосфонатную группу нуклеотиды и содержащие циклопропилфосфонатную группу нуклеотиды. Модифицированные в положении 2' нуклеотиды (т. е. нуклеотиды, содержащие в положении 2' 5-членного кольца сахара группу, отличающуюся от гидроксигруппы) включают, но не ограничиваются только ими, 2'-О-метилнуклеотиды (также называемые 2'-метоксинуклеотидами), 2'-фторнуклеотиды (в настоящем изобретении и в данной области техники изобретении также называемые 2'-дезоксид-2'-фторнуклеотидами), 2'-дезоксинуклеотиды, 2'-метоксиэтилнуклеотиды (2'-О-2-метоксиэтилнуклеотиды) (также называемые 2'-МОЕ), 2'-аминонуклеотиды и 2'-алкилнуклеотиды. Отсутствует необходимость того, чтобы определенное соединение было однородно модифицировано во всех положениях. Наоборот, в одно воздействующее на RAGE средство на основе РНКи или даже в один его нуклеотид можно включить более, чем одну модифицирующую группу. Смысловые цепи и антисмысловые цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи можно синтезировать и/или модифицировать по методикам, известным в данной области техники. Модификация одного нуклеотида не зависит от модификации другого нуклеотида.

Модифицированные нуклеиновые основания включают синтетические и природные нуклеиновые основания, такие как 5-замещенные пиримидины, 6-азапиримидины и N-2-, N-6- и O-6-замещенные пурины, (например, 2-аминопропиладенин, 5-пропинилурацил или 5-пропинилцитозин), 5-

метилцитозин (5-me-C), 5-гидроксиметилцитозин, инозин, ксантин, гипоксантин, 2-аминоаденин, 6-алкил- (например, 6-метил-, 6-этил-, 6-изопропил- или 6-н-бутил-) замещенные производные аденина и гуанина, 2-алкил- (например, 2-метил-, 2-этил-, 2-изопропил- или 2-н-бутил-) и другие алкилзамещенные производные аденина и гуанина, 2-тиоурацил, 2-тиотимин, 2-тиоцитозин, 5-галогенурацил, цитозин, 5-пропинилурацил, 5-пропинилцитозин, 6-азоурацил, 6-азоцитозин, 6-азотимин, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тиоурацил, 8-галоген-, 8-амино-, 8-сульфгидрил-, 8-тиоалкил-, 8-гидрокси- и другие 8-замещенные аденины и гуанины, 5-галоген- (например, 5-бром-), 5-трифторметил- и другие 5-замещенные урацилы и цитозины, 7-метилгуанин и 7-метиладенин, 8-азагуанин и 8-азааденин, 7-дезагуанин, 7-дезааденин, 3-дезагуанин и 3-дезааденин.

В некоторых вариантах осуществления 5'- и/или 3'-конец антисмысловой цепи может содержать абазические остатки (Ab), которые также могут называться "абазическим участком" или "абазическим нуклеотидом". Абазический остаток (Ab) представляет собой нуклеотид нуклеозид, в котором отсутствует нуклеиновое основание в положении 1' фрагмента сахара (см, например, патент U.S. № 5998203). В некоторых вариантах осуществления абазический остаток может быть расположен внутри нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления Ab или AbAb может быть присоединен к 3'-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления 5'-конец смысловой цепи может содержать один или большее количество дополнительных абазических остатков (например, (Ab) или (AbAb)). В некоторых вариантах осуществления UUAб, Uаb или Ab присоединены к 3'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления абазический (дезоксирибозный) остаток может быть заменен на рибитный (абазическая рибоза) остаток.

В некоторых вариантах осуществления все или в основном все нуклеотиды средства на основе РНКи являются модифицированными нуклеотидами. При использовании в настоящем изобретении средство на основе РНКи, в котором в основном все содержащиеся нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, представляет собой средство на основе РНКи, содержащее в смысловой цепи и в антисмысловой цепи четыре или меньшее количество (т. е.

0, 1, 2, 3 или 4) нуклеотидов, которые являются рибонуклеотидами (т. е. немодифицированными). При использовании в настоящем изобретении смысловая цепь, в которой в основном все содержащиеся нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, представляет собой смысловую цепь, содержащую два или меньшее количество (т. е. 0, 1 или 2) нуклеотидов, которые являются немодифицированными рибонуклеотидами. При использовании в настоящем изобретении антисмысловая цепь, в которой в основном все содержащиеся нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, представляет собой антисмысловую цепь, содержащую два или меньшее количество (т. е. 0, 1 или 2) нуклеотидов, которые являются немодифицированными рибонуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество нуклеотидов средства на основе РНКи являются немодифицированными рибонуклеотидами. Химические структуры некоторых модифицированных нуклеотидов приведены в представленной в настоящем изобретении таблице 11.

Модифицированные межнуклеозидные мостики

В некоторых вариантах осуществления один или большее количество нуклеотидов воздействующего на RAGE средства на основе РНКи связаны с помощью нестандартных мостиков или каркасных цепей (т. е. с помощью модифицированных межнуклеозидных мостиков или модифицированных каркасных цепей). Модифицированные межнуклеозидные мостики или каркасные цепи включают, но не ограничиваются только ими, фосфоротиоатные группы (в настоящем изобретении обозначены строчной буквой "s"), хиральные фосфоротиоаты, тиофосфаты, фосфородитиоаты, сложные фосфотриэфиры, сложные аминоалкилфосфотриэфиры, алкилфосфонаты (например, метилфосфонаты или 3'-алкиленфосфонаты), хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфорамидаты (например, 3'-аминофосфорамидат, аминоалкилфосфорамидаты или тионофосфорамидаты), тионоалкилфосфонаты, сложные тионоалкилфосфотриэфиры, морфолиновые мостики, боранофосфаты, содержащие обычные мостики 3'-5', 2'-5'-связанные аналоги боранофосфатов или боранофосфаты, обладающие обращенной полярностью, где соседние пары нуклеозидных звеньев связаны следующим образом: 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'. В некоторых вариантах осуществления модифицированный межнуклеозидный

мостик или каркасная цепь не содержит атом фосфора. Модифицированные межнуклеозидные мостики, не содержащие атом фосфора, включают, но не ограничиваются только ими, обладающие короткой цепью алкильные циклоалкильные межсахарные мостики, смешанные содержащие гетероатом и алкил или циклоалкил межсахарные мостики, или один или большее количество обладающих короткой цепью содержащих гетероатом или гетероциклических межсахарных мостиков. В некоторых вариантах осуществления модифицированные межнуклеозидные каркасные цепи включают, но не ограничиваются только ими, силоксановые каркасные цепи, сульфидные каркасные цепи, сульфоксидные каркасные цепи, сульфоновые каркасные цепи, формацетильные и тиоформацетильные каркасные цепи, метиленаформацетильные и -тиоформацетильные каркасные цепи, содержащие алкен каркасные цепи, сульфаматные каркасные цепи, метилениминные и метиленигидразинные каркасные цепи, сульфонатные и сульфонамидные каркасные цепи, амидные каркасные цепи и другие каркасные цепи, содержащие смешанные компоненты N, O, S и CH₂.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных мостиков, антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных мостиков, или смысловая цепь и антисмысловая цепь независимо могут содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных мостиков. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи может содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатных мостика, антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи может содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатных мостика, или смысловая цепь и антисмысловая цепь независимо могут содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатных мостика.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержит по меньшей мере два фосфоротиоатных межнуклеозидных мостика. В некоторых вариантах осуществления фосфоротиоатные межнуклеозидные мостики находятся между нуклеотидами в положениях 1-3, считая с 3'-конца смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления один фосфоротиоатный межнуклеозидный мостик

находится на 5'-конце нуклеотидной последовательности смысловой цепи и другой фосфоротиоатный мостик находится на 3'-конце нуклеотидной последовательности смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления два фосфоротиоатных межнуклеозидных мостика находятся на 5'-конце смысловой цепи и другой фосфоротиоатный мостик находится на 3'-конце смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь не содержит какие-либо фосфоротиоатные межнуклеозидные мостики между нуклеотидами, однако она содержит один, два или три фосфоротиоатных мостика, находящиеся между концевыми нуклеотидами на 5' - и 3' -конце и необязательно содержит обращенные абазические концевые кэппирующие остатки. В некоторых вариантах осуществления направленно действующий лиганд связан со смысловой цепью с помощью фосфоротиоатного мостика.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержит четыре фосфоротиоатных межнуклеозидных мостика. В некоторых вариантах осуществления четыре фосфоротиоатных межнуклеозидных мостика находятся между нуклеотидами в положениях 1-3, считая с 5'-конца антисмысловой цепи, и между нуклеотидами в положениях 19-21, 20-22, 21-23, 22-24, 23-25 или 24-26, считая с 5'-конца. В некоторых вариантах осуществления три фосфоротиоатных межнуклеозидных мостика находятся между положениями 1-4, считая с 5'-конца антисмысловой цепи, и четвертый фосфоротиоатный межнуклеозидный мостик находится между положениями 20-21, считая с 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи содержит в антисмысловой цепи по меньшей мере три или четыре фосфоротиоатных межнуклеозидных мостика.

Кэппирующие остатки или фрагменты

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь может содержать один или большее количество кэппирующих остатков или фрагментов, в данной области техники иногда называемые "кэппирующим фрагментом", "концевым кэппирующим фрагментом" или "кэппирующим остатком". При использовании в настоящем изобретении "кэппирующий остаток" представляет собой не являющееся нуклеотидом соединений или другой фрагмент, который можно присоединить к одному или большему количеству концов нуклеотидной

последовательности средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении. В некоторых случаях кэпирующий остаток может придать средству на основе РНКи некоторые благоприятные характеристики, такие как, например, обеспечение защиты экзонуклеазы от разложения. В некоторых вариантах осуществления в качестве кэпирующих остатков присоединяют 5 обращенные абазические остатки (invAb) (в данной области техники также называемые "обращенными абазическими участками") (см. таблицу 11) (см., например, публикацию F. Czauderna, Nucleic Acids Res., 2003, 31(11), 2705-16). Кэпирующие остатки общеизвестны в данной области техники и они включают, 10 например, обращенные абазические остатки, а также углеродные цепи, такие как концевые группы C₃H₇ (пропил), C₆H₁₃ (гексил) или C₁₂H₂₅ (додецил). В некоторых вариантах осуществления кэпирующий остаток находится на 5'-конце, на 3'-конце или и на 5'-конце, и на 3'-конце смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления на 5'-конце и/или на 3'-конце смысловой цепи может 15 находиться более, чем один обращенный абазический дезоксирибозный фрагмент, использующийся в качестве кэпирующего остатка.

В некоторых вариантах осуществления один или большее количество обращенных абазических остатков (invAb) присоединяют к 3'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество 20 обращенных абазических остатков (invAb) присоединяют к 5'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество обращенных абазических остатков или обращенных абазических участков включают между направленно действующим лигандом и нуклеотидной последовательностью смысловой цепи средства на основе РНКи. В некоторых 25 вариантах осуществления присоединение одного или большего количества обращенных абазических остатков или обращенных абазических участков к концу или концам, или их включение вблизи конца или концов смысловой цепи средства на основе РНКи обеспечивает увеличенную активность или другие благоприятные характеристики средства на основе РНКи.

30 В некоторых вариантах осуществления один или большее количество обращенных абазических остатков (invAb) присоединены к 5'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления один или большее количество обращенных абазических остатков можно включить между направленно

действующим лигандом и нуклеотидной последовательностью смысловой цепи средства на основе на основе РНКи. Обращенные абазические остатки могут быть связаны с помощью фосфатного, фосфоротиоатного мостика (например, в настоящем изобретении обозначено, как (invAb)s)) или с помощью других межнуклеозидных мостиков. В некоторых вариантах осуществления В некоторых вариантах осуществления присоединение одного или большего количества обращенных абазических остатков к концу или концам, или их включение вблизи конца или концов смысловой цепи средства на основе РНКи может обеспечить увеличенную активность или другие благоприятные характеристики средства на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления обращенный абазический (дезоксирибозный) остаток может быть заменен на рибитный (абазическая рибоза) остаток. В некоторых вариантах осуществления на 3'-конце последовательности корового участка антисмысловой цепи или на 3'-конце последовательности антисмысловой цепи может находиться обращенный абазический остаток. Химические структуры обращенных абазических дезоксирибозных остатков приведены в представленной ниже таблице 11.

Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи

Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, предназначены для направленного воздействия в конкретных положениях гена AGER (RAGE) (например, SEQ ID NO:1 (NM_001136.5)). Как определено в настоящем изобретении, последовательность антисмысловой цепи предназначена для направленного воздействия на ген AGER в заданном положении гена, если при спаривании оснований с геном нуклеиновое основание, находящееся на 5'-конце антисмысловой цепи, совпадает с положением, которое находится на 21 нуклеотид дальше (в направлении 3'-конца), чем положение в гене. Так, например, как показано в таблицах 1 и 2, приведенных в настоящем изобретении, в случае последовательности антисмысловой цепи, предназначенной для направленного воздействия на ген в положении 177, необходимо, чтобы при спаривании оснований с геном нуклеиновое основание, находящееся на 5'-конце антисмысловой цепи, совпадало с положением 197 гена AGER.

Как описано в настоящем изобретении, отсутствует необходимость того, чтобы в воздействующем на RAGE средстве на основе РНКи нуклеиновое основание, содержащееся в положении 1 (5' → 3') антисмысловой цепи, являлось комплементарным гену, при условии, что содержащие не менее 16 смежных нуклеотидов последовательности коровых участков антисмысловой цепи и гена комплементарны по меньшей мере на 85% (например, комплементарны по меньшей мере на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%). Так, например, в случае воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, которое предназначено для направленного воздействия в положении 177 гена AGER, необходимо, чтобы нуклеиновое основание, находящееся на 5'-конце антисмысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, совпадало с положением 197 гена; однако нуклеиновое основание, находящееся на 5'-конце антисмысловой цепи, может являться комплементарным положению 197 гена AGER, но это не является необходимым, при условии, что содержащие не менее 16 смежных нуклеотидов последовательности коровых участков антисмысловой цепи и гена комплементарны по меньшей мере на 85% (например, комплементарны по меньшей мере на 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100%). Как показано, в частности, в различных примерах, раскрытых в настоящем изобретении, конкретный участок связывания гена с помощью антисмысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи (например, если воздействующее на RAGE средство на основе РНКи предназначено для воздействия на AGER в положении 177, в положении 90, в положении 330 или в каком-либо другом положении) является важным фактором, влияющим на степень ингибирования, обеспечиваемую воздействующим на RAGE средством на основе РНКи (см, например, публикацию Kamola et al., *The siRNA Non-seed Region and Its Target Sequences are Auxiliary Determinants of Off-Target Effects*, PLOS Computational Biology, 11(12), Figure 1 (2015)).

В некоторых вариантах осуществления воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, направленно действуют на ген AGER в положениях последовательности гена AGER, указанных в таблице 1, или вблизи них. В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи,

раскрытое в настоящем изобретении, содержит последовательность корового участка, которая полностью, в основном или по меньшей мере частично комплементарна целевой 19-мерной последовательности RAGE раскрытой в таблице 1.

5 Таблица 1. Целевые 19-мерные последовательности мРНК AGER (RAGE) (полученные из рецептора, специфичного для конечного продукта гликозилирования человека (AGER), вариант транскрипта: 1, GenBank NM_001136.5 (SEQ ID NO:1))

SEQ ID No.	Целевая последовательность 19-мерного AGER (RAGE) (5' → 3')	Соответствующие положения последовательности в SEQ ID NO: 1	Целевое положение в гене (в соответствии с настоящим изобретением)
22	GAAUGGAAACUGAACACAG	179-197	177
23	GUAGGUGCUCAAAACAUCA	92-110	90
24	GCAAUGAACAGGAAUGGAA	332-350	330
25	AAUGGAAACUGAACACAGG	180-198	178
26	CAGAUUCCUGGGAAGCCAG	386-404	384
27	CUGGGAAGCCAGAAAUUGU	393-411	391
28	CACUGGUGCUGAAGUGUAA	129-147	127
29	GACAGAAGCUUGGAAGGUC	202-220	200
30	GGAUGAGGGGAUUUCCGG	307-325	305
31	AUUCUGGGGAAGCCAGAAA	389-407	387
32	AUUCUGCCUCUGAACUCAC	414-432	412
33	CCUGCAGGGACUCUUAGC	481-499	479
34	CCUGCAGGGACUCUUAGCU	482-500	480
35	CCACCUUCUCCUGUAGCUU	642-660	640
36	CUUCUCCUGUAGCUUCAGC	646-664	644
37	UGCUGGUCCUCAGUCUGUG	63-81	61
38	GCUGGUCCUCAGUCUGUGG	64-82	62
39	UCCGUGUCUACCAGAUUCC	375-393	373
40	CGUGUCUACCAGAUUCCUG	377-395	375
41	CACCUUCUCCUGUAGCUUC	643-661	641
42	CCUCAAAUCCACUGGAUGA	830-848	828
43	UAGAUUCUGCCUCUGAACU	411-429	409
44	GAUUCUGCCUCUGAACUCA	413-431	411
45	CUGGUGUUCCTCAAUAAGGU	435-453	433
46	GGUGUUCCTCAAUAAGGUGG	437-455	435
47	UUAGCUGGCACUUGGAUGG	495-513	493
48	UAAUGAGAAGGGAGUAUCU	529-547	527
49	GAGAAGGGAGUAUCUGUGA	533-551	531
50	GCAUCAGCAUCAUCGAACC	981-999	979
51	UGAACAGGAAUGGAAAGGA	336-354	334
52	CUACCGAGUCCGUGUCUAC	367-385	365
53	UGGGAAGCCAGAAAUUGUA	394-412	392
54	CCUAAUGAGAAGGGAGUAU	527-545	525

Рецептор, специфичный для конечного продукта гликозилирования человека (AGER), вариант транскрипта: 1, GenBank NM_001136.5 (SEQ ID NO:1)), транскрипт гена (1420 оснований):

1 agacagagcc aggaccctgg aaggaagcag gatggctgcc ggaacagcag ttggagcctg
5 61 ggtgctggtc ctcaagtctgt ggggggcagt agtaggtgct caaaacatca cagcccggat
121 tggcgagcca ctggtgctga agtgaaggg ggcccccaag aaaccacccc agcggctgga
181 atggaactg aacacaggcc ggacagaagc ttggaaggtc ctgtctccc agggaggagg
241 ccctgggac agtgtggctc gtgtcctcc caacggctcc ctctccttc cggctgtcgg
301 gatccaggat gaggggattt tccggtgccca ggcaatgaac aggaatggaa aggagaccaa
10 361 gtccaactac cgagtccgtg tctaccagat tctggggaag ccagaaattg tagattctgc
421 ctctgaactc accgctgggt ttccaataa ggtggggaca tgtgtgtcag agggaagcta
481 ccctgcaggg actcttagct ggcacttggg tgggaagccc ctggtgccta atgagaaggg
541 agtatctgtg aaggaacaga ccaggagaca ccctgagaca gggctcttca cactgcagtc
601 ggagctaatt gtgaccccag cccggggagg agatccccgt cccaccttct cctgtagctt
15 661 cagcccaggc cttccccgac accgggcctt gcgcacagcc cccatccagc cccgtgtctg
721 ggagcctgtg cctctggagg aggtccaatt ggtggtggag ccagaagggt gagcagtagc
781 tctggtgga accgtaacc tgacctgtga agtccctgcc cagccctctc ctcaaatca
841 ctggatgaag gatggtgtgc cttgcccct tccccagc cctgtgctga tctcctga
901 gataggcct caggaccagg gaacctacag ctgtgtggcc accattcca gccacgggccc
20 961 ccaggaaagc cgtgctgtca gcatcagcat catcgaacca ggcgaggagg ggccaactgc
1021 aggctctgtg ggaggatcag ggctgggaac tctagccctg gccctgggga tctggggagg
1081 cctggggaca gccgccctgc tcattgggt catcttgtgg caaaggcggc aacgccgagg
1141 agaggagagg aaggccccag aaaaccagga ggaagaggag gagcgtgcag aactgaatca
1201 gtcggaggaa cctgaggcag gcgagagtag tactggaggg cctgagggg cccacagaca
25 1261 gatccatcc atcagctccc tttctttt ccttgaact gttctggcct cagaccaact
1321 ctctctgta taatctct cctgtataac cccacctgc caagcttct tctacaacca
1381 gagccccca saatgatgat taaacacctg acacatctg

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство
на основе РНКи включает антисмысловую цепь, где основание, находящееся в
30 положении 19 антисмысловой цепи (5' → 3'), может образовывать пару
оснований с основанием, находящимся в положении 1 целевой 19-мерной
последовательности, раскрытой в таблице 1. В некоторых вариантах
осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает

антисмысловую цепь, где основание, находящееся в положении 1 антисмысловой цепи ($5' \rightarrow 3'$), может образовывать пару оснований с основанием, находящимся в положении 19 целевой 19-мерной последовательности, раскрытой в таблице 1.

5 В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает антисмысловую цепь, где основание, находящееся в положении 2 антисмысловой цепи ($5' \rightarrow 3'$), может образовывать пару оснований с основанием, находящимся в положении 18 целевой 19-мерной последовательности, раскрытой в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает

10 антисмысловую цепь, где основания, находящиеся в положениях 2 - 18 антисмысловой цепи ($5' \rightarrow 3'$), могут образовывать пары оснований с каждым из соответствующих комплементарных оснований, находящихся в положениях 18 - 2 целевой 19-мерной последовательности, раскрытой в таблице 1.

15 В средствах на основе РНКи, раскрытых в настоящем изобретении, нуклеотид, находящийся в положении 1 антисмысловой цепи (в направлении $5'$ -конец \rightarrow $3'$ -конец), может являться совершенно комплементарным гену AGER или он может являться некомплементарным гену AGER. В некоторых вариантах осуществления нуклеотидом, находящимся в положении 1 антисмысловой цепи

20 (в направлении $5'$ -конец \rightarrow $3'$ -конец), является U, A или dT. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид, находящийся в положении 1 антисмысловой цепи (в направлении $5'$ -конец \rightarrow $3'$ -конец), образует пару оснований A:U или U:A со смысловой цепью.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь

25 воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержит последовательность нуклеотидов (в направлении $5'$ -конец \rightarrow $3'$ -конец) 2-18 или 2-19, содержащихся в любой из последовательностей антисмысловых цепей, указанных в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержит

30 последовательность нуклеотидов (в направлении $5'$ -конец \rightarrow $3'$ -конец) 1-17, 1-18 или 2-18, содержащихся в любой из последовательностей смысловых цепей, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5 или таблице 6.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи состоит из (i) антисмысловой цепи, содержащей последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-конец → 3'-конец) 2-18 или 2-19, содержащихся в любой из последовательностей антисмысловых цепей, указанных в таблице 2 или таблице 3, и (ii) смысловой цепи, содержащей последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-конец → 3'-конец) 1-17 или 1-18, содержащихся в любой из последовательностей смысловых цепей, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5 или таблице 6.

В некоторых вариантах осуществления воздействующие на RAGE средства на основе РНКи включает коровые 19-мерные нуклеотидные последовательности, приведенные в представленной ниже таблице 2.

Таблица 2. Последовательности оснований коровых участков антисмысловой цепи и смысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи (N = любое нуклеиновое основание; I = нуклеиновое основание - инозин (гипоксантин))

SEQ ID NO:.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO:.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности в SEQ ID NO: 1	Целевое положение в гене
55	UUGUGUUCAGUUUCCAUUC	298	GAAUGGAAACUGAACACAA	179-197	177
56	AUGUGUUCAGUUUCCAUUC	299	GAAUGGAAACUGAACACAU	179-197	177
57	CUGUGUUCAGUUUCCAUUC	300	GAAUGGAAACUGAACACAG	179-197	177
58	NUGUGUUCAGUUUCCAUUC	301	GAAUGGAAACUGAACACAN	179-197	177
59	NUGUGUUCAGUUUCCAUN	302	NAAUGGAAACUGAACACAN	179-197	177
60	UUGUGUUCAGUUUCCAUUC	303	GAAUGGAAACUIAACACAA	179-197	177
61	AUGUGUUCAGUUUCCAUUC	304	GAAUGGAAACUIAACACAU	179-197	177
62	CUGUGUUCAGUUUCCAUUC	305	GAAUGGAAACUIAACACAG	179-197	177
63	NUGUGUUCAGUUUCCAUUC	306	GAAUGGAAACUIAACACAN	179-197	177
64	NUGUGUUCAGUUUCCAUN	307	NAAUGGAAACUIAACACAN	179-197	177
65	UGAUGUUUUGAGCACCUAC	308	GUAGGUGCUCAAAACAUCA	92-110	90
66	AGAUGUUUUGAGCACCUAC	309	GUAGGUGCUCAAAACAUCU	92-110	90
67	NGAUGUUUUGAGCACCUAC	310	GUAGGUGCUCAAAACAUCN	92-110	90
68	NGAUGUUUUGAGCACCUAN	311	NUAGGUGCUCAAAACAUCN	92-110	90
69	UCCAUCCUGUUCAUUGC	312	GCAAUGAACAGGAAUGGAA	332-350	330
70	ACCAUCCUGUUCAUUGC	313	GCAAUGAACAGGAAUGGAU	332-350	330
71	NUCCAUCCUGUUCAUUGC	314	GCAAUGAACAGGAAUGGAN	332-350	330
72	NUCCAUCCUGUUCAUUGN	315	NCAAUGAACAGGAAUGGAN	332-350	330
73	UCCAUCCUGUUCAUUGC	316	GCAAUGAACAGGAAUIGAA	332-350	330
74	ACCAUCCUGUUCAUUGC	317	GCAAUGAACAGGAAUIGAU	332-350	330
75	NUCCAUCCUGUUCAUUGC	318	GCAAUGAACAGGAAUIGAN	332-350	330
76	NUCCAUCCUGUUCAUUGN	319	NCAAUGAACAGGAAUIGAN	332-350	330
77	UCUGUGUUCAGUUUCCAUI	320	AAUGGAAACUGAACACAGA	180-198	178
78	ACUGUGUUCAGUUUCCAUI	321	AAUGGAAACUGAACACAGU	180-198	178
79	CCUGUGUUCAGUUUCCAUI	322	AAUGGAAACUGAACACAGG	180-198	178
80	NCUGUGUUCAGUUUCCAUI	323	AAUGGAAACUGAACACAGN	180-198	178
81	NCUGUGUUCAGUUUCCAUN	324	NAUGGAAACUGAACACAGN	180-198	178
82	UCUGUGUUCAGUUUCCAUI	325	AAUGGAAACUGAACACAIA	180-198	178

SEQ ID NO:.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO:.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности в SEQ ID NO: 1	Целевое положение в гене
83	ACUGUGUUCAGUUUCCAUIU	326	AAUGGAAACUGAACACAIU	180-198	178
84	CCUGUGUUCAGUUUCCAUIU	327	AAUGGAAACUGAACACAIG	180-198	178
85	NCUGUGUUCAGUUUCCAUIU	328	AAUGGAAACUGAACACAIN	180-198	178
86	NCUGUGUUCAGUUUCCAUN	329	NAUGGAAACUGAACACAIN	180-198	178
87	UUGGCUUCCCAGGAAUCUG	330	CAGAUUCCUGGGAAGCCAA	386-404	384
88	AUGGCUUCCCAGGAAUCUG	331	CAGAUUCCUGGGAAGCCAU	386-404	384
89	CUGGCUUCCCAGGAAUCUG	332	CAGAUUCCUGGGAAGCCAG	386-404	384
90	NUGGCUUCCCAGGAAUCUG	333	CAGAUUCCUGGGAAGCCAN	386-404	384
91	NUGGCUUCCCAGGAAUCUN	334	NAGAUUCCUGGGAAGCCAN	386-404	384
92	UUGGCUUCCCAGGAAUCUG	335	CAGAUUCCUGGGAICCAA	386-404	384
93	AUGGCUUCCCAGGAAUCUG	336	CAGAUUCCUGGGAICCAU	386-404	384
94	CUGGCUUCCCAGGAAUCUG	337	CAGAUUCCUGGGAICCCAG	386-404	384
95	NUGGCUUCCCAGGAAUCUG	338	CAGAUUCCUGGGAICCCAN	386-404	384
96	NUGGCUUCCCAGGAAUCUN	339	NAGAUUCCUGGGAICCCAN	386-404	384
97	ACAAUUUCUGGCUUCCCAG	340	CUGGGAAGCCAGAAAUUGU	393-411	391
98	UCAAUUUCUGGCUUCCCAG	341	CUGGGAAGCCAGAAAUUGA	393-411	391
99	NCAAUUUCUGGCUUCCCAG	342	CUGGGAAGCCAGAAAUUGN	393-411	391
100	NCAAUUUCUGGCUUCCCAN	343	NUGGGAAGCCAGAAAUUGN	393-411	391
101	UUACACUUCAGCACCAGUG	344	CACUGGUGCUGAAGUGUAA	129-147	127
102	AUACACUUCAGCACCAGUG	345	CACUGGUGCUGAAGUGUAU	129-147	127
103	NUACACUUCAGCACCAGUG	346	CACUGGUGCUGAAGUGUAN	129-147	127
104	NUACACUUCAGCACCAGUN	347	NACUGGUGCUGAAGUGUAN	129-147	127
105	UACCUUCCAAGCUUCUGUC	348	GACAGAAGCUUGGAAGGUA	202-220	200
106	GACCUUCCAAGCUUCUGUC	349	GACAGAAGCUUGGAAGGUC	202-220	200
107	AACCUUCCAAGCUUCUGUC	350	GACAGAAGCUUGGAAGGUU	202-220	200
108	NACCUUCCAAGCUUCUGUC	351	GACAGAAGCUUGGAAGGUN	202-220	200
109	NACCUUCCAAGCUUCUGUN	352	NACAGAAGCUUGGAAGGUN	202-220	200
110	UACCUUCCAAGCUUCUGUC	353	GACAGAAGCUUGGAAGIUA	202-220	200
111	GACCUUCCAAGCUUCUGUC	354	GACAGAAGCUUGGAAGIUC	202-220	200
112	AACCUUCCAAGCUUCUGUC	355	GACAGAAGCUUGGAAGIUU	202-220	200
113	NACCUUCCAAGCUUCUGUC	356	GACAGAAGCUUGGAAGIUN	202-220	200

SEQ ID NO:.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO:.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности в SEQ ID NO: 1	Целевое положение в гене
114	NACCUUCCAAGCUUCUGUN	357	NACAGAAGCUUGGAAGIUN	202-220	200
115	UCGGAAAAUCCCCUCAUCC	358	GGAUGAGGGGAUUUCCGA	307-325	305
116	CCGGAAAAUCCCCUCAUCC	359	GGAUGAGGGGAUUUCCGG	307-325	305
117	ACGGAAAAUCCCCUCAUCC	360	GGAUGAGGGGAUUUCCGU	307-325	305
118	NCGGAAAAUCCCCUCAUCC	361	GGAUGAGGGGAUUUCCGN	307-325	305
119	NCGGAAAAUCCCCUCAUCN	362	NGAUGAGGGGAUUUCCGN	307-325	305
120	UCGGAAAAUCCCCUCAUCC	363	GGAUGAGGGGAUUUCCIA	307-325	305
121	CCGGAAAAUCCCCUCAUCC	364	GGAUGAGGGGAUUUCCIG	307-325	305
122	ACGGAAAAUCCCCUCAUCC	365	GGAUGAGGGGAUUUCCIU	307-325	305
123	NCGGAAAAUCCCCUCAUCC	366	GGAUGAGGGGAUUUCCIN	307-325	305
124	NCGGAAAAUCCCCUCAUCN	367	NGAUGAGGGGAUUUCCIN	307-325	305
125	UUUCUGGCUUCCCAGGAAU	368	AUUCUGGGGAAGCUAGAAA	389-407	387
126	AUUCUGGCUUCCCAGGAAU	369	AUUCUGGGGAAGCUAGAAU	389-407	387
127	NUUCUGGCUUCCCAGGAAU	370	AUUCUGGGGAAGCUAGAAN	389-407	387
128	NUUCUGGCUUCCCAGGAAU	371	NUUCUGGGGAAGCUAGAAN	389-407	387
129	UUGAGUUCAGAGGCAGAAU	372	AUUCUGCCUCUGAACUCAC	414-432	412
130	GUGAGUUCAGAGGCAGAAU	373	AUUCUGCCUCUGAACUCAC	414-432	412
131	AUGAGUUCAGAGGCAGAAU	374	AUUCUGCCUCUGAACUCAU	414-432	412
132	NUGAGUUCAGAGGCAGAAU	375	AUUCUGCCUCUGAACUCAN	414-432	412
133	NUGAGUUCAGAGGCAGAAU	376	NUUCUGCCUCUGAACUCAN	414-432	412
134	UCUAAGAGUCCCUGCAGGG	377	CCCUGCAGGGACUCUUAGA	481-499	479
135	ACUAAGAGUCCCUGCAGGG	378	CCCUGCAGGGACUCUUAGU	481-499	479
136	GCUAAGAGUCCCUGCAGGG	379	CCCUGCAGGGACUCUUAGC	481-499	479
137	NCUAAGAGUCCCUGCAGGG	380	CCCUGCAGGGACUCUUAGN	481-499	479
138	NCUAAGAGUCCCUGCAGGN	381	NCCUGCAGGGACUCUUAGN	481-499	479
139	AGCUAAGAGUCCCUGCAGG	382	CCUGCAGGGACUCUUAGCU	482-500	480
140	UGCUAAGAGUCCCUGCAGG	383	CCUGCAGGGACUCUUAGCA	482-500	480
141	NGCUAAGAGUCCCUGCAGG	384	CCUGCAGGGACUCUUAGCN	482-500	480
142	NGCUAAGAGUCCCUGCAGN	385	NCUGCAGGGACUCUUAGCN	482-500	480
143	AGCUAAGAGUCCCUGCAGG	386	CCUGCAGGGACUCUUAICU	482-500	480
144	UGCUAAGAGUCCCUGCAGG	387	CCUGCAGGGACUCUUAICA	482-500	480

SEQ ID NO:.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO:.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности в SEQ ID NO: 1	Целевое положение в гене
145	NGCUAAGAGUCCCUGCAGG	388	CCUGCAGGGACUCUUAICN	482-500	480
146	NGCUAAGAGUCCCUGCAGN	389	NCUGCAGGGACUCUUAICN	482-500	480
147	AAGCUACAGGAGAAGGUGG	390	CCACCUUCUCCUGUAGCUU	642-660	640
148	UAGCUACAGGAGAAGGUGG	391	CCACCUUCUCCUGUAGCUA	642-660	640
149	NAGCUACAGGAGAAGGUGG	392	CCACCUUCUCCUGUAGCUN	642-660	640
150	NAGCUACAGGAGAAGGUGN	393	NCACCUUCUCCUGUAGCUN	642-660	640
151	AAGCUACAGGAGAAGGUGG	394	CCACCUUCUCCUGUAICUU	642-660	640
152	UAGCUACAGGAGAAGGUGG	395	CCACCUUCUCCUGUAICUA	642-660	640
153	NAGCUACAGGAGAAGGUGG	396	CCACCUUCUCCUGUAICUN	642-660	640
154	NAGCUACAGGAGAAGGUGN	397	NCACCUUCUCCUGUAICUN	642-660	640
155	UCUGAAGCUACAGGAGAAG	398	CUUCUCCUGUAGCUUCAGA	646-664	644
156	ACUGAAGCUACAGGAGAAG	399	CUUCUCCUGUAGCUUCAGU	646-664	644
157	GCUGAAGCUACAGGAGAAG	400	CUUCUCCUGUAGCUUCAGC	646-664	644
158	NCUGAAGCUACAGGAGAAG	401	CUUCUCCUGUAGCUUCAGN	646-664	644
159	NCUGAAGCUACAGGAGAAN	402	NUUCUCCUGUAGCUUCAGN	646-664	644
160	UCUGAAGCUACAGGAGAAG	403	CUUCUCCUGUAGCUUCAIA	646-664	644
161	ACUGAAGCUACAGGAGAAG	404	CUUCUCCUGUAGCUUCAIU	646-664	644
162	GCUGAAGCUACAGGAGAAG	405	CUUCUCCUGUAGCUUCAIC	646-664	644
163	NCUGAAGCUACAGGAGAAG	406	CUUCUCCUGUAGCUUCAIN	646-664	644
164	NCUGAAGCUACAGGAGAAN	407	NUUCUCCUGUAGCUUCAIN	646-664	644
165	UACAGACUGAGGACCAGCA	408	UGCUGGUCCUCAGUCUGUA	63-81	61
166	AACAGACUGAGGACCAGCA	409	UGCUGGUCCUCAGUCUGUU	63-81	61
167	CACAGACUGAGGACCAGCA	410	UGCUGGUCCUCAGUCUGUG	63-81	61
168	NACAGACUGAGGACCAGCA	411	UGCUGGUCCUCAGUCUGUN	63-81	61
169	NACAGACUGAGGACCAGCN	412	UGCUGGUCCUCAGUCUGUN	63-81	61
170	UACAGACUGAGGACCAGCA	413	UGCUGGUCCUCAGUCUIUA	63-81	61
171	AACAGACUGAGGACCAGCA	414	UGCUGGUCCUCAGUCUIUU	63-81	61
172	CACAGACUGAGGACCAGCA	415	UGCUGGUCCUCAGUCUIUG	63-81	61
173	NACAGACUGAGGACCAGCA	416	UGCUGGUCCUCAGUCUIUN	63-81	61
174	NACAGACUGAGGACCAGCN	417	UGCUGGUCCUCAGUCUIUN	63-81	61
175	UCACAGACUGAGGACCAGC	418	GCUGGUCCUCAGUCUGUGA	64-82	62

SEQ ID NO:.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO:.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности в SEQ ID NO: 1	Целевое положение в гене
176	ACACAGACUGAGGACCAGC	419	GCUGGUCCUCAGUCUGUGU	64-82	62
177	NCACAGACUGAGGACCAGC	420	GCUGGUCCUCAGUCUGUGN	64-82	62
178	NCACAGACUGAGGACCAGN	421	NCUGGUCCUCAGUCUGUGN	64-82	62
179	UCACAGACUGAGGACCAGC	422	GCUGGUCCUCAGUCUGUIA	64-82	62
180	ACACAGACUGAGGACCAGC	423	GCUGGUCCUCAGUCUGUIU	64-82	62
181	NCACAGACUGAGGACCAGC	424	GCUGGUCCUCAGUCUGUIN	64-82	62
182	NCACAGACUGAGGACCAGN	425	NCUGGUCCUCAGUCUGUIN	64-82	62
183	UCACAGACUGAGGACCAGC	426	GCUGGUCCUCAGUCUIUGA	64-82	62
184	ACACAGACUGAGGACCAGC	427	GCUGGUCCUCAGUCUIUGU	64-82	62
185	NCACAGACUGAGGACCAGC	428	GCUGGUCCUCAGUCUIUGN	64-82	62
186	NCACAGACUGAGGACCAGN	429	NCUGGUCCUCAGUCUIUGN	64-82	62
187	UGAAUCUGGUAGACACGGA	430	UCCGUGUCUACCAGAUUCA	375-393	373
188	AGAAUCUGGUAGACACGGA	431	UCCGUGUCUACCAGAUUCU	375-393	373
189	GGAAUCUGGUAGACACGGA	432	UCCGUGUCUACCAGAUUCC	375-393	373
190	NGAAUCUGGUAGACACGGA	433	UCCGUGUCUACCAGAUUCN	375-393	373
191	NGAAUCUGGUAGACACGGN	434	NCCGUGUCUACCAGAUUCN	375-393	373
192	UGAAUCUGGUAGACACGGA	435	UCCGUGUCUACCAIAUUCA	375-393	373
193	AGAAUCUGGUAGACACGGA	436	UCCGUGUCUACCAIAUUCU	375-393	373
194	GGAAUCUGGUAGACACGGA	437	UCCGUGUCUACCAIAUUCC	375-393	373
195	NGAAUCUGGUAGACACGGA	438	UCCGUGUCUACCAIAUUCN	375-393	373
196	NGAAUCUGGUAGACACGGN	439	NCCGUGUCUACCAIAUUCN	375-393	373
197	UAGGAAUCUGGUAGACACG	440	CGUGUCUACCAGAUUCCUA	377-395	375
198	AAGGAAUCUGGUAGACACG	441	CGUGUCUACCAGAUUCCUU	377-395	375
199	CAGGAAUCUGGUAGACACG	442	CGUGUCUACCAGAUUCCUG	377-395	375
200	NAGGAAUCUGGUAGACACG	443	CGUGUCUACCAGAUUCCUN	377-395	375
201	NAGGAAUCUGGUAGACACN	444	NGUGUCUACCAGAUUCCUN	377-395	375
202	UAAGCUACAGGAGAAGGUG	445	CACCUUCUCCUGUAGCUUA	643-661	641
203	AAAGCUACAGGAGAAGGUG	446	CACCUUCUCCUGUAGCUUU	643-661	641
204	GAAGCUACAGGAGAAGGUG	447	CACCUUCUCCUGUAGCUUC	643-661	641
205	NAAGCUACAGGAGAAGGUG	448	CACCUUCUCCUGUAGCUUN	643-661	641
206	NAAGCUACAGGAGAAGGUN	449	NACCUUCUCCUGUAGCUUN	643-661	641

SEQ ID NO:.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO:.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности в SEQ ID NO: 1	Целевое положение в гене
207	UAAGCUACAGGAGAAGGUG	450	CACCUUCUCCUGUAICUUA	643-661	641
208	AAAGCUACAGGAGAAGGUG	451	CACCUUCUCCUGUAICUUU	643-661	641
209	GAAGCUACAGGAGAAGGUG	452	CACCUUCUCCUGUAICUUC	643-661	641
210	NAAGCUACAGGAGAAGGUG	453	CACCUUCUCCUGUAICUUN	643-661	641
211	NAAGCUACAGGAGAAGGUN	454	NACCUUCUCCUGUAICUUN	643-661	641
212	UCAUCCAGUGGAUUUGAGG	455	CCUCAAAUCCACUGGAUGA	830-848	828
213	ACAUCCAGUGGAUUUGAGG	456	CCUCAAAUCCACUGGAUGU	830-848	828
214	NCAUCCAGUGGAUUUGAGG	457	CCUCAAAUCCACUGGAUGN	830-848	828
215	NCAUCCAGUGGAUUUGAGN	458	NCUCAAAUCCACUGGAUGN	830-848	828
216	UCAUCCAGUGGAUUUGAGG	459	CCUCAAAUCCACUIGAUGA	830-848	828
217	ACAUCCAGUGGAUUUGAGG	460	CCUCAAAUCCACUIGAUGU	830-848	828
218	NCAUCCAGUGGAUUUGAGG	461	CCUCAAAUCCACUIGAUGN	830-848	828
219	NCAUCCAGUGGAUUUGAGN	462	NCUCAAAUCCACUIGAUGN	830-848	828
220	AGUUCAGAGGCAGAAUCUA	463	UAGAUUCUGCCUCUGAACU	411-429	409
221	UGUUCAGAGGCAGAAUCUA	464	UAGAUUCUGCCUCUGAACA	411-429	409
222	NGUUCAGAGGCAGAAUCUA	465	UAGAUUCUGCCUCUGAACN	411-429	409
223	NGUUCAGAGGCAGAAUCUN	466	NAGAUUCUGCCUCUGAACN	411-429	409
224	AGUUCAGAGGCAGAAUCUA	467	UAGAUUCUGCCUCUIAACU	411-429	409
225	UGUUCAGAGGCAGAAUCUA	468	UAGAUUCUGCCUCUIAACA	411-429	409
226	NGUUCAGAGGCAGAAUCUA	469	UAGAUUCUGCCUCUIAACN	411-429	409
227	NGUUCAGAGGCAGAAUCUN	470	NAGAUUCUGCCUCUIAACN	411-429	409
228	UGAGUUCAGAGGCAGAAUC	471	GAUUCUGCCUCUGAACUCA	413-431	411
229	AGAGUUCAGAGGCAGAAUC	472	GAUUCUGCCUCUGAACUCU	413-431	411
230	NGAGUUCAGAGGCAGAAUN	473	GAUUCUGCCUCUGAACUCN	413-431	411
231	NGAGUUCAGAGGCAGAAUN	474	NAUUCUGCCUCUGAACUCN	413-431	411
232	ACCUUAUUGGGAACACCAG	475	CUGGUGUUCCCAAUAAGGU	435-453	433
233	UCCUUAUUGGGAACACCAG	476	CUGGUGUUCCCAAUAAGGA	435-453	433
234	NCCUUAUUGGGAACACCAG	477	CUGGUGUUCCCAAUAAGGN	435-453	433
235	NCCUUAUUGGGAACACCAN	478	NUGGUGUUCCCAAUAAGGN	435-453	433
236	UCACCUUAUUGGGAACACC	479	GGUGUUCCCAAUAAGGUGA	437-455	435
237	ACACCUUAUUGGGAACACC	480	GGUGUUCCCAAUAAGGUGU	437-455	435

SEQ ID NO:.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO:.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности в SEQ ID NO: 1	Целевое положение в гене
238	CCACCUUAUUGGGAACACC	481	GGUGUUCCCAAUAAGGUGG	437-455	435
239	NCACCUUAUUGGGAACACC	482	GGUGUUCCCAAUAAGGUGN	437-455	435
240	NCACCUUAUUGGGAACACN	483	NGUGUUCCCAAUAAGGUGN	437-455	435
241	UCACCUUAUUGGGAACACC	484	GGUGUUCCCAAUAAGGUGA	437-455	435
242	ACACCUUAUUGGGAACACC	485	GGUGUUCCCAAUAAGGUGU	437-455	435
243	CCACCUUAUUGGGAACACC	486	GGUGUUCCCAAUAAGGUGG	437-455	435
244	NCACCUUAUUGGGAACACC	487	GGUGUUCCCAAUAAGGUGN	437-455	435
245	NCACCUUAUUGGGAACACN	488	NGUGUUCCCAAUAAGGUGN	437-455	435
246	UCAUCCAAGUGCCAGCUAA	489	UUAGCUGGCACUUGGAUGA	495-513	493
247	ACAUCCAAGUGCCAGCUAA	490	UUAGCUGGCACUUGGAUGU	495-513	493
248	CCAUCCAAGUGCCAGCUAA	491	UUAGCUGGCACUUGGAUGG	495-513	493
249	NCAUCCAAGUGCCAGCUAA	492	UUAGCUGGCACUUGGAUGN	495-513	493
250	NCAUCCAAGUGCCAGCUAN	493	NUAGCUGGCACUUGGAUGN	495-513	493
251	UCAUCCAAGUGCCAGCUAA	494	UUAGCUGGCACUUGGAUGA	495-513	493
252	ACAUCCAAGUGCCAGCUAA	495	UUAGCUGGCACUUGGAUGU	495-513	493
253	CCAUCCAAGUGCCAGCUAA	496	UUAGCUGGCACUUGGAUGG	495-513	493
254	NCAUCCAAGUGCCAGCUAA	497	UUAGCUGGCACUUGGAUGN	495-513	493
255	NCAUCCAAGUGCCAGCUAN	498	NUAGCUGGCACUUGGAUGN	495-513	493
256	AGAUACUCCCUUCUCAUUA	499	UAAUGAGAAGGGAGUAUCU	529-547	527
257	UGAUACUCCCUUCUCAUUA	500	UAAUGAGAAGGGAGUAUCA	529-547	527
258	NGAUACUCCCUUCUCAUUA	501	UAAUGAGAAGGGAGUAUCN	529-547	527
259	NGAUACUCCCUUCUCAUUN	502	NAAUGAGAAGGGAGUAUCN	529-547	527
260	AGAUACUCCCUUCUCAUUA	503	UAAUGAGAAGGGAGUAUCU	529-547	527
261	UGAUACUCCCUUCUCAUUA	504	UAAUGAGAAGGGAGUAUCA	529-547	527
262	NGAUACUCCCUUCUCAUUA	505	UAAUGAGAAGGGAGUAUCN	529-547	527
263	NGAUACUCCCUUCUCAUUN	506	NAAUGAGAAGGGAGUAUCN	529-547	527
264	UCACAGAUACUCCCUUCUC	507	GAGAAGGGAGUAUCUGUGA	533-551	531
265	ACACAGAUACUCCCUUCUC	508	GAGAAGGGAGUAUCUGUGU	533-551	531
266	NCACAGAUACUCCCUUCUC	509	GAGAAGGGAGUAUCUGUGN	533-551	531
267	NCACAGAUACUCCCUUCUN	510	NAGAAGGGAGUAUCUGUGN	533-551	531
268	UCACAGAUACUCCCUUCUC	511	GAGAAGGGAGUAUCUUGA	533-551	531

SEQ ID NO:.	Последовательность оснований антисмысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO:.	Последовательность оснований смысловой цепи (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	Соответствующие положения идентифицированной последовательности в SEQ ID NO: 1	Целевое положение в гене
269	ACACAGAUACUCCCUUCUC	512	GAGAAGGGAGUAUCUIUGU	533-551	531
270	NCACAGAUACUCCCUUCUC	513	GAGAAGGGAGUAUCUIUGN	533-551	531
271	NCACAGAUACUCCCUUCUN	514	NAGAAGGGAGUAUCUIUGN	533-551	531
272	UGUUCGAUGAUGCUGAUGC	515	GCAUCAGCAUCAUCGAACA	981-999	979
273	AGUUCGAUGAUGCUGAUGC	516	GCAUCAGCAUCAUCGAACU	981-999	979
274	GGUUCGAUGAUGCUGAUGC	517	GCAUCAGCAUCAUCGAACC	981-999	979
275	NGUUCGAUGAUGCUGAUGC	518	GCAUCAGCAUCAUCGAACN	981-999	979
276	NGUUCGAUGAUGCUGAUGN	519	NCAUCAGCAUCAUCGAACN	981-999	979
277	UGUUCGAUGAUGCUGAUGC	520	GCAUCAGCAUCAUCIAACA	981-999	979
278	AGUUCGAUGAUGCUGAUGC	521	GCAUCAGCAUCAUCIAACU	981-999	979
279	GGUUCGAUGAUGCUGAUGC	522	GCAUCAGCAUCAUCIAACC	981-999	979
280	NGUUCGAUGAUGCUGAUGC	523	GCAUCAGCAUCAUCIAACN	981-999	979
281	NGUUCGAUGAUGCUGAUGN	524	NCAUCAGCAUCAUCIAACN	981-999	979
282	ACCUUCCAUCUGUUCA	525	UGAACAGGAAUGGAAAGGU	336-354	334
283	UCCUUCCAUCUGUUCA	526	UGAACAGGAAUGGAAAGGA	336-354	334
284	NCCUUCCAUCUGUUCA	527	UGAACAGGAAUGGAAAGGN	336-354	334
285	NCCUUCCAUCUGUUCN	528	NGAACAGGAAUGGAAAGGN	336-354	334
286	AUAGACACGGACUCGGUAG	529	CUACCGAGUCCGUGUCUAA	367-385	365
287	UUAGACACGGACUCGGUAG	530	CUACCGAGUCCGUGUCUAU	367-385	365
288	NUAGACACGGACUCGGUAG	531	CUACCGAGUCCGUGUCUAN	367-385	365
289	NUAGACACGGACUCGGUAN	532	NUACCGAGUCCGUGUCUAN	367-385	365
290	AACAAUUUCUGGCUUCCCA	533	UGGGAAGCCAGAAAUUGUA	394-412	392
291	UACAAUUUCUGGCUUCCCA	534	UGGGAAGCCAGAAAUUGUU	394-412	392
292	NACAAUUUCUGGCUUCCCA	535	UGGGAAGCCAGAAAUUGUN	394-412	392
293	NACAAUUUCUGGCUUCCCN	536	NGGGAAGCCAGAAAUUGUN	394-412	392
294	AUACUCCCUUCUCAUAGG	537	CCUAAUGAGAAGGGAGUAA	527-545	525
295	UUACUCCCUUCUCAUAGG	538	CCUAAUGAGAAGGGAGUAU	527-545	525
296	NUACUCCCUUCUCAUAGG	539	CCUAAUGAGAAGGGAGUAN	527-545	525
297	NUACUCCCUUCUCAUAGN	540	NCUAAUGAGAAGGGAGUAN	527-545	525

В смысловых цепях и антисмысловых цепях воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, которые содержат нуклеотидные последовательности, указанные в таблице 2, или состоят из них, нуклеотиды могут являться модифицированными нуклеотидами или немодифицированными нуклеотидами.

5 В некоторых вариантах осуществления в воздействующих на RAGE средствах на основе РНКи, включающих последовательности смысловых и антисмысловых цепей, которые содержат любые из нуклеотидных последовательностей, указанных в таблице 2, или состоят из их, все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

10 В некоторых вариантах осуществления в антисмысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из последовательностей антисмысловых цепей, указанных в таблице 2. В некоторых вариантах осуществления в смысловой цепи воздействующего на
15 RAGE средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из последовательностей смысловых цепей, указанных в таблице 2.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь
20 воздействующего на RAGE средство на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, содержит не менее 15 смежных нуклеотидов, где 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из последовательностей антисмысловых цепей, указанных в таблице 2. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего на RAGE средство на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, содержит не менее 15 смежных
25 нуклеотидов, где 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из последовательностей смысловых цепей, указанных в таблице 2.

При использовании в настоящем изобретении каждый N, указанный в последовательности, раскрытой в таблице 2, может быть независимо выбран из
30 числа любых и всех нуклеиновых оснований (включая содержащиеся и в модифицированных, и в немодифицированных нуклеотидах). В некоторых вариантах осуществления нуклеотид N, указанный в последовательности, раскрытой в таблице 2, представляет собой нуклеиновое основание, которое комплементарно нуклеотиду N, находящемуся в соответствующем положении

другой цепи. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид N, указанный в последовательности, раскрытой в таблице 2, представляет собой нуклеиновое основание, которое не комплементарно нуклеотиду N, находящемуся в соответствующем положении другой цепи. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид N, указанный в последовательности, раскрытой в таблице 2, представляет собой нуклеиновое основание, которое является таким же, как нуклеотид N, находящийся в соответствующем положении другой цепи. В некоторых вариантах осуществления нуклеотид N, указанный в последовательности, раскрытой в таблице 2, представляет собой нуклеиновое основание, которое отличается от нуклеотида N, находящегося в соответствующем положении другой цепи.

Некоторые модифицированные смысловые и антисмысловые цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи приведены в таблице 3, таблице 4, таблице 5, таблице 6 и таблице 10. Некоторые модифицированные антисмысловые цепи воздействующего на RAGE средство на основе РНКи, а также их исходные немодифицированные последовательности нуклеиновых оснований приведены в таблице 3. Некоторые модифицированные смысловые цепи воздействующего на RAGE средство на основе РНКи, а также их исходные немодифицированные последовательности нуклеиновых оснований приведены в таблицах 4, 5 и 6. При получении воздействующих на RAGE средств на основе РНКи каждый из нуклеотидов, содержащийся в каждой из исходных последовательностей оснований, указанных в таблицах 3, 4, 5 и 6, а также в таблице 2, приведенной выше, может являться модифицированным нуклеотидом.

Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, описанные в настоящем изобретении, получают путем отжига антисмысловой цепи и смысловой цепи. Смысловую цепь, содержащую последовательность, указанную в таблице 2, таблице 4, таблице 5 или таблице 6, можно гибридизировать с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 3, при условии, что две последовательности содержат состоящие из 16, 17, 18, 19, 20 или 21 смежного нуклеотида участки последовательности, которые являются комплементарными по меньшей мере на 85%.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержат нуклеотидную последовательность, соответствующую любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 3.

5 В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает дуплекс, содержащий последовательности нуклеиновых оснований смысловой цепи и антисмысловой цепи, соответствующие любой из последовательностей, указанных в таблице 2, таблице 3, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, или состоит из него.

10 Примеры антисмысловых цепей, содержащих модифицированные нуклеотиды, приведены в таблице 3. Примеры смысловых цепей, содержащих модифицированные нуклеотиды, приведены в таблицах 4, 5 и 6.

В таблицах 3, 4, 5, 6 и 10 для обозначения модифицированных нуклеотидов, направленно действующих группа и мостиковых групп используют приведенные
15 ниже буквенные обозначения:

A = аденозин-3'-фосфат

C = цитидин-3'-фосфат

G = гуанозин-3'-фосфат

U = уридин-3'-фосфат

20 I = инозин-3'-фосфат

a = 2'-О-метиладенозин-3'-фосфат

as = 2'-О-метиладенозин-3'-фосфоротиоат

c = 2'-О-метилцитидин-3'-фосфат

cs = 2'-О-метилцитидин-3'-фосфоротиоат

25 g = 2'-О-метилгуанозин-3'-фосфат

gs = 2'-О-метилгуанозин-3'-фосфоротиоат

i = 2'-О-метилюинозин-3'-фосфат

is = 2'-О-метилюинозин-3'-фосфоротиоат

t = 2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфат

30 ts = 2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфоротиоат

u = 2'-О-метилуридин-3'-фосфат

us = 2'-О-метилуридин-3'-фосфоротиоат

Af = 2'-фтораденозин-3'-фосфат

- Afs = 2'-фторадеозин-3'-фосфоротиоат
Cf = 2'-фторцитидин-3'-фосфат
Cfs = 2'-фторцитидин-3'-фосфоротиоат
Gf = 2'-фторгуанозин-3'-фосфат
- 5 Gfs = 2'-фторгуанозин-3'-фосфоротиоат
Tf = 2'-фтор-5'-метилуридин-3'-фосфат
Tfs = 2'-фтор-5'-метилуридин-3'-фосфоротиоат
Uf = 2'-фторуридин-3'-фосфат
Ufs = 2'-фторуридин-3'-фосфоротиоат
- 10 dT = 2'-дезокситимидин-3'-фосфат
A_{UNA} = 2',3'-секоаденозин-3'-фосфат
A_{UNAS} = 2',3'-секоаденозин-3'-фосфоротиоат
C_{UNA} = 2',3'-секоцитидин-3'-фосфат
C_{UNAS} = 2',3'-секоцитидин-3'-фосфоротиоат
- 15 G_{UNA} = 2',3'-секогуанозин-3'-фосфат
G_{UNAS} = 2',3'-секогуанозин-3'-фосфоротиоат
U_{UNA} = 2',3'-секоуридин-3'-фосфат
U_{UNAS} = 2',3'-секоуридин-3'-фосфоротиоат
a_{2N} = см. таблицу 11
- 20 a_{2Ns} = см. таблицу 11
(invAb) = обращенный абазический дезоксирибонуклеотид-5'-фосфат, см. таблицу 11
(invAb)s = обращенный абазический дезоксирибонуклеотид-5'-фосфоротиоат, см. таблицу 11
- 25 s = фосфоротиоатный мостик
p = концевой фосфат (синтезированный)
vpdN = содержащий винилфосфонатную группу дезоксирибонуклеотид
cPrpa = 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метиладенозин-3'-фосфат (см. таблицу 11)
cPrpas = 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метиладенозин-3'-фосфоротиоат (см. таблицу 11)
- 30 cPrpu = 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин-3'-фосфат (см. таблицу 11)
cPrpus = 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин-3'-фосфоротиоат (см. таблицу 11)

(Alk-SS-C₆) = см. таблицу 11

(C₆-SS-Alk) = см. таблицу 11

(C₆-SS-C₆) = см. таблицу 11

(6-SS-6) = см. таблицу 11

5 (C₆-SS-Alk-Me) = см. таблицу 11

(NH₂-C₆) = см. таблицу 11

(TriAlk14) = см. таблицу 11

(TriAlk14)s = см. таблицу 11

-C₆- = см. таблицу 11

10 -C₆s- = см. таблицу 11

-L6-C₆- = см. таблицу 11

-L6-C₆s- = см. таблицу 11

-Alk-сyHex- = см. таблицу 11

-Alk-сyHexs- = см. таблицу 11

15 (TA14) = см. таблицу 11 (структура (TriAlk14)s после конъюгирования)

(TA14)s = см. таблицу 11 (структура (TriAlk14)s после конъюгирования)

Для специалиста с общей подготовкой в данной области техники должно быть совершенно понятно, что, если в последовательности не указано иное

(например, если не указан фосфотиоатный мостик "s", содержащийся в

20 олигонуклеотиде), то нуклеотидные мономеры связаны друг с другом 5'-3'-

сложными фосфодиэфирными связями. Для специалиста с общей подготовкой в данной области техники должно быть совершенно понятно, что включение

фосфотиоатного мостика, как это показано в модифицированных

нуклеотидных последовательностях, раскрытых в настоящем изобретении,

25 означает, что он заменяет сложный фосфодиэфирный мостик, обычно

содержащийся в олигонуклеотидах. Кроме того, для специалиста с общей

подготовкой в данной области техники должно быть совершенно понятно, что

концевой нуклеотид, находящийся на 3'-конце заданной олигонуклеотидной последовательности, обычно содержит гидроксигруппу (-ОН) в

30 соответствующем положении 3' заданного мономера вместо фосфатного

фрагмента *ex vivo*. Кроме того, в вариантах осуществления, раскрытых в

настоящем изобретении, при рассмотрении соответствующей цепи 5' → 3'

обращенные абазические остатки включены таким образом, что в положении 3'

дезоксирибозы связано с 3'-концом предыдущего мономера, находящегося в соответствующей цепи (см., например, таблицу 11). Кроме того, для специалиста с общей подготовкой в данной области техники должно быть совершенно понятно и очевидно, что, хотя в химических структурах фосфотиоатов, представленных в настоящем изобретении, обычно показан анион, соединенный с атомом серы, в объем настоящего изобретения входят все таутомеры фосфотиоатов (например, в которых атом серы обладает двойной связью и анион содержит атом кислорода). Если специально не указано иное, специалист с общей подготовкой в данной области техники использует такие положения при описании воздействующих на RAGE средств на основе РНКи и композиций, содержащих воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытых в настоящем изобретении.

Некоторые примеры направленно действующих групп и мостиковых групп, использующихся вместе с воздействующими на RAGE средствами на основе РНКи, раскрытыми в настоящем изобретении, включены в химические структуры, приведенные ниже в таблице 11. Каждая смысловая цепь и/или антисмысловая цепь может содержать любую из направленно действующих группа или мостиковых групп, перечисленных в настоящем изобретении, а также другие направленно действующие группы или мостиковые группы, конъюгированные с 5'- и/или 3'-концом последовательности.

Таблица 3. Последовательности антисмысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи

Идентификационный номер АС* цепи	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO.
AM10308-AS	usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	2	UUGUGUUCAGUUUCCAUUCGG	7
AM10309-AS	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3	UUGUGUUCAGUUUCCAUUCGG	7
AM10311-AS	usCfsusGfuGfuUfcAfgUfuUfcCfaUfuCfsc	543	UCUGUGUUCAGUUUCCAUUC	801
AM10312-AS	cPrpusCfsusGfuGfuUfcAfgUfuUfcCfaUfuCfsc	544	UCUGUGUUCAGUUUCCAUUC	801
AM10314-AS	usUfsgsGfcUfuCfcCfaGfgAfaUfcUfgGfsu	545	UUGGCUUCCCAGGAAUCUGGU	802
AM10315-AS	cPrpusUfsgsGfcUfuCfcCfaGfgAfaUfcUfgGfsu	546	UUGGCUUCCCAGGAAUCUGGU	802
AM10317-AS	asCfsasAfuUfuCfuGfgCfuUfcCfcAfgGfsa	547	ACAAUUUCUGGCUUCCCAGGA	803
AM10318-AS	cPrpasCfsasAfuUfuCfuGfgCfuUfcCfcAfgGfsa	548	ACAAUUUCUGGCUUCCCAGGA	803
AM10467-AS	usUfsasCfaCfuUfcAfgCfaCfcAfgUfgGfsc	549	UUACACUUCAGCACCAGUGGC	804
AM10469-AS	usAfsasCfuUfcCfaAfgCfuUfcUfgUfcCfsg	550	UACCUUCCAAGCUUCUGUCCG	805
AM10471-AS	usCfsgsGfaAfaAfuCfcCfcUfcAfuCfcUfsg	551	UCGGAAAAUCCCCUCAUCCUG	806
AM10473-AS	usUfsusCfuGfgCfuUfcCfcAfgGfaAfuCfsu	552	UUUCUGGCUUCCCAGGAAUCU	807
AM10475-AS	usUfsgsAfgUfuCfaGfaGfgCfaGfaAfuCfsu	553	UUGAGUUCAGAGGCAGAAUCU	808
AM10477-AS	usCfsusAfaGfaGfuCfcCfuGfcAfgGfgUfsa	554	UCUAAGAGUCCUGCAGGGUA	809
AM10479-AS	asGfscsUfaAfgAfgUfcCfcUfgCfaGfgGfsu	555	AGCUAAGAGUCCUGCAGGGU	810
AM10481-AS	asAfsasCfuAfcAfgGfaGfaAfgGfuGfgGfsa	556	AAGCUACAGGAGAAGGUGGGA	811
AM10483-AS	usCfsusGfaAfgCfuAfcAfgGfaGfaAfgGfsu	557	UCUGAAGCUACAGGAGAAGGU	812
AM10571-AS	usAfsasAfgAfcUfgAfgGfaCfcAfgCfaCfsc	558	UACAGACUGAGGACCAGCACC	813
AM10573-AS	usAfsasAfgAfc _{UNA} UfgAfgGfaCfcAfgCfaCfsc	559	UACAGACUGAGGACCAGCACC	813
AM10575-AS	usCfsasCfaGfaCfuGfaGfgAfcCfaGfcAfsu	560	UCACAGACUGAGGACCAGCAC	814
AM10717-AS	usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsc	561	UUGUGUUCAGUUUCCAUUC	815
AM10720-AS	usUfsgsUfgUfu _{UNA} CfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	562	UUGUGUUCAGUUUCCAUUCGG	7
AM10722-AS	usUfsgsUfgUfucaguUfuCfcAfuUfcCfsg	563	UUGUGUUCAGUUUCCAUUCGG	7
AM10723-AS	usUfsgsuguucaguUfuCfcAfuucsg	564	UUGUGUUCAGUUUCCAUUCGG	7
AM10724-AS	usUfsgsuguucaGfuUfuCfcAfuucsg	565	UUGUGUUCAGUUUCCAUUCGG	7
AM10752-AS	usGfsasUfgUfuUfuGfaGfcAfcCfuAfcUfsc	566	UGAUGUUUUGAGCACCUCUC	9
AM10754-AS	usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu	4	UCCAUUCUGUUCAUUGCCU	8
AM10756-AS	usGfsasAfuCfuGfgUfaGfaCfaCfGfaCfsu	568	UGAAUCUGGUAGACACGGACU	818
AM10758-AS	usAfsasGfaAfuCfuGfgUfaGfaCfaCfGfsa	569	UAGGAAUCUGGUAGACACGGGA	819
AM10760-AS	usAfsasGfcUfaCfaGfgAfgAfaGfgUfgGfsg	570	UAAGCUACAGGAGAAGGUGGG	820

Идентификационный номер АС* цепи	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO.
AM10762-AS	usCfsasUfcCfaGfuGfgAfuUfuGfaGfgAfg	571	UCAUCCAGUGGAUUUGAGGAG	821
AM10774-AS	asGfsusUfcAfgAfgGfcAfgAfaUfcUfaCfsc	572	AGUUCAGAGGCAGAAUCUACC	822
AM10776-AS	usGfsasGfuUfc _{UNA} AfgAfgGfcAfgAfaUfcUfsa	573	UGAGUUCAGAGGCAGAAUCUA	823
AM10778-AS	asCfscsUfuAfuUfgGfgAfaCfaCfcAfgCfsc	574	ACCUUAUUGGGAACACCAGCC	824
AM10780-AS	usCfsasCfcUfuAfuUfgGfgAfaCfaCfcAfg	575	UCACCUUAUUGGGAACACCAG	825
AM10782-AS	usCfsasUfcCfaAfgUfgCfcAfgCfuAfaGfsc	576	UCAUCCAAGUGCCAGCUAAGC	826
AM10784-AS	asGfsasUfaCfuCfcCfuUfcUfcAfuUfaGfsg	577	AGAUACUCCCUUCUCAUAGG	827
AM10786-AS	usCfsasCfaGfaUfaCfuCfcCfuUfcUfcAfc	578	UCACAGAUACUCCUUCUCAC	828
AM10788-AS	usGfsusUfcGfaUfgAfuGfcUfgAfuGfcUfg	579	UGUUCGAUGAUGCUGAUGCUG	829
AM11103-AS	cPrpusUfgUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	580	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCG	7
AM11104-AS	cPrpuUfgUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	581	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCG	7
AM11188-AS	cPrpusUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsg	582	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCG	7
AM11190-AS	usUfsgsuguu _{UNA} aguUfuCfcAfuuccsg	583	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCG	7
AM11191-AS	usUfsgsugu _{UNA} caguUfuCfcAfuuccsg	584	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCG	7
AM11192-AS	usUfsgsug _{UNA} ucaguUfuCfcAfuuccsg	585	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCG	7
AM11194-AS	usUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsc	586	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCC	815
AM11196-AS	usUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsa	587	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCA	830
AM11757-AS	cPrpuUfguguucaguUfuCfcAfuuccsg	588	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCG	7
AM11758-AS	cPrpuUfgugu _{UNA} caguUfuCfcAfuuccsg	589	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCG	7
AM11759-AS	cPrpuUfguguucaguUfuCfcAfuuccsc	590	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCC	815
AM11760-AS	cPrpuUfgugu _{UNA} caguUfuCfcAfuuccsc	591	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCC	815
AM11761-AS	usUfsgsugu _{UNA} caguUfuCfcAfuuccsc	592	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCC	815
AM11762-AS	cPrpusUfsgsugu _{UNA} caguUfuCfcAfuuccsg	593	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCCG	7
AM11763-AS	cPrpusUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsc	594	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCC	815
AM11764-AS	cPrpusUfsgsugu _{UNA} caguUfuCfcAfuuccsc	595	UUGUGUUCAGUUCCAUCUCC	815
AM11889-AS	usCfscsUfuUfcCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfsc	596	UCCUUCCAUCUGUUCAUC	831
AM11892-AS	usUfsasGfaCfaCfgGfaCfuCfgGfuAfgUfsc	597	UUAGACACGGACUCGGUAGUC	832
AM11894-AS	asUfsasCfuCfcCfuUfcUfcAfuUfaGfgCfsc	598	AUACUCCCUUCUCAUAGGCA	833
AM11895-AS	cPrpusGfsasUfgUfuUfuGfaGfcAfcCfuAfcUfsc	599	UGAUGUUUUGAGCACCUACUC	9
AM11897-AS	usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc	5	UGAUGUUUUGAGCACCUACUC	9
AM11898-AS	cPrpusGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc	6	UGAUGUUUUGAGCACCUACUC	9
AM12234-AS	cPrpusUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu	602	UCCAUCUCCUGUUCAUUGCCU	8

Идентификационный номер АС* цепи	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO.
AM12236-AS	usUfscscauuccugUfuCfaUfugccsu	603	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM12237-AS	cPrpusUfscscauuccugUfuCfaUfugccsu	604	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM12240-AS	usUfscscauU _{UNA} ccugUfuCfaUfugccsu	605	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM12241-AS	usUfscscaU _{UNA} uccugUfuCfaUfugccsu	606	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM12245-AS	usUfscscauuccugUfuCfaUfugccsc	607	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM12593-AS	usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc	608	UGAUGUUUUGAGCACCUACUC	9
AM12594-AS	usGfsasuguU _{UNA} uugaGfcAfcCfuacusc	609	UGAUGUUUUGAGCACCUACUC	9
AM12596-AS	usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusa	610	UGAUGUUUUGAGCACCUACUA	836
AM12755-AS	usUfscsCfaUfuccugUfuCfaUfuGfcesu	611	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM12756-AS	cPrpusUfscsCfaUfuccugUfuCfaUfuGfcesu	612	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM12757-AS	cPrpuUfcCfaUfuccugUfuCfaUfuGfcesu	613	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM14090-AS	usUfsgsUfguucaguUfuCfcAfuuccsg	614	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM14091-AS	usUfsgsuguUfcaguUfuCfcAfuuccsg	615	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM14093-AS	usGfsasUfguuuugaGfcAfcCfuacusc	616	UGAUGUUUUGAGCACCUACUC	9
AM14094-AS	usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuAfcusc	617	UGAUGUUUUGAGCACCUACUC	9
AM14095-AS	usGfsasuguUfuugaGfcAfcCfuacusc	618	UGAUGUUUUGAGCACCUACUC	9
AM15021-AS	cPrpusUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsa	619	UUGUUGUUCAGUUCCAUCUGG	7
AM15767-AS	cPrpusAfsCsAfaUfuucugGfcUfuCfcCfagsg	620	UACAAUUUCUGGCUUCCAGG	837
AM15770-AS	cPrpusCfsusGfuGfuucagUfuUfcCfaUfucsc	621	UCUGUGUUCAGUUCCAUCUGG	7

*АС - антисмысловая

Таблица 4. Последовательности смысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи (представлены без мостиков, конъюгированных направленно действующих лигандов или кэппирующих фрагментов)

Идентификационный номер цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO.
AM10307-SS-NL	csggaauaggAfAfAfcugaacacaa	13	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM10310-SS-NL	gsgaauaggAfAfCfugaacacaia	623	GGAAUGGAAACUGAACACAIA	839
AM10313-SS-NL	ascagauuCfCfUfgggaiccaa	624	ACCAGAUUCCUGGGAAICCAA	840
AM10316-SS-NL	uscugggAfGfCfcagaaauugu	625	UCCUGGGAAGCCAGAAAUUGU	841
AM10466-SS-NL	gscacuggUfGfCfugaaguguaa	626	GCCACUGGUGCUGAAGUGUAA	842
AM10468-SS-NL	csggacagaAfGfCfuuggaagiua	627	CGGACAGAAGCUUGGAAGIUA	843
AM10470-SS-NL	csaggaugaGfGfGfauuuuccia	628	CAGGAUGAGGGGAUUUUC CIA	844
AM10472-SS-NL	asgauuccuGfGfGfaagcuagaaa	629	AGAUUCCUGGGAAGCUAGAAA	845
AM10474-SS-NL	a_2NsgauucugCfCfUfcugaacucaa	630	(A ^{2N})GAUUCUGCCUCUGAACUCA	846
AM10476-SS-NL	usaccucgAfGfGfGfacucuuaa	631	UACCCUGCAGGGACUCUUAGA	847
AM10478-SS-NL	asccugcaGfGfGfacucuuaicu	632	ACCCUGCAGGGACUCUUAICU	848
AM10480-SS-NL	uscccaccuUfCfUfcuguaicuu	633	UCCCACCUUCUCCUGUAICUU	849
AM10482-SS-NL	asccuucucCfUfGfuagcuuaia	634	ACCUUCUCCUGUAGCUUCAIA	850
AM10570-SS-NL	gsgugcuggUfCfCfucagucuiua	635	GGUGCUGGUCCUCAGUCUIUA	851
AM10572-SS-NL	gsgugcuggUfCfCfucagucugua	636	GGUGCUGGUCCUCAGUCUGUA	852
AM10574-SS-NL	gsugcugguCfCfUfcagucugua	637	GUGCUGGUCCUCAGUCUGUIA	853
AM10576-SS-NL	gsugcugguCfCfUfcagucuiuga	638	GUGCUGGUCCUCAGUCUIUGA	854
AM10644-SS-NL	csggaauaggAfAfAfcugaacacaa	13	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM10716-SS-NL	gsggaauaggAfAfAfcugaacacaa	640	GGGAAUGGAAACUGAACACAA	855
AM10718-SS-NL	csggaauaggAfAfAfcuiaacacaa	641	CGGAAUGGAAACUIAACACAA	856
AM10719-SS-NL	csggaauaggAfa_2NAfcuiaacacaa	642	CGGAAUGGA(A ^{2N})ACUIAACACAA	857
AM10721-SS-NL	csggaauaggAfAfAfcugaauacaa	643	CGGAAUGGAAACUGAAUACAA	858
AM10725-SS-NL	csggaauGfGfAfaAfcugaacacaa	644	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM10737-SS-NL	uscugggAfGfCfcagaaauugu	645	UCCUGGGAAGCCAGAAAUUGU	841
AM10751-SS-NL	gsaguaggiGfCfUfcaaaacauca	646	GAGUAGGUGUCUAAAACAUCA	20
AM10753-SS-NL	asggcaaugAfAfCfaggaauigaa	15	AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA	21
AM10755-SS-NL	asgucgugUfCfUfacciauuca	648	AGUCCGUGUCUACCAIAUUCA	861
AM10757-SS-NL	uscgugucUfAfCfcagauuccua	649	UCCGUGUCUACCAGAUUCCUA	862
AM10759-SS-NL	cscaccuuCfUfCfcuguaicua	650	CCCACCUUCUCCUGUAICUUA	863

Идентификационный номер цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO.
AM10761-SS-NL	csuccucaaAfUfCfcacuiuga	651	CUCCUCAAAUCCACUIGAUGA	864
AM10773-SS-NL	gsguagauuCfUfGfccucuiacu	652	GGUAGAUUCUGCCUCUIAACU	865
AM10775-SS-NL	usagaauucGfCfCfucugaacuca	653	UAGAUUCUGCCUCUGAACUCA	866
AM10777-SS-NL	gsgcugguGfUfCfccaaauaggu	654	GGCUGGUGUCCCAAUAAGGU	867
AM10779-SS-NL	csugguuCfCfCfaauagiuga	655	CUGGUGUCCCAAUAAGIUGA	868
AM10781-SS-NL	gscuuagcuGfGfCfacuuiuga	656	GCUUAGCUGGCACUUIGAUGA	869
AM10783-SS-NL	cscuaaugaGfAfAfggaiuaucu	657	CCUAAUGAGAAGGGAIUAUCU	870
AM10785-SS-NL	gsugaagGfGfAfguacuiuga	658	GUGAGAAGGGAGUAUCUIUGA	871
AM10787-SS-NL	csagcaucaGfCfAfucauciaaca	659	CAGCAUCAGCAUCAUCIAACA	872
AM11105-SS-NL	cggaauggAfAfAfcugaacacaa	660	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11106-SS-NL	csggauggAfAfAfcugaacacaa	13	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11107-SS-NL	cggaauggAfAfAfcugaacacaa	662	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11189-SS-NL	csggaauGfGfAfaAfcugaauacaa	663	CGGAAUGGAAACUGAAUACAA	858
AM11193-SS-NL	gsggaauGfGfAfaAfcugaacacaa	664	GGGAAUGGAAACUGAACACAA	855
AM11195-SS-NL	usggaauGfGfAfaAfcugaacacaa	665	UGGAAUGGAAACUGAACACAA	873
AM11197-SS-NL	csggaauGfGfAfa_2NAfcugaacacaa	666	CGGAAUGGA(A ^{2N})ACUGAACACAA	874
AM11512-SS-NL	cggaauggAfAfAfcugaacacaa	667	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11513-SS-NL	csggauggAfAfAfcugaacacaa	13	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11514-SS-NL	csggauggAfAfAfcugaacacaa	13	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11515-SS-NL	cggaauggAfAfAfcugaacacaa	670	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11516-SS-NL	csggauggAfAfAfcugaacacaa	13	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11517-SS-NL	cggaauggAfAfAfcugaacacaa	672	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11888-SS-NL	gsaugaacaGfGfAfauggaaagga	673	GAUGAACAGGAAUGGAAAGGA	875
AM11890-SS-NL	gsaugaacaGfGfAfauggaaagia	674	GAUGAACAGGAAUGGAAAGIA	876
AM11891-SS-NL	gsacuaccGfGfUfccgugucuaa	675	GACUACCGAGUCCGUGUCUAA	877
AM11893-SS-NL	usgccuaauGfAfGfaaggagauau	676	UGCCUAAUGAGAAGGGAGUAU	878
AM11896-SS-NL	gsaguagguGfCfUfaaaacauca	677	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM11899-SS-NL	gsaguagiuGfCfUfaaaacauca	678	GAGUAGIUGCUCAAAACAUCA	879
AM11900-SS-NL	gsaguagGfuGfUfcaaaacauca	14	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM11901-SS-NL	gsaguagguGfCfUfcaaaacauca	680	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM12235-SS-NL	asggcaaUfgAfaCfaggaauigaa	681	AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA	21
AM12238-SS-NL	asggcaaUfgAfaCfaggaauigaa	682	AGGCAAUGAACAGGAAUGGAA	880

Идентификационный номер цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO.
AM12239-SS-NL	asggcaaUfgAfaCfaggaaugiaa	683	AGGCAAUGAACAGGAAUGIAA	881
AM12242-SS-NL	asggcaaUfgAfaCfagiaauggaa	684	AGGCAAUGAACAGIAAUGGAA	882
AM12243-SS-NL	asggcaaUfgAfaCfaigaauggaa	685	AGGCAAUGAACAIIGAAUGGAA	883
AM12244-SS-NL	gsggcaaUfgAfaCfaggaauigaa	686	GGGCAAUGAACAGGAAUIGAA	884
AM12592-SS-NL	csaguagGfuGfcUfcaaaaca	687	CAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	885
AM12595-SS-NL	usa_2NguagGfuGfcUfcaaaaca	688	U(A ^{2N})GUAGGUGCUCAAAACAUCA	886
AM12597-SS-NL	gsaguagguGfcUfcaaaaca	689	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM12754-SS-NL	asggcaaugAfAfCfaggauggaa	690	AGGCAAUGAACAGGAAUGGAA	880
AM12910-SS-NL	gsaguagGfuGfcUfcaaaaca	14	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM12911-SS-NL	asggcaaugAfAfCfaggaauigaa	15	AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA	21
AM13987-SS-NL	csggaauggAfAfAfcugaacacaa	13	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM14092-SS-NL	csggaauggAfaAfcUfgaacacaa	694	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM15766-SS-NL	cscugggaaGfCfCfagaauugua	695	CCUGGGGAAGCCAGAAAUUGUA	887
AM16133-SS-NL	csggaauggAfAfAfcugaacacaa	13	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19

(A^{2N}) = содержащий 2-аминоаденин нуклеотид; I = нуклеотид - гипоксантин (инозин)

Таблица 5. Последовательности смысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи (представлены с мостиком TriAlk14 (информация о структуре представлена в таблице 11))

Идентификационный номер цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO.
AM10307-SS	(TriAlk14)csggaauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	16	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM10310-SS	(TriAlk14)gsgaauggaAfAfCfugaacacaias(invAb)	698	GGAAUGGAAACUGAACACAIA	839
AM10313-SS	(TriAlk14)ascagauuCfCfUfggaaiccaas(invAb)	699	ACCAGAUUCCUGGGAAICCAA	840
AM10316-SS	(TriAlk14)usccugggaAfGfCfcagaaaugus(invAb)	700	UCCUGGGAAGCCAGAAAUGU	841
AM10466-SS	(TriAlk14)gscacuggUfGfCfugaaguguaas(invAb)	701	GCCACUGGUGCUGAAGUGUAA	842
AM10468-SS	(TriAlk14)csggacagaAfGfCfuuggaaguias(invAb)	702	CGGACAGAAGCUUGGAAGIUA	843
AM10470-SS	(TriAlk14)csaggaugaGfGfGfuauiuccias(invAb)	703	CAGGAUGAGGGGAUUUCCIA	844
AM10472-SS	(TriAlk14)asgauuccuGfGfGfaagcuagaaas(invAb)	704	AGAUUCCUGGGAAGCUAGAAA	845
AM10474-SS	(TriAlk14)a_2NsgauucugCfCfUfcugaacucaas(invAb)	705	(A ^{2N})GAUUCUGCCUCUGAACUCA	846
AM10476-SS	(TriAlk14)usaccugcAfGfGfagacuuagas(invAb)	706	UACCCUGCAGGGACUCUUAGA	847
AM10478-SS	(TriAlk14)asccugcaGfGfGfacucuuaicus(invAb)	707	ACCCUGCAGGGACUCUUAICU	848
AM10480-SS	(TriAlk14)useccaccuUfCfUfccuguaicuu(invAb)	708	UCCACCUUCUCCUGUAICUU	849
AM10482-SS	(TriAlk14)asccuucucCfUfGfuagcuuacaias(invAb)	709	ACCUUCUCCUGUAGCUUCAIA	850
AM10570-SS	(TriAlk14)gsgugcuggUfCfCfucagucuiuas(invAb)	710	GGUGCUGGUCCUCAGUCUIUA	851
AM10572-SS	(TriAlk14)gsgugcuggUfCfCfucagucuguas(invAb)	711	GGUGCUGGUCCUCAGUCUGUA	852
AM10574-SS	(TriAlk14)gsugcugguCfCfUfcagucuguias(invAb)	712	GUGCUGGUCCUCAGUCUGUIA	853
AM10576-SS	(TriAlk14)gsugcugguCfCfUfcagucuiugas(invAb)	713	GUGCUGGUCCUCAGUCUIUGA	854
AM10644-SS	(TriAlk14)csggaauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	16	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM10716-SS	(TriAlk14)gsggaauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	715	GGGAAUGGAAACUGAACACAA	855
AM10718-SS	(TriAlk14)csggaauggAfAfAfcuiaacacaas(invAb)	716	CGGAAUGGAAACUIAACACAA	856
AM10719-SS	(TriAlk14)csggaauggAfa_2Nafcuiaacacaas(invAb)	717	CGGAAUGGA(A ^{2N})ACUIAACACAA	857
AM10721-SS	(TriAlk14)csggaauggAfAfAfcugaauacaas(invAb)	718	CGGAAUGGAAACUGAAUACAA	858
AM10725-SS	(TriAlk14)csggaaUGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	719	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM10737-SS	(TriAlk14)usccugggaAfGfCfcagaaaugus(invAb)	720	UCCUGGGAAGCCAGAAAUGU	841
AM10751-SS	(TriAlk14)gsaguagguGfCfUfcaaaacaucas(invAb)	721	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM10753-SS	(TriAlk14)asggcaaugAfAfCfaggauiigaas(invAb)	18	AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA	21
AM10755-SS	(TriAlk14)asguccgugUfCfUfacciaauucas(invAb)	723	AGUCCGUGUCUACCAIAUUCA	861
AM10757-SS	(TriAlk14)usccgugucUfAfCfcagauuccuas(invAb)	724	UCCGUGUCUACCAGAUUCCUA	862

Идентификационный номер цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO.
AM10759-SS	(TriAlk14)cscaccuuCfUfCfcuguaicuuas(invAb)	725	CCCACCUUCUCCUGUAICUUA	863
AM10761-SS	(TriAlk14)csuccucaaAfUfCfcacuiгаugas(invAb)	726	CUCCUCAAAUCCACUIGAUGA	864
AM10773-SS	(TriAlk14)gsguagauCfUfGfccucuiaacus(invAb)	727	GGUAGAUUCUGCCUCUIAACU	865
AM10775-SS	(TriAlk14)usagauucuGfCfCfucugaacucas(invAb)	728	UAGAUUCUGCCUCUGAACUCA	866
AM10777-SS	(TriAlk14)gsgcuggugUfUfCfccaauaaggus(invAb)	729	GGCUGGUGUCCCAAUAAGGU	867
AM10779-SS	(TriAlk14)csugguguuCfCfCfaauaagiugas(invAb)	730	CUGGUGUCCCAAUAAGIUGA	868
AM10781-SS	(TriAlk14)gscuuagcuGfGfCfacuuiгаugas(invAb)	731	GCUUAGCUGGCACUUIGAUGA	869
AM10783-SS	(TriAlk14)cscuaaugaGfAfAfgggaiuaucus(invAb)	732	CCUAAUGAGAAGGGAIUAUCU	870
AM10785-SS	(TriAlk14)gsugagaagGfGfAfguaucuiugas(invAb)	733	GUGAGAAGGGAGUAUCUIUGA	871
AM10787-SS	(TriAlk14)csagcaucaGfCfAfucauciaacas(invAb)	734	CAGCAUCAGCAUCAUCIAACA	872
AM11105-SS	(TriAlk14)cggaauGGfAfAfAfcugaacacaas(invAb)	735	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11106-SS	(TriAlk14)csggaauggfAfAfAfcugaacacaas(invAb)	736	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11107-SS	(TriAlk14)cggaauGGfAfAfAfcugaacacaas(invAb)	737	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11189-SS	(TriAlk14)csggaaUGfgAfaAfcugaauacaas(invAb)	738	CGGAAUGGAAACUGAAUACAA	858
AM11193-SS	(TriAlk14)gsggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	739	GGGAAUGGAAACUGAACACAA	855
AM11195-SS	(TriAlk14)usggaaUGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	740	UGGAAUGGAAACUGAACACAA	873
AM11197-SS	(TriAlk14)csggaaUGfgAfa_2NAfcugaacacaas(invAb)	741	CGGAAUGGA(A ^{2N})ACUGAACACAA	874
AM11512-SS	(TriAlk14)cggaauGGfAfAfAfcugaacacaas(invAb)	742	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11513-SS	(TriAlk14)csggaauggfAfAfAfcugaacacaas(invAb)	16	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11514-SS	(TriAlk14)csggaauggfAfAfAfcugaacacaas(invAb)	16	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11515-SS	(TriAlk14)cggaauGGfAfAfAfcugaacacaas(invAb)	745	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11516-SS	(TriAlk14)csggaauggfAfAfAfcugaacacaas(invAb)	16	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11517-SS	(TriAlk14)cggaauGGfAfAfAfcugaacacaas(invAb)	747	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM11888-SS	(TriAlk14)gsaugaacaGfGfAfauggaaaggas(invAb)	748	GAUGAACAGGAAUGGAAAGGA	875
AM11890-SS	(TriAlk14)gsaugaacaGfGfAfauggaaagias(invAb)	749	GAUGAACAGGAAUGGAAAGIA	876
AM11891-SS	(TriAlk14)gsacuaccgAfGfUfccgugucuaas(invAb)	750	GACUACCGAGUCCGUGUCUAA	877
AM11893-SS	(TriAlk14)usgccuaauGfAfGfaagggaguauas(invAb)	751	UGCCUAAUGAGAAGGGAGUAU	878
AM11896-SS	(TriAlk14)gsaguagguGfcUfcAfaaacucas(invAb)	752	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM11899-SS	(TriAlk14)gsaguagiuGfcUfcAfaaacucas(invAb)	753	GAGUAGIUGCUCAAAACAUCA	879
AM11900-SS	(TriAlk14)gsaguagGfuGfcUfcaaacucas(invAb)	17	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM11901-SS	(TriAlk14)gsaguagguGfcUfcaaacucas(invAb)	755	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20

Идентификационный номер цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (представлена в виде немодифицированной нуклеотидной последовательности)	SEQ ID NO.
AM12235-SS	(TriAlk14)asggcaaUfgAfaCfaggaauigaas(invAb)	756	AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA	21
AM12238-SS	(TriAlk14)asggcaaUfgAfaCfaggaaugaas(invAb)	757	AGGCAAUGAACAGGAAUGGAA	880
AM12239-SS	(TriAlk14)asggcaaUfgAfaCfaggaugiaas(invAb)	758	AGGCAAUGAACAGGAAUGIAA	881
AM12242-SS	(TriAlk14)asggcaaUfgAfaCfagiaaugaas(invAb)	759	AGGCAAUGAACAGIAAUGGAA	882
AM12243-SS	(TriAlk14)asggcaaUfgAfaCfaigaaugaas(invAb)	760	AGGCAAUGAACAIIGAAUGGAA	883
AM12244-SS	(TriAlk14)gsggcaaUfgAfaCfaggaauigaas(invAb)	761	GGGCAAUGAACAGGAAUIGAA	884
AM12592-SS	(TriAlk14)csaguagGfuGfcUfcaaaacaucas(invAb)	762	CAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	885
AM12595-SS	(TriAlk14)usa_2NguagGfuGfcUfcaaaacaucas(invAb)	763	U(A ^{2N})GUAGGUGCUCAAAACAUCA	886
AM12597-SS	(TriAlk14)gsaguagguGfcUfCfaaaacaucas(invAb)	764	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM12754-SS	(TriAlk14)asggcaaugAfAfCfaggaaugaas(invAb)	765	AGGCAAUGAACAGGAAUGGAA	880
AM12910-SS	(TriAlk14)gsaguagGfuGfcUfcaaaacaucas(invAb)	17	GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA	20
AM12911-SS	(TriAlk14)asggcaaugAfAfCfaggaauigaas(invAb)	18	AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA	21
AM13987-SS	(TriAlk14)csggaauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	16	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM14092-SS	(TriAlk14)csggaauggAfaAfcUfgaacacaas(invAb)	769	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19
AM15766-SS	(TriAlk14)cscugggaaGfCfCfagaauguas(invAb)	770	CCUGGGAAGCCAGAAUUGUA	887
AM16133-SS	(TriAlk14)scsgaauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	771	CGGAAUGGAAACUGAACACAA	19

(A^{2N}) = содержащий 2-аминоаденин нуклеотид; I = нуклеотид - гипоксантин (инозин)

Таблица 6. Последовательности смысловой цепи воздействующего на RAGE средства (представлены в виде конъюгата с направленно действующим лигандом. Структура $\alpha\beta6$ -SM6.1 представлена в таблице 11 и структура Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14) представлена на фиг. 1)

Идентификационный номер цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Номер AM соответствующей смысловой цепи, без мостика или конъюгата (см. таблицу 4)
CS000363	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	10	AM10307-SS-NL
CS000368	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)cggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	773	AM11105-SS-NL
CS000369	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)csggaauGfGfAfaAfcugaacacaa(invAb)	774	AM11106-SS-NL
CS000386	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)cggaauGfGfAfaAfcugaacacaa(invAb)	775	AM11107-SS-NL
CS000497	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)csggaauGfGfAfaAfcugaauacaas(invAb)	776	AM11189-SS-NL
CS000499	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)csggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	AM10725-SS-NL
CS000503	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)gsggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	778	AM11193-SS-NL
CS000505	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)usggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	779	AM11195-SS-NL
CS000507	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)csggaauGfGfAfa_2NAfcugaacacaas(invAb)	780	AM11197-SS-NL
CS000531	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)csggaauGfGfAfaAfcugaauacaas(invAb)	781	AM10721-SS-NL
CS000672	$\alpha\beta6$ -SM6.1-L6-C6-csggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	782	AM11514-SS-NL
CS000673	$\alpha\beta6$ -SM6.1-L6-C6s-(invAb)scggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	783	AM11515-SS-NL
CS000674	$\alpha\beta6$ -SM6.1-Alk-cyHex-csggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	784	AM11516-SS-NL
CS000675	$\alpha\beta6$ -SM6.1-Alk-cyHexs-(invAb)scggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	785	AM11517-SS-NL
CS000690	$\alpha\beta6$ -pep1-C6-csggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	786	AM11514-SS-NL
CS000691	$\alpha\beta6$ -pep1-C6s-(invAb)scggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	787	AM11515-SS-NL
CS000986	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)gsggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	788	AM10716-SS-NL
CS000988	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)csggaauGfGfAfaAfcuiaacacaas(invAb)	789	AM10718-SS-NL
CS000989	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)csggaauGfGfAfa_2NAfcuiaacacaas(invAb)	790	AM10719-SS-NL
CS001021	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)gsggaauGfGfAfaAfcfugaacacaias(invAb)	791	AM10310-SS-NL
CS001024	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)ascagauuCfCfUfgggaaiccaas(invAb)	792	AM10313-SS-NL
CS001027	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)uscugggAfaGfCfcagaaauugus(invAb)	793	AM10316-SS-NL
CS001579	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)gsaguagGfuGfcUfcaaaacaucaas(invAb)	11	AM12910-SS-NL
CS001582	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)asgcaaugAfAfCfaggaauigaas(invAb)	12	AM12911-SS-NL
CS002138	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)csggaauGfGfAfaAfcUfgaacacaas(invAb)	796	AM14092-SS-NL
CS002399	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)gsaguagGfuGfcUfcaaaacauca(invAb)	797	AM12910-SS-NL
CS002976	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)escugggaaGfCfCfagaaauuguas(invAb)	798	AM15766-SS-NL
CS003048	Tri-SM6.1- $\alpha\beta6$ -(TA14)scsggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	799	AM10307-SS-NL

Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, получают путем отжига антисмысловой цепи и смысловой цепи. Смысловую цепь, содержащую последовательность, указанную в таблице 2, таблице 4, таблице 5 или таблице 6, можно гибридизировать с
любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, указанную в
таблице 2 или таблице 3, при условии, что две последовательности содержат
состоящие из 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21 смежного нуклеотида участки
последовательности, которые являются комплементарными по меньшей мере на
85%.

Как показано в приведенной выше в таблице 5, некоторые приведенные в качестве примера нуклеотидные последовательности воздействующего на RAGE средства на основе РНКи дополнительно содержат реакционноспособные мостиковые группы, находящиеся на 5'-конце или на 3'-конце смысловой цепи, или на них обоих. Так, например, многие последовательности смысловых цепей
воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, представленные в
приведенной выше таблице 5, содержат мостиковую группу (TriAlk14),
находящуюся на 5'-конце нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления дополнительно или альтернативно могут содержаться
другие мостиковые группы, такие как мостиковая группа (NH₂-C₆) или
мостиковая группа (6-SS-6) или (C₆-SS-C₆). Такие реакционноспособные
мостиковые группы включают для содействия связыванию направленно
действующих лигандов, направленно действующих групп и/или модуляторов
ФК/ФД (фармакокинетические характеристики/фармакодинамические
характеристики) с воздействующими на RAGE средствами на основе РНКи,
раскрытыми в настоящем изобретении. Реакции связывания или
конъюгирования хорошо известны в данной области техники и с их помощью
обеспечивают образование ковалентных связей между двумя молекулами или
реагентами. Подходящие реакции конъюгирования, предназначенные для
использования в объеме настоящего изобретения, включают, но не
ограничиваются только ими, реакцию сочетания с образованием амида, реакцию
присоединения по Михаэлю, реакцию с образованием гидразона, реакцию
циклоприсоединения Дильса-Альдера с обращенными электронными
требованиями, лигирование с использованием оксима и катализируемую

медью(I) реакцию азид-алкинового циклоприсоединения, промотируемого напряжением цикла.

В некоторых вариантах осуществления направленно действующие лиганды, такие как лиганды, направленно действующие на интегрин, представленные в примерах и на чертежах, приведенных в настоящем изобретении, можно синтезировать в виде активированных сложных эфиров, таких как сложные тетрафторфениловые (ТФФ) эфиры, в которых сложноэфирную группу можно заменить на реакционноспособную аминогруппу (например, $\text{NH}_2\text{-C}_6$) для присоединения направленно действующего лиганда к воздействующим на RAGE средствам на основе РНКи, раскрытым в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления направленно действующие лиганды синтезируют в виде азидов, которые затем можно конъюгировать с пропаргильной группой (например, TriAlk14) или группой ДБЦО (дибензоциклооктин), например, по катализируемой медью(I) реакции азид-алкинового циклоприсоединения, промотируемого напряжением цикла.

Кроме того, можно синтезировать некоторые нуклеотидные последовательности, содержащие нуклеотид dT на 3'-конце смысловой цепи, после которого (3' → 5') расположен мостик (например, $\text{C}_6\text{-SS-C}_6$). В некоторых вариантах осуществления наличие мостика может способствовать связыванию с дополнительными компонентами, такими как, например, модулятор ФК/ФД или один или большее количество направленно действующих лигандов. Как описано в настоящем изобретении сначала проводят восстановление дисульфидной связи фрагмента $\text{C}_6\text{-SS-C}_6$, при этом dT отщепляют от молекулы, затем это может способствовать конъюгированию необходимого модулятора ФК/ФД. Поэтому концевой нуклеотид dT не является частью полностью конъюгированной конструкции.

В некоторых вариантах осуществления в антисмысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из последовательностей антисмысловых цепей, указанных в таблице 3 или таблице 10. В некоторых вариантах осуществления в смысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, 0, 1, 2

или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из последовательностей смысловых цепей, указанных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь
воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержит нуклеотидную
5 последовательность, соответствующую любой из последовательностей,
указанных в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах осуществления
антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи
содержит последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-конец → 3'-конец)
1-17, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21, 2-21, 1-22, 2-22, 1-23, 2-23, 1-24
10 или 2-24, содержащихся в любой из последовательностей, указанных в таблице
2, таблице 3 или таблице 10. В некоторых вариантах осуществления
антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи
содержит модифицированную последовательность, соответствующую любой из
модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3 или таблице
15 10, или состоит из нее.

В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего
на RAGE средства на основе РНКи содержит нуклеотидную последовательность,
соответствующую любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или
таблице 4. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь
20 воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержит
последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-конец → 3'-конец) 1-17, 2-
17, 3-17, 4-17, 1-18, 2-18, 3-18, 4-18, 1-19, 2-19, 3-19, 4-19, 1-20, 2-20, 3-20, 4-20,
1-21, 2-21, 3-21, 4-21, 1-22, 2-22, 3-22, 4-22, 1-23, 2-23, 3-23, 4-23, 1-24, 2-24, 3-24
или 4-24, содержащихся в любой из последовательностей, указанных в таблице
25 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10. В некоторых вариантах
осуществления смысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе
РНКи содержит модифицированную последовательность, соответствующую
любой из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4 или
таблице 10, или состоит из нее.

30 В средствах на основе РНКи, раскрытых в настоящем изобретении,
нуклеотид, находящийся в положении 1 антисмысловой цепи (в направлении 5'-
конец → 3'-конец), может являться совершенно комплементарным гену AGER
или он может не являться комплементарным гену AGER. В некоторых вариантах

осуществления нуклеотидом, находящимся в положении 1 антисмысловой цепи (в направлении 5'-конец → 3'-конец), является U, A или dT (или модифицированный вариант U, A или dT). В некоторых вариантах осуществления нуклеотид, находящийся в положении 1 антисмысловой цепи (в направлении 5'-конец → 3'-конец), образует пару оснований A:U или U:A со смысловой цепью.

В некоторых вариантах осуществления антисмысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержит последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-конец → 3'-конец) 2-18 или 2-19, содержащихся в любой из последовательностей антисмысловых цепей, указанных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10. В некоторых вариантах осуществления смысловая цепь воздействующего на RAGE средства на основе РНКи содержит последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-конец → 3'-конец) 1-17 или 1-18, содержащихся в любой из последовательностей смысловых цепей, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает (i) антисмысловую цепь, содержащую последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-конец → 3'-конец) 2-18 или 2-19, содержащихся в любой из последовательностей антисмысловых цепей, указанных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10, и (ii) смысловую цепь, содержащую последовательность нуклеотидов (в направлении 5'-конец → 3'-конец) 1-17 или 1-18, содержащихся в любой из последовательностей смысловых цепей, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

Смысловые цепи, содержащие последовательности, указанные в таблице 2 или таблице 4, можно гибридизировать с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 3 при условии, что две последовательности содержат состоящие из 16, 17, 18, 19, 20 или 21 смежного нуклеотида участки последовательности, которые являются комплементарными по меньшей мере на 85%. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает смысловую цепь, содержащую модифицированную последовательность, соответствующую любой из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую

цепь, содержащую модифицированную последовательность, соответствующую
любой из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3 или
таблице 10. Некоторые типичные пары последовательностей, обозначенные с
помощью идентификационных номеров дуплексов, приведены в таблицах 7А,
5 7Б, 8, 9А и 9Б.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство
на основе РНКи включает дуплекс, обозначенный любым из
идентификационных номеров дуплексов, приведенных в настоящем
изобретении, состоит из него или в основном состоит из него. В некоторых
10 вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи
состоит из дуплекса, обозначенного любым из идентификационных номеров
дуплексов, приведенных в настоящем изобретении. В некоторых вариантах
осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает
нуклеотидные последовательности смысловых цепей и антисмысловых цепей,
15 соответствующие дуплексу, обозначенному любым из идентификационных
номеров дуплексов, приведенных в настоящем изобретении. В некоторых
вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи
включает нуклеотидные последовательности смысловых цепей и антисмысловых
цепей, соответствующие дуплексу, обозначенному любым из
20 идентификационных номеров дуплексов, приведенных в настоящем
изобретении, и направленно действующую группу, мостиковую группу и/или
другую не являющуюся нуклеотидом группу, где направленно действующая
группа, мостиковая группа и/или не являющаяся нуклеотидом группа
ковалентно связана (т. е. конъюгирована) со смысловой цепью или
25 антисмысловой цепью. В некоторых вариантах осуществления воздействующее
на RAGE средство на основе РНКи включает модифицированные нуклеотидные
последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи, соответствующие
дуплексу, обозначенному любым из идентификационных номеров дуплексов,
приведенных в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления
30 воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает
модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой цепи и
антисмысловой цепи, соответствующие дуплексу, обозначенному любым из
идентификационных номеров дуплексов, приведенных в настоящем

изобретении, и направленно действующую группу, мостиковую группу и/или другую не являющуюся нуклеотидом группу, где направленно действующая группа, мостиковая группа и/или не являющаяся нуклеотидом группа ковалентно связана со смысловой цепью или антисмысловой цепью.

5 В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, содержащие нуклеотидные последовательности, соответствующие любому из дуплексов антисмысловая цепь/смысловая цепь, указанных в таблицах 2, 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б или 10, и включает направленно действующую группу. В некоторых вариантах
10 осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, содержащие нуклеотидные последовательности, соответствующие любому из дуплексов антисмысловая цепь/смысловая цепь, указанных в таблицах 2, 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б или 10, и включает один или большее количество лигандов, направленно действующих на
15 интегрин $\alpha\upsilon\beta6$.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, содержащие нуклеотидные последовательности, соответствующие любому из дуплексов антисмысловая цепь/смысловая цепь, указанных в таблицах 2, 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б
20 или 10, и включает направленно действующую группу, которой является лиганд, направленно действующий на интегрин. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, содержащие нуклеотидные последовательности, соответствующие любому из дуплексов антисмысловая цепь/смысловая цепь,
25 указанных в таблицах 2, 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б или 10, и включает один или большее количество лигандов, направленно действующих на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, или кластеров лигандов, направленно действующих на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ (например, тридентатный лиганд, направленно действующий на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$).

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство
30 на основе РНКи включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, содержащие модифицированные нуклеотидные последовательности, соответствующие любому из дуплексов антисмысловая цепь/смысловая цепь, указанных в таблицах 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б и 10.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, содержащие модифицированные нуклеотидные последовательности, соответствующие любому из дуплексов антисмысловая цепь/смысловая цепь, указанных в таблицах 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б и 10, и включает лиганд, направленно действующий на интегрин.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи включает любой из дуплексов, указанных в таблицах 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б и 10, состоит из них или в основном состоит из них.

Таблица 7А. Дуплексы воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, а также идентификационные номера соответствующих смысловых и антисмысловых цепей и идентификационные номера модифицированных и немодифицированных нуклеотидных последовательностей (представлены без мостиков или конъюгатов)

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ*	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ**	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
AD07474	AM10308-AS	2	7	AM10307-SS-NL	13	19
AD07475	AM10309-AS	3	7	AM10307-SS-NL	13	19
AD07476	AM10311-AS	543	801	AM10310-SS-NL	623	839
AD07477	AM10312-AS	544	801	AM10310-SS-NL	623	839
AD07478	AM10314-AS	545	802	AM10313-SS-NL	624	840
AD07479	AM10315-AS	546	802	AM10313-SS-NL	624	840
AD07480	AM10317-AS	547	803	AM10316-SS-NL	625	841
AD07481	AM10318-AS	548	803	AM10316-SS-NL	625	841
AD07559	AM10467-AS	549	804	AM10466-SS-NL	626	842
AD07560	AM10469-AS	550	805	AM10468-SS-NL	627	843
AD07561	AM10471-AS	551	806	AM10470-SS-NL	628	844
AD07562	AM10473-AS	552	807	AM10472-SS-NL	629	845
AD07563	AM10475-AS	553	808	AM10474-SS-NL	630	846
AD07564	AM10477-AS	554	809	AM10476-SS-NL	631	847
AD07565	AM10479-AS	555	810	AM10478-SS-NL	632	848
AD07566	AM10481-AS	556	811	AM10480-SS-NL	633	849

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ*	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ**	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
AD07567	AM10483-AS	557	812	AM10482-SS-NL	634	850
AD07621	AM10571-AS	558	813	AM10570-SS-NL	635	851
AD07622	AM10573-AS	559	813	AM10572-SS-NL	636	852
AD07623	AM10575-AS	560	814	AM10574-SS-NL	637	853
AD07624	AM10575-AS	560	814	AM10576-SS-NL	638	854
AD07661	AM10308-AS	2	7	AM10644-SS-NL	13	19
AD07700	AM10717-AS	561	815	AM10716-SS-NL	640	855
AD07701	AM10308-AS	2	7	AM10718-SS-NL	641	856
AD07702	AM10308-AS	2	7	AM10719-SS-NL	642	857
AD07703	AM10720-AS	562	7	AM10307-SS-NL	13	19
AD07704	AM10308-AS	2	7	AM10721-SS-NL	643	858
AD07705	AM10722-AS	563	7	AM10307-SS-NL	13	19
AD07706	AM10723-AS	564	7	AM10307-SS-NL	13	19
AD07707	AM10724-AS	565	7	AM10307-SS-NL	13	19
AD07708	AM10723-AS	564	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD07715	AM10317-AS	547	803	AM10737-SS-NL	645	841
AD07725	AM10752-AS	566	9	AM10751-SS-NL	646	20
AD07726	AM10754-AS	4	8	AM10753-SS-NL	15	21
AD07727	AM10756-AS	568	818	AM10755-SS-NL	648	861
AD07728	AM10758-AS	569	819	AM10757-SS-NL	649	862
AD07729	AM10760-AS	570	820	AM10759-SS-NL	650	863
AD07730	AM10762-AS	571	821	AM10761-SS-NL	651	864
AD07736	AM10774-AS	572	822	AM10773-SS-NL	652	865
AD07737	AM10776-AS	573	823	AM10775-SS-NL	653	866
AD07738	AM10778-AS	574	824	AM10777-SS-NL	654	867
AD07739	AM10780-AS	575	825	AM10779-SS-NL	655	868
AD07740	AM10782-AS	576	826	AM10781-SS-NL	656	869
AD07741	AM10784-AS	577	827	AM10783-SS-NL	657	870
AD07742	AM10786-AS	578	828	AM10785-SS-NL	658	871

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ*	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ**	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
AD07743	AM10788-AS	579	829	AM10787-SS-NL	659	872
AD07972	AM11103-AS	580	7	AM10307-SS-NL	13	19
AD07973	AM11104-AS	581	7	AM10307-SS-NL	13	19
AD07974	AM11104-AS	581	7	AM11105-SS-NL	660	19
AD07975	AM11104-AS	581	7	AM11106-SS-NL	13	19
AD07976	AM11104-AS	581	7	AM11107-SS-NL	662	19
AD08030	AM10309-AS	3	7	AM10721-SS-NL	643	858
AD08031	AM11188-AS	582	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD08032	AM10723-AS	564	7	AM11189-SS-NL	663	858
AD08033	AM11188-AS	582	7	AM11189-SS-NL	663	858
AD08034	AM11190-AS	583	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD08035	AM11191-AS	584	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD08036	AM11192-AS	585	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD08037	AM11194-AS	586	815	AM11193-SS-NL	664	855
AD08038	AM11196-AS	587	830	AM11195-SS-NL	665	873
AD08039	AM10723-AS	564	7	AM11197-SS-NL	666	874
AD08258	AM10309-AS	3	7	AM11512-SS-NL	667	19
AD08259	AM10309-AS	3	7	AM11513-SS-NL	13	19
AD08260	AM10309-AS	3	7	AM11514-SS-NL	13	19
AD08261	AM10309-AS	3	7	AM11515-SS-NL	670	19
AD08262	AM10309-AS	3	7	AM11516-SS-NL	13	19
AD08263	AM10309-AS	3	7	AM11517-SS-NL	672	19
AD08432	AM11757-AS	588	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD08433	AM11758-AS	589	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD08434	AM11759-AS	590	815	AM11193-SS-NL	664	855
AD08435	AM11760-AS	591	815	AM11193-SS-NL	664	855
AD08436	AM11761-AS	592	815	AM11193-SS-NL	664	855
AD08437	AM11762-AS	593	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD08438	AM11763-AS	594	815	AM11193-SS-NL	664	855

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ*	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ**	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
AD08439	AM11764-AS	595	815	AM11193-SS-NL	664	855
AD08510	AM11889-AS	596	831	AM11888-SS-NL	673	875
AD08511	AM11889-AS	596	831	AM11890-SS-NL	674	876
AD08512	AM11892-AS	597	832	AM11891-SS-NL	675	877
AD08513	AM11894-AS	598	833	AM11893-SS-NL	676	878
AD08514	AM11895-AS	599	9	AM10751-SS-NL	646	20
AD08515	AM11897-AS	5	9	AM11896-SS-NL	677	20
AD08516	AM11898-AS	6	9	AM11896-SS-NL	677	20
AD08517	AM11898-AS	6	9	AM11899-SS-NL	678	879
AD08518	AM11897-AS	5	9	AM11900-SS-NL	14	20
AD08519	AM11898-AS	6	9	AM11900-SS-NL	14	20
AD08520	AM11897-AS	5	9	AM11901-SS-NL	680	20
AD08521	AM11898-AS	6	9	AM11901-SS-NL	680	20
AD08711	AM12234-AS	602	8	AM10753-SS-NL	15	21
AD08712	AM12236-AS	603	8	AM12235-SS-NL	681	21
AD08713	AM12237-AS	604	8	AM12235-SS-NL	681	21
AD08714	AM12236-AS	603	8	AM12238-SS-NL	682	880
AD08715	AM12236-AS	603	8	AM12239-SS-NL	683	881
AD08716	AM12240-AS	605	8	AM12238-SS-NL	682	880
AD08717	AM12241-AS	606	8	AM12238-SS-NL	682	880
AD08718	AM12236-AS	603	8	AM12242-SS-NL	684	882
AD08719	AM12236-AS	603	8	AM12243-SS-NL	685	883
AD08720	AM12245-AS	607	834	AM12244-SS-NL	686	884
AD08898	AM10309-AS	3	7	AM10644-SS-NL	13	19
AD08944	AM12593-AS	608	835	AM12592-SS-NL	687	885
AD08945	AM12594-AS	609	9	AM11900-SS-NL	14	20
AD08946	AM12596-AS	610	836	AM12595-SS-NL	688	886
AD08947	AM11897-AS	5	9	AM12597-SS-NL	689	20
AD09051	AM10754-AS	4	8	AM12754-SS-NL	690	880

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ*	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ**	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
AD09052	AM12234-AS	602	8	AM12754-SS-NL	690	880
AD09053	AM12236-AS	603	8	AM10753-SS-NL	15	21
AD09054	AM10754-AS	4	8	AM12235-SS-NL	681	21
AD09055	AM12755-AS	611	8	AM12235-SS-NL	681	21
AD09056	AM12756-AS	612	8	AM12235-SS-NL	681	21
AD09057	AM12757-AS	613	8	AM12235-SS-NL	681	21
AD09150	AM11897-AS	5	9	AM12910-SS-NL	14	20
AD09151	AM11898-AS	6	9	AM12910-SS-NL	14	20
AD09152	AM10754-AS	4	8	AM12911-SS-NL	15	21
AD09797	AM10309-AS	3	7	AM13987-SS-NL	13	19
AD09868	AM10308-AS	2	7	AM13987-SS-NL	13	19
AD09870	AM14090-AS	614	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD09871	AM14091-AS	615	7	AM10725-SS-NL	644	19
AD09872	AM14091-AS	615	7	AM14092-SS-NL	694	19
AD09873	AM14093-AS	616	9	AM11900-SS-NL	14	20
AD09874	AM14094-AS	617	9	AM11900-SS-NL	14	20
AD09875	AM14095-AS	618	9	AM11900-SS-NL	14	20
AD09876	AM14095-AS	618	9	AM12597-SS-NL	689	20
AD09877	AM14095-AS	618	9	AM11896-SS-NL	677	20
AD10543	AM15021-AS	619	830	AM11195-SS-NL	665	873
AD11078	AM15767-AS	620	837	AM15766-SS-NL	695	887
AD11080	AM15770-AS	621	801	AM10310-SS-NL	623	839
AD11353	AM10309-AS	3	7	AM16133-SS-NL	13	19

*АСЦ - антисмысловая цепь

**СЦ - смысловая цепь

Таблица 7Б. Дуплексы воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, а также идентификационные номера соответствующих смысловых и антисмысловых цепей и идентификационные номера модифицированных и немодифицированных нуклеотидных последовательностей

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
AD07474	AM10308-AS	2	7	AM10307-SS	16	19
AD07475	AM10309-AS	3	7	AM10307-SS	16	19
AD07476	AM10311-AS	543	801	AM10310-SS	698	839
AD07477	AM10312-AS	544	801	AM10310-SS	698	839
AD07478	AM10314-AS	545	802	AM10313-SS	699	840
AD07479	AM10315-AS	546	802	AM10313-SS	699	840
AD07480	AM10317-AS	547	803	AM10316-SS	700	841
AD07481	AM10318-AS	548	803	AM10316-SS	700	841
AD07559	AM10467-AS	549	804	AM10466-SS	701	842
AD07560	AM10469-AS	550	805	AM10468-SS	702	843
AD07561	AM10471-AS	551	806	AM10470-SS	703	844
AD07562	AM10473-AS	552	807	AM10472-SS	704	845
AD07563	AM10475-AS	553	808	AM10474-SS	705	846
AD07564	AM10477-AS	554	809	AM10476-SS	706	847
AD07565	AM10479-AS	555	810	AM10478-SS	707	848
AD07566	AM10481-AS	556	811	AM10480-SS	708	849
AD07567	AM10483-AS	557	812	AM10482-SS	709	850
AD07621	AM10571-AS	558	813	AM10570-SS	710	851
AD07622	AM10573-AS	559	813	AM10572-SS	711	852
AD07623	AM10575-AS	560	814	AM10574-SS	712	853
AD07624	AM10575-AS	560	814	AM10576-SS	713	854
AD07661	AM10308-AS	2	7	AM10644-SS	16	19
AD07700	AM10717-AS	561	815	AM10716-SS	715	855
AD07701	AM10308-AS	2	7	AM10718-SS	716	856
AD07702	AM10308-AS	2	7	AM10719-SS	717	857
AD07703	AM10720-AS	562	7	AM10307-SS	16	19
AD07704	AM10308-AS	2	7	AM10721-SS	718	858
AD07705	AM10722-AS	563	7	AM10307-SS	16	19
AD07706	AM10723-AS	564	7	AM10307-SS	16	19
AD07707	AM10724-AS	565	7	AM10307-SS	16	19
AD07708	AM10723-AS	564	7	AM10725-SS	719	19
AD07715	AM10317-AS	547	803	AM10737-SS	720	841
AD07725	AM10752-AS	566	9	AM10751-SS	721	20
AD07726	AM10754-AS	4	8	AM10753-SS	18	21
AD07727	AM10756-AS	568	818	AM10755-SS	723	861
AD07728	AM10758-AS	569	819	AM10757-SS	724	862
AD07729	AM10760-AS	570	820	AM10759-SS	725	863
AD07730	AM10762-AS	571	821	AM10761-SS	726	864
AD07736	AM10774-AS	572	822	AM10773-SS	727	865
AD07737	AM10776-AS	573	823	AM10775-SS	728	866
AD07738	AM10778-AS	574	824	AM10777-SS	729	867
AD07739	AM10780-AS	575	825	AM10779-SS	730	868
AD07740	AM10782-AS	576	826	AM10781-SS	731	869
AD07741	AM10784-AS	577	827	AM10783-SS	732	870
AD07742	AM10786-AS	578	828	AM10785-SS	733	871
AD07743	AM10788-AS	579	829	AM10787-SS	734	872
AD07972	AM11103-AS	580	7	AM10307-SS	16	19
AD07973	AM11104-AS	581	7	AM10307-SS	16	19
AD07974	AM11104-AS	581	7	AM11105-SS	735	19

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
AD07975	AM11104-AS	581	7	AM11106-SS	736	19
AD07976	AM11104-AS	581	7	AM11107-SS	737	19
AD08030	AM10309-AS	3	7	AM10721-SS	718	858
AD08031	AM11188-AS	582	7	AM10725-SS	719	19
AD08032	AM10723-AS	564	7	AM11189-SS	738	858
AD08033	AM11188-AS	582	7	AM11189-SS	738	858
AD08034	AM11190-AS	583	7	AM10725-SS	719	19
AD08035	AM11191-AS	584	7	AM10725-SS	719	19
AD08036	AM11192-AS	585	7	AM10725-SS	719	19
AD08037	AM11194-AS	586	815	AM11193-SS	739	855
AD08038	AM11196-AS	587	830	AM11195-SS	740	873
AD08039	AM10723-AS	564	7	AM11197-SS	741	874
AD08258	AM10309-AS	3	7	AM11512-SS	742	19
AD08259	AM10309-AS	3	7	AM11513-SS	16	19
AD08260	AM10309-AS	3	7	AM11514-SS	16	19
AD08261	AM10309-AS	3	7	AM11515-SS	745	19
AD08262	AM10309-AS	3	7	AM11516-SS	16	19
AD08263	AM10309-AS	3	7	AM11517-SS	747	19
AD08432	AM11757-AS	588	7	AM10725-SS	719	19
AD08433	AM11758-AS	589	7	AM10725-SS	719	19
AD08434	AM11759-AS	590	815	AM11193-SS	739	855
AD08435	AM11760-AS	591	815	AM11193-SS	739	855
AD08436	AM11761-AS	592	815	AM11193-SS	739	855
AD08437	AM11762-AS	593	7	AM10725-SS	719	19
AD08438	AM11763-AS	594	815	AM11193-SS	739	855
AD08439	AM11764-AS	595	815	AM11193-SS	739	855
AD08510	AM11889-AS	596	831	AM11888-SS	748	875
AD08511	AM11889-AS	596	831	AM11890-SS	749	876
AD08512	AM11892-AS	597	832	AM11891-SS	750	877
AD08513	AM11894-AS	598	833	AM11893-SS	751	878
AD08514	AM11895-AS	599	9	AM10751-SS	721	20
AD08515	AM11897-AS	5	9	AM11896-SS	752	20
AD08516	AM11898-AS	6	9	AM11896-SS	752	20
AD08517	AM11898-AS	6	9	AM11899-SS	753	879
AD08518	AM11897-AS	5	9	AM11900-SS	17	20
AD08519	AM11898-AS	6	9	AM11900-SS	17	20
AD08520	AM11897-AS	5	9	AM11901-SS	755	20
AD08521	AM11898-AS	6	9	AM11901-SS	755	20
AD08711	AM12234-AS	602	8	AM10753-SS	18	21
AD08712	AM12236-AS	603	8	AM12235-SS	756	21
AD08713	AM12237-AS	604	8	AM12235-SS	756	21
AD08714	AM12236-AS	603	8	AM12238-SS	757	880
AD08715	AM12236-AS	603	8	AM12239-SS	758	881
AD08716	AM12240-AS	605	8	AM12238-SS	757	880
AD08717	AM12241-AS	606	8	AM12238-SS	757	880
AD08718	AM12236-AS	603	8	AM12242-SS	759	882
AD08719	AM12236-AS	603	8	AM12243-SS	760	883
AD08720	AM12245-AS	607	834	AM12244-SS	761	884
AD08898	AM10309-AS	3	7	AM10644-SS	16	19
AD08944	AM12593-AS	608	835	AM12592-SS	762	885
AD08945	AM12594-AS	609	9	AM11900-SS	17	20
AD08946	AM12596-AS	610	836	AM12595-SS	763	886
AD08947	AM11897-AS	5	9	AM12597-SS	764	20
AD09051	AM10754-AS	4	8	AM12754-SS	765	880
AD09052	AM12234-AS	602	8	AM12754-SS	765	880
AD09053	AM12236-AS	603	8	AM10753-SS	18	21

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
AD09054	AM10754-AS	4	8	AM12235-SS	756	21
AD09055	AM12755-AS	611	8	AM12235-SS	756	21
AD09056	AM12756-AS	612	8	AM12235-SS	756	21
AD09057	AM12757-AS	613	8	AM12235-SS	756	21
AD09150	AM11897-AS	5	9	AM12910-SS	17	20
AD09151	AM11898-AS	6	9	AM12910-SS	17	20
AD09152	AM10754-AS	4	8	AM12911-SS	18	21
AD09797	AM10309-AS	3	7	AM13987-SS	16	19
AD09868	AM10308-AS	2	7	AM13987-SS	16	19
AD09870	AM14090-AS	614	7	AM10725-SS	719	19
AD09871	AM14091-AS	615	7	AM10725-SS	719	19
AD09872	AM14091-AS	615	7	AM14092-SS	769	19
AD09873	AM14093-AS	616	9	AM11900-SS	17	20
AD09874	AM14094-AS	617	9	AM11900-SS	17	20
AD09875	AM14095-AS	618	9	AM11900-SS	17	20
AD09876	AM14095-AS	618	9	AM12597-SS	764	20
AD09877	AM14095-AS	618	9	AM11896-SS	752	20
AD10543	AM15021-AS	619	830	AM11195-SS	740	873
AD11078	AM15767-AS	620	837	AM15766-SS	770	887
AD11080	AM15770-AS	621	801	AM10310-SS	698	839
AD11353	AM10309-AS	3	7	AM16133-SS	771	19

Таблица 8. Дуплексы воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, а также идентификационные номера соответствующих смысловых и антисмысловых цепей и идентификационные номера модифицированных и немодифицированных нуклеотидных последовательностей (представлены в виде конъюгатов с направленно действующими лигандами)

5

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
AC000286	AM10308-AS	2	7	CS000363	10	19
AC000287	AM10309-AS	3	7	CS000363	10	19
AC000288	AM11103-AS	580	7	CS000363	10	19
AC000289	AM11104-AS	581	7	CS000363	10	19
AC000290	AM11104-AS	581	7	CS000368	773	19
AC000291	AM11104-AS	581	7	CS000369	774	19
AC000292	AM10309-AS	3	7	CS000363	10	19
AC000293	AM11103-AS	580	7	CS000363	10	19
AC000294	AM11104-AS	581	7	CS000363	10	19
AC000312	AM11104-AS	581	7	CS000386	775	19
AC000414	AM11188-AS	582	7	CS000497	776	858
AC000415	AM11190-AS	583	7	CS000499	777	19
AC000416	AM11191-AS	584	7	CS000499	777	19
AC000417	AM11192-AS	585	7	CS000499	777	19
AC000418	AM11194-AS	586	815	CS000503	778	855
AC000419	AM11196-AS	587	830	CS000505	779	873
AC000420	AM10723-AS	564	7	CS000507	780	874
AC000438	AM10308-AS	2	7	CS000531	781	858
AC000439	AM10723-AS	564	7	CS000499	777	19
AC000440	AM10309-AS	3	7	CS000531	781	858
AC000441	AM11188-AS	582	7	CS000499	777	19

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ	Модифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная АСЦ, SEQ ID NO:	Идентификационный номер СЦ	Модифицированная СЦ, SEQ ID NO:	Немодифицированная СЦ, SEQ ID NO:
АС000442	AM10723-AS	564	7	CS000497	776	858
АС000549	AM10309-AS	3	7	CS000672	782	19
АС000550	AM10309-AS	3	7	CS000673	783	19
АС000551	AM10309-AS	3	7	CS000674	784	19
АС000552	AM10309-AS	3	7	CS000675	785	19
АС000567	AM10309-AS	3	7	CS000690	786	19
АС000568	AM10309-AS	3	7	CS000691	787	19
АС000790	AM10717-AS	561	815	CS000986	788	855
АС000791	AM10308-AS	2	7	CS000988	789	856
АС000792	AM10308-AS	2	7	CS000989	790	857
АС000793	AM10720-AS	562	7	CS000363	10	19
АС000794	AM10722-AS	563	7	CS000363	10	19
АС000795	AM10723-AS	564	7	CS000363	10	19
АС000796	AM10724-AS	565	7	CS000363	10	19
АС000818	AM10311-AS	543	801	CS001021	791	839
АС000819	AM10312-AS	544	801	CS001021	791	839
АС000820	AM10314-AS	545	802	CS001024	792	840
АС000821	AM10315-AS	546	802	CS001024	792	840
АС000822	AM10317-AS	547	803	CS001027	793	841
АС000823	AM10318-AS	548	803	CS001027	793	841
АС001134	AM11762-AS	593	7	CS000499	777	19
АС001266	AM11897-AS	5	9	CS001579	11	20
АС001267	AM11898-AS	6	9	CS001579	11	20
АС001268	AM10754-AS	4	8	CS001582	12	21
АС001274	AM11757-AS	588	7	CS000499	777	19
АС001653	AM14090-AS	614	7	CS000499	777	19
АС001654	AM14091-AS	615	7	CS000499	777	19
АС001655	AM14091-AS	615	7	CS002138	796	19
АС001877	AM11897-AS	5	9	CS002399	797	20
АС002047	AM15021-AS	619	830	CS000505	779	873
АС002345	AM15767-AS	620	837	CS002976	798	887
АС002347	AM15770-AS	621	801	CS001021	791	839
АС002399	AM10309-AS	3	7	CS003048	799	19

Таблица 9А. Идентификационные номера конъюгатов дуплексов с указанием целевого положения в гене AGER (RAGE)

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ	Идентификационный номер АСЦ	Целевое положение в гене AGER (в SEQ ID NO: 1)
АС000286	AM10308-AS	CS000363	177
АС000287	AM10309-AS	CS000363	177
АС000288	AM11103-AS	CS000363	177
АС000289	AM11104-AS	CS000363	177
АС000290	AM11104-AS	CS000368	177
АС000291	AM11104-AS	CS000369	177
АС000292	AM10309-AS	CS000363	177
АС000293	AM11103-AS	CS000363	177
АС000294	AM11104-AS	CS000363	177
АС000312	AM11104-AS	CS000386	177
АС000414	AM11188-AS	CS000497	177
АС000415	AM11190-AS	CS000499	177
АС000416	AM11191-AS	CS000499	177

Дуплекс	Идентификационный номер АСЦ	Идентификационный номер АСЦ	Целевое положение в гене AGER (в SEQ ID NO:1)
AC000417	AM11192-AS	CS000499	177
AC000418	AM11194-AS	CS000503	177
AC000419	AM11196-AS	CS000505	177
AC000420	AM10723-AS	CS000507	177
AC000438	AM10308-AS	CS000531	177
AC000439	AM10723-AS	CS000499	177
AC000440	AM10309-AS	CS000531	177
AC000441	AM11188-AS	CS000499	177
AC000442	AM10723-AS	CS000497	177
AC000549	AM10309-AS	CS000672	177
AC000550	AM10309-AS	CS000673	177
AC000551	AM10309-AS	CS000674	177
AC000552	AM10309-AS	CS000675	177
AC000567	AM10309-AS	CS000690	177
AC000568	AM10309-AS	CS000691	177
AC000790	AM10717-AS	CS000986	177
AC000791	AM10308-AS	CS000988	177
AC000792	AM10308-AS	CS000989	177
AC000793	AM10720-AS	CS000363	177
AC000794	AM10722-AS	CS000363	177
AC000795	AM10723-AS	CS000363	177
AC000796	AM10724-AS	CS000363	177
AC000818	AM10311-AS	CS001021	178
AC000819	AM10312-AS	CS001021	178
AC000820	AM10314-AS	CS001024	384
AC000821	AM10315-AS	CS001024	384
AC000822	AM10317-AS	CS001027	391
AC000823	AM10318-AS	CS001027	391
AC001134	AM11762-AS	CS000499	177
AC001266	AM11897-AS	CS001579	90
AC001267	AM11898-AS	CS001579	90
AC001268	AM10754-AS	CS001582	330
AC001274	AM11757-AS	CS000499	177
AC001653	AM14090-AS	CS000499	177
AC001654	AM14091-AS	CS000499	177
AC001655	AM14091-AS	CS002138	177
AC001877	AM11897-AS	CS002399	90
AC002047	AM15021-AS	CS000505	177
AC002345	AM15767-AS	CS002976	392
AC002347	AM15770-AS	CS001021	178
AC002399	AM10309-AS	CS003048	177

Таблица 9Б. Идентификационные номера конъюгатов и соответствующие идентификационные номера AD дуплексов с указанием целевого положения в гене RAGE (AGER)

Номер AC дуплекса	Соответствующий номер AD дуплекса	Целевое положение в гене AGER (в SEQ ID NO:1)
AC000286	AD07474	177
AC000287	AD07475	177
AC000288	AD07972	177
AC000289	AD07973	177
AC000290	AD07974	177
AC000291	AD07975	177
AC000292	AD07475	177
AC000293	AD07972	177
AC000294	AD07973	177
AC000312	AD07976	177
AC000414	AD08033	177
AC000415	AD08034	177
AC000416	AD08035	177
AC000417	AD08036	177
AC000418	AD08037	177
AC000419	AD08038	177
AC000420	AD08039	177
AC000438	AD07704	177
AC000439	AD07708	177
AC000440	AD08030	177
AC000441	AD08031	177
AC000442	AD08032	177
AC000549	AD08260	177
AC000550	AD08261	177
AC000551	AD08262	177
AC000552	AD08263	177
AC000567	AD08260	177
AC000568	AD08261	177
AC000790	AD07700	177
AC000791	AD07701	177
AC000792	AD07702	177
AC000793	AD07703	177
AC000794	AD07705	177
AC000795	AD07706	177
AC000796	AD07707	177
AC000818	AD07476	178
AC000819	AD07477	178
AC000820	AD07478	384
AC000821	AD07479	384
AC000822	AD07480	391
AC000823	AD07481	391

Номер AC дуплекса	Соответствующий номер AD дуплекса	Целевое положение в гене AGER (в SEQ ID NO:1)
AC001134	AD08437	177
AC001266	AD09150	90
AC001267	AD09151	90
AC001268	AD09152	330
AC001274	AD08432	177
AC001653	AD09870	177
AC001654	AD09871	177
AC001655	AD09872	177
AC001877	AD10075	90
AC002047	AD10543	177
AC002345	AD11078	392
AC002347	AD11080	178
AC002399	AD11353	177

Таблица 10. Идентификационные номера конъюгатов, содержащих химически модифицированные антисмысловые и смысловые цепи (включая мостики и конъюгаты)

Идентификационный номер АС	Смысловая цепь (полностью модифицированная, конъюгированная с направленно действующим лигандом) (5' → 3')	SEQ ID NO:	Антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO:
AC000286	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	10	usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	2
AC000287	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	10	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3
AC000288	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	10	cPrpusUfgUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	580
AC000289	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	10	cPrpuUfgUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	581
AC000290	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)cggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	773	cPrpuUfgUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	581
AC000291	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	774	cPrpuUfgUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	581
AC000292	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	10	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3
AC000293	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	10	cPrpusUfgUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	580
AC000294	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	10	cPrpuUfgUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	581
AC000312	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)cggauggAfAfAfcugaacacaa(invAb)	775	cPrpuUfgUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	581
AC000414	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaauacaas(invAb)	776	cPrpusUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsg	582
AC000415	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	usUfsgsuguuC _{UNA} aguUfuCfcAfuuccsg	583
AC000416	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	usUfsgsuguU _{UNA} caguUfuCfcAfuuccsg	584
AC000417	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	usUfsgsugU _{UNA} caguUfuCfcAfuuccsg	585
AC000418	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)gsggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	778	usUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsc	586
AC000419	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)usggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	779	usUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsa	587
AC000420	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggaauGfgAfa ₂ Nafcugaacacaas(invAb)	780	usUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsg	564
AC000438	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaauacaas(invAb)	781	usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	2
AC000439	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	usUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsg	564
AC000440	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggauggAfAfAfcugaauacaas(invAb)	781	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3
AC000441	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	cPrpusUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsg	582
AC000442	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaauacaas(invAb)	776	usUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsg	564
AC000549	$\alpha\beta$ 6-SM6.1-L6-C6-csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	782	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3
AC000550	$\alpha\beta$ 6-SM6.1-L6-C6s-(invAb)scggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	783	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3
AC000551	$\alpha\beta$ 6-SM6.1-Alk-cyHex-csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	784	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3
AC000552	$\alpha\beta$ 6-SM6.1-Alk-cyHexs-(invAb)scggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	785	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3
AC000567	$\alpha\beta$ 6-pep1-C6-csggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	786	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3
AC000568	$\alpha\beta$ 6-pep1-C6s-(invAb)scggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	787	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3
AC000790	Tri-SM6.1- $\alpha\beta$ 6-(TA14)gsggauggAfAfAfcugaacacaas(invAb)	788	usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsc	561

Идентификационный номер AC	Смысловая цепь (полностью модифицированная, конъюгированная с направленно действующим лигандом) (5' → 3')	SEQ ID NO:	Антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO:
AC000791	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	789	usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	2
AC000792	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfAfa_2NAfcuiaacacaas(invAb)	790	usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	2
AC000793	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	10	usUfsgsUfgUfuU _{UNA} CfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	562
AC000794	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	10	usUfsgsUfgUfucaguUfuCfcAfuUfcCfsg	563
AC000795	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	10	usUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsg	564
AC000796	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	10	usUfsgsuguucaGfuUfuCfcAfuuccsg	565
AC000818	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)gsgaauGfAfaCfugaacacaias(invAb)	791	usCfsusGfuGfuUfcAfgUfuUfcCfaUfuCfsc	543
AC000819	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)gsgaauGfAfaCfugaacacaias(invAb)	791	cPrpusCfsusGfuGfuUfcAfgUfuUfcCfaUfuCfsc	544
AC000820	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)asccagauUcCfUfgggaiccaas(invAb)	792	usUfsgsGfcUfuCfcCfaGfgAfaUfcUfgGfsu	545
AC000821	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)asccagauUcCfUfgggaiccaas(invAb)	792	cPrpusUfsgsGfcUfuCfcCfaGfgAfaUfcUfgGfsu	546
AC000822	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)usccuggaAfGfCfcagaaauugus(invAb)	793	asCfsasAfuUfuCfuGfgCfuUfcCfcAfgGfsa	547
AC000823	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)usccuggaAfGfCfcagaaauugus(invAb)	793	cPrpasCfsasAfuUfuCfuGfgCfuUfcCfcAfgGfsa	548
AC001134	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	cPrpusUfsgsuguUUNAcaguUfuCfcAfuuccsg	593
AC001266	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)gsaguagGfuGfcUfcaaaacaucas(invAb)	11	usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc	5
AC001267	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)gsaguagGfuGfcUfcaaaacaucas(invAb)	11	cPrpusGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc	6
AC001268	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)asggcauGfAfaCfaggaauigaas(invAb)	12	usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu	4
AC001274	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	cPrpuUfguguucaguUfuCfcAfuuccsg	588
AC001653	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	usUfsgsUfguucaguUfuCfcAfuuccsg	614
AC001654	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	777	usUfsgsuguUfcaguUfuCfcAfuuccsg	615
AC001655	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)csggaauGfAfaUfgaacaas(invAb)	796	usUfsgsuguUfcaguUfuCfcAfuuccsg	615
AC001877	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)gsaguagGfuGfcUfcaaaacauca(invAb)	797	usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc	5
AC002047	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)usggaauGfgAfaAfcugaacacaas(invAb)	779	cPrpusUfsgsuguucaguUfuCfcAfuuccsa	619
AC002345	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)cscuggaaGfCfCfagaaauguas(invAb)	798	cPrpusAfsasAfaUfuucugGfcUfuCfcCfagsg	620
AC002347	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)gsgaauGfAfaCfugaacacaias(invAb)	791	cPrpusCfsusGfuGfuucagUfuUfcCfaUfucsc	621
AC002399	Tri-SM6.1- α v β 6-(TA14)scsggaauGfAfaAfcugaacacaas(invAb)	799	cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg	3

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи получают или предоставляют в виде соли, смешанной соли или свободной кислоты. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи получают или предоставляют в виде

5 фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи получают или предоставляют в виде фармацевтически приемлемой натриевой или калиевой соли. После доставки средств на основе РНКи, описанных в настоящем изобретении, в клетку, экспрессирующую ген *AGER*, они подавляют или

10 устраняют экспрессию одного или большего количества генов *AGER in vivo* и/или *in vitro*.

Направленно действующие группы, мостиковые группы, модуляторы фармакокинетических характеристик/фармакодинамических характеристик (ФК/ФД) и средства доставки

15 В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи содержит одну или большее количество не являющихся нуклеотидами групп или конъюгировано с ними, включая, но не ограничиваясь только ими направленно действующую группу, мостиковую группу, модулятор фармакокинетических характеристик/фармакодинамических характеристик

20 (ФК/ФД), обеспечивающий доставку полимер или систему доставки. Не являющаяся нуклеотидом группа может улучшить направленное действие, доставку или присоединение средства на основе РНКи. Не являющаяся нуклеотидом группа может быть связана с 3'- и/или 5'-концом смысловой цепи и/или антисмысловой цепи ковалентной связью. В некоторых вариантах

25 осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи содержит не являющуюся нуклеотидом группу, связанную с 3'- и/или 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления не являющаяся нуклеотидом группа связана с 5'-концом смысловой цепи воздействующего на RAGE средства на основе РНКи. Не являющаяся нуклеотидом группа может быть связана со

30 средством на основе РНКи прямо или косвенно с помощью мостика/мостиковой группы. В некоторых вариантах осуществления не являющаяся нуклеотидом группа связана со средством на основе РНКи с помощью лабильной, расщепляющейся или обратимой связи или мостика.

В некоторых вариантах осуществления не являющаяся нуклеотидом группа улучшает фармакокинетические характеристики или биологическое распределение средства на основе РНКи или конъюгата, к которому она присоединена, для улучшения специфичного по отношению к клетке или ткани распределения и специфичного по отношению к клетке захвата конъюгата. В некоторых вариантах осуществления не являющаяся нуклеотидом группа улучшает эндоцитоз средства на основе РНКи.

Направленно действующие группы или направленно действующие фрагменты улучшают фармакокинетические характеристики или биологическое распределение конъюгата или средства на основе РНКи, к которому они присоединены, для улучшения специфичного по отношению к клетке (в некоторых случаях включая специфичное по отношению к органу) распределения и специфичного по отношению к клетке (или специфичного по отношению к органу) захвата конъюгата или средства на основе РНКи.

Направленно действующая группа может являться одновалентной, двухвалентной, трехвалентной, четырехвалентной или может обладать более высокой валентностью по отношению к цели, на которую направлено ее действие. Типичные направленно действующие группы включают, но не ограничиваются только ими, соединения, обладающие сродством к молекулам, находящимся на поверхности клетки, лиганды клеточных рецепторов, гаптен, антитела, моноклональные антитела, фрагменты антител и миметики антител, обладающие сродством к молекулам, находящимся на поверхности клетки. В некоторых вариантах осуществления направленно действующая группа связана со средством на основе РНКи с помощью мостика, такого как мостик на основе ПЭГ (полиэтиленгликоль), или с помощью 1, 2 или 3 абазических и/или рибитных (абазическая рибоза) остатков, которые в некоторых случаях могут выступать в роли мостиков.

Направленно действующую группу, вместе с мостиком или без него, можно присоединить к 5'- или 3'-концу любой из смысловых и/или антисмысловых цепей, раскрытых в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 и 10. Мостик, вместе с направленно действующей группой или без нее, можно присоединить к 5'- или 3'-концу любой из смысловых и/или антисмысловых цепей, раскрытых в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 и 10.

Можно синтезировать воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, описанные в настоящем изобретении, содержащие реакционноспособную группу, такую как аминогруппа (в настоящем изобретении также называющаяся амином), на 5'-конце и/или 3'-конце. Затем реакционноспособную группу можно использовать для присоединения направленно действующего фрагмента по методикам, типичным для данной области техники.

Так, например, в некоторых вариантах осуществления синтезируют воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, содержащие группу $\text{NH}_2\text{-C}_6$ на 5'-конце смысловой цепи средства на основе РНКи. Затем концевую аминогруппу можно ввести в реакцию, например, с группой, которая содержит лиганд, направленно действующий на интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$, с получением конъюгата. В некоторых вариантах осуществления синтезируют воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, содержащие одну или большее количество алкиновых групп на 5'-конце смысловой цепи средства на основе РНКи. Затем концевую алкиновую группу (группы) можно ввести в реакцию, например, с группой, которая содержит лиганд, направленно действующий на интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$, с получением конъюгата.

В некоторых вариантах осуществления направленно действующая группа содержит лиганд, направленно действующий на интегрин. В некоторых вариантах осуществления лигандом, направленно действующим на интегрин, является лиганд, направленно действующий на интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$. Использование лиганда, направленно действующего на интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$, способствует специфичному по отношению к клетке направленное действие на клетки, содержащие $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ на их соответствующей поверхности, и связывание лиганда, направленно действующего на интегрин, может способствовать проникновению терапевтического средства, такого как средство на основе РНКи, к которому он присоединен, в клетки, такие как эпителиальные клетки, включая эпителиальные клетки легких и эпителиальные клетки почек. Лиганды, направленно действующие на интегрин могут являться мономерными или одновалентными (например, содержат один фрагмент, направленно действующий на интегрин) или мультимерными или многовалентными (например, содержат множество фрагментов, направленно действующих на интегрин). Направленно

действующую группу можно присоединить к 5' - или 3' -концу олигонуклеотида, содержащегося в средстве на основе РНКи по методикам, известным в данной области техники. Получение направленно действующих групп, таких как лиганды, направленно действующие на интегрин $\alpha\nu\beta 6$, описано, например, в публикации заявки на международный патент № WO 2018/085415 и в публикации заявки на международный патент № WO 2019/089765, содержание каждой из которых во всей его полноте включено в настоящее изобретение в качестве ссылки.

В некоторых вариантах осуществления направленно действующие группы связаны с воздействующими на RAGE средствами на основе РНКи без использования дополнительного мостика. В некоторых вариантах осуществления предусмотрено, что направленно действующая группа содержит мостик, который предназначен для содействия связыванию с воздействующим на RAGE средством на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления, в которых в композицию включают два или большее количество средств на основе РНКи, два или большее количество средств на основе РНКи могут быть связаны с их соответствующими направленно действующими группами с помощью одинаковых мостиков. В некоторых осуществления, в которых в композицию включают два или большее количество средств на основе РНКи, два или большее количество средств на основе РНКи могут быть связаны с их соответствующими направленно действующими группами с помощью разных мостиков.

В некоторых вариантах осуществления мостиковая группа конъюгирована со средством на основе РНКи. Мостиковая группа способствует образованию ковалентной связи между средством и направленно действующей группой, модулятором фармакокинетических характеристик, обеспечивающим доставку полимером или средством доставки. Мостиковая группа может быть связана с 3' - и/или 5' -концом смысловой цепи или антисмысловой цепи средства на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления мостиковая группа связана со смысловой цепью средства на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления мостиковая группа конъюгирована с 5' - или 3' -концом смысловой цепи средства на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления мостиковая группа конъюгирована с 5' -концом смысловой цепи

средства на основе РНКи. Примеры мостиковых групп, включают, но не ограничиваются только ими: C_6 -SS- C_6 , 6-SS-6, реакционноспособные группы, такие как первичные амины (например, NH_2-C_6) и алкины, алкильные группы, абазические остатки/нуклеотиды, аминокислоты, функционализированные триалкином группы, рибит и/или содержащие ПЭГ группы. Примеры некоторых мостиковых групп приведены в таблице 11.

Мостик или мостиковая группа представляет собой связь между двумя атомами, которая связывает одну химическую группу (такую как средство на основе РНКи) или необходимый фрагмент с другой химической группой (такой как направленно действующая группа, модулятор фармакокинетических характеристик или обеспечивающий доставку полимер) или необходимым фрагментом с помощью одной или большего количества ковалентных связей. Лабильный мостик содержит лабильную связь. Мостик необязательно может включать разделяющую группу, которая увеличивает расстояние между двумя связанными атомами. Разделяющая группа дополнительно может увеличивать гибкость и/или длину мостика. Разделяющие группы включают, но не ограничиваются только ими, алкильные группы, алкенильные группы, алкинильные группы, арильные группы, арилалкильные группы, арилалкенильные группы и арилалкинильные группы; каждая из которых может содержать один или большее количество гетероатомов, гетероциклы, аминокислоты, нуклеотиды и сахараиды. Разделяющие группы хорошо известны в данной области техники и приведенный выше перечень не ограничивает объем настоящего изобретения. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи конъюгировано с содержащим полиэтиленгликоль (ПЭГ) фрагментом или с гидрофобной группой, содержащей 12 или большее количество атомов углерода, такой как холестериновая или пальмитоильная группа.

В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи связано с одним или большим количеством модуляторов фармакокинетических характеристик/фармакодинамических характеристик (ФК/ФД). Модуляторы ФК/ФД могут увеличить продолжительность циркуляции конъюгированного лекарственного средства и/или увеличить активность средства на основе РНКи посредством улучшенного связывания с клеточным

рецептором, улучшенного введения в клетки и/или другим образом. В данной области техники известны различные модуляторы ФК/ФД, подходящие для использования вместе со средствами на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления модулятором ФК/ФД может являться холестерин или производные холестерина, или в некоторых случаях модулятор ФК/ФД может состоять из алкильных групп, алкенильных групп, алкинильных групп, арильных групп, арилалкильных групп, арилалкенильных групп или арилалкинильных групп, каждая из которых может являться линейной, разветвленной, циклической и/или замещенной или незамещенной. В некоторых вариантах осуществления положением присоединения этих фрагментов является 5'- или 3'-конец смысловой цепи, положение 2' рибозного кольца любого заданного нуклеотида, содержащегося в смысловой цепи, и/или они могут быть присоединены к фосфатному фосфоротиоатному каркасу в любом положении смысловой цепи.

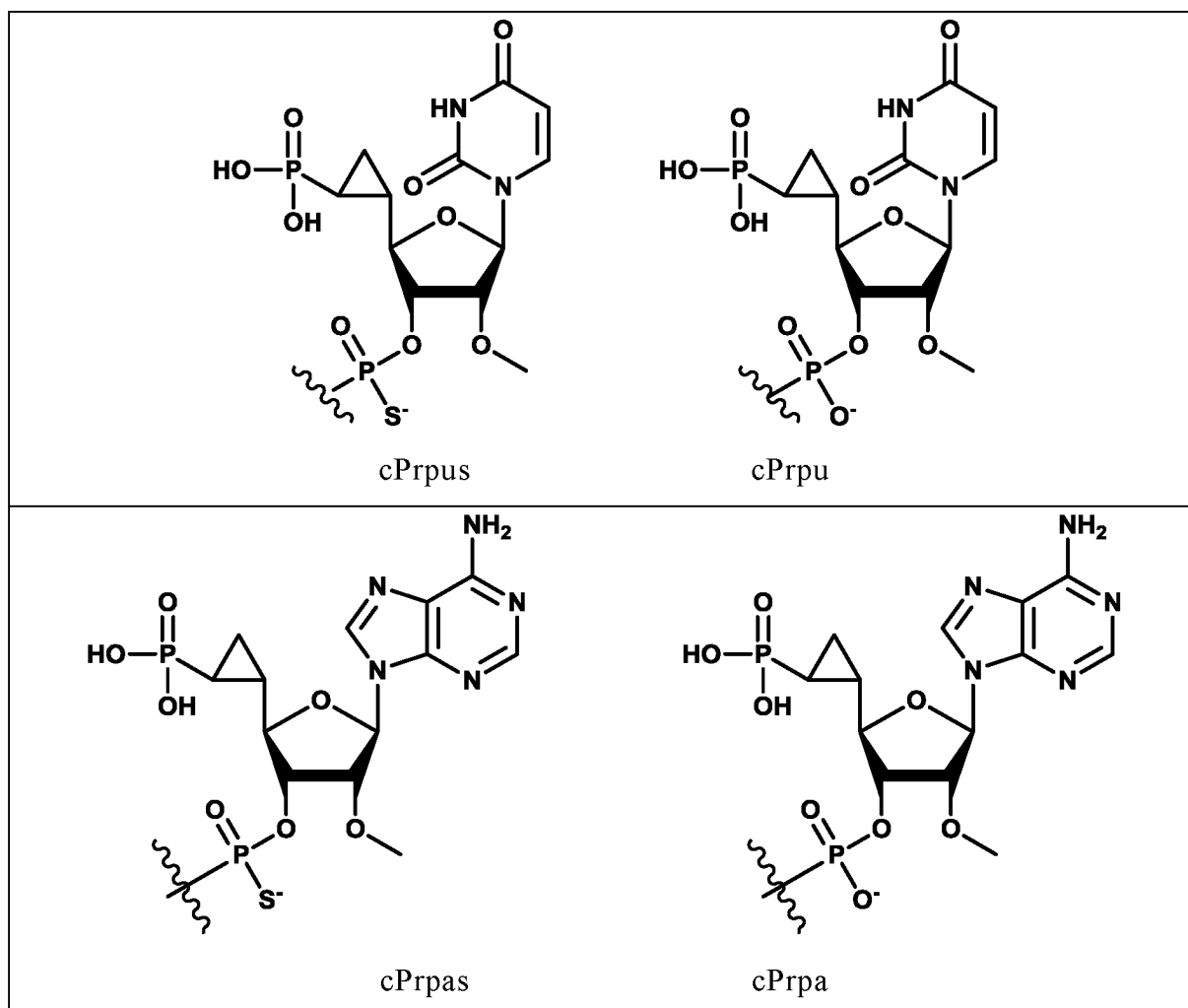
Любая из нуклеотидных последовательностей воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, указанных в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 или 10, модифицированная или немодифицированная, может содержать присоединенную к 3'- и/или 5'-концу направленно действующую группу (группы), мостиковую группу (группы) и/или модулятор (модуляторы) ФК/ФД.

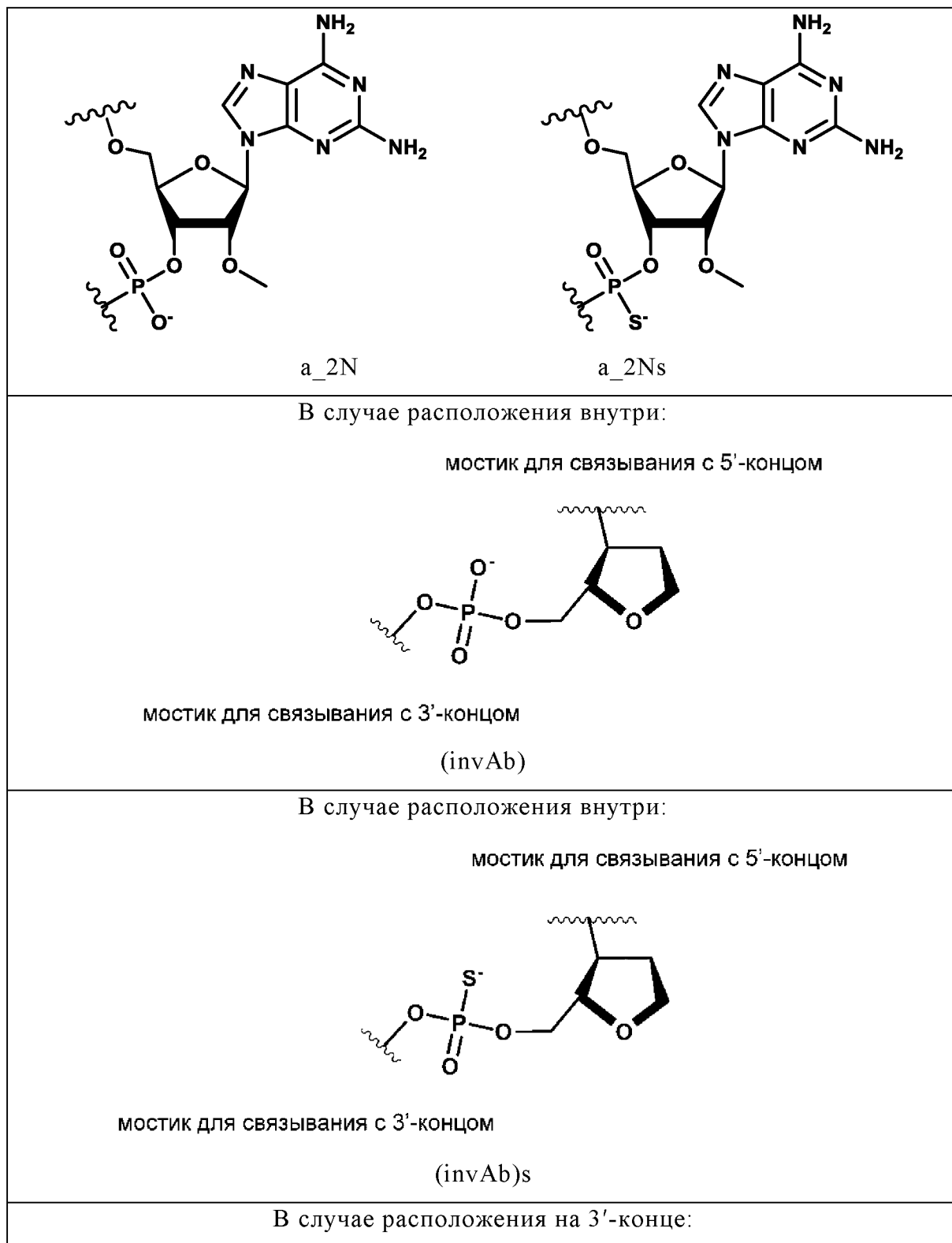
Любая из последовательностей воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, указанных в таблицах 3, 4, 5, 6 или 10, или другим образом описанных в настоящем изобретении, которая содержит присоединенную к 3'- или 5'-концу направленно действующую группу, мостиковую группу или модулятор ФК/ФД, альтернативно может не содержать присоединенную к 3'- или 5'-концу направленно действующую группу, мостиковую группу и/или модулятор ФК/ФД, или может содержать другие присоединенные к 3'- или 5'-концу направленно действующую группу, мостиковую группу или модулятор фармакокинетических характеристик, включая, но не ограничиваясь только ими, приведенные в таблице 11. Любой из дуплексов воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, указанных в таблицах 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б и 10, модифицированный или немодифицированный, может дополнительно содержать направленно действующую группу или мостиковую группу, включая, но не ограничиваясь только ими, приведенные в таблице 11, и направленно

действующая группа или мостиковая группа может быть присоединена к 3'- или 5'-концу смысловой цепи или антисмысловой цепи дуплекса воздействующего на RAGE средства на основе РНКи.

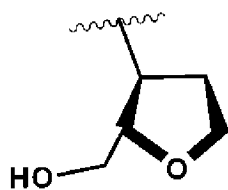
5 Примеры некоторых модифицированных нуклеотидов, кэппирующих фрагментов и мостиковых групп представлены в таблице 11.

Таблица 11. Структуры, описывающие различные модифицированные нуклеотиды, кэппирующие фрагменты, направленно действующие лиганды и мостиковые группы (где знак ζ означает положение присоединения)



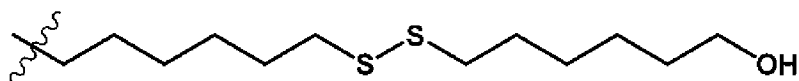


МОСТИК ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ С 5'-КОНЦОМ



(invAb)

В случае расположения на 3'-конце:



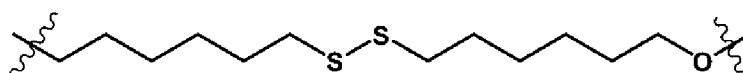
МОСТИК ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ С 5'-КОНЦОМ

(C₆-SS-C₆)

В случае расположения внутри:

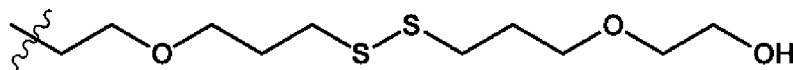
МОСТИК ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ С 5'-КОНЦОМ

МОСТИК ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ С 3'-КОНЦОМ



(C₆-SS-C₆)

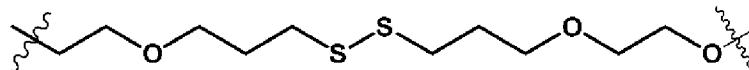
В случае расположения на 3'-конце:



МОСТИК ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ С 5'-КОНЦОМ

(6-SS-6)

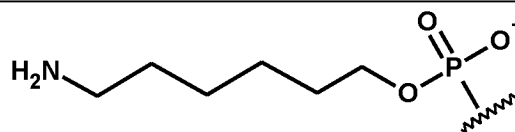
В случае расположения внутри:



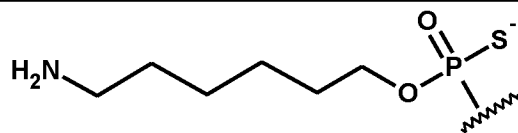
МОСТИК ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ С 5'-КОНЦОМ

МОСТИК ДЛЯ СВЯЗЫВАНИЯ С 3'-КОНЦОМ

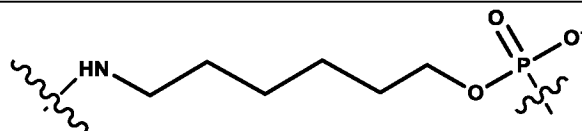
(6-SS-6)



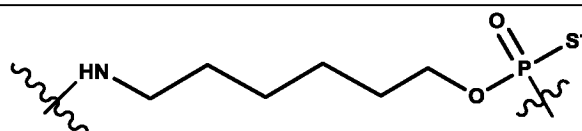
(NH₂-C₆)



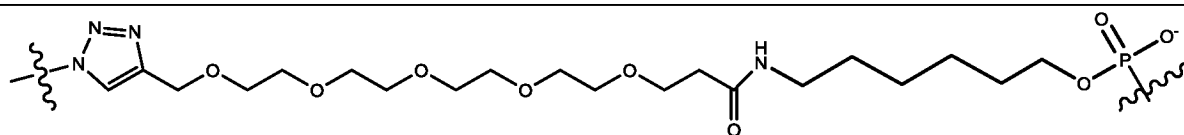
(NH₂-C₆)_s



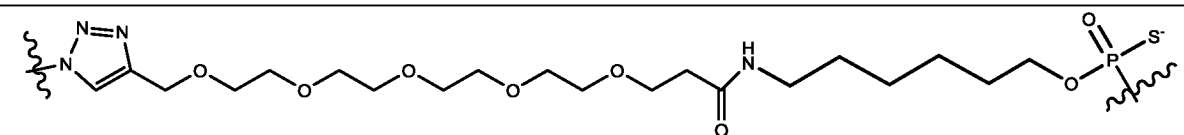
-C₆-



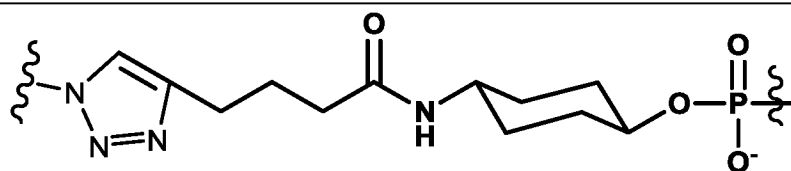
-C₆S-



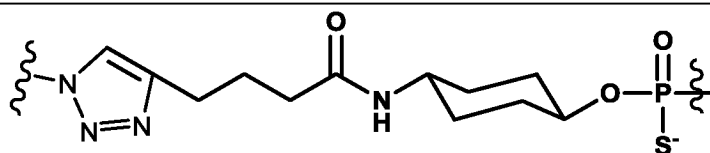
-L₆-C₆-



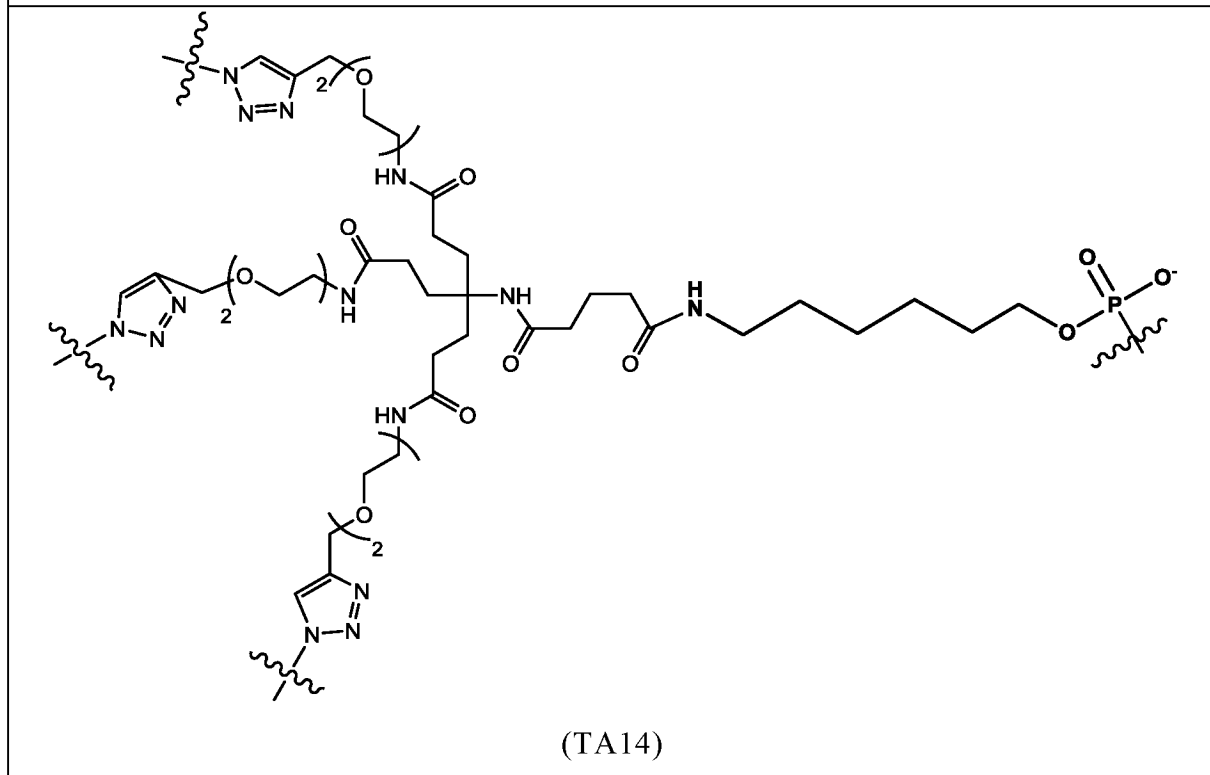
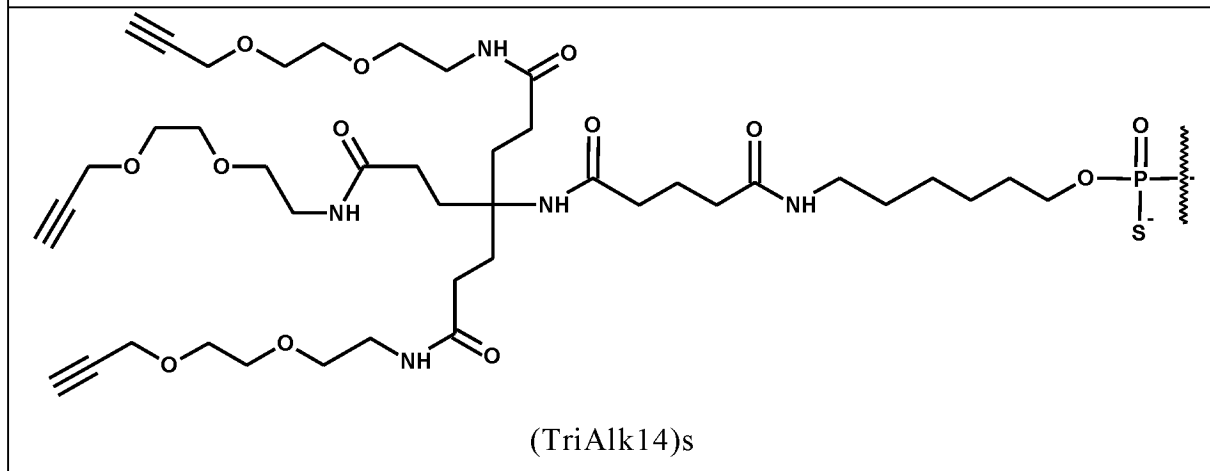
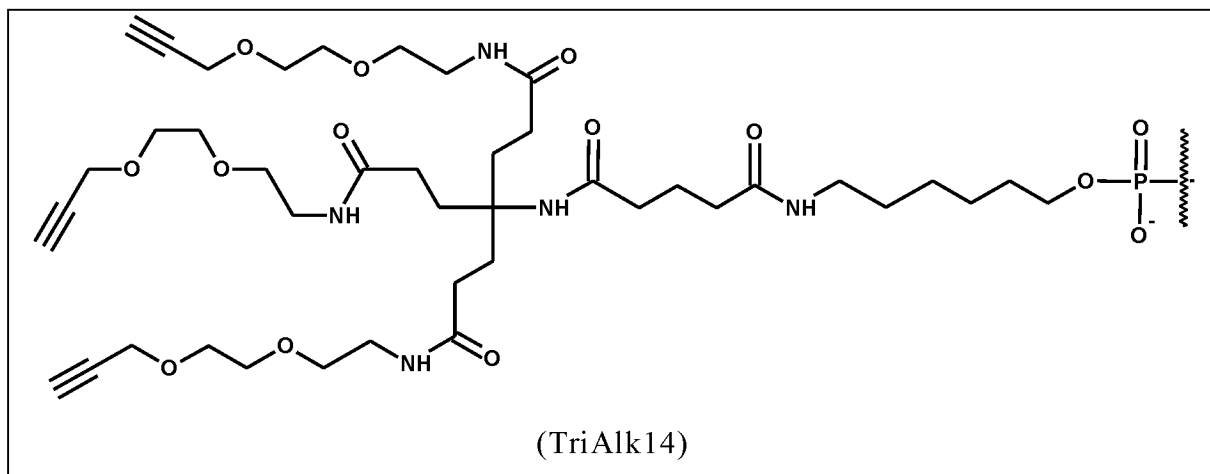
-L₆-C₆S-

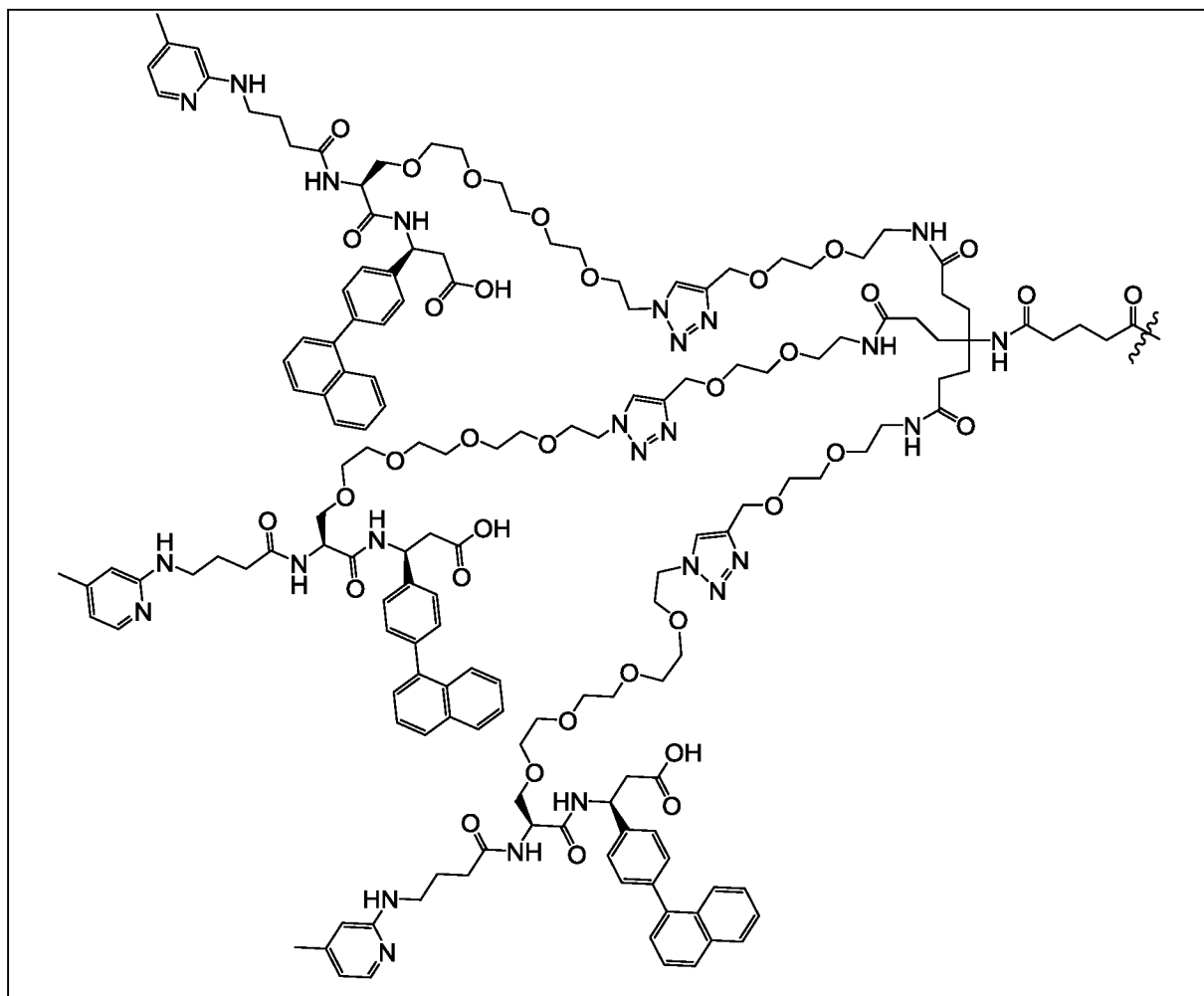


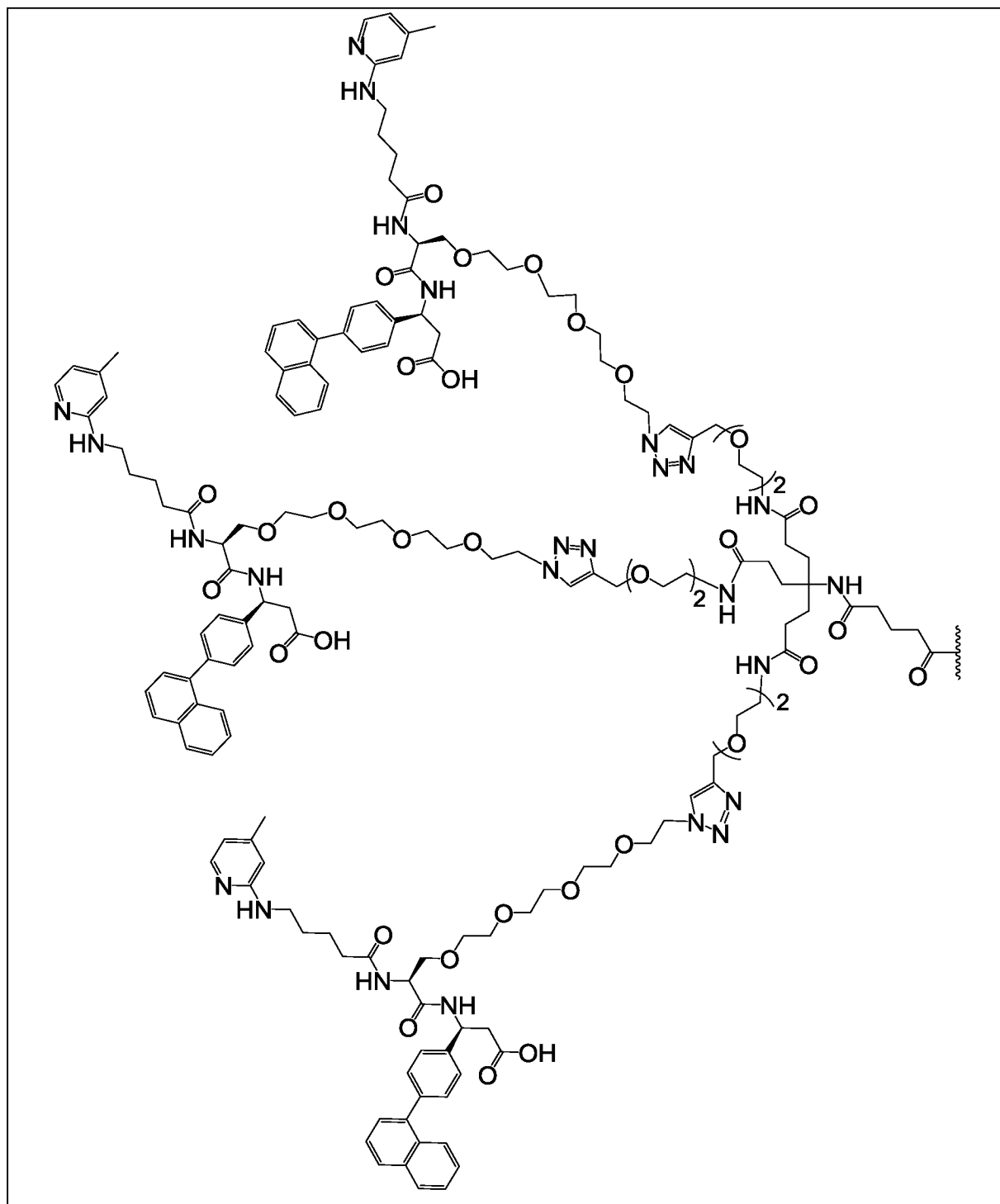
-Alk-cyHex-

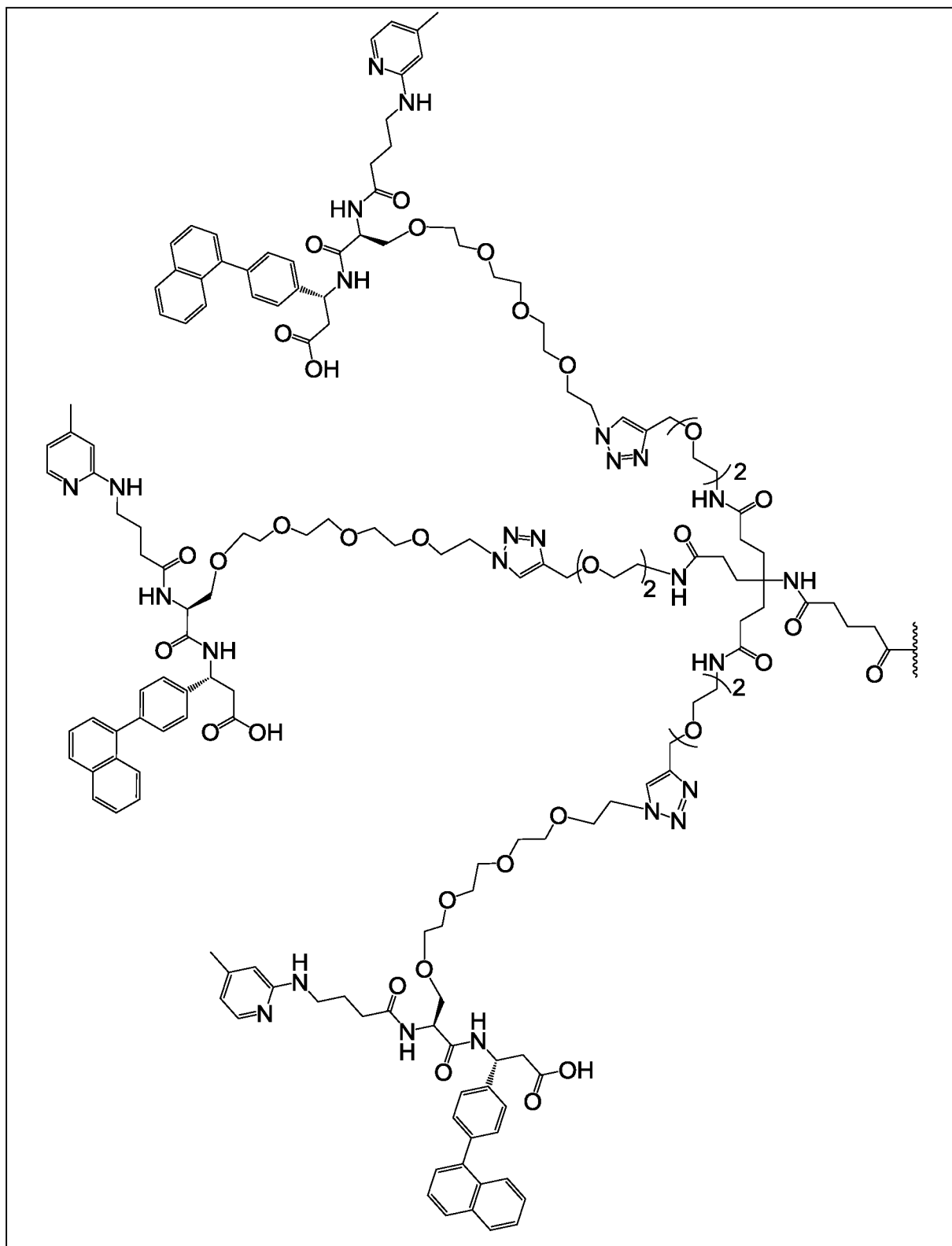


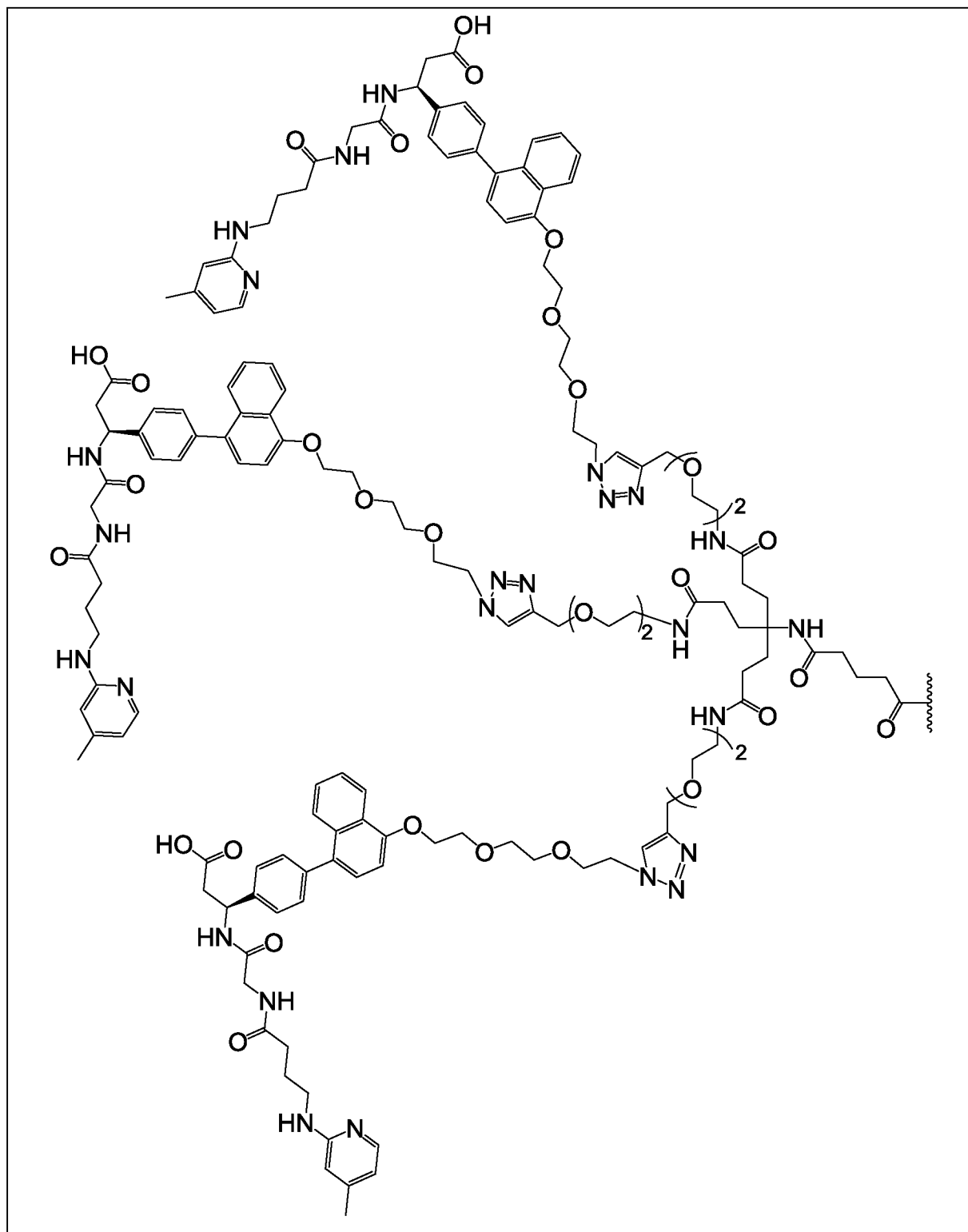
-Alk-cyHexs-

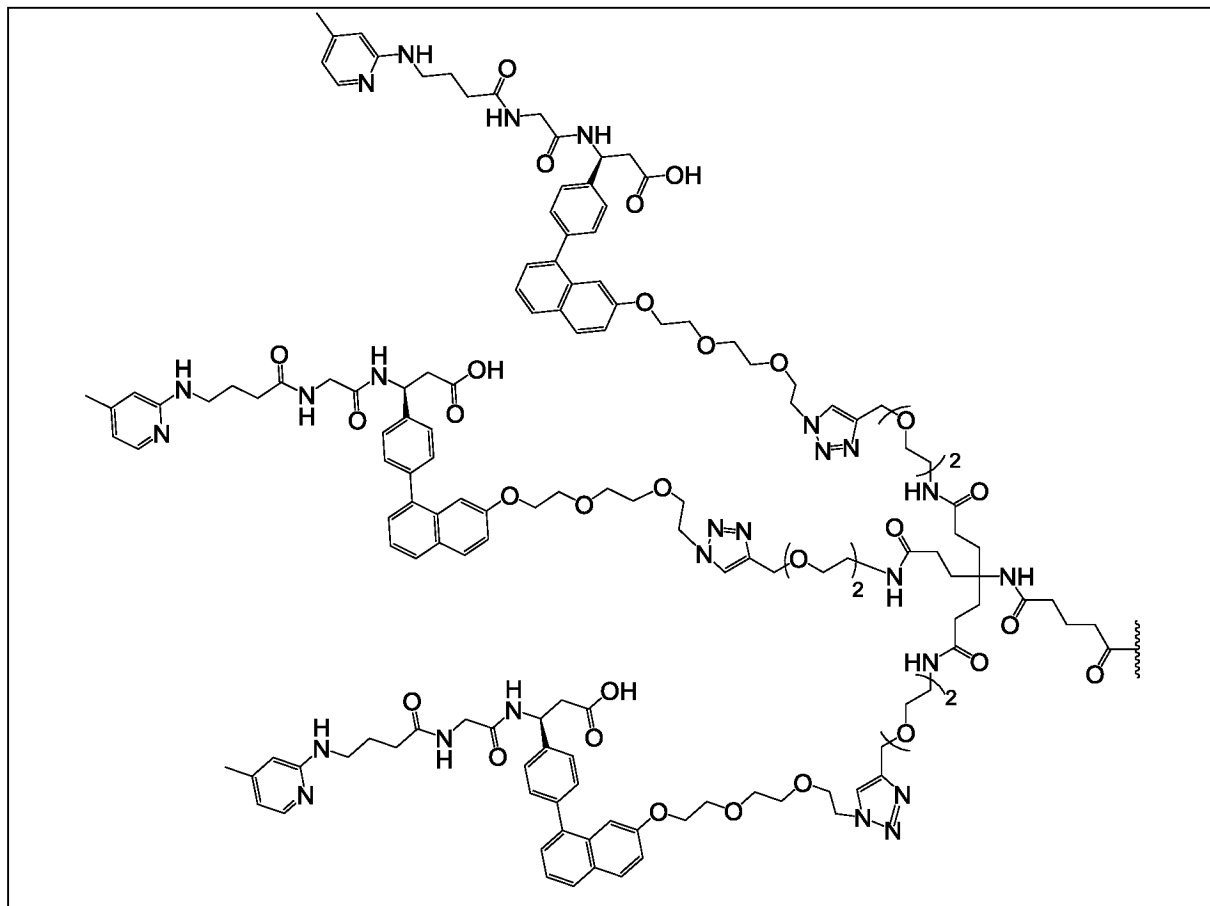


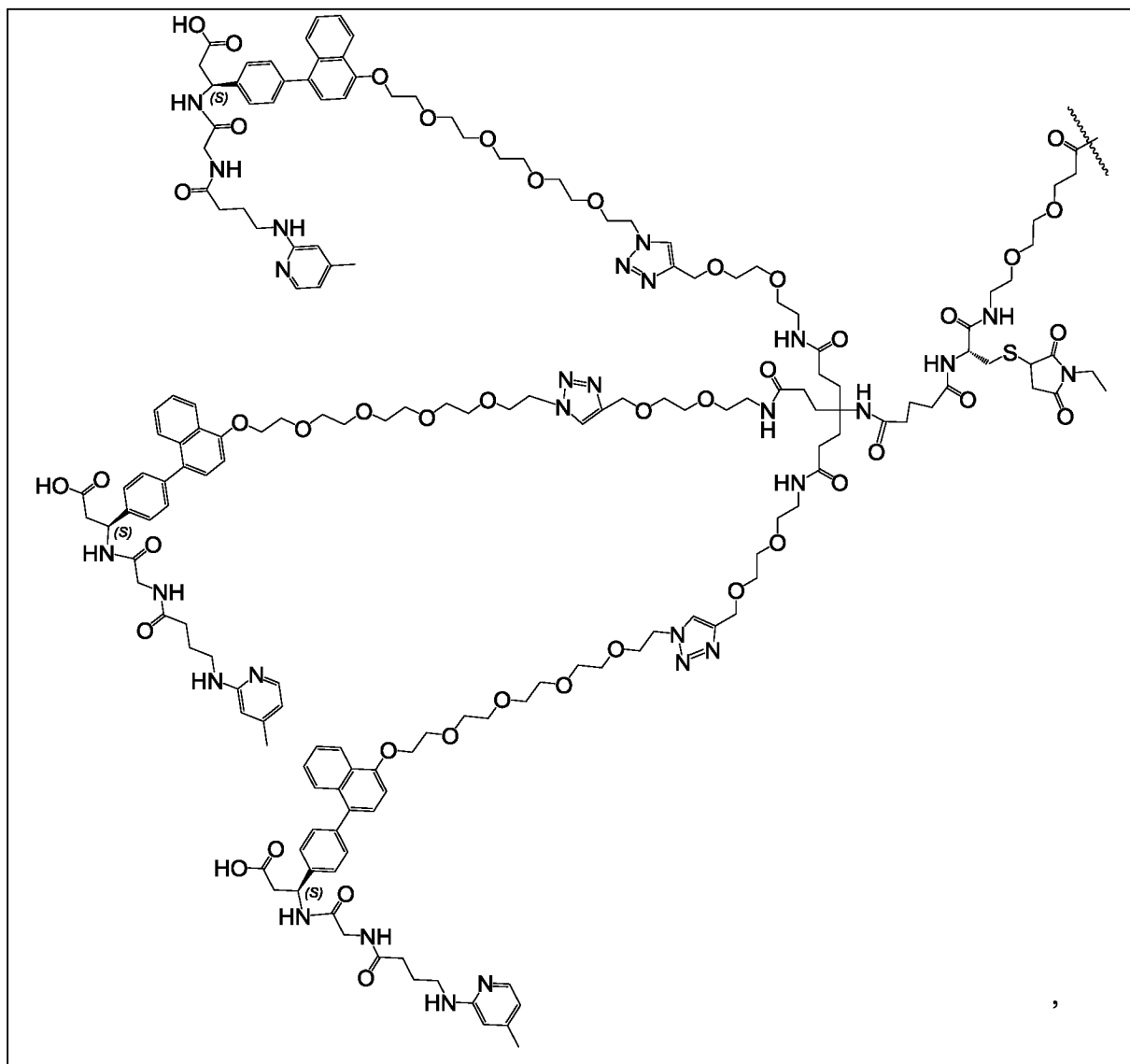


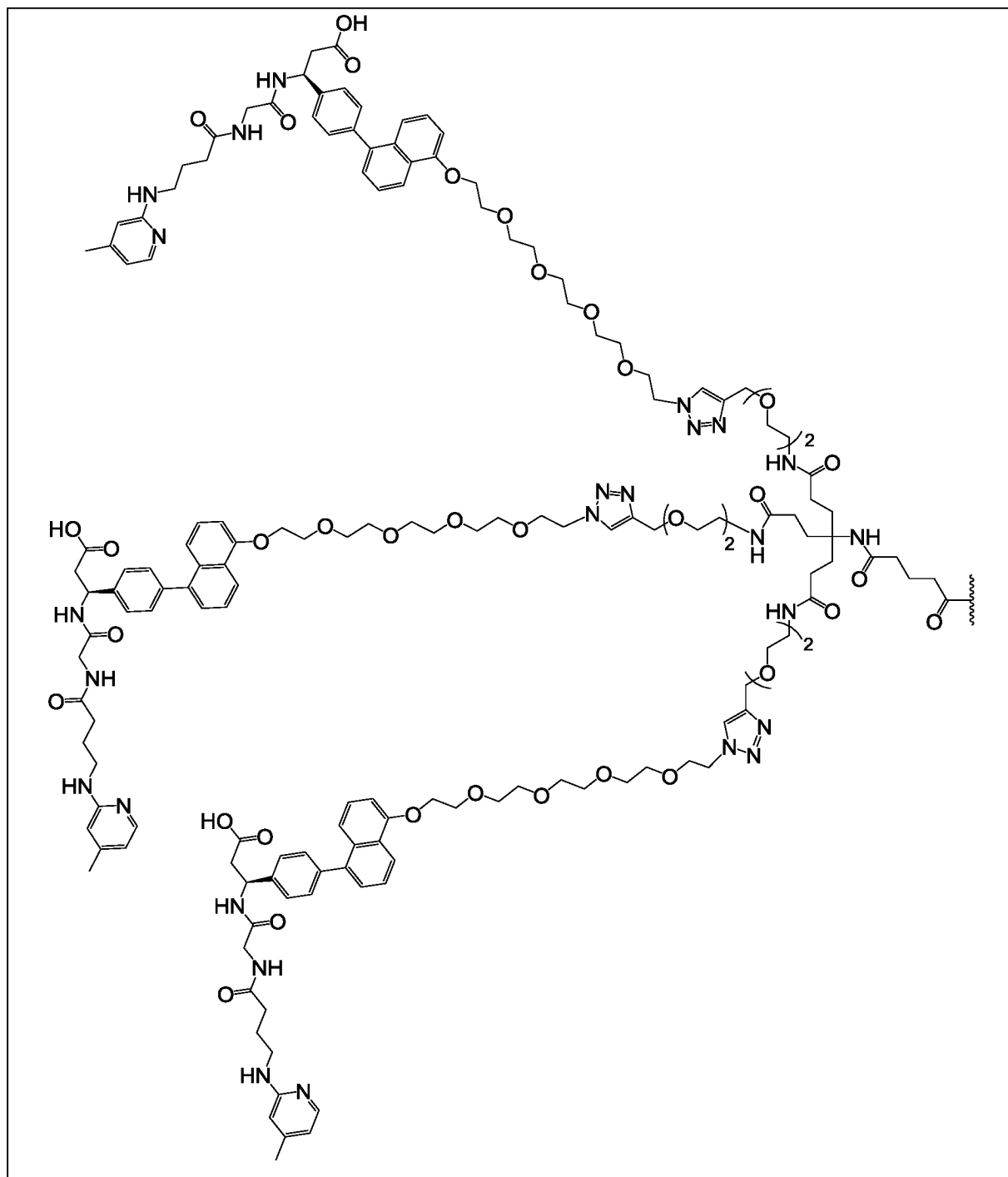


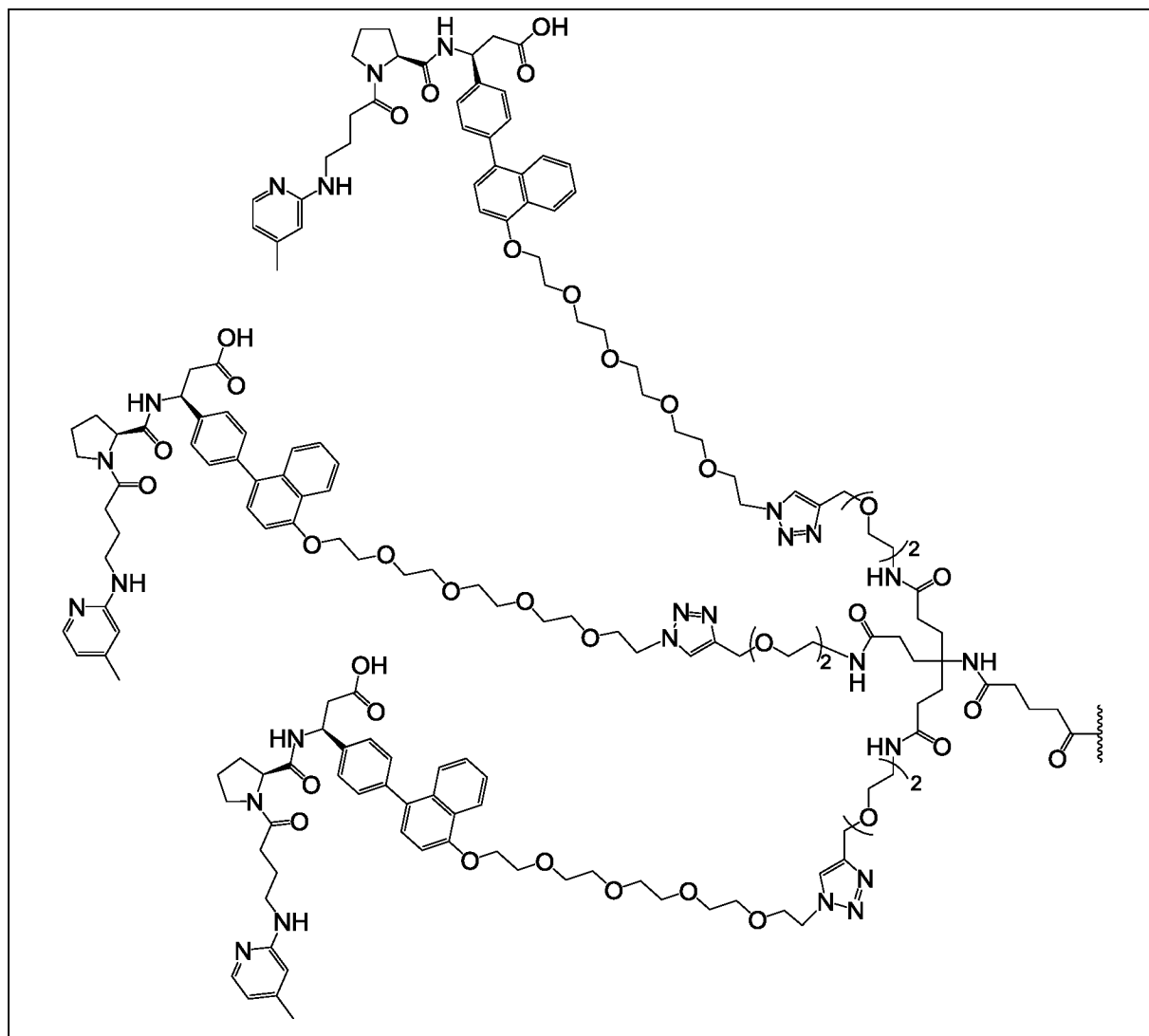


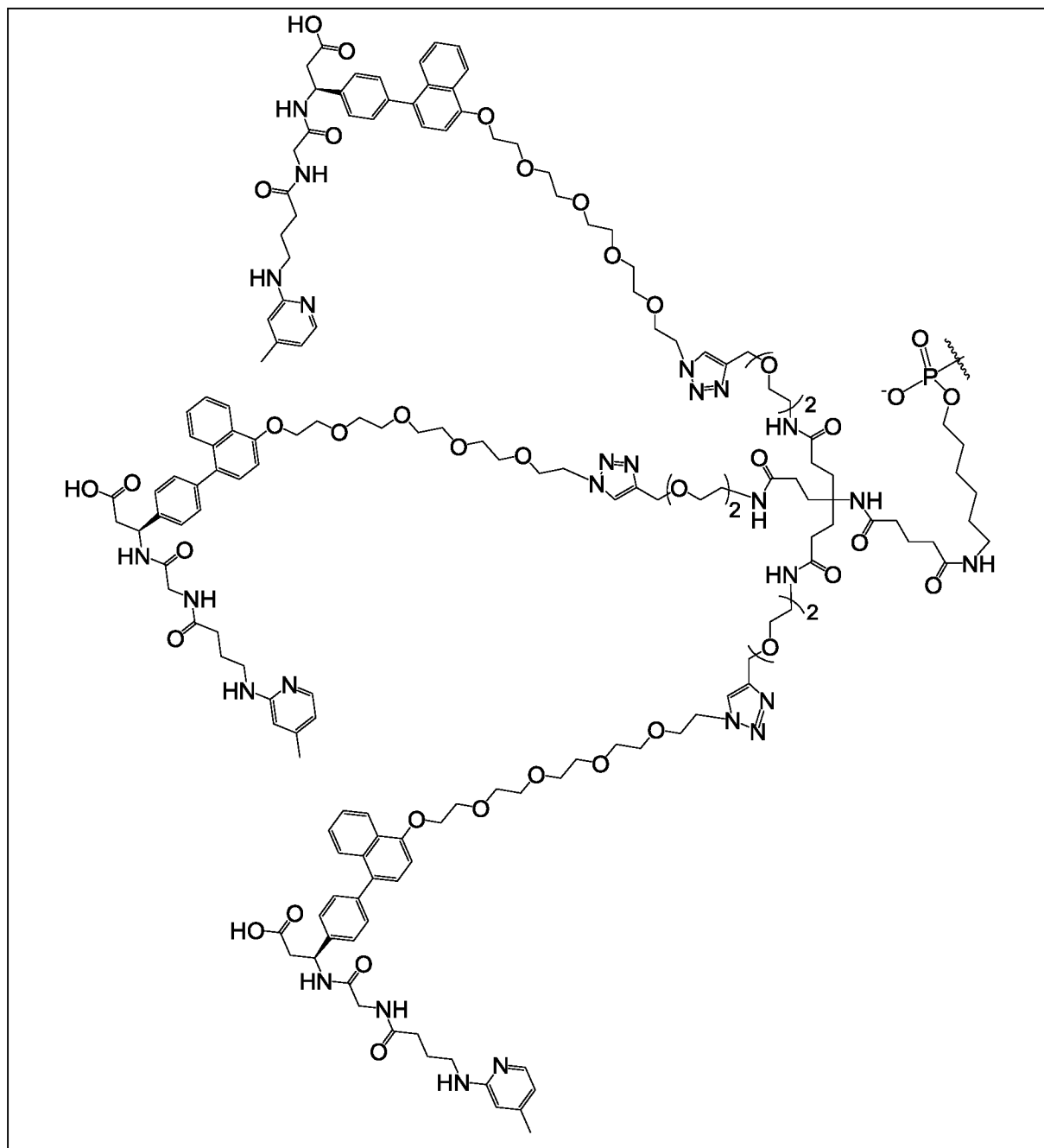












Альтернативно, можно использовать другие мостиковые группы, известные в данной области техники. Во многих случаях мостиковые группы можно приобрести у коммерческих поставщиков или, альтернативно, их включают в имеющиеся в продаже нуклеотидные фосфорамидиты (см., например, публикации заявки на международный патент № WO 2019/161213, которая во всей ее полноте включена в настоящее изобретение в качестве ссылки).

В некоторых вариантах осуществления проводят доставку воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, не конъюгированного с

направленно действующим лигандом или модулятором фармакокинетических характеристик/фармакодинамических характеристик (ФК/ФД) (называющегося "немодифицированным" или "немодифицированным средством на основе РНКи").

5 В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи конъюгировано с направленно действующей группой, мостиковой группой, модулятором ФК и/или другой не являющейся нуклеотидом для содействия проводимой *in vivo* доставке воздействующего на RAGE средства на основе РНКи в целевую клетку или ткань, например, в
10 эпителиальную клетку. В некоторых вариантах осуществления воздействующее на RAGE средство на основе РНКи конъюгировано с направленно действующей группой, где направленно действующая группа содержит лиганд, направленно действующий на интегрин,. В некоторых вариантах осуществления лигандом, направленно действующим на интегрин, является лиганд, направленно
15 действующий на интегрин $\alpha\beta6$. В некоторых вариантах осуществления направленно действующая группа содержит один или большее количество лигандов, направленно действующих на интегрин $\alpha\beta6$.

В некоторых вариантах осуществления для доставки средства на основе РНКи в клетку или ткань можно использовать средство доставки. Средство
20 доставки представляет собой соединение, которое может улучшить доставку средства на основе РНКи в клетку или ткань. Средство доставки может включать, но не ограничивается только ими: полимер, такой как амфифильный полимер, активный по отношению к мембране полимер, пептид, пептид-мелиттин, подобный мелиттину пептид (MLP), липид, обратимо
25 модифицированный полимер или пептид, или обратимо модифицированный активный по отношению к мембране полиамин, или состоять из них.

В некоторых вариантах осуществления средства на основе РНКи можно объединить с липидами, наночастицами, полимерами, липосомами, мицеллами, системами для СДБ (сшивка ДНК-белок) или другими системами доставки,
30 предназначенными для доставки нуклеиновых кислот, имеющимися в данной области техники. Средства на основе РНКи также могут быть химически конъюгированы с направленно действующими группами, липидами (включая, но не ограничиваясь только ими холестерин и производные холестерина), они могут

быть капсулированы в наночастицы, липосомы, мицеллы, могут быть конъюгированы с полимерами или системами для СДБ (см., например, WO 2000/053722, WO 2008/022309, WO 2011/104169 и WO 2012/083185, WO 2013/032829, WO 2013/158141, каждый из которых включен в настоящее изобретение в качестве ссылки), путем ионтофореза или они могут быть включены в другие средства или системы доставки, имеющиеся в данной области техники, такие как гидрогели, циклодекстрины, биологически разлагающиеся нанокапсулы, биологически разлагающиеся микросферы или , белковоподобные векторы. В некоторых вариантах осуществления средства на основе РНКи могут быть конъюгированы с антителами, обладающими сродством к эпителиальным клеткам легких. В некоторых вариантах осуществления средства на основе РНКи могут быть связаны с направленно действующими лигандами, которые обладают сродством к эпителиальным клеткам легких или рецепторам, содержащимся в эпителиальных клетках легких.

15 Фармацевтические композиции и препараты

Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, можно приготовить в виде фармацевтических композиций или препаратов (в настоящем изобретении также называемые "лекарственными средствами"). В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции содержат по меньшей мере одно воздействующее на RAGE средство на основе РНКи. Эти фармацевтические композиции являются особенно подходящими для подавления экспрессии мРНК гена AGER в целевой клетке, группе клеток, ткани или организме. Фармацевтические композиции можно применять для лечения субъекта, страдающего 20 заболеванием, нарушением или патологическим состоянием, для которого благоприятно уменьшение уровня целевой мРНК или подавление экспрессии целевого гена. Фармацевтические композиции можно применять для лечения субъекта, для которого существует опасность развития заболевания или нарушения, для которого благоприятно уменьшение уровня целевой мРНК или 25 подавление экспрессии целевого гена. В одном варианте осуществления способ включает введение подвергающемуся лечению субъекту воздействующего на RAGE средство на основе РНКи, связанного с направленно действующим лигандом, описанным в настоящем изобретении. В некоторых вариантах 30

осуществления в фармацевтические композиции, которые содержат
воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, добавляют один или
большее количество фармацевтически приемлемых инертных наполнителей
(включая растворители, носители, разбавители и/или обеспечивающие доставку
5 полимеры) с получением таким образом фармацевтического препарата или
лекарственного средства, подходящего для проводимой *in vivo* доставки
субъекту, включая человека.

Фармацевтические композиции, которые содержат воздействующее на
RAGE средство на основе РНКи, и способы, раскрытые в настоящем
10 изобретении, обеспечивают уменьшение уровня целевой мРНК в клетке, группе
клеток, ткани, органе или организме субъекта, путем введения субъекту
описанного в настоящем изобретении воздействующего на RAGE средство на
основе РНКи в терапевтически эффективном количестве, таким образом, они
обеспечивают подавление экспрессии мРНК гена AGER у субъекта. В некоторых
15 вариантах осуществления у субъекта ранее идентифицировано или
диагностировано заболевание или нарушение, которое может быть по меньшей
мере отчасти опосредовано уменьшением экспрессии RAGE. В некоторых
вариантах осуществления у субъекта ранее диагностировано одно или большее
количество заболеваний легких, таких как астма (включая тяжелую астму),
20 острый респираторный дистресс-синдром, идиопатический фиброз легких,
хроническое обструктивное легочное заболевание (ХОЛЗ), муковисцидоз,
пневмония, рак легких или бронхолегочная дисплазия. В некоторых вариантах
осуществления заболеванием легких является тяжелая астма.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта ранее диагностированы
25 сердечно-сосудистое заболевание (атеросклероз, инфаркт миокарда, сердечная
недостаточность, заболевание периферических сосудов), рак, диабет,
хроническое заболевание почек, нейродегенеративное заболевание,
ревматоидный артрит, неалкогольный стеатогепатит, повреждение, вызванное
некоторыми вирусными инфекциями, включая SARS-CoV-2, некоторые
30 воспалительные глазные патологические состояния или атрофия скелетных
мышц.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта ранее диагностировано одно или большее количество глазных заболеваний, связанных с воспалением глаз.

Варианты осуществления настоящего изобретения включают
5 фармацевтические композиции, предназначенные для проводимой *in vivo* доставки воздействующего на RAGE средство на основе РНКи в эпителиальные клетки легких. такие фармацевтические композиции могут содержать, например, воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, конъюгированное с
10 направленно действующей группой, которая содержит лиганд, направленно действующий на интегрин,. В некоторых вариантах осуществления лиганд, направленно действующий на интегрин, состоит из лиганда интегрина $\alpha\beta6$.

В некоторых вариантах осуществления описанные фармацевтические композиции, содержащие воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, применяют для лечения или оказания помощи в случае
15 клинического проявления у субъекта, для которого благоприятно подавление экспрессии RAGE. В некоторых вариантах осуществления нуждающемуся в таком лечении субъекту вводят одну или большее количество фармацевтических композиций в терапевтически или профилактически эффективном количестве. В некоторых вариантах осуществления введение любого из раскрытых
20 воздействующих на RAGE средств на основе РНКи можно применять для уменьшения количества, облегчения тяжести и/или уменьшения частоты проявления симптомов заболевания у субъекта.

В некоторых вариантах осуществления описанные воздействующие на RAGE средства на основе РНКи необязательно объединяют с одним или
25 большим количеством (т. е. со вторым, с третьим и т. п.) дополнительных терапевтических средств. Вторым терапевтическим средством может являться другое воздействующее на RAGE средство на основе РНКи (например, воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, которое направленно действует на другую последовательность, содержащуюся в гене *AGER* (RAGE)).
30 В некоторых вариантах осуществления вторым терапевтическим средством может являться средство на основе РНКи, которое направленно действует на ген *AGER*. Дополнительным терапевтическим средством также может являться малая молекула-лекарственное средство, антитело, фрагмент антитела и/или

аптамер. Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, с добавлением или без добавления одного или большего количества дополнительных терапевтических средств, можно объединить с одним или большим количеством инертных наполнителей и получить фармацевтические композиции.

5 Описанные фармацевтические композиции, которые содержат
воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, можно применять для
лечения по меньшей мере одного симптома у субъекта, страдающего
заболеванием или нарушением, для которого благоприятно уменьшение или
подавление экспрессии мРНК гена AGER. В некоторых вариантах
10 осуществления субъекту вводят одну или большее количество
фармацевтических композиций, которые содержат воздействующее на RAGE
средство на основе РНКи, в терапевтически эффективном количестве, при этом
обеспечивают лечение симптома. В других вариантах осуществления субъекту
вводят одно или большее количество воздействующих на RAGE средств на
15 основе РНКи, в профилактически эффективном количестве, при этом
обеспечивают предупреждение проявления или подавление по меньшей мере
одного симптома.

 В некоторых вариантах осуществления млекопитающему вводят одно или
большее количество воздействующих на RAGE средств на основе РНКи в
20 фармацевтически приемлемом носителе или разбавителе. В некоторых вариантах
осуществления млекопитающим является человек.

 Путь введения означает путь, с помощью которого воздействующее на
RAGE средство на основе РНКи приводят в соприкосновение с организмом.
Способы введения лекарственных средств, олигонуклеотидов и нуклеиновых
25 кислот, предназначенных для лечения млекопитающего, в общем хорошо
известны в данной области техники и их можно использовать для введения
композиций, описанных в настоящем изобретении. Воздействующие на RAGE
средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, можно вводить
любым подходящим путем в виде препарата, подходящего для конкретного пути
30 введения. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления описанные в
настоящем изобретении фармацевтические композиции вводят путем ингаляции,
путем внутриназального введения, внутритрахеального введения или введения
путем ротоглоточной аспирации. В некоторых вариантах осуществления

фармацевтические композиции можно вводить путем инъекции, например, внутривенной, внутримышечной, внутрикожной, подкожной, внутрисуставной, внутриглазной или внутрибрюшинной, или местно.

5 Фармацевтические композиции, содержащие воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, описанные в настоящем изобретении, можно доставить в клетку, группу клеток, ткань или организм субъекта с использованием технологий доставки олигонуклеотидов, известных в данной области техники. Для применения композиций, описанных в настоящем изобретении, обычно можно приспособить любую подходящую методику, известную в данной области техники, как подходящую для доставки молекулы нуклеиновой кислоты (*in vitro* или *in vivo*). Так, например, доставку можно провести путем локального введения (например, путем прямой инъекции, введения имплантата или путем местного введения), системного введения или путем подкожного, внутривенного, внутрибрюшинного или парентерального введения, включая внутрочерепное (например, внутрижелудочковое, внутривентрикулярное и внутриоболочечное), внутримышечное, чрескожное введение, введение в дыхательные пути (аэрозоль), назальное, пероральное, ректальное или местное (включая трансбуккальное и сублингвальное) введение. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят путем ингаляции, 10 путем внутриназального введения, введения путем ротоглоточной аспирации или путем внутритрахеального введения. Так, например, в некоторых вариантах осуществления предпочтительно, если воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, описанные в настоящем изобретении, подавляют экспрессию гена *AGER* в легочном эпителии, для этого особенно подходящим и 15 предпочтительным является введение путем ингаляции (например, с помощью устройства для ингаляции, такого как дозирующий ингалятор, или небулайзера, такого как струйный небулайзер или меш-небулайзер с вибрирующей сеткой, или мягко распыляющий ингалятор).

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции, описанные в настоящем изобретении, содержат один или большее количество фармацевтически приемлемых инертных наполнителей. Фармацевтические композиции, описанные в настоящем изобретении, приготовлены для введения субъекту. 20 30

При использовании в настоящем изобретении фармацевтическая композиция или лекарственное средство по меньшей мере одно из описанных терапевтических соединений в фармакологически эффективном количестве и один или большее количество фармацевтически приемлемых инертных наполнителей. Фармацевтически приемлемые инертные наполнители (инертные наполнители) представляют собой вещества, отличающиеся от активного фармацевтического ингредиента (АФИ, терапевтический продукт, например, воздействующее на RAGE средство на основе РНКи), которые специально включают в систему доставки лекарственного средства. Инертные наполнители не оказывают терапевтическое воздействие и не предназначены для оказания терапевтического воздействия при заданной дозе. Инертные наполнители могут а) способствовать обработке системы доставки лекарственного средства во время изготовления, б) обеспечивать защиту, поддержку или увеличение стабильности, биологической доступности АФИ или его переносимости пациентом, с) способствовать идентификации продукта, и/или d) улучшать любую другую характеристику общей безопасности и эффективности доставки АФИ во время хранения или использования. Фармацевтически приемлемый наполнитель может являться или может не являться инертным веществом.

Инертные наполнители включают, но не ограничиваются только ими: усилители всасывания, антиадгезивы, противовспенивающие агенты, антиоксиданты, связующие, буферные реагенты, носители, агенты для нанесения покрытия, красители, средства, улучшающие доставку, обеспечивающие доставку полимеры, декстран, декстрозу, разбавители, разрыхлители, эмульгаторы, средства, увеличивающие объем, наполнители, вкусовые добавки, агенты, придающие скользкость, влагоудерживающие средства, смазывающие вещества, масла, полимеры, консерванты, физиологический раствор, соли, растворители, сахара, поверхностно-активные вещества, суспендирующие агенты, матрицы для замедленного высвобождения, подсластители, загущающие агенты, агенты, регулирующие тоничность, разбавители, гидрофобизирующие агенты и смачивающие агенты.

Фармацевтические композиции, подходящие для применения в виде инъекций, включают стерильные водные растворы (в случае растворимости в воде) или дисперсии и стерильные порошки для проводимого непосредственно

перед использованием приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций. В случае внутривенного введения подходящие носители включают физиологический раствор, бактериостатическую воду, кремофор® EL (BASF, Parsippany, NJ) или забуференный фосфатом физиологический раствор.

5 Композиция должна являться стабильной при условиях ее приготовления и хранения и должна быть защищена от загрязняющего воздействия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носителем может являться растворитель или диспергирующая среда, включая, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль) и
10 их подходящие смеси. Соответствующую сыпучесть можно обеспечивать, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и путем использования поверхностно-активных веществ. Во многих случаях в композицию предпочтительно включать изотонические агенты, например,
15 сахара, многоатомные спирты, такие как маннит или сорбит, и хлорид натрия. Пролонгированное всасывание композиций для инъекций можно обеспечить путем включения в композицию агента, который задерживает всасывание, например, моностеарата алюминия и желатина.

Стерильные растворы для инъекций можно приготовить путем включения
20 необходимого количества активного соединения в подходящем растворителе вместе с одним ингредиентом или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, при необходимости с последующей стерилизацией фильтрованием. Дисперсии обычно готовят путем включения активного соединения в стерильный разбавитель, который содержит основную диспергирующую среду и
25 другие необходимые ингредиенты, выбранные из числа перечисленных выше. В случае стерильных порошков, предназначенных для приготовления стерильных растворов для инъекций, типичные методики приготовления включают вакуумную сушку и сушку вымораживанием, с помощью которых получают порошкообразный активный ингредиент с добавлением любого дополнительного
30 необходимого ингредиента из его подвергнутого стерильному фильтрованию раствора.

Препараты, подходящие для внутрисуставного введения, могут находиться в форме стерильных водных препаратов, содержащих лекарственное средство,

которое может находиться в виде микрокристаллического вещества, например, в виде водной суспензии микрокристаллического вещества. В случае внутрисуставного введения и введения в глаза для введения лекарственного средства также можно использовать липосомальные препараты или

5 биологически разлагающихся полимерные системы.

Препараты, подходящие для введения путем ингаляции, можно приготовить путем включения необходимого количества активного соединения в подходящий растворитель с последующим стерильным фильтрованием. Препараты, предназначенные для введения путем ингаляции, обычно являются стерильными растворами, обладающими значением pH, соответствующим физиологическому, и обладают низкой вязкостью (< 5 сП). Для регулирования тоничности в 10 препарат можно добавить соли. В некоторых случаях для увеличения стабильности активного соединения и улучшения характеристик аэрозоля можно добавить поверхностно-активные вещества и сорастворители. В некоторых 15 случаях для регулирования вязкости с целью обеспечения соответствующего размера и распределения распыленных капель можно добавить инертные наполнители.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтические препараты, которые содержат воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, 20 раскрытые в настоящем изобретении, подходящие для введения путем ингаляции, можно приготовить в воде для инъекций (стерильная вода) или в водном содержащем фосфат натрия буфере (например, воздействующее на RAGE средство на основе РНКи готовят в 0,5 мМ растворе одноосновного фосфата натрия, 0,5 мМ растворе одноосновного фосфата натрия в воде).

25 Активные соединения можно приготовить вместе с носителями, которые защищают соединение от быстрого выведения из организма, например, можно использовать препарат регулируемого высвобождения, включая имплантаты и микрокапсулированные системы доставки. Можно использовать биологически разлагающиеся, биологически совместимые полимеры, такие как сополимер 30 этилен-винилацетат, полиангидриды, полигликолевую кислоту, коллаген, сложные полиортоэферы и полимолочную кислоту. Методики приготовления таких препаратов очевидны для специалистов в данной области техники. В качестве фармацевтически приемлемых носителей также можно использовать

суспензии липосом. Их можно получить по методикам, известным специалистам в данной области техники, например, как это описано в патенте U.S. № 4522811.

Для облегчения введения и равномерности дозировки воздействующие на RAGE средства на основе РНКи можно включить в композиции и приготовить в виде разовых дозированных форм. Термин "разовая дозированная форма" означает отдельные порции, в качестве разовых доз подходящие для введения 5 подвергающемуся лечению субъекту; каждая порция содержит заранее заданное количество активного соединения, по оценке оказывающее необходимое терапевтическое воздействие, совместно с подходящим фармацевтическим носителем. Спецификации для разовых дозированных форм определяются 10 следующими факторами и непосредственно зависят от них: особые характеристики активного соединения и необходимый терапевтический эффект, и ограничения, характерные для использующихся в данной области техники методик составления композиций такого активного соединения, 15 предназначенного для лечения индивидуумов.

Фармацевтическая композиция может содержать другие дополнительные компоненты, обычно использующиеся в фармацевтических композициях. Такие дополнительные компоненты включают, но не ограничиваются только ими: 20 противозудные средства, вяжущие средства, местные анестетики или противовоспалительные средства (например, антигистамин, дифенгидрамин и т. п.). Также предусмотрено, что клетки, ткани или изолированные органы, которые экспрессируют или содержат средства на основе РНКи, определенные в настоящем изобретении, можно использовать в качестве "фармацевтических композиций". При использовании в настоящем изобретении "фармакологически 25 эффективное количество", "терапевтически эффективное количество" или просто "эффективное количество" означает такое количество средства на основе РНКи, которое обеспечивает фармакологическое, терапевтическое или профилактическое воздействие.

В некоторых вариантах осуществления способы, раскрытые в настоящем 30 изобретении, дополнительно включают стадию введения второго терапевтического средства или средства лечения, проводимого в дополнение к введению средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления вторым терапевтическим средством

является другое воздействующее на RAGE средство на основе РНКи (например, воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, направленно действующее на другую последовательность, содержащуюся в целевом RAGE). В других вариантах осуществления вторым терапевтическим средством может являться малая молекула-лекарственное средство, антитело, фрагмент антитела и/или аптамер.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении описаны композиции, которые содержат комбинацию или смесь по меньшей мере двух воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, обладающих разными последовательностями. В некоторых вариантах осуществления каждое из двух или большего количества воздействующих на RAGE средств на основе РНКи по отдельности и независимо связано с направленно действующими группами. В некоторых вариантах осуществления каждое из двух или большего количества воздействующих на RAGE средств на основе РНКи связано с направленно действующими группами, которые включают лиганды, направленно действующие на интегрин, или состоят из них. В некоторых вариантах осуществления каждое из двух или большего количества воздействующих на RAGE средств на основе РНКи связано с направленно действующими группами, которые включают лиганды, направленно действующие на интегрин $\alpha\beta6$, или состоят из них.

В настоящем изобретении описаны композиции, предназначенные для доставки воздействующих на RAGE средств на основе РНКи в эпителиальные клетки легких. Кроме того, в настоящем изобретении в целом описаны композиции, предназначенные для доставки *in vivo* воздействующих на RAGE средств на основе РНКи в клетки, включая эпителиальные клетки печени и/или эпителиальные клетки ЖК (желудочно-кишечный) или воспроизводительного тракта, и/или эпителиальные клетки глазной поверхности.

Эффективное количество воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, раскрытого в настоящем изобретении, обычно находится в диапазоне от примерно 0,0001 до примерно 20 мг осадившейся дозы/кг массы тела, например, от примерно 0,001 до примерно 5 мг осадившейся дозы/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество воздействующего на RAGE средства на основе РНКи находится в диапазоне от примерно 0,01 до

примерно 3,0 мг осадившейся дозы/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество воздействующего на RAGE средства на основе РНКи находится в диапазоне от примерно 0,03 до примерно 2,0 мг осадившейся дозы/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество воздействующего на RAGE средства на основе РНКи находится в диапазоне от примерно 0,01 до примерно 1,0 мг осадившейся дозы/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления эффективное количество воздействующего на RAGE средства на основе РНКи находится в диапазоне от примерно 0,50 до примерно 1,0 мг осадившейся дозы/кг массы тела. Вводимое количество также, вероятно, зависит от таких факторов, общее состояние здоровья пациента, относительная биологическая активность доставляемого соединения, типа содержащего лекарственное средство препарата, наличия в препарате инертных наполнителей и их типа, и пути введения. Кроме того, следует понимать, что начальную вводимую дозу можно увеличить до превышающей верхнее предельное значение для быстрого обеспечения необходимого содержания в крови или содержания в ткани, или начальная доза может быть меньше оптимальной. В некоторых вариантах осуществления дозу вводят ежедневно. В некоторых вариантах осуществления дозу вводят еженедельно. В других вариантах осуществления дозу вводят один раз в две недели, один раз в три недели, один раз в месяц или один раз в квартал (т. е. один раз в три месяца).

Для лечения заболевания или для приготовления лекарственного средства или композиции, предназначенной для лечения заболевания, фармацевтические композиции, описанные в настоящем изобретении, содержащее воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, можно объединить с инертным наполнителем или со вторым терапевтическим средством или средством лечения, включая, но не ограничиваясь только ими: второе или другое средство на основе РНКи, малую молекулу-лекарственное средство, антитело, фрагмент антитела, пептид и/или аптамер.

Описанные воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, добавленные к фармацевтически приемлемым инертным наполнителям или вспомогательным веществам, можно поместить в наборы, контейнеры, упаковки или диспенсеры. Фармацевтические композиции, описанные в настоящем

изобретении можно поместить в ингаляторы для сухих порошков или аэрозольные ингаляторы, другие дозирующие ингаляторы, небулайзеры, предварительно заполненные шприцы или флаконы.

Способы лечения и подавления экспрессии RAGE

5 Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, можно применять для лечения субъекта (например, человека или другого млекопитающего), страдающего заболеванием или нарушением, для которого благоприятно введение средства на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления средства на основе РНКи, раскрытые в
10 настоящем изобретении, можно применять для лечения субъекта (например, человека), для которого благоприятно уменьшение и/или подавление степени экспрессии мРНК гена AGER и/или уменьшение уровней рецептора RAGE.

В некоторых вариантах осуществления средства на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, можно применять для лечения субъекта
15 (например, человека), страдающего заболеванием или нарушением, для которого благоприятно уменьшение уровней рецепторов RAGE, включая, но не ограничиваясь только ими, заболевания легких, такие как астма (включая тяжелую астму), острый респираторный дистресс-синдром, идиопатический фиброз легких, рак легких, бронхолегочная дисплазия, хроническое
20 обструктивное легочное заболевание (ХОЛЗ) или муковисцидоз. В некоторых вариантах осуществления заболеванием легких является тяжелая астма. В некоторых вариантах осуществления у субъекта ранее диагностированы сердечно-сосудистое заболевание (атеросклероз, инфаркт миокарда, сердечная недостаточность, заболевание периферических сосудов), рак, диабет,
25 хроническое заболевание почек, нейродегенеративное заболевание, ревматоидный артрит, неалкогольный стеатогепатит, повреждение, вызванное некоторыми вирусными инфекциями, включая SARS-CoV-2, некоторые воспалительные глазные патологические состояния или атрофия скелетных мышц. Лечение субъекта может включать терапевтическое и/или
30 профилактическое лечение. Субъекту вводят любое одно или большее количество воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, описанных в настоящем изобретении, в терапевтически эффективном количестве. Субъектом может являться человек, пациент или являющийся человеком пациент.

Субъектом может являться взрослый, подросток, ребенок или младенец. Фармацевтическую композицию, описанную в настоящем изобретении, можно вводить человеку или животному.

5 Известно, что увеличенная активность мембранного RAGE способствует воспалению в тканях. В некоторых вариантах осуществления описанные
воздействующие на RAGE средства на основе РНКи применяют для лечения у
субъекта по меньшей мере одного симптома, по меньшей мере отчасти
опосредуемого уменьшением уровней RAGE. Субъекту вводят любое одно или
10 большее количество описанных воздействующих на RAGE средств на основе РНКи в терапевтически эффективном количестве. В некоторых вариантах
осуществления субъекту вводят любое одно или большее количество описанных
воздействующих на RAGE средств на основе РНКи в профилактически
эффективном количестве, при этом субъекта лечат путем предупреждения
15 появления или подавления по меньшей мере одного симптома.

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к
20 способам лечения у нуждающегося в нем пациента заболеваний, нарушений, состояний или патологических состояний, по меньшей мере отчасти
опосредуемых экспрессией гена AGER, где способы включают введение
пациенту любого из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи,
описанных в настоящем изобретении.

В некоторых вариантах осуществления воздействующие на RAGE средства
на основе РНКи применяют для лечения или оказания помощи в случае
клинического проявления или патологического состояния у субъекта, где
клиническое проявление или патологическое состояние по меньшей мере
25 отчасти опосредовано уменьшением экспрессии RAGE. Субъекту вводят одно
или большее количество воздействующих на RAGE средств на основе РНКи или
содержащих воздействующее на RAGE средство на основе РНКи композиций,
описанных в настоящем изобретении, в терапевтически эффективном
количестве. В некоторых вариантах осуществления способ включает введение
30 подвергающемуся лечению субъекту композиции, содержащей воздействующее
на RAGE средство на основе РНКи, описанное в настоящем изобретении.

Другим объектом настоящего изобретения являются способы лечения
(включая профилактическое или предупредительное лечение) заболеваний или

симптомов, на которые можно воздействовать путем уменьшения уровней рецептора RAGE, способы включают введение нуждающемуся в нем субъекту воздействующего на RAGE средство на основе РНКи, которое включает антисмысловую цепь, содержащую последовательность, соответствующую любой из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10. В настоящем изобретении также описаны композиции, предназначенные для применения в таких способах.

Описанные воздействующие на RAGE средства на основе РНКи и/или композиции, которые содержат воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, можно применять в способах терапевтического лечения заболевания или состояний, вызванных увеличенными или повышенными уровнями активности рецептора RAGE. Такие способы включают введение субъекту, например, являющемуся человеком или животным субъекту, воздействующего на RAGE средство на основе РНКи, описанного в настоящем изобретении.

Другим объектом настоящего изобретения являются способы лечения (включая профилактическое лечение) патологического состояния (такого как нарушение или заболевание), по меньшей мере отчасти опосредуемого экспрессией RAGE, где способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества средства на основе РНКи, которое включает антисмысловую цепь, содержащую последовательность, соответствующую любой из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении раскрыты способы подавления экспрессии гена AGER, где способы включают введение в клетку средства на основе РНКи, которое включает антисмысловую цепь, содержащую последовательность, соответствующую любой из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении раскрыты способы лечения (включая профилактическое лечение) патологического состояния, по меньшей мере отчасти опосредуемого экспрессией RAGE, где способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества средства на основе РНКи, которое включает смысловую цепь, содержащую

последовательность, соответствующую любой из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

5 В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении раскрыты способы подавления экспрессии гена AGER, где способы включают введение в клетку средства на основе РНКи, которое включает смысловую цепь, содержащую последовательность, соответствующую любой из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

10 В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении раскрыты способы лечения (включая профилактическое лечение) патологического состояния, по меньшей мере отчасти опосредуемого экспрессией RAGE, где способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества средства на основе РНКи, которое включает смысловую цепь, содержащую последовательность, соответствующую любой из последовательностей, 15 приведенных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую цепь, содержащую последовательность, соответствующую любой из последовательностей, приведенных в таблице 3 или таблице 10.

20 В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении раскрыты способы подавления экспрессии гена AGER (RAGE), где способы включают введение в клетку средства на основе РНКи, которое включает смысловую цепь, содержащую последовательность, соответствующую любой из последовательностей, приведенных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую цепь, содержащую последовательность, соответствующую любой из последовательностей, приведенных в таблице 3 или 25 таблице 10.

30 В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении раскрыты способы подавления экспрессии гена AGER, где способы включают введение субъекту воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, которое включает смысловую цепь, состоящую из последовательности нуклеиновых оснований, соответствующей любой из последовательностей, приведенных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую цепь, состоящую из последовательности нуклеиновых оснований, соответствующей любой из последовательностей, приведенных в таблице 3 или таблице 10. В

других вариантах осуществления изобретение относится к способам подавления экспрессии гена *AGER*, где способы включают введение субъекту воздействующего на *RAGE* средства на основе РНКи, которое включает смысловую цепь, состоящую из модифицированной последовательности, соответствующей любой из последовательностей, приведенных в таблице 4, 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую цепь, состоящую из модифицированной последовательности, соответствующей любой из последовательностей, приведенных в таблице 3 или таблице 10.

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении раскрыты способы подавления экспрессии гена *AGER*, где способы включают введение одного или большего количества воздействующих на *RAGE* средств на основе РНКи, включающих дуплекс, обладающий структурой одного из дуплексов, указанных в таблицах 7А, 7Б, 8, 9А, 9Б и 10.

В некоторых вариантах осуществления степень экспрессии гена и/или уровень мРНК гена *AGER* в конкретных эпителиальных клетках субъекта, которому вводили описанное воздействующее на *RAGE* средство на основе РНКи, уменьшены по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более, чем на 99%, по сравнению со значениями у субъекта до введения воздействующего на *RAGE* средства на основе РНКи или у субъекта, которому не вводили воздействующее на *RAGE* средство на основе РНКи. В некоторых вариантах осуществления уровни рецептора *RAGE* или белка *RAGE* в конкретных эпителиальных клетках субъекта, которому вводили описанное воздействующее на *RAGE* средство на основе РНКи, уменьшены по меньшей мере примерно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более, чем на 99%, по сравнению со значениями у субъекта до введения воздействующего на *RAGE* средства на основе РНКи или у субъекта, которому не вводили воздействующее на *RAGE* средство на основе РНКи. Степень экспрессии гена, уровень белка и/или уровень мРНК у субъекта может быть уменьшен в клетке, группе клеток и/или ткани субъекта. В некоторых вариантах осуществления уровни мРНК гена *AGER* в конкретных эпителиальных клетках субъекта, которому вводили описанное воздействующее на *RAGE* средство на основе

РНКи, уменьшены по меньшей мере примерно на 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 98% по сравнению со значениями у субъекта до введения воздействующего на RAGE средства на основе РНКи или у субъекта, которому не вводили воздействующее на RAGE средство на основе РНКи.

Уменьшение экспрессии гена, уровней мРНК и/или целевого белка можно определить по любым методикам, известным в данной области техники. В настоящем изобретении уменьшение или снижение уровня активности рецептора RAGE и/или уровня белка RAGE совместно означают уменьшение, снижение или подавление экспрессии RAGE. В примерах, приведенных в настоящем изобретении, проиллюстрированы методики определения подавления экспрессии RAGE и экспрессии гена AGER.

Клетки, ткани и не являющиеся человеком организмы

В объем настоящего изобретения входят клетки, ткани и не являющиеся человеком организмы, которые содержат по меньшей мере одно из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, описанных в настоящем изобретении. Клетки, ткани и не являющиеся человеком организмы получают путем доставки средство на основе РНКи в клетку, ткань или не являющийся человеком организм.

Дополнительные иллюстративные варианты осуществления

В настоящем изобретении описаны некоторые дополнительные иллюстративные варианты осуществления раскрытой технологии. Эти варианты осуществления являются лишь иллюстративными и не ограничивают объем настоящего изобретения или прилагаемой формулы изобретения.

Вариант осуществления 1. Средство на основе РНКи, предназначенное для подавления экспрессии гена рецептора конечных продуктов гликирования, включающее:

антисмысловую цепь, содержащую не менее 15 смежных нуклеотидов, в которой 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из последовательностей антисмысловых цепей, раскрытых в таблице 2 или таблице 3; и смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи.

Вариант осуществления 2. Средство на основе РНКи, предназначенное для подавления экспрессии гена рецептора конечных продуктов гликирования, включающее:

5 смысловую цепь, содержащую не менее 15 смежных нуклеотидов, в которой 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в состоящем из такого же количества нуклеотидов фрагмента, указанного в SEQ ID NO:1; и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере частично комплементарна смысловой цепи.

10 Вариант осуществления 3. Ингибитор гена AGER (RAGE), включающий антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, содержащую не менее 15 смежных нуклеотидов, в которой 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются, которая комплементарна любой из целевых нуклеотидных последовательностей, указанных в таблице 1.

15 Вариант осуществления 4. Средство на основе РНКи, включающее (i) антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, состоящую из не менее 15 смежных нуклеотидов, в которой 0, 1, 2 или 3 нуклеотида отличаются от содержащихся в любой из нуклеотидных последовательностей, указанных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10, и (ii) смысловую цепь, по меньшей мере частично комплементарную антисмысловой
20 цепи.

Вариант осуществления 5. Средство на основе РНКи, включающее (i) антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, соответствующую любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей, указанных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10, состоящую из нее или в
25 основном состоящую из нее, (ii) смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, соответствующую любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, состоящую из нее или в основном состоящую из нее.

30 Вариант осуществления 6. Средство на основе РНКи, включающее антисмысловую цепь и смысловую цепь, отождненные с получением дуплекса, где дуплекс обладает структурой любого из дуплексов, указанных в таблице 7А, таблице 7Б, таблице 8, таблице 9 или таблице 10.

Вариант осуществления 7. Средство на основе РНКи, способное подавлять экспрессии гена рецептора конечных продуктов гликирования, включающее:

- 5 (i) антисмысловую цепь, которая обладает длиной, составляющей от 18 до 49 нуклеотидов, которая по меньшей мере частично комплементарна гену рецептора конечных продуктов гликирования (SEQ ID NO:1);
- (ii) смысловую цепь, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи; и
- (iii) направленно действующий лиганд, связанный со смысловой цепью.

10 Вариант осуществления 8. Средство на основе РНКи, предназначенное для подавления экспрессии гена рецептора конечных продуктов гликирования, включающее:

- антисмысловую цепь, содержащую не менее 17 смежных нуклеотидов, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 3; и
- 15 смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи.

Вариант осуществления 9. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-8, где антисмысловая цепь содержит нуклеотиды 2-18, содержащиеся в любой из последовательностей, указанных в

20 таблице 2 или таблице 3.

Вариант осуществления 10. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-9, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, состоящую из не менее 17 смежных нуклеотидов, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в любой

25 из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 4, и где смысловая цепь содержит участок, где 17 смежных нуклеотидов по меньшей мере на 85% комплементарны антисмысловой цепи.

Вариант осуществления 11. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-10, где по меньшей мере один нуклеотид, содержащийся в средстве на основе РНКи, является модифицированным

30 нуклеотидом или содержит модифицированный межнуклеозидный мостик.

Вариант осуществления 12. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-11, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

5 Вариант осуществления 13. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 11-12, где модифицированный нуклеотид выбран из группы, состоящей из следующих: 2'-О-метилнуклеотид, 2'-фторнуклеотид, 2'-дезоксинуклеотид, миметик 2',3'-секонуклеотида, замкнутый нуклеотид, 2'-F-арабинонуклеотид, 2'-метоксиэтилнуклеотид, абазический нуклеотид, рибит, обращенный нуклеотид, обращенный 2'-О-метилнуклеотид, 10 обращенный 2'-дезоксинуклеотид, модифицированный 2'-аминогруппой нуклеотид, модифицированный 2'-алкилом нуклеотид, морфолинонуклеотид, содержащий винилфосфонат нуклеотид, содержащий циклопропилфосфонат нуклеотид и 3'-О-метилнуклеотид.

15 Вариант осуществления 14. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 12, где все или в основном все нуклеотиды представляют собой модифицированные 2'-О-метилом нуклеотиды, модифицированные 2'-фтором нуклеотиды или их комбинации.

20 Вариант осуществления 15. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-14, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, представляющую собой любую из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3.

25 Вариант осуществления 16. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-15, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, представляющую собой любую из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4.

30 Вариант осуществления 17. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 1, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, представляющую собой любую из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, представляющую собой любую из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4.

Вариант осуществления 18. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-17, где смысловая цепь обладает длиной,

составляющей от 18 до 30 нуклеотидов, и антисмысловая цепь обладает длиной, составляющей от 18 до 30 нуклеотидов.

5 Вариант осуществления 19. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 18, где смысловая цепь и антисмысловая цепь обе обладают длиной, составляющей от 18 до 27 нуклеотидов.

Вариант осуществления 20. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 19, где смысловая цепь и антисмысловая цепь обе обладают длиной, составляющей от 18 до 24 нуклеотидов.

10 Вариант осуществления 21. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 20, где смысловая цепь и антисмысловая цепь обе обладают длиной, составляющей 21 нуклеотид.

Вариант осуществления 22. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 21, где средство на основе РНКи включает два тупых конца.

15 Вариант осуществления 23. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-22, где смысловая цепь содержит один или два концевых кэппирующих фрагмента.

20 Вариант осуществления 24. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-23, где смысловая цепь содержит один или два обращенных абазических остатка.

25 Вариант осуществления 25. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 8, где средство на основе РНКи включает смысловую цепь и антисмысловую цепь, которые образуют дуплекс, обладающий структурой любого из дуплексов, указанных в таблице 7А, таблице 7Б, таблице 8, таблице 9А, таблице 9Б или таблице 10.

Вариант осуществления 26. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 25, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

30 Вариант осуществления 27. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 1, включающее антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей ($5' \rightarrow 3'$), или содержит ее:

- UUGUGUUCAGUUUCCAUC (SEQ ID NO:55);
UGAUGUUUUGAGCACCUAC (SEQ ID NO:65);
UCCAUUCUGUUCAUUGC (SEQ ID NO:73);
UUGUGUUCAGUUUCCAUCCG (SEQ ID NO:7);
5 UGAUGUUUUGAGCACCUACUC (SEQ ID NO:9); или
UCCAUUCUGUUCAUUGCCU (SEQ ID NO:8).

Вариант осуществления 28. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 27, где смысловая цепь состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от

10 содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных

последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

- GAAUGGAAACUGAACACAA (SEQ ID NO:298);
GUAGGUGCUCAAAACAUCA (SEQ ID NO:308);
GCAAUGAACAGGAAUIGAA (SEQ ID NO:316);
15 CGGAAUGGAAACUGAACACAA (SEQ ID NO:19);
GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA (SEQ ID NO:20); или
AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA (SEQ ID NO:21).

Вариант осуществления 29. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 27 или 28, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

20 Вариант осуществления 30. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 1, включающее антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных

25 ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

- usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:2);
сPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:3);
usGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:5);
сPrpusGfsasuguuuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:6);
30 usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu (SEQ ID NO:4);

где а, с, g и u обозначают 2'-О-метиладенозин, 2'-О-метилцитидин, 2'-О-метилгуанозин и 2'-О-метилуридин соответственно; Af, Cf, Gf и Uf обозначают 2'-фтораденозин, 2'-фторцитидин, 2'-фторгуанозин и 2'-фторуридин

соответственно; sPrpu обозначает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин; s обозначает фосфоротиоатный мостик; и где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами.

Вариант осуществления 31. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 1, где смысловая цепь состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

gsaguagGfuGfcUfcaaaaca (SEQ ID NO:14);
10 asggcaaugAfAfCfaggaauigaa (SEQ ID NO:15);
csggaaugGfAfAfAfcugaacasa (SEQ ID NO:13);

где a, c, g, i и u обозначают 2'-О-метиладенозин, 2'-О-метилцитидин, 2'-О-метилгуанозин, 2'-О-метилюридин и 2'-О-метилцитидин соответственно; Af, Cf, Gf, и Uf обозначают 2'-фтораденозин, 2'-фторцитидин, 2'-фторгуанозин и 2'-фторуридин соответственно; и s обозначает фосфоротиоатный мостик; и где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся в антисмысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами.

Вариант осуществления 32. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 27-31, где смысловая цепь дополнительно содержит обращенные абазические остатки на 3'-конце нуклеотидной последовательности, на 5'-конце нуклеотидной последовательности или на них обоих.

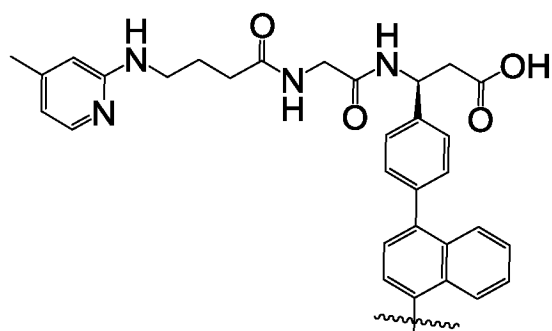
Вариант осуществления 33. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 1-32, где средство на основе РНКи связано с направленно действующим лигандом.

Вариант осуществления 34. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 33, где направленно действующий лиганд обладает сродством к клеточному рецептору, экспрессирующемуся в эпителиальных клетках.

Вариант осуществления 35. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 34, где направленно действующий лиганд включает лиганд, направленно действующий на интегрин.

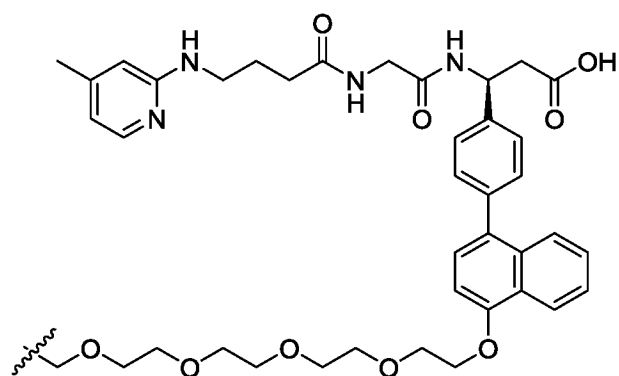
Вариант осуществления 36. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 35, где лигандом, направленно действующим на интегрин, является лиганд, направленно действующий на интегрин $\alpha\nu\beta6$.

5 вариант осуществления 36, где направленно действующий лиганд включает обладающий структурой:



или его фармацевтически приемлемую

соль, или

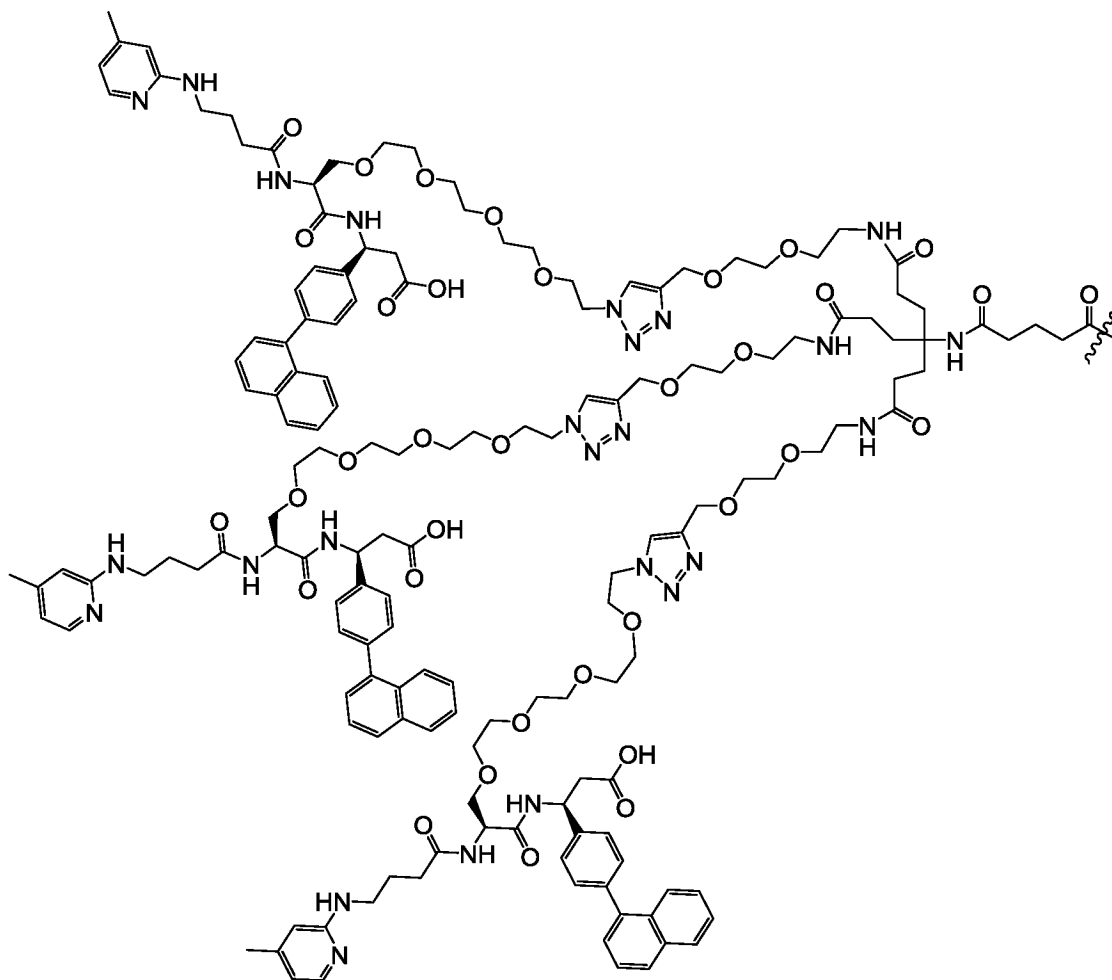


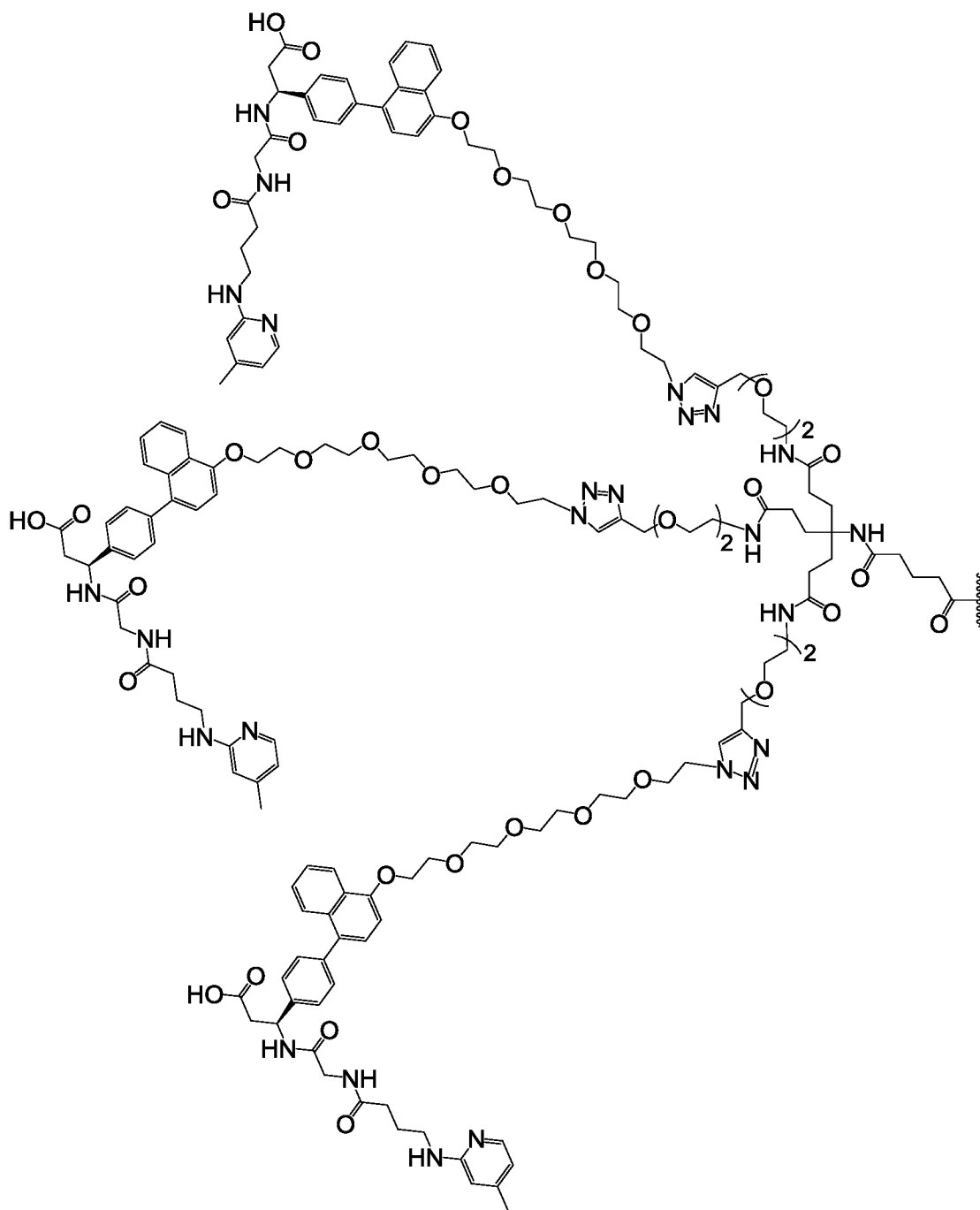
или его фармацевтически приемлемую

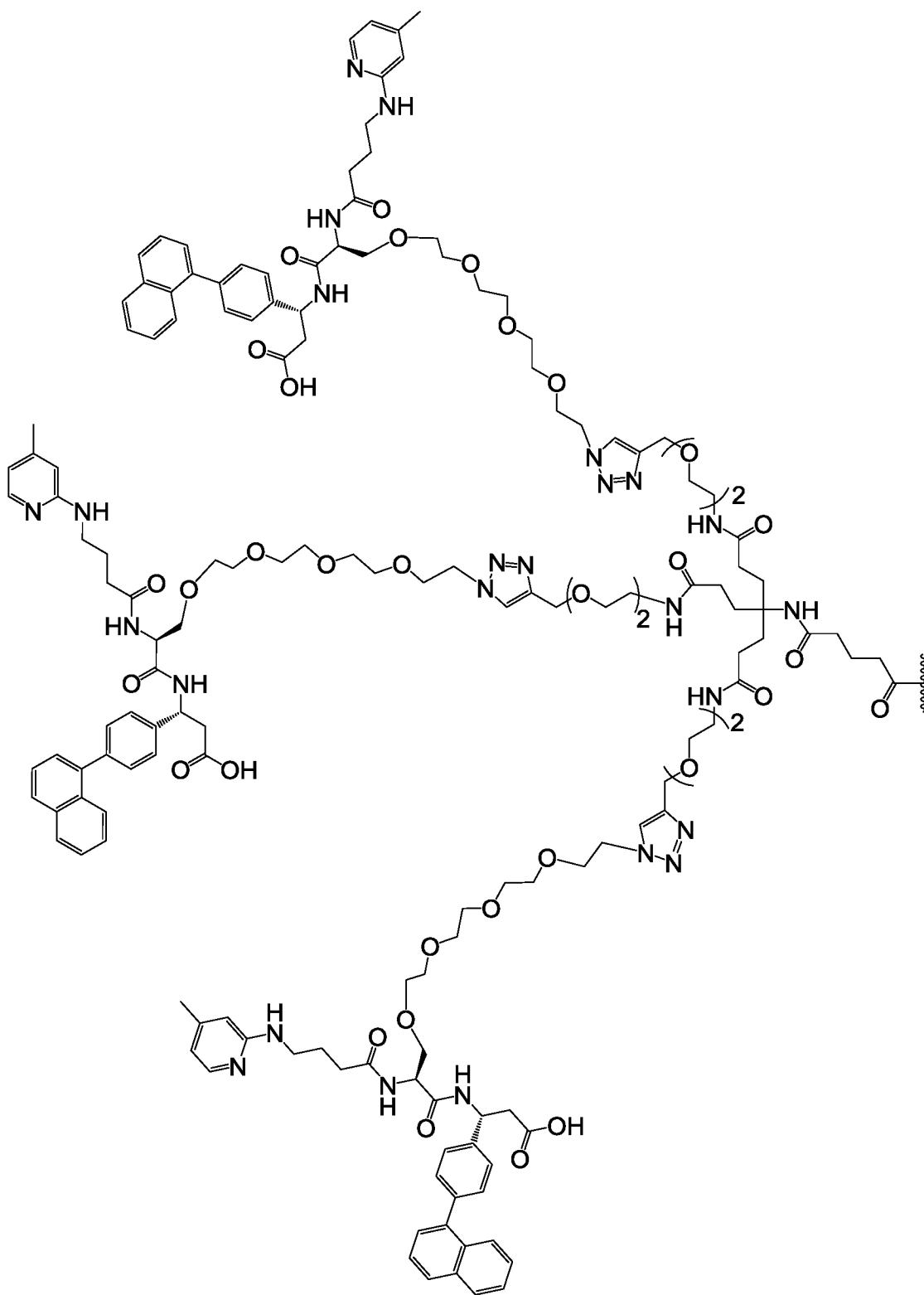
10 соль,

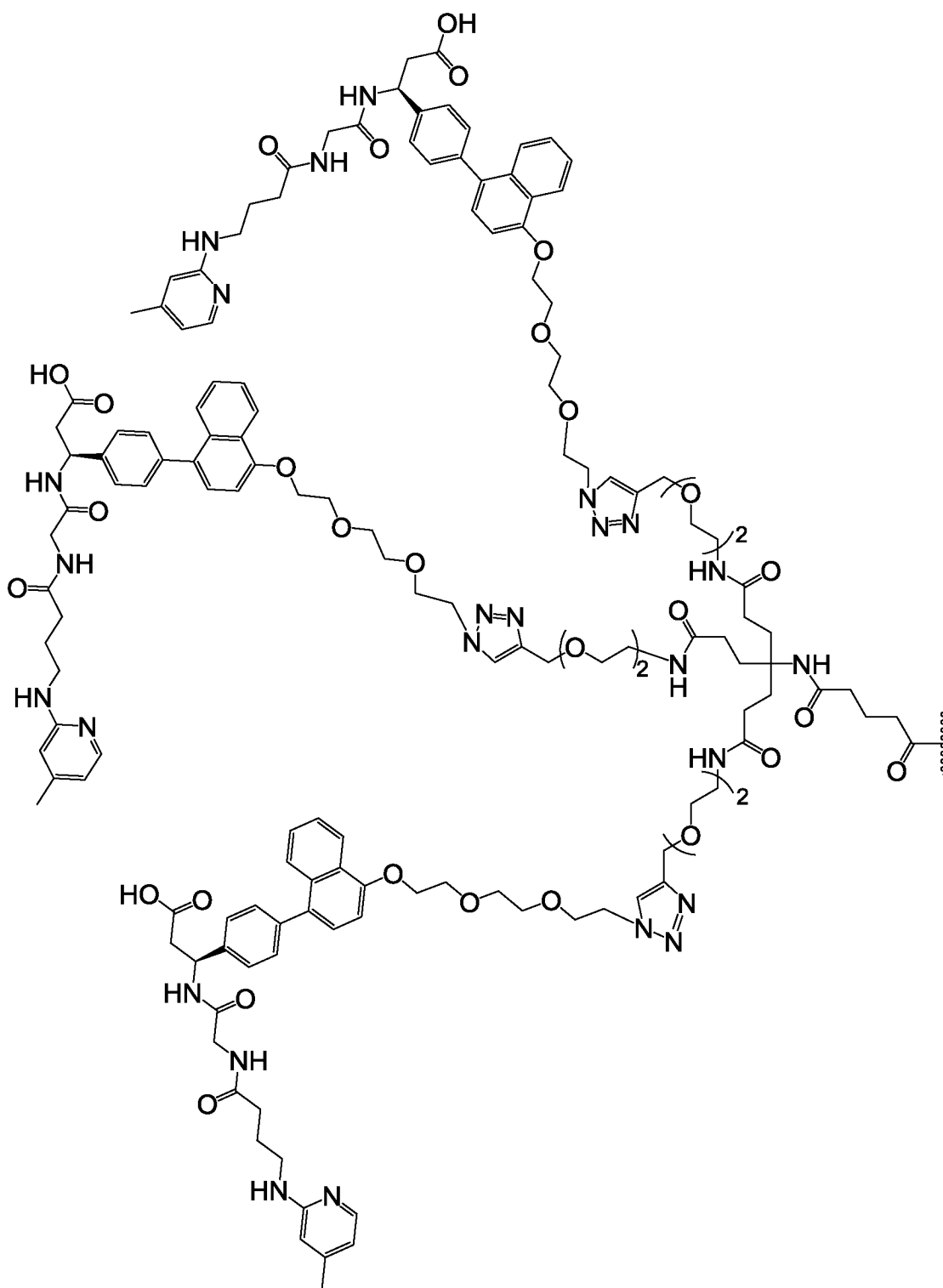
где знак  означает положение присоединения к средству средство на основе РНКи.

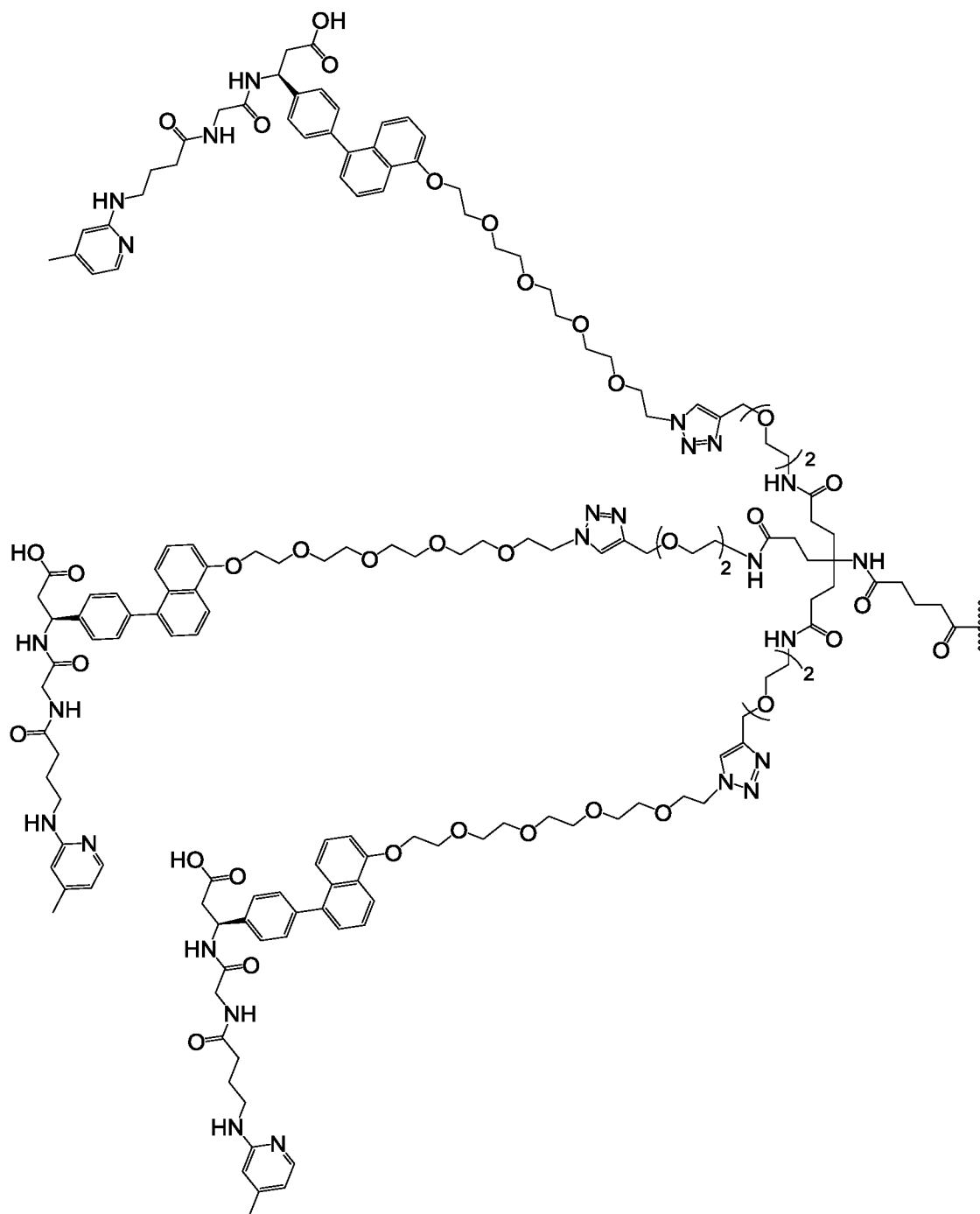
Вариант осуществления 38. Средство на основе РНКи, соответствующее любому из вариантов осуществления 33-36, где направленно действующий лиганд обладает структурой, выбранной из группы, состоящей из следующих:



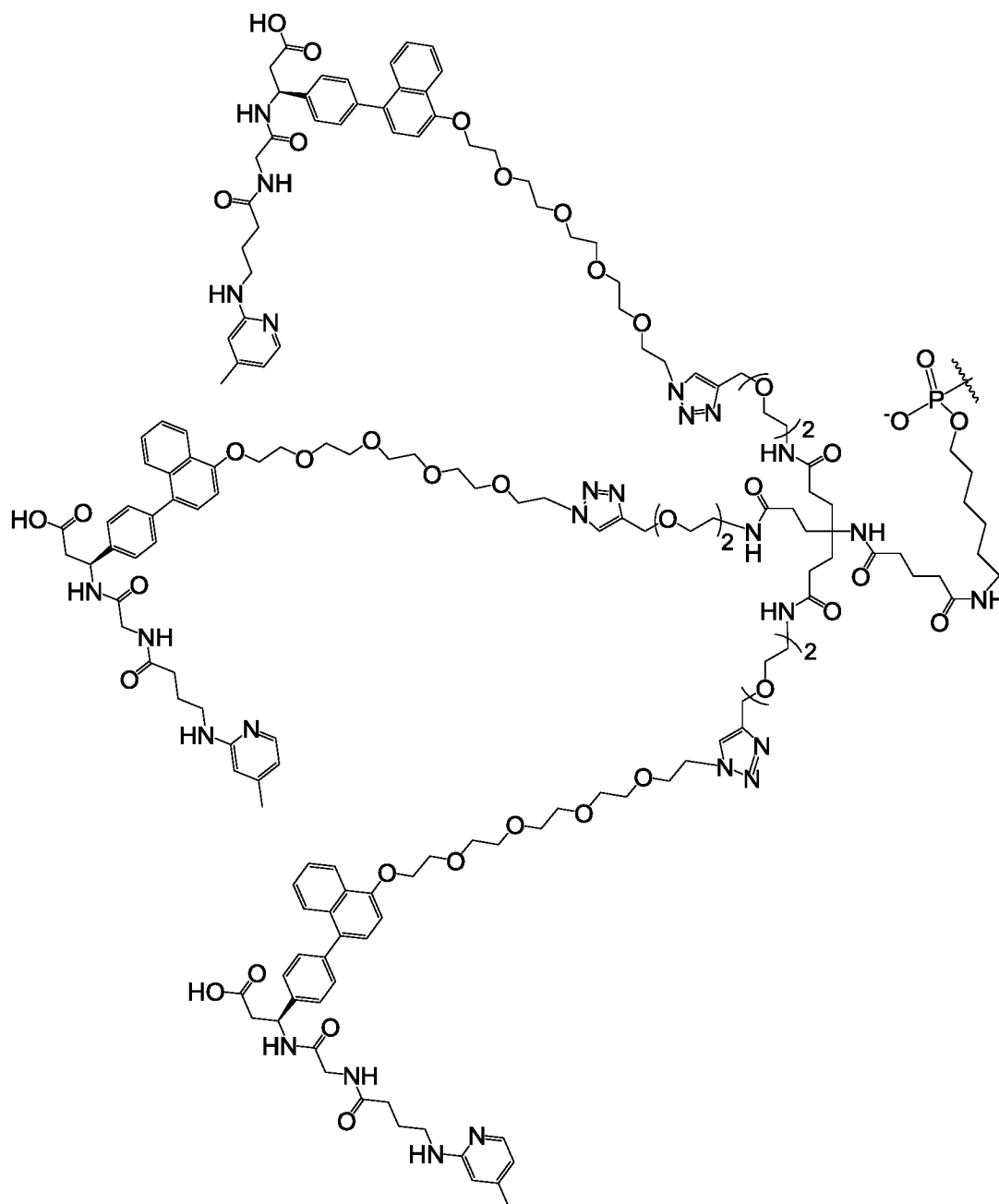








Вариант осуществления 39. Средство на основе РНКи, соответствующее варианту осуществления 38, где средство на основе РНКи конъюгировано с направленно действующим лигандом, обладающим следующей структурой:



Вариант осуществления 48. Композиция, соответствующая варианту осуществления 47, где доставку композиции осуществляют с помощью дозирующего ингалятора, струйного небулайзера, меш-небулайзера с вибрирующей сеткой или мягко распыляющего ингалятора.

5 Вариант осуществления 49. Композиция, соответствующая любому из вариантов осуществления 44-48, где средство на основе РНКи представляет собой натриевую соль.

10 Вариант осуществления 50. Композиция, соответствующая любому из вариантов осуществления 44-49, где фармацевтически приемлемым инертным наполнителем является вода для инъекций.

Вариант осуществления 51. Композиция, соответствующая любому из вариантов осуществления 44-49, где фармацевтически приемлемым инертным наполнителем является забуференный физиологический раствор.

15 Вариант осуществления 52. Способ подавления экспрессии гена рецептора конечных продуктов гликирования в клетке, способ включает введение в клетку средства на основе РНКи, соответствующего любому из вариантов осуществления 1-43, или композиции, соответствующей любому из вариантов осуществления 44-51, в эффективном количестве.

20 Вариант осуществления 53. Способ, соответствующий варианту осуществления 52, где клетка находится внутри субъекта.

Вариант осуществления 54. Способ, соответствующий варианту осуществления 53, где субъект представляет собой являющийся человеком субъект.

25 Вариант осуществления 55. Способ, соответствующий любому из вариантов осуществления 52-54, где после введения средства на основе РНКи экспрессия гена рецептора конечных продуктов гликирования подавляется по меньшей мере примерно на 30%.

30 Вариант осуществления 56. Способ лечения одного или большего количества симптомов или заболеваний, связанных с увеличенными или повышенными уровнями активности мембранного RAGE, способ включает введение нуждающемуся в нем являющемуся человеком субъекту композиции, соответствующей любому из вариантов осуществления 44-51, в терапевтически эффективном количестве.

Вариант осуществления 57. Способ, соответствующий варианту осуществления 56, где заболеванием является респираторное заболевание.

Вариант осуществления 58. Способ, соответствующий варианту осуществления 57, где респираторным заболеванием является муковисцидоз, пневмония, хронический бронхит, не связанный с муковисцидозом бронхоэктаз, хроническое обструктивное легочное заболевание (ХОЛЗ), астма, инфекции дыхательных путей, первичная цилиарная дискинезия или связанный с карциномой легких муковисцидоз.

Вариант осуществления 59. Способ, соответствующий варианту осуществления 58, где заболеванием является хроническое обструктивное легочное заболевание (ХОЛЗ).

Вариант осуществления 60. Способ, соответствующий варианту осуществления 56, где заболеванием является глазное заболевание.

Вариант осуществления 61. Способ, соответствующий варианту осуществления 60, где глазным заболеванием является сухой кератит.

Вариант осуществления 62. Способ, соответствующий любому из вариантов осуществления 52-61, где средство на основе РНКи вводят при осадившейся дозе, равной от примерно 0,01 до примерно 5,0 мг/(кг массы тела субъекта).

Вариант осуществления 63. Способ, соответствующий любому из вариантов осуществления 52-61, где средство на основе РНКи вводят при осадившейся дозе, равной от примерно 0,03 до примерно 2,0 мг/(кг массы тела субъекта).

Вариант осуществления 64. Способ, соответствующий любому из вариантов осуществления 52-61, где средство на основе РНКи вводят в виде двух или большего количества доз.

Вариант осуществления 65. Применение средства на основе РНКи, соответствующего любому из вариантов осуществления 1-43, для лечения заболевания, нарушения или симптома, который по меньшей мере отчасти опосредован активностью мембранного RAGE и/или экспрессией гена AGER.

Вариант осуществления 66. Применение композиции, соответствующей любому из вариантов осуществления 44-51, для лечения заболевания, нарушения или симптома, который по меньшей мере отчасти опосредован активностью рецептора конечных продуктов гликирования и/или экспрессией гена рецептора конечных продуктов гликирования.

Вариант осуществления 67. Применение композиции, соответствующей любому из вариантов осуществления 44-51 для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения заболевания, нарушения или симптома, который по меньшей мере отчасти опосредован активностью рецептора конечных продуктов гликирования и/или экспрессией гена рецептора конечных продуктов гликирования.

Вариант осуществления 68. Применение, соответствующее любому из вариантов осуществления 65-67, где заболеванием является воспаление легких.

Вариант осуществления 69. Способ получения средства на основе РНКи, соответствующего любому из вариантов осуществления 1-43, включающий отжиг смысловой цепи и антисмысловой цепи с получением двухцепочечной молекулы рибонуклеиновой кислоты.

Вариант осуществления 70. Способ, соответствующий варианту осуществления 69, где смысловая цепь содержит направленно действующий лиганд.

Вариант осуществления 71. Способ, соответствующий варианту осуществления 70, включающий конъюгирование направленно действующего лиганда со смысловой цепью.

Описанные выше варианты осуществления и положения проиллюстрированы с помощью приведенных ниже неограничивающих примеров.

Примеры

Пример 1. Синтез воздействующих на RAGE средств на основе РНКи

Дуплексы воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, раскрытые в настоящем изобретении, синтезировали в соответствии с приведенным ниже описанием:

А. Синтез. Смысловые и антисмысловые цепи воздействующих на RAGE средств на основе РНКи синтезировали в соответствии с технологией твердофазного синтеза с использованием фосфорамидита, используемой для синтеза олигонуклеотидов. В зависимости от масштаба использовали MerMade96E® (Bioautomation), MerMade12® (Bioautomation) или OP Pilot 100 (GE Healthcare). Синтез проводили на твердой подложке, изготовленной из стекла с контролируемым размером пор (СКП, 500 Å или 600 Å, приобретали у

фирмы Prime Synthesis, Aston, PA, USA). На начальном этапе проведения синтеза мономер, находящийся на 3'-конце соответствующей цепи, присоединяли к твердой подложке. Все РНК и 2'-модифицированные РНК-фосфорамидиты приобретали у фирмы Thermo Fisher Scientific (Milwaukee, WI, USA). Точнее, приведенные ниже 2'-О-метилфосфорамидиты, которые

5 использовали, включали следующие: (5'-О-диметокситритил-N⁶-(бензоил)-2'-О-метиладенозин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфорамидит, 5'-О-диметокситритил-N⁴-(ацетил)-2'-О-метилцитидин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфорамидит, (5'-О-диметокситритил-N²-(изобутирил)-2'-О-метилгуанозин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфорамидит и

10 5'-О-диметокситритил-2'-О-метилуридин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфорамидит. 2'-Дезокси-2'-фторфосфорамидиты содержали такие же защитные группы, как 2'-О-метил-РНК-амидиты. 5'-Диметокситритил-2'-О-метилюридин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфорамидиты приобретали у фирмы Glen Research

15 (Virginia). Обращенные абазические (3'-О-диметокситритил-2'-дезоксирибоза-5'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфорамидиты приобретали у фирмы ChemGenes (Wilmington, MA, USA). Использовали следующие содержащие НАК (неблокированные аминокислоты) фосфорамидиты: 5'-(4,4'-диметокситритил)-N⁶-(бензоил)-2',3'-секоаденозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфорамидит, 5'-(4,4'-диметокситритил)-N-ацетил-2',3'-секоцитозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфорамидит, 5'-(4,4'-диметокситритил)-N-изобутирил-2',3'-секогуанозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфорамидит и 5'-(4,4'-диметокситритил)-2',3'-секоуридин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфорамидит.

25 ТФК-AminoLink-фосфорамидиты (ТФК = трифторуксусная кислота) также приобретали у промышленных поставщиков (ThermoFisher). Мостик L6 приобретали в виде соединения пропаргил-ПЭГ₅-NHS у фирмы BroadPharm (catalog # BP-20907) и с использованием стандартных условий проведения

30 реакции сочетания его вводили в реакцию сочетания с группой NH₂-C₆, содержащейся в AminoLink-фосфорамидите, с получением -L6-C₆-. Аналогичным образом, мостик Alk-суНex приобретали у фирмы Lumiprobe (алкинфосфорамидит, 5'-концевой) в виде содержащего пропаргил соединения и

с использованием фосфорамидита получали мостик -Alk-суHex-. В каждом случае фосфоротиоатные мостики вводили так, как это указано, с использованием условий, описанных в настоящем изобретении.

5 Циклопропилфосфонатфосфорамидиты синтезировали в соответствии с публикацией заявки на международный патент № WO 2017/214112.

10 Содержащие триалкин фосфорамидиты растворяли безводном дихлорметане или в безводном ацетонитриле (50 мМ), тогда как все другие амидиты растворяли в безводном ацетонитриле (50 мМ) и добавляли молекулярные сита (3 Å). В качестве активирующего раствора использовали 5-бензилтио-1Н-тетразол (БТТ, 250 мМ в ацетонитриле) или 5-этилтио-1Н-тетразол (ЭТТ, 250 мМ в ацетонитриле). Время проведения реакции сочетания составляло 10 мин (РНК), 90 с (2'-О-Ме) и 60 с (2'-F). Для введения фосфоротиоатных мостиков использовали 100 мМ раствор 3-фенил-1,2,4-дитиазолин-5-она (POS, приобретали у фирмы PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA) в безводном ацетонитриле.

15 Альтернативно, содержащие триалкин фрагменты вводили после проведения синтеза (см. приведенный ниже раздел E). Для проведения этой методики смысловую цепь функционализировали 5'- и/или 3'-концевым нуклеотидом, содержащим первичный амин. ТФК-AminoLink-фосфорамидит растворяли в безводном ацетонитриле (50 мМ) и добавляли молекулярные сита (3 Å). В качестве активирующего раствора использовали 5-бензилтио-1Н-тетразол (БТТ, 250 мМ в ацетонитриле) или 5-этилтио-1Н-тетразол (ЭТТ, 250 мМ в ацетонитриле). Время проведения реакции сочетания составляло 10 мин (РНК), 90 с (2'-О-Ме) и 60 с (2'-F). Для введения фосфоротиоатных мостиков использовали 100 мМ раствор 3-фенил-1,2,4-дитиазолин-5-она (POS, приобретали у фирмы PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA) в безводном ацетонитриле.

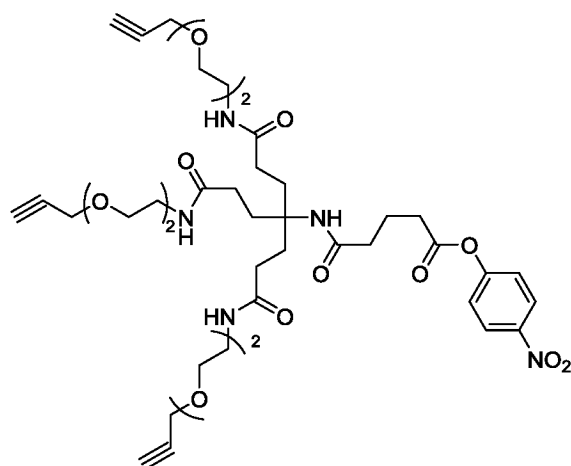
20 В. Отщепление связанного с подложкой олигомера и удаление защитной группы. После завершения твердофазного синтеза высушенную твердую подложку обрабатывали 40 мас.% раствором метиламина в воде, 1:1 (об./об.) и 28-31% раствором гидроксида аммония (Aldrich) при 30°C в течение 1,5 ч. Растворитель выпаривали и твердый остаток восстанавливали в воде (см. ниже).

С. Очистка. Неочищенные олигомеры очищали с помощью анионообменной ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) с использованием колонки TSKgel SuperQ-5PW, 13 мкм, и системы Shimadzu LC-8. Буфер А являлся следующим: 20 mM Tris (трис(гидроксиметиламинометан)), 5 mM ЭДТК (этилендиаминтетрауксусная кислота), pH 9,0, с добавлением 20% ацетонитрила, и буфер В являлся таким же, как буфер А, с добавлением 1,5 М хлорида натрия. Снимали УФ-спектры при 260 нм. Соответствующие фракции объединяли и затем обрабатывали с помощью эксклюзионной ВЭЖХ с использованием колонки GE Healthcare XK 16/40, содержащей тонкодисперсный Sephadex G-25, и движущегося буфера: 100 mM бикарбоната аммония, pH 6,7, и 20% ацетонитрила или профильтрованной воды. Альтернативно, собранные фракции обессоливали и с помощью тангенциального поточного фильтрования проводили замену растворителя на соответствующий буфер или систему растворителей.

Д. Отжиг. Комплементарные цепи смешивали путем объединения эквимольных количеств растворов РНК (смысловая и антисмысловая) в 1×3ФФ (забуференный фосфатом физиологический раствор, 1×, Corning, Cellgro) с получением средств на основе РНКи. Некоторые средства на основе РНКи лиофилизировали и хранили при -15 - -25°C. Концентрацию дуплекса определяли путем измерения интенсивности поглощения раствора в 1×3ФФ с помощью спектрометра УФ-ВИД (ультрафиолетовая-видимая область). Затем для определения концентрации дуплекса интенсивность поглощения раствора при 260 нм умножали на коэффициент пересчета (0,050 мг/(мл·см)) и коэффициент разбавления.

Е. Конъюгирование содержащего триалкин мостика. В некоторых вариантах осуществления содержащий триалкин мостик конъюгируют со смысловой цепью средства на основе РНКи, находящегося на смоле в виде фосфорамидита (см. пример 1G, в котором описан пример синтеза структуры содержащий триалкин мостик-фосфорамидит, и пример 1A, в котором описано конъюгирование фосфорамидита). В других вариантах осуществления содержащий триалкин мостик можно конъюгировать со смысловой цепью после отщепления от смолы, как это описано ниже: до или после отжига, в некоторых вариантах осуществления функционализированную амином по 5'- или 3'-концу смысловую цепь конъюгируют с содержащим триалкин мостиком. Примером

структуры содержащего триалкин мостика, который можно использовать для получения конструкций, раскрытых в настоящем изобретении, является



следующая:

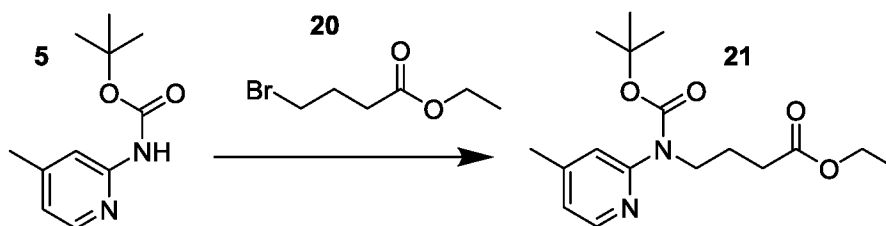
. Для конъюгирования

содержащего триалкин мостика с подвергнутым отжигу дуплексом

5 функционализированный амином дуплекс растворяли в смеси 90% ДМСО (диметилсульфоксид)/10% H₂O при концентрации, равной ~50-70 мг/мл.

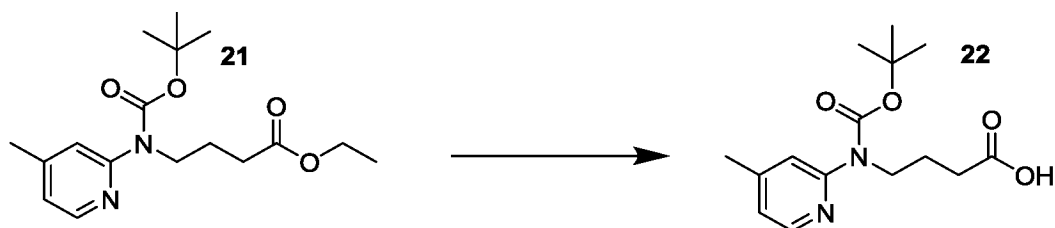
Добавляли 40 экв. триэтиламина, затем 3 экв. содержащего триалкин-PNP. После завершения конъюгат дважды осаждали из системы растворителей, содержащей 1×буференный фосфатом физиологический раствор/ацетонитрил (отношение 10 1:14), и сушили.

Ф. Синтез направленно действующего лиганда SM6.1 ((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксататрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановая кислота)

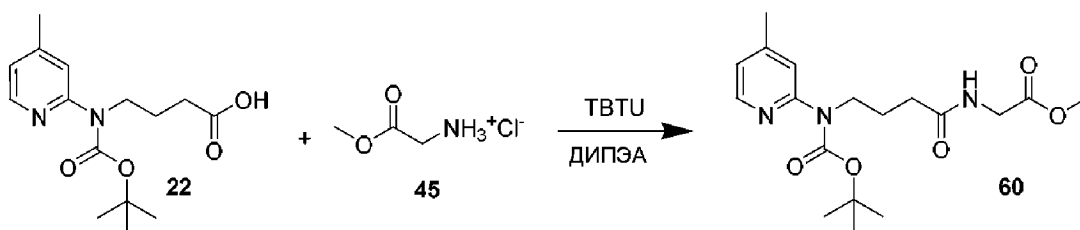


15 Соединение 5 (трет-бутил(4-метилпиридин-2-ил)карбамат) (0,501 г, 2,406 ммоль, 1 экв.) растворяли в ДМФ (N,N-диметилформамид, 17 мл). К смеси добавляли NaN (0,116 мг, 3,01 ммоль, 1,25 экв., 60% дисперсия в масле). Смесь перемешивали в течение 10 мин, затем добавляли соединение 20 (этил-4-бромбутират (0,745 г, 3,82 ммоль, 0,547 мл)) (Sigma 167118). Через 3 ч реакцию 20 останавливали этанолом (18 мл) и смесь концентрировали. Концентрат растворяли в ДХМ (дихлорметан, 50 мл) и промывали насыщенным водным раствором. NaCl (1×50 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и

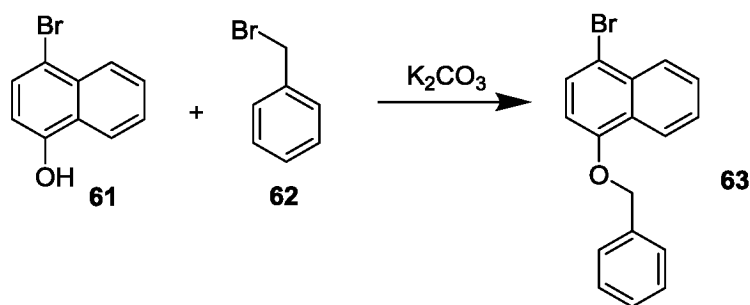
концентрировали. Продукт очищали на колонке с диоксидом кремния, градиентный режим: 0-5% метанола в ДХМ.



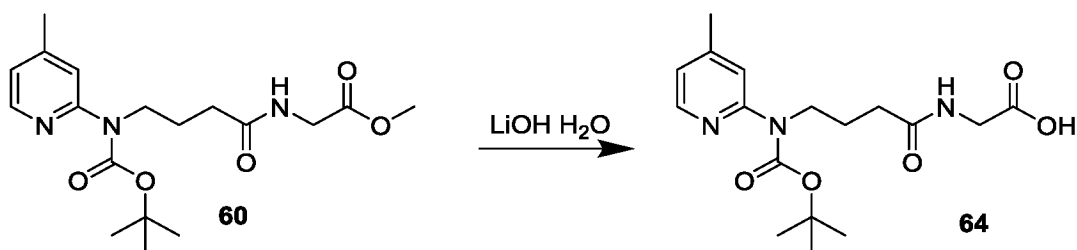
Соединение 21 (0,80 г, 2,378 ммоль) растворяли в 100 мл смеси ацетон:0,1 М раствор NaOH [1:1]. За протеканием реакции следили с помощью ТСХ (тонкослойная хроматография, 5% этилацетата в гексане). Органические вещества выпаривали и остаток подкисляли 0,3 М раствором лимонной кислоты (40 мл) до pH = 3-4. Продукт экстрагировали с помощью ДХМ (3×75 мл). Органические вещества объединяли, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки.



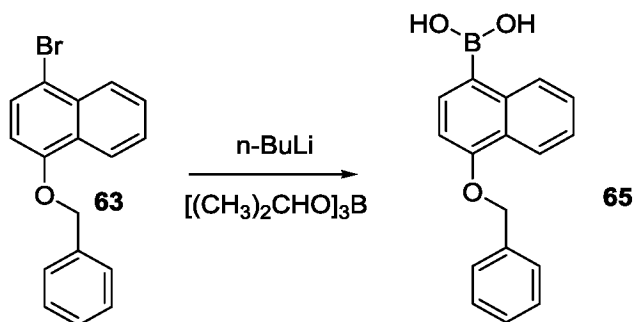
К раствору соединения 22 (1,1 г, 3,95 ммоль, 1 экв.), соединения 45 (595 мг, 4,74 ммоль, 1,2 экв.) и TBTU (О-(бензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетрамилуронийтетрафторборат, 1,52 г, 4,74 ммоль, 1,2 экв.) в безводном ДМФ (10 мл) при 0°С добавляли диизопропилэтиламин (ДИПЭА, 2,06 мл, 11,85 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Реакцию останавливали насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл) и органические фазы объединяли, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт отделяли с использованием CombiFlash® и силикагеля в качестве неподвижной фазы. ЖХ-МС (жидкостная хроматография - масс-спектрометрия): [M+H]⁺: рассчитано: 366,20, найдено: 367.



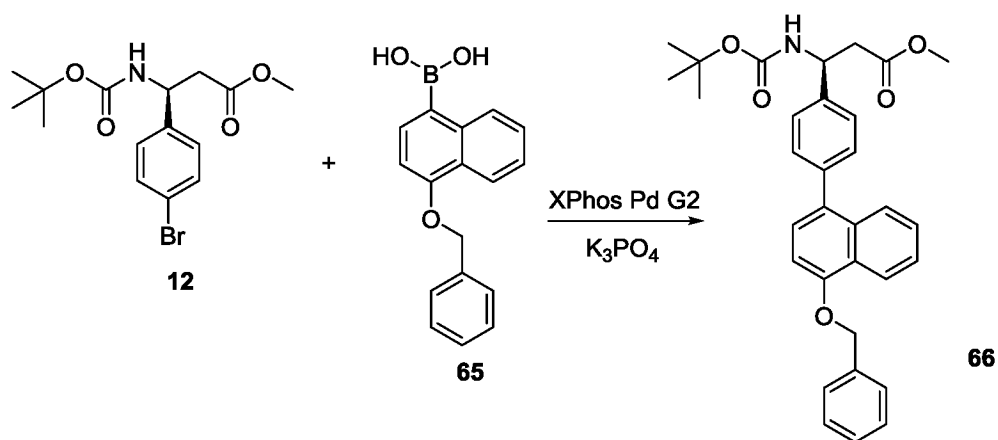
К раствору соединения 61 (2 г, 8,96 ммоль, 1 экв.) и соединения 62 (2,13 мл, 17,93 ммоль, 2 экв.) в безводном ДМФ (10 мл) при 0°C добавляли K_2CO_3 (2,48 г, 17,93 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакцию останавливали водой (10 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл) и органические фазы объединяли, сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт отделяли с использованием CombiFlash® и силикагеля в качестве неподвижной фазы.



К раствору соединения 60 (1,77 г, 4,84 ммоль, 1 экв.) в ТГФ (тетрагидрофуран, 5 мл) и H_2O (5 мл) при 0°C порциями добавляли моногидрат гидроксида лития (0,61 г, 14,53 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 3 ч реакцию смесь подкисляли с помощью HCl (6 н. раствор) до $pH = 3,0$. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×20 мл) и органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. ЖХ-МС: $[M+H]^+$: рассчитано: 352,18, найдено: 352.



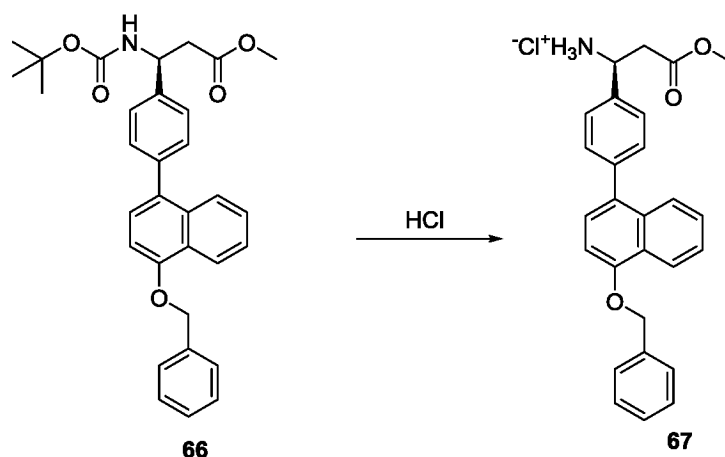
К раствору соединения 63 (1,88 г, 6,0 ммоль, 1,0 экв.) в безводном ТГФ (20 мл) при -78°C по каплям добавляли $n\text{-BuLi}$ в гексане (3,6 мл, 9,0 ммоль, 1,5 экв.). Реакционную смесь выдерживали при -78°C в течение еще 1 ч. Затем к смеси при -78°C добавляли триизопропилборат (2,08 мл, 9,0 ммоль, 1,5 экв.). Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 ч. Реакцию останавливали насыщенным раствором NH_4Cl (20 мл) и значение pH смеси устанавливали равным 3. Водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (3×20 мл) и органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали.



В круглодонной колбе смешивали соединение 12 (300 мг, 0,837 ммоль, 1,0 экв.), соединение 65 (349 мг, 1,256 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (13 мг, 0,0167 ммоль, 0,02 экв.) и K_3PO_4 (355 мг, 1,675 ммоль, 2,0 экв.). Колбу герметично закрывали завинчивающейся крышкой с мембраной и затем вакуумировали и повторно заполняли азотом (эту процедуру повторяли всего 3 раза). Затем шприцем добавляли ТГФ (8 мл) и воду (2 мл). Смесь продували азотом в течение 20 мин и реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию останавливали водой (10 мл) и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органическую фазу сушили над Na_2SO_4 , концентрировали и очищали с использованием CombiFlash® и силикагеля в качестве неподвижной фазы при элюировании с помощью 15% EtOAc в гексане. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+$: рассчитано: 512,24, найдено: 512,56.

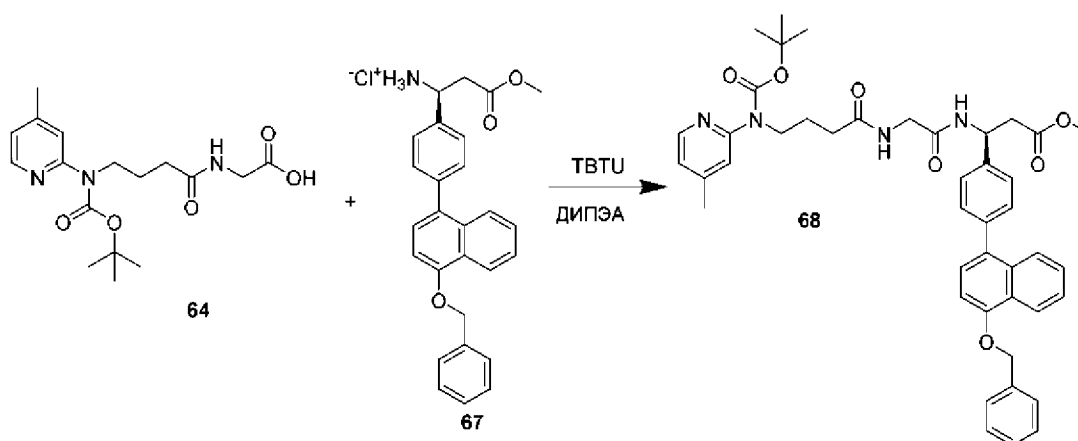
15

20



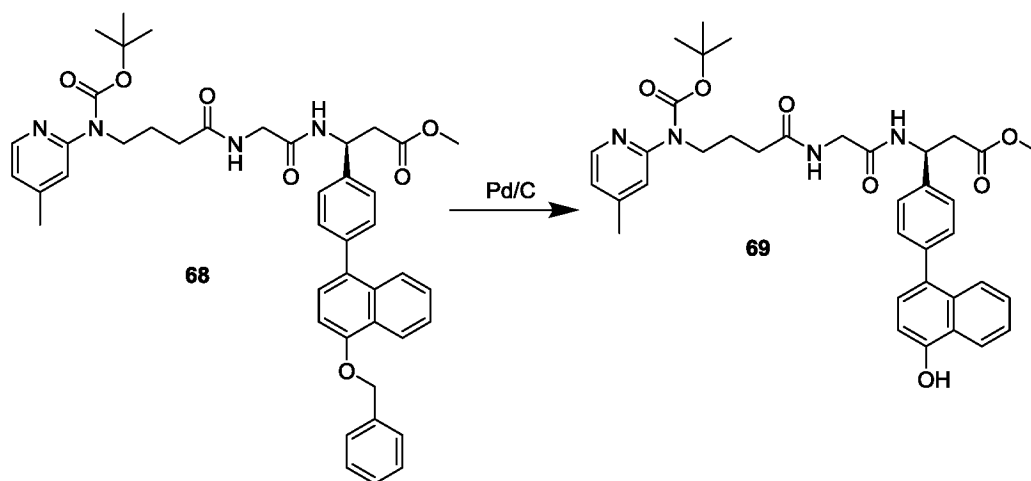
Соединение 66 (858 мг, 1,677 ммоль, 1,0 экв.) охлаждали в бане со льдом. В колбу добавляли раствор HCl в диоксане (8,4 мл, 33,54 ммоль, 20 экв.).

5 Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 ч. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя и продукт непосредственно использовали без дополнительной очистки. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+$: рассчитано: 412,18, найдено: 412,46.



10 К раствору соединения 64 (500 мг, 1,423 ммоль, 1 экв.), соединения 67 (669 мг, 1,494 ммоль, 1,05 экв.) и TBUTU (548 мг, 0,492 ммоль, 1,2 экв.) в безводном ДМФ (15 мл) при 0°C добавляли диизопропилэтиламин (0,744 мл, 4,268 ммоль, 3 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 ч. Реакцию останавливали насыщенным водным раствором NaHCO_3 (10 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3×20 мл).

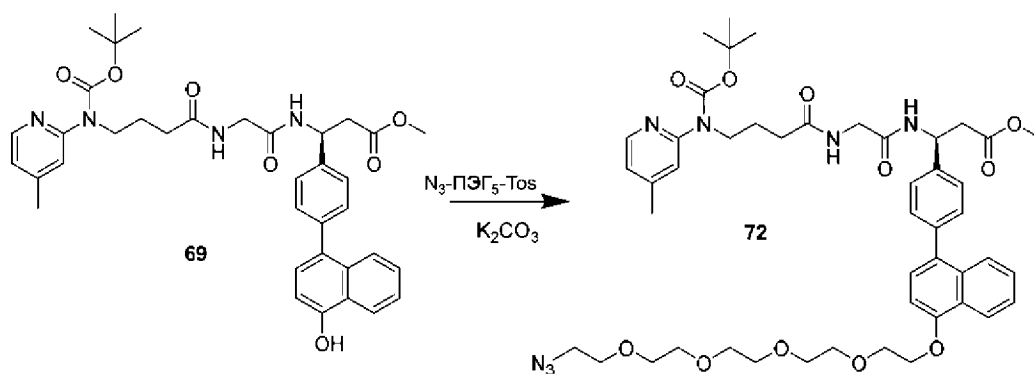
15 Органические фазы объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт очищали с использованием CombiFlash® и силикагеля в качестве неподвижной фазы при элюировании с помощью 3-4% метанола в ДХМ. Выход составлял 96,23%. ЖХ-МС: $[\text{M}+\text{H}]^+$: рассчитано: 745,35, найдено: 746,08.



К раствору соединения 68 (1,02 г, 1,369 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) при комнатной температуре добавляли 10% Pd/C (0,15 г, 50% H₂O).

5 Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и за протеканием реакции следили с помощью ЖХ-МС. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. Твердые вещества отфильтровывали через целит® и растворитель удаляли с помощью роторного испарителя.

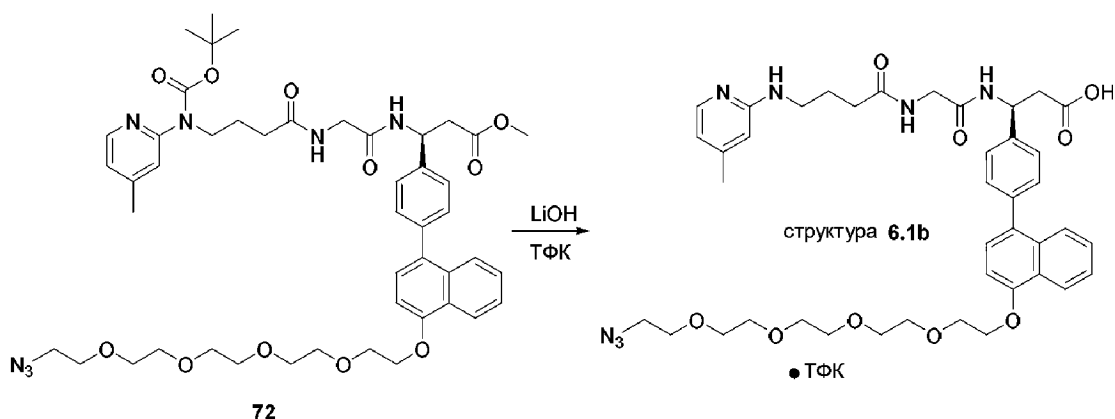
Продукт непосредственно использовали без дополнительной очистки. ЖХ-МС: [M+H]⁺ 655,31, найдено: 655,87.



10

К раствору соединения 69 (100 мг, 0,152 ммоль, 1 экв.) и азидо-ПЭГ₅-OTs (128 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.) в безводном ДМФ (2 мл) при 0°C добавляли K₂CO₃ (42 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 6 ч. Реакцию останавливали насыщенным раствором NaHCO₃ и водный слой экстрагировали этилацетатом (3×10 мл). Органическую фазу объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. ЖХ-МС: [M+H]⁺: рассчитано: 900,40, найдено: 901,46.

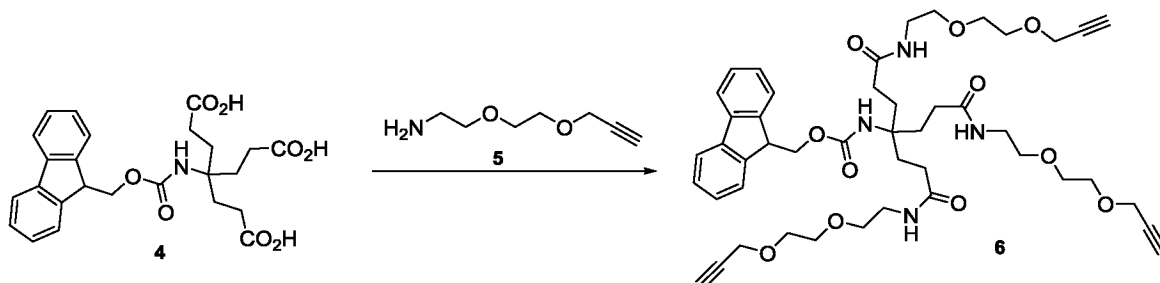
15



К раствору соединения 72 (59 мг, 0,0656 ммоль, 1,0 экв.) в ТГФ (2 мл) и воде (2 мл) при комнатной температуре добавляли гидроксид лития (5 мг, 0,197 ммоль, 3,0 экв.) е. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 ч. Значение рН устанавливали равным 3,0 с помощью HCl (6 н. раствор) и водную фазу экстрагировали с помощью EtOAc (3×10 мл). Органические фазы объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли ТФК (0,5 мл) и ДХМ (0,5 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 ч. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. ЖХ-МС: [M+H]⁺: рассчитано: 786,37, найдено: 786,95.

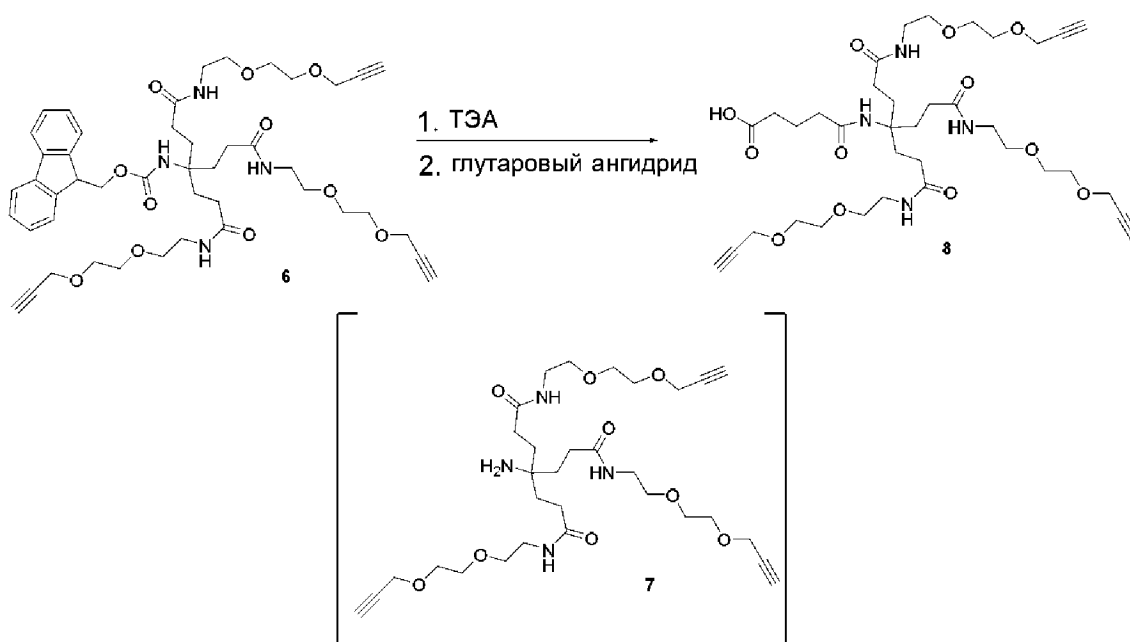
G. Синтез TriAlk14

TriAlk14 и (TriAlk14)s, представленные в приведенной выше таблице 11, можно синтезировать с использованием пути синтеза, приведенного ниже. Соединение 14, находящееся в виде фосфорамидита, можно присоединить к смысловой цепи с использованием стандартных методик синтеза олигонуклеотидов или соединение 22 можно конъюгировать со смысловой цепью, содержащей амин, путем реакции сочетания с образованием амида.



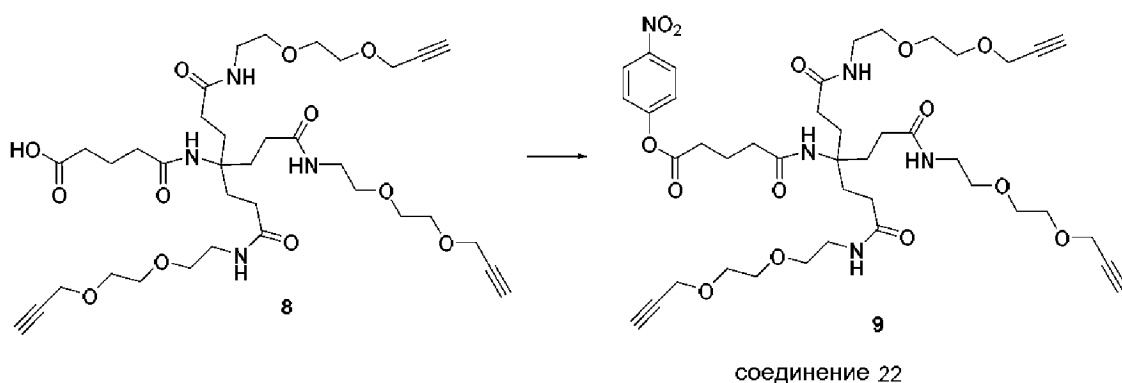
В снабженный рубашкой реактор объемом 3 л добавляли 500 мл ДХМ и соединение 4 (75,0 г, 0,16 моля). Внутреннюю температуру реакционной смеси понижали до равной 0°C и добавляли ТВТУ (170,0 г, 0,53 моля). Затем

суспензию обрабатывали амином 5 (75,5 г, 0,53 моля), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C. Затем реакционную смесь медленно обрабатывали с помощью ДИПЭА (72,3 г, 0,56 моля), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C. После завершения добавления реакционную смесь в течение 1 ч нагревали до 23°C и перемешивали в течение 3 ч. Добавляли по 10% всех трех реагентов и перемешивали в течение еще 3 ч. Считали, что реакция завершилась, если оставалось <1% соединения 4. Реакционную смесь промывали насыщенным раствором хлорида аммония (2×500 мл) и один раз насыщенным раствором бикарбоната натрия (500 мл). Затем органический слой сушили над сульфатом натрия и концентрировали и получали масло. Масса неочищенного масла составляла 188 г, по данным количественного анализа с помощью ЯМР (ядерный магнитный резонанс) оно содержало 72% соединения 6. Неочищенное масло использовали на следующей стадии. Рассчитанная масса $C_{46}H_{60}N_4O_{11} = 845,0$ m/z. [M+H]⁺: найдено: 846,0.



121,2 г Неочищенного масла, содержащего 72 мас.% соединения 6 (86,0 г, 0,10 моля), растворяли в ДМФ (344 мл) и обрабатывали с помощью ТЭА (триэтиламин, 86 мл, 20 об./об.%), поддерживая внутреннюю температуру ниже 23°C. За образованием дибензофульвена (ДФФ) и соответствующим расходом Фтос-амина 6 следили с помощью ВЭЖХ, методика 1 (фиг. 2), и реакция завершалась в течение 10 ч. К раствору добавляли глутаровый ангидрид (12,8 г, 0,11 моля) и в течение 2 ч промежуточный амин 7 превращался в соединение 8.

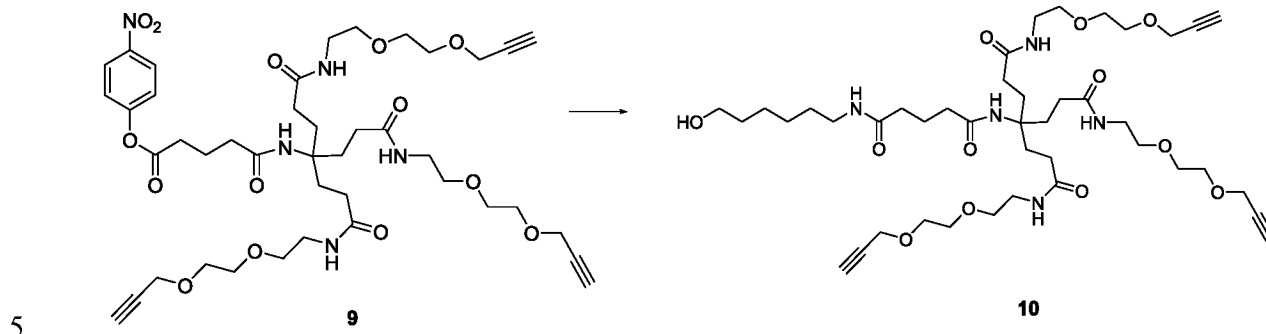
После завершения ДМФ и ТЭА удаляли при 30°C и при пониженном давлении и получали 100 г неочищенного масла. Вследствие высокой растворимости соединения 7 в воде невозможно было использовать обработку водой и единственной возможной методикой удаления ДБФ, ТММ (тетраметилмочевина) и глутарового ангидрида являлась хроматография. Неочищенное масло (75 г) очищали с использованием системы для очистки Teledyne ISCO Combi-flash®, очистку проводили тремя порциями. Неочищенное масло (25 г) загружали в колонку, содержащую 330 г диоксида кремния, и элюировали с использованием 0-20% метанола/ДХМ в течение 30 мин и получали 42 г соединения 8 (выход 54% за 3 стадии). Рассчитанная масса $C_{36}H_{55}N_4O_{12} = 736,4$ m/z. [M+H]⁺: найдено: 737,0.



До использования соединение 8 (42,0 г, 0,057 моля) перегоняли с 10 объемами ацетонитрила для удаления метанола, оставшегося вследствие его использования в качестве растворителя для хроматографии. Масло повторно растворяли в ДМФ (210 мл) и охлаждали до 0°C. Раствор обрабатывали 4-нитрофенолом (8,7 г, 0,063 моля), затем гидрохлоридом ЭДК (ЭДК = 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид, 12,0 г, 0,063 моля) и установлено, что реакция завершалась в течение 10 ч. Раствор охлаждали до 0°C и добавляли 10 20 объемов этилацетата, затем 10 объемов насыщенного раствора хлорида аммония, поддерживая внутреннюю температуру ниже 15°C. Слои разделяли и содержащий этилацетат слой промывали рассолом. Объединенные водные слои дважды экстрагировали с помощью 5 объемов этилацетата. Объединенные органические слои сушили над сульфатом натрия и концентрировали и получали 25 масло. Неочищенное масло (55 г) очищали с использованием системы для очистки Teledyne ISCO Combi-flash®, очистку проводили тремя порциями.

Неочищенное масло (25 г) загружали в колонку, содержащую 330 г диоксида кремния, и элюировали с использованием 0-10% метанола/ДХМ в течение 30 мин и получали 22 г чистого соединения 9 (соединение 22) (выход 50%).

Рассчитанная масса $C_{42}H_{59}N_5O_{14} = 857,4$ m/z. [M+H]: найдено: 858,0.

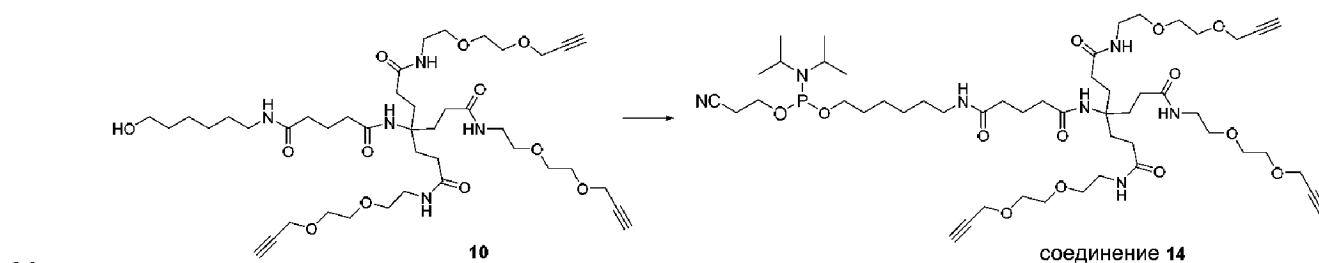


10

Раствор сложного эфира 9 (49,0 г, 57,1 ммоль) и 6-амино-1-гексанола (7,36 г, 6,28 ммоль) в дихлорметане (3 объема) по каплям обрабатывали триэтиламин (11,56 г, 111,4 ммоль). За протеканием реакции следили путем определения расхода соединения 9 с помощью ВЭЖХ, методика 1, и

15

установлено, что реакция завершалась в течение 10 мин. Неочищенную реакционную смесь разбавляли с помощью 5 объемов дихлорметана и промывали насыщенным раствором хлорида аммония (5 объемов) и рассолом (5 объемов). Органический слой сушили над сульфатом натрия и концентрировали и получали масло. Неочищенное масло очищали с использованием системы для очистки Teledyne ISCO Combi-flash® и колонки, содержащей 330 г диоксида кремния. 4-Нитрофенол элюировали с помощью 100% этилацетата и соединение 10 вымывали из колонки с использованием смеси 20% метанола/ДХМ и получали бесцветное масло (39 г, выход 81%). Рассчитанная масса $C_{42}H_{69}N_5O_{12} = 836,0$ m/z. [M+H]: найдено: 837,0.



Спирт 10 дважды перегоняли с 10 объемами ацетонитрила для удаления метанола, оставшегося вследствие его использования в качестве растворителя для хроматографии, и еще один раз перегоняли с сухим дихлорметаном (КФ

(содержание влаги, определенное по методике Карла Фишера): < 60 част./млн) для удаления следовых количеств воды. Спирт 10 (2,30 г, 2,8 ммоль) растворяли в 5 объемах сухого дихлорметана (КФ < 50 част./млн) и обрабатывали диизопропиламмонийтетразолидом (188 мг, 1,1 ммоль). Раствор охлаждали до 0°C и по каплям обрабатывали 2-цианоэтил-N,N,N',N'-тетраизопропилфосфорамидитом (1,00 г, 3,3 ммоль). Раствор извлекали из бани со льдом и перемешивали при 20°C. Установлено, что реакция завершалась в течение 3-6 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и обрабатывали с помощью 10 объемов смеси насыщенный раствор бикарбоната аммония/рассол состава 1:1 и затем в течение 1 мин нагревали до температуры окружающей среды и перемешивали при 20°C в течение еще 3 мин. Двухфазную смесь переносили в делительную воронку и добавляли 10 объемов дихлорметана. Органический слой отделяли и промывали с помощью 10 объемов насыщенного раствора бикарбоната натрия для обеспечения гидролиза бисфосфорсодержащего реагента. Органический слой сушили над сульфатом натрия и концентрировали и получали масло, 3,08 г соединения 14 при содержании, составляющем 94 мас.%. Рассчитанная масса $C_{51}H_{86}N_7O_{13}P = 1035,6$ m/z. [M+H]: найдено: 1036.

Н. Конъюгирование направленно действующих лигандов

До или после отжига функционализированную по 5'- или 3'-концу тридентатным содержащим алкин фрагментом смысловую цепь конъюгировали с направленно действующими лигандами. В приведенном ниже примере описано конъюгирование направленно действующих лигандов с подвергнутым отжигу дуплексом. Готовили следующие исходные растворы: 0,5 М раствор трис(3-гидроксипропилтриазолилметил)амин (ТГТПА), 0,5 М раствор пентагидрата сульфата Cu(II) ($Cu(II)SO_4 \cdot 5H_2O$) и 2 М раствор аскорбата натрия в деионизированной воде. Готовили 75 мг/мл раствор направленно действующего лиганда в ДМСО. В пробирку для центрифуги объемом 1,5 мл, содержащую функционализированный триалкиновыми фрагментами дуплекс (3 мг, 75 мкл, 40 мг/мл в деионизированной воде, примерно 15000 г/моль), добавляли 25 мкл 1 М раствора буфера Нерес, рН 8,5. После встряхивания добавляли 35 мкл ДМСО и раствор встряхивали. К реакционной смеси добавляли направленно действующий лиганд (6 экв в пересчете на дуплекс, 2 экв. в пересчете на алкин, примерно 15 мкл) и раствор встряхивали. С помощью индикаторной бумаги

определяли значение pH и устанавливали, что значение pH равно ~8. В отдельной пробирке для центрифуги объемом 1,5 мл 50 мкл 0,5 М раствора ТГТПА смешивали с 10 мкл 0,5 М раствора $\text{Cu(II)SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, встряхивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 мин. Через 5 мин в реакционный сосуд добавляли раствор ТГТПА/Cu (7,2 мкл, 6 экв., ТГТПА:Cu = 5:1) и сосуд встряхивали. Затем в реакционный сосуд сразу добавляли 2 М раствор аскорбата (5 мкл, 50 экв. в пересчете на дуплекс, 16,7 экв. в пересчете на алкин) и сосуд встряхивали. После завершения реакции (обычно реакция завершалась через 0,5-1 ч) реакционную смесь сразу очищали с помощью анионообменной хроматографии при неденатурирующих условиях.

Пример 2. Проводимое *in vivo* внутритрахеальное введение крысам воздействующих на RAGE средств на основе РНКи

В день 1 проведения исследования самцам крыс Sprague Dawley с помощью устройства для микрораспыления (Penn Century, Philadelphia, PA), подходящего для внутритрахеального (ВТ) введения, вводили 200 мкл изотонического раствора или 1,0 мг/кг одного из приведенных ниже воздействующих на RAGE средств на основе РНКи:

Таблица 12. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 2

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса
Группа 1 (изотонический раствор)	НП*
Группа 2 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD06949)	АС000614
Группа 3 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07256)	АС000186
Группа 4 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07474)	АС000286
Группа 5 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	АС000292
Группа 6 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07476)	АС000818
Группа 7 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07477)	АС000819

НП* - не применимо

Как указано в таблице 12, каждое из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи было конъюгировано с малой молекулой тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta$ 6 эпителиальных клеток (Tri-SM6.1, см. фиг. 1), по 5'-концу смысловой цепи и приготовлено в изотоническом растворе.

Химически модифицированные последовательности воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, AD07474, AD07475, AD07476 и AD07477, приведены в таблице 7Б (указан дуплекс), таблице 3 (указана соответствующая

антисмысловая цепь) и таблице 5 (указана соответствующая смысловая цепь с мостиком, но без малой молекулы тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta 6$ эпителиальных клеток (Tri-SM6.1)).

AD06949 и AD07256 представляют собой специфичные для крыс и мышей последовательности, которые не обладают гомологией с геном AGER человека, и их химически модифицировали следующим образом:

Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD06949

Модифицированная смысловая цепь (5' → 3'):

Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)cscacaugaUfCfCfaugcuiaguas(invAb) (SEQ ID NO: 888)

10 Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3'):

usAfscsUfcAfgCfaUfgGfaUfcAfuGfuGfsg (SEQ ID NO: 889)

Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD07256

Модифицированная смысловая цепь (5' → 3'):

Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)cscacaugaUfCfCfaugcuiaguas(invAb) (SEQ ID NO: 890)

15 Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3'):

cPrpusAfscsUfcAfgCfaUfgGfaUfcAfuGfuGfsg (SEQ ID NO: 891)

В каждой группе дозы вводили пяти (5) крысам. Крыс умерщвляли в день 8 проведения исследования и после извлечения и гомогенизации обоих легких из них выделяли все количество РНК. Экспрессию мРНК гена AGER у крыс количественно определяли с помощью количественной ПЦР (полимеразная цепная реакция) с использованием зонда, нормировали на экспрессию GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) крыс и указывали в пересчете на значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал).

25 Таблица 13. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у крыс в момент умерщвления (день 8), полученная в примере 2

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у крыс (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,060	0,065
Группа 2 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD06949)	0,306	0,019	0,017
Группа 3 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD07256)	0,142	0,019	0,010
Группа 4 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD07474)	0,195	0,031	0,067
Группа 5 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD07475)	0,125	0,037	0,038

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у крыс (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 6 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07476)	0,294	0,039	0,057
Группа 7 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07477)	0,230	0,037	0,038

Как видно из результатов, приведенных в представленной выше таблице 13, каждое из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи обеспечивает существенное ингибирование гена AGER, при этом воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, направленно подавляющие экспрессию в положении 177 (группа 4 (ингибирование: 80,5%) и группа 5 (ингибирование: 87,5%)), обеспечивают немного более существенное ингибирование, чем воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, оказывающие направленное воздействие в положении 178 гена AGER (группа 6 (ингибирование: 70,6%) и группа 7 (ингибирование: 77%)).

Пример 3. Проводимое *in vivo* внутритрахеальное введение мышам воздействующих на RAGE средств на основе РНКи

В день 1 проведения исследования самцам мышей c57bl/6 с помощью устройства для микрораспыления (Penn Century, Philadelphia, PA), подходящего для внутритрахеального (ВТ) введения, вводили 50 мкл изотонического раствора или 3,0 мг/кг одного из приведенных ниже воздействующих на RAGE средств на основе РНКи:

Таблица 14. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 3

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса
Группа 1 (изотонический раствор)	НП
Группа 2 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD06949)	АС000614
Группа 3 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07256)	АС000186
Группа 4 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07478)	АС000820
Группа 5 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07479)	АС000821
Группа 6 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07480)	АС000822
Группа 7 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07481)	АС000822

Как указано в таблице 14, каждое из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи было конъюгировано с малой молекулой тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta$ 6 эпителиальных клеток (Tri-SM6.1, см. фиг. 1), по 5'-концу смысловой цепи и приготовлено в изотоническом растворе.

Химически модифицированные последовательности воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, AD07478, AD07479, AD07480 и AD07481, приведены в таблице 7Б (указан дуплекс), таблице 3 (указана соответствующая антисмысловая цепь) и таблице 5 (указана соответствующая смысловая цепь с мостиком, но без малой молекулы тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta\delta$ эпителиальных клеток (Tri-SM6.1)).

Химически модифицированные последовательности воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, AD06949 и AD07256, указаны в приведенном выше примере 2.

В каждой группе дозы вводили пяти (5) мышам. мышей умерщвляли в день 8 проведения исследования и после извлечения и гомогенизации обоих легких из них выделяли все количество РНК. Экспрессию мРНК гена AGER у мышей количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали на экспрессию GAPDH крыс и указывали в пересчете на значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал).

Таблица 15. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у мышей в момент умерщвления (день 8), полученная в примере 3.

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у мышей (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,225	0,290
Группа 2 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD06949)	0,403	0,116	0,164
Группа 3 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07256)	0,358	0,153	0,268
Группа 4 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07478)	1,016	0,205	0,257
Группа 5 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07479)	1,063	0,132	0,150
Группа 6 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07480)	0,718	0,115	0,137
Группа 7 (1,0 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07481)	0,681	0,077	0,086

Как видно из результатов, приведенных в представленной выше таблице 15, воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, введенные в группах 4 и 5 (направленное воздействие в положении 384), не обеспечивали ингибирование и являлись полностью неактивными *in vivo*. Воздействующие на RAGE средства на основе РНКи, введенные в группах 6 и 7 (направленное воздействие в

положении 391), обеспечивали сравнительно ограниченное ингибирование *in vivo* и являлись недостаточно активными для возможности их рассмотрения в качестве приемлемых кандидатов в терапевтические средства, предназначенных для лечения людей.

5 Пример 4. Проводимое *in vivo* внутритрахеальное введение крысам воздействующих на RAGE средств на основе РНКи

10 В день 1 проведения исследования самцам крыс Sprague Dawley с помощью устройства для микрораспыления (Penn Century, Philadelphia, PA), подходящего для внутритрахеального (ВТ) введения, вводили 200 мкл изотонического раствора или 0,5 мг/кг одного из приведенных ниже воздействующих на RAGE средств на основе РНКи:

Таблица 16. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 4

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса
Группа 1 (изотонический раствор)	НП
Группа 2 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07474)	АС000286
Группа 3 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	АС000292
Группа 4 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07700)	АС000790
Группа 5 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07701)	АС000791
Группа 6 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07702)	АС000792
Группа 7 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07703)	АС000793
Группа 8 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07704)	АС000438
Группа 9 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07705)	АС000794
Группа 10 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07706)	АС000795
Группа 11 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07707)	АС000796
Группа 12 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07708)	АС000439

15 Как указано в таблице 16, каждое из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи было конъюгировано с малой молекулой тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta$ 6 эпителиальных клеток (Tri-SM6.1, см. фиг. 1), по 5'-концу смысловой цепи и приготовлено в изотоническом растворе.

20 Химически модифицированные последовательности воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, AD07474, AD07475, AD07700, AD07701, AD07702, AD07703, AD07704, AD07705, AD07706, AD07707 и AD07708, приведены в таблице 7Б (указан дуплекс), таблице 3 (указана соответствующая антисмысловая цепь) и таблице 5 (указана соответствующая смысловая цепь с

мостиком, но без малой молекулы тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta\delta$ эпителиальных клеток (Tri-SM6.1)).

В каждой группе дозы вводили пяти (5) крысам. Крыс умерщвляли в день 8 проведения исследования и после извлечения и гомогенизации обоих легких из них выделяли все количество РНК. Экспрессию мРНК гена AGER у крыс количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали на экспрессию GAPDH крыс и указывали в пересчете на значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал).

10 Таблица 17. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у крыс в момент умерщвления (день 8), полученная в примере 4

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у крыс (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,075	0,081
Группа 2 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07474)	0,355	0,147	0,250
Группа 3 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07475)	0,193	0,110	0,254
Группа 4 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07700)	0,233	0,060	0,080
Группа 5 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07701)	0,344	0,135	0,221
Группа 6 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07702)	0,194	0,036	0,044
Группа 7 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07703)	0,265	0,024	0,026
Группа 8 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07704)	0,174	0,030	0,036
Группа 9 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07705)	0,188	0,052	0,071
Группа 10 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07706)	0,215	0,077	0,119
Группа 11 (0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD07707)	0,182	0,059	0,087

15 Как видно из результатов, приведенных в представленной выше таблице 17, каждое из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи обеспечивает существенное ингибирование гена AGER при дозе, равной лишь 0,5 мг/кг. Все исследованные воздействующие на RAGE средства на основе РНКи включали различные химические модификации, однако все они включали базовые нуклеотидные последовательности, направленно воздействующие в положении 177 гена AGER.

Пример 5. Проводимое *in vivo* введение крысам воздействующих на RAGE средств на основе РНКи путем ингаляции аэрозоля

В день 1 проведения исследования самцам крыс Sprague Dawley вводили одну осадившуюся в легких дозу (ОЛД) воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475, равную 0,5 мг/кг. С использованием струйного небулайзера (Misty Max 10) аэрозоль подавали в предназначенную для грызунов и одного животного, снабженную системой воздействия только через нос ингаляционную камеру (CH Technologies). Один из каналов был снабжен фильтрующим блоком для обеспечения возможности определения концентрации средства на основе РНКи в аэрозоле. На основании предполагаемого минутного дыхательного объема, рассчитанного с помощью аллометрического уравнения с учетом массы тела грызуна, а также концентрации аэрозоля, определенной путем сбора аэрозоля с фильтра, и определения количества средства на основе РНКи, регулировали продолжительность воздействия для обеспечения указанной ОЛД, равной 0,5 мг/кг. Как уже отмечено, воздействующее на RAGE средство на основе РНКи было конъюгировано с малой молекулой тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta6$ эпителиальных клеток (Tri-SM6.1, см. фиг. 1), по 5'-концу смысловой цепи и приготовлено в изотоническом растворе. Химически модифицированные последовательности воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, AD07475, приведены в таблице 7Б (указан дуплекс), таблице 3 (указана соответствующая антисмысловая цепь) и таблице 5 (указана соответствующая смысловая цепь с мостиком, но без малой молекулы тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta6$ эпителиальных клеток (Tri-SM6.1)).

В каждой группе дозы вводили пяти (5) крысам. При проведении исследования крыс умерщвляли в различные дни после введения в соответствии с приведенной ниже схемой:

Таблица 18. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 5

Идентификационный номер группы	День умерщвления после введения
Группа 1 (изотонический раствор)	день 8
Группа 2 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475)	день 2
Группа 3 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475)	день 3
Группа 4 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475)	день 4

Идентификационный номер группы	День умерщвления после введения
Группа 5 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	день 5
Группа 6 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	день 8
Группа 7 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	день 15
Группа 8 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	день 22
Группа 9 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	день 29
Группа 10 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	день 43
Группа 11 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	день 57

После умерщвления в соответствующий день оба легких извлекали и гомогенизировали, затем из них выделяли все количество РНК. Экспрессию мРНК гена AGER у крыс количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали на экспрессию GAPDH крыс и указывали в пересчете на значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал).

Таблица 19. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у крыс в момент умерщвления, полученная в примере 5

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у крыс (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор; умерщвление: день 8)	1,000	0,261	0,352
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475; умерщвление: день 2)	0,428	0,074	0,090
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475; умерщвление: день 3)	0,179	0,025	0,028
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475; умерщвление: день 4)	0,077	0,014	0,017
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475; умерщвление: день 5)	0,061	0,005	0,005
Группа 6 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475; умерщвление: день 8)	0,042	0,005	0,006
Группа 7 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475; умерщвление: день 15)	0,042	0,007	0,009
Группа 8 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475; умерщвление: день 22)	0,049	0,010	0,012
Группа 9 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475; умерщвление: день 29)	0,097	0,014	0,016

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у крыс (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 10 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07475; умерщвление: день 43)	0,137	0,015	0,017
Группа 11 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07475; умерщвление: день 57)	0,123	0,013	0,015

Как видно из результатов, приведенных в представленной выше таблице 19, воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, AD07475, обеспечивает существенное ингибирование гена AGER при дозе, равной лишь 0,5 мг/кг, и продолжительность уменьшения экспрессии составляет по меньшей мере 22 дня, затем значения начинают медленно возвращаться к исходным значениям, это означает, что реальным может являться введение дозы раз в месяц (например, введение один раз в 28 дней).

Пример 6. Проводимое *in vivo* введение крысам воздействующих на RAGE средств на основе РНКи путем ингаляции аэрозоля и влияние направленно действующего лиганда

В день 1 проведения исследования самцам крыс Sprague Dawley вводили одну дозу при разных концентрациях воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07475, или воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, AD7475, без присоединенного лиганда, направленно действующего на $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ эпителиальных клеток. С использованием струйного небулайзера (Misty Max 10) аэрозоль подавали в предназначенную для грызунов и одного животного, снабженную системой воздействия только через нос ингаляционную камеру (СН Technologies). Один из каналов был снабжен фильтрующим блоком для обеспечения возможности определения концентрации средства на основе РНКи в аэрозоле. На основании предполагаемого минутного дыхательного объема, рассчитанного с помощью аллометрического уравнения с учетом массы тела грызуна, а также концентрации аэрозоля, определенной путем сбора аэрозоля с фильтра, и определения количества средства на основе РНКи, регулировали продолжительность воздействия для обеспечения ОЛД, указанной в таблице 20. В случае групп, в которых включали введение направленно действующего лиганда, воздействующее на RAGE средство на основе РНКи было конъюгировано с малой молекулой тридентатного лиганда, направленно

действующего на $\alpha\upsilon\beta6$ эпителиальных клеток (Tri-SM6.1, см. фиг. 1), по 5'-концу смысловой цепи и приготовлено в изотоническом растворе. Химически модифицированные последовательности воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, AD07475, приведены в таблице 7Б (указан дуплекс), таблице 3 (указана соответствующая антисмысловая цепь) и таблице 5 (указана соответствующая смысловая цепь с мостиком, но без малой молекулы тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta6$ эпителиальных клеток (Tri-SM6.1)). Группы, в которых вводили дозы, являлись следующими:

10 Таблица 20. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 6

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса
Группа 1 (изотонический раствор)	НП
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,24 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475)	АС000292
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,12 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475)	АС000292
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,06 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475)	АС000292
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,03 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475)	АС000292
Группа 6 (осадившаяся доза: 0,015 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475)	АС000292
Группа 7 (осадившаяся доза: 0,24 мг/кг AD07475)	НП
Группа 8 (осадившаяся доза: 0,12 мг/кг AD07475)	НП
Группа 9 (осадившаяся доза: 0,06 AD07475)	НП
Группа 10 (осадившаяся доза: 0,03 мг/кг AD07475)	НП
Группа 11 (осадившаяся доза: 0,015 мг/кг AD07475)	НП

15 В каждой группе дозы вводили пяти (5) крысам. Крыс умерщвляли в день 8 проведения исследования и после извлечения и гомогенизации обоих легких из них выделяли все количество РНК. Экспрессию мРНК гена AGER у крыс количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали на экспрессию GAPDH крыс и указывали в пересчете на значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал).

Таблица 21. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у крыс в момент умерщвления, полученная в примере 6

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у крыс (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,143	0,168
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,24 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07475)	0,081	0,010	0,011
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,12 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07475)	0,081	0,019	0,025
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,06 Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07475)	0,130	0,033	0,043
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,03 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07475)	0,342	0,112	0,165
Группа 6 (осадившаяся доза: 0,015 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07475)	0,436	0,088	0,110
Группа 7 (осадившаяся доза: 0,24 мг/кг AD07475)	0,107	0,032	0,046
Группа 8 (осадившаяся доза: 0,12 мг/кг AD07475)	0,157	0,041	0,055
Группа 9 (осадившаяся доза: 0,06 AD07475)	0,309	0,067	0,086
Группа 10 (осадившаяся доза: 0,03 мг/кг AD07475)	0,436	0,120	0,165
Группа 11 (осадившаяся доза: 0,015 мг/кг AD07475)	0,537	0,052	0,058

Как видно из результатов, приведенных в представленной выше таблице 21, 5 воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, AD07475, содержащее и не содержащее направленно действующий лиганд, во все исследованные моменты времени обеспечивает существенное ингибирование по сравнению с контрольным образцом. В действительности, даже при самой низкой исследованной дозе, осадившаяся доза = 0,015 мг/кг, степень ингибирования 10 близка к 50% (см. группу 6 (с направленно действующим лигандом Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$; ингибирование гена: 56,4%) и группу 11 (без направленно действующего лиганда; ингибирование гена: 46,3%)). Кроме того, при каждой соответствующей исследованной дозе, средство на основе РНКи, 15 конъюгированное с направленно действующим лигандом обладает лучшими характеристиками, чем средство на основе РНКи, не содержащее направленно действующий лиганд (при этом различие обычно становится более выраженным при более низких дозах), это указывает на наличие влияния лиганда, который может обеспечить увеличенную ингибирующую активность *in vivo*.

Пример 7. Проводимое *in vivo* внутритрахеальное введение крысам воздействующих на RAGE средств на основе РНКи

В день 1 проведения исследования самцам крыс Sprague Dawley с помощью устройства для микрораспыления (Penn Century, Philadelphia, PA), подходящего для внутритрахеального (ВТ) введения, вводили 200 мкл изотонического раствора или 0,25 мг/кг одного из приведенных ниже воздействующих на RAGE средств на основе РНКи:

Таблица 22. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 7

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса
Группа 1 (изотонический раствор)	АС000286
Группа 2 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07474)	АС000292
Группа 3 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)	АС000293
Группа 4 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07972)	АС000294
Группа 5 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07973)	АС000290
Группа 6 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07974)	АС000291
Группа 7 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07975)	АС000312
Группа 8 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07976)	АС000286

Как указано в таблице 22, каждое из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи было конъюгировано с малой молекулой тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta$ 6 эпителиальных клеток (Tri-SM6.1, см. фиг. 1), по 5'-концу смысловой цепи и приготовлено в изотоническом растворе.

Химически модифицированные последовательности воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, AD07474, AD07475, AD07972, AD07973, AD07974, AD07975 и AD07976, приведены в таблице 7Б (указан дуплекс), таблице 3 (указана соответствующая антисмысловая цепь) и таблице 5 (указана соответствующая смысловая цепь с мостиком, но без малой молекулы тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta$ 6 эпителиальных клеток (Tri-SM6.1)).

В каждой группе дозы вводили пяти (5) крысам. Крыс умерщвляли в день 8 проведения исследования и после извлечения и гомогенизации обоих легких из них выделяли все количество РНК. Экспрессию мРНК гена AGER у крыс количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали на экспрессию GAPDH крыс и указывали в пересчете на

значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал).

Таблица 23. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у крыс в момент умерщвления (день 8), полученная в примере 7

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у крыс (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,132	0,152
Группа 2 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\gamma\beta 6$ -AD07474)	0,210	0,038	0,047
Группа 3 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\gamma\beta 6$ -AD07475)	0,150	0,038	0,052
Группа 4 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\gamma\beta 6$ -AD07972)	0,118	0,020	0,024
Группа 5 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\gamma\beta 6$ -AD07973)	0,145	0,038	0,052
Группа 6 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\gamma\beta 6$ -AD07974)	0,338	0,041	0,046
Группа 7 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\gamma\beta 6$ -AD07975)	0,194	0,051	0,070
Группа 8 (0,25 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\gamma\beta 6$ -AD07976)	0,244	0,046	0,057

5

Как видно из результатов, приведенных в представленной выше таблице 23, каждое из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи обеспечивает существенное ингибирование гена AGER при дозе, равной лишь 0,25 мг/кг. Все исследованные воздействующие на RAGE средства на основе РНКи включали различные химические модификации, однако все они включали базовые нуклеотидные последовательности, направленно воздействующие в положении 177 гена AGER.

10

Пример 8. Проводимое *in vivo* внутритрахеальное введение крысам воздействующих на RAGE средств на основе РНКи

15

В день 1 проведения исследования самцам крыс Sprague Dawley с помощью устройства для микрораспыления (Penn Century, Philadelphia, PA), подходящего для внутритрахеального (BT) введения, вводили 200 мкл изотонического раствора или 0,25 мг/кг одного из приведенных ниже воздействующих на RAGE средств на основе РНКи:

20

Таблица 24. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 8

Идентификационный номер группы	Номер AC дуплекса
Группа 1 (изотонический раствор)	НП

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса
Группа 2 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD07475)	АС000292
Группа 3 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD07704)	АС000438
Группа 4 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD07708)	АС000439
Группа 5 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08030)	АС000440
Группа 6 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08031)	АС000441
Группа 7 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08032)	АС000442
Группа 8 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08033)	АС000414
Группа 9 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08034)	АС000415
Группа 10 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08035)	АС000416
Группа 11 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08036)	АС000417
Группа 12 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08037)	АС000418
Группа 13 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08038)	АС000419
Группа 14 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD08039)	АС000420

Как указано в таблице 24, каждое из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи было конъюгировано с малой молекулой тридентатного лиганда, направленно действующего на α v β 6 эпителиальных клеток (Tri-SM6.1, см. фиг. 1), по 5'-концу смысловой цепи и приготовлено в изотоническом растворе.

Химически модифицированные последовательности воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, использовавшиеся в примере 8, приведены в таблице 7Б (указан дуплекс), таблице 3 (указана соответствующая антисмысловая цепь) и таблице 5 (указана соответствующая смысловая цепь с мостиком, но без малой молекулы тридентатного лиганда, направленно действующего на α v β 6 эпителиальных клеток (Tri-SM6.1)).

В каждой группе дозы вводили пяти (5) крысам. Крыс умерщвляли в день 8 проведения исследования и после извлечения и гомогенизации обоих легких из них выделяли все количество РНК. Экспрессию мРНК гена AGER у крыс количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали на экспрессию GAPDH крыс и указывали в пересчете на значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал).

Таблица 25. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у крыс в момент умерщвления (день 8), полученная в примере 8

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у крыс (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,118	0,134
Группа 2 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD07475)	0,232	0,030	0,034

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у крыс (n = 5)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 3 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07704)	0,372	0,049	0,057
Группа 4 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD07708)	0,382	0,102	0,139
Группа 5 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08030)	0,268	0,054	0,067
Группа 6 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08031)	0,215	0,065	0,093
Группа 7 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08032)	0,314	0,034	0,038
Группа 8 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08033)	0,244	0,075	0,108
Группа 9 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08034)	0,723	0,078	0,088
Группа 10 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08035)	0,281	0,076	0,104
Группа 11 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08036)	0,288	0,029	0,033
Группа 12 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08037)	0,253	0,056	0,071
Группа 13 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08038)	0,359	0,105	0,149
Группа 14 (0,1 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD08039)	0,317	0,125	0,206

Как видно из результатов, приведенных в представленной выше таблице 25, каждое из воздействующих на RAGE средств на основе РНКи обеспечивает существенное ингибирование гена AGER при дозе, равной лишь. Все исследованные воздействующие на RAGE средства на основе РНКи включали различные химические модификации, однако все они включали базовые нуклеотидные последовательности, направленно воздействующие в положении 177 гена AGER.

Пример 9. Проводимое *in vivo* введение макакам-крабоедам воздействующих на RAGE средств на основе РНКи путем ингаляции аэрозоля

В день 1 проведения исследования самкам макак-крабоедов вводили одну дозу воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09150, Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151 или Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09152, при ОЛД, равной 1 мг/кг. С использованием небулайзера с вибрирующей сеткой (Aeroneb® Solo) аэрозоль вводили зафиксированным подвергнутому анестезии обезьянам, снабженным шлемом, предназначенным для ингаляции приматов. Один из шлемов был снабжен фильтрующим блоком для обеспечения возможности

определения концентрации средства на основе РНКи в аэрозоле. На основании предполагаемого минутного дыхательного объема, рассчитанного с помощью аллометрического уравнения с учетом массы тела обезьяны, а также концентрации аэрозоля, определенной путем сбора аэрозоля с фильтра и

5 определения количества средства на основе РНКи, регулировали продолжительность воздействия для обеспечения ОЛД, указанной в таблице 26. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи было конъюгировано с малой молекулой тридентатного лиганда, направленно действующего на рецептора интегрина $\alpha\upsilon\beta 6$ (Tri-SM6.1, см. фиг. 1), по 5'-концу смысловой цепи и

10 приготовлено в изотоническом растворе. Химически модифицированные последовательности воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, приведены в таблице 7Б (указан дуплекс), таблице 3 (указана соответствующая антисмысловая цепь) и таблице (указана соответствующая смысловая цепь с мостиком, но без малой молекулы тридентатного лиганда, направленно

15 действующего на рецептора интегрина $\alpha\upsilon\beta 6$ (Tri-SM6.1)). Группы, в которых вводили дозы, являлись следующими:

Таблица 26. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 9 (доза рассчитана для осадившейся доли, равной 25%).

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса
Группа 1 (изотонический раствор)	НП
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD09150)	АС001266
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD09151)	АС001267
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD09152)	АС001268

20 В каждой группе дозы вводили трем (3) обезьянам. Обезьян умерщвляли в день 15 проведения исследования и после извлечения и гомогенизации обоих легких из них выделяли все количество РНК. Результаты, приведенные в представленной ниже таблице 27, относятся к экспрессии мРНК в образце,

25 взятом из дистальной части каудальной доли левого легкого. Результаты, приведенные в представленной ниже таблице 28, относятся к экспрессии мРНК в образце, взятом из дистальной части каудальной доли правого легкого.

Экспрессию мРНК гена AGER у макак-крабоедов количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали на экспрессию бета-актина у макак-крабоедов и указывали в пересчете на значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал).

5 Таблица 27. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части каудальной доли левого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,342	0,520
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09150)	0,113	0,069	0,178
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,081	0,040	0,079
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09152)	0,708	0,437	1,142

10 Таблица 28. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,330	0,492
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09150)	0,069	0,032	0,059
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,069	0,028	0,049
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09152)	0,630	0,406	1,141

15 Как видно из результатов, приведенных в представленной выше таблице 28, средство на основе РНКи, AD09150 и AD09151, обеспечивает существенное ингибирование (93%) по сравнению с контрольным образцом, это указывает на возможность стойкого устранения экспрессии AGER у не являющихся человеком приматов.

20 В отдельном исследовании, проводимом с помощью кПЦР (количественная ПЦР), количественно определяли экспрессию мРНК гена AGER у обезьян. Результаты, приведенные в представленных ниже таблицах 29 - 42, относятся к

экспрессии мРНК во взятых у обезьян образцах легких. Экспрессию мРНК гена AGER у макак-крабоедов количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали на экспрессию бета-актина у макак-крабоедов и указывали в пересчете на значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал). Некоторые ткани легких исследовали повторно с использованием разных образцов, если они имелись в наличии, например, образцов дистальной части каудальной доли левого легкого и дистальной части краниальной доли левого легкого.

10 Таблица 29. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части каудальной доли левого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,272	0,373
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09150)	0,138	0,097	0,330
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,065	0,031	0,059
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09152)	0,850	0,435	0,890

15 Таблица 30. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части каудальной доли левого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,433	0,762
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09150)	0,122	0,086	0,298
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,133	0,039	0,054
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09152)	0,877	0,528	1,329

Таблица 31. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части каудальной доли левого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,297	0,422
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09150)	0,152	0,094	0,246
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,084	0,032	0,053
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09152)	0,781	0,446	1,038

5 Таблица 32. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части краниальной доли левого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,231	0,300
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09150)	0,126	0,072	0,166
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,104	0,056	0,119
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09152)	0,549	0,370	1,134

10 Таблица 33. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части краниальной доли левого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,306	0,440
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09150)	0,076	0,045	0,113
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,048	0,019	0,031
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09152)	0,548	0,355	1,008

Таблица 34. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части краниальной доли левого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,383	0,620
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09150)	0,157	0,116	0,447
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,054	0,028	0,059
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09152)	0,826	0,485	1,175

5 Таблица 35. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части краниальной доли левого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,174	0,211
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09150)	0,106	0,074	0,242
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,106	0,053	0,104
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09152)	0,404	0,275	0,864

10 Таблица 36. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,070	0,075
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09150)	0,116	0,081	0,267
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,050	0,027	0,059
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09152)	0,690	0,222	0,328

Таблица 37. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,493	0,972
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09150)	0,243	0,145	0,359
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09151)	0,124	0,057	0,105
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09152)	0,549	0,184	0,277

5 Таблица 38. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,451	0,821
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09150)	0,160	0,088	0,198
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09151)	0,122	0,078	0,216
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09152)	0,262	0,175	0,522

10 Таблица 39. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части краниальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,161	0,192
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09150)	0,268	0,142	0,300
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09151)	0,097	0,039	0,066
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09152)	0,395	0,243	0,634

Таблица 40. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части краниальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,362	0,568
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09150)	0,172	0,112	0,320
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,156	0,034	0,044
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09152)	0,923	0,613	1,820

5 Таблица 41. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части краниальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,496	0,984
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09150)	0,301	0,154	0,315
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,098	0,050	0,100
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09152)	0,303	0,233	1,007

10 Таблица 42. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части краниальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 9

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,098	0,108
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,98 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09150)	0,156	0,075	0,146
Группа 3 (осадившаяся доза: 1,05 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,080	0,047	0,114
Группа 4 (осадившаяся доза: 1,04 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09152)	0,445	0,198	0,358

15 Как видно из результатов, приведенных в представленных выше таблицах 29 - 42, средство на основе РНКи, AD09150 и AD09151, обеспечивает существенное ингибирование (вплоть до 92%) по сравнению с контрольным

образцом, это указывает на возможность стойкого устранения экспрессии AGER у не являющихся человеком приматов.

Пример 10. Противовоспалительное воздействие удаления RAGE в модели воспаления дыхательных путей на крысах *in vivo*, доставка с помощью аэрозоля

5 В день 1 проведения исследования и повторно в день 15 проведения исследования самцам крыс Sprague Dawley вводили воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475, при осадившейся дозе, равной 0,5 мг/кг, или использующийся в качестве контроля разбавитель, не содержащий средство на основе РНКи, в соответствии с приведенной ниже

10 таблицей 43. С использованием струйного небулайзера (Misty Max 10) аэрозоль подавали в предназначенную для грызунов и одного животного, снабженную системой воздействия только через нос ингаляционную камеру (CH Technologies). На основании предполагаемого минутного дыхательного объема, рассчитанного с помощью аллометрического уравнения с учетом массы тела

15 грызуна, а также концентрации аэрозоля, определенной путем сбора аэрозоля с фильтра, и определения количества средства на основе РНКи, регулировали продолжительность воздействия.

В день 40 крысам группы 4 и группы 5 внутритрахеально вводили одну дозу плесневого гриба *Alternaria alternata* (Alt), равную 400 мкг/крыса,

20 приготовленного в физиологическом растворе, и крысам групп 2 и 3 вводили дозу использующегося в качестве контроля физиологического раствора, равную 400 мкг/крыса. Крысы группы N-1 являлись интактными и не подвергались лечению.

25 Таблица 43. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 10.

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса	Количество животных в группе
Группа 1 (интактные: не подвергающиеся лечению)	НП	3
Группа 2 (введение аэрозоля физиологического раствора: дни 1 и 15)/(ВТ введение физиологического раствора: день 40)	НП	5

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса	Количество животных в группе
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475: дни 1 и 15)/(BT введение физиологического раствора: день 40)	АС000292	5
Группа 4 (введение аэрозоля физиологического раствора: дни 1 и 15)/(BT введение <i>Alternaria</i> : день 40)	НП	7
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,5 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD07475)/(BT введение <i>Alternaria</i> : день 40)	АС000292	7

Через 48 ч после введения *Alternaria* (т. е. в день 42) крыс анестезировали смесью изофлуран/O₂, отбирали образцы крови и животных умерщвляли путем обескровливания. В трахею вставляли канюлю и полученные с помощью бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) образцы собирали после промывки с помощью 2×10 мл охлажденного льдом ЗФФ (забуференный фосфатом физиологический раствор). Полученные с помощью БАЛ образцы центрифугировали, клетки повторно суспендировали в 1 мл охлажденного льдом ЗФФ и аликвоту смешивали с раствором Тюрка (соотношение: 1:1) и полное количество клеток подсчитывали с помощью гемоцитометра. С помощью цитоцентрифуги готовили образцы, их окрашивали и определяли количества разных клеток. Надосадочную жидкость использовали для определения количества растворимого RAGE (sRAGE) и цитокинов. Одну долю легких использовали для определения экспрессии мРНК гена AGER и образцы тканей анализировали для определения концентрации белка RAGE.

Гранулоциты, и эозинофилы, и нейтрофилы, являются хорошо известными маркерами воспаления в клетках. В полученных с помощью БАЛ образцах подсчитывали полное количество клеток и количества разных клеток и определяли количество воспалительных клеток. В группе 5 (в которой вводили воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и в ткани вводили *Alternaria*) обнаружено уменьшение количества воспалительных клеток по сравнению с группой 4 (в которой не вводили средство на основе РНКи).

Кроме того, известно, что VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста) вызывает ремоделирование сосудов и индуцируется воспалением. В

группах, в которых вводили воздействующее на RAGE средство на основе РНКи (группы 3 и 5) в исследованных полученных с помощью БАЛ образцах обнаружено уменьшение уровня VEGF.

5 Пример 11. Противовоспалительное воздействие удаления RAGE в модели воспаления дыхательных путей на крысах *in vivo*, внутритрахеальная доставка с помощью устройства для микрораспыления

В день 1, день 8 и день 29 проведения исследования самцам крыс Brown-Norway вводили воздействующее на RAGE средство на основе РНКи, Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475a, при дозе, равной 3 мг/кг (1,5 мл/кг), или разбавитель.

10 Рассчитанный объем, равный 1,5 мл/кг, помещали в шприц, который был соединен с устройством для микрораспыления (Penn Century, Philadelphia, PA).

15 В день 43 крысам группы 3 и группы 4 внутритрахеально вводили одну дозу плесневого гриба *Alternaria alternata* (Alt), равную 400 мкг/крыса, приготовленного в физиологическом растворе, и крысам групп 1 и 2 вводили дозу использующегося в качестве контроля физиологического раствора, равную 400 мкг/крыса. Крысы группы N-1 являлись интактными и не подвергались лечению.

Таблица 44. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 11

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса	Количество животных в группе
Группа 1 (интактные: не подвергающиеся лечению)	НП	4
Группа 1 (ВТ введение физиологического раствора: дни 1, 8 и 29)/(ВТ введение физиологического раствора: день 43)	НП	6
Группа 2 (ВТ введение Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475, доза = 3,0 мг/кг: дни 1, 8 и 29)/(ВТ введение физиологического раствора: день 43)	АС000292	4
Группа 3 (ВТ введение физиологического раствора: дни 1, 8 и 29)/(ВТ введение <i>Alternaria</i> : день 43)	НП	8
Группа 4 (ВТ введение Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD07475, доза = 3,0 мг/кг: дни 1, 8 и 29)/(ВТ введение <i>Alternaria</i> : день 43)	АС000292	8

Через 48 ч после введения *Alternaria* (т. е. в день 45), крыс анестезировали смесью изофлуран/О₂, отбирали образцы крови и животных умерщвляли путем обескровливания. В трахею вставляли канюлю и полученные с помощью бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) образцы собирали после промывки с помощью 2×10 мл охлажденного льдом ЗФФ. Полученные с помощью БАЛ образцы центрифугировали, клетки повторно суспендировали в 1 мл охлажденного льдом ЗФФ и аликвоту смешивали с раствором Тюрка (соотношение: 1:1) и полное количество клеток подсчитывали с помощью гемоцитометра. С помощью цитоцентрифуги готовили образцы, их окрашивали и определяли количества разных клеток. Надосадочную жидкость использовали для определения количества растворимого RAGE (sRAGE) и цитокинов. Одну долю легких использовали для определения экспрессии мРНК гена AGER и часть ткани использовали для определения концентрации белка RAGE в ткани.

Количество растворимого RAGE (sRAGE) в сыворотке и в образцах жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) определяли с помощью ELISA. При введении воздействующих на RAGE средств на основе РНКи (см. группы 2 и 4) обеспечено практически полное удаление sRAGE.

Кроме того, как указано в предыдущем примере, гранулоциты (и эозинофилы, и нейтрофилы) являются хорошо известными маркерами воспаления в клетках. В полученных с помощью БАЛ образцах подсчитывали полное количество клеток и количества разных клеток и определяли количество воспалительных клеток. Оценивали влияние ингибирования RAGE с помощью воздействующих на RAGE средств на основе РНКи, раскрытых в настоящем изобретении, на эозинофильное воспаление, вызванное экстрактом *Alternaria*. В группе 4 (в которой вводили воздействующее на RAGE средство на основе РНКи) обнаружено уменьшение полного количества гранулоцитов по сравнению с группой 3 (в которой не вводили воздействующее на RAGE средство на основе РНКи).

Другие биомаркеры, такие как MIP1a, IL-13, IP-10 и VEGF, также указывают на воспаление в клетках. В группах, в которых вводили *Alternaria*, введение воздействующего на RAGE средства на основе РНКи (группа 4) приводило к уменьшению количества каждого из этих провоспалительных

биомаркеров по сравнению с группой, в которой не вводили воздействующее на RAGE средство на основе РНКи (группа 3).

Пример 12. Влияние дозы при проводимом *in vivo* введении макакам-крабоедам воздействующих на RAGE средств на основе РНКи путем ингаляции аэрозоля

Пятнадцать (15) самок макак-крабоедов случайным образом разделяли на пять (5) групп для лечения. Животным вводили дозы в соответствии с приведенной ниже таблицей 45. До дней проведения исследования, когда требовалась анестезия, животные голодали в течение ночи, однако воду предоставляли в неограниченном количестве. Животных анестезировали кетамингидрохлоридом (5-10 мг/кг, ВМ (внутримышечно)), затем путем ингаляции изофлурана. Животных сначала анестезировали изофлураном (4-5%) с использованием маски, затем вблизи киля трахеи вводили обладающую подходящим размером интубационную трубку с надувной манжетой для обеспечения введения педиатрического фибробронхоскопа, предназначенного для проведения бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и обеспечения воздействия через интубационную трубку. Анестезированных животных перемещали к системе воздействия и подключали к вентилятору. Анестезированным и обеспеченным искусственным дыханием животным один раз проводили ингаляцию с использованием изотонического раствора или воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta6$ -AD09151 (AC001267). Животным обеспечивали искусственное дыхание в течение воздействия с использованием насоса Harvard при установленных дыхательном объеме, равном от 10 до 15 мл/кг, частоте, равной 30 вдохов/мин, и объеме вдыхаемого воздуха, составляющем 35:65. После завершения воздействия проведение анестезии прекращали и затем животных перемещали в отделение восстановления, накрывали одеялами или обогревающими одеялами Bair Hugger и подключали к системе контроля для непрерывного определения частоты сердцебиения и насыщения с помощью O₂. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи было конъюгировано с малой молекулой тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta6$ эпителиальных клеток (Tri-SM6.1, см. фиг. 1), по 5'-концу смысловой цепи и приготовлено в изотоническом растворе. Химически модифицированные последовательности воздействующих на RAGE средств на

основе РНКи, приведены в таблице 7Б (указан дуплекс), таблице 3 (указана соответствующая антисмысловая цепь) и таблице 5 (указана соответствующая смысловая цепь с мостиком, но без малой молекулы тридентатного лиганда, направленно действующего на $\alpha\upsilon\beta\delta$ эпителиальных клеток (Tri-SM6.1)).

5 Таблица 45. Воздействующее на RAGE средство на основе РНКи и доза, использовавшиеся в примере 12

Идентификационный номер группы	Номер АС дуплекса	Количество животных в группе	Целевая осадившаяся доза/животное	Рассчитанная осадившаяся доза
Группа 1 (изотонический раствор)	НП	3	(такая же продолжительность воздействия, как в группах 2-5)	НП
Группа 2 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09151)	АС001267	3	0,0625 мг/кг	0,13 мг/кг
Группа 3 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09151)	АС001267	3	0,125 мг/кг	0,20 мг/кг
Группа 4 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09151)	АС001267	3	0,25 мг/кг	0,31 мг/кг
Группа 5 (Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta\delta$ -AD09151)	АС001267	3	0,5 мг/кг	0,47 мг/кг

10 Полученные с помощью бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) образцы и кровь (сыворотку) отбирали в день -7 до воздействия и через 2-4 недели после ингаляционного воздействия (дни -7, 15, 29). Всех животных умерщвляли непосредственно перед проводимым в день 29 отбором образцов и отбирали образцы легочной ткани.

15 Левое легкое каждого животного обрабатывали для проведения гистологического анализа. Правое легкое извлекали, разделяли на доли, определяли массу отдельных долей и быстро замораживали. Отдельные доли разрезали на три (3) обладающие примерно одинаковым размером части в продольном направлении, перпендикулярно дыхательным путям. Точнее, отдельные доли разрезали на три (3) обладающие примерно одинаковым размером части в продольном направлении, перпендикулярно дыхательным
20 путям, а именно, с получением проксимальной, медиальной и дистальной частей. В случае краниальной и медиальной долей 2-3 обладающих одинаковым размером образца получали из проксимального среза и 3 образца получали из двух других срезов. Получали обладающие примерно одинаковым размером кубики тканей, содержащие и не содержащие видимые дыхательные пути.

Результаты, приведенные в представленных ниже таблицах 47 - 71, относятся к экспрессии мРНК во взятых у обезьян образцах легких. Экспрессию мРНК гена AGER у макак-крабоедов количественно определяли с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормировали на экспрессию GAPDH у макак-крабоедов и указывали в пересчете на значение, полученное для контрольной группы, в которой вводили разбавитель (среднее геометрическое значение, +/- 95% доверительный интервал).

Таблица 47. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части краниальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,111	0,125
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,406	0,113	0,156
Группа 3 (осадившаяся доза: 0.20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,589	0,165	0,229
Группа 4 (осадившаяся доза: 0.31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,353	0,076	0,096
Группа 5 (осадившаяся доза: 0.47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,358	0,139	0,227

Таблица 48. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части средней доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,156	0,185
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,373	0,106	0,149
Группа 3 (осадившаяся доза: 0.20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,468	0,126	0,172
Группа 4 (осадившаяся доза: 0.31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,226	0,047	0,061
Группа 5 (осадившаяся доза: 0.47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,208	0,068	0,101

Таблица 49. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,070	0,075
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,327	0,053	0,063
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,432	0,041	0,045
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,338	0,146	0,278
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,155	0,032	0,041

5 Таблица 50. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части каудальной корневой доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,200	0,250
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,436	0,113	0,153
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,449	0,073	0,087
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,371	0,055	0,064
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,337	0,099	0,140

10 Таблица 51. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части средней корневой доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,090	0,098
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,491	0,128	0,172
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,597	0,090	0,106
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,450	0,034	0,033
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,345	0,038	0,043

Таблица 52. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части каудальной корневой доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,083	0,090
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,419	0,074	0,090
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,569	0,093	0,111
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,273	0,056	0,078
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,308	0,080	0,108

5 Таблица 53. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части краниальной корневой доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,074	0,080
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,265	0,072	0,099
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,555	0,055	0,061
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,286	0,017	0,018
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,296	0,057	0,070

10 Таблица 54. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части средней доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,053	0,056
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,395	0,129	0,191
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,569	0,109	0,135
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,169	0,030	0,042
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151)	0,333	0,132	0,220

Таблица 55. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,395	0,652
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,567	0,070	0,080
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,713	0,096	0,111
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,442	0,133	0,204
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,285	0,084	0,120

5 Таблица 56. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части краниальной корневой доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,269	0,368
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,451	0,127	0,176
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,513	0,134	0,181
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,355	0,053	0,062
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,307	0,106	0,161

10 Таблица 57. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части краниальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,082	0,090
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,397	0,103	0,139
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,549	0,049	0,053
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,278	0,071	0,095
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,280	0,091	0,135

Таблица 58. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части средней доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,058	0,061
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,396	0,072	0,088
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,577	0,124	0,157
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,375	0,074	0,093
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,307	0,039	0,045

5 Таблица 59. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,082	0,089
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,408	0,122	0,174
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,507	0,052	0,058
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,280	0,036	0,046
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,283	0,048	0,058

10 Таблица 60. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части краниальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,088	0,096
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,351	0,066	0,082
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,509	0,077	0,090
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,316	0,064	0,081
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,311	0,085	0,117

Таблица 61. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части средней доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,227	0,294
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,195	0,086	0,154
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,429	0,119	0,165
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,289	0,028	0,040
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,242	0,069	0,096

5 Таблица 62. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в дистальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,077	0,083
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,434	0,114	0,155
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,554	0,131	0,171
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,540	0,240	0,405
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,314	0,087	0,121

10 Таблица 63. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части краниальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,131	0,151
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,499	0,169	0,256
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,545	0,116	0,147
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,332	0,020	0,021
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -AD09151)	0,360	0,100	0,138

Таблица 64. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части средней доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,071	0,076
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,571	0,130	0,169
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,708	0,131	0,161
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,306	0,035	0,039
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,258	0,074	0,103

5 Таблица 65. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,180	0,219
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,381	0,080	0,101
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,580	0,109	0,135
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,304	0,041	0,052
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,235	0,039	0,046

10 Таблица 66. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части краниальной корневой доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,153	0,180
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,492	0,152	0,220
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,486	0,115	0,151
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,265	0,026	0,029
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,272	0,053	0,065

Таблица 67. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части средней корневой доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,124	0,141
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,537	0,121	0,157
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,509	0,156	0,226
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,247	0,064	0,077
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,322	0,090	0,125

5 Таблица 68. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в проксимальной части каудальной корневой доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,088	0,097
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,310	0,067	0,086
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,502	0,105	0,133
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,248	0,043	0,054
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,219	0,050	0,065

10 Таблица 69. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,112	0,126
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,422	0,097	0,127
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,492	0,049	0,054
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,222	0,018	0,019
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,221	0,088	0,147

Таблица 70. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части средней доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,086	0,094
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,434	0,144	0,216
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,693	0,134	0,167
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,291	0,057	0,065
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,277	0,064	0,084

5 Таблица 71. Средняя относительная экспрессия мРНК RAGE у макак-крабоедов в медиальной части каудальной доли правого легкого в момент умерщвления, полученная в примере 12

Идентификационный номер группы	Средняя относительная экспрессия мРНК гена AGER у макак-крабоедов (n = 3)	Низкая погрешность	Высокая погрешность
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,159	0,189
Группа 2 (осадившаяся доза: 0,13 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,338	0,080	0,106
Группа 3 (осадившаяся доза: 0,20 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,438	0,058	0,067
Группа 4 (осадившаяся доза: 0,31 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,297	0,090	0,113
Группа 5 (осадившаяся доза: 0,47 мг/кг Tri-SM6.1- α v β 6-AD09151)	0,215	0,072	0,108

10 Как видно из результатов, приведенных в представленных выше таблицах 47 - 71, средство на основе РНКи, AD09151, обеспечивает существенное ингибирование (наблюдается ингибирование, составляющее >70%, при введении путем ингаляции одной дозы, равной 0,31 мг/кг и 0,47 мг/кг) по сравнению с контрольным образцом, это указывает на возможность стойкого устранения экспрессии AGER у не являющихся человеком приматов.

15 Тканевый белок RAGE анализировали по методике вестерн-блоттинга. Аликвоту измельченной легочной ткани, количество которой зависело от наличия тканей, и которая включала ткань дистальной части каудальной доли легкого и ткань средней доли легкого, гомогенизировали в буфере для радиоиммунопреципитационного анализа (РИПА) с использованием

снабженного шаровой мельницей гомогенизатора Qiagen. Концентрацию белка определяли по методике анализа с использованием бицинхониновой кислоты (анализ с использованием БЦА). Образцы готовили в буфере Лэммли и кипятили. В гель загружали 10 мкг общего белка и в полусухом виде переносили на изготовленную из поливинилидендифторида (ПВДФ) мембрану. Полученный блот исследовали с помощью набора Pierce Fast-western (30 мин: первичные антитела (ab216329), 1:1000 в запатентованном блокирующем буфере, 15 мин: ПСХ (пероксидаза хрена), 3×5 мин: промывки, 5 мин: субстрат для детектирования West Pico). Полученный блот визуализировали для детектирования RAGE с использованием iBright и красителя общего белка, при этом мембрану обрабатывали реагентом для нормирования на общий белок. Оптическую плотность обеих соответствующих полос и содержание общего белка за вычетом фонового сигнала определяли с использованием программного обеспечения iBright.

Исследование влияния дозы у макак-крабоедов показывает, что после введения воздействующего на RAGE средства на основе РНКи степень ингибирования белка RAGE постоянно увеличивается при увеличении дозы воздействующего на RAGE средства на основе РНКи. Это можно наблюдать и в случае средней, и в случае каудальной доли, при этом степень ингибирования белка RAGE составляет вплоть до ~80-88% при дозе, равной 0,47 мг/кг.

Образцы сыворотки, взятые у макак-крабоедов в день 15 и 29 после введения дозы воздействующего на RAGE средство на основе РНКи собирали и концентрации sRAGE в сыворотке определяли с помощью исследования по технологии Gyros Protein Technologies. В представленной ниже таблице 72 приведены концентрации sRAGE в сыворотке в день 15, нормированные на исходное значение, а также стандартное отклонение. В представленной ниже таблице 73 приведены концентрации sRAGE в сыворотке в день 29, нормированные на исходное значение, а также стандартное отклонение.

Таблица 72. Концентрация sRAGE в сыворотке макак-крабоедов после введения воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, день 15

Идентификационный номер группы	Доза	Концентрация sRAGE в сыворотке (в % от исходного значения)	Стандартное отклонение
Группа 1 (изотонический раствор)	НП	92,710	0,014
Группа 2: Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151	0,13 мг/кг	63,293	16,806
Группа 3: Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151	0,20 мг/кг	57,873	7,367
Группа 4: Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151	0,31 мг/кг	47,710	15,971
Группа 5: Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151	0,47 мг/кг	43,377	4,487

5 Таблица 73. Концентрация sRAGE в сыворотке макак-крабоедов после введения воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, день 29

Идентификационный номер группы	Доза	Концентрация sRAGE в сыворотке (в % от исходного значения)	Стандартное отклонение
Группа 1 (изотонический раствор)	НП	100,470	28,206
Группа 2: Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151	0,13 мг/кг	79,750	17,336
Группа 3: Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151	0,20 мг/кг	66,523	5,243
Группа 4: Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151	0,31 мг/кг	46,873	25,249
Группа 5: Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta$ 6-AD09151	0,47 мг/кг	39,833	13,811

10 После введения доз воздействующих на RAGE средств на основе РНКи у макак-крабоедов наблюдается существенное уменьшение концентрации sRAGE в сыворотке по сравнению с исходными значениями. Как показано в таблицах 72 и 73, исследование влияния дозы показывает, что концентрация sRAGE постоянно уменьшается (более существенная степень ингибирования sRAGE) при увеличении концентрации воздействующего на RAGE средства на основе РНКи, при этом концентрация sRAGE в сыворотке составляет ~39-43% (степень ингибирования ~57-61%) в дни 15 и 29 после введения воздействующего на RAGE средства на основе РНКи.

15

Другие варианты осуществления

Следует понимать, что, хотя настоящее изобретение представлено с помощью подробного описания, приведенное выше описание предназначено для иллюстрации, а не для ограничения объема настоящего изобретения, который 5 определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие характеристики, преимущества и модификации входят в объем приведенной ниже формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Средство на основе РНКи, предназначенное для подавления экспрессии гена рецептора конечных продуктов гликирования, включающее:

5 антисмысловую цепь, содержащую не менее 17 смежных нуклеотидов, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 3; и смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи.

10

2. Средство на основе РНКи по п. 1, где антисмысловая цепь содержит нуклеотиды 2-18, содержащиеся в любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 3.

15 3. Средство на основе РНКи по п. 1 или п. 2, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, состоящую из не менее 17 смежных нуклеотидов, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 4, и где смысловая цепь содержит участок, где 17 смежных нуклеотидов по меньшей мере на 85% комплементарны содержащимся в антисмысловой цепи.

20

4. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 1-3, где по меньшей мере один нуклеотид, содержащийся в средстве на основе РНКи, является модифицированным нуклеотидом или содержит модифицированный межнуклеозидный мостик.

25

5. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 1-4, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

30 6. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 4-5, где модифицированный нуклеотид выбран из группы, состоящей из следующих: 2'-О-метилнуклеотид, 2'-фторнуклеотид, 2'-дезоксигруппу нуклеотид, миметик 2',3'-секонуклеотида, замкнутый нуклеотид, 2'-F-арабинонуклеотид, 2'-метоксиэтилнуклеотид,

абазический нуклеотид, рибит, обращенный нуклеотид, обращенный 2'-О-метилнуклеотид, обращенный 2'-дезоксинуклеотид, модифицированный 2'-аминогруппой, модифицированный 2'-алкилом нуклеотид, морфолинонуклеотид, содержащий винилфосфонат нуклеотид, содержащий циклопропилфосфонат нуклеотид и 3'-О-метилнуклеотид.

7. Средство на основе РНКи по п. 5, где все или в основном все нуклеотиды представляют собой модифицированные 2'-О-метилом нуклеотиды, модифицированные 2'-фтором нуклеотиды или их комбинации.

8. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 1-7, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, представляющую собой любую из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3.

9. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 1-8, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, представляющую собой любую из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4.

10. Средство на основе РНКи по п. 1, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, представляющую собой любую из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3, и смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, представляющую собой любую из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4.

11. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 1-10, где смысловая цепь обладает длиной, составляющей от 18 до 30 нуклеотидов, и антисмысловая цепь обладает длиной, составляющей от 18 до 30 нуклеотидов.

12. Средство на основе РНКи по п. 11, где смысловая цепь и антисмысловая цепь обе обладают длиной, составляющей от 18 до 27 нуклеотидов.

13. Средство на основе РНКи по п. 12, где смысловая цепь и антисмысловая цепь обе обладают длиной, составляющей от 18 до 24 нуклеотидов.

14. Средство на основе РНКи по п. 13, где смысловая цепь и антисмысловая цепь обе обладают длиной, составляющей 21 нуклеотид.

5 15. Средство на основе РНКи по п. 14, где средство на основе РНКи включает два тупых конца.

16. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 1-15, где смысловая цепь содержит один или два концевых кэспирующих фрагмента.

10

17. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 1-16, где смысловая цепь содержит один или два обращенных абазических остатка.

15 18. Средство на основе РНКи по п. 1, где средство на основе РНКи включает смысловую цепь и антисмысловую цепь, которые образуют дуплекс, обладающий структурой любого из дуплексов, указанных в таблице 7А, таблице 7Б, таблице 8, таблице 9А, таблице 9Б или таблице 10.

20 19. Средство на основе РНКи по п. 18, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

25 20. Средство на основе РНКи по п. 1, включающее антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

UUGUGUUCAGUUCCAUC (SEQ ID NO:55);

UGAUGUUUUGAGCACCUAC (SEQ ID NO:65);

UCCAUCUCCUGUUCAUUGC (SEQ ID NO:73);

UUGUGUUCAGUUCCAUCCG (SEQ ID NO:7);

30 UGAUGUUUUGAGCACCUACUC (SEQ ID NO:9); или

UCCAUCUCCUGUUCAUUGCCU (SEQ ID NO:8).

21. Средство на основе РНКи по п. 20, где смысловая цепь состоит, в основном состоит из нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

- 5 GAAUGGAAACUGAACACAA (SEQ ID NO:298);
GUAGGUGCUCAAAACAUCA (SEQ ID NO:308);
GCAAUGAACAGGAAUIGAA (SEQ ID NO:316);
CGGAAUGGAAACUGAACACAA (SEQ ID NO:19);
GAGUAGGUGCUCAAAACAUCA (SEQ ID NO:20); или
10 AGGCAAUGAACAGGAAUIGAA (SEQ ID NO:21).

22. Средство на основе РНКи по п. 20 или 21, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

- 15 23. Средство на основе РНКи по п. 1, включающее антисмысловую цепь, которая состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

- 20 usUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:2);
cPrpusUfsgsUfgUfuCfaGfuUfuCfcAfuUfcCfsg (SEQ ID NO:3);
usGfsasuguuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:5);
cPrpusGfsasuguuugaGfcAfcCfuacusc (SEQ ID NO:6);
usUfscsCfaUfuCfcUfgUfuCfaUfuGfcCfsu (SEQ ID NO:4);

- 25 где а обозначает 2'-О-метиладенозин, с обозначает 2'-О-метилцитидин, g обозначает 2'-О-метилгуанозин, u обозначает 2'-О-метилуридин; Af обозначает 2'-фтораденозин, Cf обозначает 2'-фторцитидин, Gf обозначает 2'-фторгуанозин, Uf обозначает 2'-фторуридин; cPrpu обозначает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин; s обозначает фосфоротиоатный мостик; и где все или в основном
30 все нуклеотиды, содержащиеся в смысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами.

24. Средство на основе РНКи по п. 1, где смысловая цепь состоит, в основном состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, в которой 0 или 1 нуклеотид отличается от содержащихся в одной из приведенных ниже нуклеотидных последовательностей (5' → 3'), или содержит ее:

5 gsaguagGfuGfcUfcaaaaca (SEQ ID NO:14);

asggcaaugAfAfCfaggaauigaa (SEQ ID NO:15);

csggaauggAfAfAfcugaacasa (SEQ ID NO:13);

где а обозначает 2'-О-метиладенозин, с обозначает 2'-О-метилцитидин, g обозначает 2'-О-метилгуанозин, і обозначает 2'-О-метилюозин, u обозначает 2'-О-метилуридин; Af обозначает 2'-фтораденозин, Cf обозначает 2'-фторцитидин, Gf обозначает 2'-фторгуанозин, Uf обозначает 2'-фторуридин; и s обозначает фосфоротиоатный мостик; и где все или в основном все нуклеотиды, содержащиеся в антисмысловой цепи, являются модифицированными нуклеотидами.

15

25. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 20-24, где смысловая цепь дополнительно содержит обращенные абазические остатки на 3'-конце нуклеотидной последовательности, на 5'-конце нуклеотидной последовательности или на них обоих.

20

26. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 1-25, где средство на основе РНКи связано с направленно действующим лигандом.

27. Средство на основе РНКи по п. 26, где направленно действующий лиганд обладает сродством к клеточному рецептору, экспрессирующемуся в эпителиальных клетках.

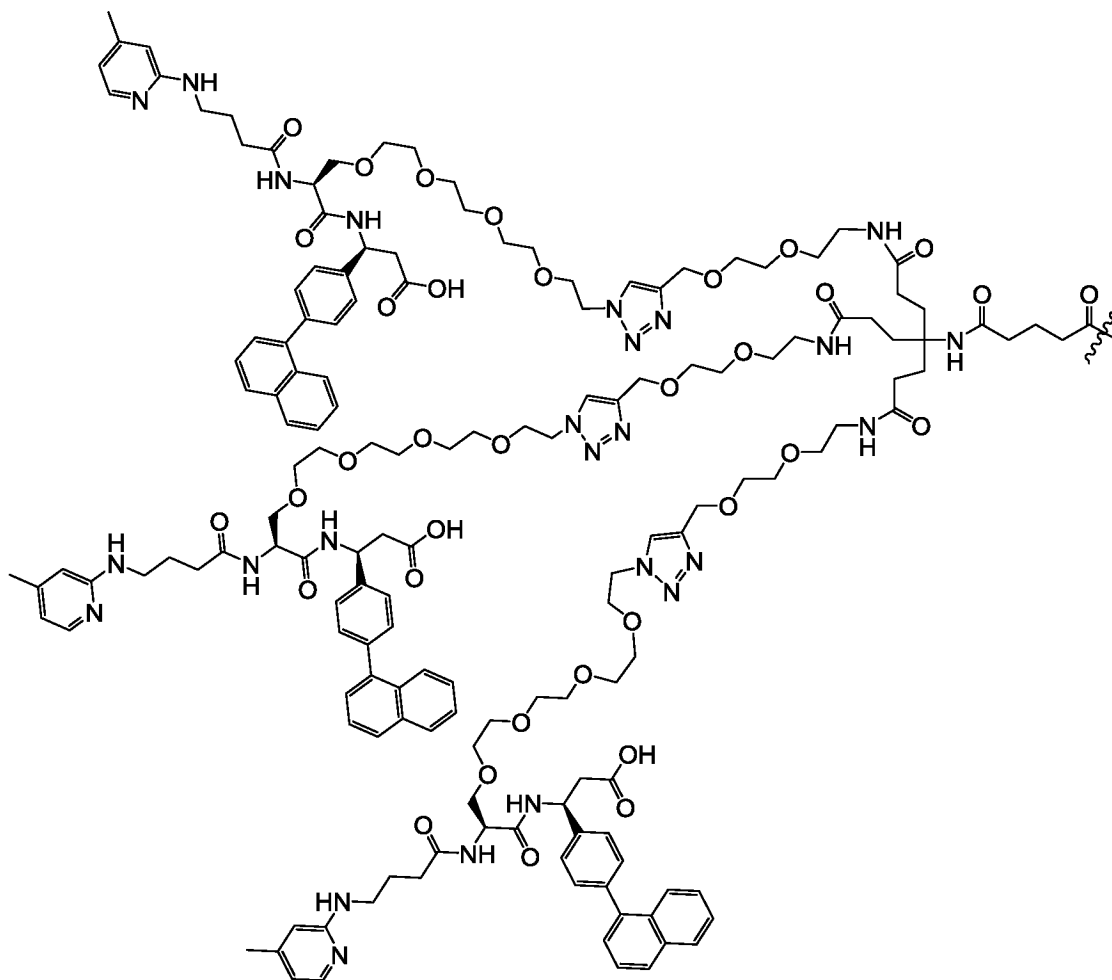
25

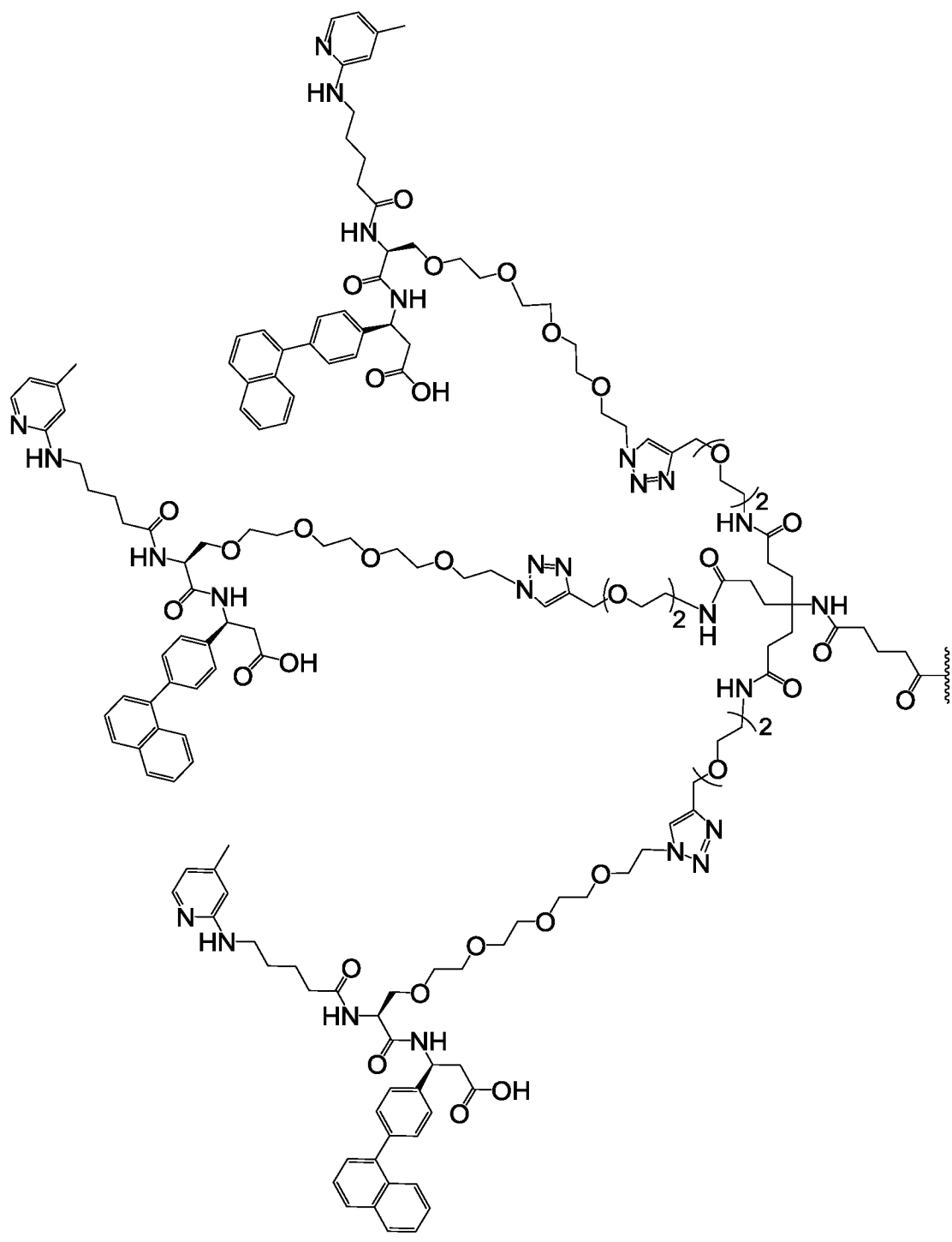
28. Средство на основе РНКи по п. 27, где направленно действующий лиганд включает лиганд, направленно действующий на интегрин.

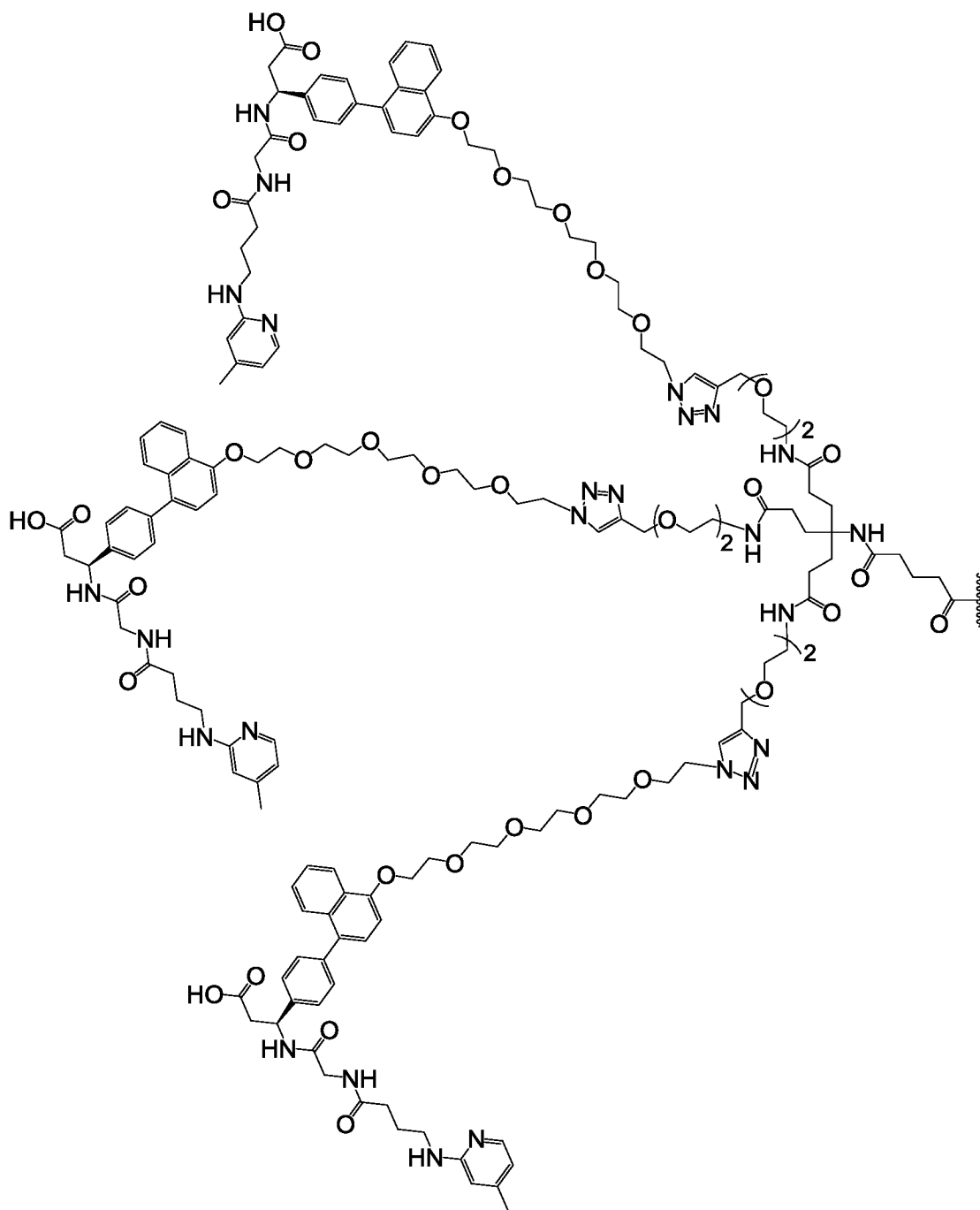
30

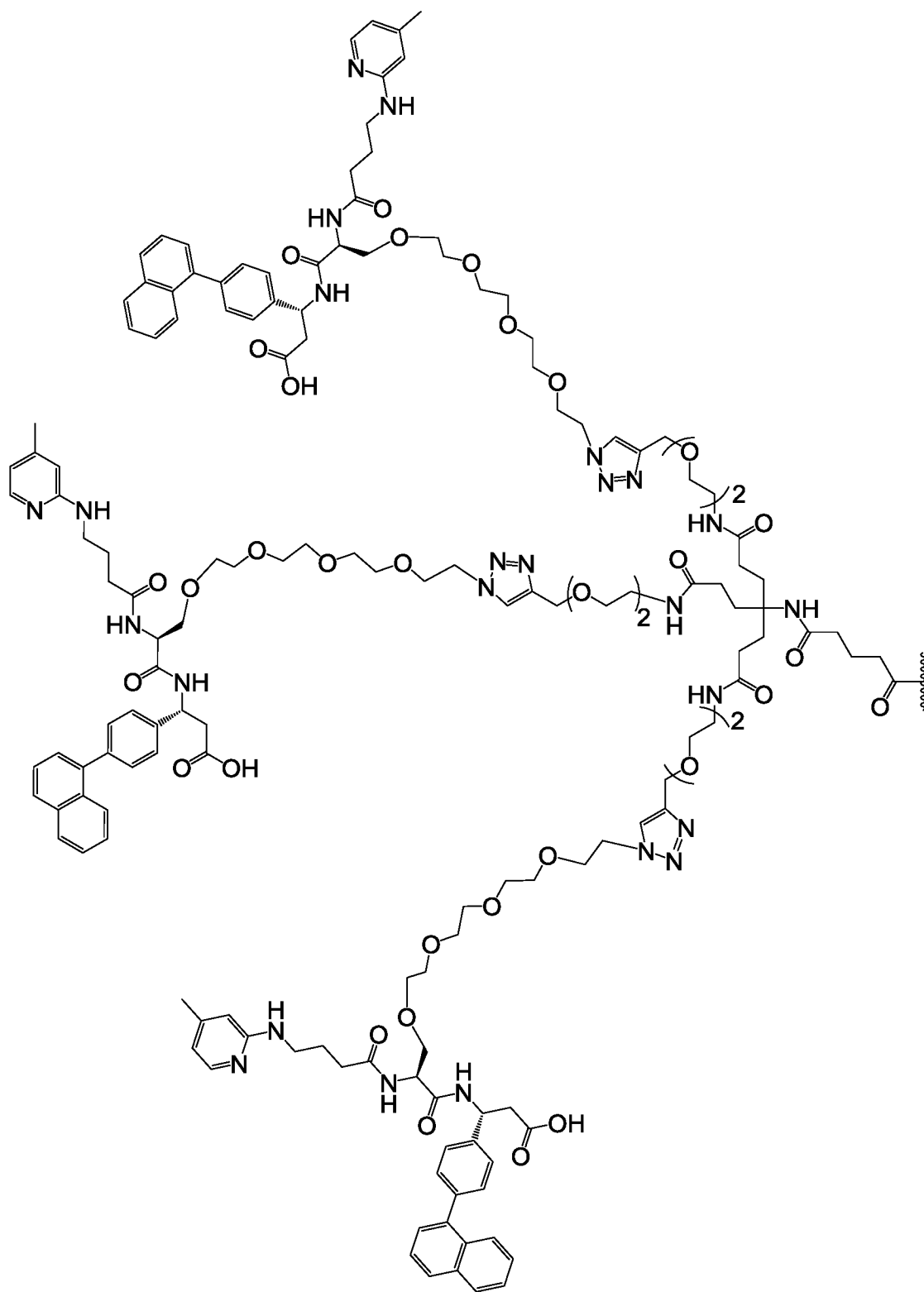
29. Средство на основе РНКи по п. 28, где лигандом, направленно действующим на интегрин, является лиганд, направленно действующий на интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$.

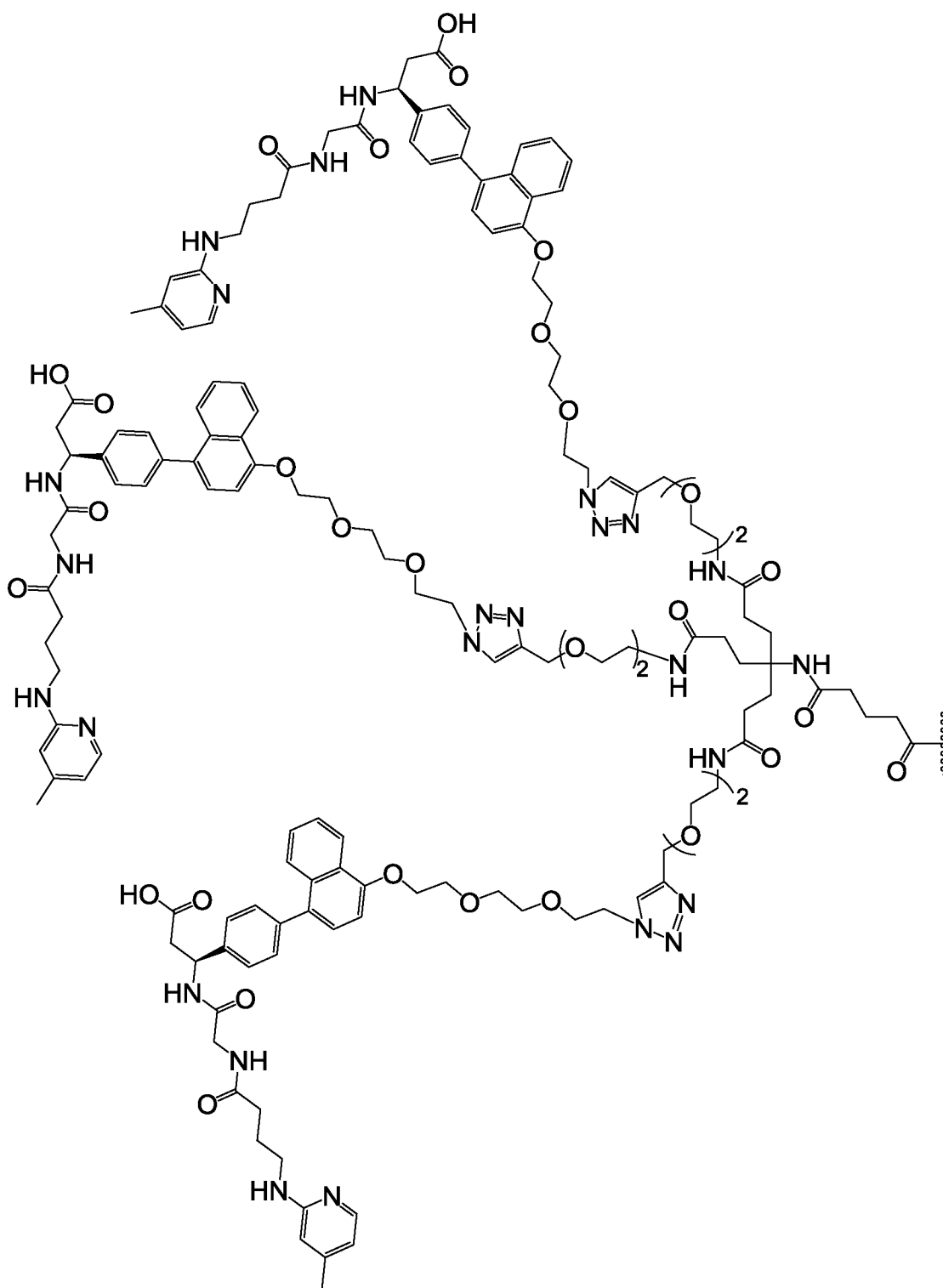
31. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 26-29, где направленно действующий лиганд обладает структурой, выбранной из группы, состоящей из следующих:

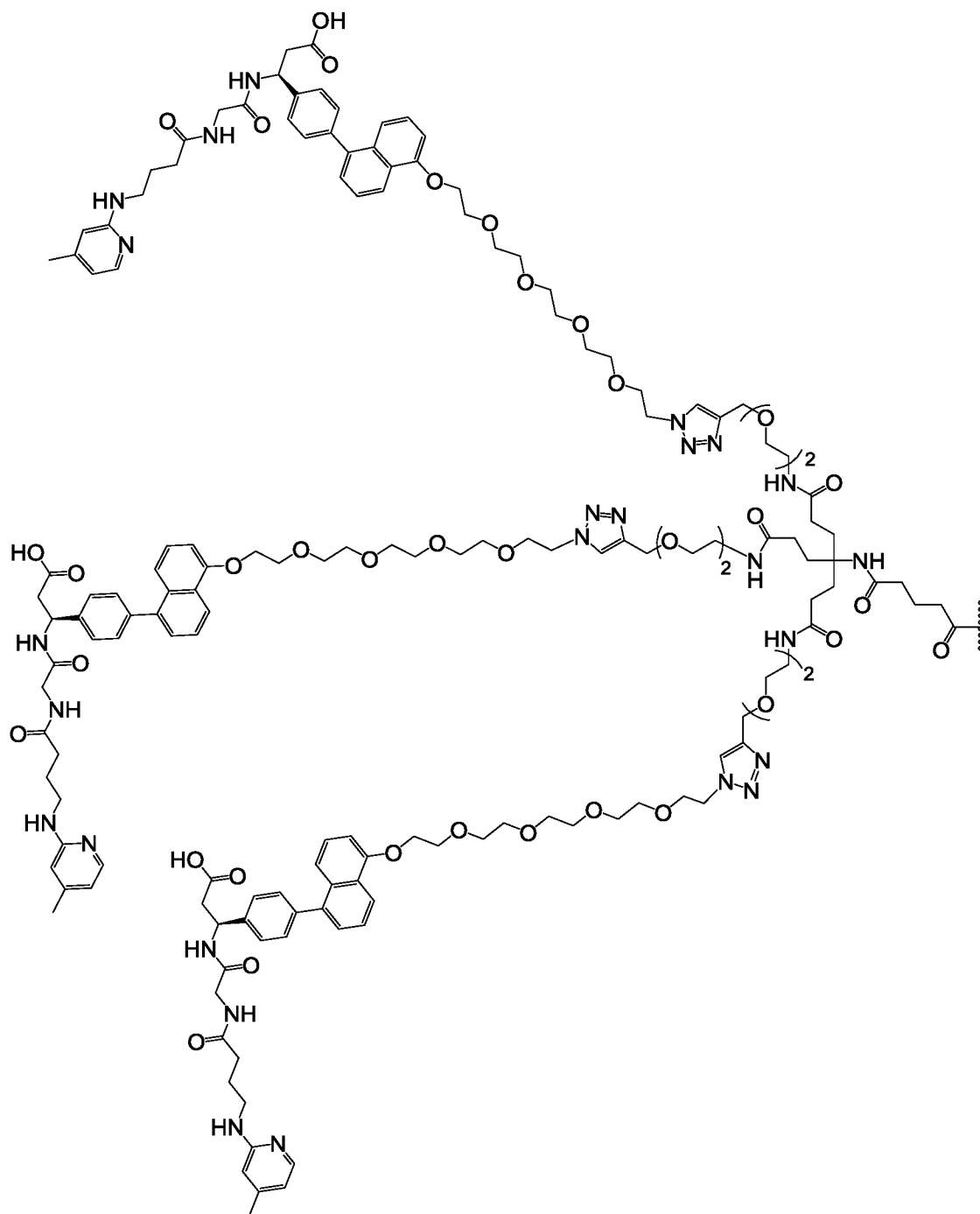


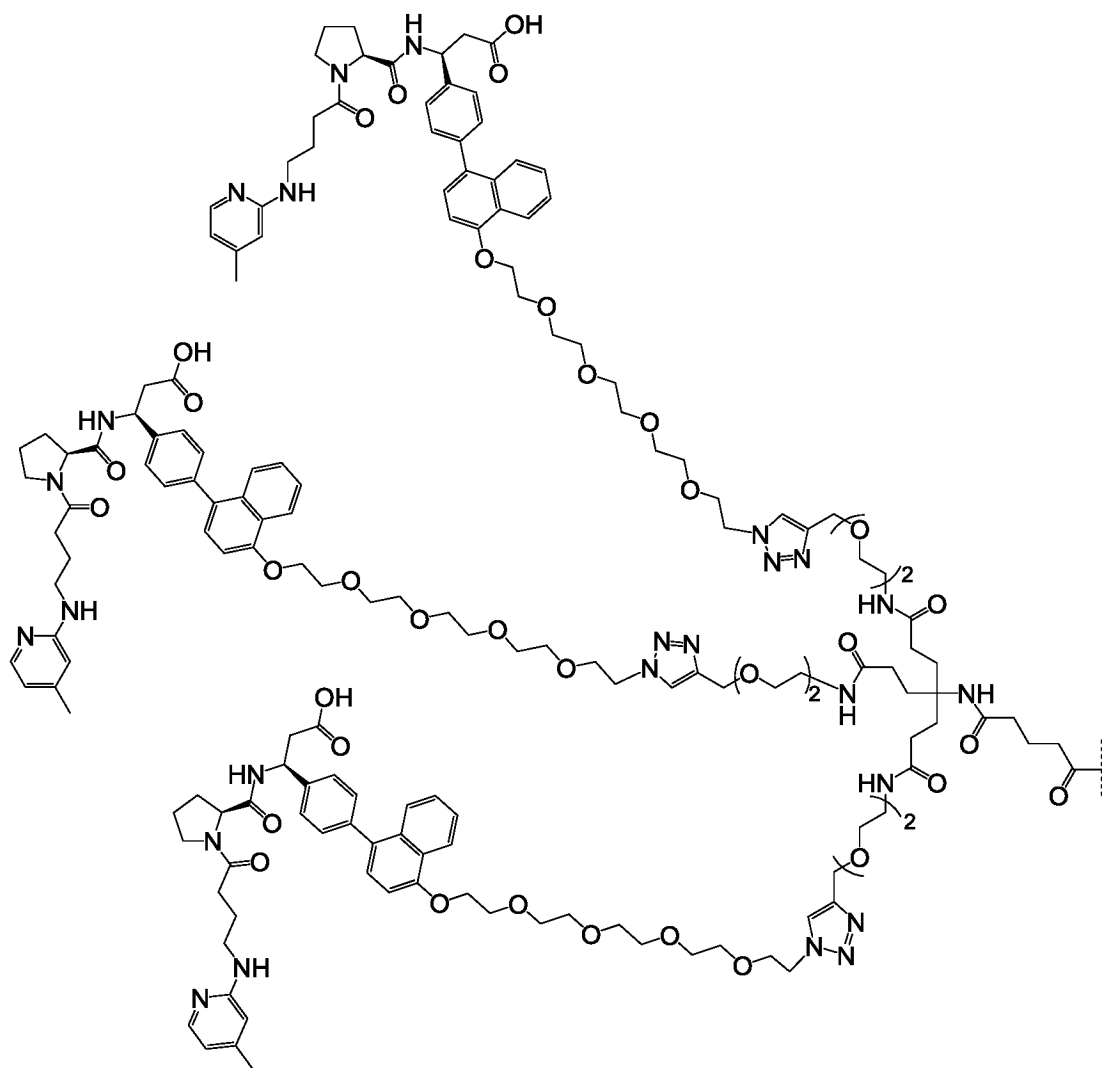






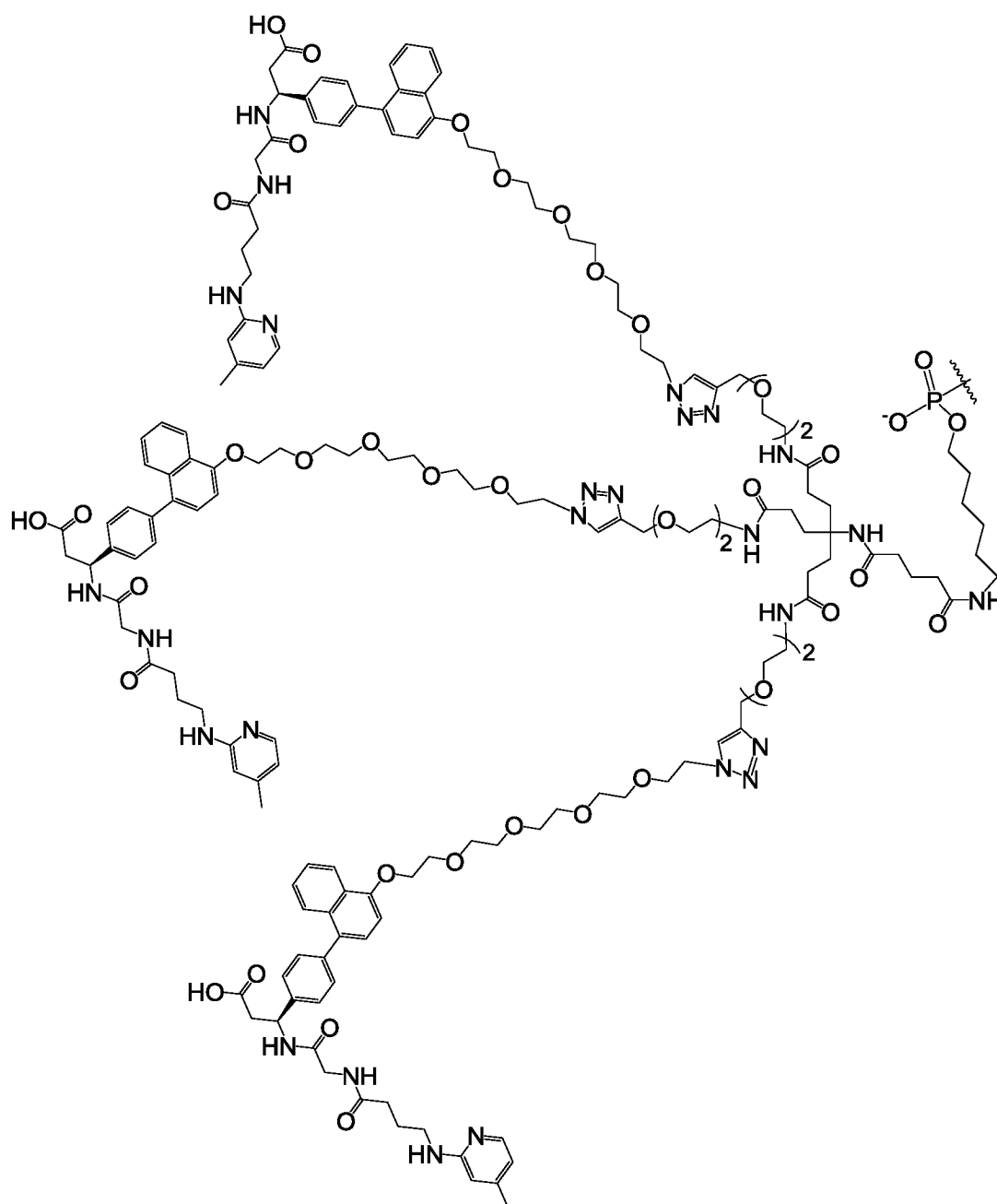




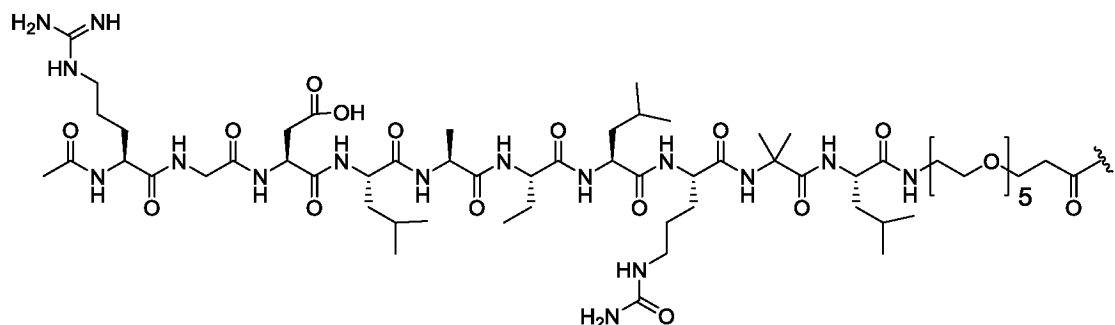


где знак \sim означает положение присоединения к средству средство на основе РНКи.

32. Средство на основе РНКи по п. 31, где средство на основе РНКи конъюгировано с направленно действующим лигандом, обладающим следующей структурой:



33. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 26-29, где направленно действующий лиганд обладает следующей структурой:



5 34. Средство на основе РНКи по любому из п.п. 26-33, где направленно действующий лиганд конъюгирован со смысловой цепью.

35. Средство на основе РНКи по п. 34, где направленно действующий лиганд конъюгирован с 5'-концом смысловой цепи.

10

36. Средство на основе РНКи по любому из предыдущих пунктов, где средство на основе РНКи конъюгировано с направленно действующим лигандом и обладает структурой дуплекса AC000292, AC001266, AC001267 или AC001268.

15 37. Композиция, содержащая средство на основе РНКи по любому из п.п. 1-36, где композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый инертный наполнитель.

20 38. Композиция по п. 37, дополнительно содержащая второе средство на основе РНКи, способное подавлять экспрессию гена рецептора конечных продуктов гликирования.

39. Композиция по любому из п.п. 36-38, дополнительно содержащая одно или большее количество дополнительных терапевтических средств.

25

40. Композиция по любому из п.п. 36-39, где композицию готовят для введения путем ингаляции.

41. Композиция по п. 40, где доставку композиции осуществляют с помощью дозирующего ингалятора, струйного небулайзера, меш-небулайзера с вибрирующей сеткой или мягко распыляющего ингалятора.

5 42. Композиция по любому из п.п. 37-41, где средство на основе РНКи представляет собой натриевую соль.

43. Композиция по любому из п.п. 37-42, где фармацевтически приемлемым инертным наполнителем является вода для инъекций.

10

44. Композиция по любому из п.п. 37-42, где фармацевтически приемлемым инертным наполнителем является забуференный физиологический раствор.

15 45. Способ подавления экспрессии гена рецептора конечных продуктов гликирования в клетке, способ включает введение в клетку средства на основе РНКи по любому из п.п. 1-33 или композиции по любому из п.п. 37-44.

46. Способ по п. 45, где клетка находится внутри субъекта.

20 47. Способ по п. 46, где субъект представляет собой являющийся человеком субъект.

25 48. Способ по любому из п.п. 45-47, где после введения средства на основе РНКи экспрессия гена рецептора конечных продуктов гликирования подавляется по меньшей мере примерно на 30%.

30 49. Способ лечения одного или большего количества симптомов или заболеваний, связанных с увеличенными или повышенными уровнями активности мембранного RAGE, способ включает введение нуждающемуся в нем являющемуся человеком субъекту композиции по любому из п.п. 37-44 в терапевтически эффективном количестве.

50. Способ по п. 49, где заболеванием является респираторное заболевание.

51. Способ по п. 50, где респираторным заболеванием является муковисцидоз, пневмония, хронический бронхит, не связанный с муковисцидозом бронхоэктаз, хроническое обструктивное легочное заболевание (ХОЛЗ), астма, инфекции дыхательных путей, первичная цилиарная дискинезия или связанный с карциномой легких муковисцидоз.

10

52. Способ по п. 51, где заболеванием является хроническое обструктивное легочное заболевание (ХОЛЗ).

53. Способ по п. 49, где заболеванием является глазное заболевание.

54. Способ по п. 53, где глазным заболеванием является сухой кератит.

15

55. Способ по любому из п.п. 45-54, где средство на основе РНКи вводят при осадившейся дозе, равной от примерно 0,01 до примерно 5,0 мг/кг массы тела субъекта.

20

56. Способ по любому из п.п. 44-54, где средство на основе РНКи вводят при осадившейся дозе, равной от примерно 0,03 до примерно 2,0 мг/кг массы тела субъекта.

25

57. Способ по любому из п.п. 46-56, где средство на основе РНКи вводят в виде двух или большего количества доз.

30

58. Применение средства на основе РНКи по любому из п.п. 1-36 для лечения заболевания, нарушения или симптома, который по меньшей мере отчасти опосредован активностью мембранного RAGE и/или экспрессией гена AGER.

59. Применение композиции по любому из п.п. 37-44 для лечения заболевания, нарушения или симптома, который по меньшей мере отчасти

опосредован активностью рецептора конечных продуктов гликирования и/или экспрессией гена рецептора конечных продуктов гликирования.

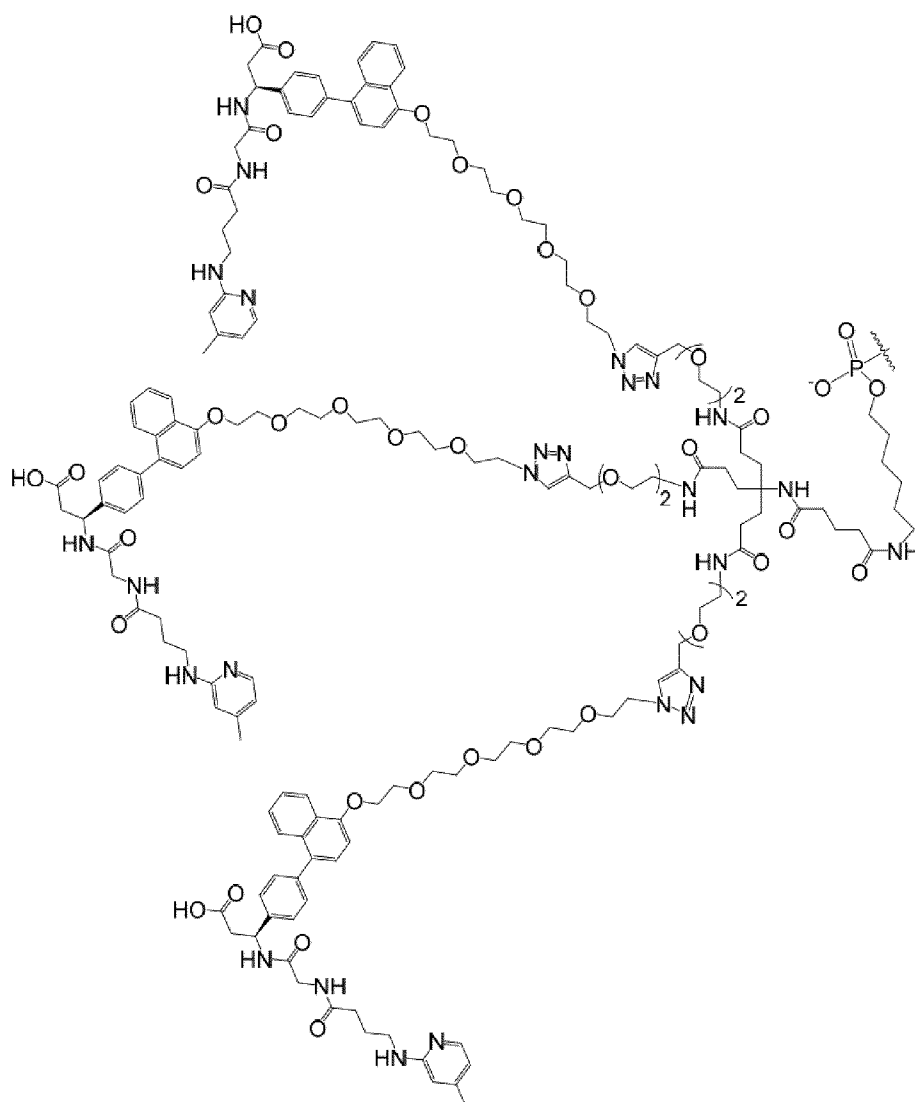
5 60. Применение композиции по любому из п.п. 37-44 для приготовления лекарственного средства, предназначенного для лечения заболевания, нарушения или симптома, который по меньшей мере отчасти опосредован активностью рецептора конечных продуктов гликирования и/или экспрессией гена рецептора конечных продуктов гликирования.

10 61. Применение по любому из п.п. 58-60, где заболеванием является воспаление легких.

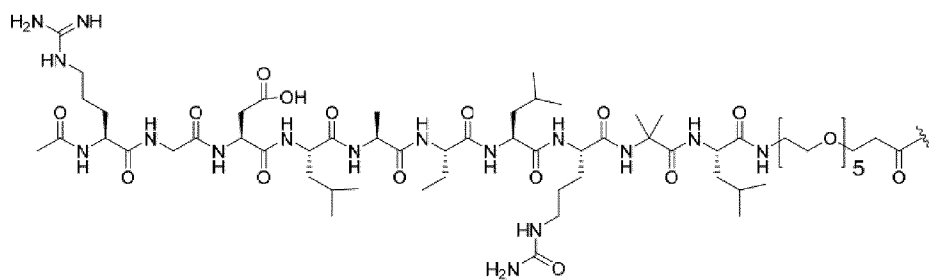
15 62. Способ получения средства на основе РНКи по любому из п.п. 1-36, включающий отжиг смысловой цепи и антисмысловой цепи с получением двухцепочечной молекулы рибонуклеиновой кислоты.

63. Способ по п. 62, где смысловая цепь содержит направленно действующий лиганд.

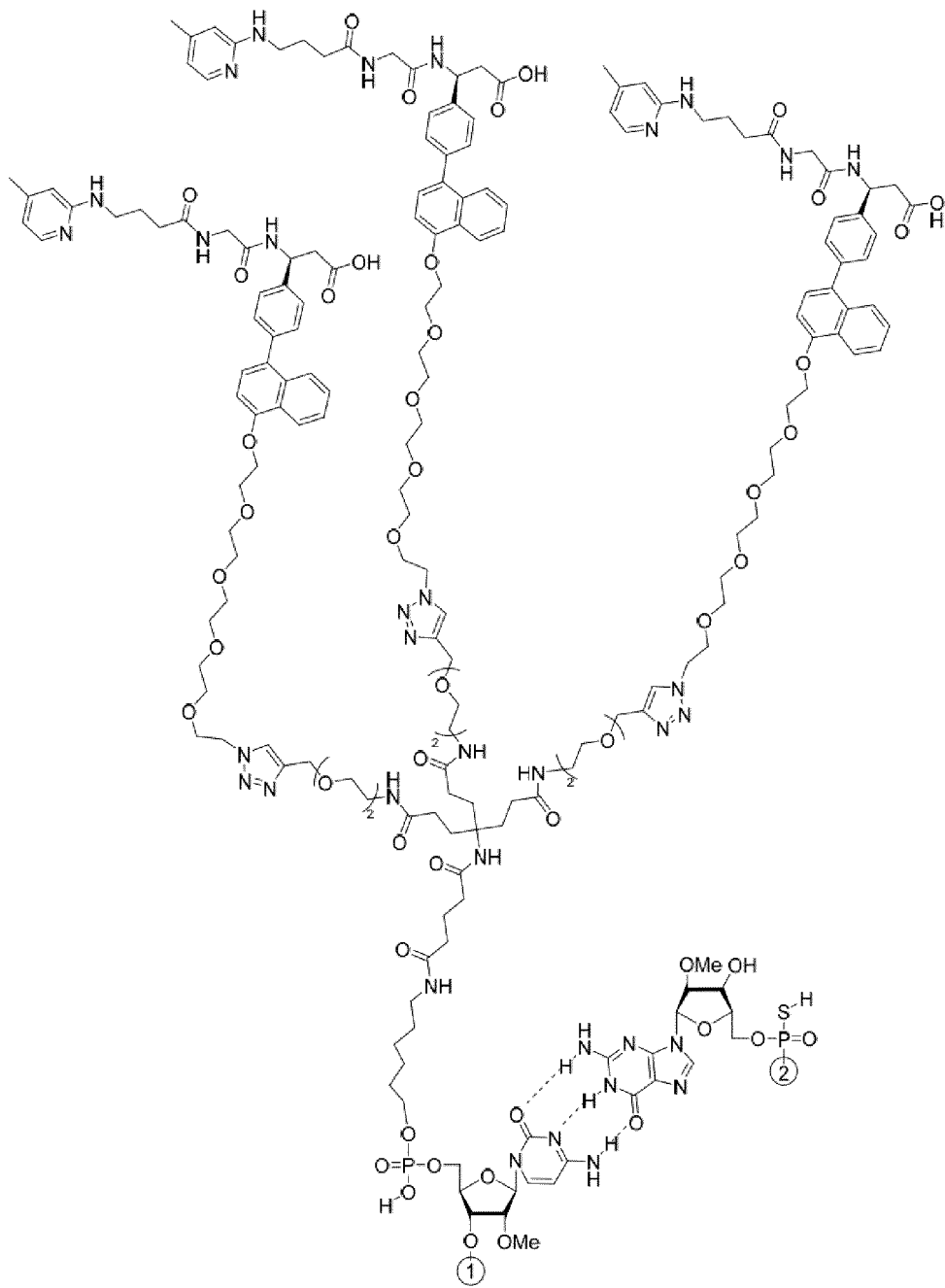
20 64. Способ по п. 63, включающий конъюгирование направленно действующего лиганда со смысловой цепью.



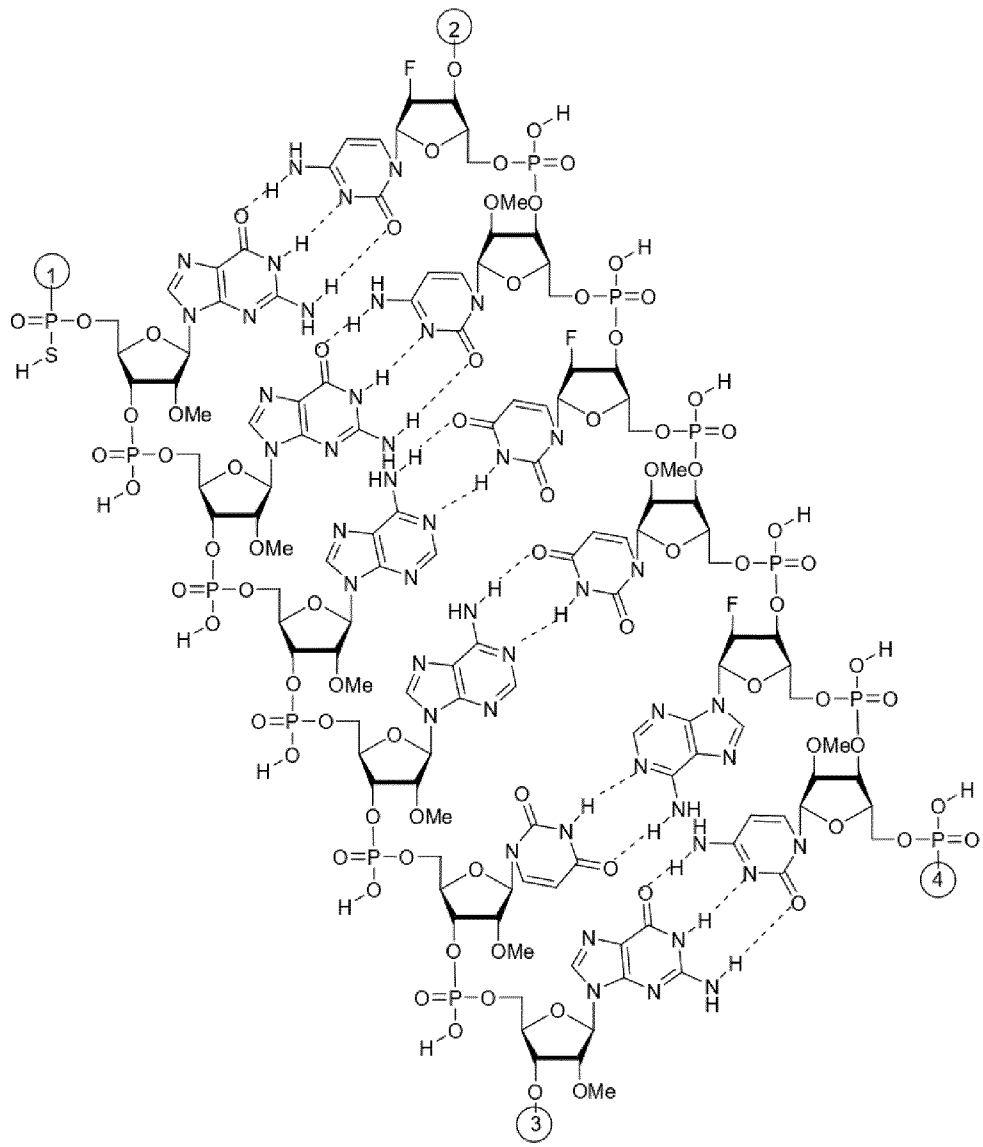
Фиг. 1



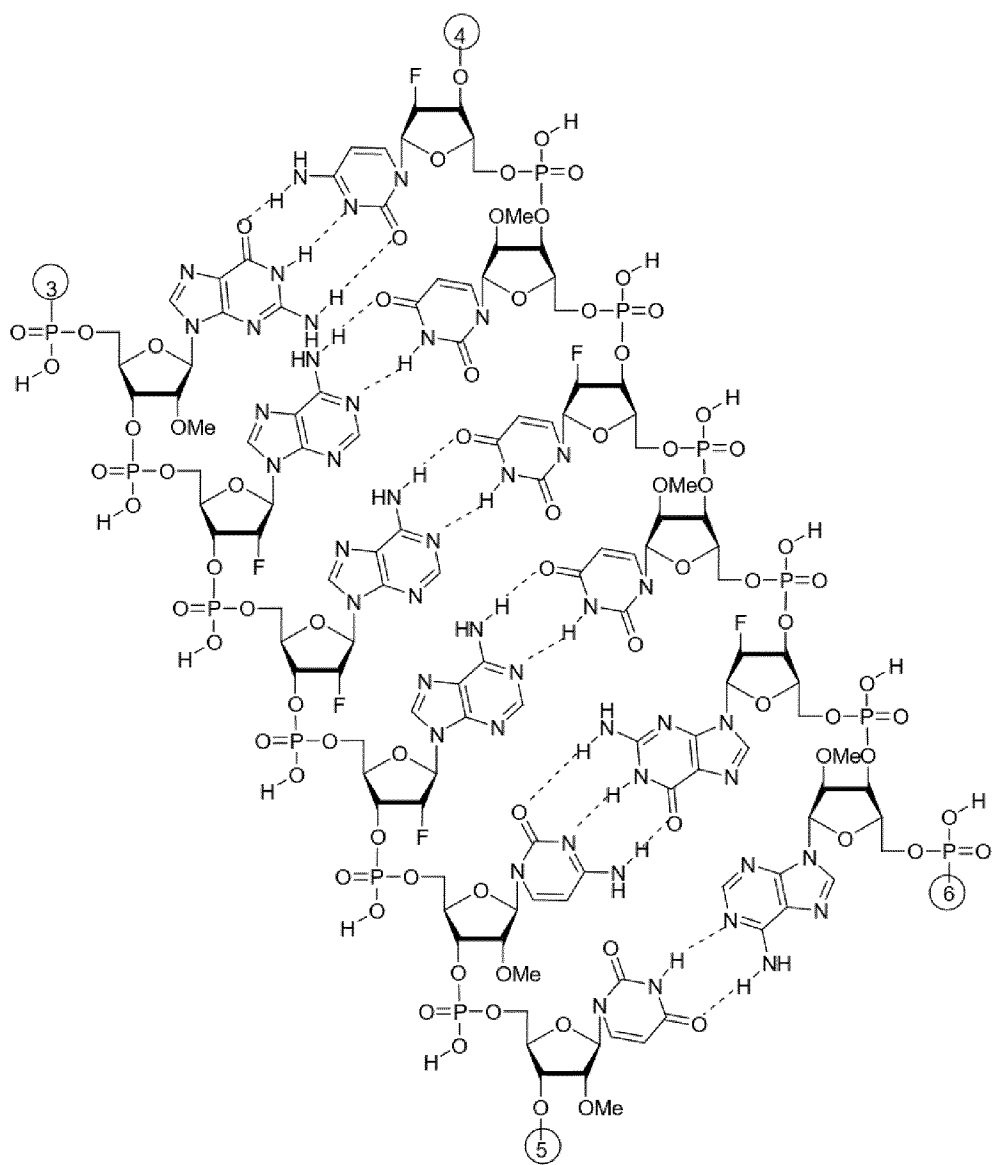
Фиг. 2



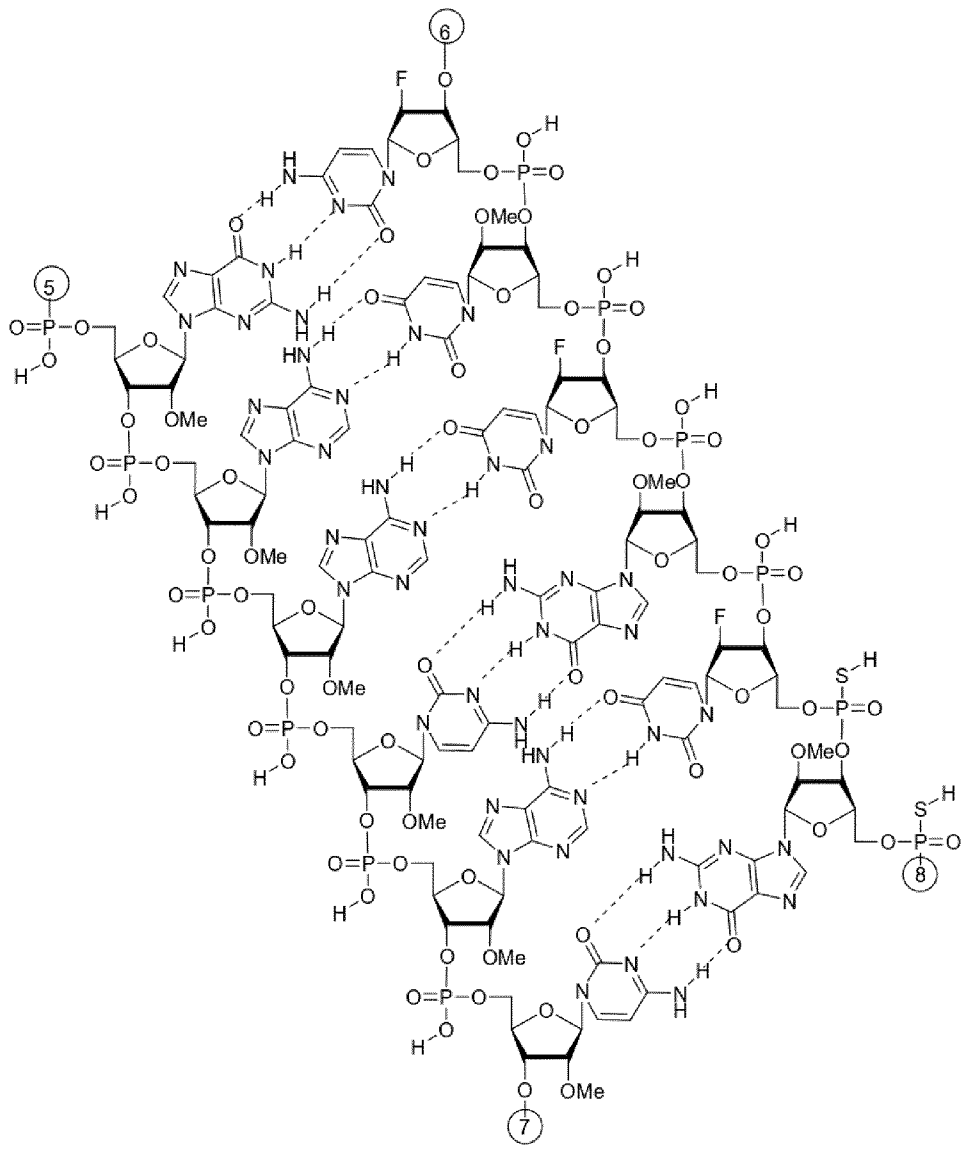
Фиг. 3А



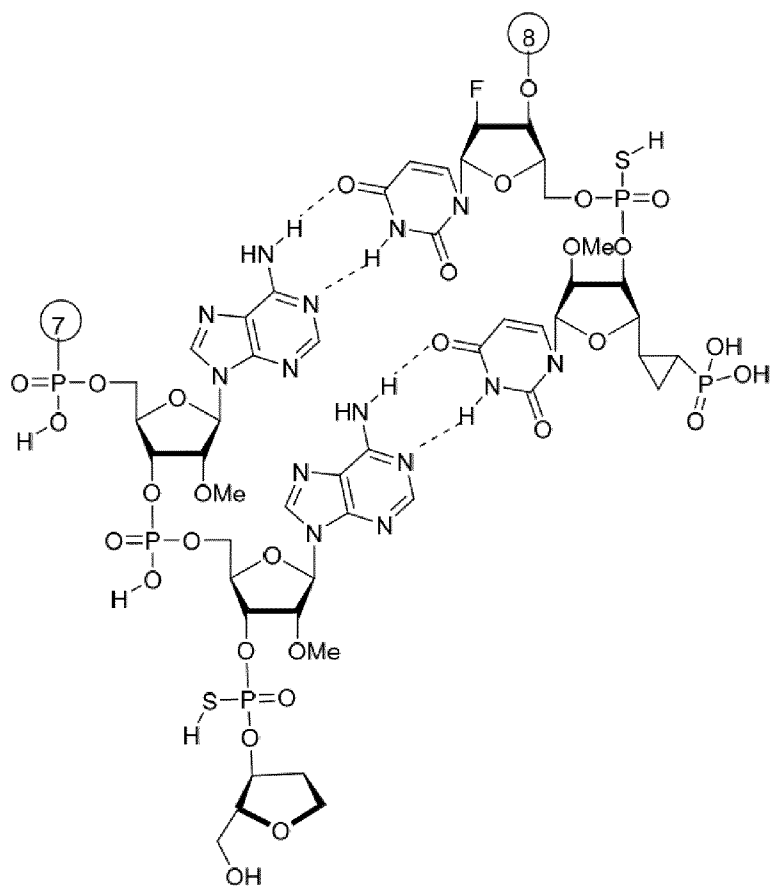
Фиг. 3Б



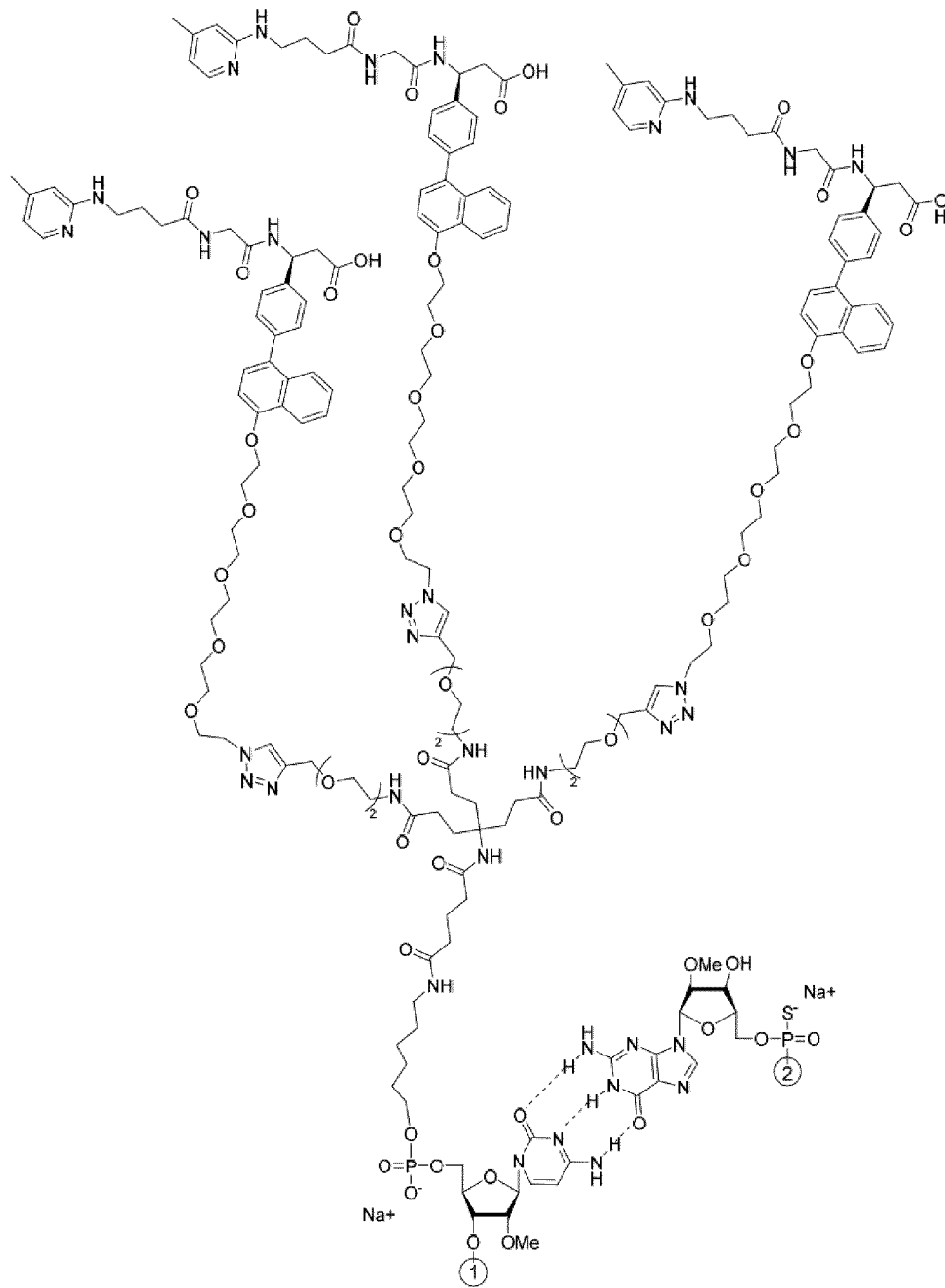
Фиг. 3В



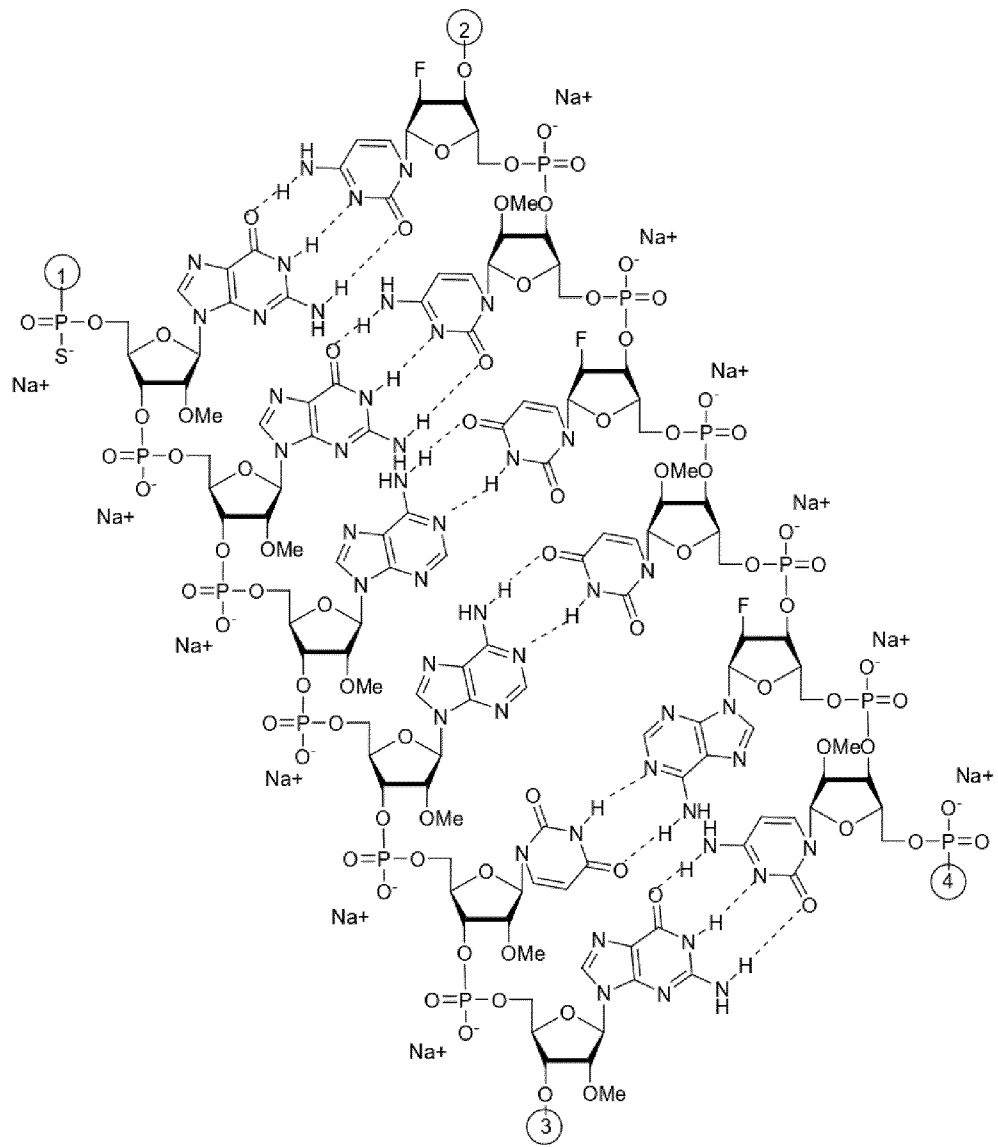
Фиг. 3Г



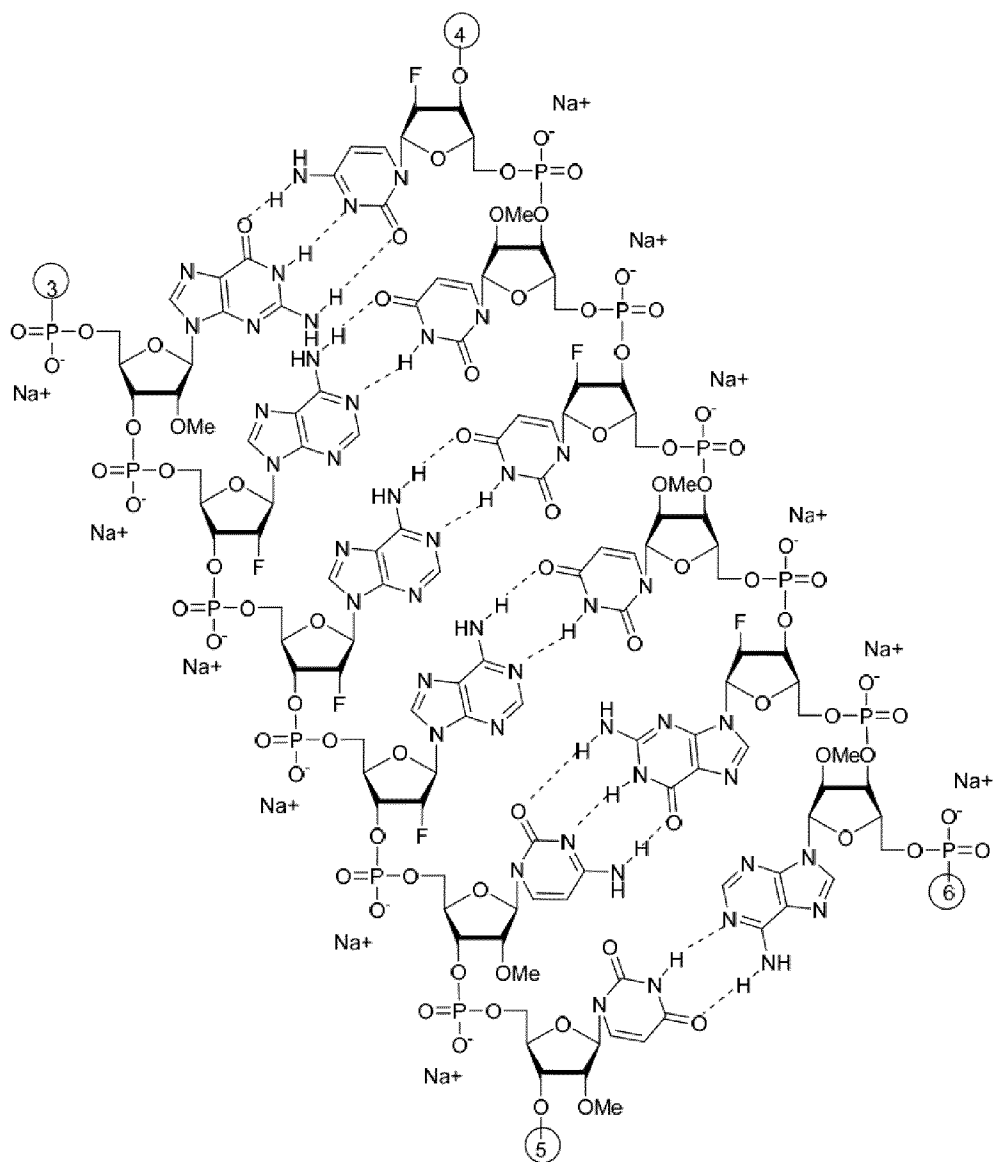
Фиг. 3Д



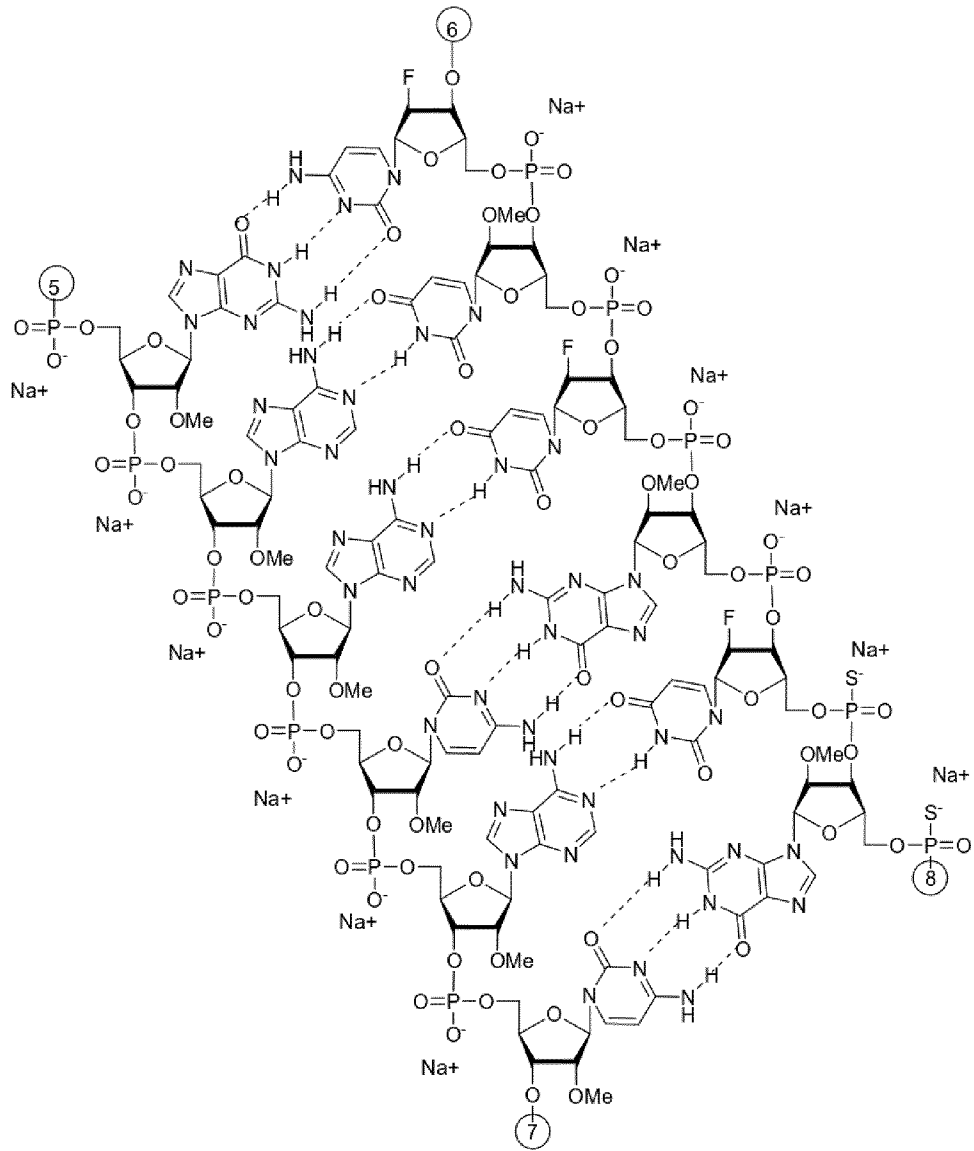
Фиг. 4А



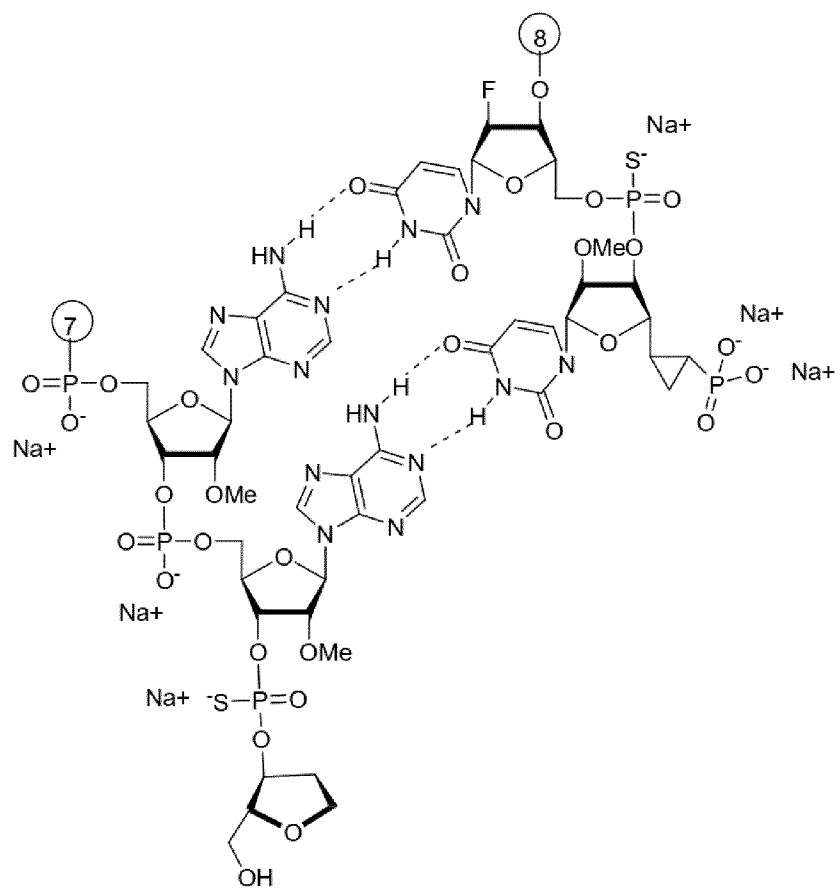
Фиг. 4Б



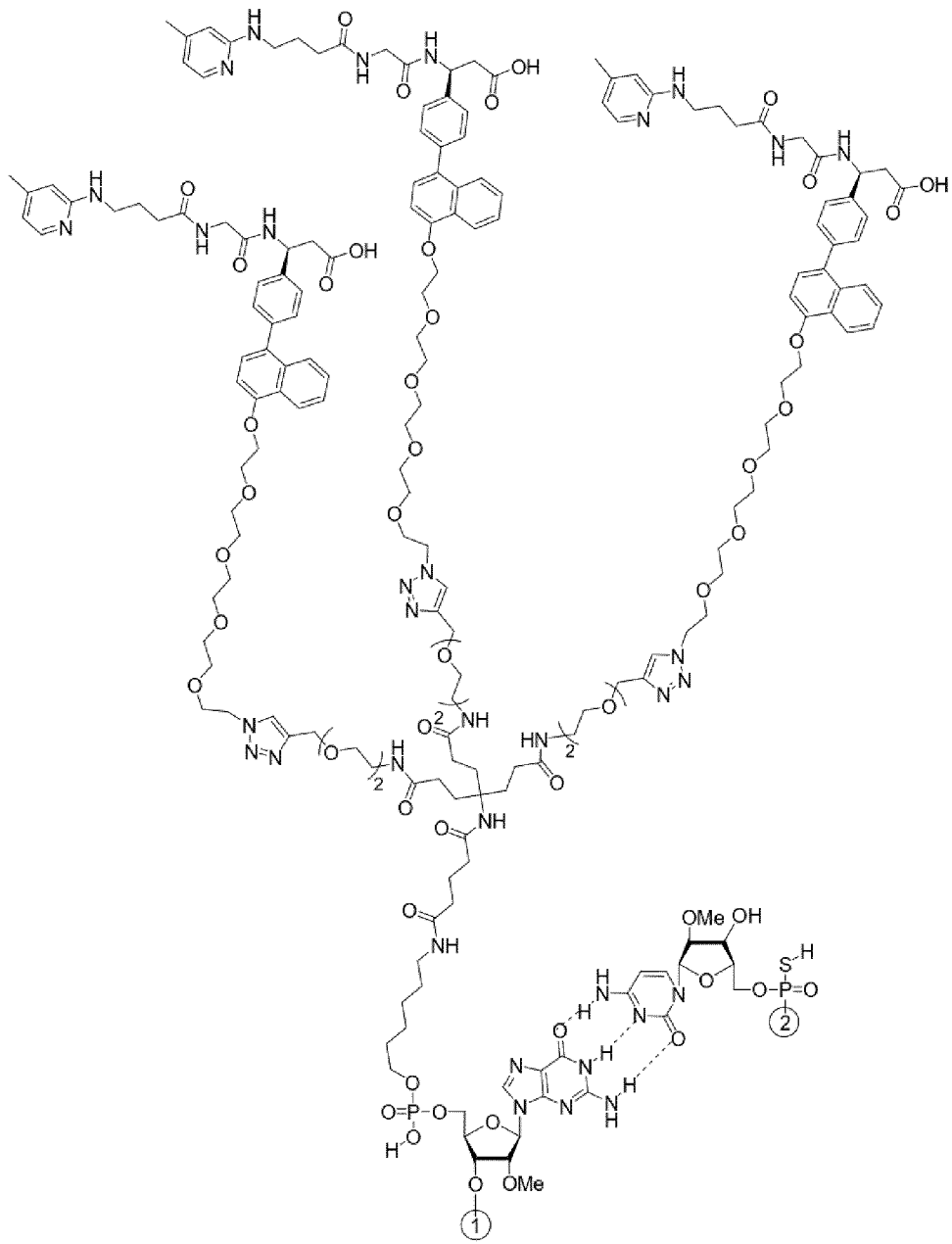
Фиг. 4В



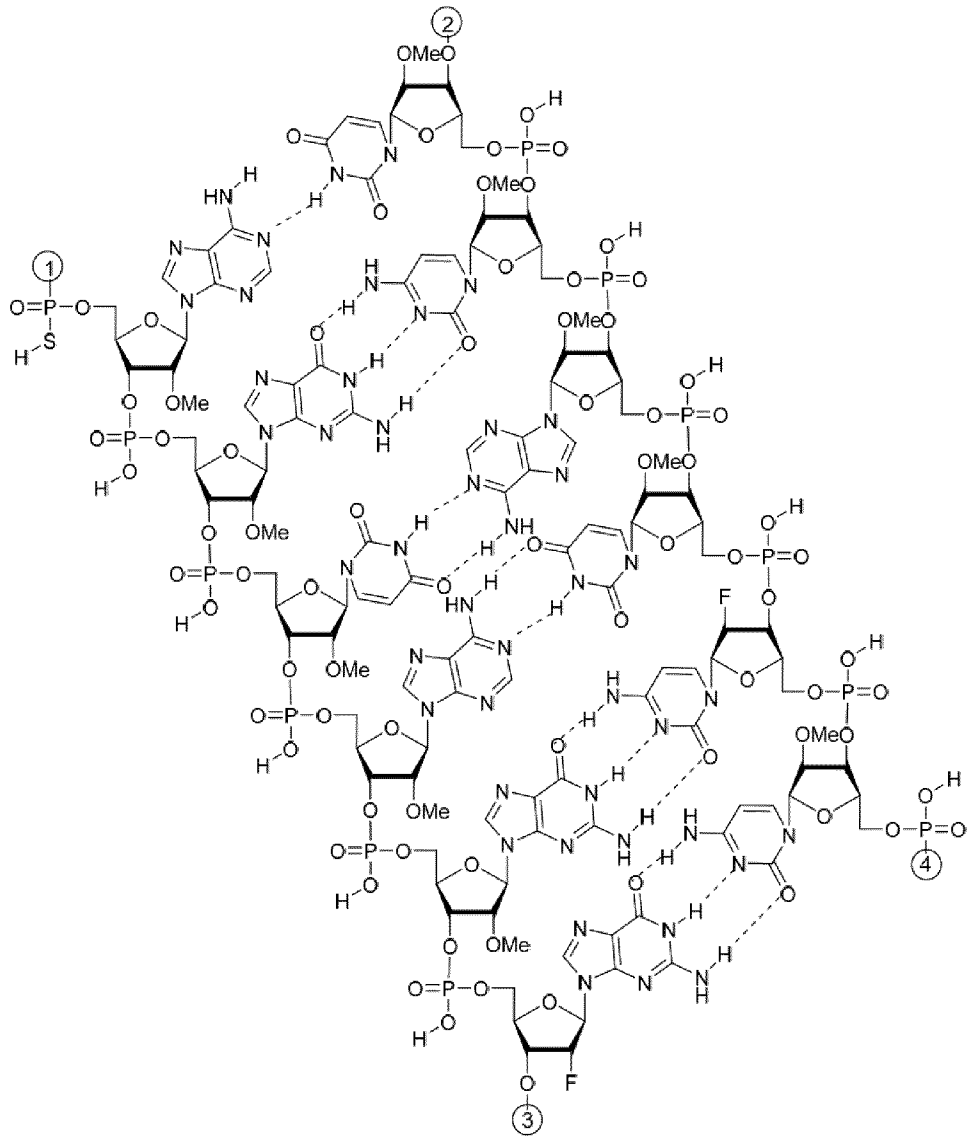
Фиг. 4Г



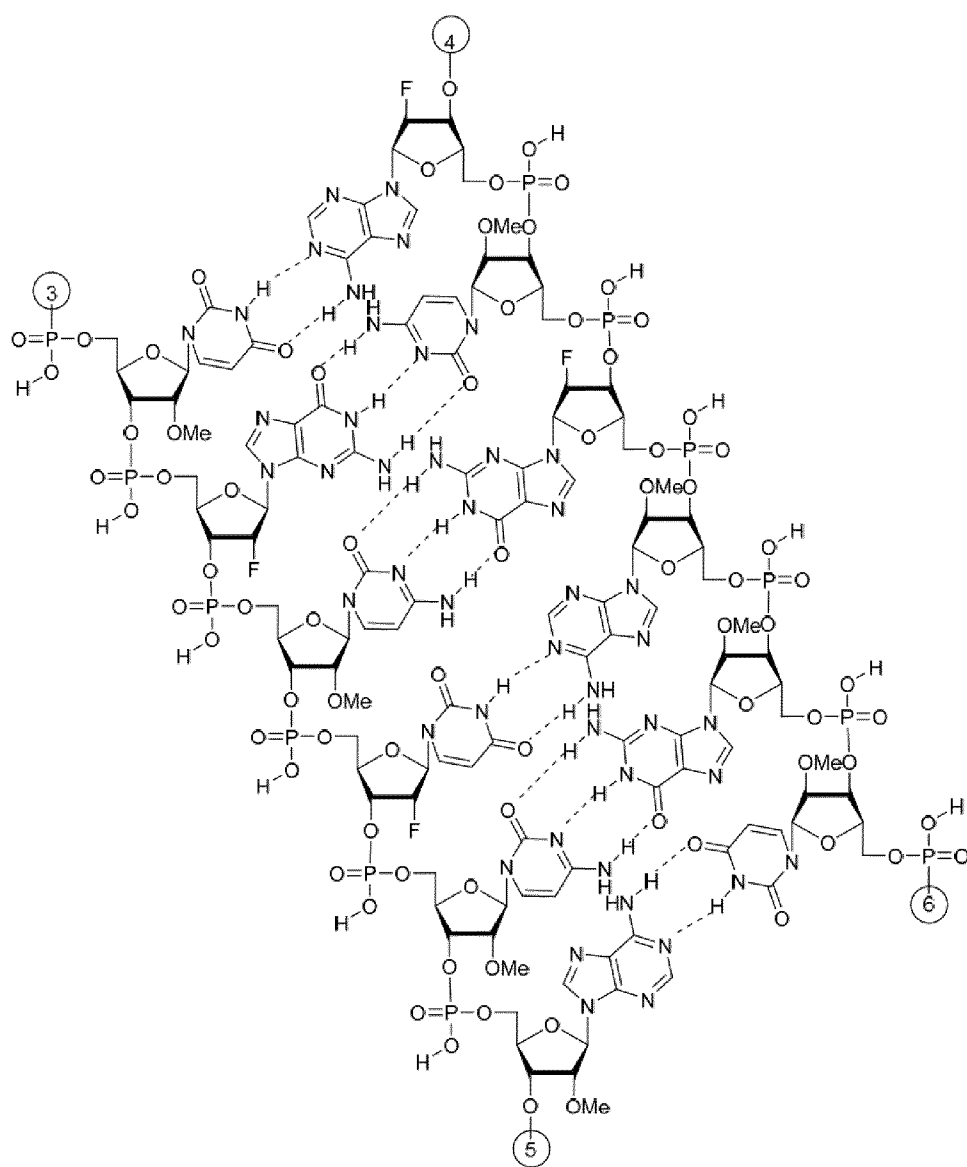
Фиг. 4Д



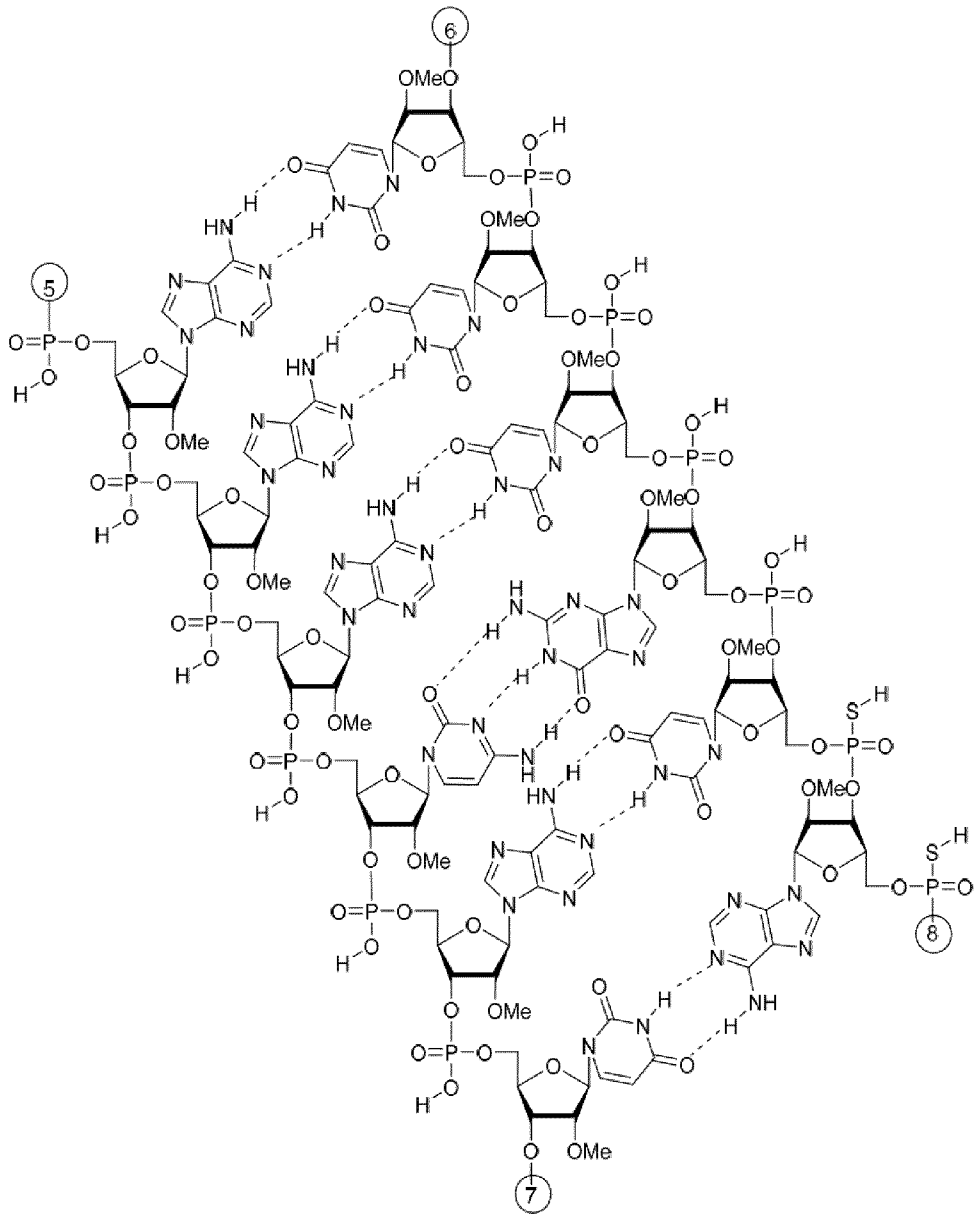
Фиг. 5А



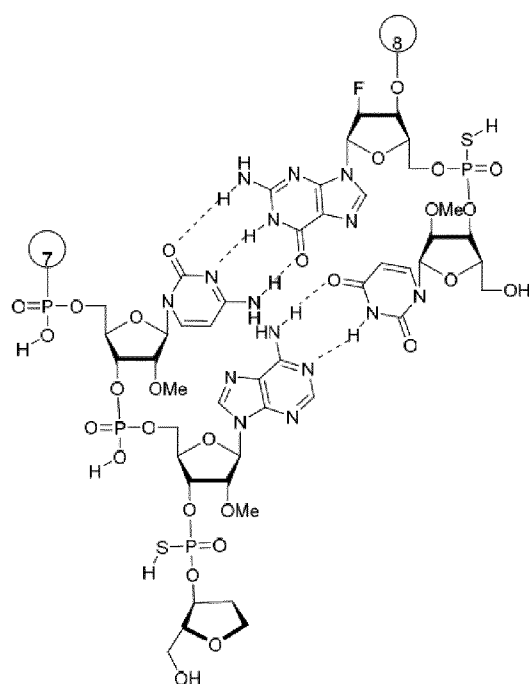
Фиг. 5Б



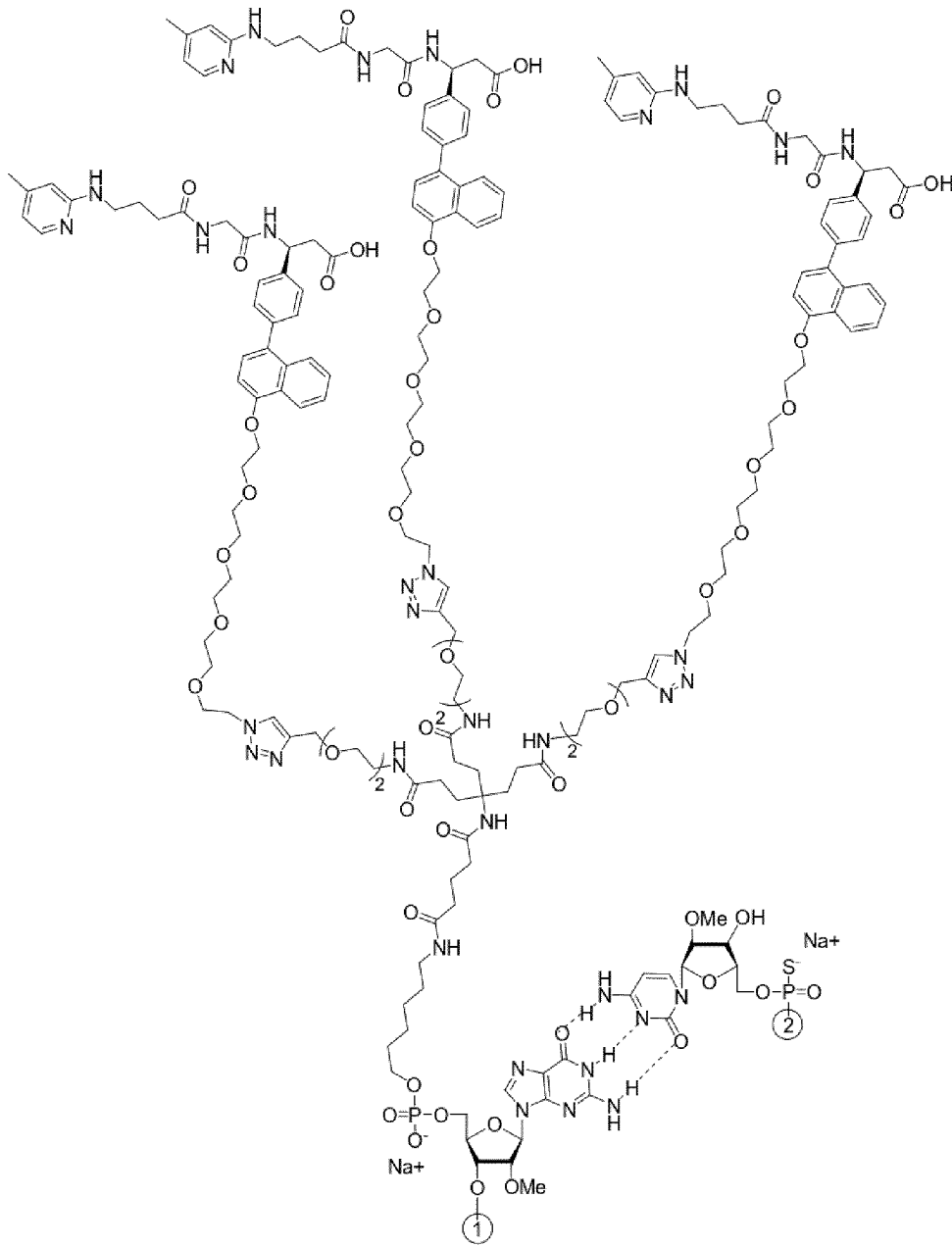
Фиг. 5В



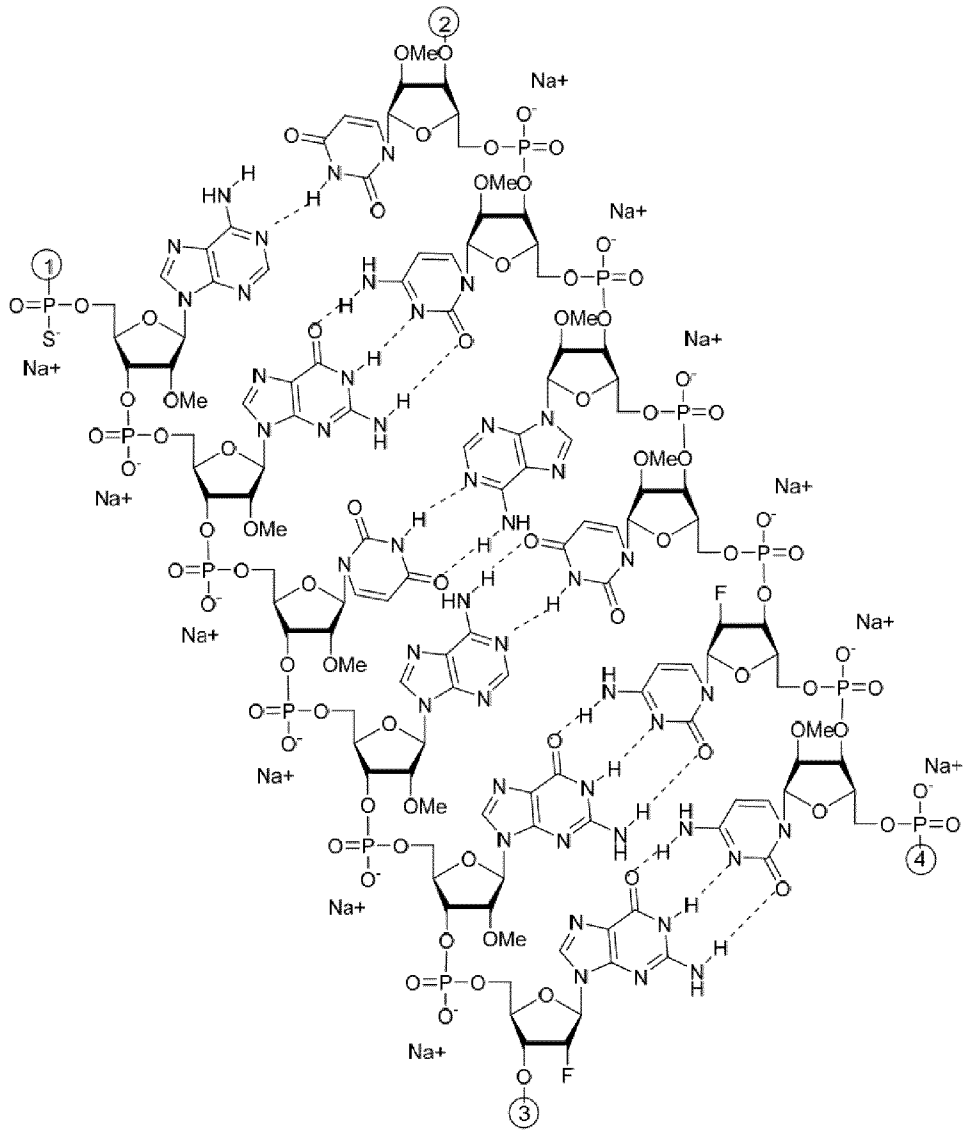
Фиг. 5Г



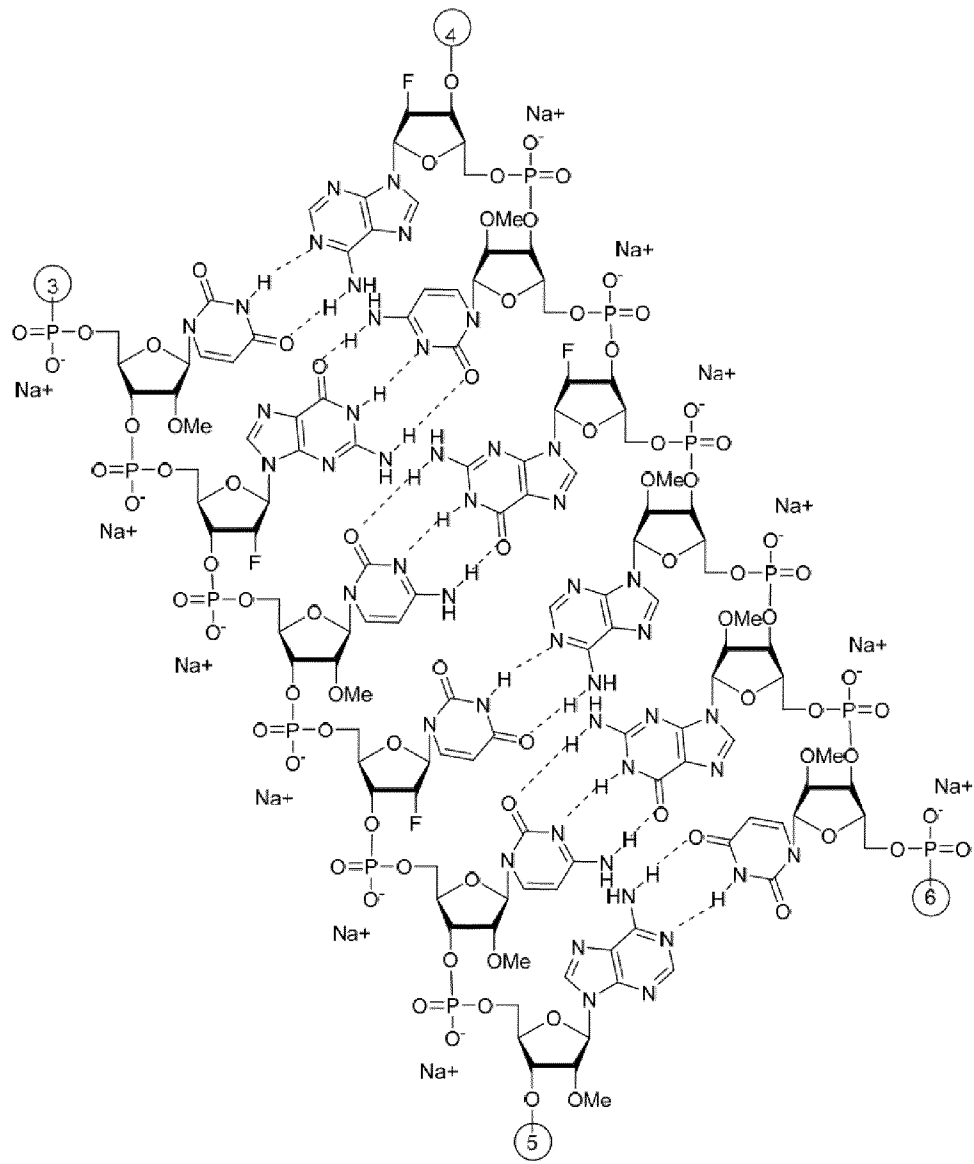
Фиг. 5Д



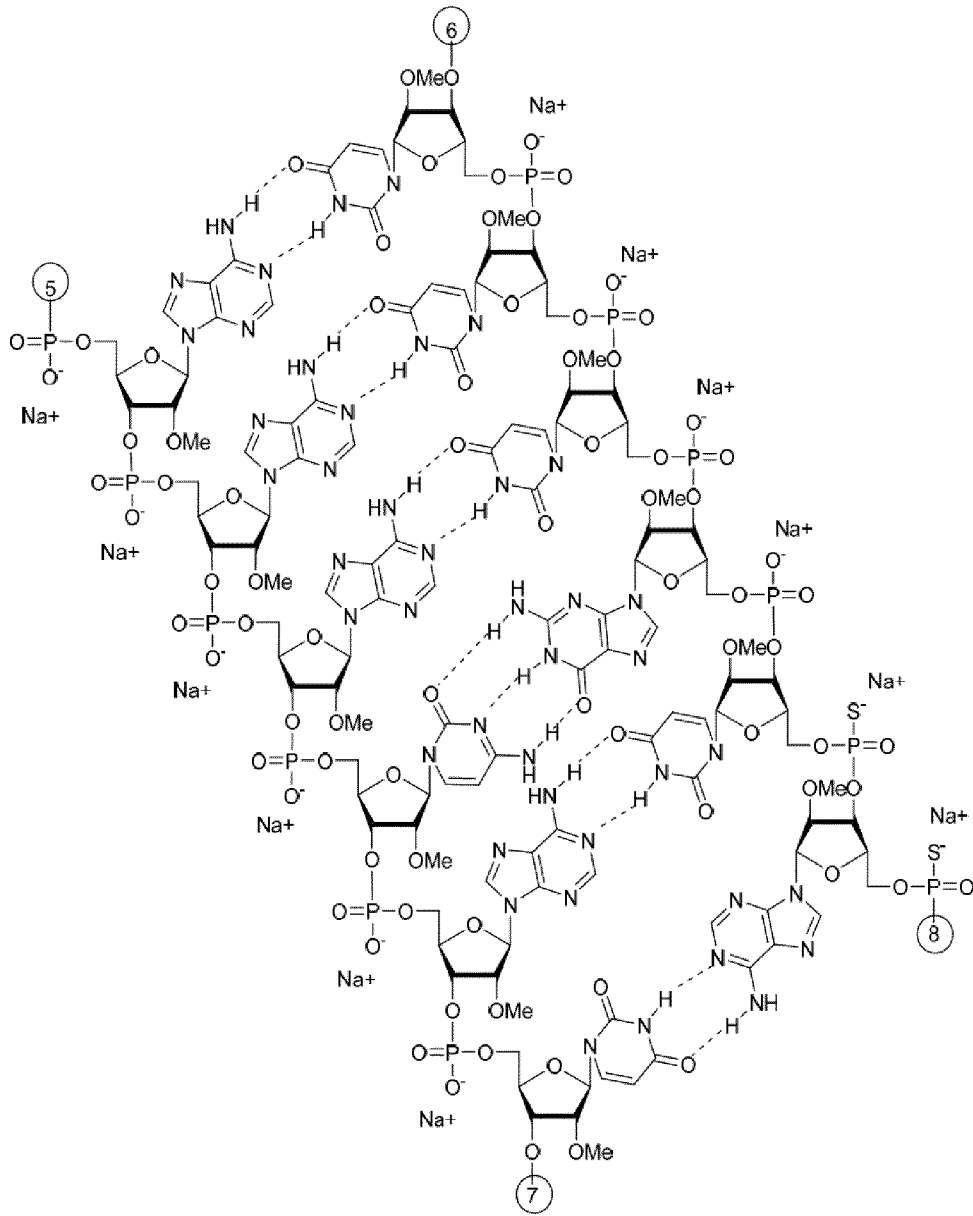
Фиг. 6А



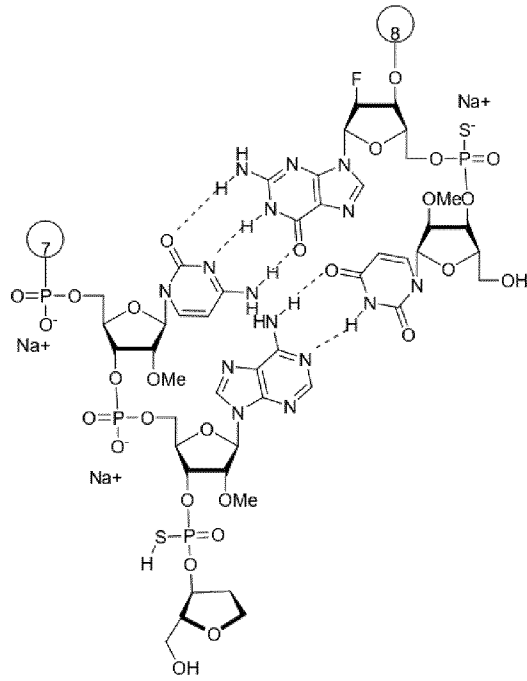
Фиг. 6Б



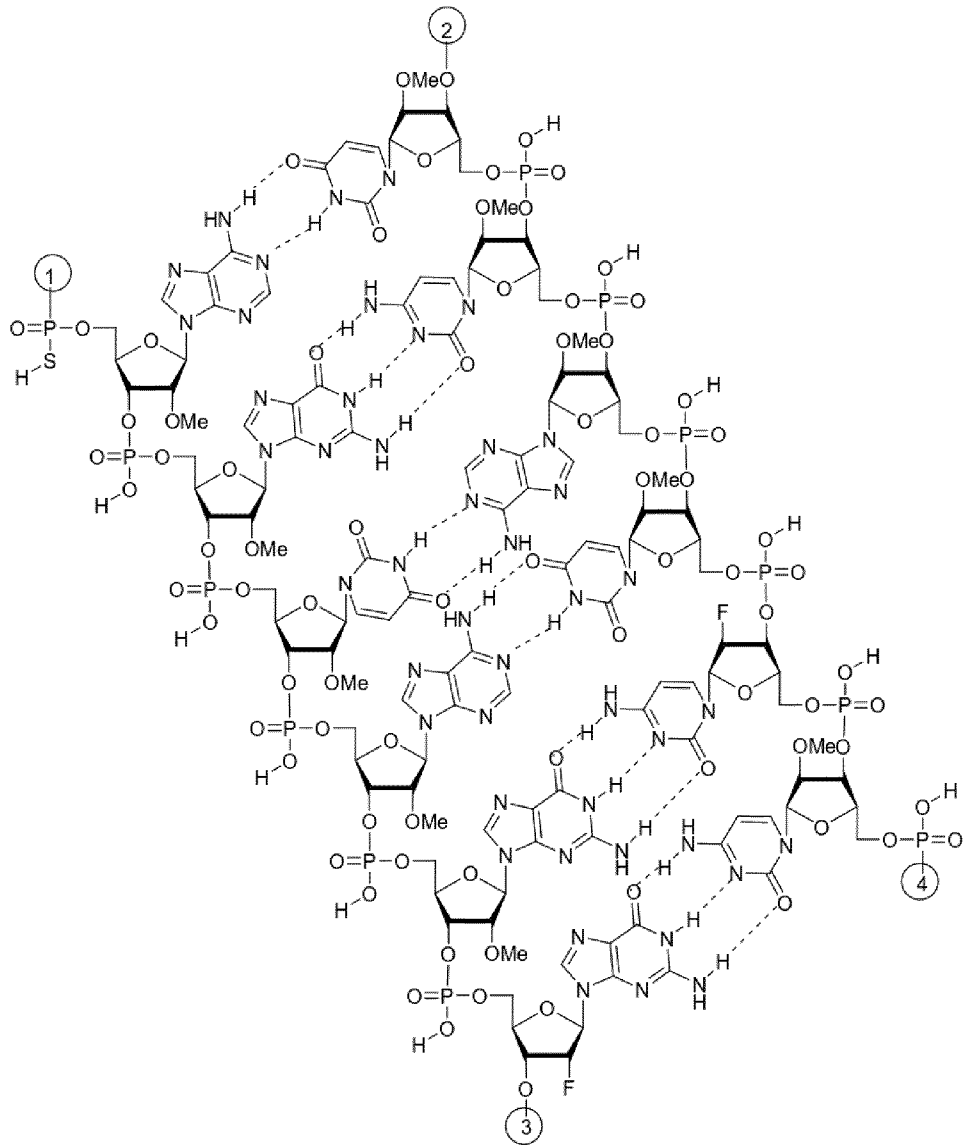
Фиг. 6В



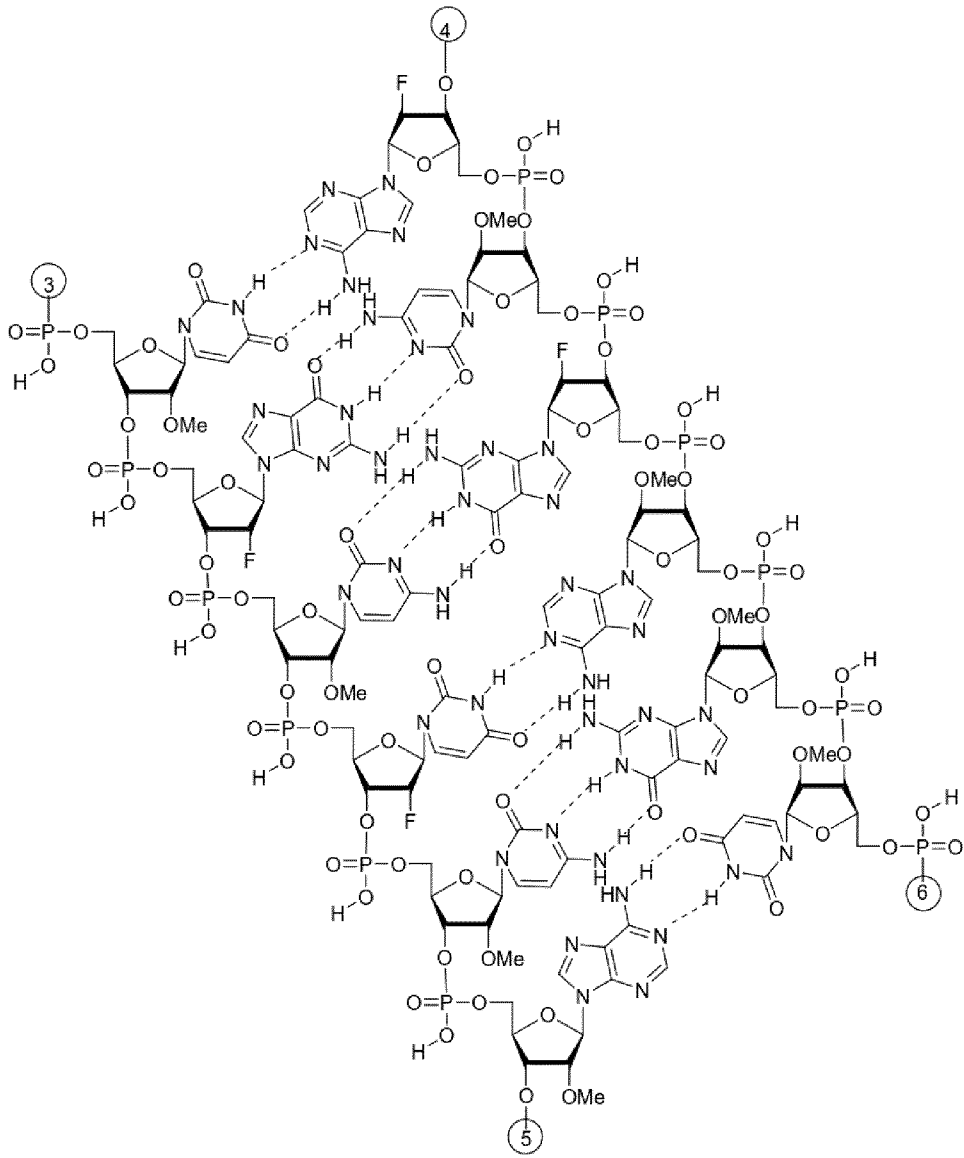
Фиг. 6Г



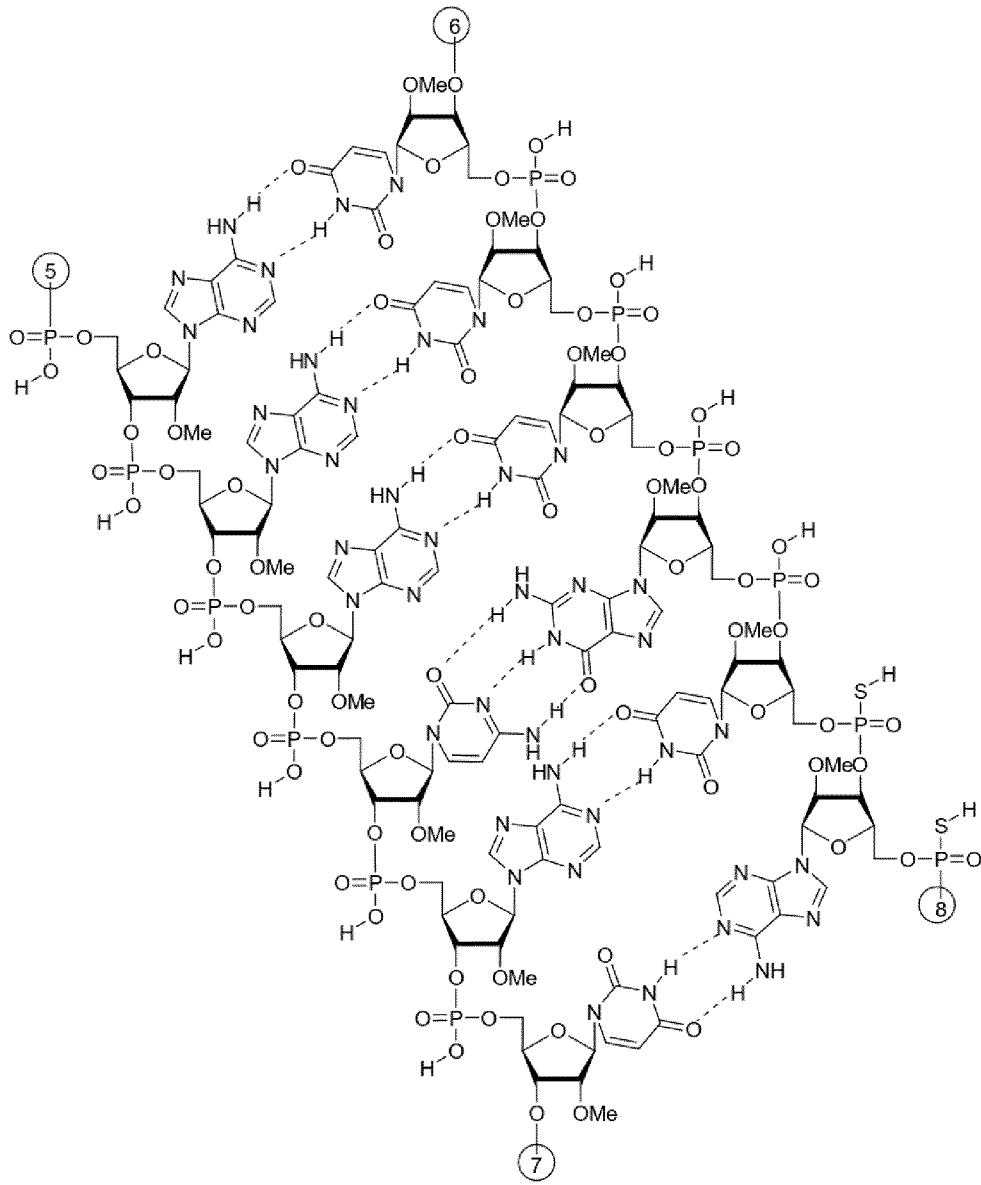
Фиг. 6Д



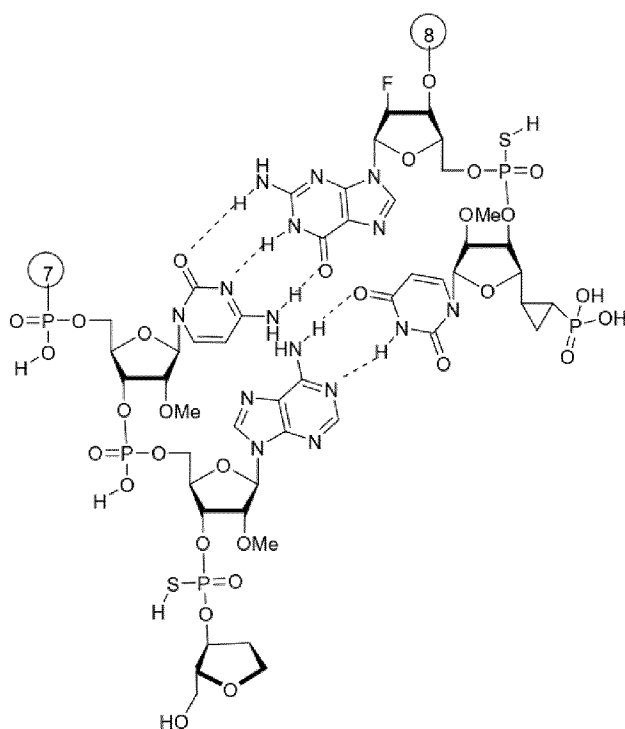
Фиг. 7Б



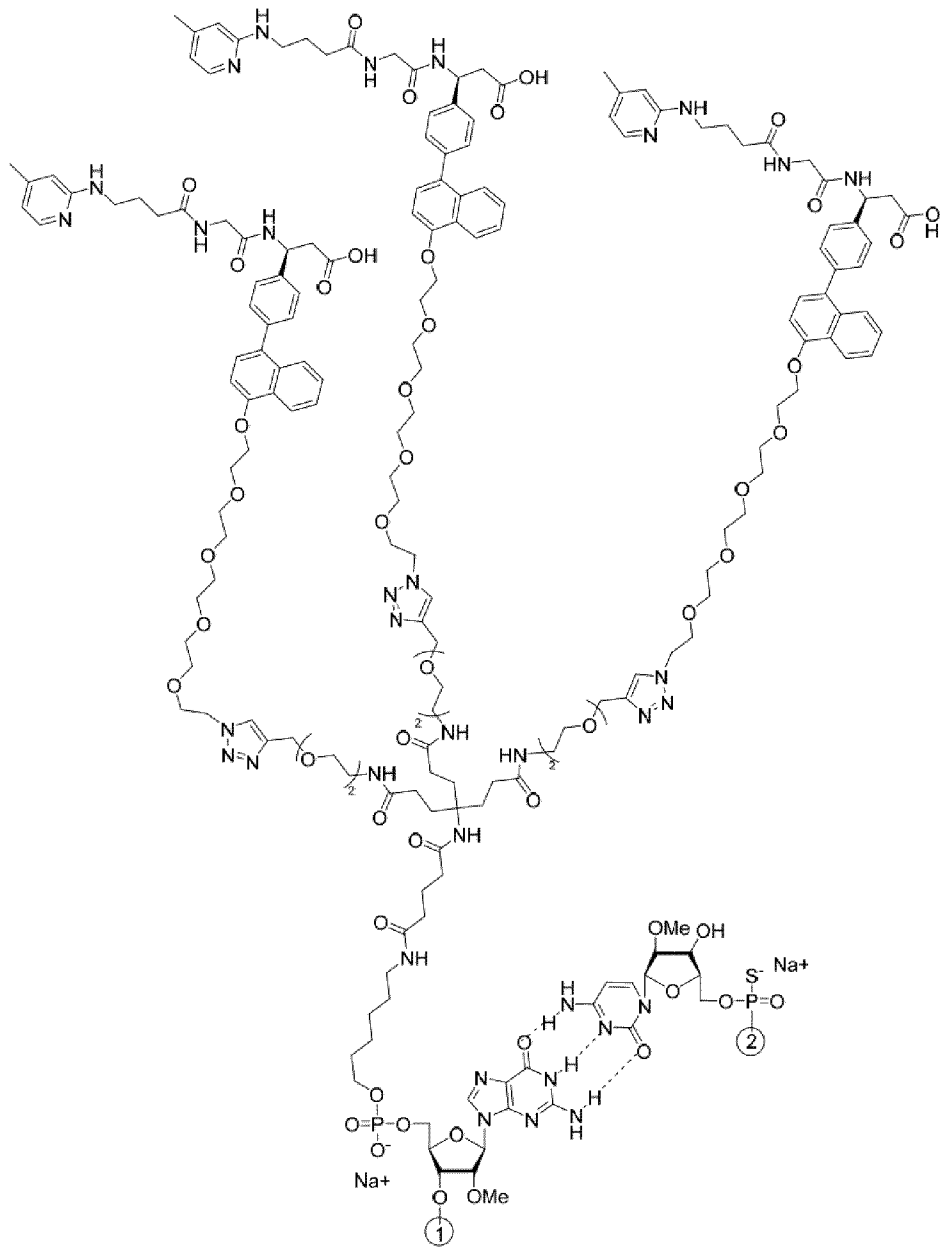
Фиг. 7В



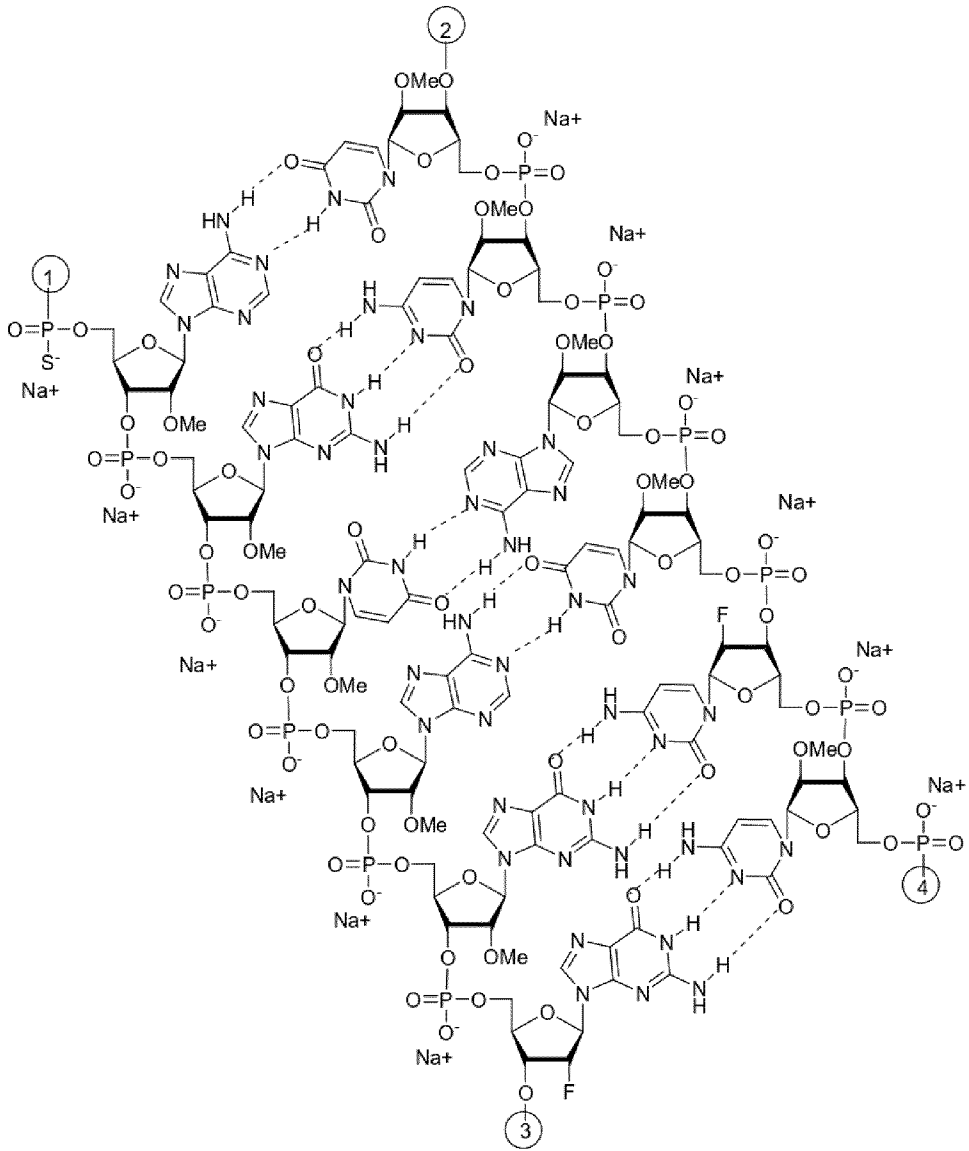
Фиг. 7Г



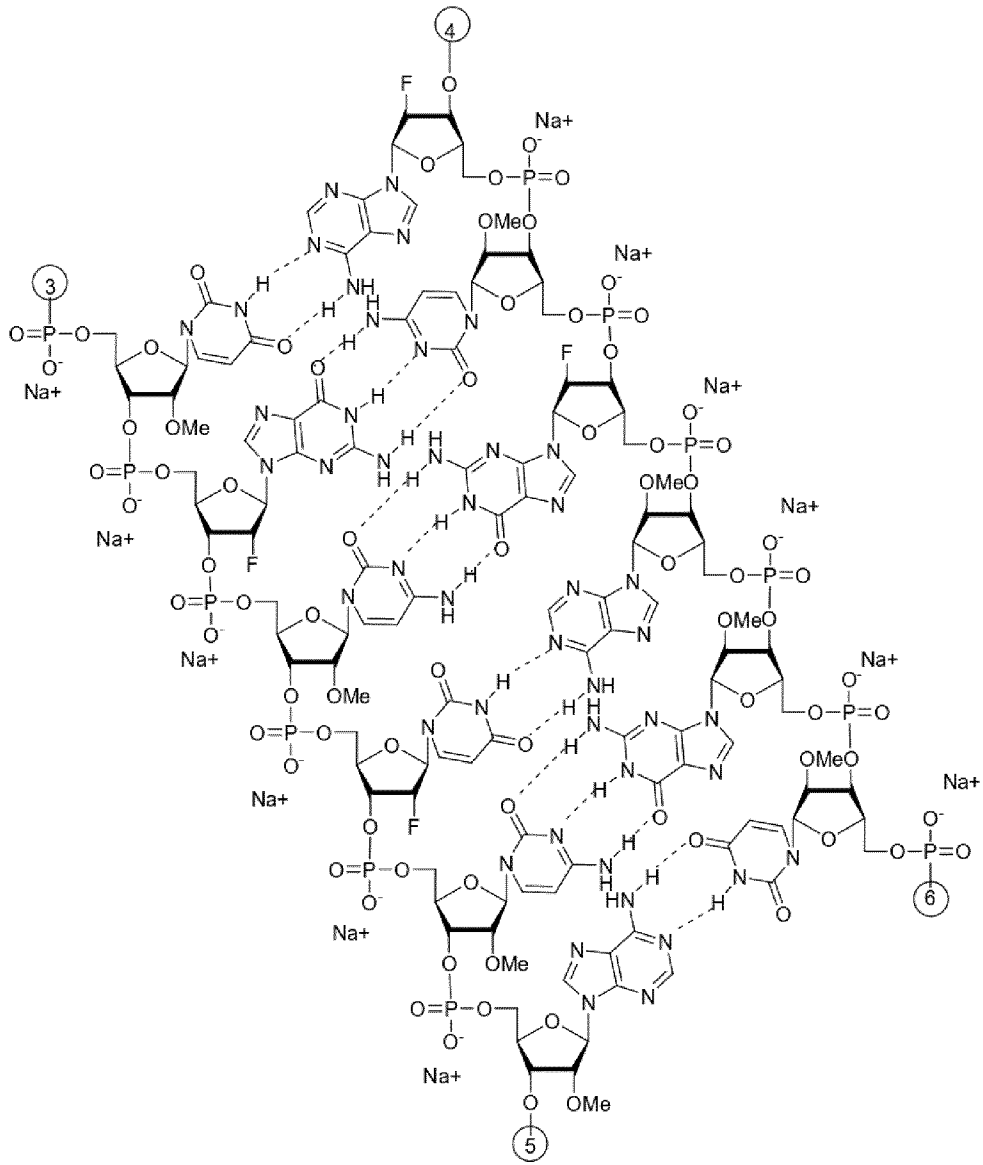
Фиг. 7Д



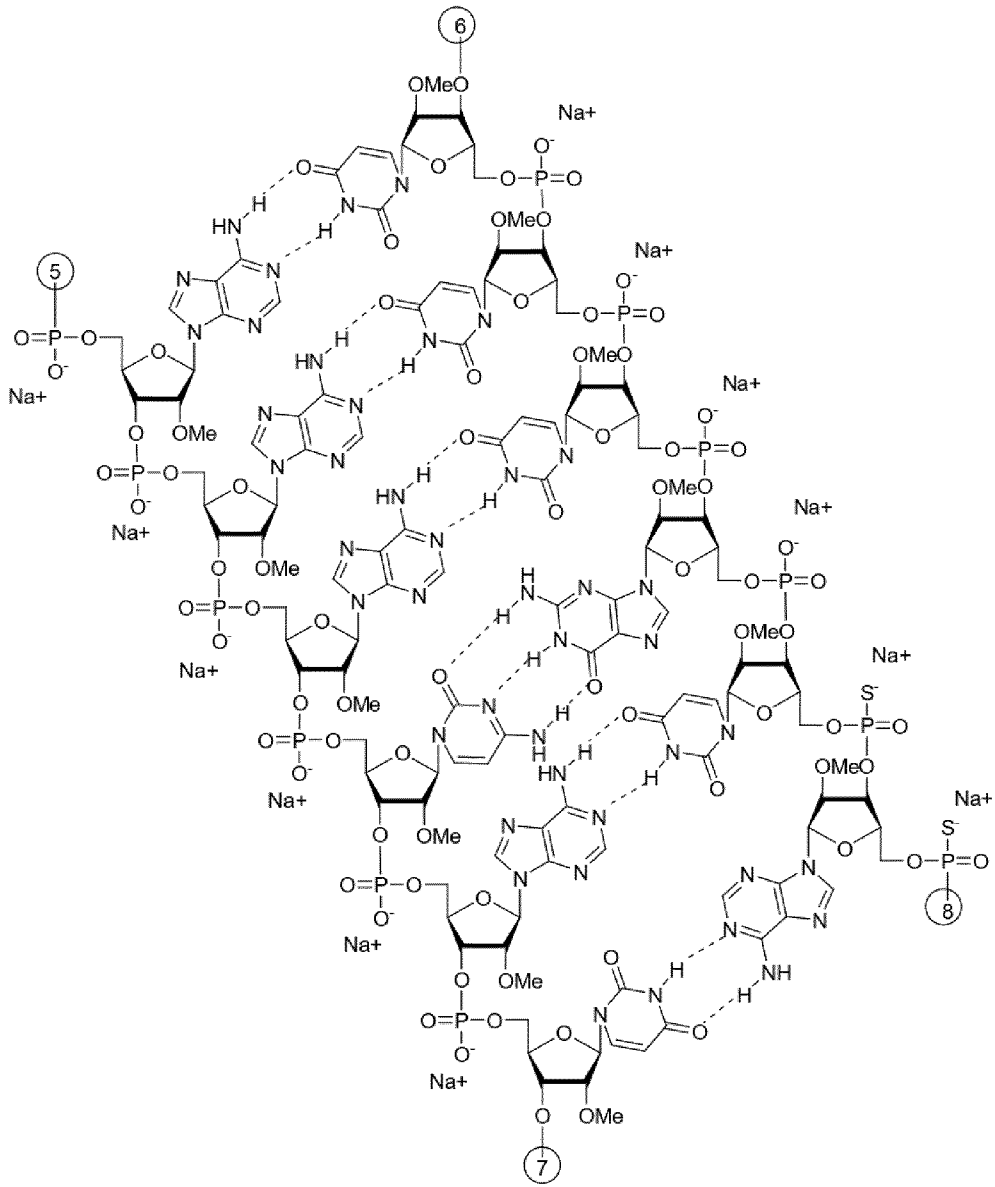
Фиг. 8А



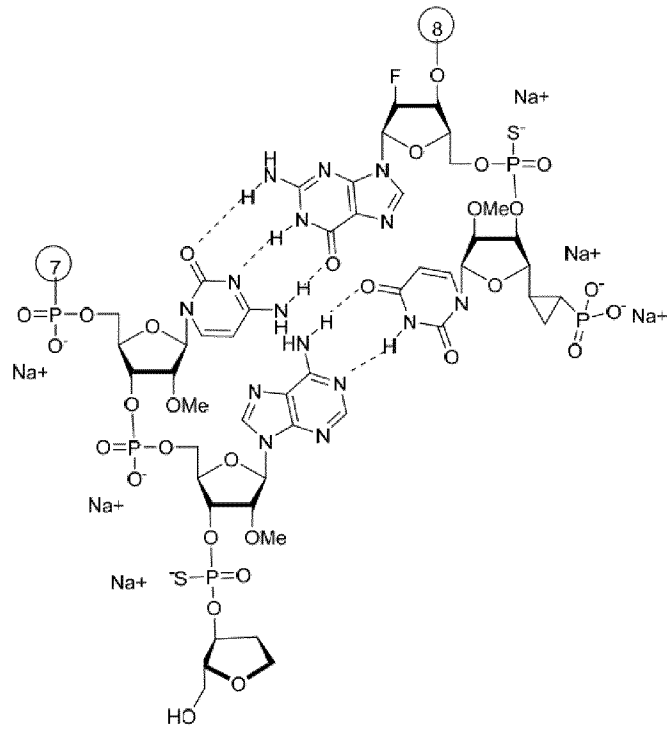
Фиг. 8Б



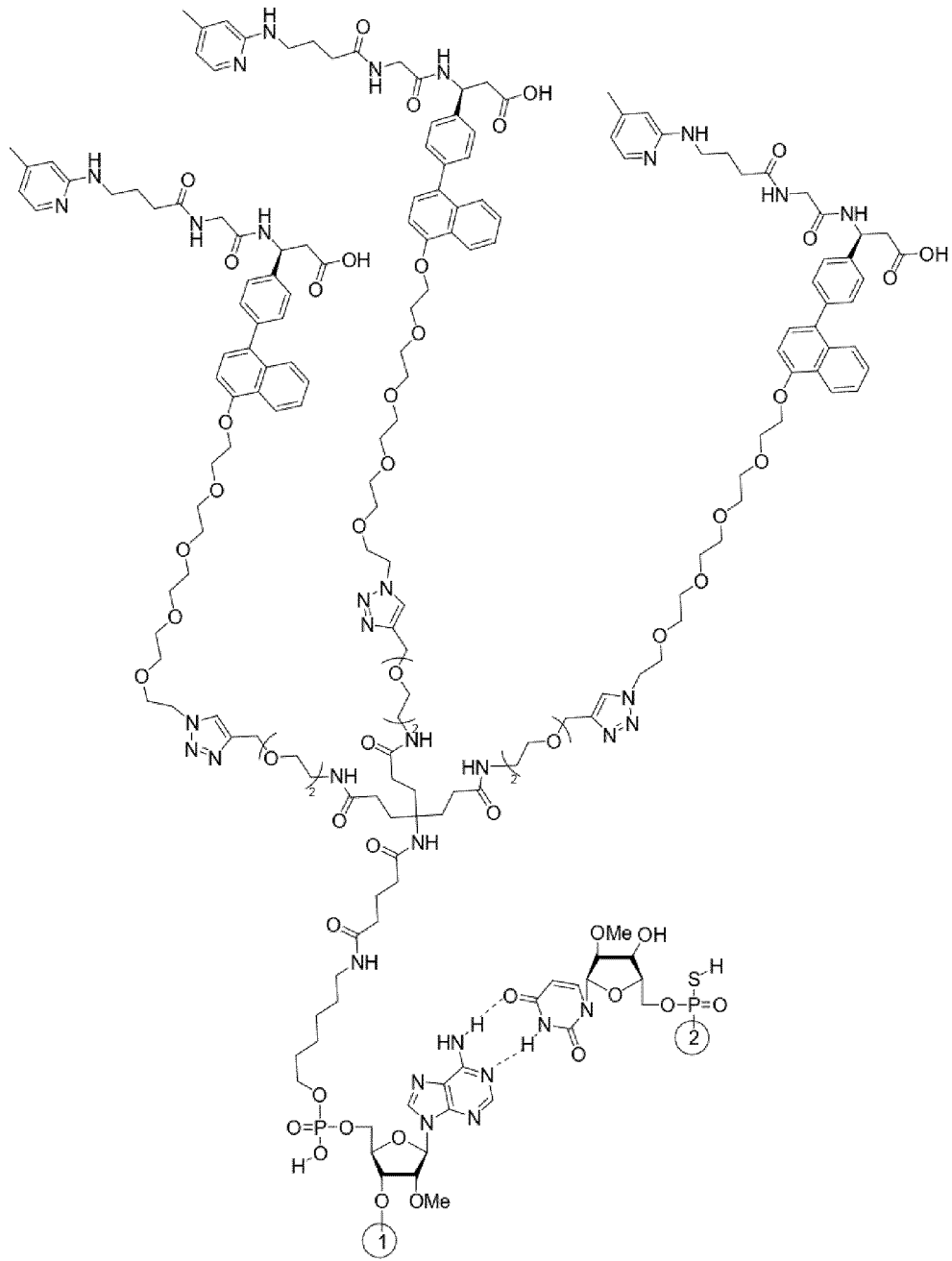
Фиг. 8В



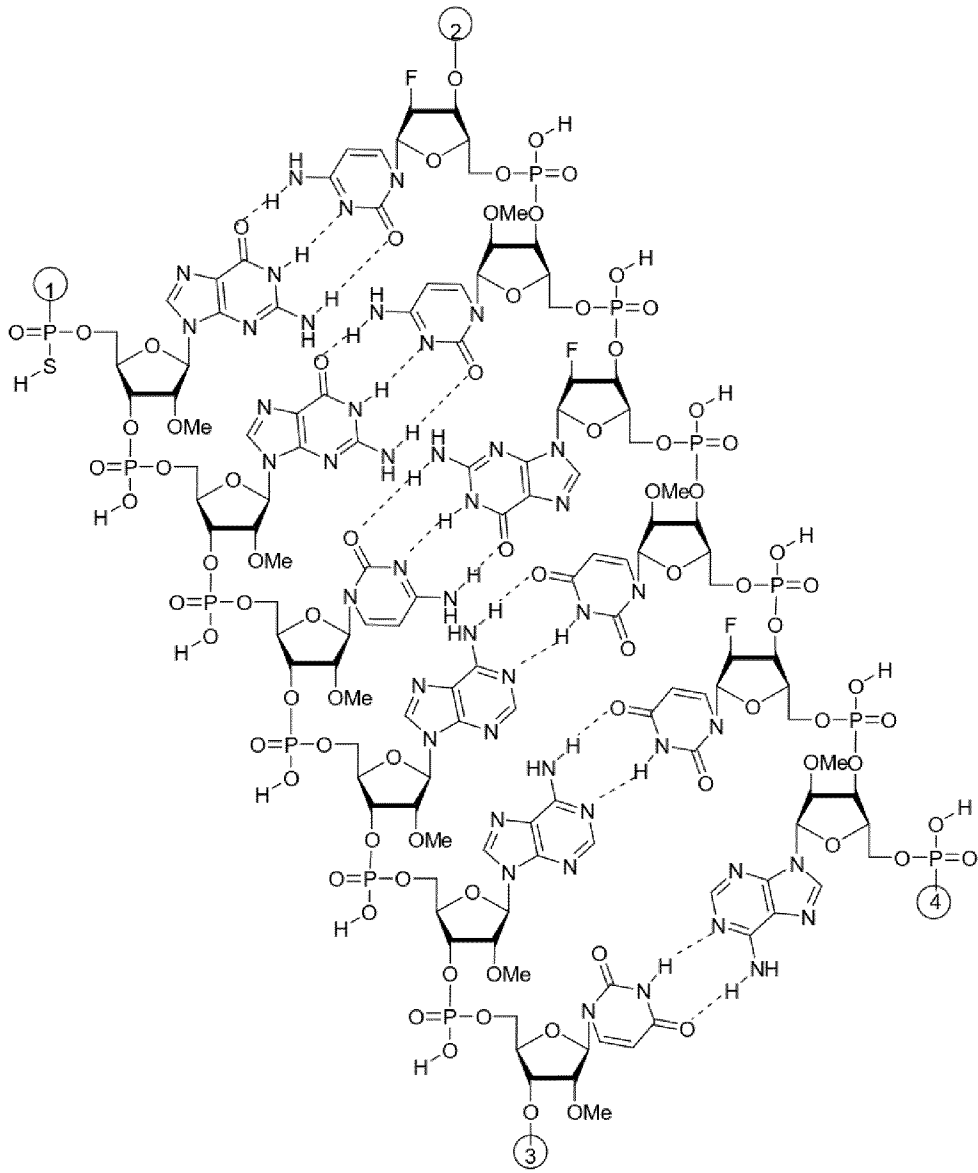
Фиг. 8Г



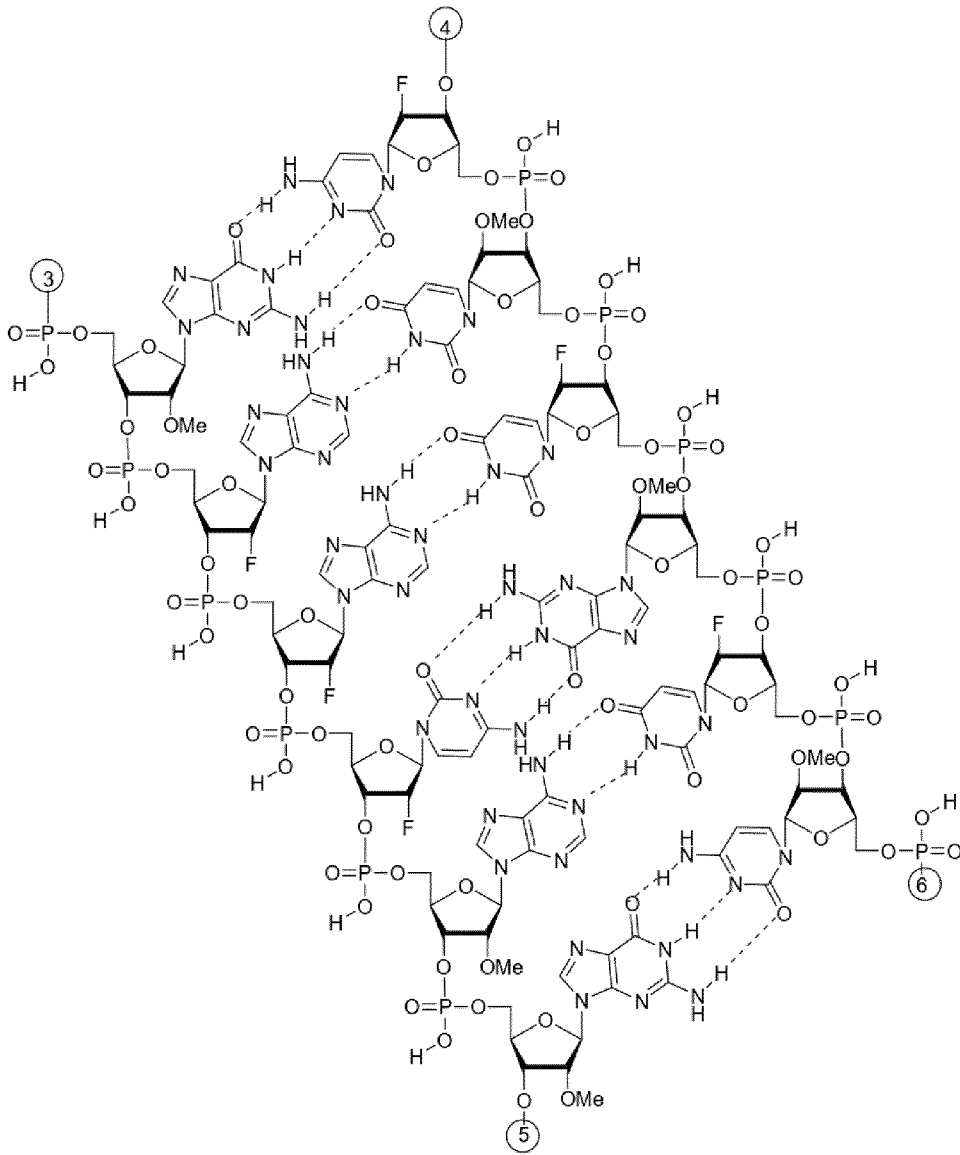
Фиг. 8Д



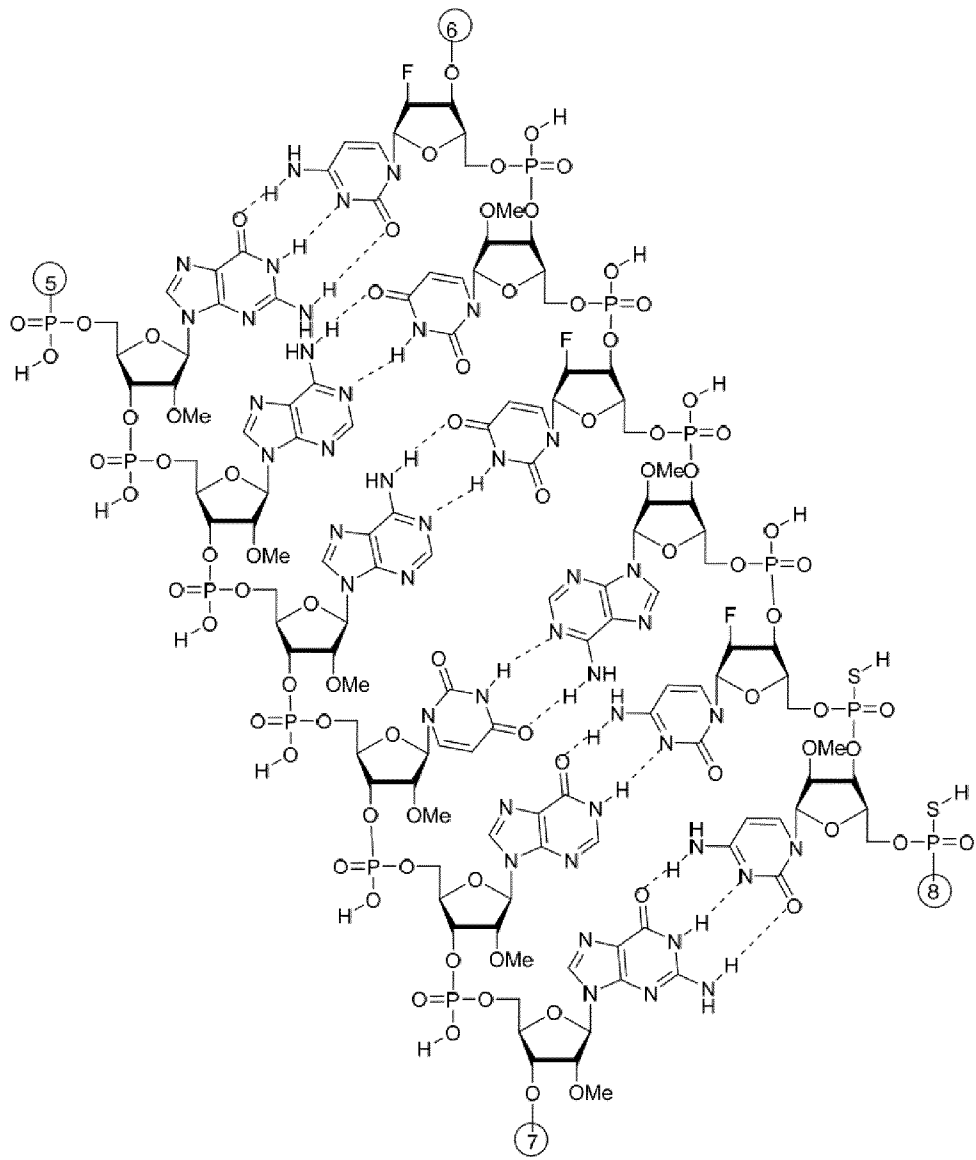
Фиг. 9А



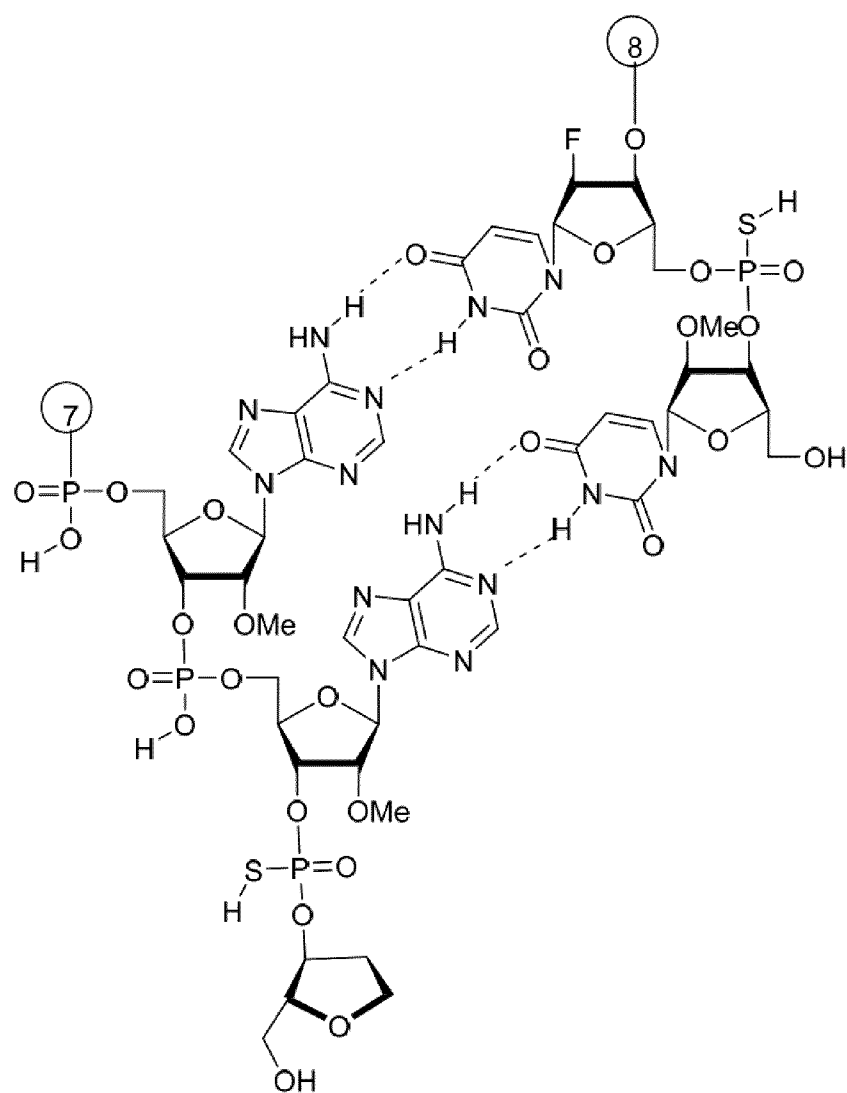
Фиг. 9Б



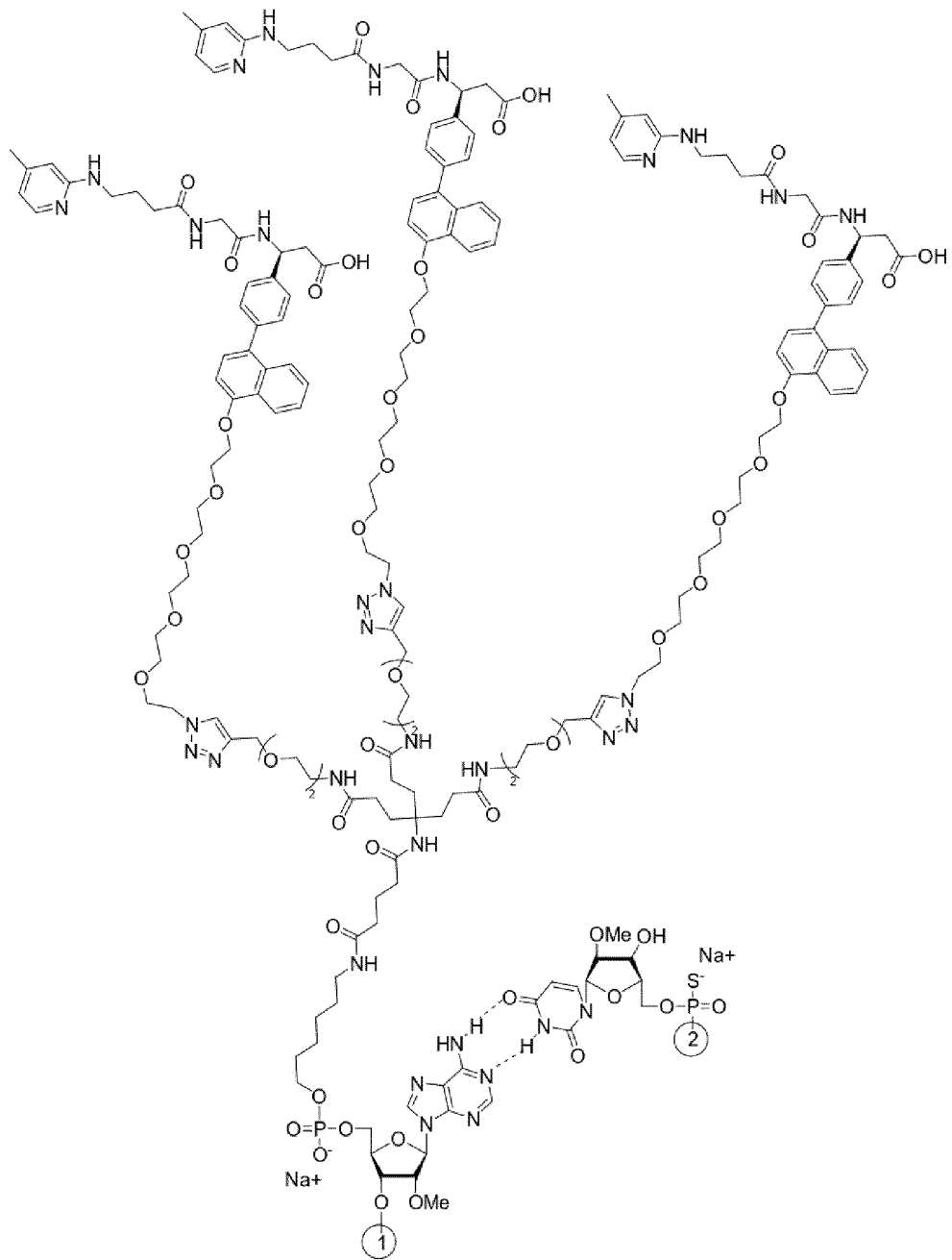
Фиг. 9В



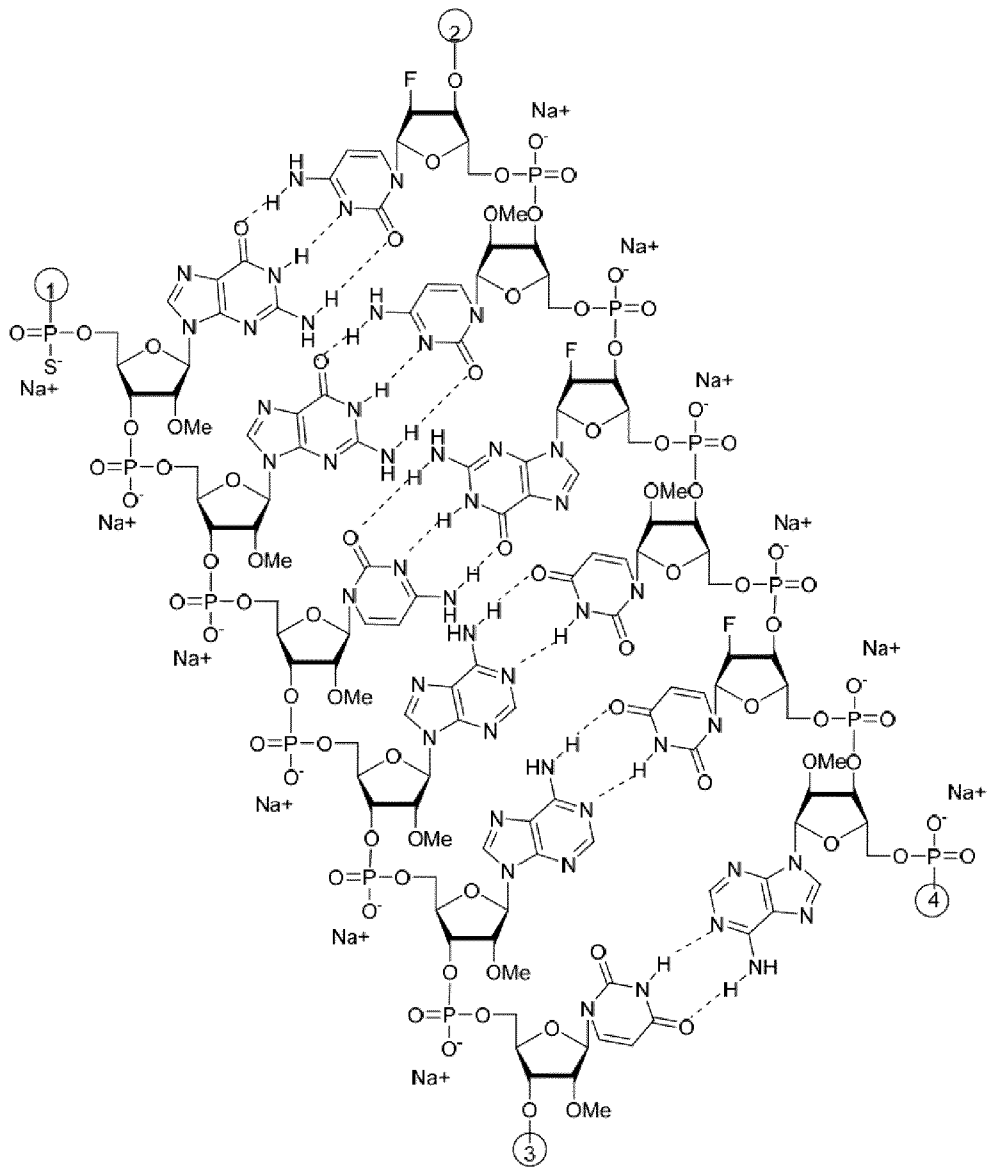
Фиг. 9Г



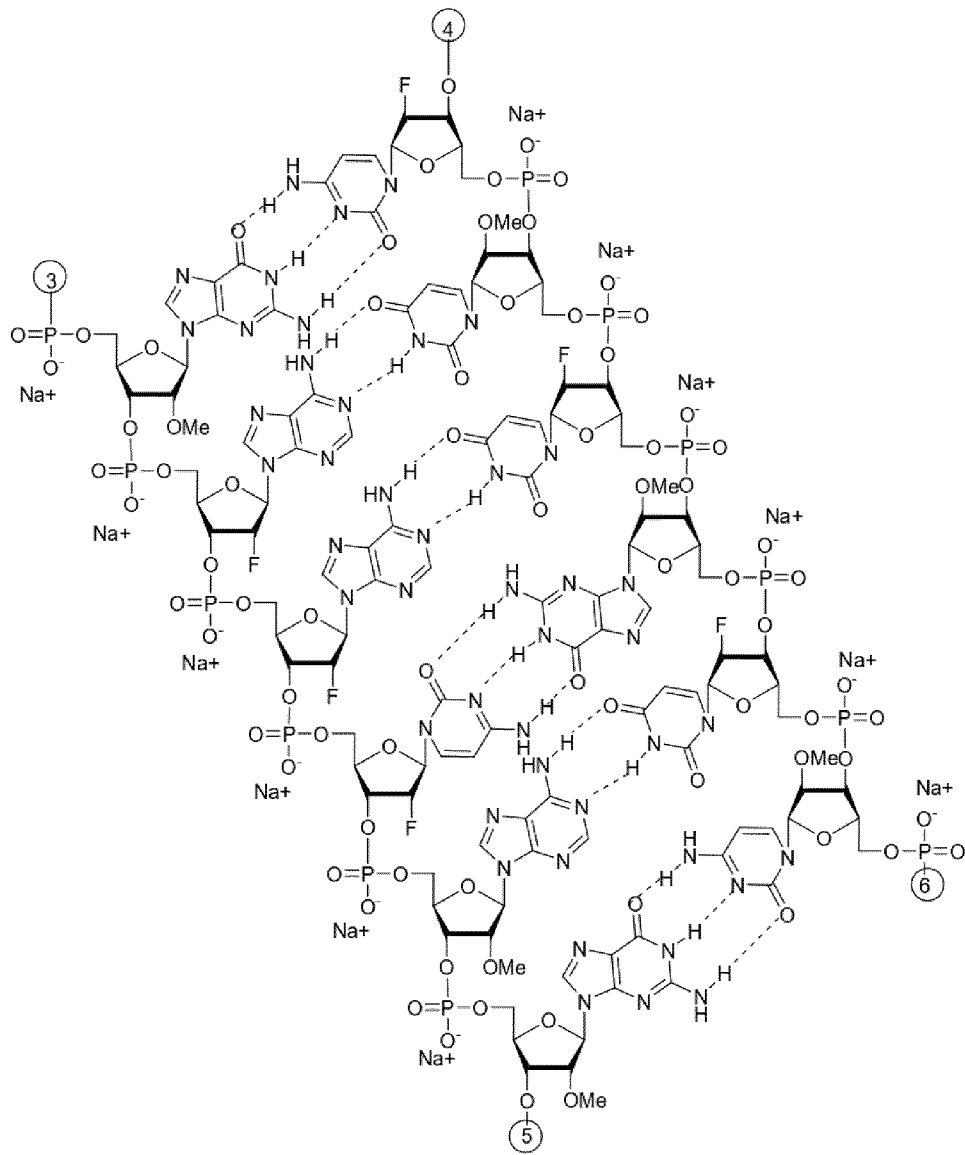
Фиг. 9Д



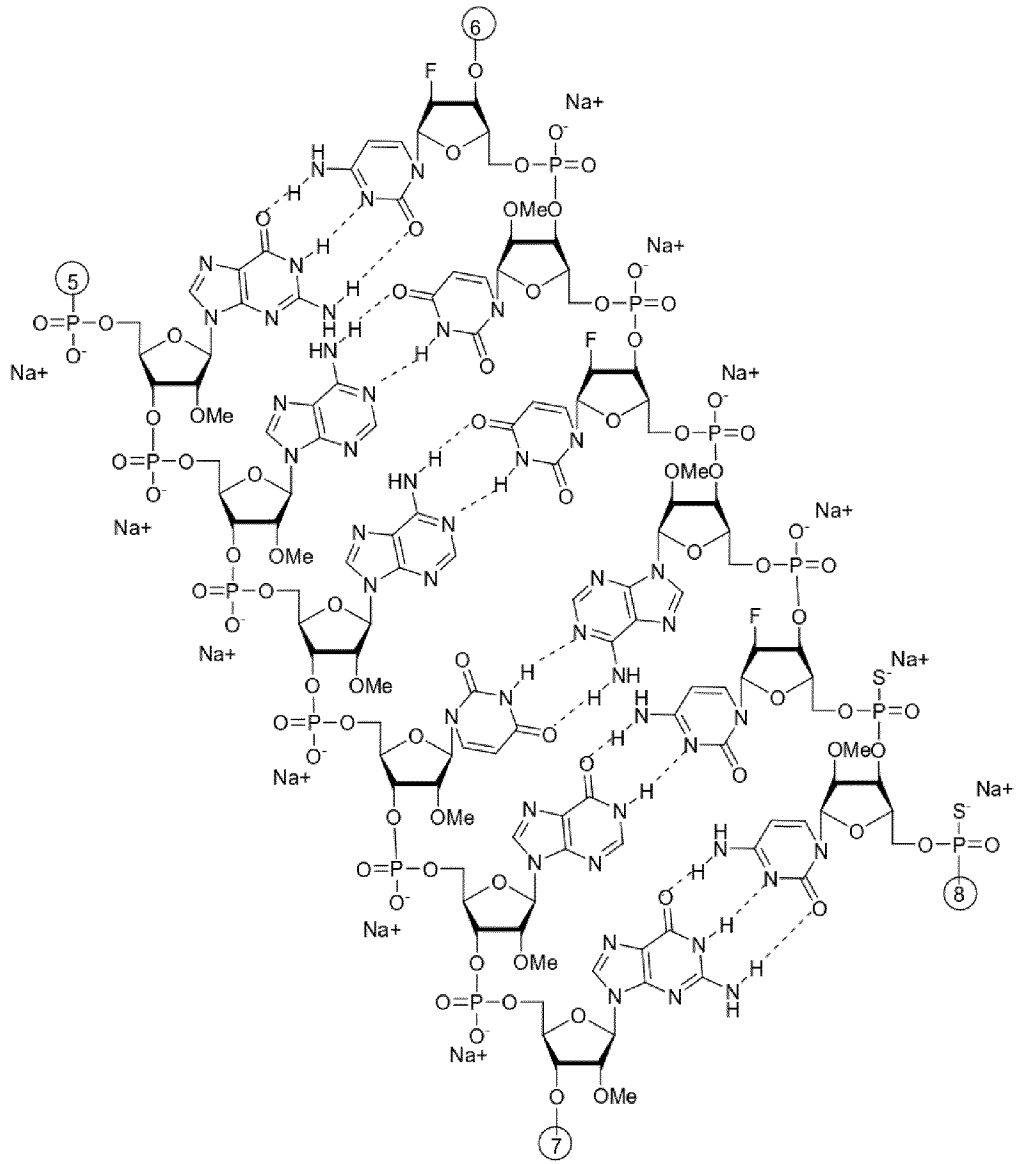
Фиг. 10А



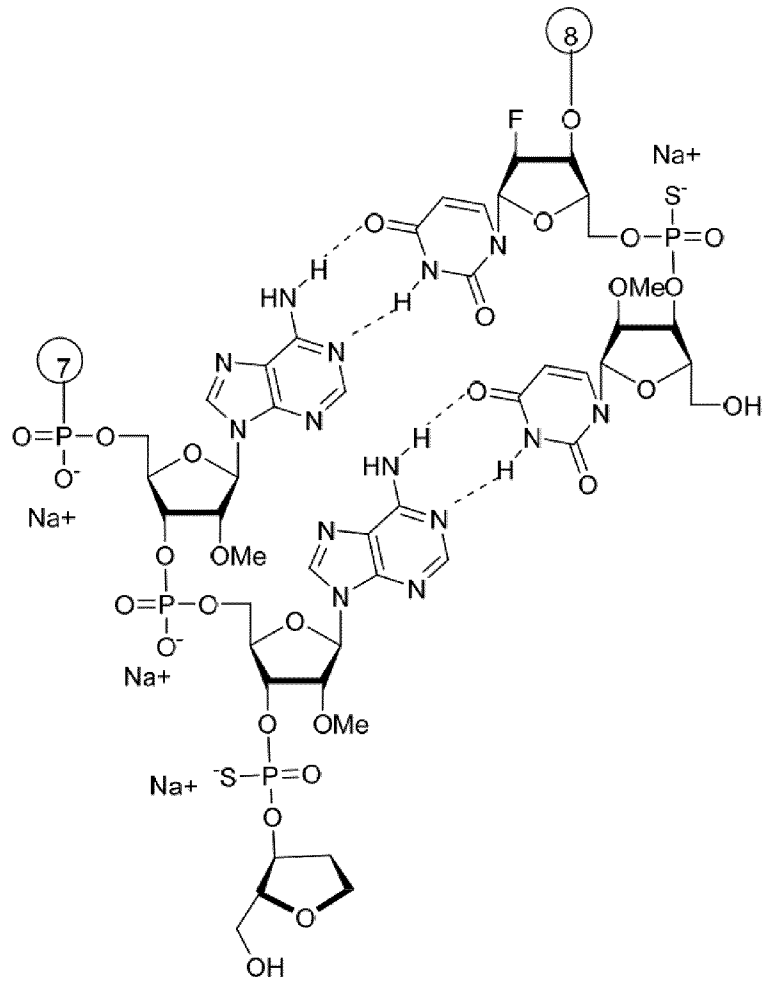
Фиг. 10Б



Фиг. 10В



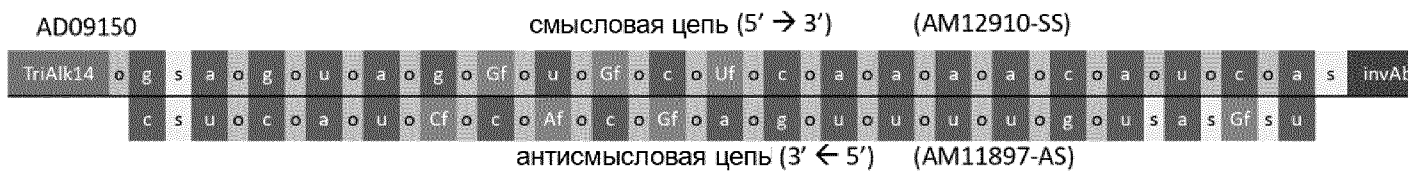
Фиг. 10Г



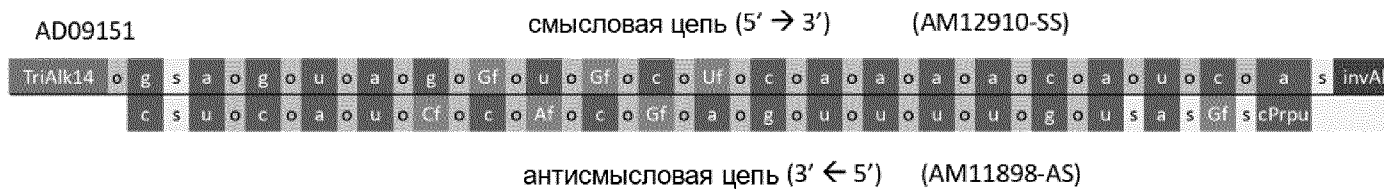
Фиг. 10Д



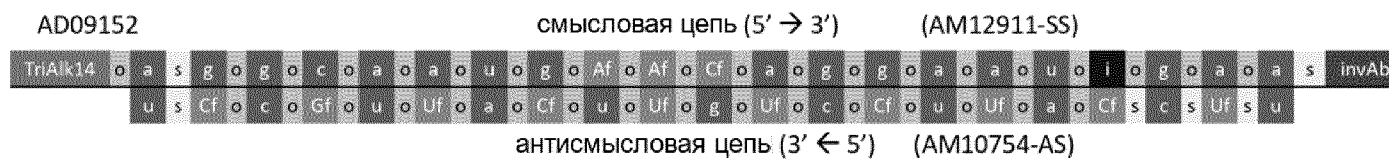
Фиг. 11Ж



Фиг. 11З



Фиг. 11И



Фиг. 11К