

**"ELECCIÓN DE MICROARN COMO DIANA PARA TRASTORNOS
METABÓLICOS"**

LISTA DE SECUENCIAS

Esta solicitud se está presentando por vía electrónica
5 mediante EFS-Web e incluye una lista de secuencias presentada
por vía electrónica en un formato .txt. El archivo .txt
contiene una lista de secuencias que lleva por nombre "2015-
08-05_01138-0019-00PCT_SeqListing.txt" creada el 5 de agosto
de 2015 y con un tamaño de 4597 bytes. La lista de secuencias
10 contenida en este archivo .txt es parte de la memoria
descriptiva y se incorpora por la presente por referencia al
presente documento en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

En la presente se proporcionan métodos y composiciones
15 para el tratamiento de los trastornos metabólicos.

DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA RELACIONADA

Los microARN (miARN), también conocidos como "miARN
maduro" son moléculas de ARNm pequeñas (longitud de
aproximadamente 18-24 nucleótidos) no codificantes
20 codificadas en los genomas de plantas y animales. En ciertos
casos, miARN sumamente conservados y expresados de manera
endógena regulan la expresión de los genes uniéndose a las
regiones 3' no traducidas (3'-UTR) de ARNm específicos. Se
han identificado más de 1000 miARN diferentes en plantas y
25 animales. Ciertos miARN maduros parece que se originan a
partir de transcritos de miARN primarios endógenos largos
(también conocidos como miARN-pri, mir-pri, miR-pri o miARN-
pri-pre) que a menudo tienen una longitud de cientos de
nucleótidos (Lee, et al., *EMBO J.*, 2002, 21(17), 4663-4670).

30 Los análisis funcionales de los miARN han revelado que
estos ARN pequeños no codificantes contribuyen a diferentes

procesos fisiológicos en los animales, que incluyen la programación del desarrollo, organogénesis, diferenciación, desarrollo de patrones, embriogénesis, control del crecimiento y muerte celular programada. Los ejemplos de procesos particulares en los cuales participan los miARN incluyen la diferenciación de las células madre, neurogénesis, angiogénesis, hematopoyesis y exocitosis (revisión realizada por Alvarez-Garcia y Miska, *Development*, 2005, 132, 4653-4662).

Las familias de miARN se pueden caracterizar por la identidad de nucleótidos en las posiciones 2-8 del miARN, una región conocida como la secuencia seminal. Lewis *et al.* describen varias familias de miARN, así como también superfamilias de miARN, que están caracterizadas por secuencias seminales relacionadas (Lewis *et al. Cell.* 2005, 120(1):15-20). Los microARN miR-103 y miR-107 son miembros de la familia ya que tienen regiones seminales idénticas. Por lo tanto, estos dos microARN regularán conjuntos de genes diana similares, si no idénticos.

Se ha demostrado que la inhibición de miR-103 y miR-107 reduce los niveles de glucosa en sangre y mejora la sensibilidad a la insulina. Remítase a, p. ej., la publicación PCT N.º 2010/133970 A1.

COMPENDIO DE LA INVENCION

Realización 1. Un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que tiene la estructura:

$$[\text{oligo1}]-[\text{x-N}]_m-\text{x}-[\text{oligo2}]$$

donde:

oligo1 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria

a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107 con no más de 1 emparejamiento erróneo;

oligo2 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos ligados y tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107 con no más de 1 emparejamiento erróneo;

cada x se selecciona independientemente entre un enlace de tipo fosfodiéster y un enlace de tipo fosforotioato;

cada N se selecciona independientemente entre un nucleósido modificado y un nucleósido no modificado;

m es un número entero entre 1 y 5;

donde al menos una x es un enlace de tipo fosfodiéster.

Realización 2. El compuesto de la realización 1, donde el oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 32, de 15 a 30, de 15 a 28, de 15 a 26, de 15 a 24 o de 15 a 22 o de 15 a 20 nucleósidos.

Realización 3. El compuesto de la realización 1 o la realización 2, donde oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107.

Realización 4. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la región seminal de miR-103 y/o miR-107.

Realización 5. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde oligo2 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107.

Realización 6. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde oligo2 tiene una secuencia

de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la región seminal de miR-103 y/o miR-107.

Realización 7. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 1, 2, 4 y 6, donde oligo1 tiene un emparejamiento erróneo con el primer nucleótido en el extremo 5' de miR-103 y miR-107.

Realización 8. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 1, 2, 4, 6 y 7, donde oligo2 tiene un emparejamiento erróneo con el primer nucleótido en el extremo 5' de miR-103 y miR-107.

Realización 9. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde al menos 2 x son enlaces de tipo fosfodiéster.

Realización 10. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde cada x es un enlace de tipo fosfodiéster.

Realización 11. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde al menos un N es un nucleósido no modificado.

Realización 12. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde cada N es un nucleósido no modificado.

Realización 13. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde m es 1, 2, 3, 4 o 5.

Realización 14. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde m es 1, 2 o 3.

Realización 15. Un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que tiene la estructura:

[oligo1]-[x-N]_m-x-[oligo2]- [x-N]_m-x-[oligo3]

donde:

oligo1 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107 con no más de 1 emparejamiento erróneo;

5 oligo2 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107 con no más de 1 emparejamiento erróneo;

10 oligo3 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a la secuencia de nucleobases de un tercer microARN con no más de 1 emparejamiento erróneo;

 cada x se selecciona independientemente entre un enlace de tipo fosfodiéster y un enlace de tipo fosforotioato;

15 cada N se selecciona independientemente entre un nucleósido modificado y un nucleósido no modificado;

 cada m es independientemente un número entero entre 1 a 5;

 donde al menos una x es un enlace de tipo fosfodiéster.

20 Realización 16. El compuesto de la realización 15, donde al menos una x entre oligo1 y oligo2 es un enlace de tipo fosfodiéster y al menos una x entre oligo2 y oligo3 es un enlace de tipo fosfodiéster.

25 Realización 17. El compuesto de la realización 15 o la realización 16, donde el oligonucleótido modificado está constituido por de 23 a 55, de 23 a 50, de 23 a 45, de 23 a 40, de 23 a 35, de 23 a 30 o de 23 a 26 nucleósidos.

30 Realización 18. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 15 a 17, donde oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107.

Realización 19. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 15 a 18, donde oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la región seminal de miR-103 y/o miR-107.

5 Realización 20. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 15 a 19, donde oligo2 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107.

10 Realización 21. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 15 a 20, donde oligo2 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la región seminal de miR-103 y/o miR-107.

15 Realización 22. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 15 a 21, donde oligo3 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en un 100% a la secuencia de nucleobases del tercer microARN.

20 Realización 23. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 15 a 22, donde oligo3 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la región seminal del tercer microARN.

Realización 24. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 15 a 23, donde el tercer microARN es miR-103 y/o miR-107

25 Realización 25. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde al menos 4 x son enlaces de tipo fosfodiéster.

30 Realización 26. El compuesto de la realización 23, donde al menos 2 x entre oligo1 y oligo2 son enlaces de tipo fosfodiéster y al menos 2 x entre oligo2 y oligo3 son enlaces de tipo fosfodiéster.

Realización 27. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde cada x es un enlace de tipo fosfodiéster.

5 Realización 28. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde al menos un N es un nucleósido no modificado.

Realización 29. El compuesto de la realización 28, donde al menos un N entre oligo1 y oligo2 es un nucleósido no modificado y al menos un N entre oligo2 y oligo3 es un
10 nucleósido no modificado.

Realización 30. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde cada N es un nucleósido no modificado.

Realización 31. El compuesto de cualquiera de las
15 realizaciones anteriores, donde cada m se selecciona independientemente entre 1, 2, 3, 4 y 5.

Realización 32. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde cada m se selecciona independientemente entre 1, 2 o 3.

20 Realización 33. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 15 a 32, donde oligo1 tiene un emparejamiento erróneo con el primer nucleótido en el extremo 5' de miR-103 y miR-107 y/u oligo2 tiene un emparejamiento erróneo con el primer nucleótido en el extremo 5' de miR-103 y miR-107, y/u
25 oligo3 tiene un emparejamiento erróneo con el primer nucleótido en el extremo 5' de miR-103 y miR-107.

Realización 34. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 5' o el extremo 3' del
30 oligonucleótido modificado, o a ambos.

Realización 35. El compuesto de la realización 34, donde el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 3' del oligonucleótido modificado.

5 Realización 36. El compuesto de la realización 34 o la realización 35, donde el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 5' del oligonucleótido modificado.

Realización 37. El compuesto de la realización 34, donde el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 5' o al extremo 3' del oligonucleótido modificado,
10 pero no a ambos.

Realización 38. El compuesto de la realización 34, donde el compuesto comprende un primer resto conjugado unido al extremo 3' del oligonucleótido modificado y un segundo resto conjugado unido al extremo 5' del oligonucleótido
15 modificado.

Realización 39. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 34 a 38, donde el resto conjugado comprende al menos un ligando seleccionado entre un carbohidrato, colesterol, un lípido, un fosfolípido, un anticuerpo, una
20 lipoproteína, una hormona, un péptido, una vitamina, un esteroide y un lípido catiónico.

Realización 40. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 34 a 39, donde el compuesto tiene la estructura:

L_n -conector-OM

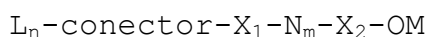
25 donde cada L es, independientemente, un ligando y n está comprendida entre 1 y 10; y OM es el oligonucleótido modificado.

Realización 41. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 34 a 39, donde el compuesto tiene la estructura:

30 L_n -conector-OM

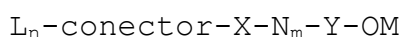
donde cada L es, independientemente, un ligando y n está comprendida entre 1 y 10; X es un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; y OM es el oligonucleótido modificado.

5 Realización 42. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 34 a 39, donde el compuesto tiene la estructura:



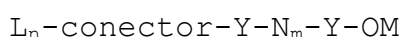
donde cada L es, independientemente, un ligando y n está comprendida entre 1 y 10; cada N de N_m es,
10 independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; X₁ y X₂ son cada uno, independientemente, un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; y OM es el oligonucleótido modificado.

15 Realización 43. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 34 a 39, donde el compuesto tiene la estructura:



donde cada L es, independientemente, un ligando y n está comprendida entre 1 y 10; cada N de N_m es,
20 independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; X es un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es el oligonucleótido modificado.

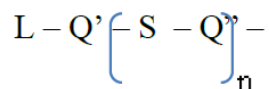
25 Realización 44. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 34 a 39, donde el compuesto tiene la estructura:



donde cada L es, independientemente, un ligando y n está comprendida entre 1 y 10; cada N de N_m es,
30 independientemente, un nucleósido modificado o no modificado

y m está comprendida entre 1 y 5; cada Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es el oligonucleótido modificado.

Realización 45. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 40 a 44, donde si n es superior a 1, Ln-conector tiene la estructura:



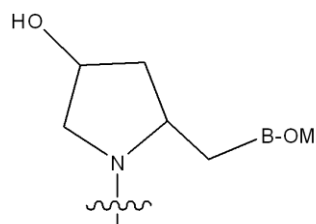
donde cada L es, independientemente, un ligando; n está comprendida entre 1 y 10; S es un esqueleto; y Q' y Q'' son, independientemente, grupos conectores.

Realización 46. El compuesto de la realización 45, donde Q' y Q'' se seleccionan cada uno independientemente entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C₁-C₂₀, un alquilo C₁-C₂₀ sustituido, un alquenilo C₂-C₂₀, un alquenilo C₂-C₂₀ sustituido, un alquinilo C₂-C₂₀, un alquinilo C₂-C₂₀ sustituido, un alcoxi C₁-C₂₀, un alcoxi C₁-C₂₀ sustituido, amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico.

Realización 47. El compuesto de la realización 45 o 46, donde el esqueleto une 2, 3, 4 o 5 ligandos con un oligonucleótido modificado.

Realización 48. El compuesto de la realización 47, donde el esqueleto une 3 ligandos con un oligonucleótido modificado.

Realización 49. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 40 a 48, donde el compuesto tiene la estructura:



5

donde:

B se selecciona entre -O-, -S-, -N(R^N)-, -Z-P(Z')(Z'')O-,
-Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X- y -Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-;

OM es el oligonucleótido modificado;

10 R^N se selecciona entre H, metilo, etilo, propilo,
isopropilo, butilo y bencilo;

Z, Z' y Z'' se seleccionan cada una independientemente
entre O y S;

15 cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido
modificado o no modificado;

m está comprendida entre 1 y 5;

X se selecciona entre un enlace de tipo fosfodiéster y
un enlace de tipo fosforotioato;

Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y

20 la línea ondulada indica la unión al resto del conector
y ligando(s).

Realización 50. El compuesto de cualquiera de las
reivindicaciones 41 a 49, donde X es un enlace de tipo
fosfodiéster.

25 Realización 51. El compuesto de cualquiera de las
realizaciones 40 a 50, donde n está comprendida entre 1 y 5,
1 y 4, 1 y 3 o 1 y 2.

Realización 52. El compuesto de cualquiera de las
reivindicaciones 40 a 51, donde n es 3.

30 Realización 53. El compuesto de cualquiera de las
realizaciones 40 a 52, donde al menos un ligando se

selecciona entre un carbohidrato, colesterol, un lípido, un fosfolípido, un anticuerpo, una lipoproteína, una hormona, un péptido, una vitamina, un esteroide y un lípido catiónico.

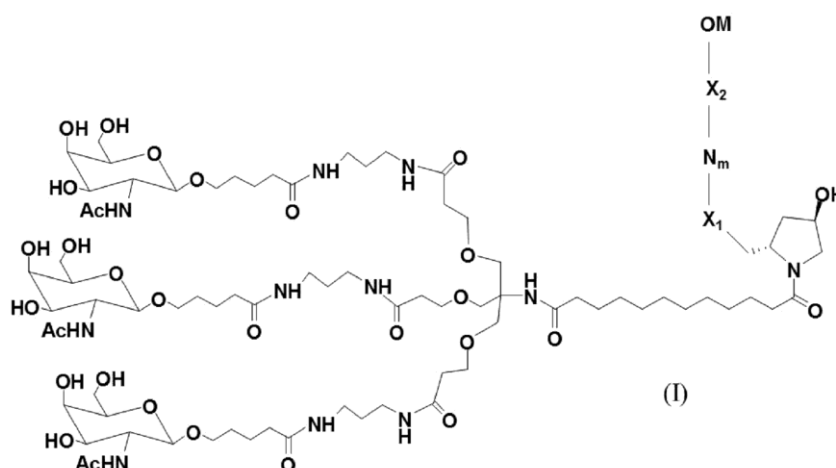
Realización 54. El compuesto de la realización 53,
5 donde al menos un ligando es un carbohidrato.

Realización 55. El compuesto de la realización 54,
donde al menos un ligando se selecciona entre manosa, glucosa,
galactosa, ribosa, arabinosa, fructosa, fucosa, xilosa, D-
manosa, L-manosa, D-galactosa, L-galactosa, D-glucosa, L-
10 glucosa, D-ribosa, L-ribosa, D-arabinosa, L-arabinosa, D-
fructosa, L-fructosa, D-fucosa, L-fucosa, D-xilosa, L-xilosa,
alfa-D-manofuranosa, beta-D-manofuranosa, alfa-D-
manopiranososa, beta-D-manopiranososa, alfa-D-glucofuranosa,
Beta-D-glucofuranosa, alfa-D-glucopiranososa, beta-D-
15 glucopiranososa, alfa-D-galactofuranosa, beta-D-
galactofuranosa, alfa-D-galactopiranososa, beta-D-
galactopiranososa, alfa-D-ribofuranosa, beta-D-ribofuranosa,
alfa-D-ribopiranososa, beta-D-ribopiranososa, alfa-D-
fructofuranosa, alfa-D-fructopiranososa, glucosamina,
20 galactosamina, ácido siálico, *N*-acetilgalactosamina.

Realización 56. El compuesto de la realización 54
o la realización 55, donde al menos un ligando se selecciona
entre *N*-acetilgalactosamina, galactosa, galactosamina, *N*-
formilgalactosamina, *N*-propionilgalactosamina, *N*-*n*-
25 butanoilgalactosamina y *N*-isobutanoilgalactosamina.

Realización 57. El compuesto de la realización 56,
donde cada ligando es *N*-acetilgalactosamina.

Realización 58. El compuesto de cualquiera de las
realizaciones 40 a 57, donde el compuesto tiene la estructura:



donde cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; X₁ y X₂ son cada uno, independientemente, un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; y OM es el oligonucleótido modificado.

Realización 59. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde oligo1 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos, de 7 a 14 nucleósidos unidos, de 7 a 13 nucleósidos unidos, de 7 a 12 nucleósidos unidos, de 7 a 11 nucleósidos unidos, de 7 a 10 nucleósidos unidos, de 8 a 15 nucleósidos unidos, de 8 a 14 nucleósidos unidos, de 8 a 13 nucleósidos unidos, de 8 a 12 nucleósidos unidos, de 8 a 11 nucleósidos unidos, de 8 a 10 nucleósidos unidos o 10 nucleósidos unidos.

Realización 60. El compuesto de la realización 59, donde oligo1 comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar modificado.

Realización 61. El compuesto de la realización 59 o la realización 60, donde oligo1 comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar no modificado.

Realización 62. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 59 a 61, donde oligo1 comprende una pluralidad

de nucleósidos con resto de tipo azúcar modificado y una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar no modificado.

Realización 63. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 59 a 62, donde al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 nucleósidos de oligo1 tienen un resto de tipo azúcar modificado.

Realización 64. El compuesto de la realización 63, donde cada nucleósido de oligo1 tiene un resto de tipo azúcar modificado.

Realización 65. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 60 a 64, donde cada nucleósido modificado se selecciona independientemente entre un resto de tipo 2'-O-metilazúcar, un resto de tipo 2'-O-metoxietilazúcar, un resto de tipo 2-fluoroazúcar y un resto de tipo azúcar bicíclico.

Realización 66. El compuesto de la realización 65, donde cada resto de tipo azúcar bicíclico se selecciona independientemente entre un resto de tipo azúcar cEt y un resto de tipo azúcar LNA.

Realización 67. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 60 a 66, donde cada resto de tipo azúcar no modificado se selecciona independientemente entre una β -D-desoxirribosa y una β -D-ribosa.

Realización 68. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde oligo2 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos, de 7 a 14 nucleósidos unidos, de 7 a 13 nucleósidos unidos, de 7 a 12 nucleósidos unidos, de 7 a 11 nucleósidos unidos, de 7 a 10 nucleósidos unidos, de 8 a 15 nucleósidos unidos, de 8 a 14 nucleósidos unidos, de 8 a 13 nucleósidos unidos, de 8 a 12 nucleósidos unidos,

de 8 a 11 nucleósidos unidos, de 8 a 10 nucleósidos unidos o 10 nucleósidos unidos.

Realización 69. El compuesto de la realización 68, donde oligo2 comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar modificado.

Realización 70. El compuesto de la realización 68 o la realización 69, donde oligo2 comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar no modificado.

Realización 71. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 68 a 70, donde oligo2 comprende una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar modificado y una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar no modificado.

Realización 72. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 68 a 71, donde al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 nucleósidos de oligo2 tienen un resto de tipo azúcar modificado.

Realización 73. El compuesto de la realización 68, donde cada nucleósido de oligo2 tiene un resto de tipo azúcar modificado.

Realización 74. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 68 a 73, donde cada nucleósido modificado se selecciona independientemente entre un resto de tipo 2'-O-metilazúcar, un resto de tipo 2'-O-metoxietilazúcar, un resto de tipo 2-fluoroazúcar y un resto de tipo azúcar bicíclico.

Realización 75. El compuesto de la realización 74, donde cada resto de tipo azúcar bicíclico se selecciona independientemente entre un resto de tipo azúcar cEt y un resto de tipo azúcar LNA.

Realización 76. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 68 a 75, donde cada resto de tipo azúcar no modificado se selecciona independientemente entre una β -D-desoxirribosa y una β -D-ribosa.

5 Realización 77. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 15 a 76, donde oligo3 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos, de 7 a 14 nucleósidos unidos, de 7 a 13 nucleósidos unidos, de 7 a 12 nucleósidos unidos, de 7 a 11 nucleósidos unidos, de 7 a 10 nucleósidos unidos, de 10 8 a 15 nucleósidos unidos, de 8 a 14 nucleósidos unidos, de 8 a 13 nucleósidos unidos, de 8 a 12 nucleósidos unidos, de 8 a 11 nucleósidos unidos o de 8 a 10 nucleósidos unidos o 10 nucleósidos unidos.

Realización 78. El compuesto de la realización 77, 15 donde oligo3 comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar modificado.

Realización 79. El compuesto de la realización 77 o la realización 78, donde oligo3 comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar no modificado.

20 Realización 80. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 77 a 79, donde oligo3 comprende una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar modificado y una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar no modificado.

25 Realización 81. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 77 a 80, donde al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 nucleósidos de oligo3 tienen un resto de tipo azúcar modificado.

Realización 82. El compuesto de la realización 81, 30 donde cada nucleósido de oligo3 tiene un resto de tipo azúcar modificado.

Realización 83. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 78 a 82, donde cada nucleósido modificado se selecciona independientemente entre un resto de tipo 2'-O-metilazúcar, un resto de tipo 2'-O-metoxietilazúcar, un
5 resto de tipo 2-fluoroazúcar y un resto de tipo azúcar bicíclico.

Realización 84. El compuesto de la realización 83, donde cada resto de tipo azúcar bicíclico se selecciona independientemente entre un resto de tipo azúcar cEt y un
10 resto de tipo azúcar LNA.

Realización 85. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 77 a 84, donde cada resto de tipo azúcar no modificado se selecciona independientemente entre una β -D-desoxirribosa y una β -D-ribosa.

15 Realización 86. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde oligo1 tiene la secuencia de nucleobases 5'-CAAUGCUGCA-3' (SEQ ID NO: 6).

Realización 87. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde oligo2 tiene la secuencia de
20 nucleobases 5'-CAAUGCUGCA-3' (SEQ ID NO: 6).

Realización 88. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el compuesto comprende un oligonucleótido modificado que tiene la secuencia de nucleobases 5'-CAAUGCUGCAAACAAUGCUGCA-3' (SEQ ID NO: 7).

25 Realización 89. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde oligo1 es 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SA_S-3' (SEQ ID NO: 6), donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt.

Realización 90. El compuesto de cualquiera de las
30 realizaciones anteriores, donde oligo2 es 5'-

C_sA_sA_sU_sG_sC_sU_sG_sC_sA_s-3' (SEQ ID NO: 6), donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt.

Realización 91. El compuesto de cualquiera de las realizaciones anteriores, donde el oligonucleótido modificado está constituido por 5'-C_sA_sA_sU_sG_sC_sU_sG_sC_sA_sAAC_sA_sA_sU_sG_sC_sU_sG_sC_sA_s-3' (SEQ ID NO: 7), donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt y cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido.

Realización 92. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 89 a 91, donde cada enlace internucleosídico que une dos nucleósidos S-cEt es un enlace de tipo fosforotioato.

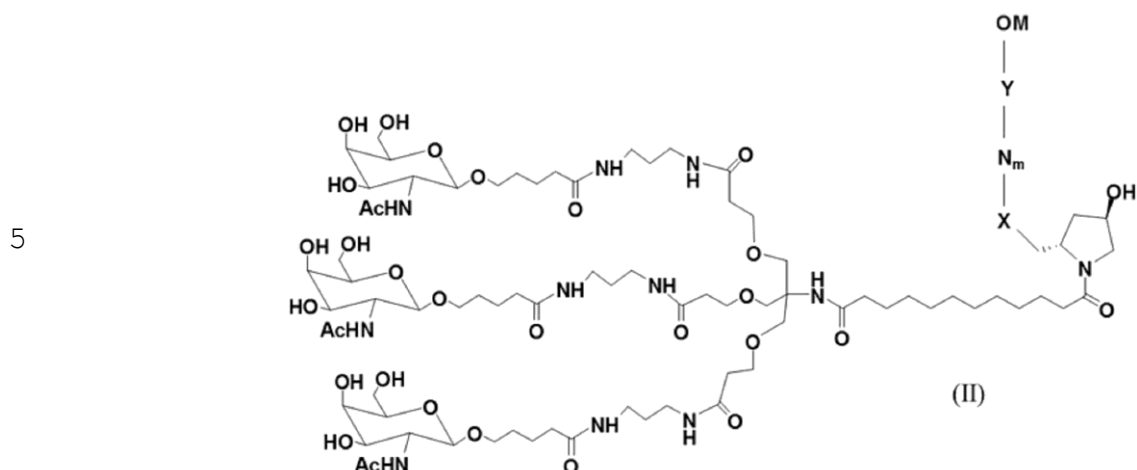
Realización 93. El compuesto de la realización 91 o la realización 92, donde al menos un enlace internucleosídico que une un nucleósido de tipo desoxinucleósido con otro nucleósido es un enlace de tipo fosfodiéster.

Realización 94. El compuesto de la realización 93, donde cada enlace internucleosídico que une un nucleósido de tipo desoxinucleósido con otro nucleósido es un enlace de tipo fosfodiéster.

Realización 95. Un compuesto que comprende la estructura:

25

30



donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; cada N de N_m es una desoxiadenosina (A); m es 2; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es 5'-C₅A₅A₅U₅G₅C₅U₅G₅C₅A₅AAC₅A₅A₅U₅G₅C₅U₅G₅C₅A₅-3' (SEQ ID NO: 7), donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt, cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido y cada enlace internucleosídico entre dos nucleósidos S-cEt es un enlace de tipo fosforotioato y el resto de enlaces internucleosídicos son enlaces de tipo fosfodiéster.

Realización 96. Un método para reducir el nivel de glucosa en sangre de un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

Realización 97. El método de la realización 96, donde el sujeto tiene un nivel de glucosa en sangre elevado.

Realización 98. El método de la realización 96 o la realización 97, que comprende medir el nivel de glucosa en sangre del sujeto.

Realización 99. El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 98, donde el sujeto tiene un nivel de glucosa en sangre elevado.

Realización 100. El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 99, donde el nivel de glucosa en sangre es un nivel de glucosa en sangre en ayunas, un nivel de glucosa en sangre posprandial, un nivel de glucosa en sangre entera o un nivel de glucosa en plasma sanguíneo.

Realización 101. El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 100, que comprende reducir el nivel de glucosa en sangre por debajo de 200 mg/dL, por debajo de 175 mg/dL, por debajo de 150 mg/dL, por debajo de 125 mg/dL, por debajo de 120 mg/dL, por debajo de 115 mg/dL, por debajo de 110 mg/dL, por debajo de 105 mg/dL o por debajo de 100 mg/dL.

Realización 101.2 El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 101, que comprende reducir el nivel de hemoglobina A1c (HbA1c) de un sujeto por debajo de un 8%, por debajo de un 7.5%, por debajo de un 7%, por debajo de un 6.5%, por debajo de un 6%, por debajo de un 5.5%, por debajo de un 5% o por debajo de un 4.5%.

Realización 102. Un método para prevenir o retrasar la aparición de un nivel de glucosa en sangre elevado en un sujeto en riesgo de desarrollar un nivel de glucosa elevado que comprende administrar al sujeto un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

Realización 103. Un método para mejorar la sensibilidad a la insulina en un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163 y 178.

Realización 104. El método de la realización 103, donde el sujeto tiene resistencia a la insulina.

Realización 105. Un método para prevenir o retrasar la aparición de la resistencia a la insulina en un sujeto en

riesgo de desarrollar resistencia a la insulina que comprende administrar al sujeto un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

5 Realización 106. Un método para mejorar la tolerancia a la glucosa en un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

Realización 107. El método de la realización 106, donde el sujeto tiene una tolerancia alterada a la glucosa.

10 Realización 108. Un método para tratar al menos un trastorno metabólico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que padece el trastorno metabólico un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

15 Realización 109. Un método para prevenir o retrasar la aparición de al menos un trastorno metabólico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que padece el trastorno metabólico un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

20 Realización 110. El método de la realización 108 o la realización 109, donde al menos un trastorno metabólico se selecciona entre prediabetes, diabetes, síndrome metabólico, obesidad, dislipidemia diabética, hiperlipidemia, hipertensión, hipertrigliceridemia, elevación de ácidos grasos en sangre, hipercolesterolemia e hiperinsulinemia.

25 Realización 111. Un método para aumentar la diferenciación de adipocitos en un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

30 Realización 112. Un método para aumentar el número de adipocitos pequeños en un sujeto que comprende administrar

al sujeto un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

Realización 113. El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 112, que comprende reducir el peso corporal del sujeto.

Realización 114. El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 113, que comprende reducir la grasa corporal en el sujeto.

Realización 115. El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 114, donde la administración comprende la administración parenteral, tal como la administración intravenosa o la administración subcutánea; o la administración oral.

Realización 116. El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 115, que comprende administrar al menos una terapia adicional.

Realización 117. El método de la realización 116, donde dicha al menos una terapia adicional es un agente hipoglucemiante o un agente hipolipidemiante.

Realización 118. El método de la realización 117, donde el agente hipoglucemiante se selecciona entre un agonista de PPAR (de tipo gamma, dual o pan), un inhibidor de la dipeptidil-peptidasa (IV), un análogo de GLP-I, insulina o un análogo de insulina, un secretagogo de insulina, un inhibidor de SGLT2, un análogo de amilina humana, una biguanida, un inhibidor de alfa-glucosidasa, una meglitinida, una tiazolidinodiona y sulfonilurea.

Realización 119. El método de cualquiera de las realizaciones 116 a 118, donde dicha al menos una terapia adicional se administra a la vez que se administra el

compuesto, antes de la administración del compuesto o después de la administración del compuesto.

Realización 120. El método de cualquiera de las realizaciones 116 a 118, donde dicha al menos una terapia
5 adicional se administra menos frecuentemente que el compuesto o más frecuentemente que el compuesto.

Realización 121. El método de una cualquiera de las realizaciones 96 a 120, donde el compuesto se administra como una composición farmacéutica.

10 Realización 122. Un método para mejorar la resistencia a la insulina en una célula o tejido que comprende poner en contacto la célula o tejido con un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

15 Realización 123. El método de la realización 122, donde la célula o tejido es una célula o tejido hepático, graso o de músculo esquelético.

Realización 124. Un método para aumentar la sensibilidad a la insulina en una célula o tejido que
20 comprende poner en contacto la célula o tejido con un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

Realización 125. El método de la realización 124, donde la célula es una célula adipocítica.

25 Realización 126. Un método para inducir la diferenciación de adipocitos que comprende poner en contacto un adipocito no diferenciado con un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

30 Realización 127. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148 y 156-163 y un portador farmacéuticamente aceptable.

Realización 128. El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 107, donde el sujeto padece al menos un trastorno metabólico.

5 Realización 129. El método de la realización 128, donde dicho al menos un trastorno metabólico se selecciona entre prediabetes, diabetes, síndrome metabólico, obesidad, dislipidemia diabética, hiperlipidemia, hipertensión, hipertrigliceridemia, elevación de ácidos grasos en sangre, hipercolesterolemia e hiperinsulinemia.

10 Realización 130. El uso de un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184 para su uso en terapia.

Realización 131. El uso de la realización 130, donde la terapia es la reducción de un nivel de glucosa en sangre en un sujeto o la prevención de un nivel de glucosa en sangre elevado en un sujeto.

Realización 132. El uso de la realización 130, donde la terapia es el tratamiento de un trastorno metabólico.

20 Realización 133. El uso de la realización 132, donde el trastorno metabólico se selecciona entre prediabetes, diabetes, síndrome metabólico, obesidad, dislipidemia diabética, hiperlipidemia, hipertensión, hipertrigliceridemia, elevación de ácidos grasos en sangre, hipercolesterolemia e hiperinsulinemia.

25 Realización 134. El método de la realización 124, donde la célula es una célula hepática o el tejido es un tejido hepático.

Realización 135. Un método para tratar la enfermedad por hígado graso que comprende administrar al sujeto un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163, 178 y 184.

30

Realización 136. El método de la realización 135, donde la enfermedad por hígado graso se selecciona entre la enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD, por sus siglas en inglés), enfermedad por hígado graso alcohólico, esteatohepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica (NASH, por sus siglas en inglés).

Realización 137. El uso de cualquiera de las realizaciones 130 a 133, donde la terapia es el tratamiento de la enfermedad por hígado graso en un sujeto.

Realización 138. El uso de la realización 137, donde la enfermedad por hígado graso se selecciona entre la enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD), enfermedad por hígado graso alcohólico, esteatohepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

Realización 139. Un método para reducir los triglicéridos hepáticos que comprende administrar a un sujeto un compuesto de cualquiera de las realizaciones 1 a 95, 148, 156-163 y 179.

Realización 140. El método de cualquiera de las realizaciones 96 a 126, 128, 129, 134 y 139, donde el sujeto padece la enfermedad por hígado graso.

Realización 141. El método de la realización 140, donde la enfermedad por hígado graso se selecciona entre la enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD), enfermedad por hígado graso alcohólico, esteatohepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

Realización 142. El uso de la realización 130, donde la terapia comprende reducir los triglicéridos hepáticos en un sujeto.

Realización 143. El uso de la realización 142, donde el sujeto padece la enfermedad por hígado graso.

Realización 144. El uso de la realización 143, donde la enfermedad por hígado graso se selecciona entre la enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD), enfermedad por hígado graso alcohólico, esteatohepatitis
5 alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

Realización 145. Un método para tratar un trastorno metabólico que comprende administrar a un sujeto un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado constituido por una región única de 8 a 25 nucleósidos unidos, donde la
10 secuencia de nucleobases de la región única es complementaria a miR-103 y/o miR-107 y donde el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 5' o al extremo 3' del oligonucleótido modificado y donde el resto conjugado comprende un ligando que mejora la captación celular en una
15 célula hepática.

Realización 146. El método de la realización 135, donde el resto conjugado comprende un ligando que tiene afinidad por el receptor de asialoglucoproteínas.

Realización 147. El método de la realización 145 o
20 146, donde el ligando se selecciona entre *N*-acetilgalactosamina, galactosa, galactosamina, *N*-formilgalactosamina, *N*-propionilgalactosamina, *N*-*n*-butanoilgalactosamina y *N*-isobutanoilgalactosamina.

Realización 148. El compuesto de la realización 95,
25 donde Y está unido al extremo 3' de OM.

Realización 149. Un método para tratar un trastorno metabólico que comprende administrar a un sujeto un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado constituido por una región única de 8 a 25 nucleósidos unidos, donde la
30 secuencia de nucleobases de la región única es complementaria

a miR-103 y/o miR-107 con un emparejamiento erróneo con la A 5'-terminal de miR-103 o miR-107.

Realización 150. El método de la realización 149, donde el nucleótido 3'-terminal del oligonucleótido
5 modificado es la posición emparejada erróneamente.

Realización 151. El método de la realización 149 o la realización 150, donde el nucleótido 3'-terminal del oligonucleótido modificado se selecciona entre A, C y G.

Realización 152. El método de cualquiera de las
10 realizaciones 149 a 151, donde el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 5' o al extremo 3' del oligonucleótido modificado y donde el resto conjugado comprende un ligando que mejora la captación celular en una célula hepática.

15 Realización 153. El método de la realización 152, donde el resto conjugado comprende un ligando que tiene afinidad por el receptor de asialoglucoproteínas.

Realización 154. El método de la realización 152 o 153, donde el ligando se selecciona entre N-
20 acetilgalactosamina, galactosa, galactosamina, N-formilgalactosamina, N-propionilgalactosamina, N-n-butanoilgalactosamina y N-isobutanoilgalactosamina.

Realización 155. El método de cualquiera de las realizaciones 152 a 153, donde el oligonucleótido modificado
25 es totalmente complementario a miR-103 o miR-107 excepto por el emparejamiento erróneo con la A 5'-terminal de miR-103 o miR-107.

Realización 156. Un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado constituido por una región única
30 de 8 a 25 nucleósidos unidos, donde la secuencia de nucleobases de la región única es complementaria a miR-103

y/o miR-107 con un emparejamiento erróneo con la A 5'-terminal de miR-103 y miR-107.

Realización 157. El compuesto de la realización 156, donde el nucleótido 3'-terminal del oligonucleótido modificado es la posición emparejada erróneamente.

Realización 158. El compuesto de la realización 156 o la realización 157, donde el nucleótido 3'-terminal del oligonucleótido modificado se selecciona entre A, C y G.

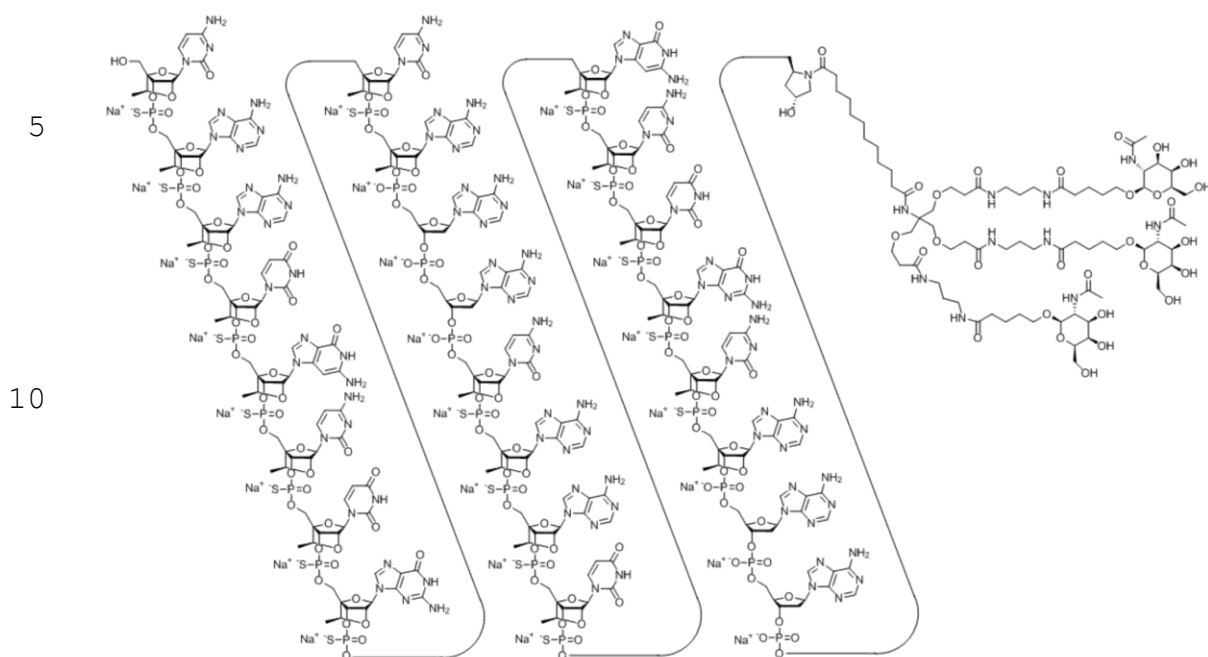
Realización 159. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 156 a 158, donde el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 5' o al extremo 3' del oligonucleótido modificado y donde el resto conjugado comprende un ligando que mejora la captación celular en una célula hepática.

Realización 160. El compuesto de la realización 159, donde el resto conjugado comprende un ligando que tiene afinidad por el receptor de asialoglucoproteínas.

Realización 161. El compuesto de la realización 159 o 160, donde el ligando se selecciona entre *N*-acetilgalactosamina, galactosa, galactosamina, *N*-formilgalactosamina, *N*-propionilgalactosamina, *N*-*n*-butanoilgalactosamina y *N*-isobutanoilgalactosamina.

Realización 162. El compuesto de cualquiera de las realizaciones 156 a 161, donde el oligonucleótido modificado es totalmente complementario a miR-103 o miR-107 excepto por el emparejamiento erróneo con la A 5'-terminal de miR-103 o miR-107.

Realización 163. Un compuesto que tiene la estructura:



Realización 164. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la realización 163 y un portador farmacéuticamente aceptable.

20 Realización 165. La composición farmacéutica de la realización 164, que comprende 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg, 140 mg, 145 mg, 150 mg, 155 mg, 160 mg, 165

25

30

mg, 170 mg, 175 mg, 180 mg, 185 mg, 190 mg, 195 mg, 200 mg del compuesto de la reivindicación 163.

Realización 166. La composición farmacéutica de la realización 164 o la realización 165, que es una composición acuosa.

Realización 167. La composición farmacéutica de la realización 164 o la realización 165, que es una composición liofilizada.

Realización 168. El método de cualquiera de las realizaciones 135, 136, 139 a 141 y 145-155, donde el sujeto padece un trastorno metabólico seleccionado entre prediabetes, diabetes, síndrome metabólico, obesidad, dislipidemia diabética, hiperlipidemia, hipertensión, hipertrigliceridemia, elevación de ácidos grasos en sangre, hipercolesterolemia e hiperinsulinemia.

Realización 169. El método de cualquiera de las realizaciones 135, 136, 139, 140, 141 y 145-155, donde el sujeto padece un trastorno metabólico seleccionado entre prediabetes y diabetes de tipo 2.

Realización 170. El método de la realización 135 o la realización 140, donde la enfermedad por hígado graso se selecciona entre la enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD) y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

Realización 171. El método de la realización 170, donde el sujeto padece un trastorno metabólico seleccionado entre prediabetes y diabetes de tipo 2.

Realización 172. El método de la realización 170, donde el sujeto padece resistencia a la insulina, niveles de glucosa en sangre elevados o niveles de HbA1c elevados.

Realización 173. El uso de la realización 130, donde la terapia es para el tratamiento de la enfermedad por hígado

graso en un sujeto con al menos un trastorno metabólico
seleccionado entre prediabetes, diabetes, síndrome
metabólico, obesidad, dislipidemia diabética, hiperlipidemia,
hipertensión, hipertrigliceridemia, elevación de ácidos
5 grasos en sangre, hipercolesterolemia e hiperinsulinemia.

Realización 174. El uso de la realización 130, donde
la terapia es para el tratamiento de la enfermedad por hígado
graso en un sujeto con un trastorno metabólico seleccionado
entre prediabetes y diabetes de tipo 2.

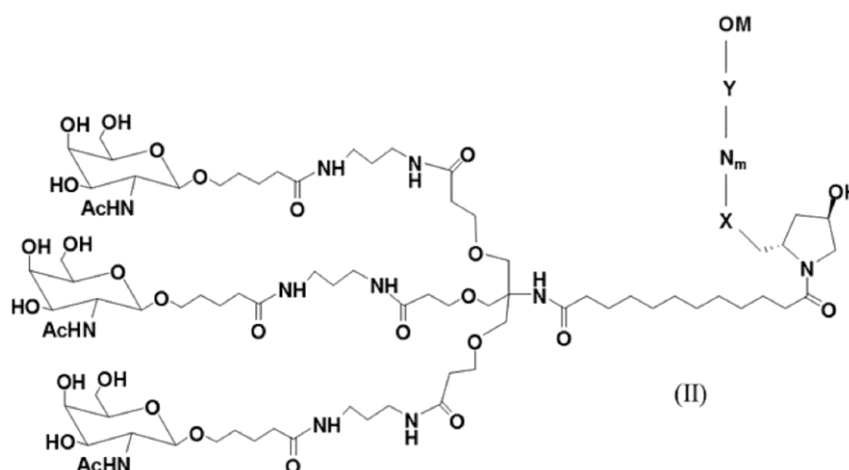
10 Realización 175. El uso de la realización 130, donde
la terapia es para el tratamiento de la enfermedad por hígado
graso en un sujeto con resistencia a la insulina, niveles de
glucosa en sangre elevados o niveles de HbA1c elevados.

Realización 176. El uso de cualquiera de las
15 realizaciones 173, 174 y 175, donde la enfermedad por hígado
graso se selecciona entre la enfermedad por hígado graso no
alcohólico (NAFLD), enfermedad por hígado graso alcohólico,
esteatohepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica
(NASH).

20 Realización 177. El uso de cualquiera de las
realizaciones 137, 143, 173, 174 y 175, donde la enfermedad
por hígado graso se selecciona entre la enfermedad por hígado
graso no alcohólico (NAFLD) y la esteatohepatitis no
alcohólica (NASH).

25 Realización 178. El método de cualquiera de las
realizaciones 96-121, 128, 129, 135, 139-141 y 168-172, donde
el compuesto se administra con una dosis de 50 a 150 mg, con
una frecuencia de una vez a la semana.

Realización 179. El compuesto de la realización 95,
30 donde el compuesto tiene la estructura:



donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; cada N de N_m es una desoxiadenosina (A); m es 2; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; Y está unido al extremo 3' de OM; OM es 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SA_SAAC_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SA_S-3' (SEQ ID NO: 7), donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt, cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido y cada enlace internucleosídico entre dos nucleósidos S-cEt es un enlace de tipo fosforotioato y el resto de enlaces internucleosídicos son enlaces de tipo fosfodiéster; o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

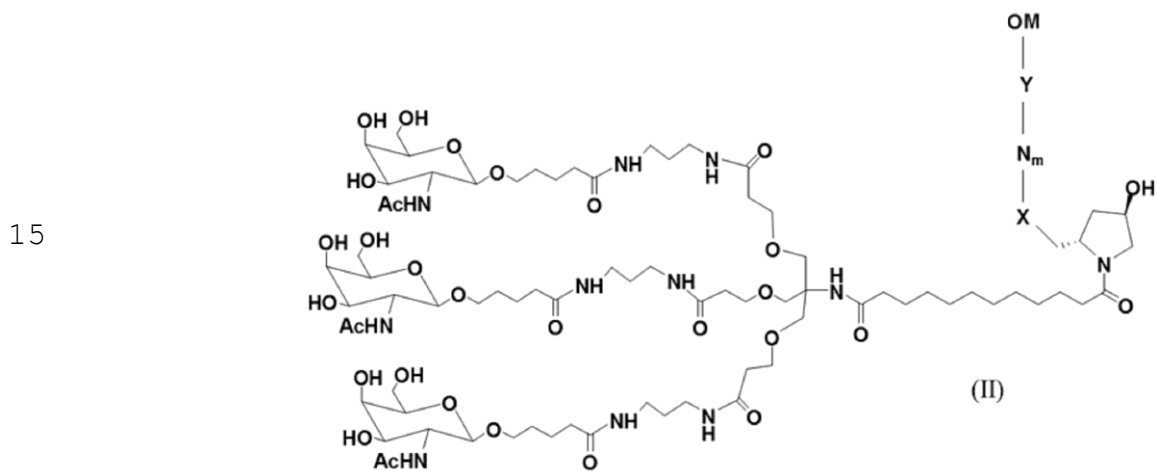
Realización 180. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la realización 179 y un portador farmacéuticamente aceptable.

Realización 181. Un compuesto para tratar un trastorno metabólico en un sujeto, que comprende un oligonucleótido modificado constituido por de 8 a 25 nucleósidos unidos, donde la secuencia de nucleobases del oligonucleótido modificado es complementaria a miR-103 y/o miR-107 y donde el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 5' o al extremo 3' del oligonucleótido modificado y donde el resto conjugado comprende un ligando que mejora la captación celular en una célula hepática.

Realización 182. El compuesto de la realización 150, donde el resto conjugado comprende un ligando que tiene afinidad por el receptor de asialoglucoproteínas.

Realización 183. El compuesto de la realización 150 o 151, donde el ligando se selecciona entre *N*-acetilgalactosamina, galactosa, galactosamina, *N*-formilgalactosamina, *N*-propionilgalactosamina, *N*-*n*-butanoilgalactosamina y *N*-isobutanoilgalactosamina.

Realización 184. El compuesto de la realización 156, donde el compuesto tiene la estructura:



donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; cada N de N_m es una desoxiadenosina (A); m es 2; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; Y está unido al extremo 3' de OM; y OM es 5'-C₅A₅A₅U₅G₅C₅U₅G₅C₅A₅-3' (SEQ ID NO: 6), donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt y cada enlace internucleosídico entre dos nucleósidos S-cEt es un enlace de tipo fosforotioato; o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

Realización 185. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la realización 184 y un portador farmacéuticamente aceptable.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LOS DIBUJOS

Figura 1. Estructura del resto conjugado que comprende tres ligandos GalNAc.

Figura 2A-C. Estructuras del oligonucleótido modificado
5 conjugado.

La Figura 3 muestra la glucosa en ayunas, la insulina en ayunas y HOMA IR a las 2 semanas en ratones a los que se les ha administrado el compuesto indicado, tal como se describe en los Ejemplos.

10 La Figura 4 muestra la glucosa en ayunas, la insulina en ayunas y HOMA IR a las 3 semanas en ratones a los que se les ha administrado el compuesto indicado, tal como se describe en los Ejemplos.

La Figura 5 muestra la glucosa en ayunas, la insulina
15 en ayunas y HOMA IR a las 2 semanas en ratones a los que se les ha administrado el compuesto indicado, tal como se describe en los Ejemplos.

La Figura 6 muestra la glucosa en ayunas, la insulina en ayunas y HOMA IR a las 3 semanas en ratones a los que se
20 les ha administrado el compuesto indicado, tal como se describe en los Ejemplos.

La Figura 7 muestra la glucosa en sangre e insulina en plasma tras la sobrecarga oral de glucosa en ratones a los que se les ha administrado el compuesto indicado, tal como
25 se describe en los Ejemplos.

La Figura 8 muestra el contenido hepático de triglicéridos en ratones a los que se les ha administrado el compuesto indicado, tal como se describe en los Ejemplos.

Las Figuras 9A-E muestran mejoras en la sensibilidad a
30 la insulina y reducciones de triglicéridos en ratones DIO a

los que se les ha administrado el compuesto indicado, tal como se describe en los Ejemplos.

La Figura 10 muestra HOMA IR a la semana en ratones a los que se les ha administrado el compuesto indicado, tal como se describe en los Ejemplos.

Las Figuras 11A-B muestran la glucosa en ayunas y los triglicéridos hepáticos en ratones db/db a los que se les ha administrado el compuesto indicado, tal como se describe en los Ejemplos.

Las Figuras 12A-E muestran un estudio de pinzamiento normoglucémico hiperinsulinémico en ratones DIO a los que se les ha administrado el compuesto indicado, tal como se describe en los Ejemplos.

La Figura 13 muestra la estructura del compuesto 47043.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

A menos que se definan de otro modo, todos los términos científicos y técnicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que interpreta comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura utilizada en relación con la química analítica, química orgánica sintética y química farmacéutica y médica que se describen en la presente, y sus procedimientos y técnicas, son de uso común para los expertos en la técnica. En caso de que exista una pluralidad de definiciones para los términos de la presente, prevalecerán los de esta sección. Se pueden utilizar técnicas habituales para la síntesis química, análisis químico, preparación, formulación y suministro farmacéutico y tratamiento de los sujetos. Ciertas técnicas y procedimientos se pueden consultar, por ejemplo, en "Carbohydrate Modifications in Antisense Research" editado

por Sangvi y Cook, American Chemical Society, Washington D.C., 1994; y "Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack Publishing Co., Easton, Pa., 18.^a edición, 1990; los cuales se incorporan por la presente por referencia a todos los efectos. Cuando sea posible, a menos que se indique lo contrario, todas las patentes, solicitudes de patente, solicitudes publicadas y publicaciones, secuencias de GENBANK, sitios web y otros materiales publicados a los que se hace referencia a lo largo de la totalidad de la divulgación de la presente, se incorporan por referencia en su totalidad. Cuando se hace referencia a una URL u otro identificador o dirección de este tipo, se sobreentiende que tales identificadores pueden cambiar y la información concreta en internet puede desaparecer, pero se puede encontrar información equivalente realizando búsquedas en internet. La referencia a ellas evidencia la disponibilidad y la difusión pública de tal información.

Antes de divulgar y describir las presentes composiciones y métodos, se debe sobreentender que la terminología utilizada en la presente tiene el objetivo únicamente de describir realizaciones concretas y no se pretende que sea limitante. Cabe señalar que, tal como se utilizan en esta memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno/a" y "el/la" incluyen referentes en plural a menos que el contexto indique claramente otra cosa.

Definiciones

"Nivel de glucosa en sangre" se refiere a la concentración de glucosa en la sangre de un sujeto. En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre se expresan como miligramos de glucosa por decilitro de sangre.

En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre se expresan como mmol de glucosa por litro de sangre.

"Nivel de glucosa en sangre elevado" se refiere a un nivel de glucosa en sangre que es superior al normal.

5 "Nivel de glucosa en sangre en ayunas" se refiere a un nivel de glucosa en sangre después de que un sujeto haya ayunado durante un cierto periodo de tiempo. Por ejemplo, un sujeto puede ayunar durante al menos 8 horas antes de medir un nivel de glucosa en sangre en ayunas.

10 "Nivel de glucosa en sangre posprandial" se refiere a un nivel de glucosa en sangre después de que el sujeto haya ingerido una comida. En ciertas realizaciones, un nivel de glucosa en sangre posprandial se mide dos horas después de que el sujeto haya ingerido una comida.

15 "Nivel de glucosa en sangre entera" se refiere a la concentración de glucosa en sangre entera que no se ha sometido a una separación.

"Nivel de glucosa en plasma sanguíneo" se refiere a la concentración de glucosa en el plasma tras la separación de la sangre entera en las fracciones plasmática y eritrocítica.

20 "Sensibilidad a la insulina" se refiere a la capacidad de las células para captar glucosa en respuesta a la acción de la insulina.

"Resistencia a la insulina" se refiere a una afección en la cual las cantidades normales de insulina no son adecuadas para producir una respuesta normal a la insulina en las células hepáticas, musculares y grasas. La resistencia a la insulina en las células grasas da como resultado la hidrólisis de triglicéridos almacenados, lo que eleva los ácidos grasos libres en la sangre. La resistencia a la insulina en el músculo reduce la captación de glucosa de la

sangre por parte de las células musculares. La resistencia a la insulina en el hígado reduce el almacenamiento de glucosa y supone una incapacidad para suprimir la producción de glucosa. Los ácidos grasos libres elevados, la captación de glucosa reducida y la producción de glucosa elevada contribuyen todos ellos a niveles de glucosa en sangre elevados. Los niveles en plasma elevados de insulina y glucosa debidos a la resistencia a la insulina a menudo desembocan en el síndrome metabólico y la diabetes de tipo 2.

"Mejorar de la resistencia a la insulina" se refiere al aumento de la capacidad de las células para producir una respuesta a la insulina normal. En ciertas realizaciones, se mejora la resistencia a la insulina en las células musculares, lo que da lugar a una mayor captación de glucosa en las células musculares. En ciertas realizaciones, se mejora la resistencia a la insulina en las células hepáticas, lo que da lugar a un mayor almacenamiento de glucosa en las células hepáticas. En ciertas realizaciones, se mejora la resistencia a la insulina en las células grasas, lo que da lugar a una reducción de la hidrólisis de triglicéridos y, en consecuencia, una reducción de los ácidos grasos libres en la sangre.

"Trastorno metabólico" se refiere a una afección caracterizada por una alteración o problema en uno o más procesos metabólicos en el cuerpo. Los trastornos metabólicos incluyen, sin carácter limitante, hiperglucemia, prediabetes, diabetes, diabetes de tipo 1, diabetes de tipo 2, obesidad, dislipidemia diabética, síndrome metabólico e hiperinsulinemia. "Diabetes" o "diabetes mellitus" se refiere a una enfermedad en la cual el cuerpo no produce o

utiliza de manera apropiada la insulina, lo que da como resultado niveles de glucosa en sangre anómalamente elevados. En ciertas realizaciones, la diabetes es la diabetes tipo 1. En ciertas realizaciones, la diabetes es la diabetes tipo 2.

5 "Prediabetes" se refiere a una afección en la cual los niveles de glucosa en sangre de un sujeto son mayores que en un sujeto con niveles de glucosa en sangre normales pero menores y no lo suficientemente elevados para un diagnóstico de diabetes.

10 "Diabetes de tipo 1" se refiere a la diabetes caracterizada por una pérdida de células beta productoras de insulina de los islotes pancreáticos de Langerhans lo que conduce a una deficiencia de insulina (también conocida como diabetes mellitus dependiente de insulina o IDDM). La
15 diabetes de tipo 1 puede afectar a niños o adultos, pero normalmente aparece entre las edades de 10 y 16.

"Diabetes de tipo 2" se refiere a la diabetes caracterizada por la resistencia a la insulina y una deficiencia de insulina relativa (también conocida como
20 diabetes mellitus de tipo 2 y denominada previamente diabetes mellitus de tipo 2, diabetes no dependiente de la insulina (NIDDM), diabetes relacionada con la obesidad o diabetes de aparición en adultos).

"Obesidad" se refiere a una cantidad excesivamente
25 elevada de tejido adiposo o grasa corporal en relación con la masa magra corporal. La cantidad de grasa corporal (o adiposidad) incluye tanto la distribución de grasa a lo largo del cuerpo como el tamaño de los depósitos de tejido adiposo. La distribución de grasa corporal se puede estimar mediante
30 medidas de los pliegues de la piel, relaciones entre las circunferencias de la cintura y la cadera o técnicas tales

como el ultrasonido, tomografía computarizada u obtención de imágenes por resonancia magnética. De acuerdo con el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades, los individuos con un índice de masa corporal (IMC) igual o superior a 30 se consideran obesos.

"Dislipidemia diabética" o "diabetes de tipo 2 con dislipidemia" se refiere a una afección caracterizada por la diabetes de tipo 2, HDL-C reducido, triglicéridos séricos elevados y partículas LDL pequeñas y densas elevadas.

"Síndrome metabólico" se refiere a una afección caracterizada por una agrupación de factores de riesgo lipídicos y no lipídicos de origen metabólico. En ciertas realizaciones, se identifica el síndrome metabólico por la presencia de 3 factores cualesquiera de entre los siguientes: circunferencia de la cintura superior a 102 cm en hombres o superior a 88 cm en mujeres; triglicéridos séricos de al menos 150 mg/dL; HDL-C inferior a 40 mg/dL en hombres o inferior a 50 mg/dL en mujeres; presión sanguínea de al menos 130/85 mmHg; y glucosa en ayunas de al menos 110 mg/dL. Estos determinantes se pueden medir fácilmente en la práctica clínica (*JAMA*, 2001, 285: 2486-2497).

"Esteatosis" se refiere a una afección caracterizada por la acumulación excesiva de triglicéridos en los hepatocitos.

"Esteatohepatitis" se refiere a la esteatosis con inflamación.

"Enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD)" se refiere a una afección caracterizada por la acumulación de grasa en el hígado en sujetos con un consumo de alcohol pequeño o nulo. En ciertas realizaciones, la NAFLD se refiere a la resistencia a la insulina y al síndrome metabólico.

"Esteatohepatitis no alcohólica (NASH)" se refiere a una afección caracterizada por la acumulación de grasa en el hígado, combinada con la inflamación y fibrosis hepática. En ciertas realizaciones, la NASH es el resultado de un empeoramiento progresivo de la NAFLD.

"Esteatohepatitis alcohólica (ASH)" se refiere a una afección inducida por el alcohol caracterizada por la acumulación de grasa en el hígado, combinada con la inflamación y fibrosis hepática.

"Prueba de tolerancia a la glucosa" o "GTT" se refiere a una prueba realizada para determinar la rapidez con la que se retira la glucosa de la sangre. Normalmente, la prueba conlleva la administración de glucosa y después la medida de los niveles de glucosa en sangre en intervalos a lo largo de un periodo de tiempo. "IPGTT" se refiere a una GTT realizada tras la inyección intraperitoneal de glucosa. "OGTT" se refiere a una GTT realizada tras la administración oral de glucosa. En ciertas realizaciones, se utiliza una GTT para determinar si existe prediabetes. En ciertas realizaciones, se utiliza una GTT para identificar a un sujeto con diabetes. En ciertas realizaciones, se utiliza una GTT para identificar a un sujeto en riesgo de desarrollar diabetes. En ciertas realizaciones, se utiliza una GTT para identificar a un sujeto que padece resistencia a la insulina.

"Prueba de tolerancia a la insulina (ITT)" se refiere a una prueba realizada para medir la sensibilidad a la insulina mediante la respuesta hormonal al estrés de un nivel de azúcar en sangre bajo. En ciertas realizaciones, se utiliza una ITT como prueba para determinar si existe prediabetes. En ciertas realizaciones, se utiliza una ITT para identificar a un sujeto con diabetes. En ciertas

realizaciones, se utiliza una ITT para identificar a un sujeto en riesgo de desarrollar diabetes. En ciertas realizaciones, se utiliza una ITT para identificar a un sujeto que padece resistencia a la insulina.

5 "Tasa metabólica" se refiere a la tasa del metabolismo o la cantidad de energía que se gasta en un período dado. "Tasa metabólica basal" se refiere a la cantidad de energía gastada en reposo en un entorno con una temperatura neutral, en el estado posabsorbente (lo que significa que el sistema
10 digestivo está inactivo, lo que requiere aproximadamente doce horas de ayuno en los seres humanos); la liberación de energía en este estado es suficiente únicamente para el funcionamiento de los órganos vitales tales como el corazón, pulmones, cerebro y el resto del sistema nervioso, hígado,
15 riñones, órganos sexuales, músculos y la piel.

"Ácido nucleico diana" se refiere a un ácido nucleico respecto al cual se diseña la hibridación de un oligonucleótido.

"ARN diana" se refiere a un ARN respecto al cual es
20 complementario un oligonucleótido.

"Tener como diana" se refiere al proceso de diseño y selección de una secuencia de nucleobases que se hibridará con un ácido nucleico diana.

"Que tiene como diana" significa que se dispone de una
25 secuencia de nucleobases que permitirá la hibridación con un ácido nucleico diana.

"Unión diana" se refiere a la interacción de un oligonucleótido con el microARN respecto al cual es complementario, de una manera que cambia la actividad,
30 expresión o nivel del microARN. En ciertas realizaciones, una unión diana se refiere a un anti-miR que interactúa con

el microARN respecto al cual es complementario, de manera que se inhibe la actividad del microARN.

"Modulación" se refiere a una perturbación de la función, cantidad o actividad. En ciertas realizaciones, la modulación se refiere a un incremento en la función, cantidad o actividad. En ciertas realizaciones, la modulación se refiere a un descenso en la función, cantidad o actividad.

"Expresión" se refiere a cualesquiera funciones y etapas mediante las cuales la información codificada por un gen se convierte en las estructuras presentes en la célula y que operan en ella.

"Sitio diana 5'" se refiere a la nucleobase de un ácido nucleico diana que es complementaria a la nucleobase más cercana al extremo 3' de un oligonucleótido particular.

"Sitio diana 3'" se refiere a la nucleobase de un ácido nucleico diana que es complementaria a la nucleobase más cercana al extremo 5' de un oligonucleótido particular.

"Región" se refiere a una porción de nucleósidos unidos dentro de un ácido nucleico. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a una región de un ácido nucleico diana. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, un oligonucleótido es complementario a una región de una secuencia de un tallo-bucle de microARN. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido es totalmente complementario a una región de una secuencia de un tallo-bucle de microARN.

"Segmento" se refiere a una región más pequeña o a una subporción de esta.

"microARN" se refiere a un ARN endógeno no codificante con una longitud de entre 18 y 25 nucleobases, que es el producto de la escisión de un pre-microARN por parte de la

enzima Dicer. Se pueden consultar ejemplos de microARN maduros en la base de datos de microARN conocida como miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/>). En ciertas realizaciones, microARN se abrevia como "microARN" o "miR".

5 "Pre-microARN" o "pre-miR" se refiere a un ARN no codificante que tiene una estructura de horquilla, que es el producto de escisión de un pri-miR por parte de la ribonucleasa específica de ARN bicatenario conocida como Drosha.

10 "Secuencia tallo-bucle" se refiere a un ARN que tiene una estructura de horquilla que contiene una secuencia de microARN maduro. Las secuencias de pre-microARN y las secuencias tallo-bucle pueden superponerse. Se pueden consultar ejemplos de secuencias de tallo-bucle en la base
15 de datos de microARN conocida como miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/>).

 "Pri-microARN" o "pri-miR" se refiere a un ARN no codificante que tiene una estructura de horquilla que es un sustrato para la ribonucleasa específica de ARN bicatenario
20 Drosha.

 "Precursor de microARN" se refiere a un transcrito que se origina a partir de un ADN genómico y que comprende un ARN no codificante, estructurado que comprende una o más secuencias de microARN. Por ejemplo, en ciertas
25 realizaciones, un precursor de microARN es un pre-microARN. En ciertas realizaciones, un precursor de microARN es un pri-microARN.

 "Transcrito regulado por microARN" se refiere a un transcrito que está regulado por un microARN.

30 "Transcrito monocistrónico" se refiere a un precursor de microARN que contiene una secuencia de microARN única.

"Transcrito policistrónico" se refiere a un precursor de microARN que contiene dos o más secuencias de microARN.

"Secuencia seminal" se refiere a una secuencia de nucleobases que comprende de 6 a 8 nucleobases contiguas de las nucleobases 1 a 9 del extremo 5' de una secuencia de microARN maduro.

"Secuencia que se empareja con la secuencia seminal" se refiere a una secuencia de nucleobases que es complementaria a una secuencia seminal y tiene la misma longitud que la secuencia seminal.

"Anti-miR" se refiere a un oligonucleótido que tiene una secuencia de nucleobases complementaria a un microARN. En ciertas realizaciones, un anti-miR es un oligonucleótido modificado.

"Anti-miR-103/107" se refiere a un oligonucleótido que tiene una secuencia de nucleobases complementaria a miR-103 y miR107. En ciertas realizaciones, un anti-miR-103/107 es complementario en un 90% a miR-103 y miR-107. En algunas de tales realizaciones, un oligonucleótido anti-miR-103/107 está constituido por 10 nucleósidos unidos donde 9 nucleótidos unidos son totalmente complementarios a miR-103 y miR-107 y un nucleósido corresponde a un emparejamiento erróneo. En algunas de tales realizaciones, el emparejamiento erróneo está ubicado en el extremo 3' del oligonucleótido anti-miR-103/107. En ciertas realizaciones, un anti-miR-103/107 es complementario en al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90% o es complementario en al menos un 95% a miR-103 y miR-107. En ciertas realizaciones, un anti-miR-103/107 es un oligonucleótido modificado.

"Oligonucleótido totalmente modificado" se refiere a que cada nucleobase, cada azúcar y/o cada enlace internucleosídico está modificado.

5 "Oligonucleótido uniformemente modificado" se refiere a que cada nucleobase, cada azúcar y/o cada enlace internucleosídico tiene la misma modificación a lo largo de todo el oligonucleótido modificado.

10 "Gápmero" se refiere a un oligonucleótido modificado que tiene una región interna de β -D-desoxirribonucleósidos unidos ubicados entre dos regiones externas de nucleósidos unidos, donde cada nucleósido de cada región externa comprende un resto de tipo azúcar modificado. Los β -D-desoxirribonucleósidos pueden tener o no una nucleobase modificada.

15 "Gap" es una región interna de un gápmero que está ubicado entre las regiones externas.

"Segmento lateral" es una región externa de un gápmero que es adyacente a un extremo 5' o 3' de la región interna del gápmero.

20 "Gápmero simétrico" significa que cada nucleósido de cada región externa comprende la misma modificación del azúcar.

25 "Gápmero asimétrico" significa que cada nucleósido de una región externa comprende una primera modificación del azúcar y cada nucleósido de la otra región externa comprende una segunda modificación del azúcar.

30 "Secuencia de nucleobases" se refiere al orden de nucleobases contiguas en un ácido nucleico o compuesto oligomérico, normalmente enumeradas en una orientación 5' a 3', independiente de cualquier modificación de la nucleobase, enlace y/o azúcar.

"Nucleobases contiguas" se refiere a las nucleobases inmediatamente adyacentes entre sí en un ácido nucleico.

"Complementariedad de nucleobases" se refiere a la capacidad de dos nucleobases para emparejarse de manera no
5 covalente mediante enlaces de hidrógeno.

"Complementariedad" significa que un ácido nucleico es capaz de hibridarse con otro ácido nucleico u oligonucleótido. En ciertas realizaciones, la complementariedad se refiere a un oligonucleótido capaz de hibridarse con un ácido nucleico
10 diana.

"Totalmente complementario" significa que cada nucleobase de un oligonucleótido es capaz de emparejarse con una nucleobase en cada posición correspondiente en un ácido nucleico diana. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido
15 es totalmente complementario a un microARN, es decir, cada nucleobase del oligonucleótido es complementaria a una nucleobase en la posición correspondiente en el microARN. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido donde cada nucleobase es complementaria con una nucleobase dentro de
20 una región de una secuencia tallo-bucle de microARN es totalmente complementario con la secuencia tallo-bucle del microARN.

"Porcentaje de complementaridad" se refiere al porcentaje de nucleobases de un oligonucleótido que son
25 complementarias a una porción de la misma longitud de un ácido nucleico diana. El porcentaje de complementaridad se calcula dividiendo el número de nucleobases del oligonucleótido que son complementarias a las nucleobases en las posiciones correspondientes en el ácido nucleico diana
30 por el número total de nucleobases del oligonucleótido.

"Porcentaje de identidad" se refiere al número de nucleobases en un primer ácido nucleico que son idénticas a las nucleobases en las posiciones correspondientes en un segundo ácido nucleico dividido por el número total de nucleobases en el primer ácido nucleico. En ciertas realizaciones, el primer ácido nucleico es un microARN y el segundo ácido nucleico es un microARN. En ciertas realizaciones, el primer ácido nucleico es un oligonucleótido y el segundo ácido nucleico es un oligonucleótido.

"Hibridar" se refiere a la unión de ácidos nucleicos complementarios que ocurre gracias a la complementariedad de las nucleobases.

"Emparejamiento erróneo" se refiere a una nucleobase de un primer ácido nucleico que no es capaz de emparejarse con una nucleobase en una posición correspondiente de un segundo ácido nucleico.

"Idéntico" en el contexto de las secuencias de nucleobases, significa que tiene la misma secuencia de nucleobases, independientemente de las modificaciones de la nucleobase, enlace y/o azúcar e independientemente del estado de metilación de cualesquiera pirimidinas presentes.

"miR-103" se refiere al miARN maduro que tiene la secuencia de nucleobases expuesta en la SEQ ID NO: 1 (AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA).

"miR-107" se refiere al miARN maduro que tiene la secuencia de nucleobases expuesta en la SEQ ID NO: 2 (AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA). "Secuencia tallo-bucle miR-103-1" se refiere al precursor de miR-103 que tiene la secuencia de nucleobases expuesta en la SEQ ID NO: 3 (UACUGCCCUC

GGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUUGCAUAUGGAUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUG
AAGGCAUUG).

5 "miR-103-2" se refiere al precursor de miR-103 que tiene
la secuencia de nucleobases expuesta en la SEQ ID NO: 4
(UUGUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUGUAGCAUUCAGGU
CAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGAAAGAACCA).

10 "Secuencia tallo-bucle miR-107" se refiere al
precursor de miR-107 que tiene la secuencia de nucleobases
expuesta en la SEQ ID NO: 5 (CUCUCUGCUUUCAGCUUCUUUACAGUGU
UGCCUUGUGGCAUGGAGUUCAAGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCAAAGCACAGA).

"miR-103/miR-107" se refiere al microARN que tiene la
secuencia de nucleobases expuesta en la SEQ ID NO: 1 o SEQ
ID NO: 2.

15 "Compuesto oligomérico" se refiere a un compuesto que
comprende una pluralidad de subunidades monoméricas unidas.
Los compuestos oligoméricos incluyen los oligonucleótidos.

20 "Oligonucleótido" se refiere a un compuesto que
comprende una pluralidad de nucleósidos unidos, donde cada
uno de los cuales puede estar modificado o no modificado,
independientemente unos de otros.

"Unión internucleosídica de origen natural" se refiere
a un enlace de tipo fosfodiéster 3' a 5' entre nucleósidos.

"Enlace internucleosídico" se refiere a un enlace
covalente entre nucleósidos adyacentes.

25 "Nucleósidos unidos" se refiere a nucleósidos unidos
mediante un enlace covalente.

"Nucleobase" se refiere a un resto heterocíclico capaz
de emparejarse de manera no covalente con otra nucleobase.

30 "Nucleósido" se refiere a una nucleobase unida a un
resto de tipo azúcar.

"Nucleótido" se refiere a un nucleósido que tiene un grupo fosfato unido covalentemente a la porción de tipo azúcar de un nucleósido.

5 "Compuesto que comprende un oligonucleótido modificado constituido por" un número de nucleósidos unidos se refiere a un compuesto que incluye un oligonucleótido modificado que tiene el número especificado de nucleósidos unidos. Por lo tanto, el compuesto puede incluir sustituyentes o conjugados adicionales. A menos que se indique de otra manera, el
10 compuesto no incluye ningún nucleósido adicional aparte de los del oligonucleótido modificado.

"Oligonucleótido modificado" se refiere a un oligonucleótido que tiene una o más modificaciones respecto a un extremo, azúcar, nucleobase y/o enlace
15 internucleosídico de origen natural. Un oligonucleótido modificado puede comprender nucleósidos no modificados.

Una "región de un oligonucleótido modificado" se refiere a una porción expuesta como oligo1, oligo2 o oligo3 en las estructuras de los oligonucleótidos modificados que se muestran en la presente (p. ej., [oligo1]-[x-N]_m-x-[oligo2]
20 u [oligo1]-[x-N]_m-x-[oligo2]-[x-N]_m-x-[oligo3]). Una región de un oligonucleótido modificado puede ser un anti-miR-103/107. En algunas realizaciones, cada región de un oligonucleótido modificado es un anti-miR-103/107. Por lo
25 tanto, en algunas realizaciones, un oligonucleótido modificado puede tener la estructura [anti-miR-103/107] -[x-N]_m-x-[anti-miR-103/107].

"Oligonucleótido modificado monocatenario" se refiere a un oligonucleótido modificado que no está hibridado con
30 una hebra complementaria.

"Nucleósido modificado" se refiere a un nucleósido que tiene cualquier cambio respecto a un nucleósido de origen natural. Un nucleósido modificado puede tener un azúcar modificado y una nucleobase no modificada. Un nucleósido modificado puede tener un azúcar modificado y una nucleobase modificada. Un nucleósido modificado puede tener un azúcar natural y una nucleobase modificada.

"Nucleósido modificado en la posición 2'" se refiere a un nucleósido que comprende un azúcar con cualquier modificación en la posición equivalente a la posición 2' del anillo de furanosilo, tal como se enumeran las posiciones en la 2-desoxirribosa o ribosa. Se sobreentenderá que los nucleósidos modificados en la posición 2' incluyen, sin carácter limitante, nucleósidos que comprenden restos de tipo azúcar bicíclico.

"Enlace internucleosídico modificado" se refiere a cualquier cambio respecto a un enlace internucleosídico de origen natural.

"Enlace internucleosídico de tipo fosforotioato" se refiere a cualquier enlace entre nucleósidos en los que uno de los átomos que no hacen de puente es un átomo de azufre.

Un "enlace de tipo fosforotioato" se refiere a un enlace entre dos restos químicos que tiene la misma estructura que un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato, p. ej., -OP(O)(S)O-.

Un "enlace de tipo fosfodiéster" se refiere a un enlace entre dos restos químicos que tiene la misma estructura que un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster, p. ej., -OP(O)₂O-.

"Nucleobase no modificada" se refiere a las bases heterocíclicas de origen natural de ARN o ADN: las bases

púricas adenina (A) y guanina (G) y las bases pirimidínicas timina (T), citosina (C) (incluido 5-metilcitosina) y uracilo (U).

5 "5-Metilcitosina" se refiere a una citosina que comprende un grupo metilo enlazado a la posición 5.

"Nucleobase modificada" se refiere a cualquier nucleobase que no es una nucleobase no modificada.

10 "Furanosilo" se refiere a una estructura que comprende un anillo de 5 miembros constituido por cuatro átomos de carbono y un átomo de oxígeno.

"Furanosilo de origen natural" se refiere a un ribofuranosilo tal como se detecta en un ARN de origen natural o un desoxirribofuranosilo tal como se detecta en un ADN de origen natural.

15 "Resto de tipo azúcar" se refiere a un furanosilo de origen natural o un resto de tipo azúcar modificado.

"Resto de tipo azúcar modificado" se refiere a un resto de tipo azúcar sustituido o un sustituto de tipo azúcar.

20 "Resto de tipo azúcar sustituido" se refiere a un furanosilo que no es un furanosilo de origen natural. Los restos de tipo azúcar sustituido incluyen, sin carácter limitante, restos de tipo azúcar que comprenden modificaciones en la posición 2', la posición 5' y/o la posición 4' de un furanosilo de origen natural. Ciertos
25 restos de tipo azúcar sustituido son restos de tipo azúcar bicíclico.

"Sustituto de tipo azúcar" se refiere a una estructura que no comprende un furanosilo y que es capaz de reemplazar el furanosilo de origen natural de un nucleósido, de manera
30 que el nucleósido resultante sea capaz de (1) la incorporación en un oligonucleótido y (2) hibridarse con un

nucleósido complementario. Tales estructuras incluyen cambios relativamente sencillos en el furanosilo, tales como anillos que comprenden un número de átomos diferente (p. ej., anillos de 4, 6 o 7 miembros); reemplazo del oxígeno del furanosilo por un átomo que no es oxígeno (p. ej., carbono, azufre o nitrógeno); o tanto un cambio en el número de átomos como un reemplazo del oxígeno. Tales estructuras también pueden comprender sustituciones que se corresponden con las descritas para los restos de tipo azúcar sustituido (p. ej., sustitutos de tipo azúcar bicíclico carbocíclico de 6 miembros que comprenden opcionalmente sustituyentes adicionales). Los sustitutos de tipo azúcar también incluyen reemplazos del azúcar más complejos (p. ej., los sistemas no anulares del ácido nucleico peptídico). Los sustitutos de tipo azúcar incluyen, sin carácter limitante, morfolino, ciclohexenilo y ciclohexitoles.

" β -D-Desoxirribosa" se refiere a un resto de tipo azúcar del ADN de origen natural.

" β -D-Ribosa" se refiere a un resto de tipo azúcar del ARN de origen natural.

"2'-O-Metilazúcar" o "2'-OMe-azúcar" se refiere a un azúcar que tiene una modificación de tipo O-metílica en la posición 2'.

"2'-O-Metoxietilazúcar" o "2'-MOE-azúcar" se refiere a un azúcar que tiene una modificación de tipo O-metoxietílica en la posición 2'.

"2'-Fluoro" o "2'-F" se refiere a un azúcar que tiene una modificación de tipo fluoro en la posición 2'.

"Resto de tipo azúcar bicíclico" se refiere a un resto de tipo azúcar modificado que comprende un anillo de 4 a 7 miembros (que incluye, sin carácter limitante, un furanosilo)

que comprende un puente que conecta dos átomos del anillo de 4 a 7 miembros para formar un segundo anillo, lo cual da como resultado una estructura bicíclica. En ciertas realizaciones, el anillo de 4 a 7 miembros es un anillo de tipo azúcar. En ciertas realizaciones, el anillo de 4 a 7 miembros es un furanosilo. En ciertas realizaciones de este tipo, el puente conecta el carbono de la posición 2' y el carbono de la posición 4' del furanosilo. Los ejemplos no limitantes de restos de tipo azúcar bicíclico incluyen LNA, ENA, cEt, S-cEt y R-cEt.

"Resto de tipo azúcar de un ácido nucleico bloqueado (LNA, por sus siglas en inglés)" se refiere a un resto de tipo azúcar sustituido que comprende un puente $(CH_2)-O$ entre los átomos 4' y 2' del anillo de furanosa.

"Resto de tipo azúcar ENA" se refiere a un resto de tipo azúcar sustituido que comprende un puente $(CH_2)_2-O$ entre los átomos 4' y 2' del anillo de furanosa.

"Resto de tipo etilazúcar restringido (cEt)" se refiere a un resto de tipo azúcar sustituido que comprende un puente $CH(CH_3)-O$ entre los átomos 4' y 2' del anillo de furanosa. En ciertas realizaciones, el puente $CH(CH_3)-O$ está restringido en la orientación S. En ciertas realizaciones, el puente $CH(CH_3)-O$ está restringido en la orientación R.

"Resto de tipo azúcar S-cEt" se refiere a un resto de tipo azúcar sustituido que comprende un puente $CH(CH_3)-O$ con una restricción S entre los átomos 4' y 2' del anillo de furanosa.

"Resto de tipo azúcar R-cEt" se refiere a un resto de tipo azúcar sustituido que comprende un puente $CH(CH_3)-O$ con una restricción R entre los átomos 4' y 2' del anillo de furanosa.

"2'-O-Metilnucleósido" se refiere a un nucleósido modificado que tiene una modificación 2'-O-metílica en el azúcar.

5 "2'-O-Metoxietilnucleósido" se refiere a un nucleósido modificado que tiene una modificación 2'-O-metoxietílica en el azúcar. Un 2'-O-metoxietilnucleósido puede comprender una nucleobase modificada o no modificada.

10 "2'-Fluoronucleósido" se refiere a un nucleósido modificado que tiene una modificación de tipo 2'-fluoro en el azúcar. Un 2'-fluoronucleósido puede comprender una nucleobase modificada o no modificada.

15 "Nucleósido bicíclico" se refiere a un nucleósido modificado que tiene un resto de tipo azúcar bicíclico. Un nucleósido bicíclico puede tener una nucleobase modificada o no modificada.

"Nucleósido cEt" se refiere a un nucleósido que comprende un resto de tipo azúcar cEt. Un nucleósido cEt puede comprender una nucleobase modificada o no modificada.

20 "Nucleósido S-cEt" se refiere a un nucleósido que comprende un resto de tipo azúcar S-cEt.

"Nucleósido R-cEt" se refiere a un nucleósido que comprende un resto de tipo azúcar R-cEt.

25 "Nucleósido no bicíclico" se refiere a un nucleósido que tiene un azúcar que no es un azúcar bicíclico. En ciertas realizaciones, un nucleósido no bicíclico comprende un azúcar de origen natural. En ciertas realizaciones, un nucleósido no bicíclico comprende un azúcar modificado. En ciertas realizaciones, un nucleósido no bicíclico es un β -D-desoxirribonucleósido. En ciertas realizaciones, un
30 nucleósido no bicíclico es un 2-O-metoxietilnucleósido.

" β -D-Desoxirribonucleósido" se refiere a un nucleósido del ADN de origen natural.

" β -D-Ribonucleósido" se refiere a un nucleósido del ARN de origen natural.

5 "Nucleósido LNA" se refiere a un nucleósido que comprende un resto de tipo azúcar LNA.

"Nucleósido ENA" se refiere a un nucleósido que comprende un resto de tipo azúcar ENA.

10 "Motivo" se refiere a un patrón de nucleobases, azúcares y/o enlaces internucleosídicos modificados y/o no modificados en un oligonucleótido. En ciertas realizaciones, un motivo es un patrón de nucleósidos.

15 "Patrón de nucleósidos" se refiere a un patrón de modificaciones de los nucleósidos en un oligonucleótido o una región de este. Un patrón de nucleósidos es un motivo que describe la disposición de las modificaciones de los nucleósidos en un oligonucleótido.

20 "Modificación estabilizadora" se refiere a una modificación en un nucleósido que proporciona una mejor estabilidad al oligonucleótido modificado, en presencia de nucleasas, respecto a la que proporcionan los 2'-desoxinucleósidos unidos por enlaces internucleosídicos de tipo fosfodiéster. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, una modificación estabilizadora es una modificación
25 nucleosídica estabilizadora. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, una modificación estabilizadora es una modificación del enlace internucleosídico.

30 "Nucleósido estabilizador" se refiere a un nucleósido modificado para proporcionar una mayor estabilidad frente a nucleasas a un oligonucleótido respecto a la que proporciona

un 2'-desoxinucleósido. En una realización, un nucleósido estabilizador es un nucleósido modificado en la posición 2'.

“Enlace internucleosídico estabilizador” se refiere a un enlace internucleosídico que proporciona una mejor
5 estabilidad frente a nucleasas a un oligonucleótido respecto a la que proporciona un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster. En una realización, un enlace internucleosídico estabilizador es un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato.

10 Un “grupo conector”, tal como se utiliza en la presente, se refiere a un átomo o grupo de átomos que enlazan una primera entidad química con una segunda entidad química mediante uno o más enlaces covalentes.

Un “conector”, tal como se utiliza en la presente, se
15 refiere a un átomo o grupo de átomos que enlazan uno o más ligandos con un nucleósido modificado o no modificado mediante uno o más enlaces covalentes. El nucleósido modificado o no modificado puede ser parte de un oligonucleótido modificado tal como se describe en la
20 presente o puede estar enlazado a un oligonucleótido modificado mediante un enlace de tipo fosfodiéster o fosforotioato. En algunas realizaciones, el conector enlaza uno o más ligandos al extremo 3' de un oligonucleótido modificado. En algunas realizaciones, el conector enlaza uno
25 o más ligandos al extremo 5' de un oligonucleótido modificado. En algunas realizaciones, el conector enlaza uno o más ligandos a un nucleósido modificado o no modificado que se enlaza al extremo 3' de un oligonucleótido modificado. En
30 algunas realizaciones, el conector enlaza uno o más ligandos a un nucleósido modificado o no modificado que se enlaza al extremo 5' de un oligonucleótido modificado. Cuando el

conector enlaza uno o más ligandos con el extremo 3' de un oligonucleótido modificado o con un nucleósido modificado o no modificado enlazado al extremo 3' de un oligonucleótido modificado, en algunas realizaciones, el punto de enlace para el conector puede ser el carbono 3' de un resto de tipo azúcar modificado o no modificado. Cuando el conector enlaza uno o más ligandos con el extremo 5' de un oligonucleótido modificado o con un nucleósido modificado o no modificado enlazado al extremo 5' de un oligonucleótido modificado, en algunas realizaciones, el punto de enlace para el conector puede ser el carbono 5' de un resto de tipo azúcar modificado o no modificado.

"Sujeto" se refiere a un animal humano o no humano seleccionado para el tratamiento o la terapia.

"Sujeto que lo necesita" se refiere al estado en el cual se identifica un sujeto como un sujeto que necesita una terapia o tratamiento.

"Sujeto del que se sospecha que tiene" se refiere a un sujeto que muestra uno o más indicadores clínicos de una enfermedad.

"Administrar" significa proporcionar un agente o composición farmacéuticos a un sujeto e incluye, sin carácter limitante, la administración por parte de un profesional médico y la autoadministración.

"Administración parenteral" se refiere a la administración mediante inyección o infusión.

La administración parenteral incluye, sin carácter limitante, la administración subcutánea, la administración intravenosa o la administración intramuscular.

"Administración subcutánea" se refiere a la administración justo por debajo de la piel.

"Administración intravenosa" se refiere a la administración en una vena.

5 "Administración intracardiaca" se refiere a la administración en el corazón. En ciertas realizaciones, la administración intracardiaca se produce por medio de un catéter. En ciertas realizaciones, la administración intracardiaca se produce por medio de cirugía a corazón abierto.

10 "Administración pulmonar" se refiere a la administración a los pulmones.

"Administrado simultáneamente" se refiere a la coadministración de dos agentes de una manera en la cual los efectos farmacológicos de ambos se manifiestan en el paciente a la vez. La administración simultánea no requiere que ambos
15 agentes se administren en una única composición farmacéutica en la misma forma farmacéutica o mediante la misma vía de administración. Los propios efectos de ambos agentes no necesitan manifestarse a la vez. Únicamente es necesario que los efectos se superpongan durante un período de tiempo y no
20 es necesario que sean coextensivos.

"Duración" se refiere al periodo de tiempo durante el cual se prolonga una actividad o evento. En ciertas realizaciones, la duración del tratamiento es el periodo de tiempo durante el cual se administran las dosis de un agente
25 farmacéutico o composición farmacéutica.

"Terapia" se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad. En ciertas realizaciones, la terapia incluye, sin carácter limitante, quimioterapia, radioterapia o administración de un agente farmacéutico.

30 "Tratamiento" se refiere a la aplicación de uno o más procedimientos específicos utilizados para curar o mejorar

una enfermedad. En ciertas realizaciones, el procedimiento específico es la administración de uno o más agentes farmacéuticos.

5 "Mejora" se refiere a la reducción de la gravedad de al menos un indicador de una afección o enfermedad. En ciertas realizaciones, la mejora incluye un retraso o una ralentización en la evolución de uno o más indicadores de una afección o enfermedad. La gravedad de los indicadores se puede determinar mediante medidas subjetivas u objetivas que
10 conocen los expertos en la técnica.

"En riesgo de desarrollar" se refiere al estado en el cual un sujeto está predispuesto a desarrollar una afección o enfermedad. En ciertas realizaciones, un sujeto que está en riesgo de desarrollar una afección o enfermedad muestra
15 uno o más síntomas de la afección o enfermedad pero no muestra un número suficiente de síntomas para que se le diagnostique la afección o enfermedad. En ciertas realizaciones, un sujeto que está en riesgo de desarrollar una afección o enfermedad muestra uno o más síntomas de la
20 afección o enfermedad pero en un grado menor que el necesario para que se le diagnostique la afección o enfermedad.

"Prevenir la aparición de" se refiere a prevenir el desarrollo de una afección o enfermedad en un sujeto que está en riesgo de desarrollar la enfermedad o afección. En
25 ciertas realizaciones, un sujeto en riesgo de desarrollar la enfermedad o afección recibe un tratamiento similar al tratamiento recibido por un sujeto que ya padece la enfermedad o afección.

"Retrasar la aparición de" se refiere a retrasar el desarrollo de una afección o enfermedad en un sujeto que
30 está en riesgo de desarrollar la enfermedad o afección. En

ciertas realizaciones, un sujeto en riesgo de desarrollar la enfermedad o afección recibe un tratamiento similar al tratamiento recibido por un sujeto que ya padece la enfermedad o afección.

5 "Agente terapéutico" se refiere a un agente farmacéutico utilizado para la cura, mejora o prevención de una enfermedad.

 "Dosis" se refiere a la cantidad especificada de un agente farmacéutico proporcionado en una administración
10 única. En ciertas realizaciones, se puede administrar una dosis en dos o más inyecciones intravenosas rápidas, comprimidos o inyecciones. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, en las que es deseable una administración subcutánea, la dosis deseada requiere un volumen que no se
15 adapta fácilmente a una inyección única. En tales realizaciones, se pueden utilizar dos o más inyecciones para conseguir la dosis deseada. En ciertas realizaciones, se puede administrar una dosis en dos o más inyecciones para minimizar la reacción en el sitio de la inyección en un
20 individuo.

 "Unidad de dosificación" se refiere a una forma en la cual se proporciona un agente farmacéutico. En ciertas realizaciones, una unidad de dosificación es un vial que contiene un oligonucleótido liofilizado. En ciertas
25 realizaciones, una unidad de dosificación es un vial que contiene un oligonucleótido reconstituido.

 "Cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un agente farmacéutico que proporciona un beneficio terapéutico a un animal.

30 "Composición farmacéutica" se refiere a una mezcla de sustancias adecuada para su administración a un individuo

que incluye un agente farmacéutico. Por ejemplo, una composición farmacéutica puede comprender una solución acuosa estéril.

5 "Agente farmacéutico" se refiere a una sustancia que proporciona un efecto terapéutico cuando se administra a un sujeto.

"Principio activo farmacéutico" se refiere a la sustancia en una composición farmacéutica que proporciona un efecto deseado.

10 "Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal fisiológica y farmacéuticamente aceptable de un compuesto que se proporciona en la presente, es decir, una sal que mantiene la actividad biológica deseada del compuesto y no tiene efectos toxicológicos indeseados cuando se administra
15 a un sujeto. Las sales farmacéuticamente aceptables a modo de ejemplo no limitante de los compuestos que se proporcionan en la presente incluyen las formas salinas con sodio y potasio. El término "compuesto", tal como se utiliza en la presente, incluye las sales farmacéuticamente aceptables de
20 este a menos que se indique específicamente lo contrario.

"Función hepática mejorada" se refiere al cambio en la función hepática en dirección a los límites normales. En ciertas realizaciones, la función hepática se evalúa midiendo moléculas que se encuentran en la sangre del sujeto.
25 Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la función hepática mejorada se mide mediante la reducción en sangre de los niveles de la transaminasa hepática.

"Perfil de seguridad aceptable" se refiere a un patrón de efectos secundarios que está dentro de los límites
30 clínicamente aceptables.

"Efecto secundario" se refiere a una respuesta fisiológica atribuible a un tratamiento y que no pertenece a los efectos deseados. En ciertas realizaciones, los efectos secundarios incluyen, sin carácter limitante, reacciones en el sitio de la inyección, anomalías en la prueba de la función hepática, anomalías de la función renal, toxicidad hepática, toxicidad renal, anomalías en el sistema nervioso central y miopatías. Tales efectos secundarios se pueden detectar directa o indirectamente. Por ejemplo, unos niveles de una aminotransferasa en suero aumentados pueden indicar toxicidad hepática o una anomalía en la función hepática. Por ejemplo, un aumento de la bilirrubina puede indicar toxicidad hepática o una anomalía en la función hepática.

"Reacción en el sitio de la inyección" se refiere a la inflamación o eritema anómalo de la piel en el sitio de la inyección en un individuo.

"Cumplimiento del sujeto" se refiere a la adhesión por parte del sujeto a una terapia recomendada o prescrita.

"Cumplir" se refiere a la adhesión por parte de un sujeto a la terapia recomendada.

"Terapia recomendada" se refiere al tratamiento recomendado por un profesional médico para el tratamiento, mejora o prevención de una enfermedad.

Planteamiento general

Los trastornos metabólicos están caracterizados por una o más anomalías en la función metabólica del cuerpo. Ciertos trastornos metabólicos están relacionados con defectos en la manera en la que el cuerpo utiliza la glucosa en sangre, lo que da como resultado niveles anómalamente elevados de glucosa en sangre. Los trastornos metabólicos también pueden estar caracterizados por una deficiencia en la producción de

insulina o una deficiencia en la sensibilidad a la insulina. Los trastornos metabólicos afectan a millones de personas en todo el mundo y pueden ser trastornos potencialmente letales. Por tanto, se necesitan composiciones y un método para
5 tratar, prevenir o retrasar la aparición de los trastornos metabólicos.

La administración de los oligonucleótidos complementarios a miR-103 y/o miR-107 dio como resultado una mejora en los niveles de glucosa en sangre, una disminución
10 de la gluconeogénesis, un aumento de la sensibilidad a la insulina y una reducción del colesterol en plasma. Remítase, p. ej., a la publicación PCT N.º 2010/133970 A1. Se observaron estos efectos en modelos en animales de diabetes/resistencia a la insulina. También se observó una
15 disminución en el peso corporal lo que fue debido a una disminución en la grasa corporal. Ya que miR-103 y miR-107 difieren en una nucleobase, un oligonucleótido que tiene una secuencia complementaria a la secuencia de nucleobases de miR-103 se puede hibridar tanto con miR-103 como con miR-107
20 e inhibir la actividad de ambos. Asimismo, un oligonucleótido que tiene una secuencia complementaria a la secuencia de nucleobases de miR-107 se puede hibridar tanto con miR-103 como con miR-107 e inhibir la actividad de ambos. Por tanto, se puede utilizar oligonucleótidos complementarios a uno de
25 miR-103 y miR-107 o a los dos para conseguir las consecuencias fenotípicas descritas en la presente.

La administración de un compuesto que comprende un oligonucleótido complementario a miR-103, miR-107 o un precursor de estos puede dar como resultado una o más
30 consecuencias clínicamente deseables. Tales consecuencias clínicamente deseables incluyen, sin carácter limitante, una

reducción de los niveles de glucosa en sangre, una reducción de los niveles de hemoglobina Alc (HbA1c), una mejor tolerancia a la glucosa, una mejora en la resistencia a la insulina y una reducción de la gluconeogénesis.

5 En consecuencia, en la presente se proporcionan métodos y composiciones para reducir los niveles de glucosa en sangre, disminuir la gluconeogénesis, mejorar la sensibilidad a la insulina y disminuir el colesterol en plasma. También se proporcionan métodos para tratar,
10 prevenir o retrasar la aparición de los trastornos metabólicos que están relacionados con una elevación de los niveles de glucosa en sangre, un aumento de la gluconeogénesis, una alteración de la sensibilidad a la insulina y un aumento del colesterol en sangre. En ciertas
15 realizaciones, los trastornos metabólicos incluyen, sin carácter limitante, prediabetes, diabetes, incluida la diabetes de tipo 1 o tipo 2, síndrome metabólico, obesidad, dislipidemia diabética, hiperglucemia, hipoglucemia e hiperinsulinemia. En ciertas realizaciones, un sujeto que
20 padece un trastorno metabólico padece la enfermedad por hígado graso. En ciertas realizaciones, las enfermedades por hígado graso incluyen, sin carácter limitante, la enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD), enfermedad por hígado graso alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

25 La presente invención proporciona una estructura novedosa que permite la administración de un compuesto único, el cual comprende un oligonucleótido modificado que comprende dos o más regiones, donde cada una de las cuales tiene como diana un microARN (que pueden ser idénticos o
30 diferentes). El oligonucleótido modificado comprende uno o más enlaces de tipo fosfodiéster y/o nucleósidos no

modificados entre las regiones, lo que permite al menos una degradación parcial del oligonucleótido modificado en sus diferentes regiones, p. ej., en un tejido diana, y de esta manera permite que cada región tenga como diana su diferente
5 microARN respectivo en el tejido diana.

La actividad de un oligonucleótido modificado se basa en el evento de hibridación específico que ocurre entre un oligonucleótido modificado y su ARN diana y produce un criterio de valoración farmacológico deseado. Para que esto
10 ocurra, deben tener lugar ciertos procesos farmacocinéticos, por ejemplo, el suministro de un fármaco inalterado al tejido o célula diana y la entrada del oligonucleótido modificado en la célula que contiene el ARN diana. Los oligonucleótidos modificados pueden estar conjugados con uno o más restos que
15 mejoran el suministro en la célula o tejido diana y/o la captación celular del oligonucleótido, y que en última instancia dan como resultado una intensificación de la potencia. Por ejemplo, se puede lograr una mayor captación celular de los compuestos utilizando conjugados que son
20 ligandos para receptores de la superficie celular. La unión de un ligando conjugado a una molécula exógena (p. ej., un fármaco) a su receptor de la superficie celular conlleva la endocitosis mediada por el receptor de la molécula conjugada, y de esta manera facilita el transporte transmembrana de la
25 molécula exógena. Por ejemplo, el suministro dirigido a las células hepatocíticas se puede conseguir enlazando covalentemente un conjugado que comprende un resto de tipo carbohidrato a un oligonucleótido modificado. Tras el reconocimiento y la unión del resto de tipo carbohidrato
30 mediante el receptor de asialoglucoproteínas presente en la superficie de una célula hepatocítica, el oligonucleótido

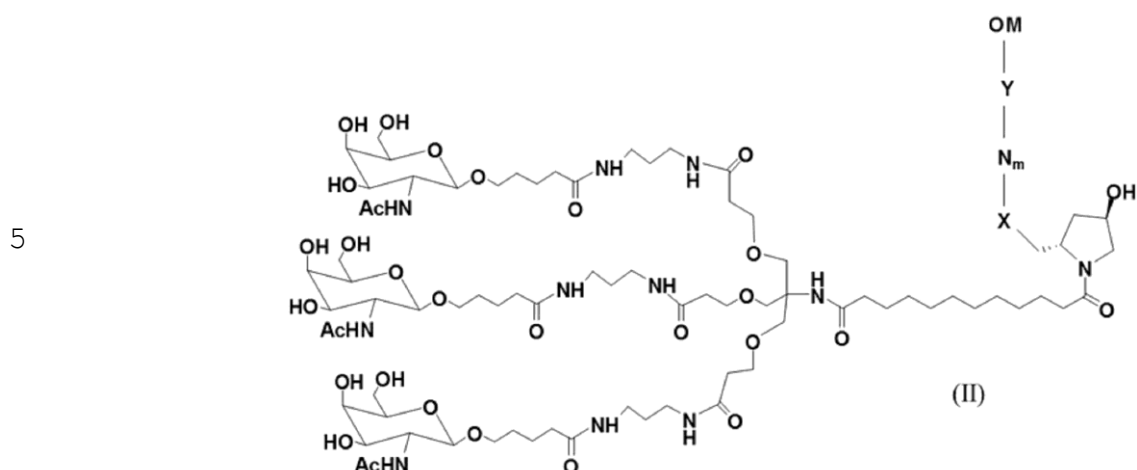
modificado conjugado es transportado a través de la membrana celular al interior del hepatocito. Mejorando el suministro de esta manera, se puede intensificar la potencia del oligonucleótido modificado, ya que se requiere una dosis
5 menor del compuesto para lograr el criterio de valoración farmacológico deseado.

Ciertos conjugados descritos en la presente tienen la ventaja de proporcionar un mejor suministro a los tipos celulares diana y también de ser escindibles *in vivo* para
10 producir el oligonucleótido modificado no conjugado tras la administración *in vivo*. Tal como se ha descrito anteriormente, se puede mejorar el direccionamiento *in vivo* a un tejido o tipo celular específico utilizando un resto conjugado. Una vez que el oligonucleótido modificado conjugado alcanza su
15 sitio de acción, sin embargo, la presencia de parte o de todo el resto conjugado unido covalentemente puede alterar la actividad de ciertos oligonucleótidos modificados conjugados o puede afectar a los análisis requeridos para comprender ciertas propiedades farmacocinéticas del
20 oligonucleótido modificado, tal como la semivida en la célula diana. Por tanto, puede ser deseable administrar un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado enlazado a un resto conjugado que sea lo suficientemente estable para mejorar la captación celular, pero también permita la
25 escisión del resto conjugado una vez que el compuesto ha sido internalizado por la célula diana. En consecuencia, en la presente se proporcionan compuestos que comprenden un oligonucleótido modificado unido a un resto conjugado escindible, que mejoran la potencia del oligonucleótido
30 modificado y permiten la liberación parcial o total del oligonucleótido modificado en su forma no conjugada.

En ciertas realizaciones, en la presente se proporciona un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que tiene dos regiones, donde cada una de las cuales tiene como diana miR-103 y miR-107. El compuesto es eficaz en modelos experimentales de diabetes, tal como lo evidencia la reducción de los niveles de glucosa, la mejora de HOMA-IR y la mejora de la sensibilidad a la insulina. El compuesto además da como resultado una disminución de los niveles de triglicéridos hepáticos. El compuesto se ha optimizado basándose en varios criterios, que incluyen la eficacia, seguridad, viscosidad en la solución y reactividad cruzada con secuencias de microARN no específicas.

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para reducir los niveles de glucosa en sangre en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente, donde el compuesto comprende un oligonucleótido modificado que tiene al menos una región constituida por de 7 a 12 nucleósidos unidos y que tiene una secuencia de nucleobases complementaria a miR-103 y/o miR-107. En algunas realizaciones, el compuesto comprende un oligonucleótido modificado que tiene dos regiones, donde cada región está constituida por de 7 a 12 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases complementaria a miR-103 y/o miR-107. En algunas realizaciones, cada región está constituida por 10 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases complementaria a miR-103 y/o miR-107.

En algunas realizaciones, un compuesto comprende la estructura:



10

donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; cada N de N_m es una desoxiadenosina (A); m es 2; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es 5'- $C_sA_sA_sU_sG_sC_sU_sG_sC_sA_sAAC_sA_sA_sU_sG_sC_sU_sG_sC_sA_s-3'$ (SEQ ID NO: 7),
 15 donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt, cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido y cada enlace internucleosídico entre dos nucleósidos S-cEt es un enlace de tipo fosforotioato y el resto de enlaces internucleosídicos son enlaces de tipo fosfodiéster. En ciertas realizaciones, Y está unido al
 20 extremo 3' de OM.

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para reducir los niveles de glucosa en sangre en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un
 25 compuesto descrito en la presente.

En ciertas realizaciones, los métodos que se proporcionan en la presente comprenden medir los niveles de glucosa en sangre. Los niveles de glucosa en sangre se pueden medir antes y/o después de la administración de un compuesto
 30 descrito en la presente. Los niveles de glucosa en sangre se pueden medir en sangre entera o se pueden medir en plasma. Los niveles de glucosa en sangre se pueden medir en un

laboratorio clínico o se pueden medir utilizando un glucómetro sanguíneo.

En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre se miden en un sujeto cuando el sujeto ha ayunado durante al menos 8 horas. En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre se miden en momentos aleatorios y la medición no se cronometra respecto a la ingestión de alimentos o bebidas. En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre se miden en el estado posprandial, es decir, después de que el sujeto haya ingerido una comida. En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre se miden en un sujeto dos horas después de que el sujeto haya ingerido una comida. En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre se miden a intervalos cronometrados tras la administración de glucosa al sujeto, con el fin de determinar con cuánta rapidez el sujeto retira la glucosa de la sangre. Cualesquiera mediciones de los niveles de glucosa en sangre pueden ser en sangre entera o en plasma.

En ciertas realizaciones, el sujeto tiene niveles de glucosa en sangre elevados. En ciertas realizaciones, se identifica un sujeto como un sujeto que tiene niveles de glucosa en sangre elevados. Normalmente, tal identificación la lleva a cabo un profesional médico. En ciertas realizaciones, un nivel de glucosa en sangre elevado es un nivel de glucosa en sangre en ayunas entre 100 y 125 mg/dL. En ciertas realizaciones, un nivel de glucosa en sangre elevado es un nivel de glucosa en sangre en ayunas superior a 126 mg/dL. En ciertas realizaciones, un nivel de glucosa en sangre elevado es un nivel de glucosa en sangre posprandial de 2 horas entre 140 y 199 mg/dL. En ciertas realizaciones, un nivel de glucosa en sangre elevado es un

nivel de glucosa en sangre posprandial de 2 horas igual o superior a 200 mg/dL.

En ciertas realizaciones, el sujeto que tiene niveles de glucosa en sangre elevados tiene prediabetes. En ciertas realizaciones, se identifica un sujeto como un sujeto que tiene prediabetes. En ciertas realizaciones de este tipo, el sujeto tiene un nivel de glucosa en sangre en ayunas entre 100 y 125 mg/dL. En ciertas realizaciones de este tipo, el sujeto tiene un nivel de glucosa en sangre posprandial de dos horas entre 140 y 199 mg/dL. Normalmente, el diagnóstico de prediabetes lo lleva a cabo un profesional médico, que puede tener en cuenta otros factores además de los niveles de glucosa en sangre cuando determine si un sujeto tiene prediabetes.

En ciertas realizaciones, el sujeto que tiene niveles de glucosa en sangre elevados tiene diabetes. En ciertas realizaciones, se identifica un sujeto como un sujeto que tiene diabetes de acuerdo con los niveles de glucosa en sangre del sujeto. En ciertas realizaciones de este tipo, el sujeto tiene un nivel de glucosa en sangre en ayunas superior a 126 mg/dL. En ciertas realizaciones de este tipo, el sujeto tiene un nivel de glucosa en sangre posprandial igual o superior a 200 mg/dL. Normalmente, el diagnóstico de diabetes lo lleva a cabo un profesional médico, que puede tener en cuenta otros factores además de los niveles de glucosa en sangre cuando determine si un sujeto tiene diabetes.

En ciertas realizaciones, el método que se proporciona en la presente comprende monitorizar los niveles de glucosa en sangre antes de la administración de un compuesto descrito en la presente. En ciertas realizaciones, los métodos que se proporcionan en la presente comprenden medir los niveles de

glucosa en sangre después de la administración de un compuesto descrito en la presente. En ciertas realizaciones, un sujeto mide los niveles de glucosa en sangre una o más veces al día.

5 En ciertas realizaciones, los métodos para reducir los niveles de glucosa en sangre comprenden reducir los niveles de glucosa en sangre de un sujeto hasta los niveles de glucosa en sangre señalados como deseables por las organizaciones médicas, tal como la Asociación Americana
10 para la Diabetes o la Organización Mundial de la Salud. En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre se reducen por debajo de 130 mg/dL cuando se miden antes de que un sujeto haya ingerido una comida. En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre se reducen por debajo de
15 180 mg/dL cuando se miden después de que un sujeto haya ingerido una comida.

 En ciertas realizaciones, la administración tiene lugar al menos una vez a la semana. En ciertas realizaciones, la administración tiene lugar una vez cada dos semanas. En
20 ciertas realizaciones, la administración tiene lugar una vez cada tres semanas. En ciertas realizaciones, la administración tiene lugar una vez cada cuatro semanas. La frecuencia de administración la puede fijar un profesional médico para lograr un nivel de glucosa en sangre deseable en
25 un sujeto. La frecuencia de administración puede depender de los niveles de glucosa en sangre de un sujeto. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la administración puede ser más frecuente cuando un sujeto tiene niveles de glucosa en sangre elevados.

30 En ciertas realizaciones, una pauta posológica puede incluir dosis durante un periodo de carga y/o un periodo de

mantenimiento. Durante el periodo de carga, que en algunas realizaciones tiene lugar al inicio de la terapia y puede durar, por ejemplo, de una a tres semanas o más, se puede proporcionar una única administración o se pueden proporcionar múltiples administraciones cada día, cada 2 días, cada 3 días, cada 4 días, cada 5 días, cada 6 días o cada semana. Durante un periodo de mantenimiento, que en algunas realizaciones sigue al periodo de carga y que puede durar varios meses o años o el resto de la vida del sujeto, se pueden proporcionar dosis con una frecuencia comprendida entre cada día y cada 3 meses, lo que se sobreentiende que incluye cada día, cada 2 días, cada 3 días, cada 4 días, cada 5 días, cada 6 días, cada semana, cada 2 semanas, cada 3 semanas, cada 4 semanas, cada mes, cada 2 meses o cada 3 meses. En algunas realizaciones, el periodo de carga comprende la administración de dosis mayores y/o dosis más frecuentes que el periodo de mantenimiento.

Se pueden utilizar medidas de los niveles de HbA1c para determinar cuán bien se controlan los niveles de glucosa en sangre de un sujeto con el tiempo. Los niveles de HbA1c son indicativos de la cantidad de glucohemoglobina en la sangre y pueden proporcionar una estimación de cuán bien se han controlado los niveles de glucosa en sangre de un sujeto durante el periodo de los 2-3 meses previos a la medición de los niveles de HbA1c. Los niveles de HbA1c elevados colocan al sujeto en riesgo de desarrollar complicaciones relacionadas con la diabetes, tales como la enfermedad ocular, cardiopatía, enfermedad renal, daño nervioso o accidente cerebrovascular. Por tanto, en ciertas realizaciones, es deseable que los niveles de HbA1c de un sujeto estén en intervalos considerados normales por un profesional médico.

En ciertas realizaciones, un nivel de HbA1c igual o inferior a un 6% es normal. En ciertas realizaciones, un profesional médico puede recomendar que el nivel de HbA1c de un sujeto sea igual o inferior a un 7%. En ciertas realizaciones, la administración da como resultado una reducción de los niveles de HbA1c. En ciertas realizaciones, la administración reduce el nivel de HbA1c de un sujeto por debajo de un 8%, por debajo de un 7.5%, por debajo de un 7%, por debajo de un 6.5%, por debajo de un 6%, por debajo de un 5.5%, por debajo de un 5% o por debajo de un 4.5%.

En ciertas realizaciones, el sujeto que tiene niveles de glucosa en sangre elevados es resistente a la insulina. Una de las principales funciones de la insulina es reducir los niveles de glucosa en sangre. Un sujeto cuyas células son sensibles a los efectos de la insulina necesitan únicamente una cantidad relativamente pequeña de insulina para mantener los niveles de glucosa en sangre en el intervalo normal. Un sujeto que es resistente a la insulina requiere más insulina para obtener los mismos efectos de disminución de la glucosa en sangre. La resistencia a la insulina puede provocar hiperinsulinemia. La hiperinsulinemia puede estar asociada con una presión sanguínea elevada, cardiopatía e insuficiencia cardíaca, obesidad (particularmente la obesidad abdominal), osteoporosis y ciertos tipos de cáncer tales como cáncer de colon, mama y próstata.

La resistencia a la insulina se puede detectar utilizando un procedimiento conocido como pinzamiento normoglucémico hiperinsulinémico, que mide la cantidad de glucosa necesaria para compensar un aumento en el nivel de insulina sin provocar hipoglucemia. Durante el procedimiento,

se administra por venoclisis una cantidad de insulina de 10-120 mU por m² por minuto. Con el fin de compensar la venoclisis de insulina, se administra por venoclisis una solución al 20% de glucosa para mantener los niveles de

5 azúcar en sangre entre 5 y 5.5 mmol/L. La tasa de venoclisis de glucosa se determina comprobando los niveles de glucosa en sangre cada 5-10 minutos. Las venoclisis de dosis bajas de insulina son más útiles para evaluar la respuesta del hígado, mientras que las venoclisis de dosis elevadas de

10 insulina son útiles para evaluar la acción insulínica periférica (es decir, músculo y grasa). La tasa de venoclisis de glucosa durante los últimos 30 minutos de la prueba determina la sensibilidad a la insulina. Si se requieren niveles elevados (7.5 mg/min o superiores), el sujeto es

15 sensible a la insulina. Los niveles muy bajos (4.0 mg/min o inferiores) indican que el sujeto es resistente a la acción de la insulina. Niveles entre 4.0 y 7.5 mg/min no son concluyentes y sugieren una tolerancia alterada a la glucosa. La tolerancia alterada la glucosa puede ser una señal

20 temprana de la resistencia a la insulina. En el procedimiento se pueden utilizar marcadores de glucosa, tales como 3-3H glucosa, 6,6 2H-glucosa o 1-13C glucosa. Se pueden emplear otras formas radiactivas de glucosa en el contexto de la investigación. Antes del comienzo del periodo

25 hiperinsulinémico, una venoclisis de 3 horas del marcador permite determinar la tasa basal de producción de glucosa. Durante el procedimiento de pinzamiento, las concentraciones plasmáticas del marcador permiten calcular el metabolismo de la glucosa estimulado por la insulina en todo el cuerpo, así

30 como también la producción de glucosa por parte del cuerpo (es decir, la producción de glucosa endógena).

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para mejorar la resistencia a la insulina en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente. En ciertas
5 realizaciones, el sujeto tiene resistencia a la insulina. En ciertas realizaciones, los métodos comprenden seleccionar un sujeto que tiene resistencia a la insulina. En ciertas realizaciones, un sujeto que tiene niveles de glucosa en sangre elevados tiene resistencia a la insulina. En ciertas
10 realizaciones, un sujeto que tiene diabetes tiene resistencia a la insulina. En ciertas realizaciones, un sujeto que tiene diabetes de tipo 2 tiene resistencia a la insulina. En ciertas realizaciones, un sujeto que tiene diabetes de tipo 1 tiene resistencia a la insulina.

15 En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para reducir la gluconeogénesis en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente. En ciertas realizaciones, el sujeto tiene una gluconeogénesis elevada. En ciertas realizaciones,
20 se identifica el sujeto como un sujeto que tiene una gluconeogénesis elevada. En ciertas realizaciones, la administración da como resultado una reducción de la gluconeogénesis. En ciertas realizaciones, se utiliza una prueba de tolerancia al piruvato para medir la
25 gluconeogénesis en un sujeto. En ciertas realizaciones, se utilizan los niveles de glucosa en sangre para medir la gluconeogénesis en un sujeto. En ciertas realizaciones, se mide la tasa de gluconeogénesis en un sujeto. En ciertas realizaciones, una reducción en la gluconeogénesis es una
30 reducción en la tasa de gluconeogénesis. En ciertas realizaciones, se mide la tasa de gluconeogénesis en el

sujeto antes de la administración. En ciertas realizaciones, se mide la tasa de gluconeogénesis en el sujeto después de la administración.

En ciertas realizaciones, en la presente se
5 proporcionan métodos para reducir el colesterol en plasma en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente. En ciertas realizaciones, el sujeto tiene un colesterol en plasma elevado. En ciertas realizaciones, se identifica el sujeto como un sujeto que
10 tiene un colesterol en plasma elevado. En ciertas realizaciones, la administración reduce el colesterol en plasma. En ciertas realizaciones, el colesterol en plasma es colesterol de las LDL en plasma. En ciertas realizaciones, el colesterol en plasma es colesterol de las VLDL en plasma.

15 En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para tratar un trastorno metabólico en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente. En ciertas realizaciones, el sujeto padece un trastorno metabólico. En ciertas realizaciones, se
20 identifica el sujeto como un sujeto que padece un trastorno metabólico. En ciertas realizaciones, un trastorno metabólico incluye, sin carácter limitante, prediabetes, diabetes (incluida la diabetes de tipo 1 o tipo 2), síndrome metabólico, obesidad, dislipidemia diabética, hiperglucemia, hipoglucemia e hiperinsulinemia. En ciertas realizaciones,
25 al sujeto se le diagnostican uno o más trastornos metabólicos. A un sujeto se le puede diagnosticar un trastorno metabólico tras haber realizado pruebas médicas muy conocidas por los miembros de la profesión médica.

30 Las enfermedades por hígado graso se asocian a menudo con trastornos metabólicos. En ciertas realizaciones, un

sujeto que padece un trastorno metabólico padece la enfermedad por hígado graso. En ciertas realizaciones, una enfermedad por hígado graso es una enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD). En ciertas realizaciones, una
5 enfermedad por hígado graso es una enfermedad por hígado graso alcohólico. En ciertas realizaciones, una enfermedad por hígado graso es una esteatohepatitis alcohólica. En ciertas realizaciones, una enfermedad por hígado graso es una esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

10 En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para tratar la enfermedad por hígado graso en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente. En ciertas realizaciones, la enfermedad por hígado graso se selecciona entre la
15 enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD), enfermedad por hígado graso alcohólico, esteatohepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica (NASH). En ciertas realizaciones, la enfermedad por hígado graso se selecciona entre la enfermedad por hígado graso no alcohólico
20 (NAFLD) y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH). En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para tratar a un sujeto que tiene NAFLD y diabetes de tipo 2. En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para tratar a un sujeto que tiene NASH
25 y diabetes de tipo 2.

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para reducir los triglicéridos hepáticos que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente. En algunas realizaciones, el sujeto
30 tiene la enfermedad por hígado graso. En ciertas realizaciones, la enfermedad por hígado graso se selecciona

entre la enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD), enfermedad por hígado graso alcohólico, esteatohepatitis alcohólica y esteatohepatitis no alcohólica (NASH). En ciertas realizaciones, la enfermedad por hígado graso se
5 selecciona entre la enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD) y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para prevenir la aparición de un trastorno metabólico en un sujeto que comprenden administrar
10 al sujeto un compuesto descrito en la presente. En ciertas realizaciones, el sujeto está en riesgo de desarrollar un trastorno metabólico. En ciertas realizaciones, se identifica al sujeto como un sujeto que está en riesgo de desarrollar un trastorno metabólico. En ciertas
15 realizaciones, un trastorno metabólico es prediabetes, diabetes (incluida la diabetes de tipo 1 o tipo 2), síndrome metabólico, obesidad o dislipidemia diabética, hiperglucemia, hipoglucemia, hiperinsulinemia, cetoacidosis y enfermedad celíaca.

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para retrasar la aparición de un trastorno metabólico en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente. En ciertas
20 realizaciones, el sujeto está en riesgo de desarrollar un trastorno metabólico. En ciertas realizaciones, se identifica al sujeto como un sujeto que está en riesgo de desarrollar un trastorno metabólico. En ciertas
25 realizaciones, un trastorno metabólico incluye, sin carácter limitante, prediabetes, diabetes (incluida la diabetes de tipo 1 o tipo 2), síndrome metabólico, obesidad, dislipidemia diabética, hiperglucemia, hipoglucemia e hiperinsulinemia.
30

En ciertas realizaciones, el sujeto tiene uno o más trastornos metabólicos. En ciertas realizaciones, al sujeto se le diagnostican uno o más trastornos metabólicos. A un sujeto se le puede diagnosticar un trastorno metabólico tras haber realizado pruebas médicas muy conocidas por los miembros de la profesión médica.

La respuesta del sujeto al tratamiento se puede evaluar mediante pruebas similares a las utilizadas para diagnosticar el trastorno metabólico, incluidas las pruebas del nivel de glucosa en sangre, las pruebas de tolerancia a la glucosa y las pruebas de HbA1c. La respuesta al tratamiento también se puede evaluar comparando los resultados de la prueba después del tratamiento con los resultados de la prueba antes del tratamiento.

Las enfermedades por hígado graso pueden estar asociadas con trastornos metabólicos. En ciertas realizaciones, una enfermedad por hígado graso es una enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD). En ciertas realizaciones, una enfermedad por hígado graso es una enfermedad por hígado graso alcohólico. En ciertas realizaciones, una enfermedad por hígado graso es una esteatohepatitis alcohólica. En ciertas realizaciones, una enfermedad por hígado graso es una esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para tratar la enfermedad por hígado graso en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente.

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para prevenir una enfermedad por hígado graso en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un

compuesto descrito en la presente. En ciertas realizaciones de este tipo, el sujeto está en riesgo de desarrollar una enfermedad por hígado graso.

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para retrasar la aparición de una enfermedad por hígado graso en un sujeto que comprenden administrar al sujeto un compuesto descrito en la presente. En ciertas realizaciones de este tipo, el sujeto está en riesgo de desarrollar una enfermedad por hígado graso.

Ciertos compuestos y oligonucleótidos modificados y regiones de oligonucleótidos modificados

En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que tiene la estructura:

$[\text{oligo1}]-[\text{x-N}]_m-\text{x}-[\text{oligo2}]$.

En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado constituido por la estructura $[\text{oligo1}]-[\text{x-N}]_m-\text{x}-[\text{oligo2}]$. En algunas realizaciones, oligo1 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107 con no más de 1 emparejamiento erróneo; oligo2 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107 con no más de 1 emparejamiento erróneo; cada x se selecciona independientemente entre un enlace de tipo fosfodiéster y un enlace de tipo fosforotioato; cada N se selecciona independientemente entre un nucleósido modificado y un nucleósido no modificado; m es un número entero entre 1 y 5 y al menos una x es un enlace de tipo fosfodiéster. En

algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 32, de 15 a 30, de 15 a 28, de 15 a 26, de 15 a 24 o de 15 a 22 o de 15 a 20 nucleósidos. En algunas realizaciones, oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en al menos un 80%, al menos 90% o en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107. En algunas realizaciones, oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en al menos un 80%, al menos 90% o en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y miR-107. En algunas realizaciones, oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la secuencia seminal de miR-103 y/o miR-107. En algunas realizaciones, oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la secuencia seminal de miR-103 y miR-107. En algunas realizaciones, oligo2 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en al menos un 80%, al menos 90% o en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107. En algunas realizaciones, oligo2 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en al menos un 80%, al menos 90% o en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y miR-107. En algunas realizaciones, oligo2 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la secuencia seminal de miR-103 y/o miR-107. En algunas realizaciones, oligo2 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la secuencia seminal de miR-103 y miR-107.

En algunas realizaciones, al menos 2 x son enlaces de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, cada x es un

enlace de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, al menos un N es un nucleósido no modificado. En algunas realizaciones, al menos un N es un desoxirribonucleósido no modificado. En algunas realizaciones, al menos un N es un
5 ribonucleósido no modificado. En algunas realizaciones, cada N es un nucleósido no modificado. En algunas realizaciones, cada N es un desoxirribonucleósido no modificado. En algunas realizaciones, cada N es un ribonucleósido no modificado. En algunas realizaciones, m es 1, 2, 3, 4 o 5. En algunas
10 realizaciones, m es 1, 2 o 3. En algunas realizaciones, m es 1, N es un desoxirribonucleósido no modificado y cada x es un enlace de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, m es 2, cada N es un desoxirribonucleósido no modificado y cada x es un enlace de tipo fosfodiéster.

15 En algunas realizaciones, oligo1 y oligo2 tienen la misma secuencia de nucleobases. En tales realizaciones, el patrón y/o número de modificaciones de nucleósidos en oligo1 y oligo2 pueden ser idénticos o diferentes. En algunas realizaciones, oligo1 y oligo2 tienen diferentes secuencias
20 de nucleobases. En algunas de tales realizaciones, oligo1 y oligo2 pueden tener como diana regiones que se superponen o que no se superponen de los microARN.

En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado que tiene la
25 estructura:



En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado constituido por la estructura: [oligo1]-[x-N]_m-x-[oligo2]-[x-N]_m-x-[oligo3].
30 En algunas realizaciones, oligo1 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases

que es complementaria a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107 con no más de 1 emparejamiento erróneo; oligo2 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107 con no más de 1 emparejamiento erróneo; oligo3 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos y tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a la secuencia de nucleobases de un tercer microARN con no más de 1 emparejamiento erróneo; cada x se selecciona independientemente entre un enlace de tipo fosfodiéster y un enlace de tipo fosforotioato; cada N se selecciona independientemente entre un nucleósido modificado y un nucleósido no modificado; cada m es independientemente un número entero entre 1 y 5 y al menos una x es un enlace de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, el tercer microARN es miR-103 y/o miR-107.

En algunas realizaciones al menos una x entre oligo1 y oligo2 es un enlace de tipo fosfodiéster y al menos una x entre oligo2 y oligo3 es un enlace de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, cada x es un enlace de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 23 a 55, de 23 a 50, de 23 a 45, de 23 a 40, de 23 a 35, de 23 a 30 o de 23 a 26 nucleósidos. En algunas realizaciones, oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en al menos un 80%, al menos 90% o en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107. En algunas realizaciones, oligo1 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la región seminal de miR-103 y/o miR-107. En algunas

realizaciones, oligo2 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en al menos un 80%, al menos 90% o en un 100% a la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107. En algunas realizaciones, oligo2 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la región seminal de miR-103 y/o miR-107. En algunas realizaciones, oligo3 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria en al menos un 80%, al menos 90% o en un 100% a la secuencia de nucleobases del tercer microARN. En algunas realizaciones, oligo3 tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a al menos 6, al menos 7 u 8 nucleótidos de la región seminal del tercer microARN.

En algunas realizaciones, al menos 4 x son enlaces de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, al menos 2 x entre oligo1 y oligo2 son enlaces de tipo fosfodiéster y al menos 2 x entre oligo2 y oligo3 son enlaces de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, cada x es un enlace de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, al menos un N es un nucleósido no modificado. En algunas realizaciones, al menos un N entre oligo1 es un nucleósido no modificado y al menos un N entre oligo2 y oligo3 es un nucleósido no modificado. En algunas realizaciones, cada N es un nucleósido no modificado. En algunas realizaciones, cada m se selecciona independientemente entre 1, 2, 3, 4 y 5. En algunas realizaciones, cada m se selecciona independientemente entre 1, 2 o 3. En algunas realizaciones, cada m es 1, cada N es un desoxirribonucleósido no modificado y cada x es un enlace de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, una o ambas m son 2, cada N es un desoxirribonucleósido no modificado y cada x es un enlace de tipo fosfodiéster.

En algunas realizaciones, al menos dos de entre el primer microARN, el segundo microARN y el tercer microARN, o todos ellos, son idénticos. En algunas realizaciones, cada uno de entre el primer microARN, el segundo microARN y el
5 tercer microARN es diferente a los demás. En algunas realizaciones, cuando al menos dos de los microARN son idénticos, los correspondientes oligos tienen la misma secuencia de nucleobases. En tales realizaciones, el patrón y/o número de modificaciones de nucleósidos en los oligos
10 con la misma secuencia de nucleobases pueden ser idénticos o diferentes. En algunas realizaciones, cuando al menos dos microARN son idénticos, los correspondientes oligos tienen secuencias de nucleobases diferentes. En algunas de tales realizaciones, los oligos que tienen como diana el mismo
15 microARN pueden tener como diana regiones que se superponen o que no se superponen de los microARN.

En algunas realizaciones, oligo1 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos, de 7 a 14 nucleósidos unidos, de 7 a 13 nucleósidos unidos, de 7 a 12 nucleósidos unidos,
20 de 7 a 11 nucleósidos unidos, de 7 a 10 nucleósidos unidos, de 8 a 15 nucleósidos unidos, de 8 a 14 nucleósidos unidos, de 8 a 13 nucleósidos unidos, de 8 a 12 nucleósidos unidos, de 8 a 11 nucleósidos unidos o de 8 a 10 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, oligo1 está constituido por 9
25 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, oligo1 está constituido por 10 nucleósidos unidos.

En algunas realizaciones, oligo1 comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar modificado. En algunas realizaciones, oligo1 comprende al menos un nucleósido con
30 un resto de tipo azúcar no modificado. En algunas realizaciones, oligo1 comprende una pluralidad de

nucleósidos con resto de tipo azúcar modificado y una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar no modificado. En algunas realizaciones, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 nucleósidos de oligo1
5 tienen un resto de tipo azúcar modificado. En algunas realizaciones, cada nucleósido de oligo1 tiene un resto de tipo azúcar modificado. En algunas realizaciones, cada nucleósido modificado se selecciona independientemente entre un resto de tipo 2'-O-metilazúcar, un resto de tipo 2'-O-metoxietilazúcar, un resto de tipo 2-fluoroazúcar y un resto
10 de tipo azúcar bicíclico. En algunas realizaciones, cada resto de tipo azúcar bicíclico se selecciona independientemente entre un resto de tipo azúcar cEt y un resto de tipo azúcar LNA. En algunas realizaciones, cada
15 resto de tipo azúcar no modificado se selecciona independientemente entre una β -D-desoxirribosa y una β -D-ribosa. En algunas realizaciones, oligo1 comprende al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 nucleósidos bicíclicos. En algunas realizaciones, oligo1 comprende al
20 menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 cEt. En algunas realizaciones, oligo1 comprende al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 LNA. En algunas realizaciones, oligo1 está constituido por 10 nucleósidos bicíclicos unidos. En algunas de tales realizaciones, cada
25 nucleósido bicíclico se selecciona independientemente entre cEt y LNA. En algunas realizaciones, cada nucleósido bicíclico es cEt.

En algunas realizaciones, oligo2 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos, de 7 a 14 nucleósidos unidos,
30 de 7 a 13 nucleósidos unidos, de 7 a 12 nucleósidos unidos, de 7 a 11 nucleósidos unidos, de 7 a 10 nucleósidos unidos,

de 8 a 15 nucleósidos unidos, de 8 a 14 nucleósidos unidos, de 8 a 13 nucleósidos unidos, de 8 a 12 nucleósidos unidos, de 8 a 11 nucleósidos unidos o de 8 a 10 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, oligo2 está constituido por 9
5 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, oligo2 está constituido por 10 nucleósidos unidos.

En algunas realizaciones, oligo2 comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar modificado. En algunas realizaciones, oligo2 comprende al menos un nucleósido con
10 un resto de tipo azúcar no modificado. En algunas realizaciones, oligo2 comprende una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar modificado y una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar no modificado. En algunas realizaciones, al menos 4, al menos
15 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 nucleósidos de oligo2 tienen un resto de tipo azúcar modificado. En algunas realizaciones, cada nucleósido de oligo2 tiene un resto de tipo azúcar modificado. En algunas realizaciones, cada nucleósido modificado se selecciona independientemente entre
20 un resto de tipo 2'-O-metilazúcar, un resto de tipo 2'-O-metoxietilazúcar, un resto de tipo 2-fluoroazúcar y un resto de tipo azúcar bicíclico. En algunas realizaciones, cada resto de tipo azúcar bicíclico se selecciona independientemente entre un resto de tipo azúcar cEt y un
25 resto de tipo azúcar LNA. En algunas realizaciones, cada resto de tipo azúcar no modificado se selecciona independientemente entre una β -D-desoxirribosa y una β -D-ribosa. En algunas realizaciones, oligo2 comprende al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 nucleósidos
30 bicíclicos. En algunas realizaciones, oligo2 comprende al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 cEt.

En algunas realizaciones, oligo2 comprende al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 LNA. En algunas realizaciones, oligo2 está constituido por 10 nucleósidos bicíclicos unidos. En algunas de tales realizaciones, cada
5 nucleósido bicíclico se selecciona independientemente entre cEt y LNA. En algunas realizaciones, cada nucleósido bicíclico es cEt. En algunas realizaciones, oligo1 y oligo2 tienen la misma secuencia de nucleobases y cada uno está constituido por 10 nucleósidos cEt unidos.

10 En algunas realizaciones, oligo3 está constituido por de 7 a 15 nucleósidos unidos, de 7 a 14 nucleósidos unidos, de 7 a 13 nucleósidos unidos, de 7 a 12 nucleósidos unidos, de 7 a 11 nucleósidos unidos, de 7 a 10 nucleósidos unidos, de 8 a 15 nucleósidos unidos, de 8 a 14 nucleósidos unidos,
15 de 8 a 13 nucleósidos unidos, de 8 a 12 nucleósidos unidos, de 8 a 11 nucleósidos unidos o de 8 a 10 nucleósidos unidos.

En algunas realizaciones, oligo3 comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar modificado. En algunas realizaciones, oligo3 comprende al menos un nucleósido con
20 un resto de tipo azúcar no modificado. En algunas realizaciones, oligo3 comprende una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar modificado y una pluralidad de nucleósidos con un resto de tipo azúcar no modificado. En algunas realizaciones, al menos 4, al menos
25 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 nucleósidos de oligo3 tienen un resto de tipo azúcar modificado. En algunas realizaciones, cada nucleósido de oligo3 tiene un resto de tipo azúcar modificado. En algunas realizaciones, cada nucleósido modificado se selecciona independientemente entre
30 un resto de tipo 2'-O-metilazúcar, un resto de tipo 2'-O-metoxietilazúcar, un resto de tipo 2-fluoroazúcar y un resto

de tipo azúcar bicíclico. En algunas realizaciones, cada resto de tipo azúcar bicíclico se selecciona independientemente entre un resto de tipo azúcar cEt y un resto de tipo azúcar LNA. En algunas realizaciones, cada
5 resto de tipo azúcar no modificado se selecciona independientemente entre una β -D-desoxirribosa y una β -D-ribosa. En algunas realizaciones, oligo3 comprende al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 nucleósidos bicíclicos. En algunas realizaciones, oligo3 comprende al
10 menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 cEt. En algunas realizaciones, oligo3 comprende al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7 o al menos 8 LNA.

En algunas realizaciones, cada uno del primer microARN y el segundo microARN y, cuando esté presente, el tercer
15 microARN, es miR-103/107. En algunas realizaciones, oligo1 y/u oligo2 tienen la secuencia de nucleobases 5'-CAAUGCUGCA-3' (SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, cada uno de oligo 1 y oligo2 tiene la secuencia de nucleobases 5'-CAAUGCUGCA-3' (SEQ ID NO: 6). En algunas realizaciones, el
20 compuesto comprende un oligonucleótido modificado que está constituido por la secuencia 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SA_SAAC_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SA_S-3' (SEQ ID NO: 7), donde oligo1 es 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SA_S-3' (SEQ ID NO: 6), donde oligo2 es 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SA_S-3' (SEQ ID NO: 6), y oligo1 y
25 oligo2 están unidos por AA, donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt y cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido.

En algunas realizaciones, oligo1 y/u oligo2 tienen la secuencia de nucleobases 5'-CAAUGCUGCC-3' (SEQ ID NO: 8). En
30 algunas realizaciones, cada uno de oligo 1 y oligo2 tiene la secuencia de nucleobases 5'-CAAUGCUGCC' (SEQ ID NO: 8). En

algunas realizaciones, el compuesto comprende un oligonucleótido modificado que está constituido por la secuencia 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SC_SAAC_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SC_S-3' (SEQ ID NO: 9), donde oligo1 es 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SC_S-3' (SEQ ID NO: 8), donde oligo2 es 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SC_S-3' (SEQ ID NO: 8), y oligo1 y oligo2 están unidos por AA, donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt y cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido. En algunas realizaciones, oligo1 y/u oligo2 tienen la secuencia de nucleobases 5'-CAAUGCUGCG-3' (SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, cada uno de oligo1 y oligo2 tiene la secuencia de nucleobases 5'-CAAUGCUGCAG-3' (SEQ ID NO: 10). En algunas realizaciones, el compuesto comprende un oligonucleótido modificado que está constituido por la secuencia 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SG_SAAC_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SG_S-3' (SEQ ID NO: 11), donde oligo1 es 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SG_S-3' (SEQ ID NO: 10), oligo2 es 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SG_S-3' (SEQ ID NO: 10), y oligo1 y oligo2 están unidos por AA, donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt y cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido.

En algunas realizaciones, los enlaces internucleosídicos entre el extremo 3' de oligo1 y el conector AA y entre el conector AA y el extremo 5' del oligo2 son enlaces internucleosídicos de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, el enlace internucleosídico entre las A del conector AA es también un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, todos los enlaces internucleosídicos entre los nucleósidos dentro de oligo1 y oligo2 son enlaces de tipo fosforotioato (es decir, todos los enlaces internucleosídicos entre dos nucleósidos

de tipo S-cEt son enlaces de tipo fosforotioato). En algunas realizaciones, el extremo 3' de oligo 2 está enlazado con un resto conjugado mediante un conector. En algunas realizaciones, el resto conjugado es GalNAc. En algunas realizaciones, el conector es un conector AA, donde cada A es una desoxiadenosina y los enlaces internucleosídicos entre oligo2 y el conector, y entre las A del conector AA, y entre el conector y el resto conjugado, son enlaces de tipo fosfodiéster.

En ciertas realizaciones, la secuencia de nucleobases de una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado es complementaria en al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 92%, al menos un 95%, al menos un 96% o en un 100% a la secuencia de nucleobases del ARN diana. En ciertas realizaciones, una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado es complementaria en al menos un 90%, al menos un 93%, al menos un 94%, al menos un 95% o en un 100% a la secuencia de ARN diana.

En ciertas realizaciones, una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado comprende al menos un nucleósido con un resto de tipo azúcar modificado. En ciertas realizaciones, una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado comprende una pluralidad de nucleósidos no bicíclicos y una pluralidad de nucleósidos bicíclicos.

En ciertas realizaciones, al menos un 70% de los nucleósidos de una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado comprenden un resto de tipo
5 azúcar modificado. En ciertas realizaciones, al menos un 80% de los nucleósidos de una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado comprenden un resto de tipo
10 azúcar modificado. En ciertas realizaciones, al menos un 90% de los nucleósidos de una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado comprenden un resto de tipo
15 azúcar modificado. En algunas realizaciones, un 100% de los nucleósidos de una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado son nucleósidos bicíclicos. En
20 algunas realizaciones, un 100% de los nucleósidos de una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado son nucleósidos cEt.
25

En ciertas realizaciones, al menos dos nucleósidos
30 bicíclicos comprenden restos de tipo azúcar que son diferentes entre sí. En ciertas realizaciones, cada

nucleósido bicíclico tiene el mismo tipo de resto de tipo azúcar. En ciertas realizaciones, al menos dos nucleósidos no bicíclicos comprenden restos de tipo azúcar que son diferentes entre sí. En ciertas realizaciones, cada
5 nucleósido no bicíclico tiene el mismo tipo de resto de tipo azúcar.

En ciertas realizaciones, cada nucleósido no bicíclico se selecciona independientemente entre un β -D-desoxirribonucleósido, un β -D-ribonucleósido, un 2'-O-metilnucleósido, un 2'-O-metoxietilnucleósido y un 2'-fluoronucleósido. En ciertas realizaciones, cada nucleósido no bicíclico se selecciona independientemente entre un β -D-desoxirribonucleósido y un 2'-O-metoxietilnucleósido. En
10 ciertas realizaciones, cada nucleósido no bicíclico es un β -D-desoxirribonucleósido.
15

En ciertas realizaciones, el nucleósido bicíclico se selecciona entre un nucleósido cEt, un nucleósido LNA y un nucleósido ENA. En ciertas realizaciones, el nucleósido cEt es un nucleósido S-cEt. En ciertas realizaciones, el
20 nucleósido cEt es un nucleósido R-cEt.

En ciertas realizaciones, una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) del oligonucleótido modificado comprende una pluralidad de nucleósidos modificados y una pluralidad de β -
25 D-desoxirribonucleósidos, donde cada β -D-desoxirribonucleósido puede comprender una nucleobase modificada o no modificada. En ciertas realizaciones, una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) del oligonucleótido
30 modificado es un gápmero. En ciertas realizaciones, el resto de tipo azúcar de cada nucleósido es un resto de tipo azúcar

modificado. En ciertas realizaciones, un nucleósido modificado es un 2-O-metoxietilnucleósido. En ciertas realizaciones, un nucleósido modificado es un nucleósido S-cEt.

5 En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado que comprende dos regiones (es decir, que comprende oligo1 y oligo2 en las estructuras que se muestran en la presente) está constituido por 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31 o 32 nucleósidos unidos. En
10 algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 32 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 30 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está
15 constituido por de 15 a 28 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 26 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 24 nucleósidos unidos. En algunas
20 realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 22 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 20 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está
25 constituido por 22 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por 24 nucleósidos unidos.

 En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado que comprende tres regiones (es decir, que comprende oligo1, oligo2 y oligo3 en las estructuras que se muestran en la
30 presente) está constituido por 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29,

30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54 o 55 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 23 a 55 nucleósidos unidos.

5 En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 23 a 50 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 24 a 45 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está
10 constituido por de 23 a 40 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 23 a 35 nucleósidos unidos. En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 23 a 30 nucleósidos unidos. En algunas
15 realizaciones, el oligonucleótido modificado está constituido por de 23 a 26 nucleósidos unidos.

En ciertas realizaciones, una región (es decir, oligo1, oligo2 u oligo3 en las estructuras que se muestran en la presente) de un oligonucleótido modificado está constituida
20 por de 7 a 15 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por de 7 a 14 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por de 7 a 13 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones,
25 una región de un oligonucleótido modificado está constituida por de 7 a 12 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por de 7 a 11 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida
30 por de 7 a 10 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida

por de 8 a 15 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por de 8 a 14 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por de 8 a 13 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por de 8 a 12 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por de 8 a 11 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 7 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 8 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 9 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 10 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 11 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 12 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 13 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 14 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 15 nucleósidos unidos.

En ciertas realizaciones, al menos un enlace internucleosídico de una región (es decir, oligo1, oligo2

y/u oligo3) de un oligonucleótido modificado es un enlace internucleosídico modificado. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico de una región (es decir, oligo1, oligo2 y/u oligo3) de un oligonucleótido modificado es un
5 enlace internucleosídico modificado. En ciertas realizaciones, el enlace internucleosídico modificado es un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato. En ciertas realizaciones, al menos un nucleósido de un oligonucleótido modificado comprende una nucleobase modificada. En ciertas
10 realizaciones, al menos una pirimidina del oligonucleótido modificado comprende un grupo 5-metilo. En ciertas realizaciones, al menos un nucleósido de un oligonucleótido modificado comprende una 5-metilcitosina. En ciertas realizaciones, cada citosina de un oligonucleótido
15 modificado es una 5'-metilcitosina.

En ciertas realizaciones, cuando una región (es decir, oligo1, oligo2 y/u oligo3 de las estructuras que se muestra en la presente) de un oligonucleótido modificado tiene una longitud de entre 7 y 12 nucleósidos unidos, cada nucleósido
20 del oligonucleótido modificado comprende un resto de tipo azúcar modificado. En ciertas realizaciones, cuando una región de un oligonucleótido modificado tiene una longitud de entre 7 y 10 nucleósidos unidos, cada nucleósido del oligonucleótido modificado comprende un resto de tipo azúcar
25 modificado. En ciertas realizaciones, cuando una región de un oligonucleótido modificado tiene entre 8 y 12 nucleósidos unidos, cada nucleósido del oligonucleótido modificado comprende un resto de tipo azúcar modificado.

En ciertas realizaciones, una región de un
30 oligonucleótido modificado está constituida por 7 nucleósidos unidos, donde cada nucleósido de la región

comprende un resto de tipo azúcar modificado. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 8 nucleósidos unidos, donde cada nucleósido de la región comprende un resto de tipo azúcar modificado. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 9 nucleósidos unidos, donde cada nucleósido de la región comprende un resto de tipo azúcar modificado. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 10 nucleósidos unidos, donde cada nucleósido de la región comprende un resto de tipo azúcar modificado. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 11 nucleósidos unidos, donde cada nucleósido de la región comprende un resto de tipo azúcar modificado. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está constituida por 12 nucleósidos unidos, donde cada nucleósido de la región comprende un resto de tipo azúcar modificado. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de la región comprende un resto de tipo azúcar bicíclico. En ciertas realizaciones, el resto de tipo azúcar bicíclico es un resto de tipo azúcar cEt. En ciertas realizaciones, el resto de tipo azúcar cEt es un resto de tipo azúcar S-cEt. En ciertas realizaciones, el resto de tipo azúcar bicíclico es un resto de tipo azúcar LNA.

En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado está totalmente modificada. En ciertas realizaciones, una región totalmente modificada de un oligonucleótido comprende una modificación en el azúcar en cada nucleósido. En ciertas realizaciones, una región totalmente modificada de un oligonucleótido comprende al

menos un enlace internucleosídico modificado. En ciertas realizaciones, una región totalmente modificada de un oligonucleótido comprende una modificación en el azúcar en cada nucleósido y cada enlace internucleosídico es un enlace internucleosídico modificado. En ciertas realizaciones, una región totalmente modificada de un oligonucleótido comprende una modificación en el azúcar en cada nucleósido y comprende al menos un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato. En ciertas realizaciones, una región totalmente modificada de un oligonucleótido comprende una modificación en el azúcar en cada nucleósido y cada enlace internucleosídico es un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de una región totalmente modificada de un oligonucleótido comprende el mismo resto de tipo azúcar modificado.

En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado es un oligonucleótido uniformemente modificado. En ciertas realizaciones, cada nucleósido de una región uniformemente modificada de un oligonucleótido comprende el mismo resto modificado de tipo azúcar. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico de una región uniformemente modificada de un oligonucleótido comprende el mismo enlace internucleotídico modificado.

En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado es un gápmero.

En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan compuestos que comprenden un oligonucleótido modificado constituido por una región única de 8 a 25 nucleósidos unidos, donde la secuencia de nucleobases de la región única es complementaria a miR-103 y/o miR-107 y donde

el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 5' o al extremo 3' del oligonucleótido modificado y donde el resto conjugado comprende un ligando que mejora la captación celular en una célula hepática. En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan compuestos que comprenden un oligonucleótido modificado constituido por de 8 a 25 nucleósidos unidos, donde la secuencia de nucleobases del oligonucleótido modificado es complementaria a miR-103 y/o miR-107 y donde el compuesto comprende un resto conjugado unido al extremo 5' o al extremo 3' del oligonucleótido modificado y donde el resto conjugado comprende un ligando que mejora la captación celular en una célula hepática. En ciertas realizaciones, el resto conjugado comprende un ligando que tiene afinidad por el receptor de asialoglucoproteínas. En ciertas realizaciones, el ligando se selecciona entre *N*-acetilgalactosamina, galactosa, galactosamina, *N*-formilgalactosamina, *N*-propionilgalactosamina, *N*-*n*-butanoilgalactosamina y *N*-isobutanoilgalactosamina. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado está constituido por de 8 a 25 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado está constituido por de 12 a 25 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 30 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 25 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 19 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado está constituido por de 15 a 16 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, un

oligonucleótido modificado está constituido por de 19 a 24 nucleósidos unidos. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado está constituido por de 21 a 24 nucleósidos unidos.

5 En ciertas realizaciones, la secuencia de nucleobases de la región única tiene al menos un 90%, al menos 95% o un 100% de complementariedad con la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107. En ciertas realizaciones, la secuencia de nucleobases del oligonucleótido modificado tiene al menos
10 un 90%, al menos 95% o un 100% de complementariedad con la secuencia de nucleobases de miR-103 y/o miR-107.

 En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado que está constituido por una región única tiene al menos un resto de tipo azúcar modificado, al menos un enlace
15 internucleosídico modificado y/o al menos una nucleobase modificada, pudiéndose seleccionar cada uno de los cuales entre cualquiera de los descritos en la presente. En ciertas realizaciones, el oligonucleótido modificado tiene al menos un resto de tipo azúcar modificado, al menos un enlace
20 internucleosídico modificado y/o al menos una nucleobase modificada, pudiéndose seleccionar cada uno de los cuales entre cualquiera de los descritos en la presente. El resto conjugado se puede seleccionar entre cualquiera de las estructuras descritas en la presente.

25 *Ciertos compuestos conjugados*

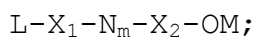
 En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente comprende un resto conjugado unido al extremo 5' o al extremo 3' de un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, el compuesto comprende un resto conjugado
30 unido al extremo 3' de un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, el compuesto comprende un resto

conjugado unido al extremo 5' de un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, el compuesto comprende un primer resto conjugado unido a un extremo 3' del oligonucleótido modificado y un segundo resto conjugado unido al extremo 5' de un oligonucleótido modificado.

En ciertas realizaciones, un resto conjugado comprende al menos un ligando seleccionado entre un carbohidrato, colesterol, un lípido, un fosfolípido, un anticuerpo, una lipoproteína, una hormona, un péptido, una vitamina, un esteroide o un lípido catiónico.

Los ligandos se pueden enlazar covalentemente a un oligonucleótido modificado mediante cualquier conector adecuado. En la técnica existe constancia de diversos conectores y ciertos conectores no limitantes a modo de ejemplo se describen en, p. ej., la publicación PCT N.º WO 2013/033230 y la patente de EE. UU. N.º 8 106 022 B2. En algunas realizaciones, se puede seleccionar un conector que sea resistente a la escisión enzimática *in vivo*. En algunas realizaciones, se puede seleccionar un conector que sea resistente a la escisión hidrolítica *in vivo*. En algunas realizaciones, se puede seleccionar un conector que experimente escisión enzimática *in vivo*. En algunas realizaciones, se puede seleccionar un conector que experimente escisión hidrolítica *in vivo*.

En ciertas realizaciones, un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado conjugado descrito en la presente tiene la estructura:



donde cada L es un ligando; N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; X_1 y X_2 son cada uno,

independientemente, un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; y OM es un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, m es 1. En ciertas realizaciones, m es 2. En ciertas realizaciones, m es 2, 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, m es 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, cuando m es superior a 1, cada nucleósido modificado o no modificado de N_m puede estar conectado a nucleósidos adyacentes modificados o no modificados de N_m mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster o un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato. En ciertas realizaciones, m es 1 y X_1 y X_2 son cada uno un fosfodiéster.

En ciertas realizaciones, un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado conjugado descrito en la presente tiene la estructura A:

L_n -conector-OM;

donde cada L es, independientemente, un ligando y n está comprendida entre 1 y 10; y OM es un oligonucleótido modificado.

En ciertas realizaciones, un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado conjugado descrito en la presente tiene la estructura B:

L_n -conector- X_1 - N_m - X_2 -OM;

donde cada L es, independientemente, un ligando y n está comprendida entre 1 y 10; cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; X_1 y X_2 son cada uno, independientemente, un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; y OM es un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, m es 1. En ciertas realizaciones, m es 2. En ciertas realizaciones, m es 3, 4

o 5. En ciertas realizaciones, m es 2, 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, cuando m es superior a 1, cada nucleósido modificado o no modificado de N_m puede estar conectado a nucleósidos adyacentes modificados o no modificados de N_m mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster o un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato.

En ciertas realizaciones, un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado conjugado descrito en la presente que tiene la estructura C:

10 L_n -conector-X- N_m -Y-OM;

donde cada L es, independientemente, un ligando y n está comprendida entre 1 y 10; cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; X es un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, m es 1. En ciertas realizaciones, m es 2. En ciertas realizaciones, m es 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, m es 2, 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, cuando m es superior a 1, cada nucleósido modificado o no modificado de N_m puede estar conectado a nucleósidos adyacentes modificados o no modificados de N_m mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster o un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato.

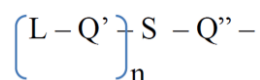
25 En ciertas realizaciones, un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado conjugado descrito en la presente tiene la estructura D:

L_n -conector-Y- N_m -Y-OM;

30 donde cada L es, independientemente, un ligando y n está comprendida entre 1 y 10; cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado

y m está comprendida entre 1 y 5; cada Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, m es 1. En ciertas realizaciones, m es 2. En ciertas realizaciones, m es 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, m es 2, 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, cuando m es superior a 1, cada nucleósido modificado o no modificado de N_m puede estar conectado a nucleósidos adyacentes modificados o no modificados de N_m mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster o un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato.

En ciertas realizaciones, cuando n es superior a 1, el conector comprende un esqueleto capaz de unir más de un L al resto del compuesto (es decir, al oligonucleótido modificado (OM), a X₁-N_m-X₂-MO, a X-N_m-Y-MO, etc.). En algunas de tales realizaciones, la porción L_n-conector del compuesto (tal como un compuesto de estructura A, B, C o D) comprende la estructura E:

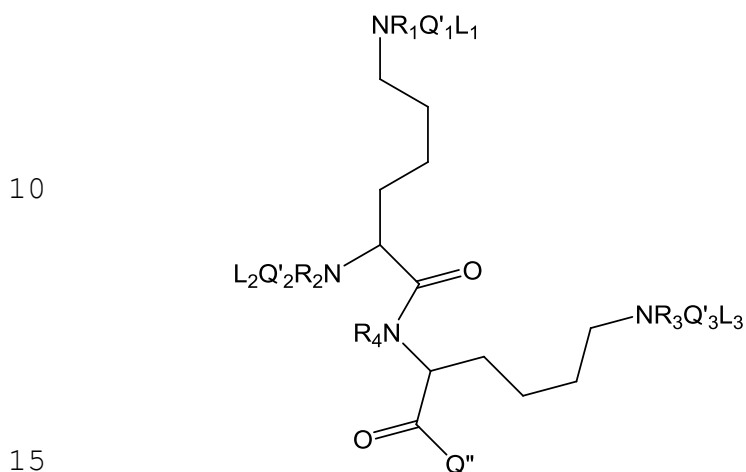


donde cada L es, independientemente, un ligando; n está comprendida entre 1 y 10; S es un esqueleto; y Q' y Q'' son, independientemente, grupos conectores.

En algunas realizaciones, cada Q' y Q'' se selecciona independientemente entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C₁-C₂₀, un alquilo C₁-C₂₀ sustituido, un alquenilo C₂-C₂₀, un alquenilo C₂-C₂₀ sustituido, un alquinilo C₂-C₂₀, un alquinilo C₂-C₂₀ sustituido, un alcoxi C₁-C₂₀, un alcoxi C₁-C₂₀ sustituido, amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico.

En algunas realizaciones, un esqueleto es capaz de unir 2, 3, 4 o 5 ligandos a un oligonucleótido modificado. En algunas realizaciones, un esqueleto es capaz de unir 3 ligandos a un oligonucleótido modificado.

5 Una estructura E no limitante a modo de ejemplo es la estructura E(i):



donde L_1 , L_2 y L_3 son cada uno, independientemente, un ligando; Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' son cada uno, independientemente, un grupo conector; y R_1 , R_2 , R_3 y R_4 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, alquilo C_1-C_6 y alquilo C_1-C_6 sustituido.

20

En algunas realizaciones, Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' se seleccionan cada uno, independientemente, entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C_1-C_{20} , un alquilo C_1-C_{20} sustituido, un alquenilo C_2-C_{20} , un alquenilo C_2-C_{20} sustituido, un alquinilo C_2-C_{20} , un alquinilo C_2-C_{20} sustituido, un alcoxi C_1-C_{20} , un alcoxi C_1-C_{20} sustituido, amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 , R_3 y R_4 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, metilo, etilo, propilo,

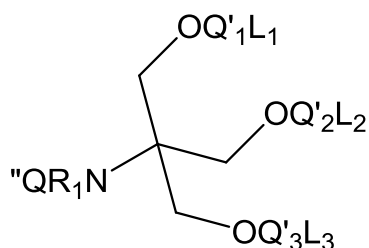
25

30

isopropilo y butilo. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 , R_3 y R_4 se seleccionan cada uno entre H y metilo.

Una estructura E no limitante a modo de ejemplo adicional es la estructura E(ii):

5

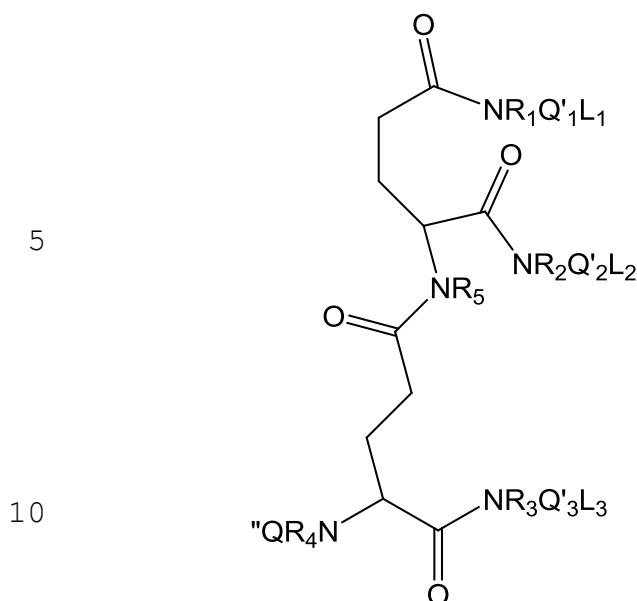


10 donde L_1 , L_2 y L_3 son cada uno, independientemente, un ligando; Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' son cada uno, independientemente, un grupo conector; y R_1 se selecciona entre H, alquilo C_1-C_6 y alquilo C_1-C_6 sustituido.

15 En algunas realizaciones, Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' se seleccionan cada uno, independientemente, entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C_1-C_{20} , un alquilo C_1-C_{20} sustituido, un alquenilo C_2-C_{20} , un alquenilo C_2-C_{20} sustituido, un alquinilo C_2-C_{20} , un alquinilo C_2-C_{20} sustituido, un alcoxi C_1-C_{20} , un alcoxi C_1-C_{20} sustituido,
 20 amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico. En algunas realizaciones, R_1 se selecciona entre H, metilo, etilo, propilo, isopropilo y butilo. En algunas
 25 realizaciones, R_1 es H o metilo.

Una estructura E no limitante a modo de ejemplo adicional es la estructura E(iii):

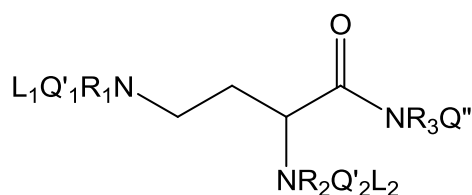
30



donde L_1 , L_2 y L_3 son cada uno, independientemente, un ligando; Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' son cada uno, independientemente, un grupo conector; y R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, alquilo C_1 - C_6 y alquilo C_1 - C_6 sustituido.

En algunas realizaciones, Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' se seleccionan cada uno, independientemente, entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C_1 - C_{20} , un alquilo C_1 - C_{20} sustituido, un alquenilo C_2 - C_{20} , un alquenilo C_2 - C_{20} sustituido, un alquinilo C_2 - C_{20} , un alquinilo C_2 - C_{20} sustituido, un alcoxi C_1 - C_{20} , un alcoxi C_1 - C_{20} sustituido, amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(*N*-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, metilo, etilo, propilo, isopropilo y butilo. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 , R_3 , R_4 y R_5 se seleccionan cada uno entre H y metilo.

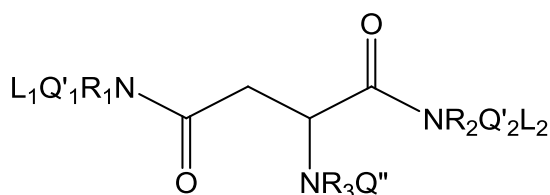
Una estructura E no limitante a modo de ejemplo adicional es la estructura E(iv):



5 donde L_1 y L_2 son cada uno, independientemente, un ligando; Q'_1 , Q'_2 y Q'' son cada uno, independientemente, un grupo conector; y R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, alquilo C_1-C_6 y alquilo C_1-C_6 sustituido.

10 En algunas realizaciones, Q'_1 , Q'_2 y Q'' se seleccionan cada uno, independientemente, entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C_1-C_{20} , un alquilo C_1-C_{20} sustituido, un alquenilo C_2-C_{20} , un alquenilo C_2-C_{20} sustituido, un alquinilo C_2-C_{20} , un alquinilo C_2-C_{20} sustituido, un alcoxi C_1-C_{20} , un alcoxi C_1-C_{20} sustituido, amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, metilo, etilo, propilo, isopropilo y butilo. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan cada uno entre H y metilo.

Una estructura E no limitante a modo de ejemplo adicional es la estructura E(v):

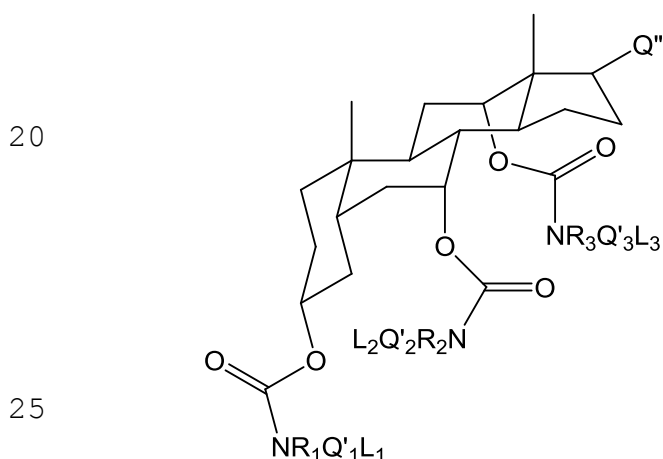


25 donde L_1 y L_2 son cada uno, independientemente, un ligando; Q'_1 , Q'_2 y Q'' son cada uno, independientemente, un grupo conector; y R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, alquilo C_1-C_6 y alquilo C_1-C_6 sustituido.

independientemente, entre H, alquilo C₁-C₆ y alquilo C₁-C₆ sustituido.

En algunas realizaciones, Q'₁, Q'₂ y Q'' se seleccionan cada uno, independientemente, entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C₁-C₂₀, un alquilo C₁-C₂₀ sustituido, un alqueno C₂-C₂₀, un alqueno C₂-C₂₀ sustituido, un alquino C₂-C₂₀, un alquino C₂-C₂₀ sustituido, un alcoxi C₁-C₂₀, un alcoxi C₁-C₂₀ sustituido, amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico. En algunas realizaciones, R₁, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, metilo, etilo, propilo, isopropilo y butilo. En algunas realizaciones, R₁, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno entre H y metilo.

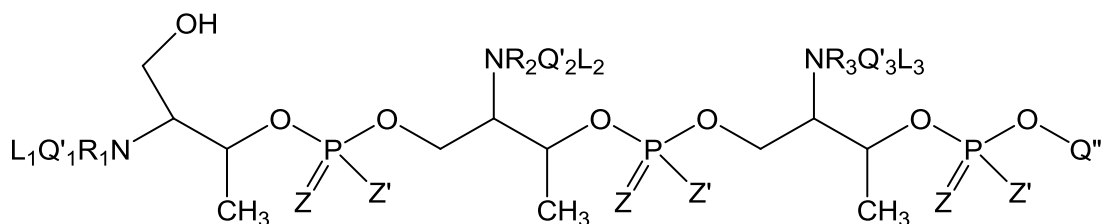
Una estructura E no limitante a modo de ejemplo adicional es la estructura E(vi):



donde L₁, L₂ y L₃ son cada uno, independientemente, un ligando; Q'₁, Q'₂, Q'₃ y Q'' son cada uno, independientemente, un grupo conector; y R₁, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, alquilo C₁-C₆ y alquilo C₁-C₆ sustituido.

En algunas realizaciones, Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' se seleccionan cada uno, independientemente, entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C_1 - C_{20} , un alquilo C_1 - C_{20} sustituido, un alquenilo C_2 - C_{20} , un alquenilo C_2 - C_{20} sustituido, un alquinilo C_2 - C_{20} , un alquinilo C_2 - C_{20} sustituido, un alcoxi C_1 - C_{20} , un alcoxi C_1 - C_{20} sustituido, amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(*N*-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, metilo, etilo, propilo, isopropilo y butilo. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan cada uno entre H y metilo.

Una estructura E no limitante a modo de ejemplo adicional es la estructura E(vii):

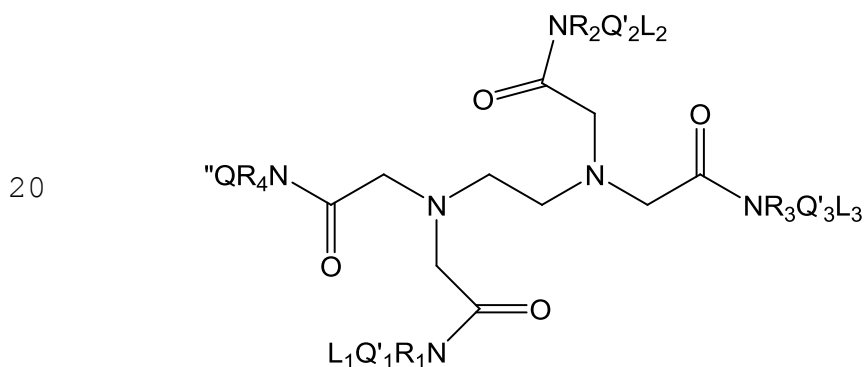


donde L_1 , L_2 y L_3 son cada uno, independientemente, un ligando; Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' son cada uno, independientemente, un grupo conector; R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, alquilo C_1 - C_6 y alquilo C_1 - C_6 sustituido; y Z y Z' se seleccionan cada una independientemente entre O y S.

En algunas realizaciones, Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' se seleccionan cada uno, independientemente, entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C_1 - C_{20} , un alquilo C_1 - C_{20} sustituido, un alquenilo C_2 - C_{20} , un alquenilo C_2 - C_{20} sustituido, un alquinilo C_2 - C_{20} , un alquinilo C_2 - C_{20} sustituido, un alcoxi C_1 - C_{20} , un alcoxi C_1 - C_{20} sustituido,

amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(*N*-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, metilo, etilo, propilo, isopropilo y butilo. En algunas realizaciones, R_1 , R_2 y R_3 se seleccionan cada uno entre H y metilo. En algunas realizaciones, Z o Z' en al menos un átomo de P es S y el otro Z o Z' es O (es decir, un enlace de tipo fosforotioato). En algunas realizaciones, cada -OP(Z)(Z')O- es un enlace de tipo fosforotioato. En algunas realizaciones, Z y Z' son ambos O en al menos un átomo de P (es decir, un enlace de tipo fosfodiéster). En algunas realizaciones, cada -OP(Z)(Z')O- es un enlace de tipo fosfodiéster.

Una estructura E no limitante a modo de ejemplo adicional es la estructura E(viii):



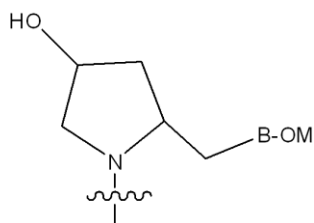
donde L_1 , L_2 y L_3 son cada uno, independientemente, un ligando; Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' son cada uno, independientemente, un grupo conector; y R_1 , R_2 , R_3 y R_4 se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, alquilo C₁-C₆ y alquilo C₁-C₆ sustituido.

En algunas realizaciones, Q'_1 , Q'_2 , Q'_3 y Q'' se seleccionan cada uno, independientemente, entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C₁-C₂₀, un

alquilo C₁-C₂₀ sustituido, un alquenilo C₂-C₂₀, un alquenilo C₂-C₂₀ sustituido, un alquinilo C₂-C₂₀, un alquinilo C₂-C₂₀ sustituido, un alcoxí C₁-C₂₀, un alcoxí C₁-C₂₀ sustituido, amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico. En algunas realizaciones, R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan cada uno, independientemente, entre H, metilo, etilo, propilo, isopropilo y butilo. En algunas realizaciones, R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan cada uno entre H y metilo.

Se describen esqueletos y/o conectores que comprenden esqueletos a modo de ejemplo no limitantes y su síntesis en, p. ej., la publicación PCT N.º WO 2013/033230, la patente de EE. UU. N.º 8 106 022 B2, la publicación de EE. UU. N.º 2012/0157509 A1; la patente de EE. UU. N.º 5 994 517; la patente de EE. UU. N.º 7 491 805 B2; la patente de EE. UU. 8 313 772 B2; Manoharan, M., Capítulo 16, Antisense Drug Technology, Crooke, S.T., Marcel Dekker, Inc., 2001, 391-469.

En algunas realizaciones, la porción L_n-conector del compuesto comprende la estructura F:



donde:

B se selecciona entre -O-, -S-, -N(R^N)-, -Z-P(Z') (Z'')O-, -Z-P(Z') (Z'')O-N_m-X- y -Z-P(Z') (Z'')O-N_m-Y-;

OM es un oligonucleótido modificado;

R^N se selecciona entre H, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo y bencilo;

Z, Z' y Z'' se seleccionan cada una independientemente entre O y S;

cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado;

5 m está comprendida entre 1 y 5;

X se selecciona entre un enlace de tipo fosfodiéster y un enlace de tipo fosforotioato;

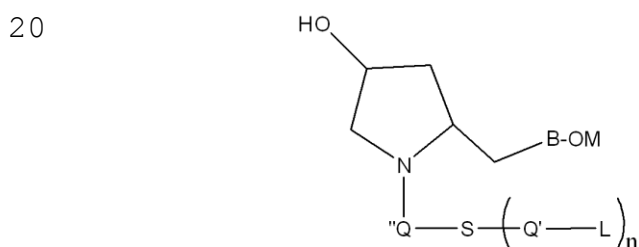
Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y

la línea ondulada indica la unión al resto del conector y ligando(s).

En ciertas realizaciones, la línea ondulada indica una unión a la estructura E anterior.

En ciertas realizaciones, n está comprendida entre 1 y 5, 1 y 4, 1 y 3 o 1 y 2. En ciertas realizaciones, n es 1. En ciertas realizaciones, n es 2. En ciertas realizaciones, n es 3. En ciertas realizaciones, n es 4. En ciertas realizaciones, n es 5.

En algunas realizaciones, la porción L_n -conector del compuesto comprende la estructura G:



25 donde:

B se selecciona entre -O-, -S-, -N(R^N)-, -Z-P(Z')(Z'')O-, -Z-P(Z')(Z'')O-N_m-X- y -Z-P(Z')(Z'')O-N_m-Y-;

OM es un oligonucleótido modificado;

R^N se selecciona entre H, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo y bencilo;

30

Z, Z' y Z" se seleccionan cada una independientemente entre O y S;

cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado;

5 m está comprendida entre 1 y 5;

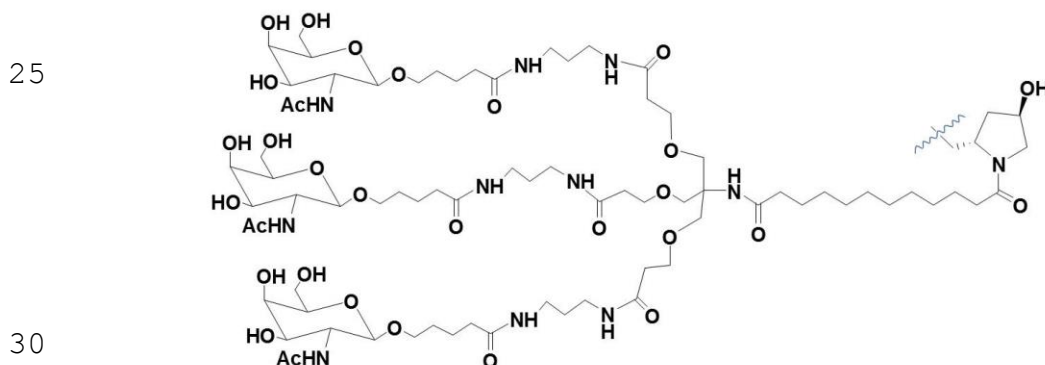
X se selecciona entre un enlace de tipo fosfodiéster y un enlace de tipo fosforotioato;

Y es un enlace de tipo fosfodiéster;

10 cada L es, independientemente, un ligando; n está comprendida entre 1 y 10; S es un esqueleto; y Q' y Q" son, independientemente, grupos conectores.

En algunas realizaciones, cada Q' y Q" se seleccionan independientemente entre un péptido, un éter, polietilenglicol, un alquilo, un alquilo C₁-C₂₀, un alquilo C₁-C₂₀ sustituido, un alquenilo C₂-C₂₀, un alquenilo C₂-C₂₀ sustituido, un alquinilo C₂-C₂₀, un alquinilo C₂-C₂₀ sustituido, un alcoxi C₁-C₂₀, un alcoxi C₁-C₂₀ sustituido, amino, amido, una pirrolidina, ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato de succinimidilo y ácido 6-aminohexanoico.

20 Una porción L_n-conector a modo de ejemplo no limitante (p. ej., de la estructura F o G) de un compuesto se muestra en la estructura H a continuación:



5

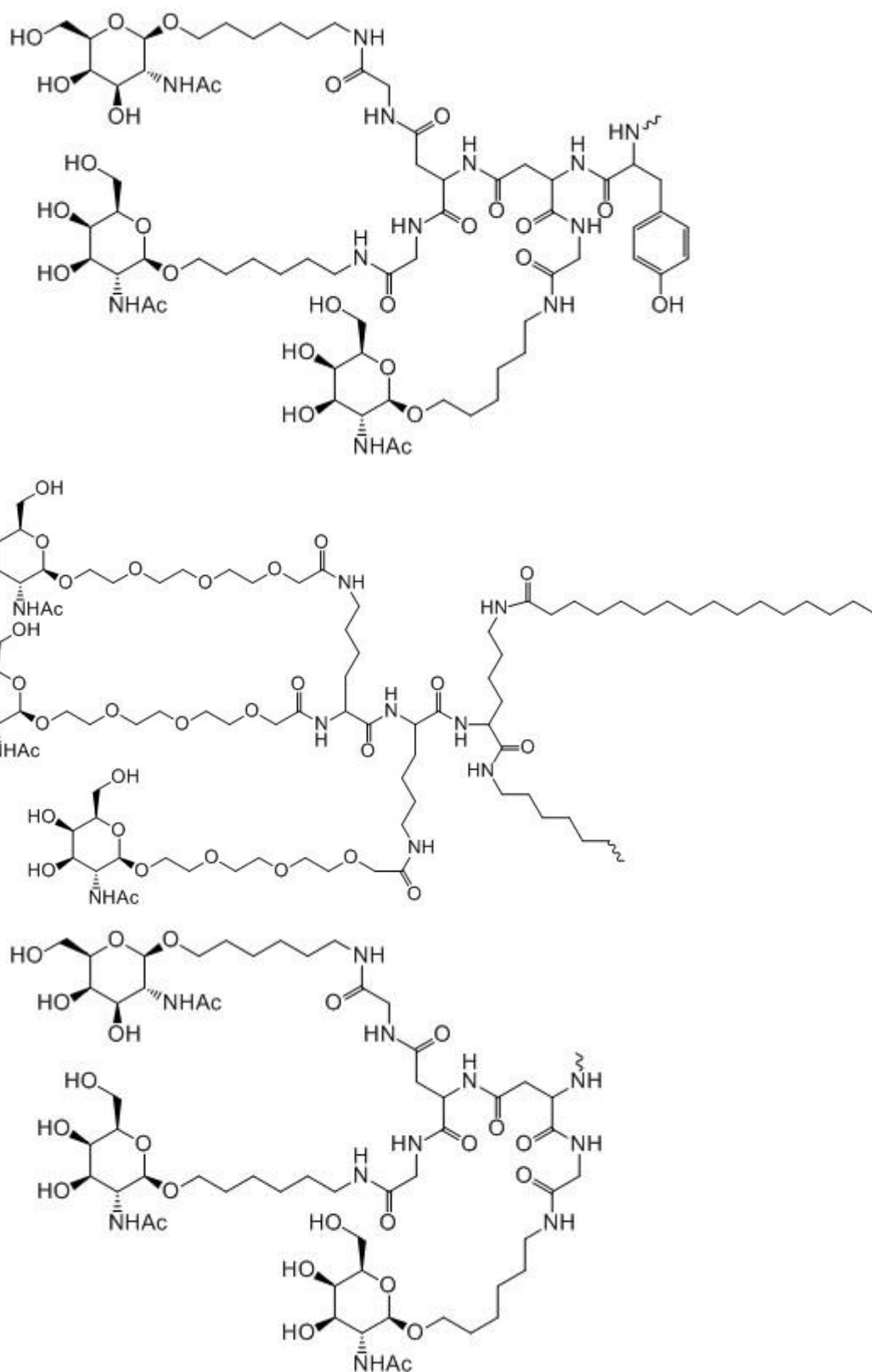
10

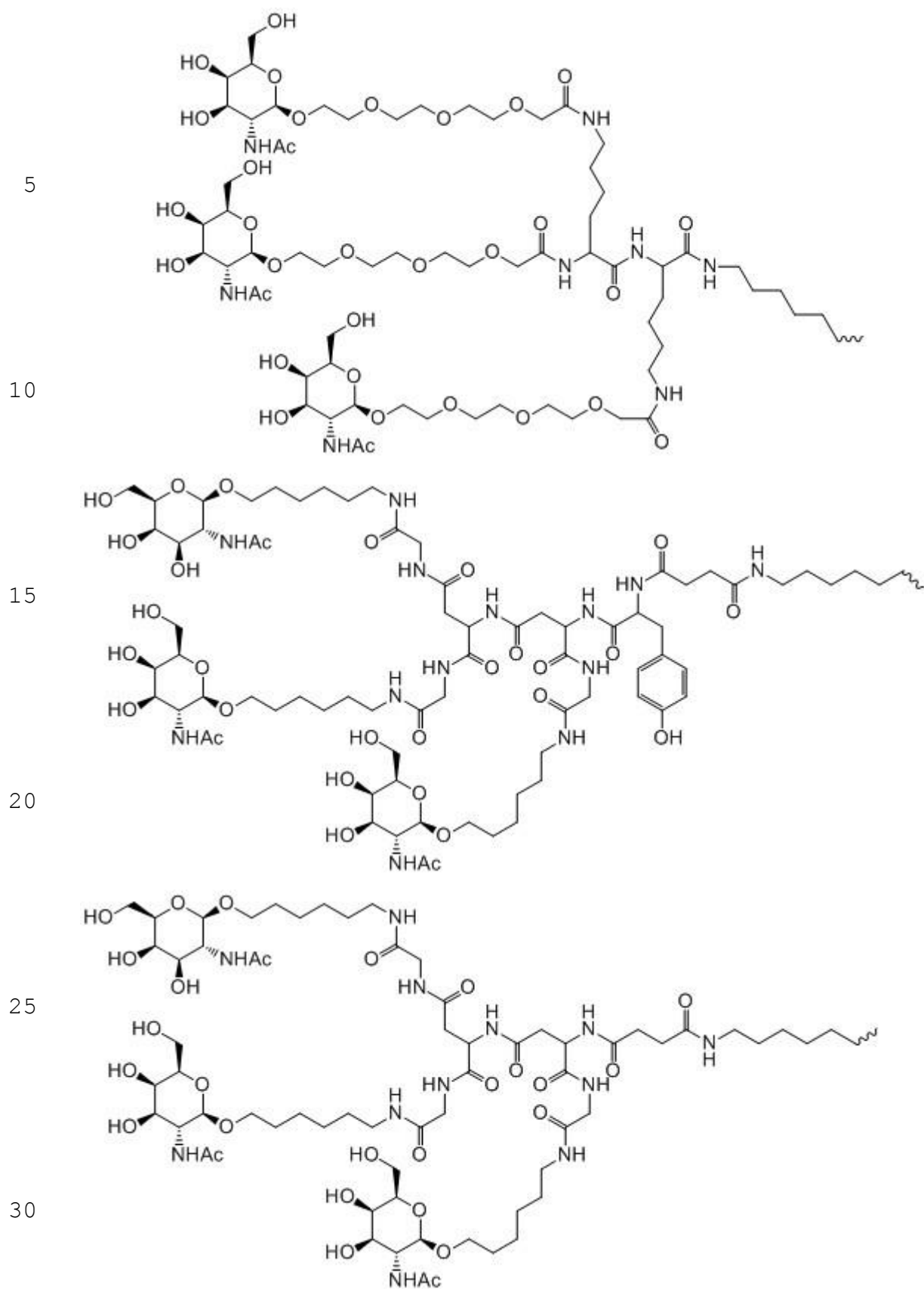
15

20

25

30





En ciertas realizaciones, cada ligando es un carbohidrato. Un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado conjugado con un carbohidrato, cuando es reconocido por la lectina de la superficie celular, es transportado a través de la membrana celular al interior de la célula. En ciertas realizaciones, una lectina de la superficie celular es una lectina de tipo C. En ciertas realizaciones, la lectina de tipo C está presente en una célula de Kupffer. En ciertas realizaciones, una lectina de tipo C está presente en un macrófago. En ciertas realizaciones, una lectina de tipo C está presente en una célula endotelial. En ciertas realizaciones, una lectina de tipo C está presente en un monocito. En ciertas realizaciones, una lectina de tipo C está presente en un leucocito. En ciertas realizaciones, una lectina de tipo C está presente en una célula dendrítica. En ciertas realizaciones, una lectina de tipo C está presente en un linfocito B. Un conjugado puede facilitar la captación de un compuesto anti-miR-122 y su entrada al interior de cualquier tipo celular que exprese una lectina de tipo C.

En ciertas realizaciones, una lectina de tipo C es el receptor de las asialoglucoproteínas (ASGPR). En ciertas realizaciones, un conjugado comprende uno o más ligandos que tienen afinidad por ASGPR incluidos, sin carácter limitante, la galactosa o un derivado de la galactosa. En ciertas realizaciones, un ligando que tiene afinidad por ASGPR es la *N*-acetilgalactosamina, galactosa, galactosamina, *N*-formilgalactosamina, *N*-propionilgalactosamina, *N*-*n*-butanoilgalactosamina o *N*-isobutanoilgalactosamina. Tales conjugados facilitan la captación de los compuestos y su

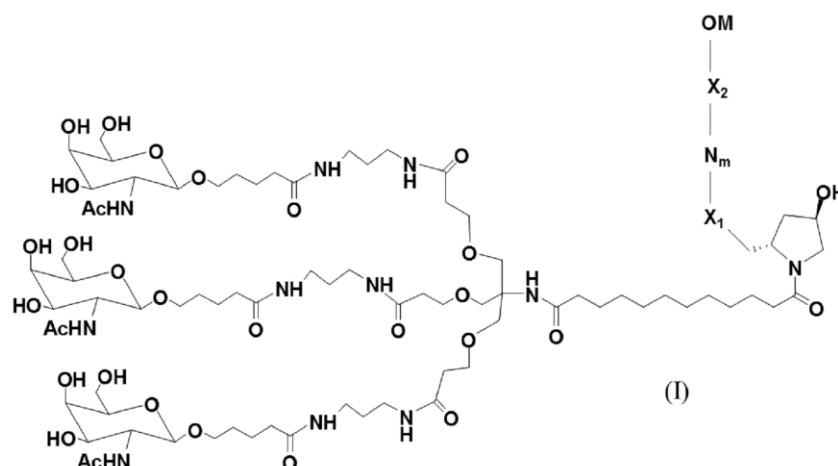
entrada al interior de las células que expresan ASGPR, por ejemplo, hepatocitos y células dendríticas.

En ciertas realizaciones, un ligando es un carbohidrato seleccionado entre manosa, glucosa, galactosa, ribosa, 5 arabinosa, fructosa, fucosa, xilosa, D-manosa, L-manosa, D-galactosa, L-galactosa, D-glucosa, L-glucosa, D-ribosa, L-ribosa, D-arabinosa, L-arabinosa, D-fructosa, L-fructosa, D-fucosa, L-fucosa, D-xilosa, L-xilosa, alfa-D-manofuranosa, beta-D-manofuranosa, alfa-D-manopiranos, beta-D-10 manopiranos, alfa-D-glucofuranosa, beta-D-glucofuranosa, alfa-D-glucopiranos, beta-D-glucopiranos, alfa-D-galactofuranosa, beta-D-galactofuranosa, alfa-D-galactopiranos, beta-D-galactopiranos, alfa-D-ribofuranosa, beta-D-ribofuranosa, alfa-D-ribopiranos, 15 beta-D-ribopiranos, alfa-D-fructofuranosa, alfa-D-fructopiranos, glucosamina, galactosamina, ácido siálico y N-acetilgalactosamina.

En ciertas realizaciones, un ligando se selecciona entre N-acetilgalactosamina, galactosa, galactosamina, N-20 formilgalactosamina, N-propionilgalactosamina, N-n-butanoilgalactosamina y N-isobutanoilgalactosamina.

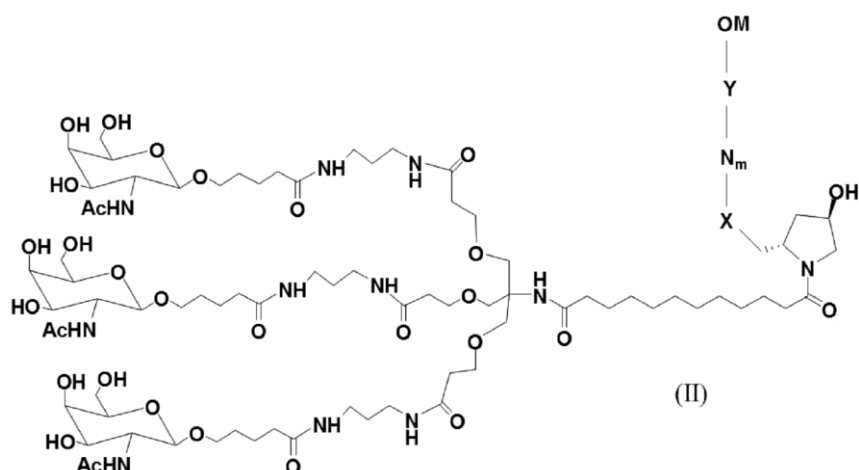
En ciertas realizaciones, un ligando es N-acetilgalactosamina.

En ciertas realizaciones, un compuesto comprende la 25 estructura:



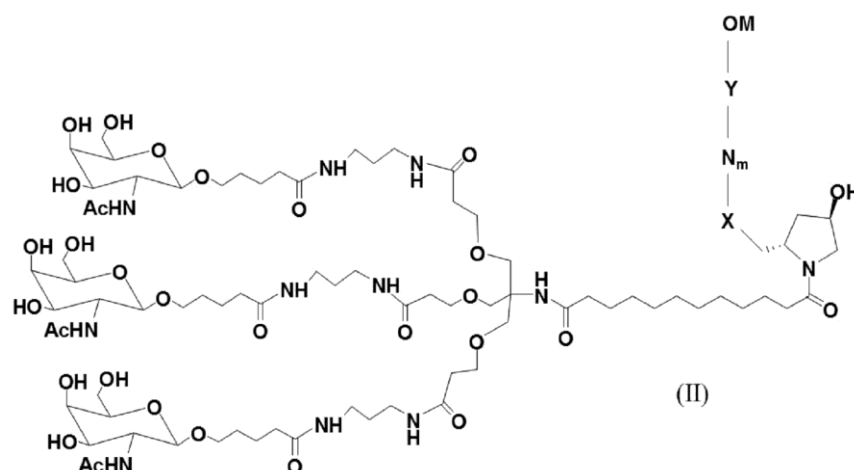
donde cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; X₁ y X₂ son cada uno, independientemente, un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; y OM es un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, m es 1. En ciertas realizaciones, m es 2. En ciertas realizaciones, m es 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, m es 2, 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, cuando m es superior a 1, cada nucleósido modificado o no modificado de N_m puede estar conectado a nucleósidos adyacentes modificados o no modificados de N_m mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster o un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato.

En ciertas realizaciones, un compuesto comprende la estructura:



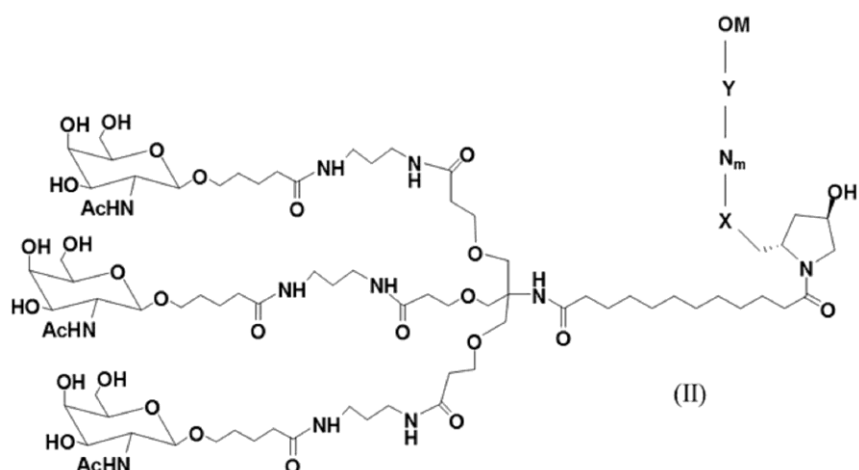
donde X es un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, m es 1. En ciertas realizaciones, m es 2. En ciertas realizaciones, m es 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, m es 2, 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, cuando m es superior a 1, cada nucleósido modificado o no modificado de N_m puede estar conectado a nucleósidos adyacentes modificados o no modificados de N_m mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster o un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato.

En ciertas realizaciones, un compuesto comprende la estructura:



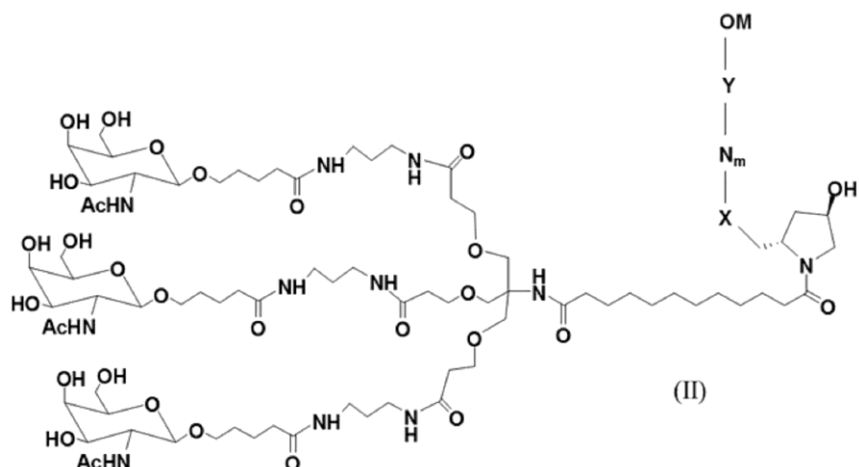
donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es un oligonucleótido modificado. En ciertas realizaciones, m es 1. En ciertas realizaciones, m es 2. En ciertas realizaciones, m es 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, m es 2, 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, cuando m es superior a 1, cada nucleósido modificado o no modificado de N_m puede estar conectado a nucleósidos adyacentes modificados o no modificados de N_m mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster o un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato.

En algunas realizaciones, un compuesto comprende la estructura:



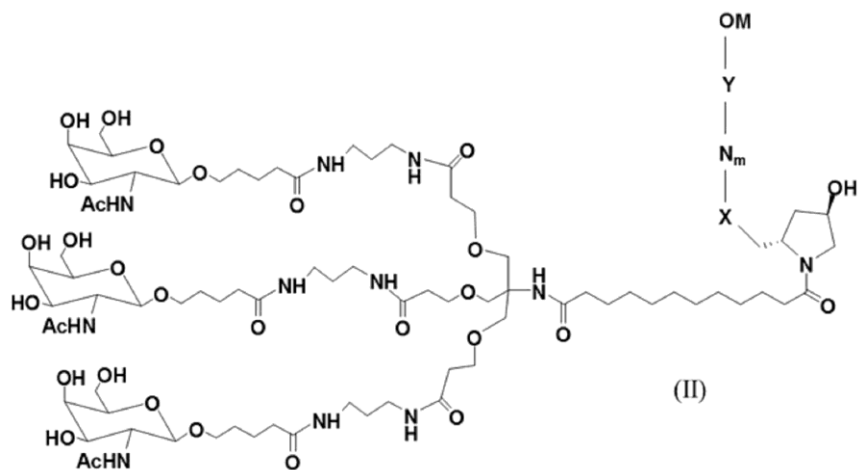
donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; cada N de N_m es una desoxiadenosina (A); m es 2; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es 5'-C₅A₅A₅U₅G₅C₅U₅G₅C₅A₅AAC₅A₅A₅U₅G₅C₅U₅G₅C₅A₅-3' (SEQ ID NO: 7), donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt, cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido y cada enlace internucleosídico entre dos nucleósidos S-cEt es un enlace de tipo fosforotioato y el resto de enlaces internucleosídicos son enlaces de tipo fosfodiéster. En algunas realizaciones, Y está unido al extremo 3' de OM.

En algunas realizaciones, un compuesto comprende la estructura:



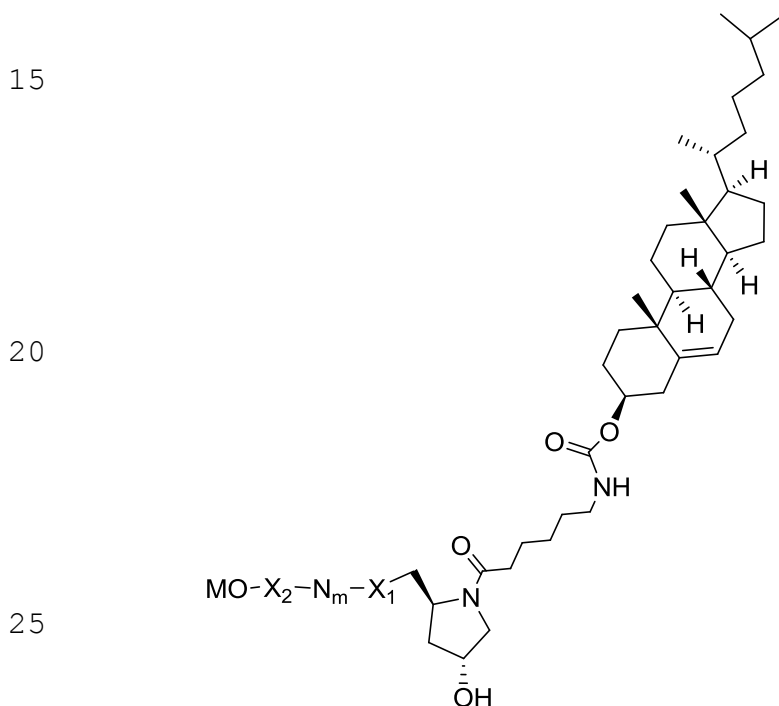
donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; cada N de N_m es una desoxiadenosina (A); m es 2; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es 5'- $C_5A_5A_5U_5G_5C_5U_5G_5C_5A_5AAC_5A_5A_5U_5G_5C_5U_5G_5C_5A_5-3'$ (SEQ ID NO: 7), donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt, cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido y cada enlace internucleosídico entre dos nucleósidos S-cEt es un enlace de tipo fosforotioato y el resto de enlaces internucleosídicos son enlaces de tipo fosfodiéster; y donde Y está unida al extremo 3' de OM.

En algunas realizaciones, un compuesto está constituido por la estructura:



donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; cada N de N_m es una desoxiadenosina (A); m es 2; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es 5'-C_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SA_SAAC_SA_SA_SU_SG_SC_SU_SG_SC_SA_S-3' (SEQ ID NO: 7),
 5 donde cada nucleósido seguido por un subíndice "S" es un nucleósido S-cEt, cada nucleósido no seguido por un subíndice es un desoxinucleósido y cada enlace internucleosídico entre dos nucleósidos S-cEt es un enlace de tipo fosforotioato y el resto de enlaces internucleosídicos son enlaces de tipo
 10 fosfodiéster; y donde Y está unida al extremo 3' de OM; o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas realizaciones, un compuesto tiene la estructura:



donde cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; X_1 y X_2 son cada uno, independientemente, un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; y OM es un
 30 oligonucleótido modificado.

En ciertas realizaciones, al menos uno de X_1 y X_2 es un enlace de tipo fosfodiéster. En ciertas realizaciones, cada uno de X_1 y X_2 es un enlace de tipo fosfodiéster.

En ciertas realizaciones, m es 1. En ciertas realizaciones, m es 2. En ciertas realizaciones, m es 2, 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, m es 3, 4 o 5. En ciertas realizaciones, cuando m es superior a 1, cada nucleósido modificado o no modificado de N_m puede estar conectado a nucleósidos adyacentes modificados o no modificados de N_m mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster o un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato. En ciertas realizaciones, cuando m es 2, los nucleósidos de N_m están unidos mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster.

En cualquiera de las realizaciones descritas en la presente, N_m puede ser N'_pN'' , donde cada N' es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y p está comprendida entre 0 y 4; y N'' es un nucleósido que comprende un resto de tipo azúcar no modificado.

En ciertas realizaciones, p es 0. En ciertas realizaciones, p es 1, 2, 3 o 4. En ciertas realizaciones, cuando p es 1, 2, 3 o 4, cada N' comprende un resto de tipo azúcar no modificado.

En ciertas realizaciones, un resto de tipo azúcar no modificado es una β -D-ribosa o una β -D-desoxirribosa.

En ciertas realizaciones, cuando p es 1, 2, 3 o 4, cada N' comprende una nucleobase púrica. En ciertas realizaciones, N'' comprende una nucleobase púrica. En ciertas realizaciones, una nucleobase púrica se selecciona entre adenina, guanina, hipoxantina, xantina y 7-metilguanina. En ciertas realizaciones, N es una β -D-desoxirriboadenosina o una β -D-

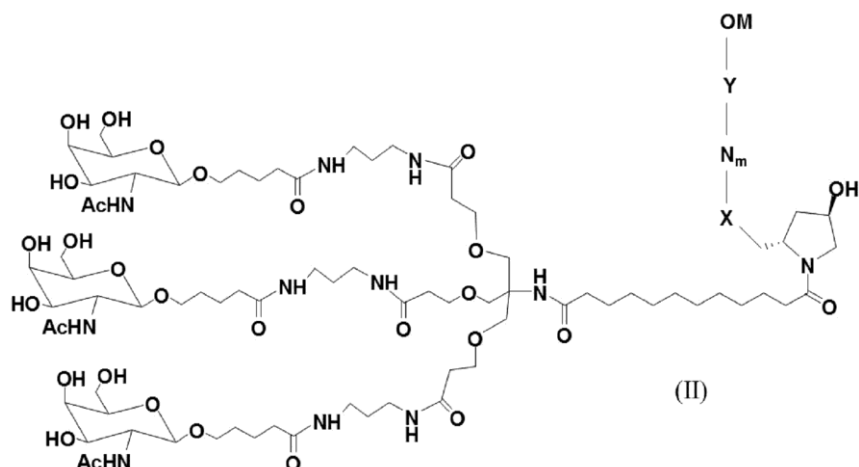
desoxirriboguanosina. En ciertas realizaciones, N'' es una β -D-desoxirriboadenosina o una β -D-desoxirriboguanosina. En algunas realizaciones, p es 1 y N' y N'' son cada uno una β -D-desoxirriboadenosina.

5 En ciertas realizaciones, cuando p es 1, 2, 3 o 4, cada N' comprende una base pirimidínica. En ciertas realizaciones, N'' comprende una nucleobase pirimidínica. En ciertas realizaciones, una nucleobase pirimidínica se selecciona entre citosina, 5-metilcitosina, timina, uracilo y 5,6-
10 dihidrouracilo.

 En cualquiera de las realizaciones descritas en la presente, el resto de tipo azúcar de cada N se selecciona independientemente entre una β -D-ribosa, una β -D-desoxirribosa, un 2'-O-metoxiazúcar, un 2'-O-metilazúcar, un
15 2'-fluoroazúcar y un resto de tipo azúcar bicíclico. En ciertas realizaciones, cada resto de tipo azúcar bicíclico se selecciona independientemente entre un resto de tipo azúcar cEt y un resto de tipo azúcar LNA y un resto de tipo azúcar ENA. En ciertas realizaciones, el resto de tipo azúcar
20 cEt es un resto de tipo azúcar S-cEt. En ciertas realizaciones, el resto de tipo azúcar cEt es un resto de tipo azúcar R-cEt. En cualquiera de las realizaciones descritas en la presente, el resto de tipo azúcar de cada N se puede seleccionar independientemente entre una β -D-ribosa,
25 una β -D-desoxirribosa y un 2'-fluoroazúcar.

 En ciertas realizaciones, un compuesto comprende la estructura:

5



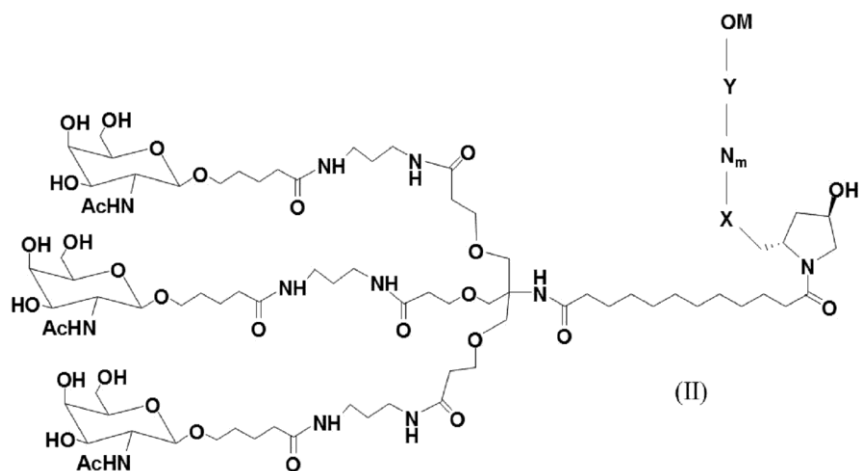
10

donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; m es 1; N de N_m es una β -D-desoxirriboadenosina; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es un oligonucleótido modificado.

15

En ciertas realizaciones, un compuesto comprende la estructura:

20



25

donde X es un enlace de tipo fosfodiéster; m es 2; cada N de N_m es una β -D-desoxirriboadenosina; los nucleósidos de N están unidos mediante un enlace internucleosídico de tipo fosfodiéster; Y es un enlace de tipo fosfodiéster; y OM es un oligonucleótido modificado.

30

Algunos restos adicionales para la conjugación con un oligonucleótido modificado incluyen fenazina, fenantridina,

antraquinona, acridina, fluoresceínas, rodaminas, cumarinas y tintes. En ciertas realizaciones, un grupo conjugado se enlaza directamente a un oligonucleótido modificado.

Ciertos productos metabólicos

5 Tras la exposición a exonucleasas y/o endonucleasas *in vitro* o *in vivo*, los compuestos pueden experimentar una escisión en diversas posiciones a lo largo del compuesto. Los productos de tal escisión pueden conservar en parte la actividad del compuesto original y como tales se consideran
10 metabolitos activos. Por tanto, se puede utilizar un producto metabólico de un compuesto en los métodos descritos en la presente. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado (conjugado o no conjugado) experimenta escisión en el extremo 5' y/o en el extremo 3', lo que da como
15 resultado un producto metabólico que tiene 1, 2 o 3 nucleótidos menos en el extremo 5' y/o el extremo 3', respecto al oligonucleótido modificado original. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado experimenta escisión en el extremo 5', se libera el nucleótido 5'-
20 terminal y esto da como resultado un producto metabólico que tiene 1 nucleótido menos en el extremo 5' respecto al oligonucleótido modificado original. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado experimenta escisión en el extremo 5', se liberan dos nucleótidos 5'-
25 terminales y esto da como resultado un producto metabólico que tiene dos nucleótidos menos en el extremo 5' respecto al oligonucleótido modificado original. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado experimenta escisión en el extremo 3', se libera el nucleótido 3'-
30 terminal y esto da como resultado un producto metabólico que tiene un nucleótido menos en el extremo 3' respecto al

oligonucleótido modificado original. En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado experimenta escisión en el extremo 3', se liberan dos nucleósidos 3'-terminales y esto da como resultado un producto metabólico que tiene dos nucleósidos menos en el extremo 3' respecto al oligonucleótido modificado original.

En algunas realizaciones, los oligonucleótidos modificados descritos en la presente experimentan escisión entre las regiones (es decir, oligo1, oligo2 y/u oligo3 en las estructuras descritas en la presente) de manera que las regiones están separadas entre sí. Por ejemplo, cuando un oligonucleótido modificado tiene la estructura [oligo1]-[x-N]_m-x-[oligo2], en algunas realizaciones, la escisión genera oligo1 y oligo2, donde uno o ambos oligos pueden comprender uno o más nucleótidos de [x-N]_m, o uno o ambos oligos puede que no comprendan ninguno de los nucleótidos de [x-N]_m. De manera similar, cuando un oligonucleótido modificado tiene la estructura [oligo1]-[x-N]_m-x-[oligo2]-[x-N]_m-x-[oligo3], en algunas realizaciones, la escisión genera oligo1, oligo2 y oligo3, donde uno o más de los oligos pueden comprender uno o más nucleótidos de [x-N]_m, o uno o más oligos puede que no comprendan ninguno de los nucleótidos de [x-N]_m. En algunas realizaciones, la escisión puede ser parcial y generar [oligo1]-[x-N]_m-x-[oligo2] y oligo3, u oligo1 y -[oligo2]-[x-N]_m-x-[oligo3], donde nuevamente una o ambas porciones pueden comprender uno o más nucleótidos de [x-N]_m. En algunas realizaciones, la escisión ocurre en un tejido diana. En algunas realizaciones, cada región del oligonucleótido modificado es más estable que el nucleótido modificado íntegro.

Los compuestos que comprenden el oligonucleótido modificado unido a un resto conjugado también pueden experimentar escisión en un sitio dentro del conector entre el oligonucleótido modificado y el ligando. En ciertas realizaciones, la escisión genera el oligonucleótido modificado original que comprende una porción del resto conjugado. En ciertas realizaciones, la escisión genera el oligonucleótido modificado original que comprende una o más subunidades del conector entre el oligonucleótido modificado y el ligando. Por ejemplo, en el caso en el que un compuesto tiene la estructura L_n -conector- N_m -P-OM, en algunas realizaciones, la escisión genera el oligonucleótido modificado original que comprende uno o más nucleótidos de N_m . En algunas realizaciones, la escisión de un oligonucleótido conjugado modificado genera el oligonucleótido modificado original. En algunas de tales realizaciones, por ejemplo, en el caso en el que un compuesto tiene la estructura L_n -conector- N_m -P-OM, en algunas realizaciones, la escisión genera el oligonucleótido modificado original sin ninguno de los nucleótidos de N_m .

Ciertas dianas de microARN

En ciertas realizaciones, cada nucleobase de una región de un oligonucleótido modificado que tiene como diana un microARN es capaz de experimentar un emparejamiento de bases con una nucleobase en cada posición correspondiente de la secuencia de nucleobases del microARN, o un precursor de este. En ciertas realizaciones, la secuencia de nucleobases de una región de un oligonucleótido modificado puede tener uno o más pares de bases emparejados erróneamente con respecto a su microARN diana o secuencia precursora y sigue siendo capaz de hibridarse con su secuencia diana.

En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a la secuencia de nucleobases de un precursor de microARN, tal como una
5 secuencia tallo-bucle de microARN. Ya que la secuencia precursora de microARN contiene un microARN maduro, una región de un oligonucleótido modificado que tiene una secuencia de nucleobases complementaria a un microARN también es complementaria a una región del precursor de
10 microARN correspondiente.

En ciertas realizaciones, el número de nucleósidos unidos de una región de un oligonucleótido modificado es inferior a la longitud de un microARN o un precursor de este. En ciertas realizaciones, la región del oligonucleótido
15 modificado tiene una secuencia de nucleobases que es complementaria a una región del microARN o del precursor de este. Una región de un oligonucleótido modificado que tiene un número de nucleósidos unidos que es inferior a la longitud del microARN, donde cada nucleobase de un oligonucleótido
20 modificado es complementaria a cada nucleobase de una posición correspondiente en una secuencia de nucleobases de microARN, se considera que tiene una secuencia de nucleobases que es totalmente complementaria a una región de una secuencia de nucleobases de microARN. Por ejemplo, una región
25 de un oligonucleótido modificado constituido por 12 nucleósidos unidos, donde cada una de las nucleobases de los nucleósidos 1 hasta el 12 son complementarias a una posición correspondiente de un microARN que tiene una longitud de 23 nucleobases, es totalmente complementaria a una región de 12
30 nucleobases de la secuencia de nucleobases del microARN. Una región de este tipo de un oligonucleótido modificado tiene

una secuencia de nucleobases que es complementaria en un 100% a una porción de 22 nucleobases del microARN. Además, se considera que una región de este tipo de un oligonucleótido modificado es complementaria en un 100% al microARN.

5 En ciertas realizaciones, una región de la secuencia de nucleobases de un oligonucleótido modificado es totalmente complementaria a una región de la secuencia de nucleobases de un microARN. En ciertas realizaciones, cada una de las 8 nucleobases contiguas de un oligonucleótido modificado son
10 complementarias a 8 nucleobases contiguas de un microARN. En ciertas realizaciones, cada una de las 9 nucleobases contiguas de un oligonucleótido modificado son complementarias a 9 nucleobases contiguas de un microARN. En ciertas realizaciones, cada una de las 10 nucleobases
15 contiguas de un oligonucleótido modificado son complementarias a 10 nucleobases contiguas de un microARN. En ciertas realizaciones, cada una de las 11 nucleobases contiguas de un oligonucleótido modificado son complementarias a 11 nucleobases contiguas de un microARN.
20 En ciertas realizaciones, cada una de las 12 nucleobases contiguas de un oligonucleótido modificado son complementarias a 12 nucleobases contiguas de un microARN. En ciertas realizaciones, cada una de las 13 nucleobases contiguas de un oligonucleótido modificado son
25 complementarias a 13 nucleobases contiguas de un microARN. En ciertas realizaciones, cada una de las 14 nucleobases contiguas de un oligonucleótido modificado son complementarias a 14 nucleobases contiguas de un microARN. En ciertas realizaciones, cada una de las 15 nucleobases
30 contiguas de un oligonucleótido modificado son complementarias a 15 nucleobases contiguas de un microARN.

En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado comprende una secuencia de nucleobases que es complementaria a una secuencia seminal, es decir, la región comprende una secuencia que se empareja con la secuencia seminal. En ciertas realizaciones, una secuencia seminal es una secuencia seminal hexamérica. En ciertas realizaciones, una secuencia seminal hexamérica está constituida por las nucleobases 1-6 de un microARN. En ciertas realizaciones, una secuencia seminal hexamérica está constituida por las nucleobases 2-7 de un microARN. En ciertas realizaciones, una secuencia seminal hexamérica está constituida por las nucleobases 3-8 de un microARN. En ciertas realizaciones, una secuencia seminal es una secuencia seminal heptamérica. En ciertas realizaciones, una secuencia seminal heptamérica está constituida por las nucleobases 1-7 de un microARN. En ciertas realizaciones, una secuencia seminal heptamérica está constituida por las nucleobases 2-8 de un microARN. En ciertas realizaciones, la secuencia seminal es una secuencia seminal octamérica. En ciertas realizaciones, una secuencia seminal octamérica está constituida por las nucleobases 1-8 de un microARN. En ciertas realizaciones, una secuencia seminal octamérica está constituida por las nucleobases 2-9 de un microARN.

En ciertas realizaciones, una secuencia de nucleobases de una región de un oligonucleótido modificado es complementaria en un 100% a una secuencia de nucleobases de microARN enumerada en la presente, o un precursor de este. En ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que tiene un emparejamiento erróneo con respecto a la secuencia de nucleobases de un microARN, o un precursor de este. En

ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que tiene dos emparejamientos erróneos con respecto a la secuencia de nucleobases de un microARN, o un precursor de este. En

5 ciertas realizaciones, una región de un oligonucleótido modificado tiene una secuencia de nucleobases que no tiene más de dos emparejamientos erróneos con respecto a la secuencia de nucleobases de un microARN, o un precursor de este. En ciertas realizaciones, las nucleobases emparejadas

10 erróneamente son contiguas. En ciertas realizaciones, las nucleobases emparejadas erróneamente no son contiguas.

Ciertas secuencias de nucleobases

Cualesquiera secuencias de nucleobases expuestas en la presente incluidas, sin carácter limitante, las que se

15 encuentran en los Ejemplos y en la lista de secuencias, son independientes de cualquier modificación del ácido nucleico. En este sentido, los ácidos nucleicos definidos en una SEQ ID NO pueden comprender, independientemente, una o más modificaciones en uno o más restos de tipo azúcar, uno o más

20 enlaces internucleosídicos y/o una o más nucleobases.

Aunque la lista de secuencias que acompaña a esta presentación identifica cada secuencia de nucleobases como "ARN" o "ADN" según sea necesario, en la práctica, esas secuencias se podrán modificar con cualquier combinación de

25 modificaciones químicas. El experto en la técnica comprenderá fácilmente que tal designación como "ARN" o "ADN" para describir los oligonucleótidos modificados es un tanto arbitraria. Por ejemplo, un oligonucleótido que comprende un nucleósido que comprende un resto de tipo 2'-OH-azúcar y una

30 base de timina se podría describir como ADN que tiene un azúcar modificado (2'-OH en lugar del 2'-H natural del ADN)

o como un ARN que tiene una base modificada (timina (uracilo metilado) en lugar de uracilo natural del ARN).

En consecuencia, las secuencias de ácido nucleico que se proporcionan en la presente incluidas, sin carácter limitante, las de la lista de secuencias, se pretende que engloben los ácidos nucleicos que contienen cualquier combinación de ARN y/o ADN natural o modificado incluidos, sin carácter limitante, los ácidos nucleicos de este tipo que tienen nucleobases modificadas. A modo de ejemplo adicional y sin carácter limitante, un compuesto oligomérico que tiene la secuencia de nucleobases "ATCGATCG" engloba cualesquiera compuestos oligoméricos que tienen tal secuencia de nucleobases, ya sean modificados o no modificados incluidos, sin carácter limitante, los compuestos de este tipo que comprenden bases de ARN, tales como los que tienen la secuencia "AUCGAUCG" y los que tienen algunas bases de ADN y algunas bases de ARN tales como "AUCGATCG" y los compuestos oligoméricos que tienen otras bases modificadas, tales como "AT^{me}CGAUCG," donde ^{me}C indica una base de citosina que comprende un grupo metilo en la posición 5.

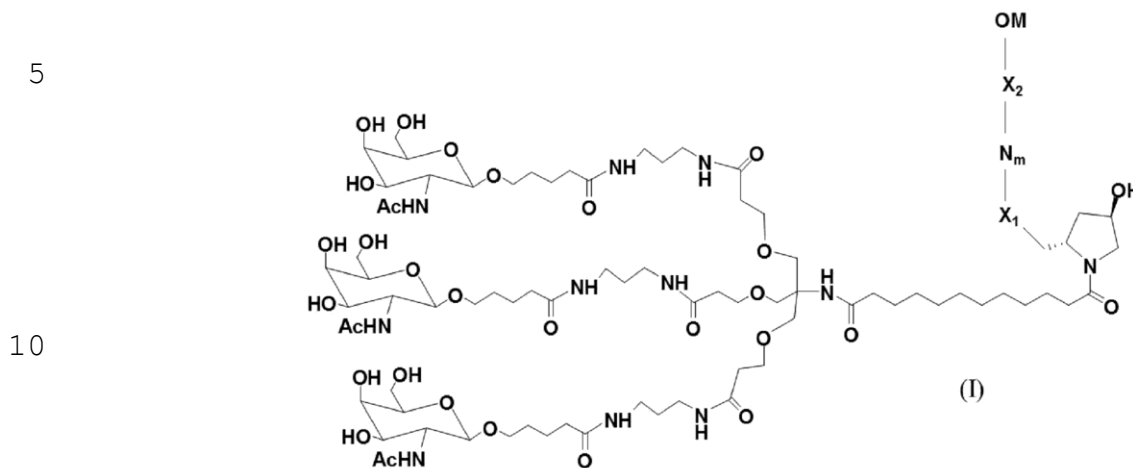
Ciertos métodos de síntesis

Los oligonucleótidos modificados se pueden obtener con métodos automáticos de síntesis en fase sólida conocidos en la técnica. Durante la síntesis en fase sólida se acoplan secuencialmente monómeros de fosforoamidito a un nucleósido que está unido covalentemente a un soporte sólido. Este nucleósido es el nucleósido 3'-terminal del oligonucleótido modificado. Normalmente, el ciclo de acoplamiento comprende cuatro etapas: destritilación (eliminación de un grupo protector del hidroxilo de la posición 5' con ácido),

acoplamiento (enlace de un fosforoamidito activado al nucleósido u oligonucleótido unido al soporte), oxidación o sulfuración (conversión de un triéster de fosfito recién formado con un agente de oxidación o sulfuración) y adición
5 de un grupo de bloqueo (acetilación de grupos hidroxilo de la posición 5' que no han reaccionado). Después del ciclo final de acoplamiento, el oligonucleótido unido al soporte sólido se somete a una etapa de destritilación, seguida por una etapa de escisión y desprotección que libera
10 simultáneamente el oligonucleótido del soporte sólido y elimina los grupos protectores de las bases. El soporte sólido se elimina por filtración, el filtrado se concentra y se realizan pruebas con la solución resultante para determinar la identidad y pureza. A continuación, se purifica
15 el oligonucleótido, por ejemplo, utilizando una columna empaquetada con una resina de intercambio aniónico.

Se pueden obtener oligonucleótidos modificados conjugados con GalNac con una síntesis automática en fase sólida similar a la síntesis en fase sólida con la que se
20 produjeron los oligonucleótidos no conjugados. Durante la síntesis de los oligonucleótidos conjugados con GalNac, los monómeros de fosforoamidito se acoplan secuencialmente con un conjugado de GalNac que está unido covalentemente a un soporte sólido. La síntesis de los conjugados de GalNac y el
25 soporte sólido conjugado con GalNac se describe, por ejemplo, en la patente de EE. UU. N.º 8 106 022, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad para describir la síntesis de conjugados que contienen carbohidratos, incluidos los conjugados que comprenden uno o más restos de
30 tipo GalNac, y la síntesis de un conjugado unido covalentemente a un soporte sólido.

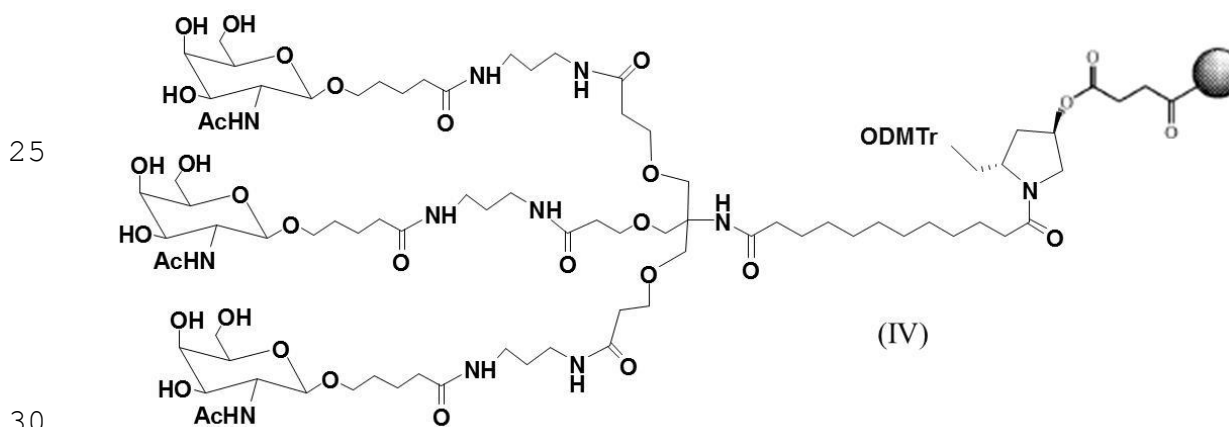
En la presente, se proporcionan procesos para obtener un oligonucleótido modificado conjugado con GalNAc que tiene la estructura que se muestra en la fórmula (I):



donde cada N de N_m es, independientemente, un nucleósido modificado o no modificado y m está comprendida entre 1 y 5; X_1 y X_2 son cada uno, independientemente, un enlace de tipo fosfodiéster o un enlace de tipo fosforotioato; y OM es un oligonucleótido modificado; que comprende las etapas de:

proporcionar un soporte sólido que comprende un conjugado tal como se muestra en la fórmula IV;

desproteger el grupo DMT en condiciones eficaces para producir un hidroxilo reactivo;



realizar etapas de acoplamiento de fosforoamidito
secuenciales para formar N_m ;

realizar etapas de acoplamiento de fosforoamidito
secuenciales para formar OM;

5 y liberar el oligonucleótido modificado conjugado del
soporte sólido.

Ciertas modificaciones

En la presente se proporcionan compuestos que
comprenden oligonucleótidos modificados que tienen la
10 estructura [oligo1]-[x-N]_m-x-[oligo2] u [oligo1]-[x-N]_m-x-
[oligo2]-[x-N]_m-x-[oligo3]. En la presente también se
proporcionan compuestos que comprenden oligonucleótidos
modificados constituidos por la estructura [oligo1]-[x-N]_m-
x-[oligo2] u [oligo1]-[x-N]_m-x-[oligo2]-[x-N]_m-x-[oligo3].
15 En algunas realizaciones, el oligonucleótido modificado está
enlazado a un resto conjugado. Un oligonucleótido modificado
puede comprender una o más modificaciones en una nucleobase,
azúcar y/o enlace internucleosídico. Se puede seleccionar
una nucleobase, azúcar y/o enlace internucleosídico
20 modificados antes que una forma no modificada debido a
propiedades deseables tales como, por ejemplo, una mejor
captación celular, una mayor afinidad por otros
oligonucleótidos o ácidos nucleicos diana y una mayor
estabilidad en presencia de nucleobases.

25 En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado
comprende uno o más nucleósidos modificados. En ciertas
realizaciones, un nucleósido modificado es un nucleósido
estabilizador. Un ejemplo de un nucleósido estabilizador es
un nucleósido con una modificación en el azúcar.

30 En ciertas realizaciones, un nucleósido modificado
comprende un resto de tipo azúcar. En ciertas realizaciones,

un nucleósido modificado que comprende un resto de tipo
azúcar modificado comprende una nucleobase no modificada. En
ciertas realizaciones, un azúcar modificado comprende una
nucleobase modificada. En ciertas realizaciones, un
5 nucleósido modificado es un nucleósido modificado en la
posición 2'.

En ciertas realizaciones, un nucleósido modificado en
la posición 2' comprende un resto de tipo azúcar bicíclico.
En ciertas realizaciones, el resto de tipo azúcar bicíclico
10 es un azúcar D con la configuración alfa. En ciertas
realizaciones, el resto de tipo azúcar bicíclico es un azúcar
D con la configuración beta. En ciertas realizaciones, el
resto de tipo azúcar bicíclico es un azúcar L con la
configuración alfa. En ciertas realizaciones, el resto de
15 tipo azúcar bicíclico es un azúcar L con la configuración
beta.

En ciertas realizaciones, el resto de tipo azúcar
bicíclico comprende un grupo puente entre los átomos de
carbono de la posición 2' y la posición 4'. En ciertas
20 realizaciones, el grupo puente comprende de 1 a 8 grupos
birradicalarios unidos. En ciertas realizaciones, el resto
de tipo azúcar bicíclico comprende de 1 a 4 grupos
birradicalarios unidos. En ciertas realizaciones, el resto
de tipo azúcar bicíclico comprende 2 o 3 grupos
25 birradicalarios unidos. En ciertas realizaciones, el resto
de tipo azúcar bicíclico comprende 2 grupos birradicalarios
unidos. Los ejemplos de tales sustituyentes de tipo azúcar
entre las posiciones 4' y 2' incluyen, sin carácter limitante:
-[C(R_a)(R_b)]_n-, -[C(R_a)(R_b)]_n-O-, -C(R_aR_b)-N(R)-O- o -C(R_aR_b)-
30 O-N(R)-; 4'-CH₂-2', 4'-(CH₂)₂-2', 4'-(CH₂)₃-2'; 4'-(CH₂)-O-
2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-

2' (cEt) y 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' y análogos de estos (remítase a, p. ej., la patente de EE. UU. 7 399 845, emitida el 15 de julio de 2008); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' y análogos de este (remítase a, p. ej., el documento WO2009/006478, publicado el 8 de enero de 2009); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' y análogos de este (remítase a, p. ej., el documento WO2008/150729, publicado el 11 de diciembre de 2008); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (remítase a, p. ej., el documento US2004/0171570, publicado el 2 de septiembre de 2004); 4'-CH₂-O-N(R)-2' y 4'-CH₂-N(R)-O-2'-, donde cada R es, independientemente, H, un grupo protector o alquilo C₁-C₁₂; 4'-CH₂-N(R)-O-2', donde R es H, alquilo C₁-C₁₂ o un grupo protector (remítase a, p. ej., la patente de EE. UU. 7 427 672, emitida el 23 de septiembre de 2008); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (remítase a, p. ej., Chattopadhyaya, et al., *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); y 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' y análogos de este (remítase a la solicitud internacional PCT publicada WO 2008/154401, publicada el 8 de diciembre de 2008).

En ciertas realizaciones, tales puentes entre las posiciones 4' y 2' comprenden independientemente 1 o entre 2 y 4 grupos unidos seleccionados independientemente entre -[C(R_a)(R_b)]_n-, -C(R_a)=C(R_b)-, -C(R_a)=N-, -C(=NR_a)-, -C(=O)-, -C(=S)-, -O-, -Si(R_a)₂-, -S(=O)_x- y -N(R_a)-;

donde:

x es 0, 1 o 2;

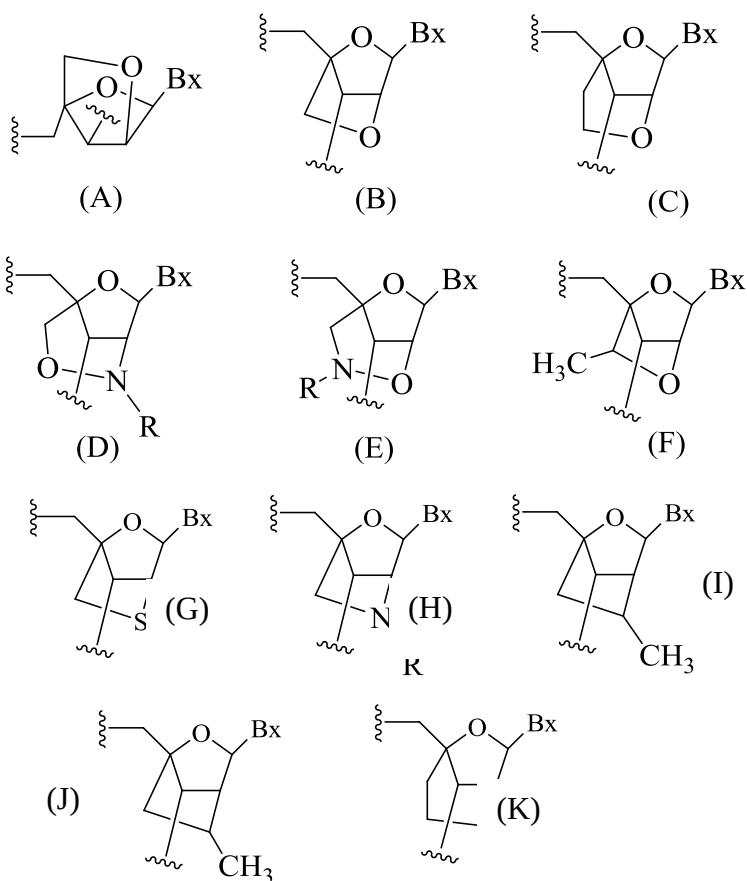
n es 1, 2, 3 o 4;

cada grupo R_a y R_b es, independientemente, H, un grupo protector, hidroxilo, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alqueno C₂-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂ sustituido, alquino C₂-C₁₂, alquino C₂-C₁₂ sustituido, arilo C₅-C₂₀, arilo C₅-C₂₀ sustituido, radical heterociclo, radical

heterociclo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, radical alicíclico C₅-C₇, radical alicíclico C₅-C₇ sustituido, halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, COOJ₁, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, CN, sulfonilo (S(=O)₂-J₁) o sulfoxilo (S(=O)-J₁); y

5 cada J₁ y J₂ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₁₂, alquilo C₁-C₁₂ sustituido, alquenilo C₂-C₁₂, alquenilo C₂-C₁₂ sustituido, alquinilo C₂-C₁₂, alquinilo C₂-C₁₂ sustituido, arilo C₅-C₂₀, arilo C₅-C₂₀ sustituido, acilo (C(=O)-H), acilo sustituido, un radical heterociclo, un radical heterociclo sustituido, aminoalquilo C₁-C₁₂, aminoalquilo C₁-C₁₂ sustituido o un grupo protector.

Los nucleósidos que comprenden restos de tipo azúcar bicíclico se denominan nucleósidos bicíclicos o BNA. En ciertas realizaciones, los nucleósidos bicíclicos incluyen, sin carácter limitante, (A) BNA de tipo α-L-metilenoxi (4'-CH₂-O-2'); (B) BNA de tipo β-D-metilenoxi (4'-CH₂-O-2'); (C) BNA de tipo etilenoxi (4'-(CH₂)₂-O-2'); (D) BNA de tipo aminoxi (4'-CH₂-O-N(R)-2'); (E) BNA de tipo oxiamino (4'-CH₂-N(R)-O-2'); (F) BNA de tipo metil(metilenoxi) (4'-CH(CH₃)-O-2') (también denominado etilo restringido o cEt); (G) BNA de tipo metilenotio (4'-CH₂-S-2'); (H) BNA de tipo metilenoamino (4'-CH₂-N(R)-2'); (I) BNA de tipo metilcarbocíclico (4'-CH₂-CH(CH₃)-2'); (J) BNA de tipo c-MOE (4'-CH₂-OMe-2') y (K) BNA de tipo propilenocarbocíclico (4'-(CH₂)₃-2'), según se muestra a continuación.



donde Bx es un resto de tipo nucleobase y R es, independientemente H, un grupo protector o alquilo C₁-C₁₂.

En ciertas realizaciones, un nucleósido modificado en la posición 2' comprende un grupo sustituyente en la posición 2' seleccionado entre halo, alilo, amino, azido, SH, CN, OCN, CF₃, OCF₃, O-, S- o N(R_m)-alquilo; O-, S-, o N(R_m)-alquilo; O-, S- o N(R_m)-alquiniilo; O-alquilenil-O-alquilo, alquiniilo, alcarilo, aralquilo, O-alcarilo, O-aralquilo, O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n) o O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n), donde cada R_m y R_n es, independientemente, H, un grupo protector de aminas o un alquilo C₁-C₁₀ sustituido o no sustituido. Estos grupos sustituyentes en la posición 2' pueden estar sustituidos adicionalmente con uno o más grupos sustituyentes seleccionados independientemente entre hidroxilo, amino, alcoxi, carboxi, bencilo, fenilo, nitro (NO₂), tiol,

tioalcoxi (S-alquilo), halógeno, alquilo, arilo, alquenilo y alquinilo.

En ciertas realizaciones, un nucleósido modificado en la posición 2' comprende un grupo sustituyente en la posición 2' seleccionado entre F, NH₂, N₃, OCF₃, O-CH₃, O(CH₂)₃NH₂, CH₂-CH=CH₂, O-CH₂-CH=CH₂, OCH₂CH₂OCH₃, O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), -O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ y acetamida N-sustituida (O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n) donde cada R_m y R_n son, independientemente, H, un grupo protector de aminas o un alquilo C₁-C₁₀ sustituido o no sustituido.

En ciertas realizaciones, un nucleósido modificado en la posición 2' comprende un grupo sustituyente en la posición 2' seleccionado entre F, OCF₃, O-CH₃, OCH₂CH₂OCH₃, 2'-O(CH₂)₂SCH₃, O-(CH₂)₂-O-N(CH₃)₂, -O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ y O-CH₂-C(=O)-N(H)CH₃.

En ciertas realizaciones, un nucleósido modificado en la posición 2' comprende un grupo sustituyente en la posición 2' seleccionado entre F, O-CH₃ y OCH₂CH₂OCH₃.

En ciertas realizaciones, un nucleósido que comprende un resto de tipo azúcar modificado es un nucleósido modificado de tipo 4'-tio. En ciertas realizaciones, un nucleósido que comprende un resto de tipo azúcar modificado es un nucleósido modificado de tipo 4'-tio-2'. Un nucleósido modificado de tipo 4'-tio tiene un β-D-ribonucleósido donde el 4'-O ha sido reemplazado por 4'-S. Un nucleósido con una modificación de tipo 4'-tio-2' es un nucleósido modificado de tipo 4'-tio en el que el grupo 2'-OH ha sido reemplazado por un grupo sustituyente en la posición 2'. Los grupos sustituyentes en la posición 2' adecuados incluyen 2'-OCH₃, 2'-O-(CH₂)₂-OCH₃ y 2'-F.

En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado (o una región de un oligonucleótido modificado) comprende una o más modificaciones internucleosídicas. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico de un oligonucleótido es un enlace internucleosídico modificado. En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico modificado comprende un átomo de fósforo.

En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado comprende al menos un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato. En ciertas realizaciones, cada enlace internucleosídico de una región de un oligonucleótido modificado es un enlace internucleosídico de tipo fosforotioato.

En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico modificado no comprende un átomo de fósforo. En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico está formado por un enlace internucleosídico con un alquilo de cadena corta. En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico está formado por un enlace internucleosídico con un cicloalquilo. En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico está formado por un enlace internucleosídico mixto con un alquilo y un heteroátomo. En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico está formado por un enlace internucleosídico mixto con un cicloalquilo y un heteroátomo. En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico está formado por uno o más enlaces internucleosídicos heteroatómicos de cadena corta. En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico está formado por uno o más enlaces internucleosídicos heterocíclicos. En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico tiene un esqueleto de tipo amida.

En ciertas realizaciones, un enlace internucleosídico tiene partes componentes mixtas de N, O, S y CH₂.

En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado comprende una o más nucleobases modificadas.

5 En ciertas realizaciones, una nucleobase modificada se selecciona entre 5-hidroximetilcitosina, 7-desazaguanina y 7-desazaadenina. En ciertas realizaciones, una nucleobase modificada se selecciona entre 7-desazaadenina, 7-desazaguanosina, 2-aminopiridina y 2-piridona. En ciertas
10 realizaciones, una nucleobase modificada se selecciona entre pirimidinas sustituidas en la posición 5, 6-azapirimidinas y purinas con sustituciones de tipo N-2, N-6 y O-6, que incluyen la 2-aminopropiladenina, 5-propiniluracilo y 5-propinilcitosina.

15 En ciertas realizaciones, una nucleobase modificada comprende un heterociclo policíclico. En ciertas realizaciones, una nucleobase modificada comprende un heterociclo tricíclico. En ciertas realizaciones, una nucleobase modificada comprende un derivado de fenoxazina.
20 En ciertas realizaciones, la fenoxazina se puede modificar adicionalmente para formar una nucleobase conocida en la técnica como G-clamp.

 En ciertas realizaciones, un oligonucleótido modificado comprende uno o más grupos estabilizadores que están
25 enlazados a uno o a ambos extremos de un oligonucleótido para mejorar propiedades tales como, por ejemplo, la estabilidad frente a nucleasas. Entre los grupos estabilizadores se incluyen las estructuras de bloqueo. Estas modificaciones terminales protegen a un
30 oligonucleótido frente a la degradación por parte de exonucleasas y pueden propiciar el suministro y/o la

ubicación en una célula. El grupo de bloqueo puede estar presente en el extremo 5' (grupo de bloqueo en 5') o en el extremo 3' (grupo de bloqueo en 3') o puede estar presente en ambos extremos. Las estructuras de bloqueo incluyen, por ejemplo, grupos de bloqueo abásicos de tipo desoxi invertidos.

Las estructuras de bloqueo adecuadas incluyen un 4',5'-metilenonucleótido, un 1-(beta-D-eritrofuranosil)nucleótido, un 4'-tionucleótido, un nucleótido carboxílico, un 1,5-anhidrohexitolnucleótido, un L-nucleótido, un alfa-nucleótido, un nucleótido con una base modificada, un enlace de tipo fosforoditioato, un treo-pentofuranosilnucleótido, un 3',4'-sec-nucleótido acíclico, un 3,4-dihidroxibutilnucleótido acíclico, un 3,5-dihidroxipentilnucleótido acíclico, un resto de tipo nucleótido con una inversión 3'-3', un resto abásico con una inversión 3'-3', un resto de tipo nucleótido con una inversión 3'-2', un resto abásico con una inversión 3'-2', un 1,4-butanodiolfosfato, un 3'-fosforamidato, un hexilfosfato, un aminohexilfosfato, un 3'-fosfato, un 3'-fosforotioato, un fosforoditioato, un resto de tipo metilfosfonato puente y un resto de tipo metilfosfonato que no es un puente 5'-aminoalquilfosfato, un 1,3-diamino-2-propilfosfato, 3-aminopropilfosfato, un 6-aminohexilfosfato, un 1,2-aminododecilfosfato, un hidroxipropilfosfato, un resto de tipo nucleótido con una inversión 5'-5', un resto abásico con una inversión 5'-5', un 5'-fosforamidato, un 5'-fosforotioato, un 5'-amino, un 5'-fosforoamidato puente y/o que no hace de puente, un fosforotioato y un resto de tipo 5'-mercapto.

Ciertas composiciones farmacéuticas

Cualquiera de los compuestos que se proporcionan en la presente se pueden preparar como una composición farmacéutica. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se prepara utilizando una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto. Las sales farmacéuticamente aceptables a modo de ejemplo no limitante incluyen las de sodio y potasio. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende un compuesto que se proporciona en la presente (que incluye una sal farmacéuticamente aceptable de este) y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los diluyentes a modo de ejemplo no limitante incluyen, por ejemplo, agua estéril y solución salina estéril, tal como solución salina tamponada con fosfato (PBS). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto que se proporciona en la presente formulada en agua estéril.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica se administra en forma de una unidad de dosificación (p. ej., comprimido, cápsula, inyección intravenosa rápida, etc.). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica comprende un compuesto que se proporciona en la presente con una dosis comprendida en un intervalo seleccionado entre los siguientes: de 25 mg a 800 mg, de 25 mg a 700 mg, de 25 mg a 600 mg, de 25 mg a 500 mg, de 25 mg a 400 mg, de 25 mg a 300 mg, de 25 mg a 200 mg, de 25 mg a 100 mg, de 100 mg a 800 mg, de 200 mg a 800 mg, de 300 mg a 800 mg, de 400 mg a 800 mg, de 500 mg a 800 mg, de 600 mg a 800 mg, de 100 mg a 700 mg, de 150 mg a 650 mg, de 200 mg a 600 mg, de 250 mg a 550 mg, de 300 mg a 500 mg, de 300 mg a 400 mg y de 400 mg a 600 mg. En ciertas realizaciones, tales composiciones farmacéuticas comprenden un compuesto que se proporciona en

la presente el cual está presente con una dosis seleccionada entre 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 85 mg, 90 mg, 95 mg, 100 mg, 105 mg, 110 mg, 115 mg, 120 mg, 125 mg, 130 mg, 135 mg, 140 mg, 145 mg, 150 mg, 155 mg, 160 mg, 165 mg, 170 mg, 175 mg, 180 mg, 185 mg, 190 mg, 195 mg, 200 mg, 205 mg, 210 mg, 215 mg, 220 mg, 225 mg, 230 mg, 235 mg, 240 mg, 245 mg, 250 mg, 255 mg, 260 mg, 265 mg, 270 mg, 270 mg, 280 mg, 285 mg, 290 mg, 295 mg, 300 mg, 305 mg, 310 mg, 315 mg, 320 mg, 325 mg, 330 mg, 335 mg, 340 mg, 345 mg, 350 mg, 355 mg, 360 mg, 365 mg, 370 mg, 375 mg, 380 mg, 385 mg, 390 mg, 395 mg, 400 mg, 405 mg, 410 mg, 415 mg, 420 mg, 425 mg, 430 mg, 435 mg, 440 mg, 445 mg, 450 mg, 455 mg, 460 mg, 465 mg, 470 mg, 475 mg, 480 mg, 485 mg, 490 mg, 495 mg, 500 mg, 505 mg, 510 mg, 515 mg, 520 mg, 525 mg, 530 mg, 535 mg, 540 mg, 545 mg, 550 mg, 555 mg, 560 mg, 565 mg, 570 mg, 575 mg, 580 mg, 585 mg, 590 mg, 595 mg, 600 mg, 605 mg, 610 mg, 615 mg, 620 mg, 625 mg, 630 mg, 635 mg, 640 mg, 645 mg, 650 mg, 655 mg, 660 mg, 665 mg, 670 mg, 675 mg, 680 mg, 685 mg, 690 mg, 695 mg, 700 mg, 705 mg, 710 mg, 715 mg, 720 mg, 725 mg, 730 mg, 735 mg, 740 mg, 745 mg, 750 mg, 755 mg, 760 mg, 765 mg, 770 mg, 775 mg, 780 mg, 785 mg, 790 mg, 795 mg y 800 mg. En ciertas realizaciones de este tipo, una composición farmacéutica comprende una dosis del compuesto que se proporciona en la presente seleccionada entre 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 700 mg y 800 mg.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende un compuesto que se proporciona en la presente se administra con una dosis de 10 mg/kg o menos, 9 mg/kg o menos, 8 mg/kg o menos, 7.5 mg/kg o menos, 7 mg/kg o menos,

6.5 mg/kg o menos, 6 mg/kg o menos, 5.5 mg/kg o menos, 5 mg/kg o menos, 4.5 mg/kg o menos, 4 mg/kg o menos, 3.5 mg/kg o menos, 3 mg/kg o menos, 2.5 mg/kg o menos, 2 mg/kg o menos, 1.5 mg/kg o menos, 1 mg/kg o menos, 0.75 mg/kg o menos, 0.5 mg/kg o menos o 0.25 mg/kg o menos.

En ciertas realizaciones, un agente farmacéutico es un compuesto liofilizado estéril que se reconstituye con un diluyente adecuado, p. ej., agua estéril para inyección o solución salina estéril para inyección. El producto reconstituido se administra como una inyección subcutánea o como una venoclisis intravenosa después de la dilución con la solución salina. El producto farmacológico liofilizado está constituido por un compuesto que se ha preparado en agua para inyección o en solución salina para inyección, cuyo pH se ha ajustado a 7.0-9.0 con un ácido o una base durante la preparación y a continuación, se ha liofilizado. El compuesto liofilizado puede ser 25-800 mg de un oligonucleótido. Se sobreentiende que esto engloba 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 425, 450, 475, 500, 525, 550, 575, 600, 625, 650, 675, 700, 725, 750, 775 y 800 mg del oligonucleótido liofilizado modificado. Además, en algunas realizaciones, el compuesto liofilizado está presente en una cantidad comprendida entre 25 mg y 800 mg, 25 mg y 700 mg, 25 mg y 600 mg, 25 mg y 500 mg, 25 mg y 400 mg, 25 mg y 300 mg, 25 mg y 200 mg, 25 mg y 100 mg, 100 mg y 800 mg, 200 mg y 800 mg, 300 mg y 800 mg, 400 mg y 800 mg, 500 mg y 800 mg, 600 mg y 800 mg, 100 mg y 700 mg, 150 mg y 650 mg, 200 mg y 600 mg, 250 mg y 550 mg, 300 mg y 500 mg, 300 mg y 400 mg o 400 mg y 600 mg. El producto farmacológico liofilizado puede estar empaquetado en un vial de vidrio transparente de tipo I de 2 mL (tratado

con sulfato de amonio), tapado con un tapón de caucho de bromobutilo y sellado con un sello exterior de aluminio FLIP-OFF®.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica
5 que se proporciona en la presente comprende un compuesto en una cantidad terapéuticamente eficaz. En ciertas realizaciones, la cantidad terapéuticamente eficaz es suficiente para prevenir, aliviar o mejorar los síntomas de una enfermedad o para prolongar la supervivencia del sujeto
10 que se está tratando. Los expertos en la técnica son sobradamente capaces de determinar una cantidad terapéuticamente eficaz.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas que se proporcionan en la presente pueden
15 contener además otros componentes adjuntos presentes tradicionalmente en las composiciones farmacéuticas, con sus niveles de utilización establecidos en la técnica. Por lo tanto, por ejemplo, las composiciones pueden contener materiales adicionales compatibles farmacéuticamente activos
20 tales como, por ejemplo, agentes antipruriginosos, astringentes, anestésicos locales o antiinflamatorios o pueden contener materiales adicionales útiles para formular físicamente diversas formas farmacéuticas de las composiciones de la presente invención tales como tintes,
25 agentes saborizantes, conservantes, antioxidantes, opacificantes, agentes espesantes y estabilizadores. Sin embargo, los materiales, cuando se añaden, no deberían interferir indebidamente con las actividades biológicas de los componentes de las composiciones de la presente invención.
30 Las formulaciones se pueden esterilizar y, si se desea, mezclar con agentes auxiliares, p. ej., lubricantes,

conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, sales para influir en la presión osmótica, tampones, colorantes, saborizantes y/o sustancias aromáticas y similares que no interaccionen negativamente con el
5 oligonucleótido o los oligonucleótidos de la formulación.

Se han utilizado restos lipídicos en terapias con ácidos nucleicos en diversos métodos. En un método, el ácido nucleico se introduce en complejos lipoplex o liposomas
10 preformados compuestos por mezclas de lípidos catiónicos y lípidos neutros. En otro método, se forman los complejos de ADN con lípidos mono- o policationicos sin la presencia de un lípido neutro. En ciertas realizaciones, se selecciona un resto lipídico para aumentar la distribución de un agente
15 farmacéutico en una célula o tejido concreto. En ciertas realizaciones, se selecciona un resto lipídico para aumentar la distribución de un agente farmacéutico en el tejido adiposo. En ciertas realizaciones, se selecciona un resto lipídico para aumentar la distribución de un agente
20 farmacéutico en el tejido muscular.

En ciertas realizaciones, se utiliza INTRALIPID para preparar una composición farmacéutica que comprende un oligonucleótido. Intralipid es una emulsión grasa preparada para la administración intravenosa. Está compuesta por un
25 10% de aceite de soja, un 1.2% de fosfolípidos de yema de huevo, un 2.25% de glicerina y agua para inyección. Además, se ha añadido hidróxido de sodio para ajustar el pH de manera que el pH del producto final esté comprendido entre 6 y 8.9.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica
30 proporcionada en la presente comprende un compuesto de poliamina o un resto lipídico complejoado con un ácido

nucleico. Tales preparaciones se describen en la publicación PCT WO/2008/042973, que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad para la divulgación de preparaciones lipídicas. Ciertas preparaciones adicionales se describen en Akinc *et al.*, *Nature Biotechnology* **26**, 561
5 - 569 (1 de mayo de 2008), que se incorpora a la presente por referencia en su totalidad para la divulgación de preparaciones lipídicas.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente comprenden uno
10 o más compuestos y uno o más excipientes. En ciertas realizaciones de este tipo, los excipientes se seleccionan entre agua, soluciones salinas, alcohol, polietilenglicoles, gelatina, lactosa, amilasa, estearato de magnesio, talco, ácido silícico, parafina viscosa, hidroximetilcelulosa y
15 polivinilpirrolidona.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente se prepara utilizando técnicas conocidas que incluyen, sin carácter limitante, procesos de
20 mezcla, disolución, granulación, preparación de grageas, desleído, emulsión, encapsulación, atrapamiento o generación de comprimidos.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente es un líquido (p. ej., una
25 suspensión, elixir y/o solución). En ciertas de tales realizaciones, se prepara una composición farmacéutica líquida utilizando ingredientes conocidos en la técnica que incluyen, sin carácter limitante, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes saborizantes, conservantes y agentes
30 colorantes.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente es un sólido (p. ej., un polvo, un comprimido y/o cápsula). En ciertas de tales realizaciones, se prepara una composición farmacéutica sólida que comprende uno o más oligonucleótidos utilizando ingredientes conocidos en la técnica que incluyen, sin carácter limitante, almidones, azúcares, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes y agentes desintegrantes.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente se formula como una preparación de absorción lenta. Ciertas preparaciones de absorción lenta de este tipo tienen un modo de acción normalmente más prolongado que las preparaciones que no son de absorción lenta. En ciertas realizaciones, tales preparaciones se administran mediante implantación (por ejemplo, de manera subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. En ciertas realizaciones, las preparaciones de absorción lenta se preparan utilizando materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo, cómo sales moderadamente solubles.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente comprende un sistema de suministro. Los ejemplos de sistemas de suministro incluyen, sin carácter limitante, liposomas y emulsiones. Ciertos sistemas de suministro son útiles para preparar ciertas composiciones farmacéuticas incluidas las que comprenden compuestos hidrófobos. En ciertas realizaciones, se utilizan ciertos disolventes orgánicos tales como sulfóxido de dimetilo.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente comprende una o más moléculas de suministro específico al tejido diseñadas para suministrar el compuesto o los compuestos proporcionados en la presente a tipos celulares o tejidos específicos. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas incluyen liposomas recubiertos con un anticuerpo específico de un tejido.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente comprende un sistema codisolvente. Ciertos de tales sistemas codisolventes comprenden, por ejemplo, alcohol bencílico, un surfactante no polar, un polímero orgánico miscible con agua y una fase acuosa. En ciertas realizaciones, tales sistemas codisolventes se utilizan para los compuestos hidrófobos. Un ejemplo no limitante de un sistema codisolvente de este tipo es el sistema codisolvente VPD, el cual es una solución de etanol absoluto que comprende un 3% p/v de alcohol bencílico, un 8% p/v del surfactante no polar Polysorbate 80™ y un 65% de polietilenglicol 300. Las proporciones de tales sistemas codisolventes pueden variar considerablemente sin alterar de manera significativa sus características de solubilidad y toxicidad. Además, la identidad de los componentes codisolventes puede variar: por ejemplo, se pueden utilizar otros surfactantes en lugar de Polysorbate 80™; el tamaño de la fracción de polietilenglicol puede variar; otros polímeros biocompatibles pueden reemplazar al polietilenglicol, p. ej., polivinilpirrolidona; y otros azúcares o polisacáridos pueden sustituir la dextrosa.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente comprende un sistema de

liberación prolongada. Un ejemplo no limitante de un sistema de liberación prolongada de este tipo es una matriz semipermeable de polímeros hidrófobos sólidos. En ciertas realizaciones, los sistemas de liberación prolongada pueden liberar los agentes farmacéuticos a lo largo de un periodo de horas, días, semanas o meses dependiendo de su naturaleza química.

En ciertas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en la presente se prepara para la administración oral. En ciertas de tales realizaciones, se formula una composición farmacéutica combinando uno o más compuestos que comprenden un oligonucleótido modificado con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Ciertos de tales portadores posibilitan formular las composiciones farmacéuticas como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones espesas, suspensiones y similares para la ingesta oral por parte de un sujeto. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas para uso oral se obtienen mezclando un oligonucleótido y uno o más excipientes sólidos. Los excipientes adecuados incluyen, sin carácter limitante, materiales de relleno tales como azúcares, incluida la lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparados de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de papa, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona (PVP). En ciertas realizaciones, opcionalmente, una mezcla de este tipo se muele y, opcionalmente, se añaden auxiliares. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se forman para obtener núcleos de grageas o comprimidos. En ciertas

realizaciones, se añaden agentes desintegrantes (p. ej., polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una sal de este, tal como alginato de sodio).

En ciertas realizaciones, los núcleos de grageas se proporcionan con recubrimientos. En ciertas realizaciones de este tipo, se pueden utilizar soluciones concentradas de azúcar, las cuales pueden contener opcionalmente goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones en laca y disolventes o mezclas de disolventes orgánicos adecuados. Se pueden añadir pigmentos o tintes a los recubrimientos de grageas o comprimidos.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas para la administración oral son cápsulas duras hechas de gelatina. Ciertas de tales cápsulas duras comprenden uno o más agentes farmacéuticos de la presente invención mezclados con uno o más materiales de relleno tales como lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizadores. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas para la administración oral son cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. En ciertas cápsulas blandas, se disuelven o suspenden uno o más agentes farmacéuticos de la presente invención en líquidos adecuados tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden añadir estabilizadores.

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se preparan para la administración bucal.

Ciertas de tales composiciones farmacéuticas son comprimidos o pastillas para chupar formulados de manera tradicional.

En ciertas realizaciones, se prepara una composición farmacéutica para la administración por inyección (p. ej.,
5 intravenosa, subcutánea, intramuscular, etc.). En ciertas de tales realizaciones, una composición farmacéutica comprende un portador y se formula en solución acuosa tal como agua o tampones fisiológicamente compatibles tales como la solución de Hanks, la solución de Ringer o tampón salino fisiológico.
10 En ciertas realizaciones, se incluyen otros ingredientes (p. ej., ingredientes que facilitan la solubilidad o actúan como conservantes). En ciertas realizaciones, se preparan suspensiones inyectables utilizando agentes de suspensión, portadores líquidos adecuados y similares. Ciertas
15 composiciones farmacéuticas para inyección se presentan en una forma farmacéutica unitaria, p. ej., en ampollas o en envases multidosis. Ciertas composiciones farmacéuticas para inyección son suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos y pueden contener agentes para
20 la formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o suspensión. Ciertos disolventes adecuados para su uso en las composiciones farmacéuticas para inyección incluyen, sin carácter limitante, disolventes lipófilos y aceites grasos tales como aceite de sésamo, ésteres de ácidos
25 grasos sintéticos tales como oleato de etilo o triglicéridos y liposomas. Las suspensiones para inyección acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión tales como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, tales suspensiones
30 pueden contener también estabilizadores adecuados o agentes

que aumentan la solubilidad de los agentes farmacéuticos y permiten la preparación de soluciones sumamente concentradas.

En ciertas realizaciones, se prepara una composición farmacéutica para la administración transmucosa. En ciertas
5 de tales realizaciones se utilizan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera que se ha de atravesar. Tales penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

En ciertas realizaciones, se proporciona una composición que comprende un compuesto como se describe en
10 la presente, donde el nivel de viscosidad es inferior a 60 cP. En algunas realizaciones, la composición tiene un nivel de viscosidad inferior a 50 cP. En algunas realizaciones, la composición tiene un nivel de viscosidad inferior a 40 cP. En algunas realizaciones, la composición tiene un nivel de viscosidad inferior a 30 cP. En algunas realizaciones, la
15 composición tiene un nivel de viscosidad inferior a 20 cP. En ciertas realizaciones, un nivel de viscosidad inferior a 20 cP permite una concentración del compuesto de aproximadamente 200 mg/mL la cual, en algunas realizaciones, es adecuada para la inyección subcutánea.
20

En ciertas realizaciones, uno o más compuestos proporcionados en la presente se administran como un profármaco. En ciertas realizaciones, tras la administración *in vivo*, un profármaco se convierte química o enzimáticamente
25 en la forma más activa terapéutica, farmacéutica o biológicamente de un oligonucleótido. En ciertas realizaciones, los profármacos son útiles debido a que son más fáciles de administrar que la correspondiente forma activa. Por ejemplo, en ciertos casos, un profármaco puede
30 tener una biodisponibilidad mayor (p. ej., mediante la administración oral) que la de la correspondiente forma

activa. En ciertas realizaciones, los profármacos poseen una capacidad de transmisión superior a través de las membranas celulares. En ciertas realizaciones, un profármaco facilita el suministro de un oligonucleótido modificado al tipo celular, tejido u órgano deseado. En ciertas realizaciones, un profármaco es un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado conjugado. En ciertos casos, un profármaco puede tener una mejor solubilidad en comparación con la correspondiente forma activa. En ciertas realizaciones, los profármacos son menos solubles en agua que la correspondiente forma activa. En ciertas realizaciones, un profármaco es un éster. En ciertas realizaciones de este tipo, el éster se hidroliza metabólicamente para obtener el ácido carboxílico tras la administración. En ciertos casos, el ácido carboxílico que contiene el compuesto es la correspondiente forma activa. En ciertas realizaciones, un profármaco comprende un péptido corto (poliaminoácido) unido a un grupo ácido. En ciertas de tales realizaciones, el péptido se escinde tras la administración para formar la correspondiente forma activa.

En ciertas realizaciones, se produce un profármaco modificando un compuesto farmacéuticamente activo de manera que el compuesto activo se regenere tras la administración *in vivo*. El profármaco se puede diseñar para alterar la estabilidad metabólica o las características de transporte de un fármaco, para enmascarar efectos secundarios o toxicidad, para mejorar el sabor de un fármaco y/o para alterar otras características o propiedades de un fármaco. En virtud de sus conocimientos sobre los procesos farmacodinámicos y el metabolismo del fármaco *in vivo*, los expertos en la técnica pueden diseñar profármacos del

compuesto una vez que se conoce el compuesto farmacéuticamente activo (remítase a, p. ej., Nogrady (1985) Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, Nueva York, páginas 388-392). En ciertas realizaciones, un profármaco es un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado unido a un resto conjugado de manera tal que permita la escisión del resto conjugado y la regeneración del oligonucleótido modificado tras la administración *in vivo*. Un compuesto que comprende un oligonucleótido modificado unido a un resto conjugado escindible tal como, por ejemplo, un compuesto de estructura B, C, D, (I) o (II) descrito en la presente, puede liberar el oligonucleótido modificado en su forma no conjugada tras la administración *in vivo*.

Ciertas vías de administración

En ciertas realizaciones, la administración a un sujeto comprende la administración parenteral. En ciertas realizaciones, la administración a un sujeto comprende la administración intravenosa. En ciertas realizaciones, la administración a un sujeto comprende la administración subcutánea.

En ciertas realizaciones, la administración a un sujeto comprende la administración intraarterial, pulmonar, oral, rectal, transmucosa, intestinal, enteral, tópica, transdérmica, en supositorios, intratecal, intraventricular, intraperitoneal, intranasal, intraocular, intramuscular, intramedular e intratumoral.

Ciertas terapias adicionales

Los tratamientos para los trastornos metabólicos pueden comprender más de una terapia. Por tanto, en ciertas realizaciones, la presente invención proporciona métodos

para tratar trastornos metabólicos que comprenden administrar a un sujeto que lo necesite un compuesto que comprende al menos una región complementaria a miR-103 y/o miR-107, o un precursor de esta, y que comprende además
5 administrar al menos un agente farmacéutico adicional.

En ciertas realizaciones, el agente farmacéutico adicional es un agente hipoglucemiante.

En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es un agonista de PPAR (de tipo gamma, dual o pan), un inhibidor
10 de la dipeptidil-peptidasa (IV), un análogo de GLP-I (tal como albiglutida (Eperzan®, GSK)), insulina o un análogo de insulina, un secretagogo de insulina, un inhibidor de SGLT2, un análogo de amilina humana, una biguanida, un inhibidor de alfa-glucosidasa, una meglitinida, una tiazolidinodiona o
15 una sulfonilurea.

En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es una insulina de acción prolongada, tal como la insulina glargina (Lantus®, Sanofi-Aventis) o la insulina detemir (Levemir®, Novo Nordisk). En ciertas realizaciones, una
20 terapia adicional comprende una bomba de insulina.

En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es un análogo de GLP-I. En ciertas realizaciones, el análogo de GLP-I es exendina-4 o liraglutida.

En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es
25 una sulfonilurea. En ciertas realizaciones, la sulfonilurea es acetohexamida, clorpropamida, tolbutamida, tolazamida, glimepirida, una glipizida, una gliburida o una glicazida.

En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es una biguanida. En ciertas realizaciones, la biguanida es
30 metformina. En ciertas realizaciones, los niveles de glucosa en sangre disminuyen sin un aumento de la acidosis láctica

en comparación con la acidosis láctica observada tras el tratamiento solamente con metformina.

En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es una meglitinida. En ciertas realizaciones, la meglitinida es
5 nateglinida o repaglinida.

En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es una tiazolidinodiona. En ciertas realizaciones, la tiazolidinodiona es pioglitazona, rosiglitazona o troglitazona. En ciertas realizaciones, los niveles de
10 glucosa en sangre disminuyen sin un aumento en peso superior al observado con el tratamiento solamente con rosiglitazona.

En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es un inhibidor de la alfa-glucosidasa. En ciertas realizaciones, el inhibidor de la alfa-glucosidasa es
15 acarbosa o miglitol.

En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es un oligonucleótido antisentido que tiene como diana PTP1B. En ciertas realizaciones, el agente hipoglucemiante es un oligonucleótido antisentido que tiene como diana SGLT2.

20 En ciertas realizaciones, una terapia adicional es un agente contra la obesidad. En ciertas realizaciones, un agente contra la obesidad es Orlistat, Sibutramine o Rimonabant.

En una cierta realización, la terapia adicional es un
25 cambio terapéutico del estilo de vida. En ciertas realizaciones, el cambio terapéutico del estilo de vida incluye una pauta de ejercicios y/o dieta.

En ciertas realizaciones, la dosis de un agente farmacéutico adicional es la misma que la dosis que se
30 administraría si el agente farmacéutico adicional se administrara solo.

En ciertas realizaciones, la dosis de un agente farmacéutico adicional es menor que la dosis que se administraría si el agente farmacéutico adicional se administrara solo. En ciertas realizaciones, la dosis de un
5 agente farmacéutico adicional es mayor que la dosis que se administraría si el agente farmacéutico adicional se administrara solo.

Los ejemplos adicionales de agentes farmacéuticos incluyen, sin carácter limitante, corticosteroides incluida,
10 sin carácter limitante, la prednisona; inmunoglobulinas incluida, sin carácter limitante, la inmunoglobulina intravenosa (IVIg); analgésicos (p. ej., acetaminofeno); agentes antiinflamatorios incluidos, sin carácter limitante, los fármacos antiinflamatorios no esteroides (p. ej.,
15 ibuprofeno, inhibidores de COX-I e inhibidores de COX-2); salicilatos; antibióticos; antivirales; agentes antifúngicos; agentes antidiabéticos (p. ej., biguanidas, inhibidores de glucosidasas, insulinas, sulfonilureas y tiazolidenodionas); modificadores adrenérgicos; diuréticos; hormonas (p. ej.,
20 esteroides anabólicos, andrógeno, estrógeno, calcitonina, progestina, somatostano y hormonas tiroideas); inmunomoduladores; relajantes musculares; antihistaminas; agentes para la osteoporosis (p. ej., bifosfonatos, calcitonina y estrógenos); prostaglandinas, agentes
25 antineoplásicos; agentes psicoterapéuticos, sedantes; productos para el roble venenoso o el zumaque venenoso; anticuerpos y vacunas.

En ciertas realizaciones, una terapia adicional es una terapia hipolipidemiante. En ciertas realizaciones de este
30 tipo, una terapia hipolipidemiante es un cambio terapéutico

del estilo de vida. En ciertas realizaciones de este tipo, una terapia hipolipidemiante es la aféresis de LDL.

Ciertos kits

Cualquier compuesto proporcionado en la presente puede estar presente en un kit. El kit también puede contener instrucciones para el uso de un compuesto proporcionado en la presente. En algunas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente puede estar presente dentro de un vial. Se puede presentar una pluralidad de viales, tales como 10, por ejemplo, en paquetes dispensadores. En algunas realizaciones, se fabrica el vial de manera que se pueda acceder a él con una jeringuilla.

En algunas realizaciones, los kits se pueden utilizar para la administración de un compuesto proporcionado en la presente a un sujeto. En tales casos, además de un compuesto proporcionado en la presente, el kit puede comprender además uno o más de los siguientes: jeringuilla, hisopo con alcohol, bola de algodón y/o protector de gasa. En algunas realizaciones, los compuestos pueden estar presentes en una jeringuilla rellena previamente (tal como jeringuillas de una única dosis con, por ejemplo, una aguja de calibre 27, ½ pulgada con una protección para la aguja) en lugar de en un vial. Se puede presentar una pluralidad de jeringuillas rellenas previamente, tales como 10, por ejemplo, en paquetes dispensadores. El kit también puede contener instrucciones para administrar los compuestos.

Ciertos modelos experimentales

En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona métodos para utilizar y/o estudiar los compuestos de la presente invención en un modelo experimental. Los expertos en la técnica son capaces de seleccionar y

modificar los protocolos de tales modelos experimentales para evaluar un agente farmacéutico de la invención.

Por lo general, los compuestos se estudian primero en células cultivadas. Los tipos celulares adecuados incluyen los que están relacionados con el tipo celular al cual se desea suministrar un compuesto *in vivo*. Por ejemplo, los tipos celulares adecuados para el estudio de los métodos descritos en la presente incluyen hepatocitos primarios, adipocitos primarios, preadipocitos, adipocitos diferenciados, células HepG2, células Huh7, células Hep3b, SNU449, 3T3L1 y células C2C12 (mioblastos murinos).

En ciertas realizaciones, la medida en la cual un compuesto interfiere con la actividad de un miARN se evalúa en células cultivadas. En ciertas realizaciones, la inhibición de la actividad del miARN se puede evaluar midiendo los niveles del miARN. Como alternativa, se puede medir el nivel de un miARN diana predicho o validado. La inhibición de la actividad del miARN puede dar como resultado el aumento en el miARN y/o la proteína de un miARN diana. Además, en ciertas realizaciones, se pueden medir ciertas consecuencias fenotípicas. Por ejemplo, las consecuencias fenotípicas adecuadas incluyen la señalización de la insulina.

Los modelos experimentales en animales adecuados para estudiar los métodos descritos en la presente incluyen: ratones ob/ob (modelo para la diabetes, obesidad y resistencia a la insulina), ratones db/db (un modelo para la diabetes, obesidad y resistencia a la insulina), ratones C57Bl6/J alimentados con una dieta rica en grasas, ratones KKay, modelos en ratones basados en NZO, modelos en ratones

diabéticos inducidos químicamente, ratas diabéticas Zucker y ratones transgénicos aP2-SREBP.

Ciertos ensayos de cuantificación

Los efectos de un compuesto sobre la actividad de su
5 ARN o sus ARN diana se pueden evaluar mediante varios métodos conocidos en la técnica. En ciertas realizaciones, se utilizan estos métodos para cuantificar los niveles de microARN en células o tejidos *in vitro* o *in vivo*.

En ciertas realizaciones, los cambios en los niveles
10 y/o actividad diana se miden mediante análisis con micromatrices. En ciertas realizaciones, los cambios en los niveles y/o actividad diana se miden con uno de varios ensayos de PCR comercializados tales como el ensayo de MicroARN TaqMan® (Applied Biosystems).

15 La actividad *in vitro* de los compuestos anti-miR se puede evaluar utilizando un ensayo en un cultivo celular de luciferasa. En este ensayo, se genera un sensor de microARN con luciferasa para que contenga uno o más sitios de unión del microARN y un gen de luciferasa. Cuando el microARN se
20 une a su sitio análogo en el constructo del sensor con luciferasa, se suprime la expresión de la luciferasa. Cuando se introduce el anti-miR apropiado en las células, este se une al microARN diana y mitiga la supresión de la expresión de luciferasa. Por tanto, en este ensayo los anti-miR que
25 son inhibidores eficaces del anti-miR de interés provocarán un incremento en la expresión de la luciferasa.

La actividad de los compuestos anti-miR se puede evaluar midiendo el nivel de mRNA y/o proteína de una diana de un
30 microARN. Un microARN se une a su sitio análogo dentro de uno o más ARN diana, lo que conlleva la supresión de un ARN diana, por lo tanto la inhibición del microARN da como

resultado un aumento en el nivel del mRNA y/o proteína de una diana del microARN (es decir, desrepresión). La desrepresión de uno o más ARN diana se puede medir *in vivo* o *in vitro*.

5 **EJEMPLOS**

Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de ilustrar en mayor grado algunas realizaciones de la invención. Sin embargo, no deben considerarse de ninguna manera como limitantes del amplio alcance de la invención.

10 Los expertos en la técnica adoptarán fácilmente los principios subyacentes a este descubrimiento para diseñar diversos compuestos sin alejarse de la naturaleza de la presente invención.

 Cuando se proporcione, la significación estadística se define de la siguiente manera: **** = valor de $p < 0.0001$; *** = valor de p entre 0.0001 y 0.001; ** = valor de p entre 0.001 y 0.01; * = valor de p entre 0.01 y 0.05.

 A lo largo de los ejemplos, a menos que se indique lo contrario, las dosificaciones o concentraciones de los compuestos conjugados se refieren a la cantidad del compuesto entero y no a una porción de este. Por ejemplo, una dosis de 5 mg/kg se refiere a 5 mg del oligonucleótido modificado conjugado por kg de peso corporal.

Ejemplo 1: Cribado del compuesto anti-miR-103/107

25 Estudios previos han estudiado un compuesto anti-miR-103/107 con una modificación de tipo 2'-OMe conjugado de colesterol en modelos en ratones de sensibilidad a la insulina y tolerancia a la glucosa alteradas. Aunque se observó una eficacia en el tratamiento con este compuesto, 30 la dosis requerida para conseguir la eficacia fue elevada y también requirió administración intravenosa la cual es

potencialmente inconveniente para el tratamiento de una enfermedad crónica tal como la diabetes. Investigaciones adicionales han estudiado un compuesto anti-miR-103/107 con una modificación de tipo 2'-MOE/2'-fluoro, sin embargo, los
5 compuestos que comprenden modificaciones de tipo 2'-fluoro pueden provocar una estimulación inmunitaria cuando se administran a los animales. Teniendo en cuenta que un agente terapéutico debe ser eficaz, seguro y cómodo de administrar, se realizó un cribado para identificar compuestos anti-miR-
10 103/107 que sean agentes terapéuticos candidato. Se evaluaron varias propiedades incluidas la eficacia en modelos de resistencia a la insulina y diabetes, reactividad cruzada con microARN con una secuencia relacionada, estimulación de la inflamación, viscosidad y perfil
15 farmacocinético.

Se diseñaron cientos de compuestos que tenían una composición química y longitudes variables. Los compuestos se estudiaron en varios ensayos para evaluar la actividad inhibidora *in vitro*, viabilidad celular *in vitro*,
20 estabilidad metabólica (es decir, resistencia a la actividad endonucleasa en un lisado hepático), actividad inmunoestimuladora *in vivo* (medida según una inducción *in vivo* de IFIT y/o OASL), viscosidad, eficacia en modelos de enfermedades relevantes, seguridad y farmacocinética. De los
25 cientos de compuestos que se diseñaron, únicamente unos pocos compuestos cumplieron los criterios de selección para todas las propiedades evaluadas.

Ejemplo 2: Reactividad cruzada de los compuestos anti-miR-103 dentro de la familia miR-15

30 Un criterio para seleccionar un candidato terapéutico potencial fue la ausencia de reactividad cruzada con microARN

que tenían una secuencia de nucleobases similar. Las nucleobases 1-6 de miR-103 y miR-107 son idénticas a las nucleobases 2-7 de los miembros de la familia miR-15, la cual incluye miR-15a, miR-15b, miR-16, miR-195, miR-497, 5 miR-503, miR-424 y miR-646 (remítase a la siguiente Tabla). Aunque existe poca similitud secuencial fuera de la región seminal, debido a la importancia de elegir como diana la región seminal, se evaluó la capacidad de los compuestos anti-miR-103/107 para inhibir también miembros de la familia 10 miR-15 con el fin de garantizar que los compuestos anti-miR-103/107 no inhibían también a un miembro de la familia miR-15. Debido a que se ha propuesto que los miembros de la familia miR-15 actúan como supresores tumorales, es preferible evitar una inhibición involuntaria de un miembro 15 de la familia miR-15.

	*	#	
hsa-miR-107	A G C A G C	A U U G U A C A G G G C U A U C A	SEQ ID NO: 2
hsa-miR-103	A G C A G C	A U U G U A C A G G G C U A U G A	SEQ ID NO: 1
hsa-miR-15a	U A G C A G C	A C A U A A U G G U U U G U G	SEQ ID NO: 12
hsa-miR-15b	U A G C A G C	A C A U C A U G G U U U A C A	SEQ ID NO: 13
hsa-miR-16	U A G C A G C	A C G U A A A U A U U G G C G	SEQ ID NO: 14
hsa-miR-195	U A G C A G C	A C A G A A A U A U U G G C C	SEQ ID NO: 15
hsa-miR-497	C A G C A G C	A C A C U G U G G U U U G U	SEQ ID NO: 16
hsa-miR-503	U A G C A G C	G G G A A C A G U U C U G C A G	SEQ ID NO: 17
hsa-miR-424	C A G C A G C	A A U U C A U G U U U U G A A	SEQ ID NO: 18
hsa-miR-646	A A G C A G C	U G C C U C U G A G G C	SEQ ID NO: 19

Se estudiaron los compuestos para determinar la 25 capacidad de inhibir miR-16 en un ensayo de luciferasa y/o para hibridarse con miR-16 (mediante un ensayo bioquímico que mide la capacidad de un anti-miR para asociarse con el miR diana en el complejo Ago). Se seleccionó miR-16 como miembro representativo de la familia miR-15.

30 Mediante el estudio de la capacidad de los compuestos para hibridarse con miR-16, se observó que los compuestos

con una complementariedad completa con los nucleótidos 1-6 de miR-107 y miR-103 eran capaces de hibridarse con miR-16. Se estudiaron cambios en la secuencia de anti-miR-103/107 para determinar si la introducción de un emparejamiento erróneo en la posición complementaria a la posición 1 de miR-103/107 (que corresponde a la posición 2 de miR-16 y está relacionada con miembros de la familia) podía reducir la unión a miR-16. Las posiciones de nucleobase relevantes están subrayadas en la Tabla A a continuación.

Tabla A

miR/anti-miR	Secuencia	SEQ ID NO
miR-16 (3' a 5')	3'-GCGGUUAUAAAUGCACGACGAU- 5'	14
miR-103 (3' a 5')	3'-AGUAUCGGGACAUGUUACGACGA- 5'	1
anti-miR-103/107 (5' a 3') U en el extremo 3'	5'-ATAGCCCTGTACAATGCTGCU- 3'	20
anti-miR-103/107 (5' a 3') A en el extremo 3'	5'-ATAGCCCTGTACAATGCTGCA- 3'	21
Anti-miR-103/107 (5' a 3') C en el extremo 3'	5'-ATAGCCCTGTACAATGCTGCC- 3'	22

Cuando se cambió la nucleobase en esta posición de un U a una A, se observó que el anti-miR ya no se hibridaba con miR-16. Este emparejamiento erróneo no afectó significativamente a la capacidad del compuesto para inhibir la actividad de miR-103/107. Por lo tanto, se identificó una secuencia de nucleobases anti-miR que inhibía miR-103/107,

con una reactividad cruzada mínima o nula con un miembro de la familia miR-15. Se observó la eliminación de la reactividad cruzada para varios compuestos anti-miR-103/107 con longitudes y composición del azúcar de nucleósido (cEt, 2'-MOE, 2'-OMe y ADN) variables, lo que sugiere que el efecto del cambio de la nucleobase es independiente de la modificación química en el anti-miR. Se observó una excepción con los compuestos con la modificación de tipo 2'-F/2'-MOE, que mantuvieron la reactividad cruzada a pesar de tener un emparejamiento erróneo en el extremo 3' del compuesto.

De manera similar, cuando se cambió la nucleobase en el extremo 3' de un U a una C, se observó que el anti-miR ya no se hibridaba con miR-16, pero el emparejamiento erróneo no afectó significativamente a la capacidad del compuesto para inhibir la actividad de miR-103/107. Por lo tanto, se observó la eliminación de la reactividad cruzada a la vez que se mantenía la potencia con múltiples cambios de nucleobases en la posición opuesta a la posición 5'-terminal de miR-103/107.

Ejemplo 3: Eficacia en modelos de resistencia a la insulina

Para determinar los efectos de los compuestos anti-miR-103/107 en los niveles de glucosa e insulina, se administraron los compuestos a ratones obesos alimentados con una dieta rica en grasas (también denominados ratones obesos inducidos por la dieta o ratones DIO), un modelo de tolerancia alterada a la glucosa y diabetes de tipo 2. Los estudios se llevaron a cabo de acuerdo con los protocolos estándar para este modelo, tal como se describe a continuación.

Protocolo general para el modelo DIO

Los ratones con una dieta rica en grasas (60% de Kcal procedente de grasa - Dieta de Investigación RD12492) se distribuyeron aleatoriamente en grupos de tratamiento en función de un peso corporal, insulina y glucosa en sangre iniciales similares. A continuación, los animales recibieron una dosis a la semana mediante una inyección subcutánea cerca de la región subescapular con un volumen de 4 mL/kg. El peso corporal se midió y se monitorizó semanalmente.

La glucosa en sangre en ayunas y la insulina en plasma en ayunas se midieron semanalmente después de un ayuno de entre 4 y 6 horas. Por ejemplo, para la primera extracción de sangre, 2 o 3 días después de la segunda dosis (semana 1), los animales se mantuvieron en ayunas durante 4 horas y se midió la glucosa en sangre mediante cortes en la cola utilizando un glucómetro de mano (GE100). La extracción de sangre final de la glucosa e insulina tiene lugar entre 2 y 4 días después de la dosis final. En algunos estudios, durante la semana 3, se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT). Una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) determina la rapidez con la que se retira la glucosa de la sangre después de la administración de glucosa. Después de un ayuno de 4 horas, se extrajo sangre para medir la glucosa y la insulina en ayunas. A continuación, se administraron 2 g/kg de dextrosa a cada animal. 30 minutos después de la dosis oral de dextrosa, se extrajo sangre nuevamente para las medidas de la glucosa e insulina. Después de cuatro semanas de dosificación (un total de 5 dosis) se sacrificaron los animales entre 72 y 96 horas después de la última dosis. Como alternativa, se pueden administrar un total de 6 o 7 dosis a los animales.

Se extrajeron el hígado, riñones y tejido adiposo (depósitos subcutáneos y del epidídimo) para un análisis PK.

Se extrajeron el hígado y tejido adiposo (grasa marrón, subcutánea y del epidídimo) para determinar la expresión del gen diana.

También se extrajo el hígado para determinar los niveles de triglicéridos. Se extrajo sangre para el análisis del suero.

Se puede calcular una calificación de la resistencia a la insulina (HOMA-IR) de acuerdo con la siguiente fórmula: glucosa en plasma en ayunas (mg/dL) por insulina en suero en ayunas (ng/mL) dividido por 16.34. Los valores de HOMA-IR bajos indican una sensibilidad a la insulina elevada, mientras que los valores de HOMA-IR elevados indican una sensibilidad a la insulina (resistencia a la insulina).

Se puede evaluar la sensibilidad a la insulina utilizando un ensayo de pinzamiento normoglucémico hiperinsulinémico. En este ensayo, ratones con catéter recibieron mediante venoclisis glucosa e insulina. La insulina se administró mediante venoclisis con un nivel elevado constante (hiperinsulinémico), mientras que la glucosa se administró mediante venoclisis con una tasa variable para mantener la glucosa en sangre en un nivel constante y normal (normoglucémico). La tasa de la venoclisis de glucosa indica la sensibilidad a la insulina, p. ej., un aumento en la tasa de venoclisis de glucosa indica un aumento en la sensibilidad a la insulina. Para un ratón DIO, alimentado con una dieta rica en grasas durante 20 semanas, una tasa de venoclisis típica es de 5-10 mg/kg/min. Para un ratón normal, alimentado con una dieta normal durante 24 semanas, una tasa de venoclisis típica es de 30-40 mg/kg/min.

Cribado de compuestos anti-miR-103/107 en un modelo DIO

Un compuesto con una modificación de tipo 2'-F/2'-MOE (compuesto 97243, a continuación) había demostrado previamente ser eficaz en un modelo en ratones de resistencia a la insulina y diabetes, sin embargo este compuesto induce la expresión del gen IFIT en un ensayo *in vivo* y se híbrida con la secuencia miR-16 lo que hace que el compuesto no sea adecuado como un agente terapéutico potencial. Sin embargo, debido a su eficacia, se utilizó este compuesto en los modelos en ratones de resistencia a la insulina como un punto de referencia para el cribado *in vivo* de los compuestos que eran al menos igual de eficaces, pero no provocaban una estimulación inmunitaria y no presentaba una reacción cruzada con la familia miR-15.

El compuesto 97243 tiene la estructura: $T_E G_E A_F U_F A_F G_F C_F C_F C_F U_F G_F U_F A_E^m C_E A_E A_F U_F G_F C_F U_F G_F^m C_E T_E$ (SEQ ID NO: 23) donde el subíndice "F" indica un 2'-fluoronucleósido, el subíndice "E" indica un 2'-O-metoxietilnucleósido, todos los enlaces son de tipo fosforotioato y el subíndice "m" indica 5-metilcitosina.

Se diseñó el compuesto 12743 (estructura en la Tabla B a continuación), se sintetizó y se estudió en los ensayos *in vitro* de luciferasa e IFIT. Como el compuesto tuvo un buen rendimiento en estos ensayos, se estudió adicionalmente para determinar su eficacia. En este estudio, los ratones DIO (alimentados con una dieta rica en grasas durante ~15 semanas) se distribuyeron en los grupos de tratamiento en función del peso corporal, insulina en ayunas y glucosa en ayunas. Los tratamientos se administraron por vía subcutánea una vez cada 6-7 días con un total de 5 tratamientos. El día 8 del estudio, y una vez a la semana después de este, se extrajo

sangre después de un ayuno de 4 horas para medir la glucosa o la insulina. El compuesto 12743 mejoró la sensibilidad a la insulina, según se determinó mediante los cálculos HOMA-IR en los modelos DIO (por ejemplo, Figura 3, datos de la semana 2 para el compuesto 12743; Figura 4, datos de la semana 3 para el compuesto 12743) y db/db y según se determinó mediante el pinzamiento normoglucémico hiperinsulinémico en el modelo DIO. Los triglicéridos hepáticos también disminuyeron tras el tratamiento con el compuesto 12743.

El análisis de los niveles de expresión de los genes de miR-103/107 que son diana directa tras la inhibición con el compuesto 12743 revelaron una actividad mediada por el compuesto tanto en el tejido hepático como adiposo.

Para identificar los compuestos con una eficacia aún mejor y mejorar el suministro de anti-miR al hígado, se sintetizaron y estudiaron compuestos anti-miR conjugados con GalNAc. Los compuestos anti-miR-103/107 conjugados se formaron conjugando una estructura de la Figura 2 al extremo 3' del oligonucleótido modificado. Las estructuras del compuesto se muestran en la Tabla a continuación, donde el subíndice "E" indica un 2'-O-metoxietilnucleósido, el subíndice "S" indica un nucleósido S-cEt, todos los enlaces son de tipo fosforotioato y el subíndice "m" indica 5-metilcitosina.

Tabla B: Compuestos anti-miR-103/107

Compuesto	Secuencia y química (oligonucleótido modificado u OM)	Estructura
12743	A _E T _E A _E G _{E^m} C _{E^m} C _{E^m} C _E T _E G _E T _E A _{E^m} C _E A _S ATG _S CTG _S C _S U _S	No conjugado

	(SEQ ID NO: 20)	
19743	A _E T _E A _E G _E ^m C _E ^m C _E ^m C _E T _E G _E T _E A _E ^m C _E A _S ATG _S CTG _S C _S U _S (SEQ ID NO: 20)	Estructura I de la Figura 2A, donde X ₂ es un enlace de tipo fosfodiéster, m es 1, N _m es un β-D-desoxinucleósido (dA), X ₁ es un enlace de tipo fosfodiéster
19843	A _E T _E A _E G _E ^m C _E ^m C _E ^m C _E T _E G _E T _E A _E ^m C _E A _S ATG _S CTG _S C _S U _S (SEQ ID NO: 20)	Estructura I de la Figura 2A, donde X ₂ es un enlace de tipo fosfodiéster, m es 2, N _m es un β-D-desoxinucleósido (dA), X ₁ es un enlace de tipo fosfodiéster

Los compuestos conjugados se estudiaron para determinar si era posible liberar el anti-miR de la estructura conjugada. Se administró el compuesto a ratones DIO y se midieron los

metabolitos en el tejido hepático. El compuesto 19843 se metabolizó eficazmente en el anti-miR no conjugado. Por el contrario, el compuesto 19743 no se metabolizó eficazmente en el anti-miR no conjugado, lo que sugiere que un conjugado
5 unido mediante dos nucleósidos de A de ADN se metaboliza más eficazmente que un conjugado unido mediante un nucleósido de A de ADN. Se llevaron a cabo estudios adicionales con diferentes compuestos anti-miR-103/107 y se confirmó que, para los compuestos anti-miR-103/107, la presencia de dos
10 nucleósidos de A de ADN conlleva una escisión más eficaz que un único nucleósido de A de ADN.

Se estudiaron los compuestos para determinar su eficacia en el modelo DIO. Tal como se ha mencionado anteriormente, el compuesto 12743, un anti-miR no conjugado,
15 dio como resultado una mejor sensibilidad a la insulina en el modelo DIO. El compuesto 19843 es una versión conjugada con GalNAc del compuesto 12743 (remítase a la Tabla anterior) y se estudió en el mismo estudio tal como se ha descrito anteriormente para el compuesto 12743.

20 Estudios previos (Trajkovski *et al.*, *Nature* 2011) sugieren que las mejoras de la sensibilidad a la insulina tras la inhibición de miR-103/107 estuvieron impulsadas principalmente por la actividad en el tejido adipocítico más que en el tejido hepático. Además, miR-103 y miR-107 tienen
25 la expresión máxima en el tejido adiposo y tejido cerebral, detectándose niveles bajos en el tejido hepático. Como la conjugación con GalNAc influencia el suministro de un compuesto al tejido hepático (p. ej., hepatocitos) resultó sorprendente observar que la conjugación con GalNAc daba
30 como resultado una mejora de 3-5 veces en la eficacia, según se determinó mediante la mejora en la sensibilidad a la

insulina (Figura 3, datos de la semana 2 para el compuesto 19843; Figura 4, datos de la semana 3 para el compuesto 19843). Los triglicéridos hepáticos también se redujeron de una manera estadísticamente significativa.

5 Se midieron los metabolitos de los compuestos conjugados con GalNAc y se detectó un metabolito que mantenía una A en 3'. Ya que la presencia de una A en 3' puede dar como resultado un compuesto que tiene una mayor afinidad respecto a un miembro de la familia miR-15, se estudió el
10 metabolito que contenía la A en 3' para determinar la reactividad cruzada, sin embargo no presentó reactividad cruzada.

Para determinar si la conjugación con GalNAc del compuesto 97243 podía mejorar el perfil del compuesto, el
15 compuesto anti-miR con una modificación de tipo 2'-F/2-MOE se conjugó con GalNAc en el extremo 3' tal como sigue (Tabla C):

Tabla C

20	Compues to	Secuencia y química (oligonucleótido modificado u OM)	Estructura
25	47843	T _E G _E A _F U _F A _F G _F C _F C _F C _F U _F G _F U _F A _E ^m C _E A _E A _F U _F G _F C _F U _F G _F ^m C _E A _E (SEQ ID NO: 23)	Estructura I de la Figura 2A, donde X ₂ es un enlace de tipo fosfodiéster, m es 2, N _m es un β- D- desoxinucleósid o (dA), X ₁ es un
30			

		enlace de tipo fosfodiéster
--	--	--------------------------------

Este compuesto también tuvo una A en lugar de un U en el extremo 3', para determinar si la introducción de este emparejamiento erróneo podía reducir o eliminar la reactividad cruzada. Aunque el compuesto mostró eficacia en el modelo DIO, según se midió mediante la glucosa en sangre en ayunas, insulina en plasma en ayunas y HOMA IR, la aparición de la eficacia se retrasó respecto a otros compuestos. Además, el compuesto indujo la expresión de IFIT en un ensayo *in vitro* y mostró reactividad cruzada con miR-16 a pesar de la presencia de la nucleobase A en el extremo 3'. Por lo tanto, este compuesto, al igual que el compuesto no conjugado 97243, no se consideró un candidato adecuado para ser un agente terapéutico.

Los compuestos 12743 y 19843, que fueron eficaces en el modelo DIO, mostraron reactividad cruzada con miR-16. Teniendo esto en cuenta, se diseñaron compuestos adicionales (tal como se muestra en la Tabla D) con una A en lugar de un U en el extremo 3' del anti-miR. Debido a esta mejora inesperada de la eficacia tras la conjugación con GalNAc, estos compuestos adicionales también se conjugaron con GalNAc en el extremo 3'. La porción anti-miR del compuesto 45943 es una porción de 9 nucleósidos del compuesto 12743 y 19843, que también se conjugó a GalNAc.

Tabla D

Compuesto	Secuencia y química (oligonucleótido modificado u OM)	Estructura
45943	^m C _E A _S ATG _S CTG _S C _S	Estructura I de la Figura 2A,

5		(porción de 9 nucleósidos de 12743) (SEQ ID NO: 24)	donde X_2 es un enlace de tipo fosfodiéster, m es 1, N_m es un β -D-desoxinucleósido (dA), X_1 es un enlace de tipo fosfodiéster
10	47043	$C_S A_S A_S U_S G_S C_S U_S G_S C_S A_S^O A^O A^O C_S A_S A_S U_S$ $G_S C_S U_S G_S C_S A_S$ (SEQ ID NO: 7)	Estructura I de la Figura 2A, donde X_2 es un enlace de tipo fosfodiéster, m es 2, N_m es un β -D-desoxinucleósido (dA), X_1 es un enlace de tipo fosfodiéster
15			
20			
25	39243	$C_S A_S A_S U_S G_S C_S U_S G_S C_S A_S$ (SEQ ID NO: 6)	Estructura I de la Figura 2A, donde X_2 es un enlace de tipo fosfodiéster, m es 2, N_m es un β -D-desoxinucleósido (dA), X_1 es un enlace de tipo fosfodiéster
30			

Los compuestos 45943 y 47043 se estudiaron en el modelo DIO.

Tal como se muestra en las Figuras 3 y 4 el compuesto 45943 no redujo la glucosa en ayunas, la insulina en ayunas ni mejoró el HOMA IR a las 2 semanas o 3 semanas. Los triglicéridos hepáticos no se redujeron. Por lo tanto, este compuesto anti-miR de 9 nucleósidos modificado químicamente y conjugado con GalNac no fue eficaz en un modelo en ratones de resistencia a la insulina. Por lo tanto, una versión truncada del compuesto activo 12743 no retuvo la actividad.

El compuesto 47043 se estudió de la siguiente manera. Se alimentaron ratones C57BL/6 con una dieta rica en grasas (60% de kcal procedente de grasas) durante ~15 semanas. Los grupos de 8 ratones cada uno se trataron de la siguiente manera: (1) PBS; (2) 3 mg/kg del compuesto 47043; (3) 10 mg/kg del compuesto 47043.

Un día antes del tratamiento, se extrajo sangre después de un ayuno de 4 horas y los animales se distribuyeron en los grupos de tratamiento. Los tratamientos se administraron una vez a la semana, mediante inyección subcutánea, para los 7 tratamientos (días 0, 5, 13, 19, 26, 33 y 36 del estudio, siendo el día 0 el día del primer tratamiento). Se extrajo sangre semanalmente después de un ayuno de 4-6 horas los días 8, 15, 21, 28 y 32 del estudio, para las mediciones de la glucosa en ayunas y la insulina en ayunas. El día 21 (o al final de la semana 3) del estudio, se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) tras un ayuno de 4 horas, realizándose extracciones de sangre justo antes de la administración oral de glucosa y 30 minutos después. Los animales se sacrificaron el día 39 del estudio. Tal como se muestra en las Figuras 5, 6 y 7, el compuesto 47043 mostró

una eficacia significativa en el modelo DIO, con una dosis de tan solo 3 mg/kg, tal como se determinó mediante las reducciones en la glucosa en ayunas, insulina en ayunas y HOMA IR, los cuales en conjunto indican una mejor
5 sensibilidad a la insulina. Además, tal como se muestra en las Figuras 6 y 7, la tolerancia a la glucosa oral mejoró tras el tratamiento con el compuesto 47043.

También se midió el contenido de triglicéridos hepáticos en los ratones DIO tratados con 47043. Se
10 extrajeron los triglicéridos del hígado con acetona y se midieron mediante un ensayo colorimétrico (reactivo líquido para triglicéridos Infinity). Tal como se muestra en la Figura 8, el contenido de triglicéridos hepáticos se redujo tras el tratamiento con el compuesto 47043 respecto al
15 tratamiento con PBS.

Como el tratamiento con el compuesto 47043 dio como resultado una mejora significativa de la sensibilidad a la insulina, se estudió para determinar la reactividad cruzada con miR-16. No se observó reactividad cruzada entre el
20 compuesto 47043 y miR-16, lo que resulta coherente con la observación de que un anti-miR con una A en lugar de un U en el extremo 3' no presenta reactividad cruzada.

El compuesto 47043 se evaluó adicionalmente en un estudio de seguridad. Ratones no modificados recibieron
25 mediante una única inyección una dosis del compuesto de 300 mg/kg. Tres días después de la inyección, los ratones se sacrificaron y se extrajeron los tejidos y sangre. Se midieron los niveles de mRNA en OASL e IFIT en el tejido hepático. Se midió el peso del bazo para compararlo con el
30 peso corporal. Se midieron los niveles de ALT en sangre. El compuesto 47043 no mostró aumentos en IFIT, OASL, peso del

bazo o ALT. Otros compuestos que tenían como diana miR-103/107, con diferentes estructuras anti-miR (p. ej., número y ubicación de las modificaciones del azúcar) mostraron un aumento en estos parámetros de seguridad.

5 Se midió la viscosidad del compuesto 47043. Con una concentración inferior a 230 mg/g, la viscosidad fue inferior a 20 cP, lo que permitió una concentración de la solución de dosificación de aproximadamente 200 mg/mL, que podría administrarse mediante una inyección subcutánea. Por otra
10 parte, los compuestos con diferentes estructuras anti-miR (p. ej., número y ubicación de las modificaciones del azúcar) fueron sumamente viscosos, lo que dificultó la administración del compuesto mediante una inyección subcutánea. Estos datos demuestran además que la estructura
15 del anti-miR (tipo, número y ubicación de las modificaciones del azúcar) afecta a su viscosidad, lo que es una consideración importante en la elección de un compuesto que se pueda administrar mediante una inyección subcutánea.

El metabolito activo previsto de 47043 es el decámero
20 con cEt completo ($C_5A_5A_5U_5G_5C_5U_5G_5C_5A_5$; SEQ ID NO: 6). También se evaluó el perfil farmacocinético del compuesto 47043 en ratones no modificados para determinar (1) cuán eficientemente se escinde el anti-miR del conjugado; (2) cuán eficientemente se liberan los decámeros con cEt
25 adyacentes; (3) si los nucleósidos de A del ADN siguen estando unidos al decámero con cEt completo; y (4) la estabilidad del metabolito activo previsto. Siete días después de la administración subcutánea de una única dosis del compuesto 47043, se extrajeron tejidos hepáticos y
30 renales y plasma para medir el compuesto original y los metabolitos. Se observó que, en el hígado, se metabolizó un

90% del compuesto en el decámero con cEt (aproximadamente un 22%) o en un decámero con cEt con una A del ADN (ya sea en el extremo 5' o en el extremo 3' del decámero; aproximadamente un 67%). En el riñón, se metabolizó
5 aproximadamente un 50% del compuesto en el decámero con cEt o en el decámero con cEt con una A del ADN (ya sea en el extremo 5' o en el extremo 3' del decámero). Los niveles más elevados de acumulación de oligonucleótidos se presentan generalmente en el tejido renal y después en el tejido
10 hepático. Para el compuesto 47043, la relación entre el riñón y el hígado fue de 0.5. Por el contrario, los compuestos con estructuras anti-miR diferentes mostraron diferentes productos metabólicos y en algunos casos una relación entre el riñón y el hígado superior. Por ejemplo, un anti-miR con
15 una longitud de 19 nucleósidos, con cEt, restos de tipo azúcar de ADN y 2'-MOE, fue susceptible de ser metabolizado en el centro del compuesto, debido a la presencia de tres nucleósidos de ADN. La escisión en esta posición metabolizó el metabolito activo previsto (el nonadecámero completo) lo
20 que dio como resultado una reducción de la eficacia. Este compuesto también mostró una relación entre el riñón y el hígado superior a 1.5.

En función de los datos de eficacia y seguridad, se identificó el compuesto 47043 como un agente candidato para
25 la mejora de la sensibilidad a la insulina y la reducción de los triglicéridos hepáticos.

Ejemplo 4: Estudios de eficacia DIO

Para evaluar adicionalmente el compuesto 47043, se estudiaron dosificaciones adicionales del compuesto en el
30 modelo en ratones DIO.

Se alimentaron ratones C57BL/6 con una dieta rica en grasas (60% de kcal procedente de grasas) durante ~15 semanas. Los grupos de 8 ratones cada uno se trataron de la siguiente manera: (1) PBS; (2) 1.7 mg/kg del compuesto 47043; (3) 5
5 mg/kg del compuesto 47043; (4) 15 mg/kg del compuesto 47043 y (5) 45 mg/kg del compuesto 47043. Se utilizó un grupo de 4 ratones normales (magros) como un grupo de control adicional.

Antes del inicio de la dosificación, se extrajo sangre
10 después de un ayuno de 4 horas y los animales se distribuyeron en grupos de tratamiento en función de la glucosa en ayunas, insulina en ayunas y peso corporal. Los tratamientos se administraron una vez a la semana, mediante inyección subcutánea, con un total de 7 dosis. 10 días
15 después de la primera dosis (después de dos dosis) y a continuación, semanalmente durante el resto del estudio, se extrajo sangre después de un ayuno de 4-6 horas para las mediciones de la glucosa en ayunas e insulina en ayunas. Los animales se sacrificaron tres días después de la séptima y
20 final dosis del estudio. Se utilizaron la glucosa en ayunas y la insulina en ayunas para calcular el HOMA-IR después de 1, 2, 3, 4 y 5 semanas de tratamiento. Se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) después de 5 semanas de tratamiento. En esta OGTT, se extrajo sangre en un único
25 punto temporal, 30 minutos después de la administración de glucosa oral, en lugar de en múltiples puntos temporales, para permitir la medición de la insulina que requiere un volumen más grande de sangre. Al final del estudio, se extrajo tejido hepático para la medición de los triglicéridos
30 hepáticos.

Tal como se muestra en la Figura 9A, tal como se evaluó mediante un HOMA-IR semanal, el compuesto 47043 mejoró la sensibilidad a la insulina en una manera reactiva a la dosis.

5 Tal como se muestra en la Figura 9B, el tratamiento con el compuesto 47043 dio como resultado un aumento de la sensibilidad a la insulina, tal como pone en evidencia la reducción en la cantidad de insulina secretada, particularmente con las dosis más elevadas del compuesto, en respuesta a la sobrecarga de glucosa. Se observó una
10 tendencia a la reducción de los niveles de glucosa en sangre, lo que indica una mejora en la capacidad del cuerpo para retirar la glucosa después de la administración oral (Figura 9C).

También se midió el contenido de triglicéridos
15 hepáticos. Se extrajeron los triglicéridos del hígado con acetona y se midieron mediante un ensayo colorimétrico (reactivo líquido para triglicéridos Infinity). Tal como se muestra en la Figura 9D, se observó una tendencia a la reducción del contenido de triglicéridos hepáticos tras 5
20 semanas de tratamiento con el compuesto 47043 respecto al tratamiento con PBS.

También se midieron los triglicéridos hepáticos en un estudio DIO independiente y después de 10 semanas de tratamiento se observó igualmente una tendencia a la
25 reducción de triglicéridos en este estudio, con reducciones estadísticamente significativas con dosis de 15 mg/kg y 45 mg/kg (Figura 9E).

Para estudiar los efectos de una única dosis del compuesto 47043, se realizó un estudio adicional en el modelo
30 DIO, con ratones tratados de la siguiente manera: (1) PBS; (2) 10 mg/kg del compuesto 47043; (3) 30 mg/kg del compuesto

47043; (4) 60 mg/kg del compuesto 47043 y (5) 100 mg/kg del compuesto 47043. Los ratones se distribuyeron en grupos de 8 en función del peso corporal, glucosa en ayunas, insulina en ayunas y HOMA-IR. Se administró una única dosis de PBS o
5 compuesto y después de una semana se extrajo sangre tras un ayuno de 4 horas. Se utilizaron la insulina en plasma en ayunas y la glucosa en plasma en ayunas para calcular el HOMA-IR.

Tal como se muestra en la Figura 10, después de una
10 única dosis del compuesto 47043, se observaron reducciones estadísticamente significativas en HOMA-IR.

Ejemplo 5: Estudio de eficacia db/db

La inhibición de miR-103/107 en el modelo db/db, un modelo genético de obesidad, diabetes y dislipidemia.

15 Se estudió el compuesto 47043 de la siguiente manera. Se distribuyeron ratones db/db (Jackson Laboratories) con una edad de aproximadamente 7 semanas en los grupos de tratamiento en función del peso corporal, insulina en ayunas y glucosa en ayunas. Los ratones se alimentaron con una dieta
20 de comida normal para roedores a lo largo del estudio. Los grupos de 8 ratones cada uno se trataron de la siguiente manera: (1) PBS; (2) 10 mg/kg del compuesto 47043 dos veces a la semana (3 o 4 días entre las dosis); (3) 30 mg/kg del compuesto 47043 dos veces a la semana (3 o 4 días entre las
25 dosis); (4) 30 mg/kg del compuesto 47043 una vez a la semana. El tratamiento se prolongó durante nueve semanas. Se extrajo sangre para las mediciones de glucosa después de un ayuno de 4 horas con una frecuencia semanal, y se comenzó 1 semana después de que los grupos que recibían tratamiento dos veces
30 a la semana hubieran recibido 2 dosis y de que el grupo que recibía tratamiento una vez a la semana hubiera recibido 1

dosis. En este estudio, no se midieron los niveles de insulina, ya que los niveles de insulina no son un indicador fiable de las mejoras de la sensibilidad a la insulina en el modelo db/db, debido a la posibilidad de que se produzca una insuficiencia de las células beta en los animales. Al final
5 del estudio, se extrajo tejido hepático para la medición de los triglicéridos hepáticos.

Tal como se muestra en la Figura 11A, tal como se esperaba debido al aumento de la gravedad de la enfermedad con el tiempo en el modelo db/db, los ratones tratados con PBS mostraron un aumento en los niveles de glucosa en ayunas a lo largo del transcurso del estudio. Por el contrario, los niveles de glucosa en ayunas en los ratones db/db tratados con el compuesto 47043 no solamente no aumentaron sino que
10 los niveles de glucosa en ayunas disminuyeron durante el estudio. Por lo tanto, este estudio demostró que el tratamiento con el compuesto 47043 contrarresta la hiperglucemia grave que los ratones db/db desarrollan con la edad. Debido a la rápida evolución de la enfermedad en este
15 modelo, dos grupos de tratamiento incluyeron una dosificación de dos veces a la semana. Sin embargo, la dosis de 30 mg/kg mostró una eficacia similar tanto para la dosificación semanal como la dosificación de dos veces a la semana.

También se midió el contenido de triglicéridos hepáticos. Se extrajeron los triglicéridos del hígado con acetona y se midieron mediante un ensayo colorimétrico (reactivo líquido para triglicéridos Infinity). Tal como se muestra en la Figura 11B, se observó una tendencia a la
25 reducción del contenido de triglicéridos hepáticos tras el
30

tratamiento con el compuesto 47043 respecto al tratamiento con PBS.

Este estudio confirmó la eficacia del compuesto 47043 en un modelo diferente de diabetes, además del modelo DIO.

5 **Ejemplo 6: Ensayo de pinzamiento normoglucémico hiperinsulinémico en el modelo DIO**

Se puede evaluar la sensibilidad a la insulina utilizando un ensayo de pinzamiento normoglucémico hiperinsulinémico. En este ensayo, ratones con catéter
10 recibieron mediante venoclisis glucosa e insulina. La insulina se administró mediante venoclisis con un nivel elevado constante (hiperinsulinémico), mientras que la glucosa se administró mediante venoclisis con una tasa variable para mantener la glucosa en sangre en un nivel
15 constante y normal (normoglucémico). La tasa de la venoclisis de glucosa indica la sensibilidad a la insulina, p. ej., un aumento en la tasa de venoclisis de glucosa indica un aumento en la sensibilidad a la insulina. Para un ratón DIO, alimentado con una dieta rica en grasas durante 20 semanas,
20 una tasa de venoclisis típica es de 5-10 mg/kg/min. Para un ratón normal, alimentado con una dieta normal durante 24 semanas, una tasa de venoclisis típica es de 30-40 mg/kg/min.

Se estudió el compuesto 47043 en el ensayo de pinzamiento en ratones DIO. Se evaluaron ratones de
25 aproximadamente 21 semanas de edad para determinar la glucosa en ayunas, insulina en ayunas y composición corporal iniciales tras un ayuno de 6 horas. Los ratones se distribuyeron en grupos, cada uno de 13 a 14 ratones, para un tratamiento de la siguiente manera: (1) PBS; (2) 3 mg/kg
30 del compuesto 47043; (2) 10 mg/kg del compuesto 47043; (3) 30 mg/kg del compuesto 47043; 60 mg/kg del compuesto 47043.

Los tratamientos se administraron por vía subcutánea una vez a la semana con un total de 5 dosis. Se realizó el procedimiento del pinzamiento 24 horas después de la quinta y última dosis y después de ayunar durante toda la noche. La
5 insulina se administró por venoclisis con una tasa constante de 4 mU/kg/min. Los parámetros medidos incluyeron la tasa de venoclisis de glucosa con intervalos de 20 minutos a lo largo de la totalidad del periodo de venoclisis de 120 min (Figura 12A); tasa de venoclisis de glucosa pinzada, que es la tasa
10 de venoclisis promedio durante la porción "pinzada" del periodo de venoclisis, cuando la tasa de venoclisis de glucosa se ha estabilizado, entre los puntos temporales de 70 minutos y de 120 minutos (Figura 12B); recambio de glucosa de todo el cuerpo (Figura 12C); producción de glucosa
15 hepática pinzada (Figura 12D); y captación de glucosa en el tejido adiposo marrón (Figura 12E).

Tal como se muestra en la Figura 12, el tratamiento con el compuesto 47043 dio como resultado una mejora reactiva a la dosis en la tasa de venoclisis de glucosa, lo que indica
20 un aumento de la sensibilidad a la insulina (es decir, el cuerpo tiene una capacidad mayor de manejar cantidades mayores de glucosa). Además, mejoró el recambio de glucosa de todo el cuerpo. Disminuyó la producción de glucosa hepática a la vez que aumentó la captación de glucosa en el
25 tejido adiposo marrón lo que sugiere que el hígado y los tejidos periféricos (p. ej., tejido adiposo) contribuyen a las mejoras en la sensibilidad a la insulina.

Estos resultados proporcionan una evidencia adicional de que el compuesto 47043 mejora la sensibilidad a la
30 insulina.

Varias modificaciones de la invención, además de las descritas en la presente, serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción precedente. Se pretende que dichas modificaciones también queden englobadas en el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Cada una de las referencias (incluidos, sin carácter limitante, los artículos de revistas, las patentes estadounidenses y no estadounidenses, las publicaciones de solicitudes de patentes, las publicaciones de solicitudes de patentes internacionales, los números de acceso GENBANK® y similares) citadas en la presente solicitud se incorpora a la presente en su totalidad a modo de referencia.

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.

20

25

30