

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

1. Un compuesto que comprende la estructura representada en la Figura 7 o sus sales.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto tiene 18 nucleótidos de longitud.

3. El compuesto de la reivindicación 1, formulado en una composición con un vehículo.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es una sal sódica.

5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es la estructura representada en la Figura 8.

6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el compuesto comprende además una especie molecular en uno de los extremos.

7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que el compuesto comprende además una especie molecular en ambos extremos.

8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 6-7, en el que la especie molecular se selecciona del grupo que consiste en un espaciador, un lípido, un esteroide, colesterol, estearilo, cadena alquilo C16, ácidos biliares, ácido cólico, ácido taurocólico, desoxicolato, ácido oleil-litocólico, ácido oleoil-colénico, glicolípidos, fosfolípidos, esfingolípidos, isoprenoides tales como esteroides, vitaminas tales como vitamina E, ácidos grasos saturados, ácidos grasos insaturados, ésteres de ácidos grasos tales como triglicéridos, pirenos, porfirinas, texafirina, adamantano, acridinas, biotina,

cumarina, fluoresceína, rodamina, rojo Texas, digoxigenina, dimetoxitritilo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, colorantes de cianina (por ejemplo, Cy3 o Cy5), colorante Hoechst 33258, psoraleno e ibuprofeno.

5 9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 6-7, en el que la especie molecular es una seleccionada del grupo que consiste en una fracción lipófila; un radical de ácido fólico; un radical de esteroide; un radical de carbohidrato; un radical de
10 vitamina A; un radical de vitamina E; o un radical de vitamina K.

 10. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 6-9, en el que la especie molecular está conectada directamente al compuesto a través de un enlace
15 seleccionado del grupo que consiste en enlaces fosfodiéster, fosforotioato, metilfosfonato y amida.

 11. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 6-9, en el que la especie molecular está conectada indirectamente al compuesto a través de un
20 enlazador.

 12. El compuesto de la reivindicación 11, en el que el enlazador es un enlazador no nucleotídico seleccionado del grupo que consiste en restos abásicos (dSpacer), oligoetilenglicol tal como trietilenglicol (espaciador 9) o
25 hexaetilenglicol (espaciador 18) y alcano-diol tal como butanodiol.

 13. Un oligonucleótido que comprende mUmGmGmGmAmGT*A*G*A*T*G*mAmGmGmUmAmC (SEQ ID NO: 16), en el que el oligonucleótido tiene 18 nucleótidos de longitud, en
30 el que m es un 2'O-metilo y en el que * es una modificación de fosforotioato.

 14. El oligonucleótido de la reivindicación 13, en el

que el oligonucleótido se formula en una composición con un vehículo.

15. El oligonucleótido de la reivindicación 13, en el que el vehículo es un vehículo basado en lípidos.

5 16. El oligonucleótido de la reivindicación 13, en el que el vehículo es una nanopartícula.

17. El oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 13-16, en el que el oligonucleótido comprende además una especie molecular en el extremo 3' o 5'.

18. El oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 13-16, en el que el oligonucleótido comprende además una especie molecular en ambos extremos 3' y 5'.

15 19. El oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 17-18, en el que la especie molecular se selecciona del grupo que consiste en un espaciador, un lípido, un esteroide, colesterol, estearilo, cadena alquilo C16, ácidos biliares, ácido cólico, ácido taurocólico, desoxicolato, ácido oleil-litocólico, ácido oleoil-colénico, 20 glicolípidos, fosfolípidos, esfingolípidos, isoprenoides tales como esteroides, vitaminas tales como vitamina E, ácidos grasos saturados, ácidos grasos insaturados, ésteres de ácidos grasos tales como triglicéridos, pirenos, porfirinas, texafirina, adamantano, acridinas, biotina, 25 cumarina, fluoresceína, rodamina, rojo Texas, digoxigenina, dimetoxitritilo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, colorantes de cianina (por ejemplo, Cy3 o Cy5), colorante Hoechst 33258, psoraleno e ibuprofeno.

30 20. El oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 17-18, en el que la especie molecular es una seleccionada del grupo que consiste en una fracción

lipófila; un radical de ácido fólico; un radical de esteroide; un radical de carbohidrato; un radical de vitamina A; un radical de vitamina E; o un radical de vitamina K.

5 21. El oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 17-18, en el que la especie molecular está conectada directamente al compuesto a través de un enlace seleccionado del grupo que consiste en enlaces fosfodiéster, fosforotioato, metilfosfonato y amida.

10 22. El oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 17-20, en el que la especie molecular está conectada indirectamente al compuesto a través de un enlazador.

15 23. El oligonucleótido de la reivindicación 22, en el que el enlazador es un enlazador no nucleotídico seleccionado del grupo que consiste en restos abásicos (dSpacer), oligoetilenglicol tal como trietilenglicol (espaciador 9) o hexaetilenglicol (espaciador 18) y alcanodiol tal como butanodiol.

20 24. Un oligonucleótido que comprende 5' TGGGAGTAGATGAGGTAC 3' (SEQ ID NO: 4), en el que el oligonucleótido tiene 18-19 nucleótidos de longitud, en el que 4-6 nucleótidos del extremo 5' y 4-6 nucleótidos del extremo 3' del oligonucleótido incluyen un 2'O-metilo, y en
25 el que 4-10 nucleótidos tienen una modificación de fosforotioato.

25. El oligonucleótido de la reivindicación 24, en el que los 6 nucleótidos del extremo 5' y 6 nucleótidos del extremo 3' del oligonucleótido incluyen un 2'O-metilo.

30 26. El oligonucleótido de la reivindicación 24 o 25, en el que 6 nucleótidos tienen una modificación de fosforotioato.

27. El oligonucleótido de la reivindicación 24 o 25, en el que 7 nucleótidos tienen una modificación de fosforotioato.

5 28. El oligonucleótido de la reivindicación 24 o 25, en el que 8 nucleótidos tienen una modificación de fosforotioato.

10 29. El oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 24-28, en el que los nucleótidos modificados con fosforotioato están en una región central del oligonucleótido.

15 30. El oligonucleótido de la reivindicación 29, en el que el enlace internucleotídico asociado con el séptimo, octavo, noveno, décimo, undécimo y duodécimo nucleótido desde el extremo 5' del oligonucleótido está modificado con fosforotioato.

31. El oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 24-30, en el que cada nucleótido tiene bien una modificación de 2'O-metilo o un enlace internucleotídico de fosforotioato.

20 32. El oligonucleótido de las reivindicaciones 24, en el que solo un nucleótido tiene tanto una modificación de 2'O-metilo como un enlace internucleotídico de fosforotioato.

25 33. El oligonucleótido de la reivindicación 24, en el que solo un nucleótido tiene un nucleótido modificado en 2'.

30 34. El oligonucleótido de la reivindicación 33, en el que la modificación en 2' se selecciona del grupo de: 2'-desoxi, 2'-desoxi-2'-fluoro, 2'-O-metilo, 2'-O-metoxietilo (2'-O-MOE), 2'-O-aminopropilo (2'-O-AP), 2'-O-dimetilaminoetilo (2'-O-DMAOE), 2'-dimetilaminopropilo (2'-O-DMAP) 2'-O-dimetilaminoetiloxietilo (2'-O-DMAEOE) y 2'-O-N-metilacetamido (2'-O-NMA).

35. Una nanoestructura de autoensamblaje estable, que comprende un oligonucleótido antisentido de 18-19 nucleótidos de longitud que comprende TGGGAGTAGATGAGGTAC (SEQ ID NO: 4), en la que el oligonucleótido antisentido está asociado con un núcleo.

36. La nanoestructura de la reivindicación 35, en la que el oligonucleótido antisentido tiene una longitud de 18 nucleótidos.

37. La nanoestructura de la reivindicación 35 o 36, en la que el oligonucleótido antisentido tiene enlaces internucleotídicos fosfodiéster.

38. La nanoestructura de la reivindicación 37, en la que menos de todos los enlaces internucleotídicos son fosfodiéster.

39. La nanoestructura de la reivindicación 35 o 36, en la que el oligonucleótido antisentido tiene enlaces internucleotídicos fosforotioato.

40. La nanoestructura de la reivindicación 39, en la que menos de todos los enlaces internucleotídicos son fosforotioato.

41. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-40, en la que el oligonucleótido antisentido tiene modificaciones de 2'O-metilo.

42. La nanoestructura de la reivindicación 41, en la que menos de todos los nucleótidos incluyen una modificación de 2'O-metilo.

43. La nanoestructura de la reivindicación 36, en la que el oligonucleótido antisentido tiene 17 enlaces internucleotídicos y en el que los 6 enlaces internucleotídicos centrales son fosforotioato.

44. La nanoestructura de la reivindicación 43, en la que los 6 primeros enlaces internucleotídicos del extremo

5' del oligonucleótido son enlaces internucleotídicos fosfodiéster.

45. La nanoestructura de la reivindicación 44, en la que los 6 primeros nucleótidos del extremo 5' del oligonucleótido son nucleótidos modificados con 2'O-metilo.

46. La nanoestructura de la reivindicación 44 o 45, en la que los 5 últimos nucleótidos del extremo 3' del oligonucleótido son nucleótidos modificados con 2'O-metilo.

47. La nanoestructura de la reivindicación 36, en la que el oligonucleótido antisentido se selecciona del grupo que consiste en T-G-G-G-A-G-T-A-G-A-T-G-A-G-G-T-A-C (SEQ ID NO. 4), mUmGmGmGmAmGmUmAmGmAmUmGmAmGmGmUmAmC (SEQ ID NO. 10, Oligo 3742), T*G*G*G*A*G*T*A*G*A*T*G*A*G*G*T*A*C (SEQ ID NO. 9, Oligo 3500), mUmGmGmGmAmGT*A*G*A*T*G*mAmGmGmUmAmC (SEQ ID NO. 16, Oligo 3534) y mU*mG*mG*mG*mA*mG*T*A*G*A*T*G*mA*mG*mG*mU*mA*mC (SEQ ID NO. 18, Oligo 3509), en los que - se refiere a un enlace fosfodiéster, * se refiere a un enlace fosforotioato y m se refiere a un O-metilo.

48. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-47, en la que el oligonucleótido antisentido está unido al exterior del núcleo.

49. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-47, en la que la nanoestructura incluye 2-1.000 copias del oligonucleótido antisentido.

50. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-48, en la que la nanoestructura incluye al menos un oligonucleótido estructuralmente distinto del oligonucleótido antisentido.

51. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-50, en la que el oligonucleótido antisentido tiene su extremo 5' expuesto a la superficie

exterior de la nanoestructura.

52. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-50, en la que el oligonucleótido antisentido tiene su extremo 3' expuesto a la superficie exterior de la nanoestructura.

53. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-50, en la que el oligonucleótido antisentido está situado lateralmente sobre la superficie de la nanoestructura.

54. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-53, en la que el oligonucleótido antisentido está unido indirectamente al núcleo a través de un enlazador.

55. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-54, en la que el oligonucleótido antisentido está unido indirectamente al núcleo a través de más de un enlazador.

56. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-55, en la que el núcleo es un núcleo sólido o hueco.

57. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-55, en la que el núcleo es inerte, paramagnético o superparamagnético.

58. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-55, en la que el núcleo es un núcleo sólido.

59. La nanoestructura de la reivindicación 58, en la que el núcleo sólido se compone de metales nobles, que incluyen oro y plata, metales de transición que incluyen hierro y cobalto, óxidos metálicos que incluyen sílice, polímeros o combinaciones de los mismos.

60. La nanoestructura de la reivindicación 58, en la

que el núcleo es un núcleo polimérico y en la que el núcleo polimérico se compone de copolímeros de bloques anfífilos, polímeros hidrófobos que incluyen poliestireno, poli(ácido láctico), poli(ácido co-glicólico láctico), poli(ácido glicólico), poli(caprolactona) y otros polímeros biocompatibles.

61. La nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-55, en la que el núcleo es un núcleo liposomal.

62. Una composición que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, el oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 13-34 o la nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-61, que comprende además un agente terapéutico para tratar un trastorno de TNF asociado con la nanoestructura.

63. La composición de la reivindicación 62, en la que el agente terapéutico está unido al oligonucleótido.

64. Un método para tratar un trastorno de TNF, que comprende:

administrar a un sujeto que tiene un trastorno de TNF una composición que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, el oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 13-34 o la nanoestructura de una cualquiera de las reivindicaciones 35-61 en una cantidad eficaz para tratar el trastorno de TNF.

65. El método de la reivindicación 64, en el que el trastorno de TNF se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad autoinmune, una enfermedad infecciosa, rechazo de trasplante o enfermedad de injerto contra hospedador, malignidad, un trastorno pulmonar, un trastorno intestinal, un trastorno cardíaco, sepsis, una

espondiloartropatía, un trastorno metabólico, anemia, dolor, un trastorno hepático, un trastorno cutáneo, una alteración de las uñas, artritis reumatoide, soriasis, soriasis en combinación con artritis soriásica, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, vasculitis, enfermedad de Behcet, espondilitis anquilosante, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), fibrosis pulmonar idiopática (FPI), restenosis, diabetes, anemia, dolor, un trastorno relacionado con la enfermedad de Crohn, artritis reumatoide juvenil (ARJ), infección por el virus de la hepatitis C, artritis soriásica y soriasis en placa crónica.

66. El método de la reivindicación 65, en el que el trastorno autoinmune se selecciona del grupo que consiste en artritis reumatoide, espondilitis reumatoide, artrosis, artritis gotosa, alergia, esclerosis múltiple, diabetes autoinmune, uveítis autoinmune y síndrome nefrítico.

67. Un método de reducción de los niveles de TNF *in vivo*, que comprende:

administrar a un sujeto una composición que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, el oligonucleótido de una cualquiera de las reivindicaciones 13-34 o la nanoestructura de una cualquiera de reivindicaciones 35-61 en una cantidad eficaz para reducir los niveles de TNF *in vivo*.

68. Una nanoestructura de autoensamblaje estable, que comprende un oligonucleótido antisentido de 18-19 nucleótidos de longitud que comprende TGGGAGTAGATGAGGTAC (SEQ ID NO: 4), en el que un grupo hidrófobo del extremo 3' o 5' se autoasocia para formar el núcleo de la nanoestructura en agua u otros disolventes adecuados.

69. La nanoestructura de autoensamblaje estable de la reivindicación 68, en la que el oligonucleótido está a

concentraciones superiores a 5 μ M en agua exenta de DNasa y RNasa u otros disolventes adecuados.

70. La nanoestructura de autoensamblaje estable de la reivindicación 68, en la que el oligonucleótido antisentido
5 tiene una longitud de 18 nucleótidos.

71. La nanoestructura de autoensamblaje estable de la reivindicación 68, en la que el oligonucleótido antisentido tiene enlaces internucleotídicos fosfodiéster.

72. La nanoestructura de autoensamblaje estable de la
10 reivindicación 68, en la que menos de todos los enlaces internucleotídicos son fosfodiéster.

15

20

25

30