



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2016103738, 04.07.2014

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
05.07.2013 KR 10-2013-0079309

(43) Дата публикации заявки: 10.08.2017 Бюл. № 22

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 05.02.2016(86) Заявка РСТ:
KR 2014/006031 (04.07.2014)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2015/002511 (08.01.2015)Адрес для переписки:
109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО
"Союзпатент"

(71) Заявитель(и):

БАЙОНИР КОРПОРЕЙШН (KR)

(72) Автор(ы):

**ПАК Хан О (KR),
ЧХЭ Чейук (KR),
ЮН Пён О (KR),
ХАН Борам (KR),
ЧХВЕ Ки-Ын (KR),
КО Юньхо (KR),
КВОН Тхэу (KR),
ЛИ Чэ Тон (KR),
КИМ Сун Ги (KR)**(54) **УЛУЧШЕННАЯ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНАЯ КОНСТРУКЦИЯ ТИПА НАНОЧАСТИЦЫ,
ОБЛАДАЮЩАЯ ВЫСОКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ, И СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ**

(57) Формула изобретения

1. Олигонуклеотидная конструкция, имеющая структуру, представленную следующей структурной формулой (1) или структурной формулой (2):

Q-(A_m-J)_n-X-R-Y-B Структурная формула (1)**Q-(J-A_m)_n-X-R-Y-B** Структурная формула (2),

в которой А представляет собой мономер гидрофильного материала, В представляет собой гидрофобный материал, J представляет собой линкер для соединения m мономеров гидрофильного материала или линкер для соединения m мономеров гидрофильного материала с олигонуклеотидами, X и Y, каждый, независимо представляют собой простую ковалентную связь или опосредованную линкером ковалентную связь, R представляет собой одноцепочечный или двухцепочечный олигонуклеотид, m представляет собой целое число от 1 до 15, и n представляет собой целое число от 1 до 10,

Q представляет собой (L_i-Z_j) или P-J₁-J₂,

L представляет собой лиганд, специфически связанный с рецептором, который способствует интернализации в клетку-мишень посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза (RME),

Z представляет собой лиганд, который опосредует простую ковалентную связь или

связь между мономером гидрофильного материала в блоке гидрофильного материала и лигандом,

i представляет целое число от 0 до 5, предпочтительно целое число от 0 до 3, и j равно 0 или 1, при условии, что когда i равно 0, j не обязательно равно 0,

R означает аминогруппу или полигистидиновую группу, и

J_1 и J_2 независимо представляют собой линкеры, которые опосредуют простую ковалентную связь, или связь между аминогруппой или полигистидиновой группой и гидрофильным материалом.

2. Олигонуклеотидная конструкция по п. 1, где R представляет собой двухцепочечные олигонуклеотиды, и смысловая цепь или антисмысловая цепь содержит от 19 до 31 нуклеотида.

3. Олигонуклеотидная конструкция по п. 2, где фосфатная группа присоединена к 5'-концу антисмысловой цепи двухцепочечных олигонуклеотидов.

4. Олигонуклеотидная конструкция по п. 3, где к 5'-концу антисмысловой цепи присоединено от одной до трех фосфатных групп.

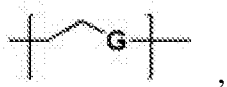
5. Олигонуклеотидная конструкция по п. 1, где гидрофобный материал имеет молекулярную массу от 250 до 1000.

6. Олигонуклеотидная конструкция по п. 5, где гидрофобный материал представляет собой материал, выбранный из группы, состоящей из производного стероида, производного глицерида, эфира глицерина, полипропиленгликоля, ненасыщенного или насыщенного углеводорода от C_{12} до C_{50} , диацилфосфатидилхолина, жирной кислоты, фосфолипида и липополиамина.

7. Олигонуклеотидная конструкция по п. 6, где производное стероида выбрано из группы, состоящей из холестерина, холестанола, холевой кислоты, формиата холестерила, формиата холестанила и амина холестерила.

8. Олигонуклеотидная конструкция по п. 6, где производное глицерида выбрано из группы, состоящей из моно-, ди- и триглицерида.

9. Олигонуклеотидная конструкция по п. 1, где мономер гидрофильного материала имеет структуру, представленную следующим соединением (1);



Соединение (1)

в котором G выбран из группы, состоящей из CH_2 , O, S и NH.

10. Олигонуклеотидная конструкция по п. 1, где линкер (J) выбран из группы, состоящей из PO_3^- , SO_3 и CO_2 .

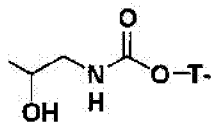
11. Олигонуклеотидная конструкция по п. 1, где X, Y и Z представляют собой нерасщепляемую связь или расщепляемую связь, соответственно.

12. Олигонуклеотидная конструкция по п. 11, где нерасщепляемая связь представляет собой амидную связь или фосфатную связь.

13. Олигонуклеотидная конструкция по п. 11, где расщепляемая связь представляет собой дисульфидную связь, расщепляемую кислотой связь, сложноэфирную связь, ангидридную связь, биорасщепляемую связь или расщепляемую ферментами связь.

14. Олигонуклеотидная конструкция по п. 1, где Q представляет собой (L_i-Z_j) , Z представляет собой линкер, который опосредует связь между мономером гидрофильного материала в блоке гидрофильного материала и лигандом, и линкер Z содержит гексаэтиленгликоль.

15. Олигонуклеотидная конструкция по п. 14, где линкер Z представляет собой соединение (4):



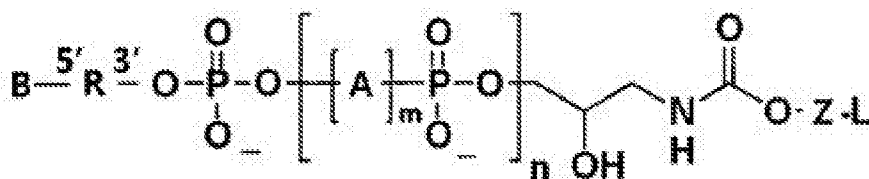
Соединение (4),

в котором T относится к 1-15 повторам соединения (1), представленного ниже, и G выбран из группы, состоящей из CH₂, O, S и NH.



Соединение (1)

16. Олигонуклеотидная конструкция по п. 1, где Q представляет собой (L_i-Z_j) и имеет структуру, представленную ниже структурной формулой (19):



Структурная формула (19),

в которой A, B, R, m, n, Z и L являются такими же, как определено в структурной формуле (2) пункта 1.

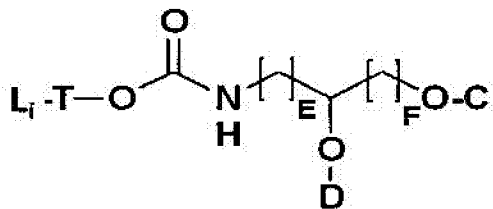
17. Олигонуклеотидная конструкция по п. 1, где Q представляет собой (L_i-Z_j), и лиганд (L) выбран из группы, состоящей из углевода, пептида и антитела.

18. Олигонуклеотидная конструкция по п. 17, где углевод выбран из группы, состоящей из гексоамина, моносахарида, дисахарида и полисахарида.

19. Олигонуклеотидная конструкция по п. 1, где Q представляет собой P-J₁-J₂, и P выбран из группы, состоящей из первичной аминогруппы, вторичной аминогруппы и третичной аминогруппы или полигистидиновой группы, содержащей от 5 до 8 гистидинов.

20. Олигонуклеотидная конструкция по п. 19, где J₁ и J₂ независимо выбраны из группы, состоящей из простой ковалентной связи, C₂₋₁₂-алкила, алкенила, алкинила, PO₃⁻, SO₃ и CO₂.

21. Твердая подложка, представленная ниже структурной формулой (20):



Структурная формула (2),

в которой L представляет собой лиганд, специфически связанный с рецептором, который способствует интернализации в клетку-мишень посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза (RME), T представляет собой соединение, в котором соединение (1) повторяется от 1 до 15 раз (G выбран из группы, состоящей из CH₂, O, S и NH в соединении (1)),



Соединение (1)

один из С и D относится к твердой подложке, другой из С и D относится к диметокситритилу, i представляет собой целое число от 0 до 3, E и F независимо равны от 1 до 10.

22. Способ получения одноцепочечной или двухцепочечной олигонуклеотидной конструкции по п. 1 с использованием твердой подложки по п. 21.

23. Способ по п. 22, включающий:

(1) ковалентное присоединение блока гидрофильного материала к твердой подложке, представленной структурной формулой (20), с повторами n раз;

(2) синтез одноцепочечного олигонуклеотида на твердой подложке, к которой присоединен блок гидрофильного материала;

(3) ковалентное присоединение гидрофобного материала к 5'-концу олигонуклеотида, к которому присоединен блок гидрофильного материала; и

(4) отделение олигонуклеотидной конструкции от твердой подложки.

24. Способ по п. 22, включающий:

(1) ковалентное присоединение блока гидрофильного материала к твердой подложке, представленной структурной формулой (20), с повторами n раз;

(2) синтез одноцепочечной РНК на твердой подложке, к которой присоединен блок гидрофильного материала;

(3) ковалентное присоединение гидрофобного материала к 5'-концу РНК, к которой присоединен блок гидрофильного материала; и

(4) отделение конструкции РНК-полимер и одноцепочечной РНК, имеющей комплементарную ей последовательность, от твердой подложки; и

(5) формирование двухцепочечного олигонуклеотида путем гибридизации конструкции РНК-полимер и одноцепочечной РНК, имеющей комплементарную ей последовательность.

25. Способ по п. 23, отличающийся тем, что одноцепочечный олигонуклеотид, комплементарный одноцепочечному олигонуклеотиду, полученному на стадии (2), содержит фосфатную группу, присоединенную к 5'-концу одноцепочечного олигонуклеотида.

26. Наночастица(ы), содержащая олигонуклеотидную конструкцию по любому из пп. 1 - 20.

27. Наночастица(ы) по п. 26, отличающаяся тем, что наночастица(ы) является лиофилизированной.

28. Фармацевтическая композиция, содержащая олигонуклеотидную конструкцию по любому из пп. 1 - 20.

29. Фармацевтическая композиция, содержащая наночастицу(ы) по п. 26 или 27.

30. Способ контроля экспрессии гена *in vitro* или *in vivo* путем использования олигонуклеотидной конструкции по любому из пп. 1 - 20.

31. Способ контроля экспрессии гена *in vitro* или *in vivo* путем использования наночастицы (наночастиц) по п. 26 или 27.

RU 2016103738 A

RU 2016103738 A