PROCESOS PARA PREPARAR OLIGÓMEROS DE MORFOLINO FOSFORODIAMIDATO

SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud de patente reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos Serie No. 62/508,256, presentada el 18 de mayo de 2017; Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos Serie No. 62/341,049, presentada el 24 de mayo de 24, 2016, Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos Serie No. 62/340,953, presentada el 24 de mayo de 2016, Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos Serie No. 62/357,134, presentada el 30 de junio de 2016 y Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos Serie No. 62/357,166, presentada el 30 de junio de 2016. Los contenidos completos de las solicitudes de patente provisionales referenciadas anteriormente se incorporan en la presente como referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La tecnología antisentido proporciona un medio para modular la expresión de uno o más productos génicos específicos, incluyendo productos de empalme alternativos y es únicamente útil en un número de aplicaciones terapéuticas, de diagnóstico y de investigación. El principio detrás de la tecnología antisentido es que un compuesto antisentido, por ejemplo, un

oligonucleótido, el cual se hibrida a un ácido nucleico objetivo, modula las actividades de expresión génica tal como transcripción, empalme o traducción a través de cualquiera de un número de mecanismos antisentido. La especificidad de secuencia de los compuestos antisentido los hace atractivos como herramientas para la validación objetivo y funcionalización génica, así como terapéuticos para modular selectivamente la expresión de genes implicados en la enfermedad.

La distrofia muscular de Duchenne (DMD) es causada por un defecto en la expresión de la proteína distrofina. El gen que codifica la proteína contiene 79 exones extendidos sobre más de 2 millones de nucleótidos de ADN. Cualquier mutación exónica que cambia el marco de lectura del exón, o introduce un codón de detención, o se caracterizada por la remoción de un exón o exones completos fuera de marco, o duplicaciones de uno o más exones, tiene el potencial de interrumpir la producción de distrofina funcional, resultando en DMD.

Los recientes ensayos clínicos que analizan la seguridad y eficacia de oligonucleótidos de modulación de empalme (SSO) para el tratamiento de DMD se basan en la tecnología de SSO para inducir el empalme alternativo de pre-mARN por bloqueo estérico del espliceosoma (Cirak *et al.*, 2011; Goemans *et al.*, 2011; Kinali *et al.*, 2009; van Deutekom *et al.*,

2007). Sin embargo, a pesar de estos éxitos, las opciones farmacológicas disponibles para el tratamiento de DMD son limitadas.

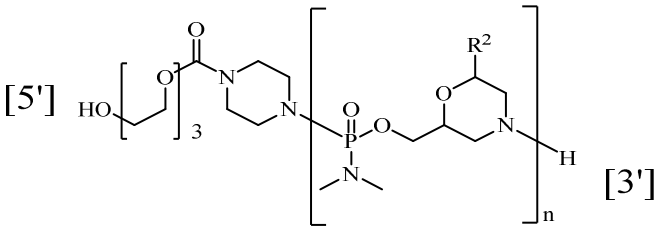
Golodirsen es un oligómero de morfolino fosforodiamidato (PMO) diseñado para saltar el exón 53 del gen de distrofina humana en pacientes con DMD que son susceptibles al salto de exón 53 para restaurar el marco de lectura y producir una forma funcional más corta de la proteína distrofina.

Aunque se ha realizado un progreso significativo en el campo de la tecnología antisentido, permanece una necesidad en la técnia de métodos para preparar oligómeros de morfolino fosforodiamidato con rendimiento antisentido o antigen mejorado.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

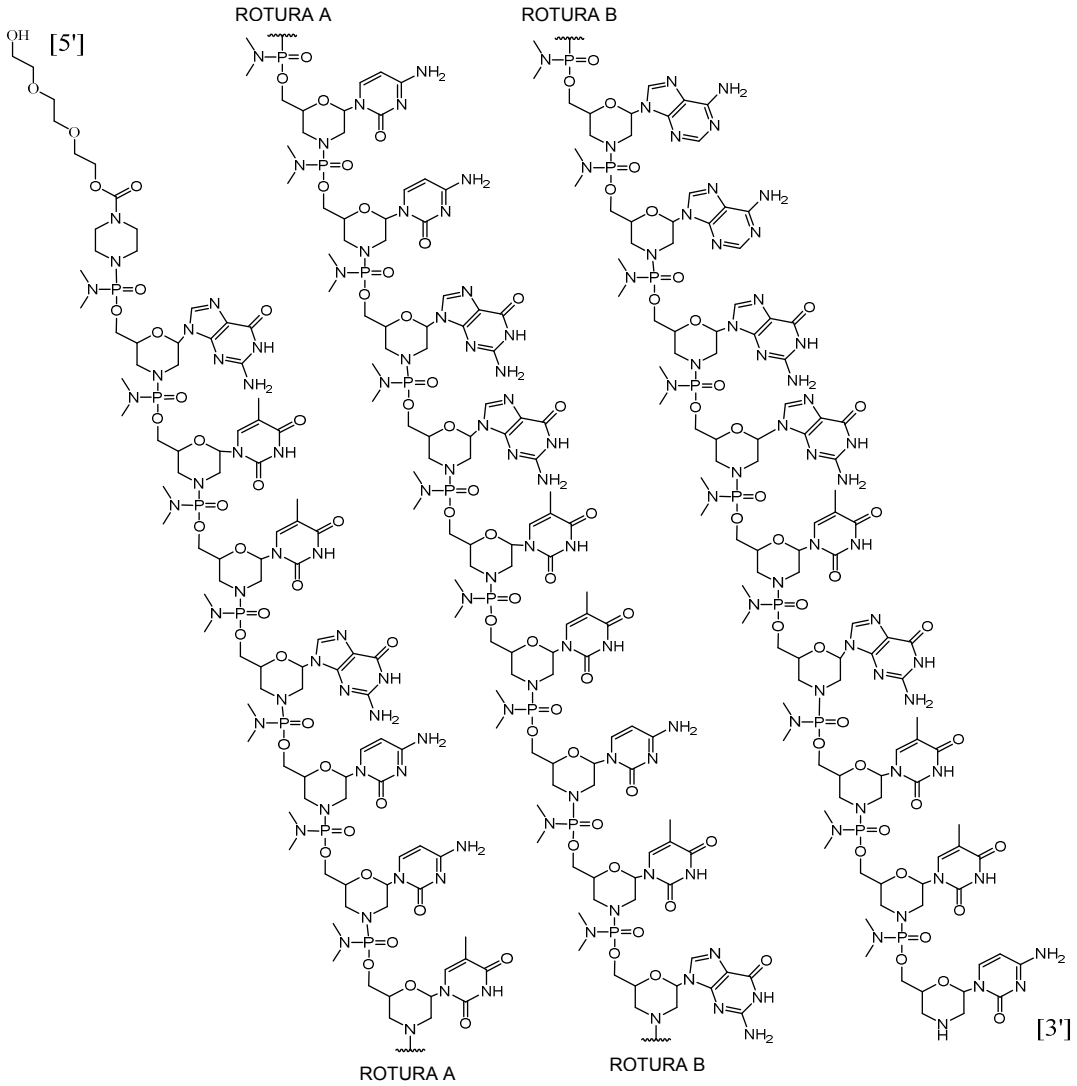
En la presente se proporcionan procesos para preparar oligómeros de morfolino fosforodiamidato (PMO). Los procesos sintéticos descritos en la presente permiten una síntesis de PMO aumentada mientras se mantiene el rendimiento y pureza general de un PMO sintetizado.

Por consiguiente, en un aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (A):



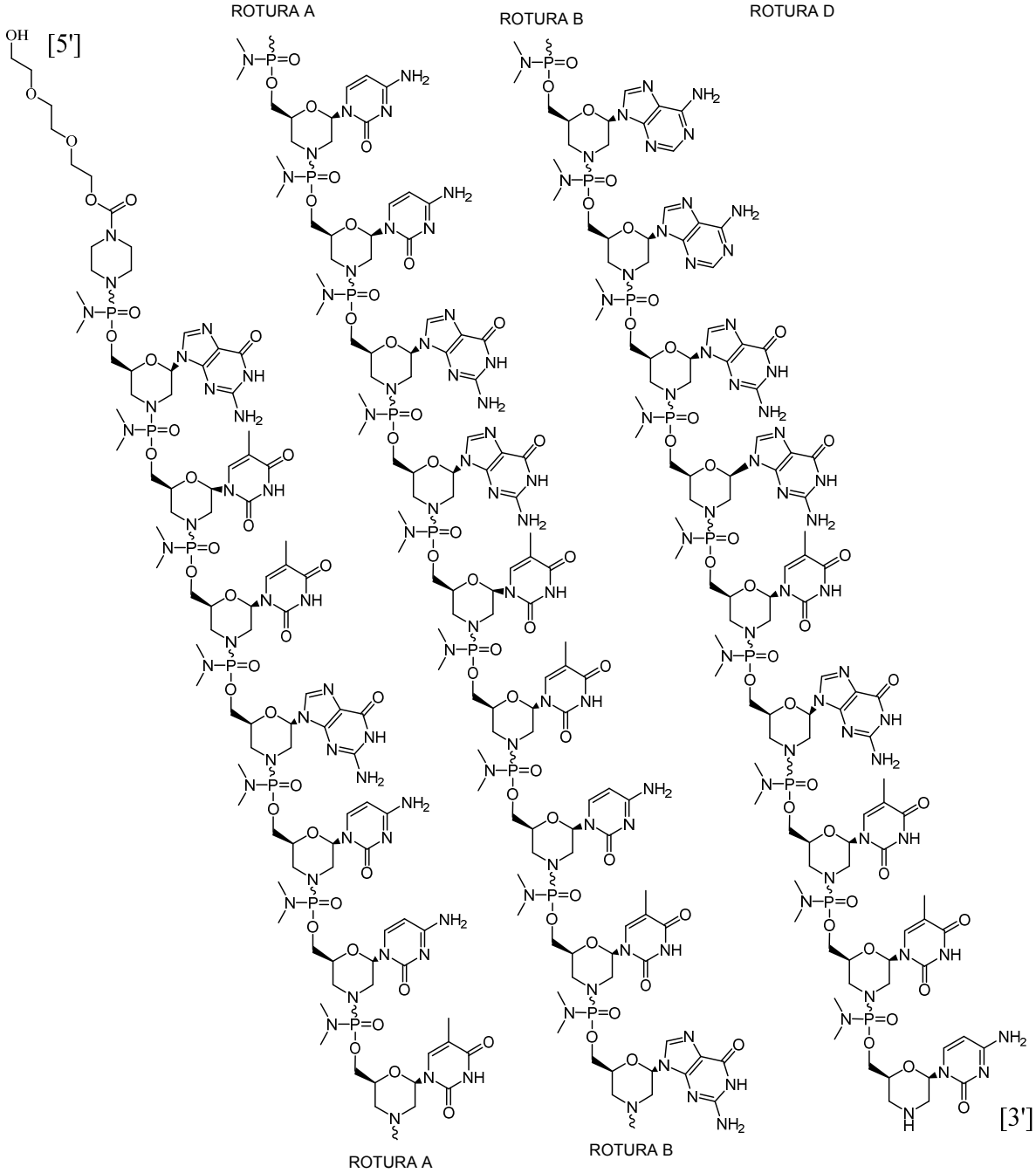
(A).

En ciertas modalidades, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (G):



(G).

En todavía otra modalidad, el compuesto oligomérico de la descripción incluyendo, por ejemplo, algunas modalidades de un compuesto oligomérico de Fórmula (G), es un compuesto oligomérico de Fórmula (XII):



(XII).

Por claridad, las fórmulas estructurales incluyendo, por ejemplo, el compuesto oligomérico de Fórmula (C) y Golodirsen representado por la Fórmula (XII), son una formula estructural continua desde 5′ a 3′, y, por conveniencia de la representación de la fórmula completa en una forma compacta en las fórmulas estructurales anteriores, los Solicitantes han incluido varias roturas de ilustración marcadas “ROTURA A” y “ROTURA B”. Como se entendería por el experto, por ejemplo, cada indicación de “ROTURA A” muestra una continuación de la ilustración de la fórmula estructural en esos puntos. El experto entiende que los mismo es cierto para cada cado de “ROTURA B”, “ROTURA C”, y “ROTURA D” en las fórmulas estructurales anteriores incluyendo Golodirsen. Sin embargo, ninguna de las roturas de la ilustración está destinada a indicar, ni el experto entendería que significa, una interrupción real de las fórmulas estructurales anteriores incluyendo Golodirsen.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **Fig. 1** y **Fig. 2** muestran un cromatograma de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) analítica representativa de una sustancia farmacológica cruda Golodirsen sintetizada y desprotegida (SRP-4053) (ver Ejemplo 4).

La **Fig. 3** y **Fig. 4** muestran un cromatograma de HPLC analítica representativa de una solución de sustancia farmacológica Golodirsen purificada (ver Ejemplo 5).

La **Fig. 5** y **Fig. 6** muestran un cromatograma de HPLC analítica representativa de una sustancia farmacológica Golodirsen desalada y liofilizada (ver Ejemplo 5).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

En la presente se proporcionan procesos para preparar un oligómero de morfolino. El oligómero de morfolino descrito en la presente exhibe una afinidad más fuerte para ADN y ARN sin comprometer la selectividad de secuencia, con respecto a los oligonucleótidos nativos o no modificados. En algunas modalidades, el oligómero de morfolino de la descripción minimiza o previene la escisión por RNasa H. En algunas modalidades, el oligómero de morfolino de la descripción no activa RNasa H.

Los procesos descritos en la presente son ventajosos en un proceso de escala industrial y se pueden aplicar para preparar cantidades de un oligómero de morfolino a alta escala y rendimiento (por ejemplo, aproximadamente 1 kg, aproximadamente 1-10 kg, aproximadamente 2-10 kg, aproximadamente 5-20 kg, aproximadamente 10-20 kg, o aproximadamente 10-50 kg).

Definiciones

A continuación se listan las definiciones de varios términos usados para describir esta descripción. Estas

definiciones se aplican a los términos como se usan en toda esta especificación y reivindicaciones, a menos que se limite de otro modo en los casos específicos, ya sea individualmente o como parte de un grupo más grande.

"Protegido con base" o "protección de base" se refiere a la protección de los grupos de apareamiento de bases, por ejemplo bases de purina o pirimidina, en las subunidades de morfolino con grupos protectores adecuados para prevenir la reacción o interferencia de los grupos de apareamiento de bases durante la síntesis de oligómero por etapas. (Un ejemplo de una subunidad de morfolino protegida con base es el Compuesto (C) de subunidad C activada que tiene un grupo protector CBZ en el grupo amino de citosina representado a continuación).

Un "grupo fosforamidato activado" típicamente es un grupo clorofosforamidato, que tiene sustitución en el nitrógeno el cual se desea en el enlace de fosforodiamidato eventual en el oligómero. Un ejemplo es (dimetilamino)clorofosforamidato, es decir –O-P(=O)(NMe2)Cl.

El término "unido al soporte" se refiere a una entidad química que se enlaza covalentemente a un medio de soporte.

El término "medio de soporte" se refiere a cualquier material incluyendo, por ejemplo, cualquier partícula, perla o superficie, en el cual un oligómero se puede unir o sintetizar, o se puede modificar para la unión o síntesis de un oligómero. Los sustratos representativos incluyen, pero no se limitan a,

soportes inorgánicos y soportes orgánicos tales como vidrio y vidrio modificado o funcionalizado, plásticos (incluyendo acrílicos, poliestireno y copolímeros de estireno y otros materiales, polipropileno, polietileno, polibutileno, poliuretanos, TEFLÓN, etc.), polisacáridos, nilón o nitrocelulosa, cerámica, resinas, sílice o materiales a base de sílice incluyendo silicio y silicio modificado, carbón, metales, vidrios inorgánicos, plásticos, haces de fibras ópticas y una variedad de otros polímeros. El medio de soporte particularmente útil y superficies sólidas para algunas modalidades se ubican dentro de un aparato de celda de flujo. En algunas modalidades de los procesos descritos en la presente, el medio de soporte comprende poliestireno con 1% de divinilbenceno reticulado.

En algunas modalidades, el medio de soporte representativo comprende al menos un sitio reactivo para la unión o síntesis de un oligómero. Por ejemplo, en algunas modalidades, un medio de soporte de la descripción comprende uno o más grupos amino o hidroxilo capaces de formar un enlace químico con una subunidad entrante u otro grupo activado para la unión o síntesis de un oligómero.

Algunos medios de soporte representativos que son susceptibles a los procesos descritos en la presente incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: vidrio de poro controlado (CPG); vidrio de poro controlado con oxalilo (ver, por ejemplo,

Alul, et al., Nucleic Acids Research 1991, 19, 1527); partículas que contienen sílice, tales como perlas de vidrio poroso y gel de sílice tal como aquel formado por la reacción de tricloro-[3-(4-clorometil)fenil]propilsilani y perlas de vidrio poroso (ver Parr and Grohmann, *Angew. Chem. Internal*. Ed. 1972, 11, 314, vendido bajo la marca comercial "PORASIL E" por aguas Associates, Framingham, Mass., EUA); a mono éster de 1,4-dihidroximetilbenceno y sílice (ver Bayer and Jung, *Tetrahedron Lett.,* 1970, 4503, vendido bajo la marca comercial "BIOPAK" por aguas Associates); TENTAGEL (ver, por ejemplo, Wright, et al., Tetrahedron Letters 1993, 34, 3373); matriz en perla de copolímero de estireno/divinilbenceno reticulado, o POROS, un copolímero de poliestireno/divinilbenceno (disponible de Perceptive Biosystems); medio de soporte soluble tal como polietilenglicol PEG (ver Bonora et al., Organic Process Research & Development, 2000, 4, 225–231); soporte de PEPS, el cual es una película de polietileno (PE) con injertos de poliestireno (PS) de cadena larga colgante (ver Berg, et al., *J. Am. Chem. Soc.,* 1989, 111, 8024 y Solicitud de Patente Internacional WO 1990/02749); copolímeros de dimetilacrilamida reticulada con N,N'-bisacriloiletilendiamina, incluyendo una cantidad conocida de N-tercbutoxicarbonil-beta-alanil-N'-acriloilhexametilendiamina (ver Atherton, et al., *J. Am. Chem. Soc.,* 1975, 97, 6584, *Bioorg. Chem.* 1979, 8, 351, y J. C. S. Perkin I 538 (1981)); partículas de vidrio revestidas con un

polímero de estireno reticulado hidrofóbico (ver Scott, et al., *J. Chrom. Sci.,* 1971, 9, 577); polímero de etileno fluorado sobre el cual se ha injertado poliestireno (ver Kent and Merrifield, *Israel J. Chem.* 1978, 17, 243 y van Rietschoten en *Peptides* 1974, Y. Wolman, Ed., Wiley and Sons, New York, 1975, pp. 113–116); membranas de polipropileno revestidas con hidroxipropilacrilato (Daniels, et al., *Tetrahedron Lett.*1989, 4345); barras de polietileno injertado con ácido acrílico (Geysen, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 1984, 81, 3998); una "bolsa de té" que contiene perlas de polímero tradicionalmente usadas (Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 1985, 82, 5131); y combinaciones de los mismos.

El término "aparato de celda de flujo" se refiere a una cámara que comprende una superficie (por ejemplo, superficie sólida) a través de la cual se pueden hacer fluir uno o más reactivos fluidos (por ejemplo, líquido o gas).

El término "agente de desbloqueo" se refiere a una composición (por ejemplo, una solución) que comprende un ácido químico o combinación de ácidos químicos para remover grupos protectores. Los ácidos químicos ejemplares usados en agentes de desbloqueo incluyen ácidos halogenados, por ejemplo, ácido cloroacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido fluoroacético, ácido difluoroacético y ácido trifluoroacético. En algunas modalidades, un agente de desbloqueo remueve uno o más grupos tritilo de, por ejemplo,

un oligómero, un oligómero unido al soporte, una subunidad unida al soporte, u otra porción de nitrógeno u oxígeno protegido.

Los términos “halógeno” y “halo” se refieren a un átomo seleccionado del grupo que consiste de fluoro, cloro, bromo y yodo.

El término “agente de terminación de cadena” se refiere a una composición (por ejemplo, una solución) que comprende un anhídrido ácido (por ejemplo, anhídrido benzoico, anhídrido acético, anhídrido fenoxiacético y similares) útil para bloquear un sitio reactivo de, por ejemplo, un medio de soporte que forma un enlace químico con una subunidad entrante u otro grupo activado.

El término “agente de escisión” se refiere a una composición (por ejemplo, una solución líquida o mezcla gaseosa) que comprende una base química (por ejemplo, amoníaco o 1,8-diazabicicloundec-7-eno) o una combinación de bases químicas útiles para la escisión, por ejemplo, un oligómero unido al soporte de un medio de soporte.

El término “agente de desprotección” se refiere a una composición (por ejemplo, una solución líquida o mezcla gaseosa) que comprende una base química (por ejemplo, amoníaco, 1,8-diazabicicloundec-7-eno o carbonato de potasio) o una combinación de bases químicas útiles para remover grupos protectores. Por ejemplo, un agente de desprotección, en

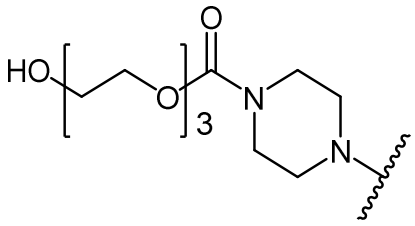
algunas modalidades, puede remover la protección de base de, por ejemplo, una subunidad de morfolino, subunidades de morfolino de un oligómero de morfolino, o versiones unidas al soporte de los mismos.

El término “solvente” se refiere a un componente de una solución o mezcla en la cual se disuelve un soluto. Los solventes pueden ser inorgánicos u orgánicos (por ejemplo, ácido acético, acetona, acetonitrilo, acetil acetona, 2-aminoetanol, anilina, anisol, benceno, benzonitrilo, alcohol bencílico, 1-butanol, 2-butanol, i-butanol, 2-butanone, alcohol t-butílico, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono, clorobenceno, cloroformo, ciclohexano, ciclohexanol, ciclohexanona, di-n-butilftalato, 1,1-dicloroetano, 1,2-dicloroetano, dietilamina, dietilenglicol, diglima, dimetoxietano (glima), N,N-dimetilanilina, dimetilformamida, dimetilftalato, dimetilsulfóxido, dioxano, etanol, éter, acetato de etilo, acetoacetato de etilo, benzoato de etilo, etilenglicol, glicerina, heptano, 1-heptanol, hexano, 1-hexanol, metanol, acetato de metilo, metil t-butil éter, cloruro de metileno, 1-octanol, pentano, 1-pentanol, 2-pentanol, 3-pentanol, 2-pentanona, 3-pentanona, 1-propanol, 2-propanol, piridina, tetrahidrofurano, tolueno, agua, p-xileno).

Las frases “oligómero de morfolino” y “oligómero de morfolino fosforodiamidato” o “PMO” se refiere a un oligómero que tiene subunidades de morfolino enlazadas juntas por enlaces

de fosforodiamidato, uniendo el nitrógeno de morfolino de una subunidad al carbono 5′-exocíclico de una subunidad adyacente. Cada subunidad de morfolino comprende una porción de apareamiento de nucleobase efectiva para unirse, por unión de hidrógeno específica a nucleobase, a una nucleobase en un objetivo.

El término “cola de EG3” se refiere a porciones de trietilenglicol conjugadas al oligómero, por ejemplo, en su extremo 3′ o 5′. Por ejemplo, en algunas modalidades, la “cola de EG3” conjugada al extremo 3′ de un oligómero puede ser de la estructura:



.

Los términos “alrededor de” o “aproximadamente” generalmente se entienden por las personas reconocibles en el área objeto relevante, pero en ciertas circunstancias pueden significar dentro de ±10%, o dentro de ±5%, de un valor o rango dado.

Procesos para Preparar Oligómeros de Morfolino

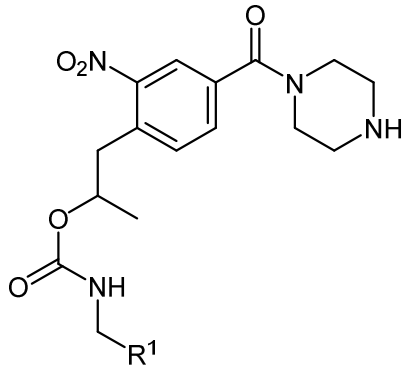
La síntesis generalmente se prepara, como se describe en la presente, en un medio de soporte. En general, un primer sintón (por ejemplo un monómero, tal como una subunidad de

morfolino) primero se une a un medio de soporte y el oligómero luego se sintetiza acoplando secuencialmente subunidades al sintón unido al soporte. Este alargamiento iterativo finalmente resulta en un compuesto oligomérico final. Los medios de soporte adecuados pueden ser solubles o insolubles o pueden poseer solubilidad variable en diferentes solventes para permitir el crecimiento de polímero unido al soporte ya sea dentro o fuera de solución como se desee.

Los medios de soporte tradicionales son en su mayoría insolubles y rutinariamente se colocan en recipientes de reacción mientras los reactivos y solventes reaccionan y/o lavan la cadena de crecimiento hasta que el oligómero ha alcanzado la longitud de objetivo, después de lo cual se escinde del soporte y, si es necesario, se elabora adicionalmente para producir el compuesto polimérico final. Los procedimientos más recientes han introducido soportes solubles que incluyen soportes de polímero solubles para permitir la precipitación y disolución del producto iterativamente sintetizado en puntos deseados en el síntesis (Gravert et al., Chem. Rev., 1997, 97,489-510).

En la presente se proporcionan procesos para preparar oligómeros de morfolino.

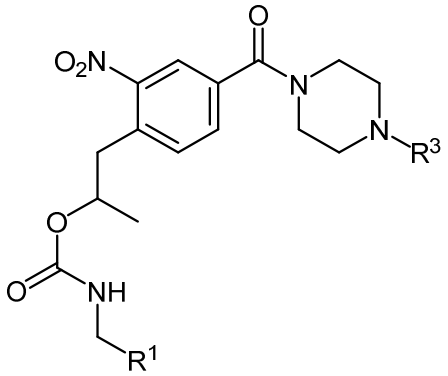
Por lo tanto, en un aspecto, en la presente se proporciona a proceso para preparar un compuesto de Fórmula (II):



(II);

en donde R^1 es un medio de soporte;

en donde el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (A1):

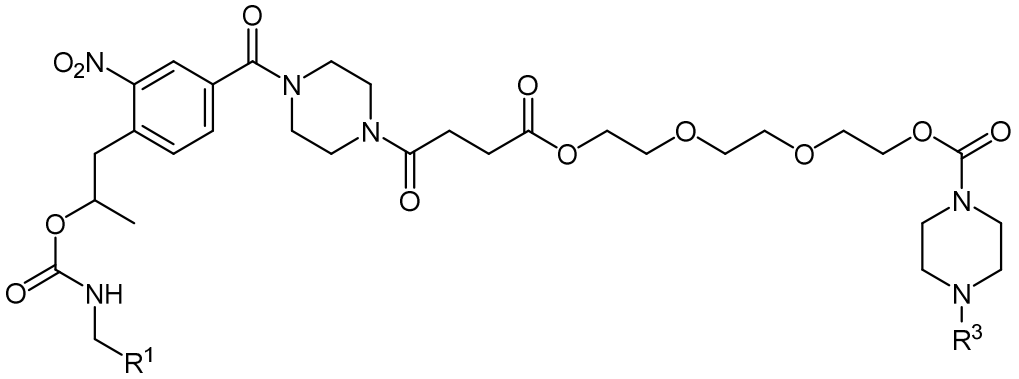


(A1);

en donde R^1 es un medio de soporte y R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

con un agente de desbloqueo para formar el compuesto de Fórmula (II).

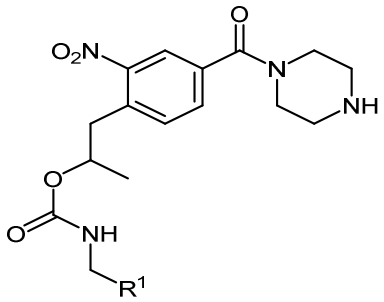
En otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A3):



(A3);

en donde R^1 es un medio de soporte, y R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

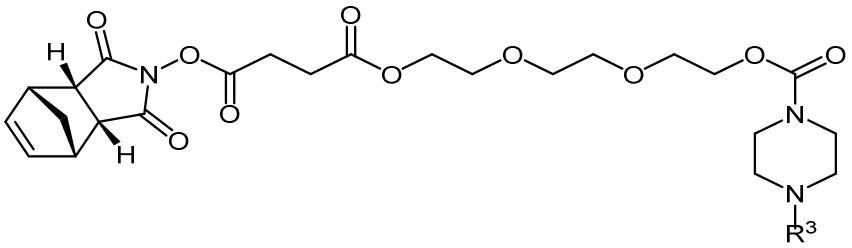
en donde el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (II):



(II);

en donde R^1 es un medio de soporte;

con un compuesto de Fórmula (A2):

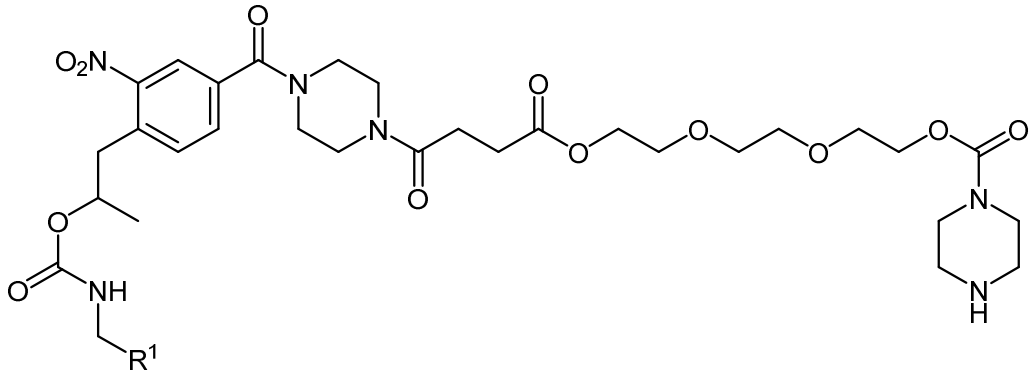


(A2);

en donde R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

para formar el compuesto de Fórmula (A3).

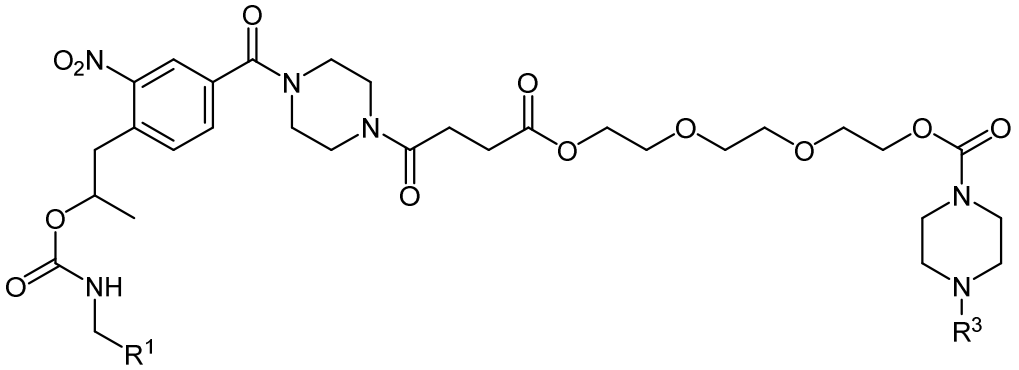
En aún otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (IV):



(IV);

en donde R^1 es un medio de soporte;

en donde el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (A3):



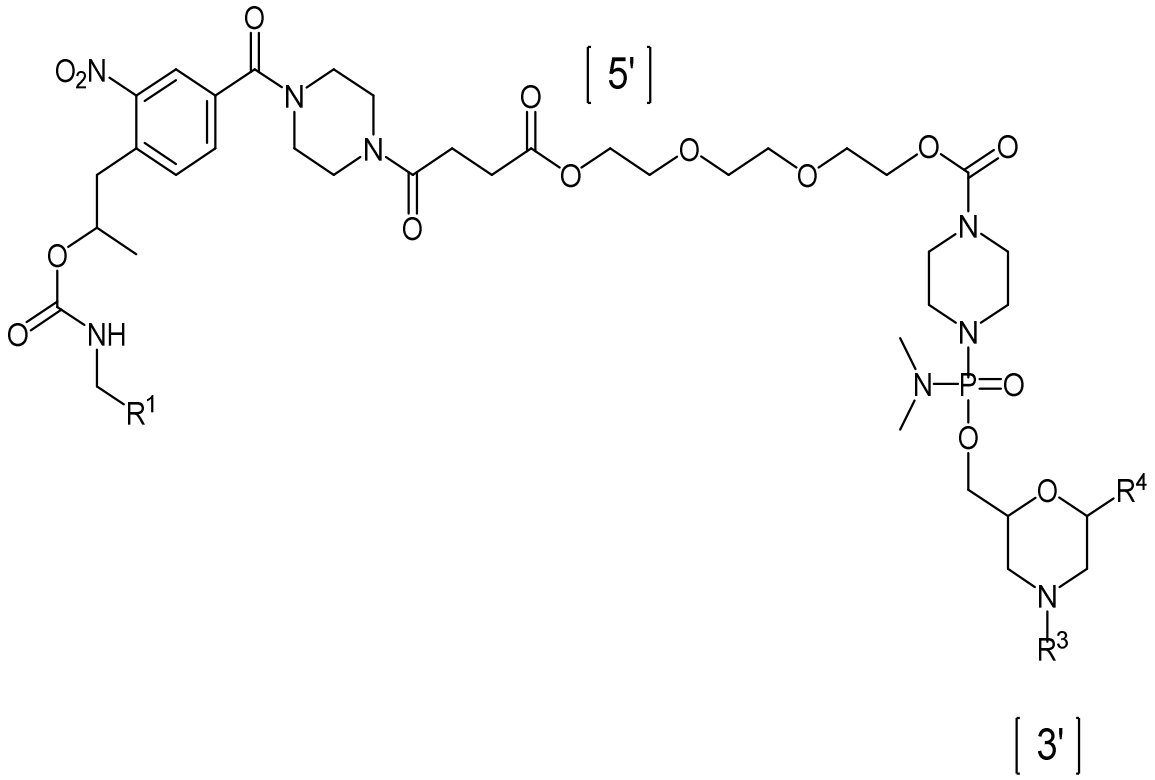
(A3);

en donde R^1 es un medio de soporte, y R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo,

dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (IV).

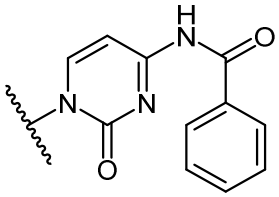
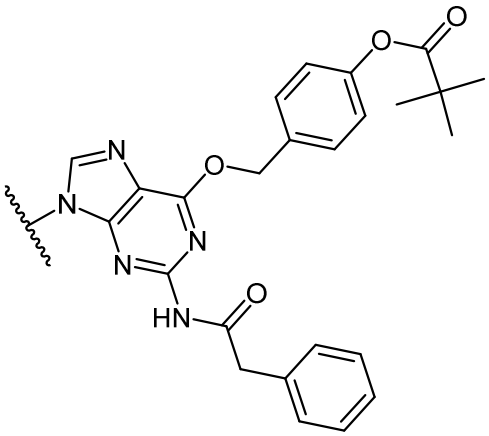
En todavía otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A5):

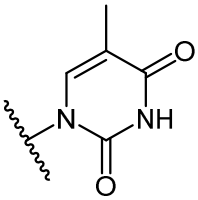
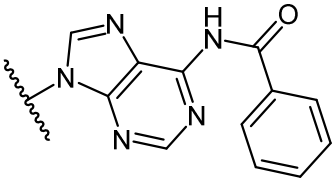
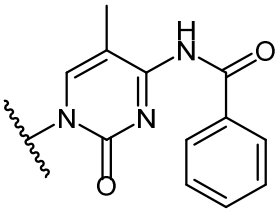


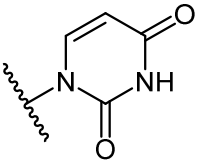
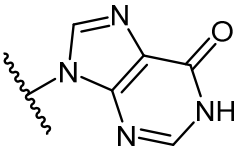
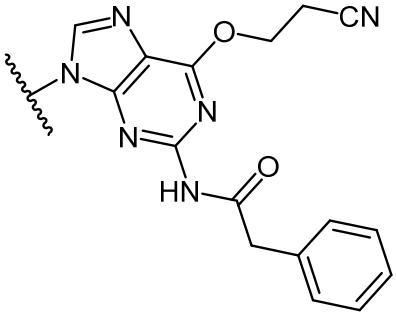
(A5);

en donde R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

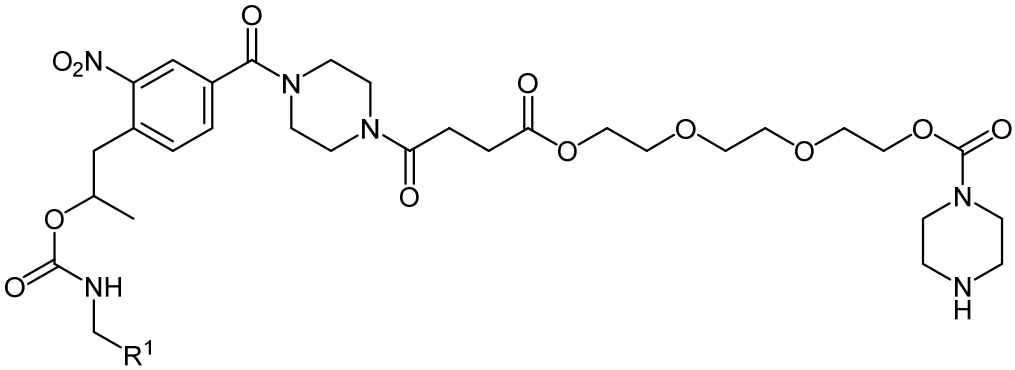
R^4 se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG);

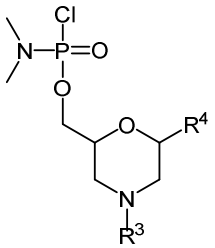
en donde el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (IV):



(IV);

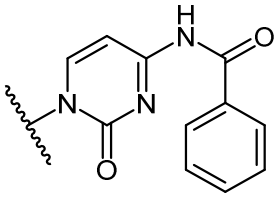
en donde R^1 es un medio de soporte;

con un compuesto de Fórmula (A4):

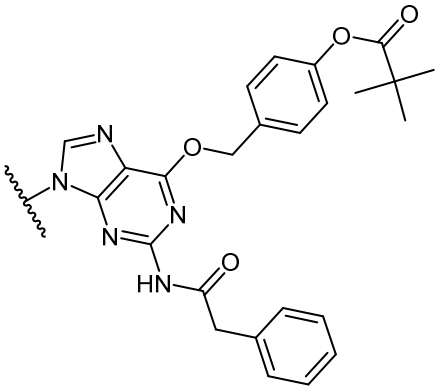


(A4);

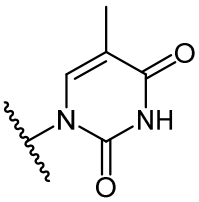
en donde R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4 se selecciona del grupo que consiste de:



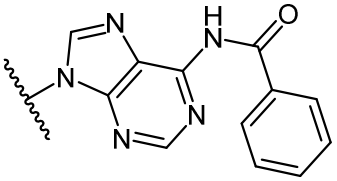
(PC),



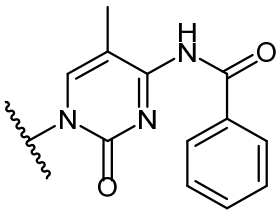
(DPG),



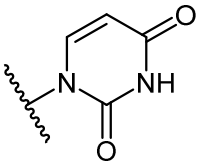
(T),



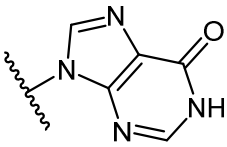
(PA),



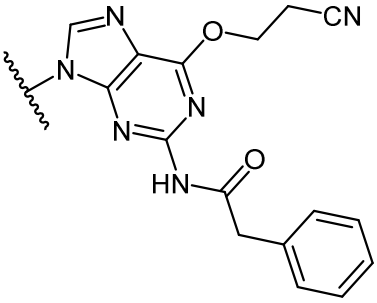
(P5mC),



(U),



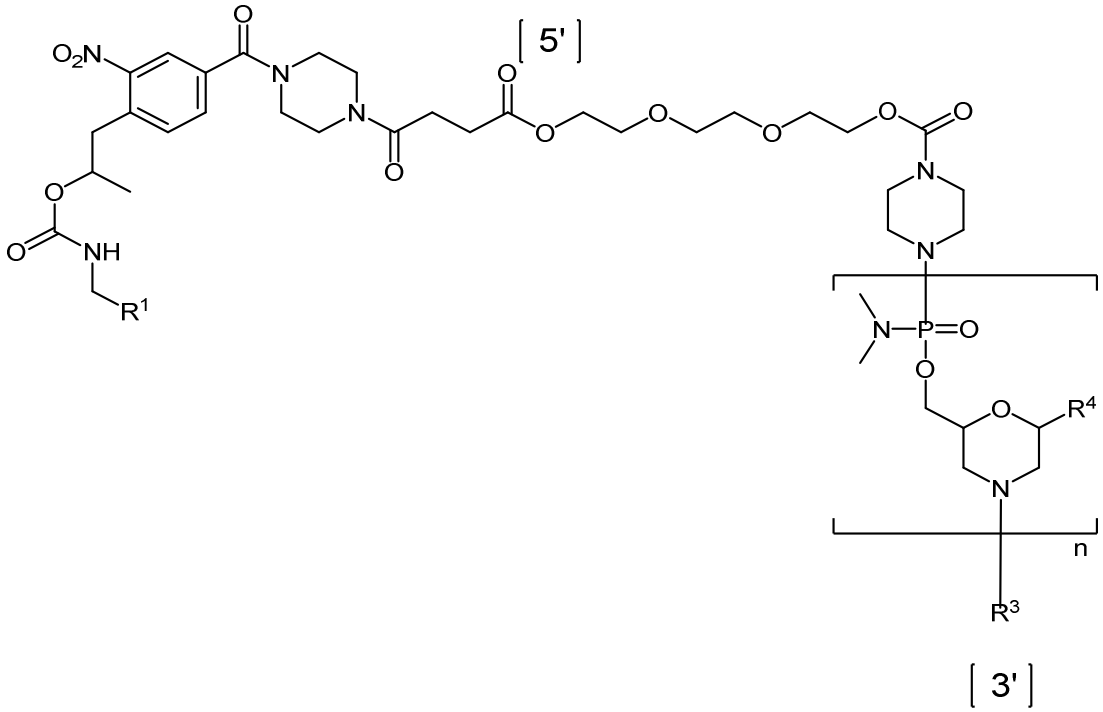
(I), y



(PG),

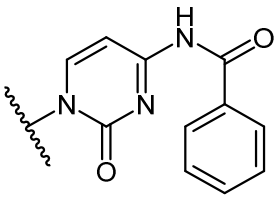
para formar un compuesto de Fórmula (A5).

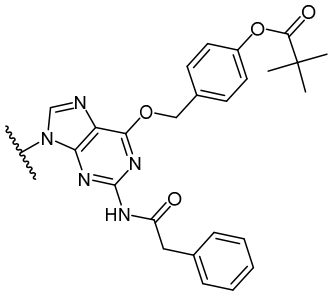
En otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A9):

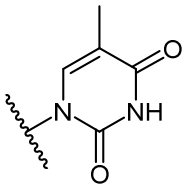
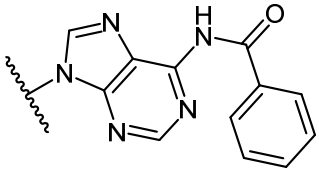
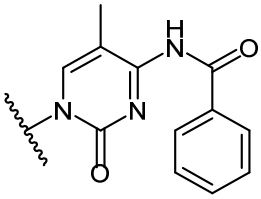


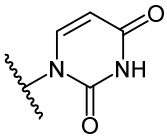
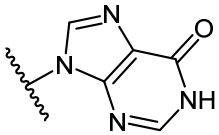
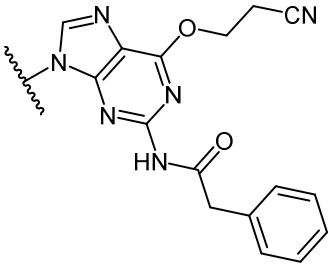
(A9);

en donde n es un número entero desde 10 a 40, R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4, independientemente para cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

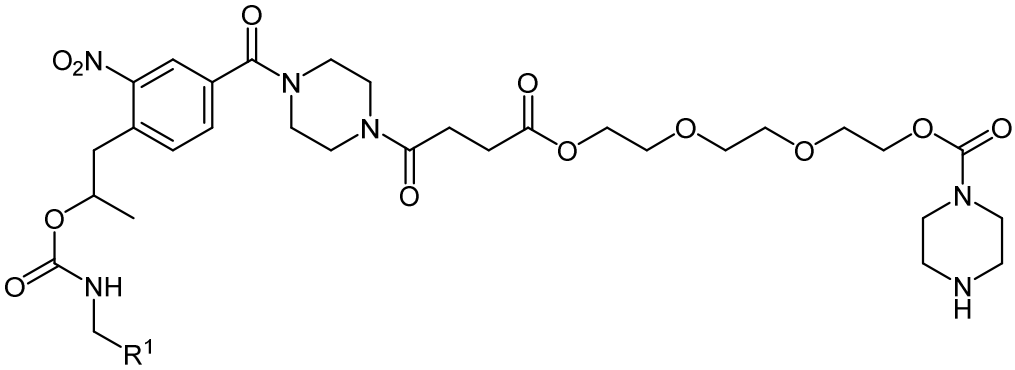

(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG); y

en donde el proceso comprende las etapas secuenciales de:

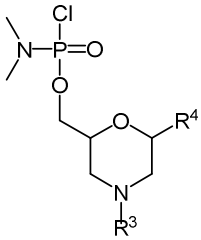
(a) poner en contacto un compuesto de Fórmula (IV):



(IV);

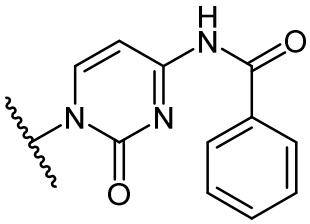
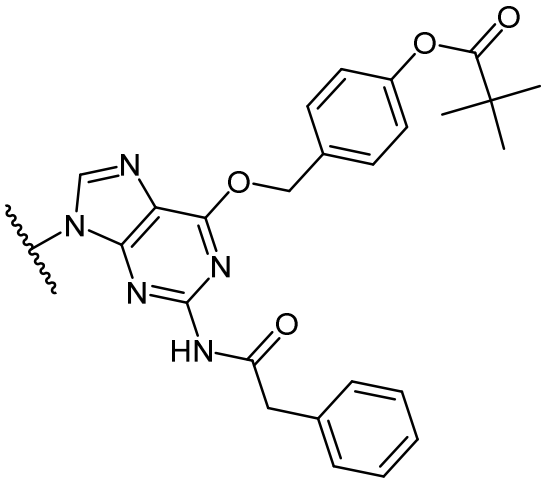
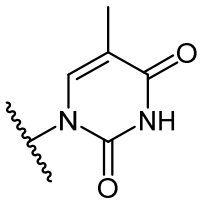
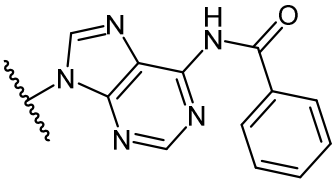
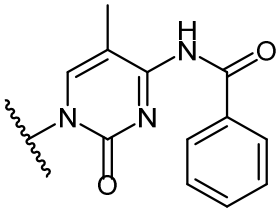
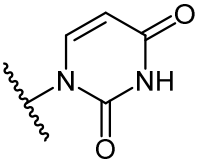
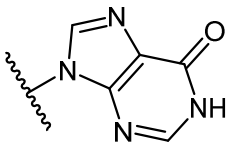
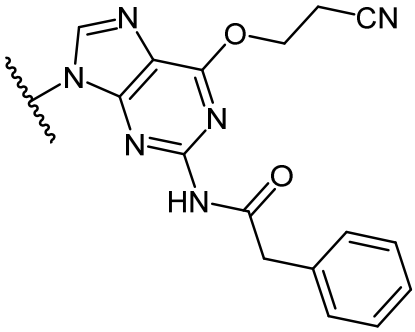
en donde R^1 es un medio de soporte;

con un compuesto de Fórmula (A4):

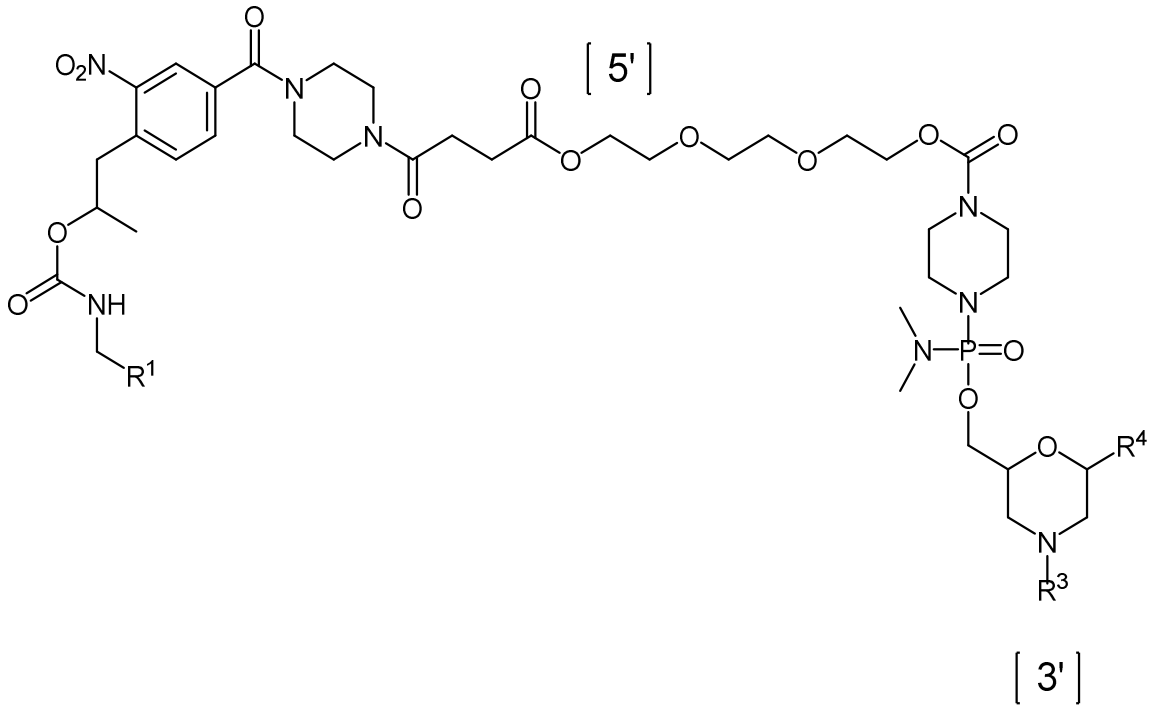


(A4);

en donde R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4 se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T),

(PA),

(P5mC),

(U),

(I), y

(PG),

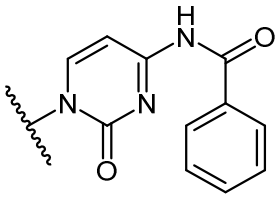
para formar un compuesto de Fórmula (A5):

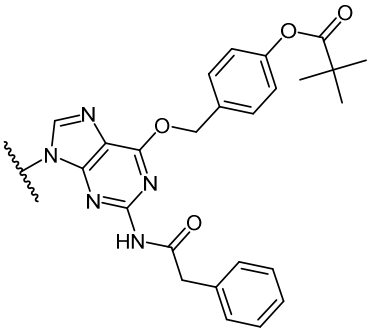


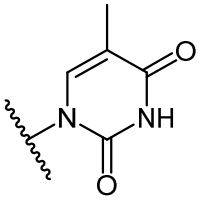
(A5);

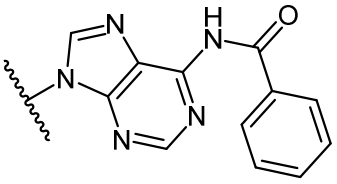
en donde R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

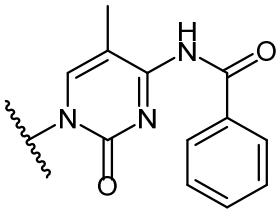
R^4 se selecciona del grupo que consiste de:

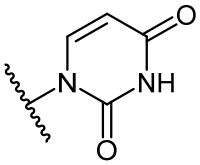
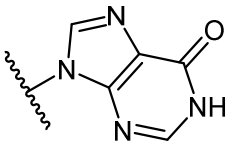
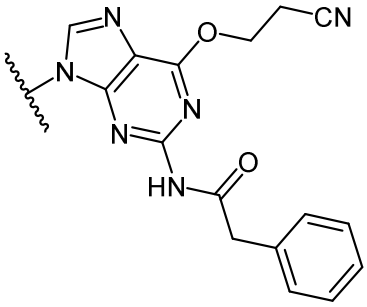

(PC),


(DPG),


(T),


(PA),

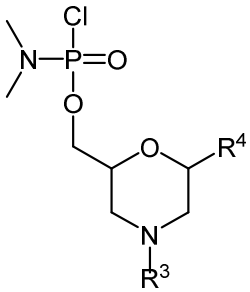

(P5mC),


(U), 
(I), y 
(PG); y

(b) realizar n-1 iteraciones de las etapas secuenciales de:

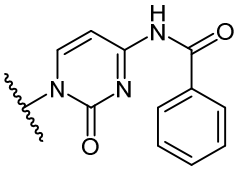
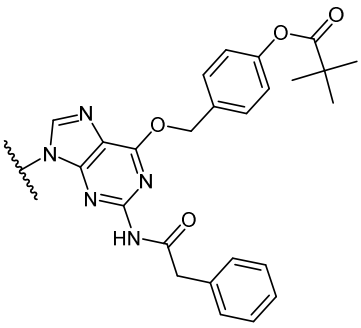
(b1) poner en contacto el producto formado por la etapa inmediatamente previa con un agente de desbloqueo; y

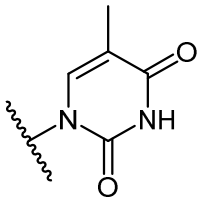
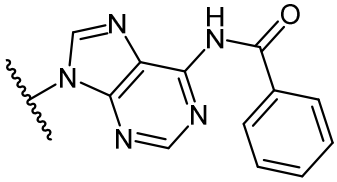
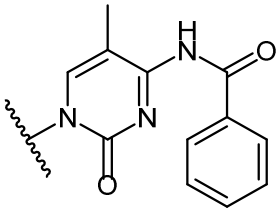
(b2) poner en contacto el compuesto formado por la etapa inmediatamente previa con un compuesto de Fórmula (A8):

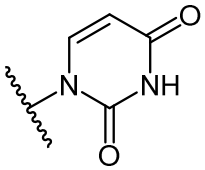
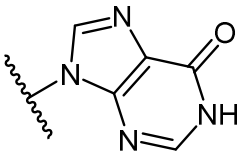
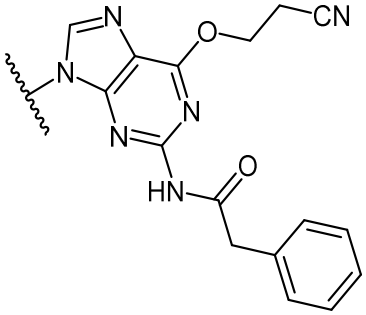


(A8);

en donde R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4 se selecciona del grupo que consiste de:

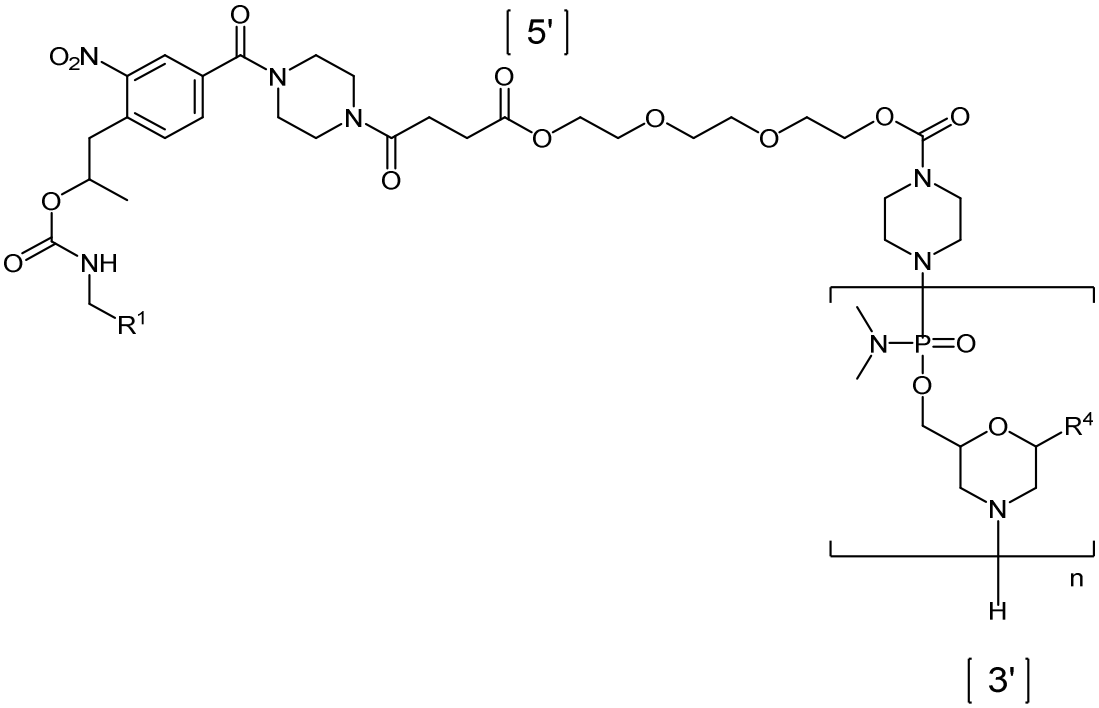

(PC), 
(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG),

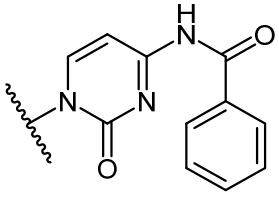
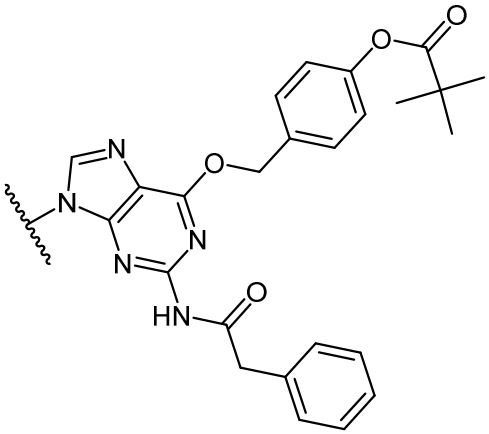
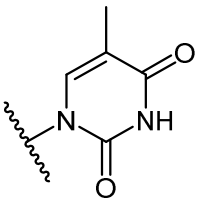
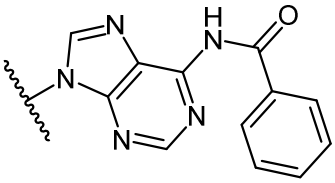
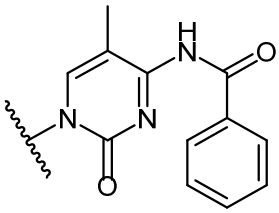
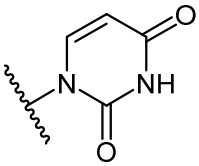
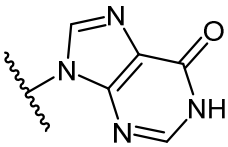
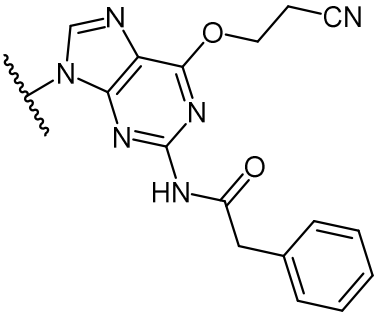
para formar un compuesto de Fórmula (A9).

En todavía otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A10):

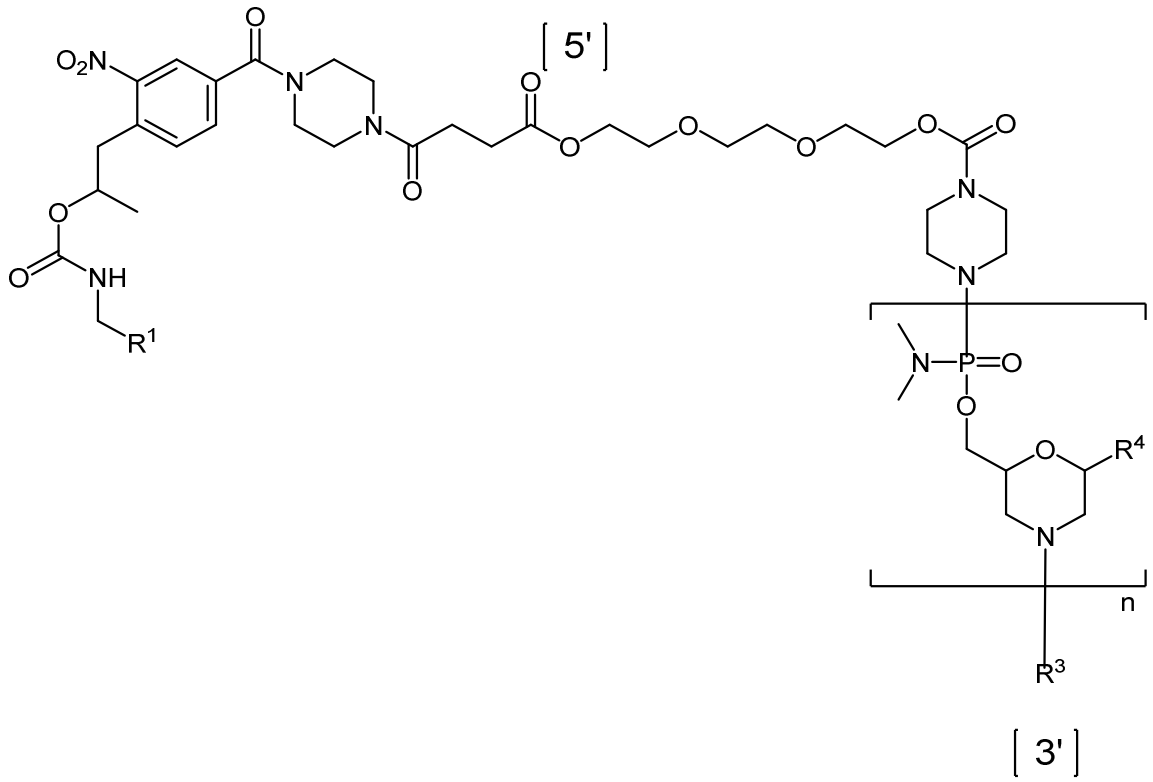


(A10);

en donde n es un número entero desde 10 a 40, R^1 es un medio de soporte, y R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

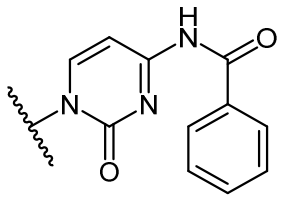

(PC),

(DPG),

(T),

(PA),

(P5mC),

(U),

(I), y

(PG);

en donde el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (A9):

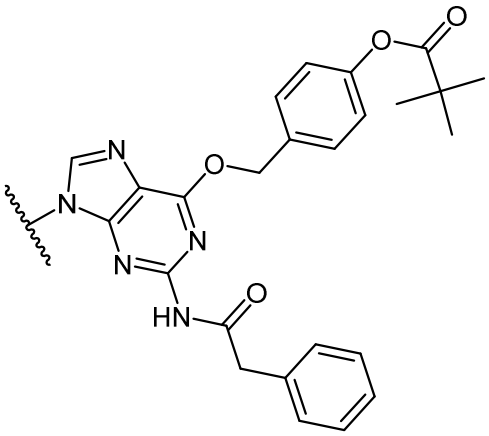


(A9);

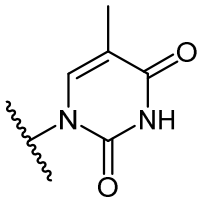
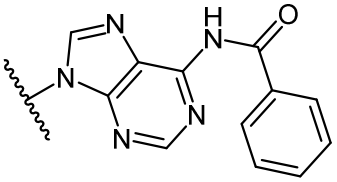
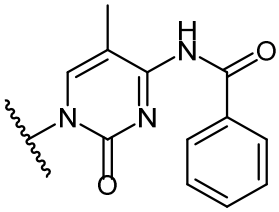
en donde n es un número entero desde 10 a 40, R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

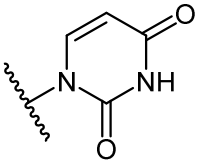
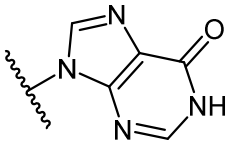
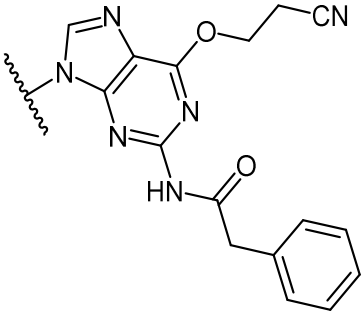


(PC),



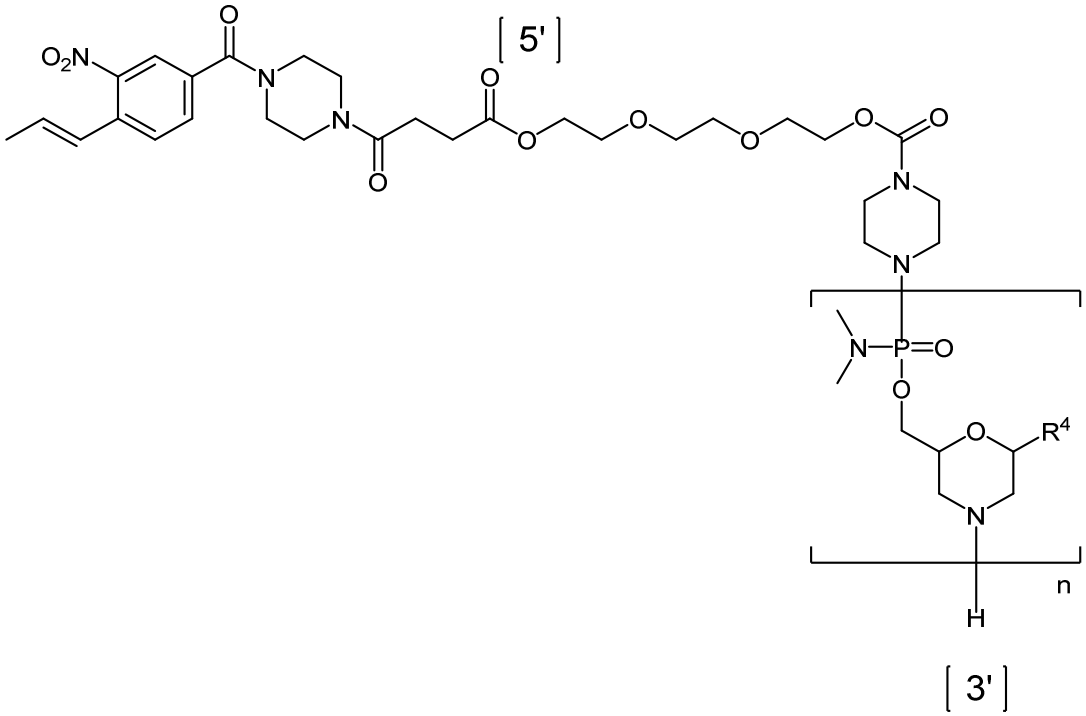
(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG); y

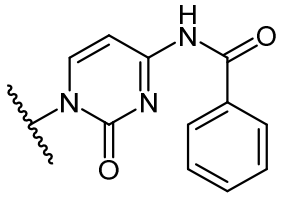
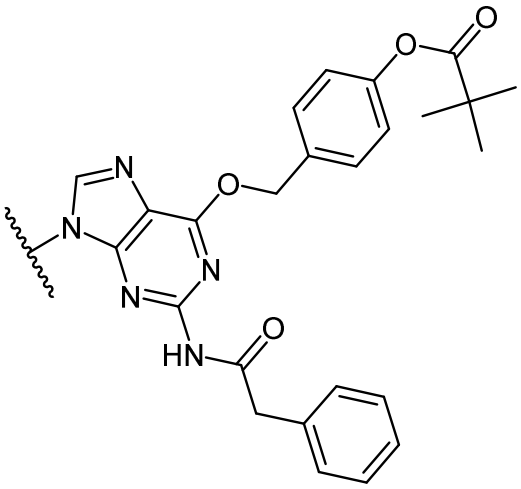
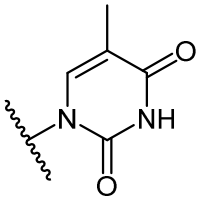
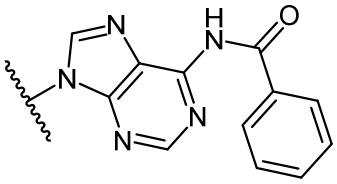
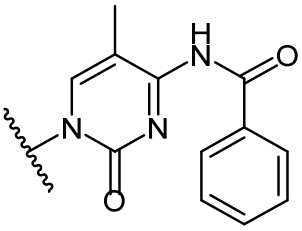
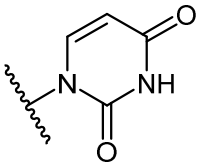
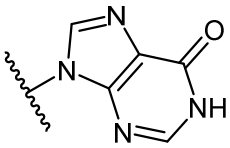
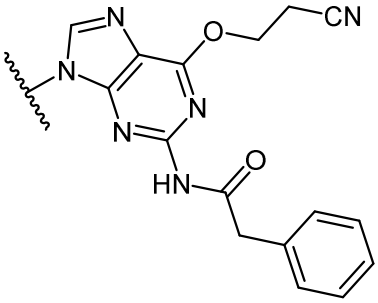
con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (A10).

En aún otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A11):

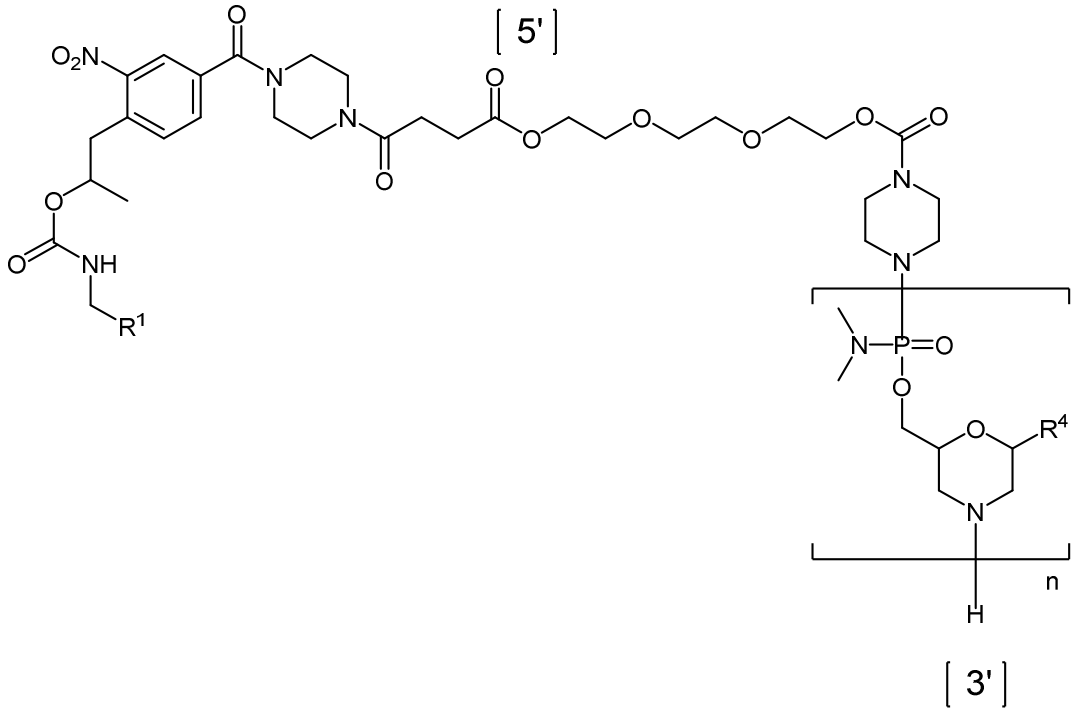


(A11);

en donde n es un número entero desde 10 a 40, y R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

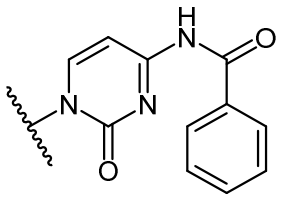

(PC),

(DPG),

(T),

(PA),

(P5mC),

(U),

(I), y

(PG); y

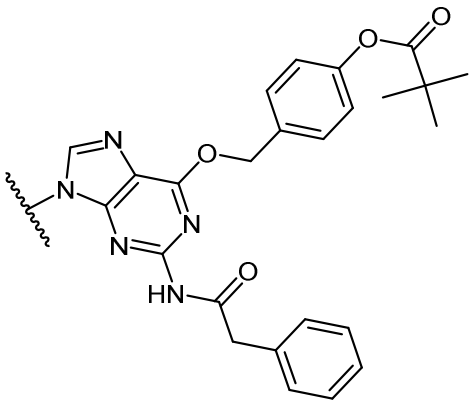
en donde el proceso comprende poner en contacto el compuesto de Fórmula (A10):

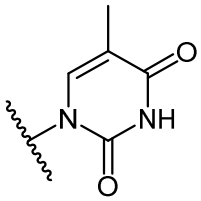


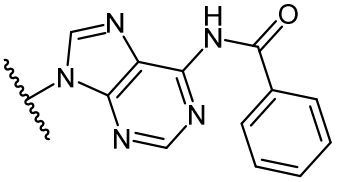
(A10);

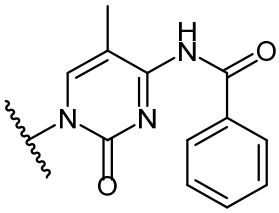
en donde n es un número entero desde 10 a 40, R^1 es un medio de soporte, y R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

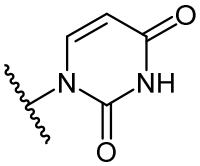
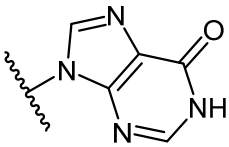
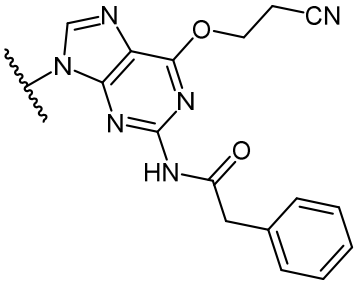

(PC),


(DPG),


(T),

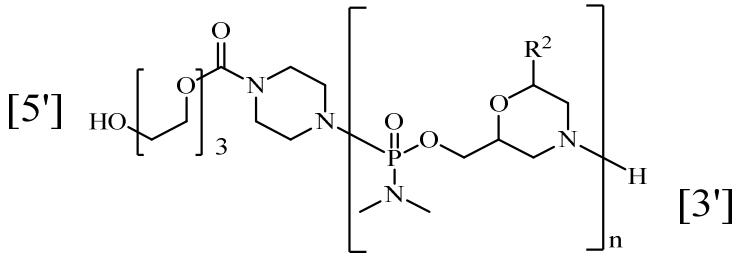

(PA),


(P5mC),


(U),

(I), y

(PG);

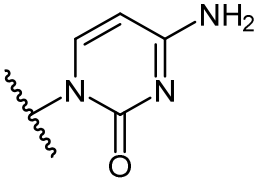
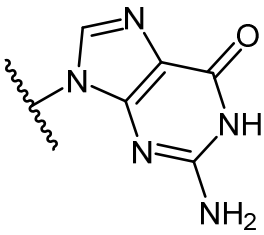
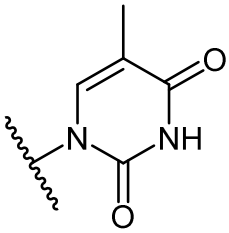
con un agente de escisión para formar un compuesto de Fórmula (A11).

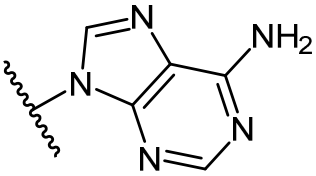
En otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (A):

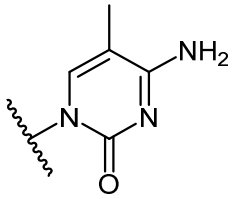
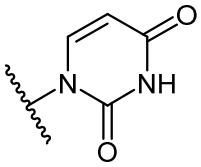
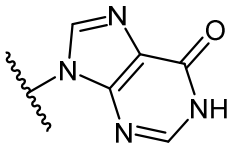


(A);

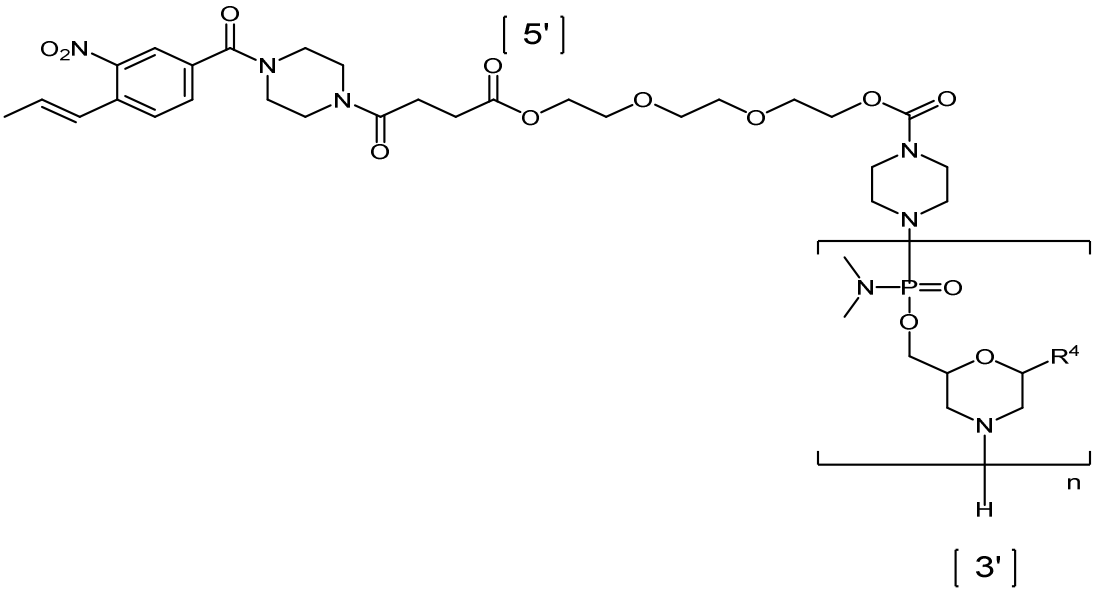
en donde n es un número entero desde 10 a 40, y cada R^2, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(C),

(G),

(T),


(A),

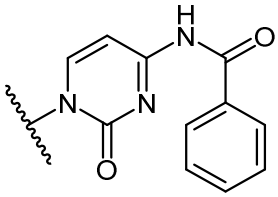
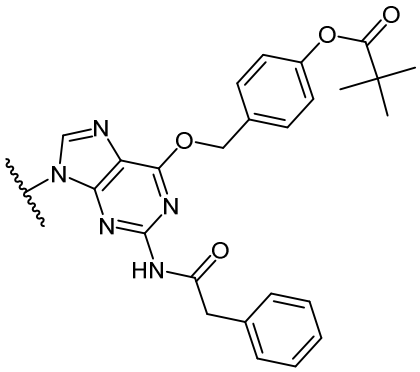

(5mC),

(U), y

(I);

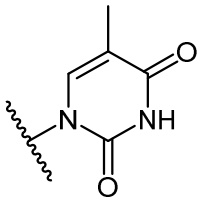
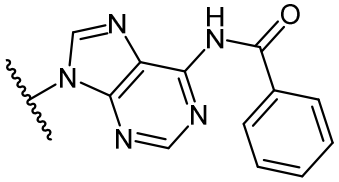
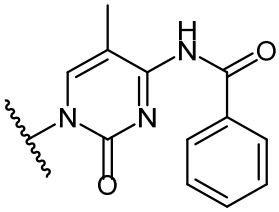
en donde el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (A11):

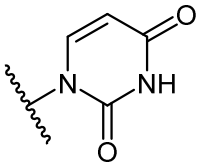
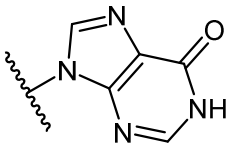
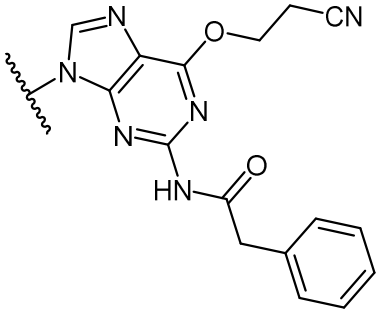


(A11);

en donde n es un número entero desde 10 a 40, y R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

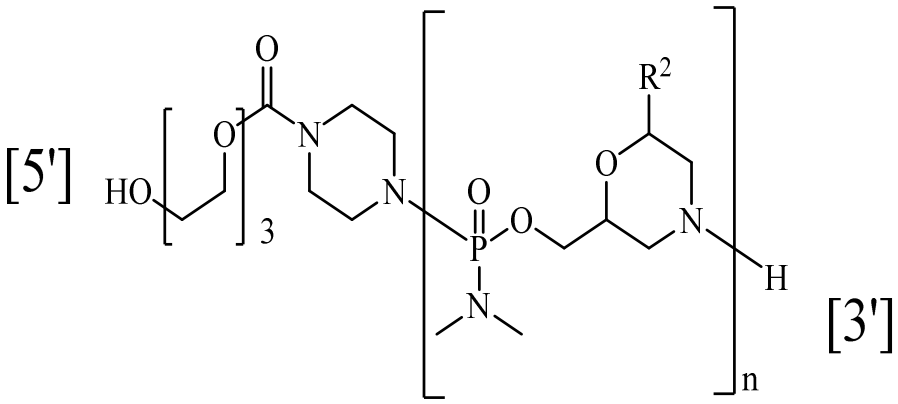

(PC),

(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG); y

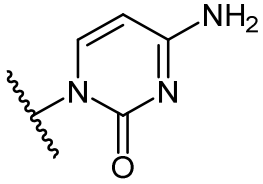
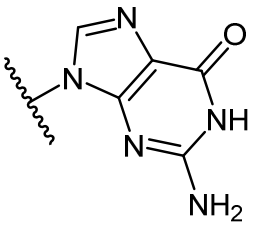
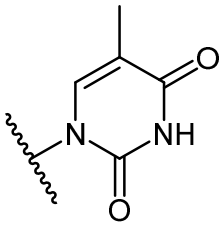
con un agente de desprotección para formar el compuesto oligomérico de Fórmula (A).

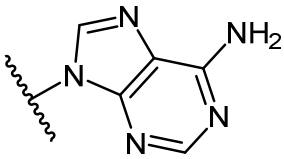
En otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (A):

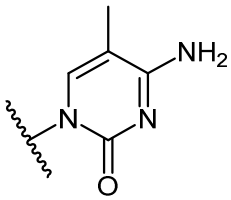
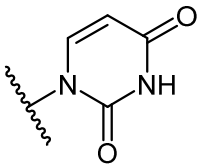
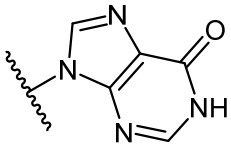


(A);

en donde n es un número entero desde 10 a 40, y cada R^2, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

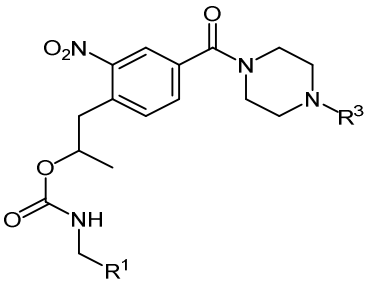

(C),

(G),

(T),


(A),


(5mC),

(U), y

(I),

en donde el proceso comprende las etapas secuenciales de:

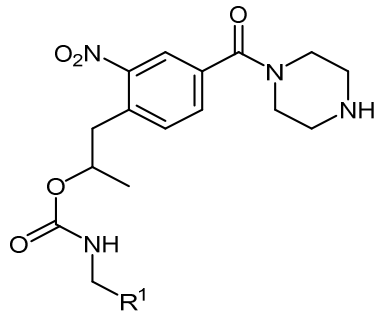
(a) poner en contacto un compuesto de Fórmula (A1):



(A1);

en donde R^1 es un medio de soporte y R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

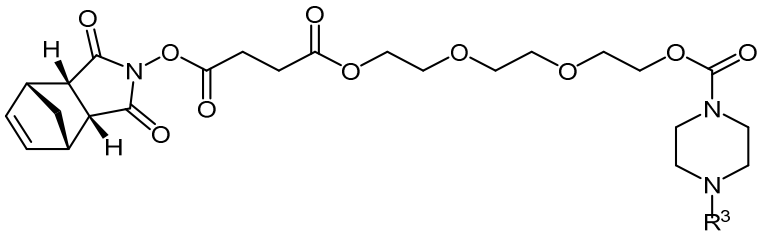
con un agente de desbloqueo para formar el compuesto de Fórmula (II):



(II);

en donde R^1 es un medio de soporte;

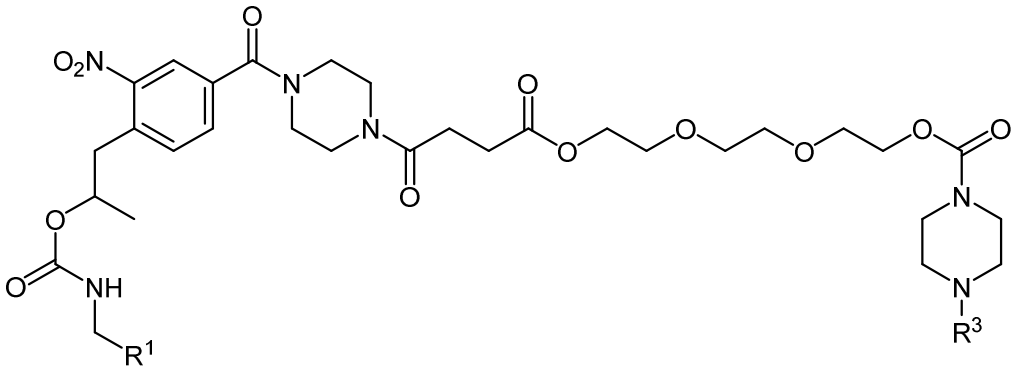
(b) poner en contacto el compuesto de Fórmula (II) con un compuesto de Fórmula (A2):



(A2);

en donde R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

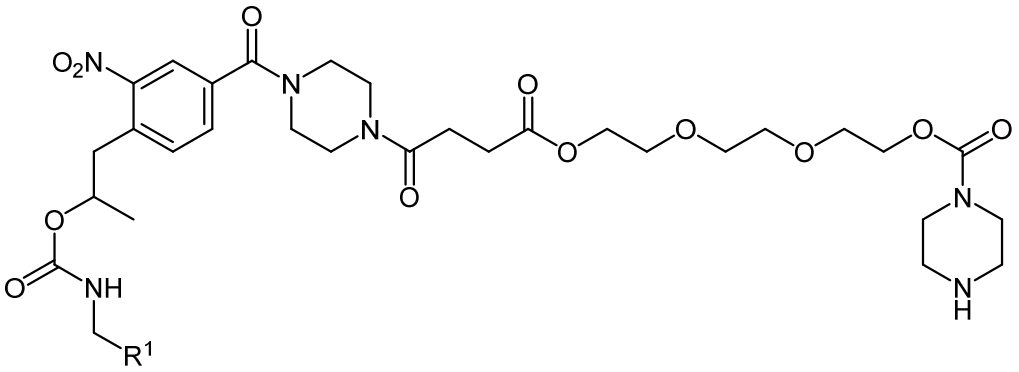
para formar un compuesto de Fórmula (A3):



(A3);

en donde R^1 es un medio de soporte, y R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

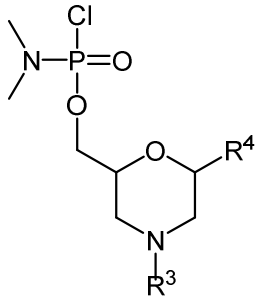
(c) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A3) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (IV):



(IV);

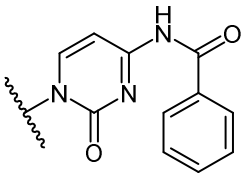
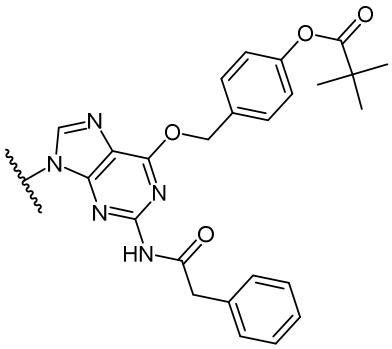
en donde R^1 es un medio de soporte;

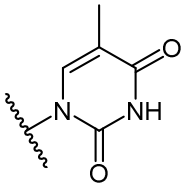
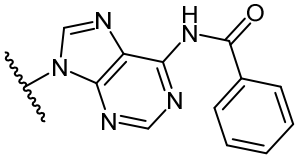
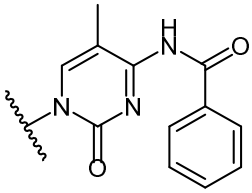
(d) poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV) con un compuesto de Fórmula (A4):

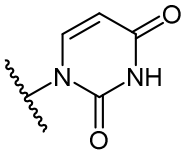
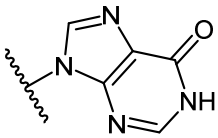
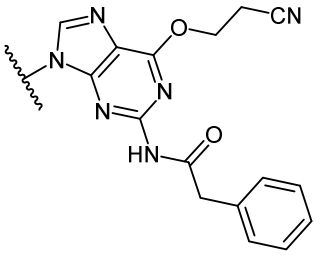


(A4);

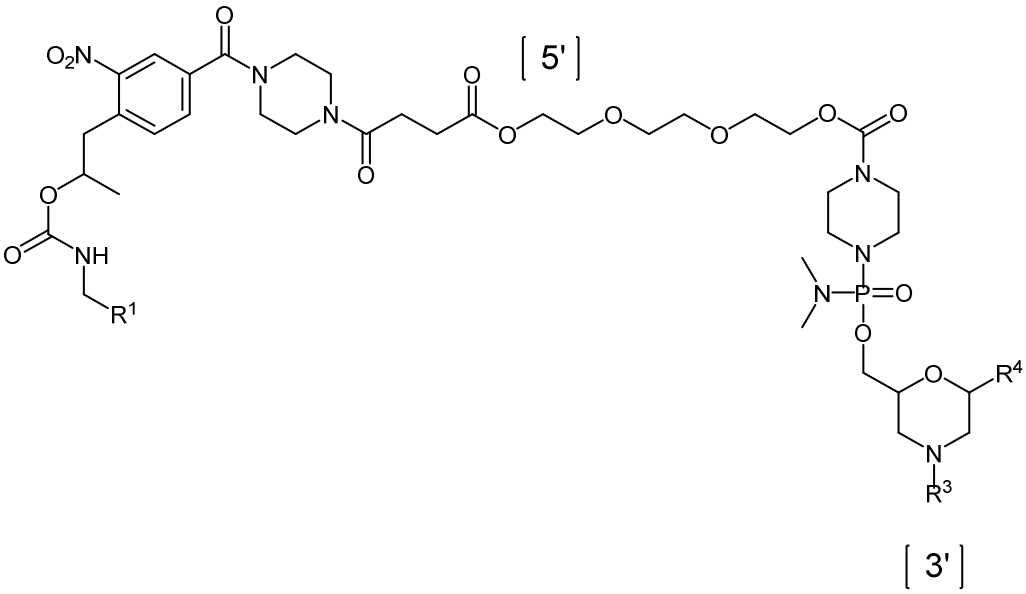
en donde R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4 se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG),

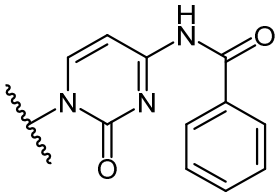
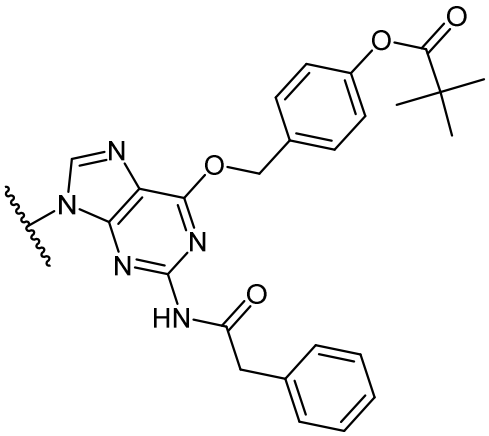
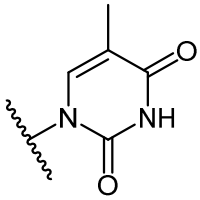
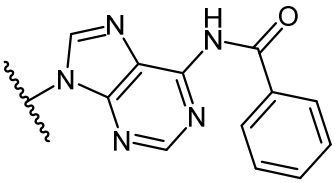
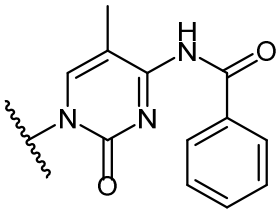
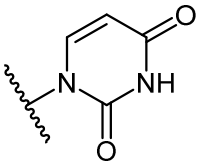
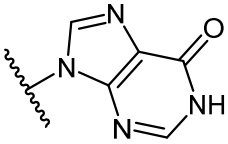
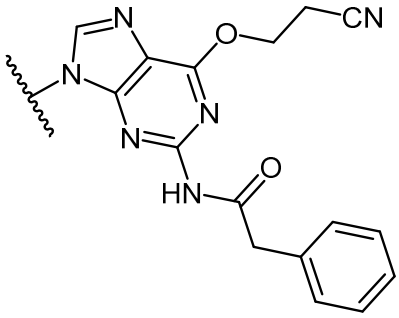
para formar un compuesto de Fórmula (A5):



(A5);

en donde R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

R^4 se selecciona del grupo que consiste de:

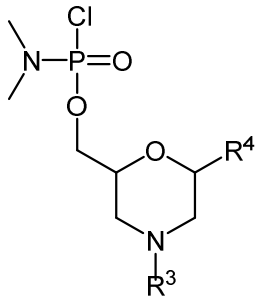

(PC),

(DPG),

(T),

(PA),

(P5mC),

(U),

(I), y

(PG);

(e) realizar n-1 iteraciones de las etapas secuenciales de:

(e1) poner en contacto el producto formado por la etapa inmediatamente previa con un agente de desbloqueo; y

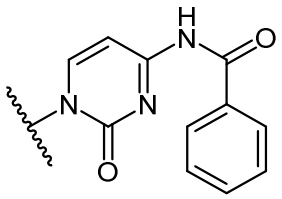
(e2) poner en contacto el compuesto formado por la

etapa inmediatamente previa con un compuesto de Fórmula (A8):

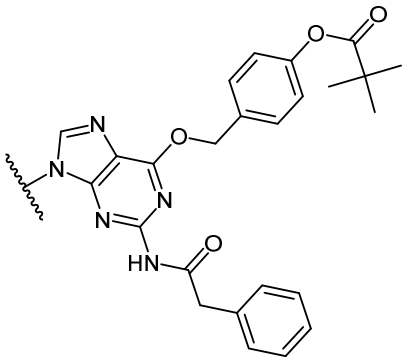


(A8);

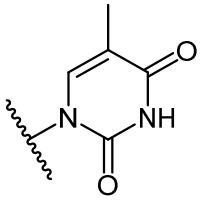
en donde R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4, independientemente de cada compuesto de Fórmula (A8), se selecciona del grupo que consiste de:



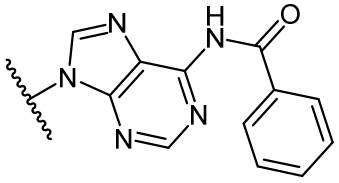
(PC),



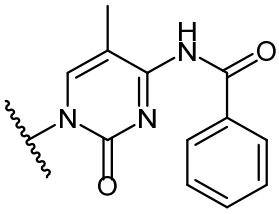
(DPG),



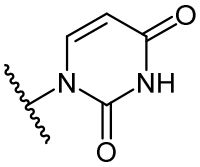
(T),



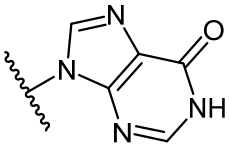
(PA),



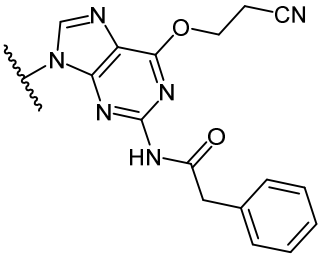
(P5mC),



(U),

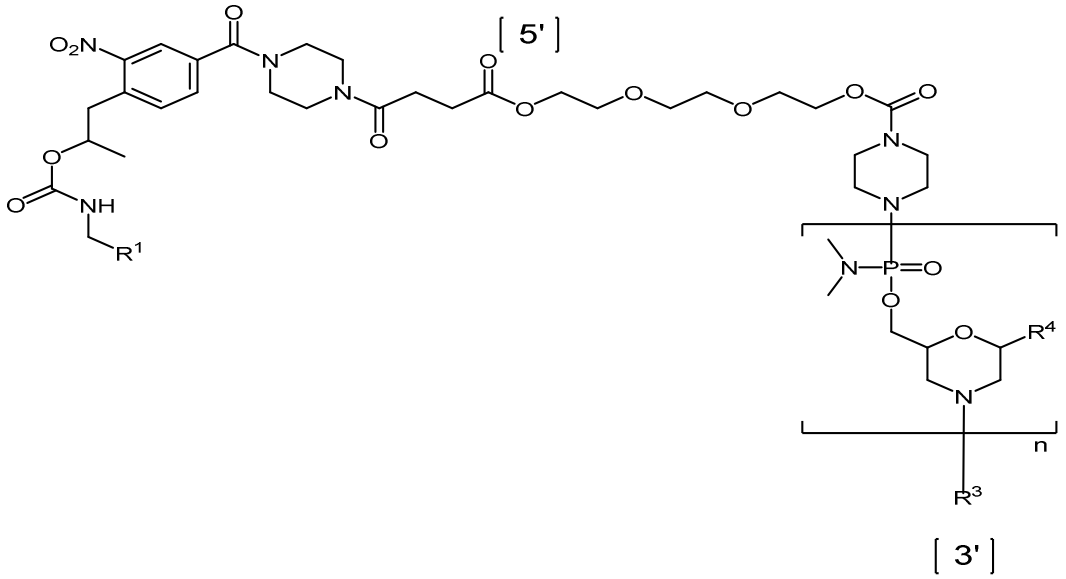


(I), y



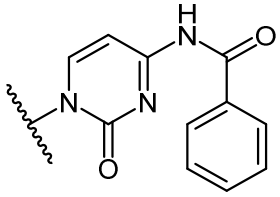
(PG),

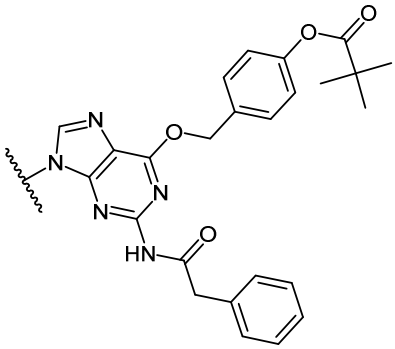
para formar un compuesto de Fórmula (A9):

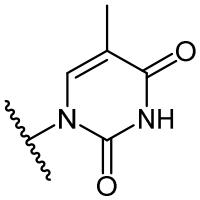


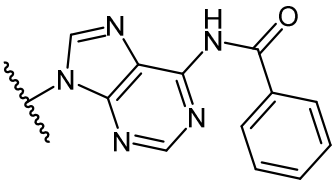
(A9);

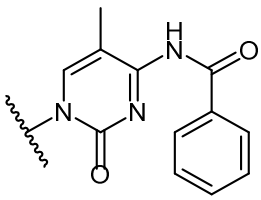
en donde n es un número entero desde 10 a 40, R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

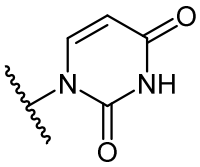
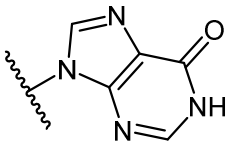
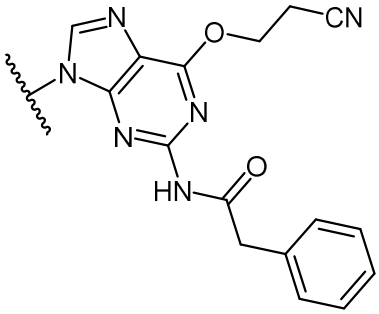

(PC),


(DPG),

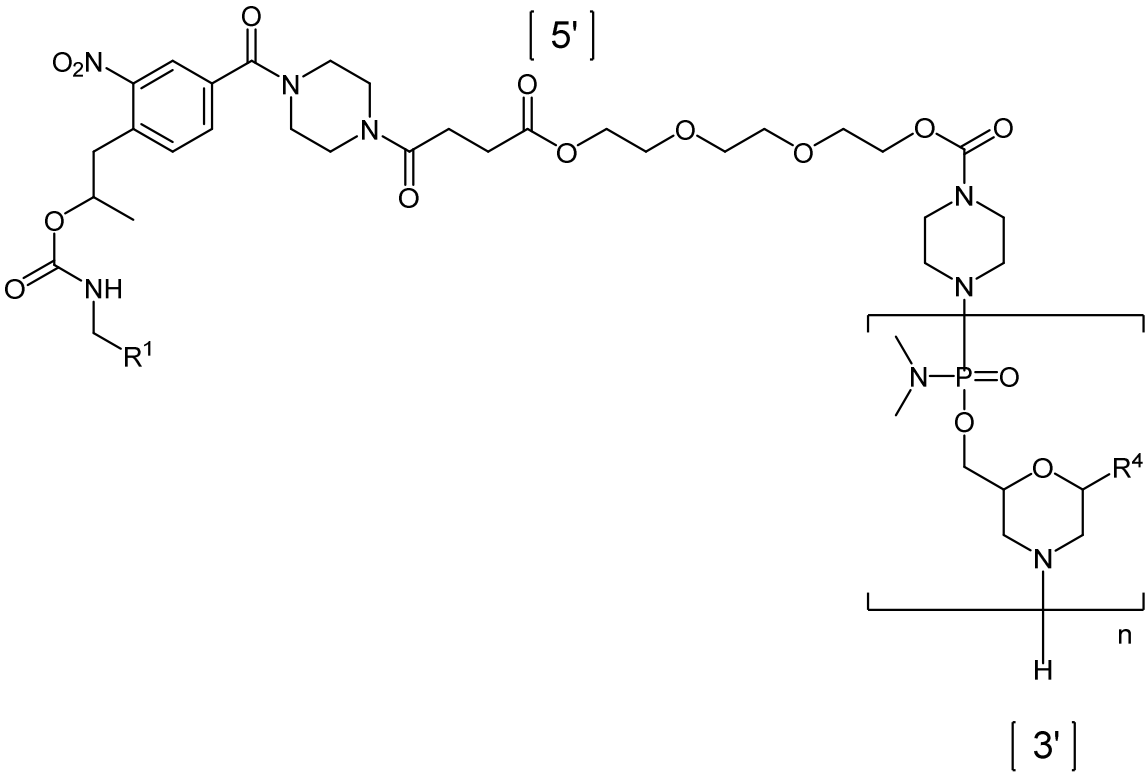

(T),


(PA),


(P5mC),

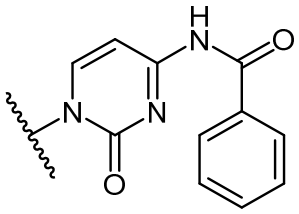
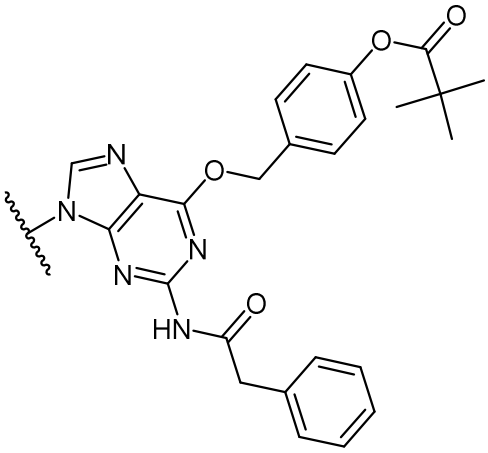

(U),

(I), y

(PG); y

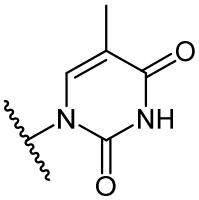
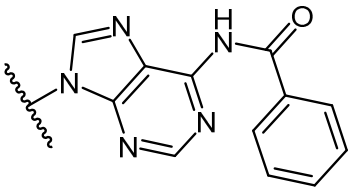
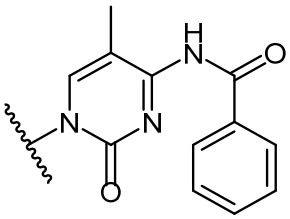
(f) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A9) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (A10):

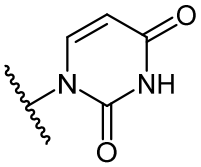
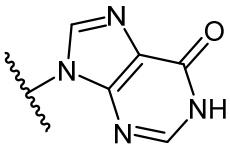


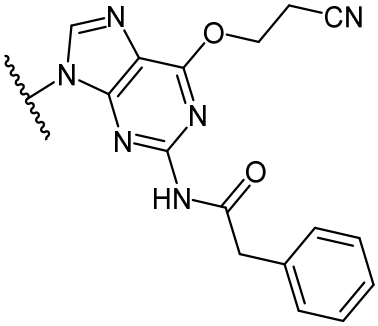
(A10);

en donde n es un número entero desde 10 a 40, R^1 es un medio de soporte, y R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

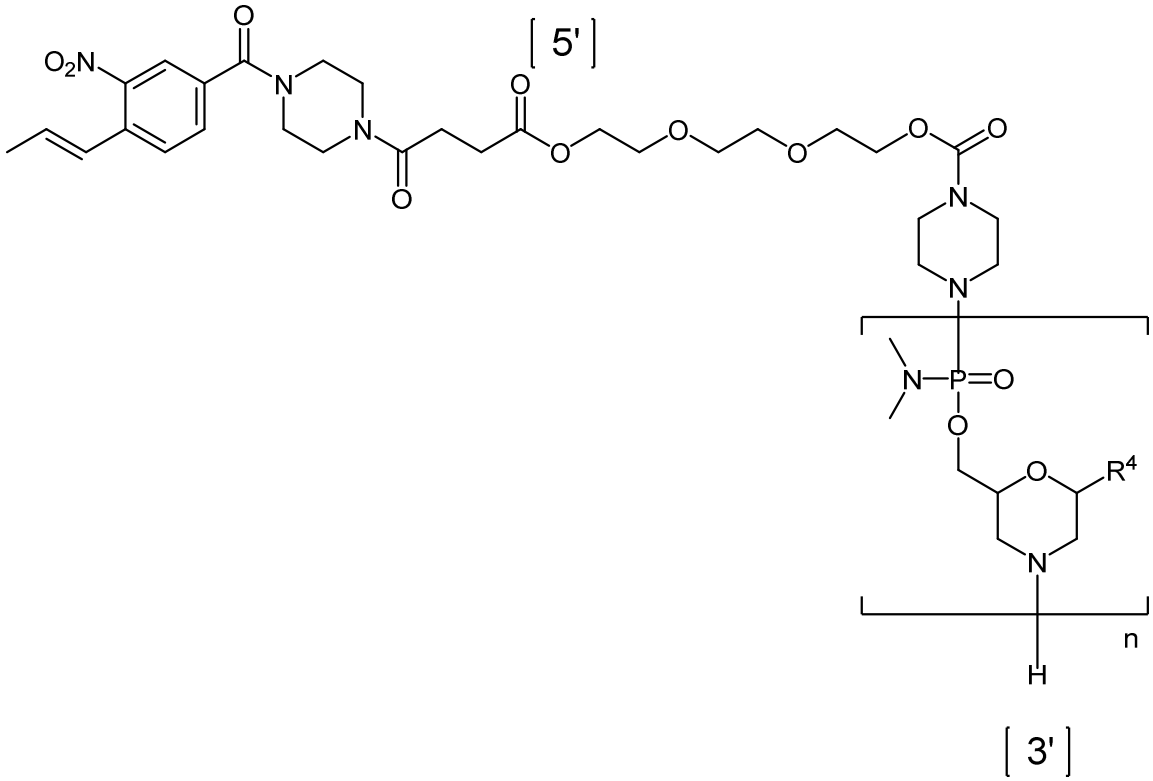

(PC),

(DPG),


(T),

(PA),


(P5mC),

(U),

(I), y

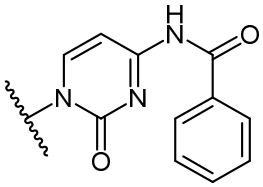

(PG);

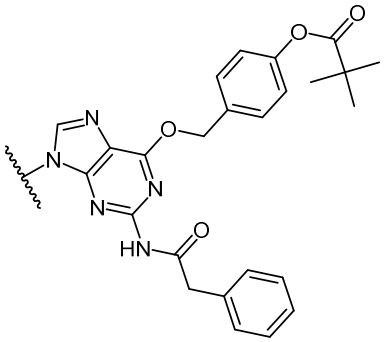
(g) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A10) con un agente de escisión para formar un compuesto de Fórmula (A11):

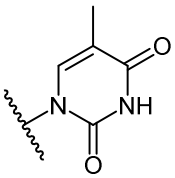


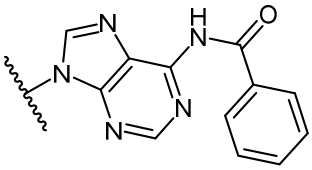
(A11);

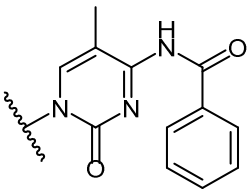
en donde n es un número entero desde 10 a 40, y R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

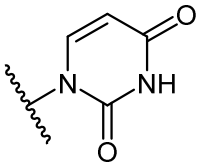
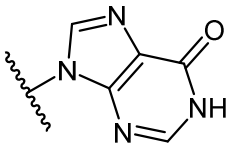
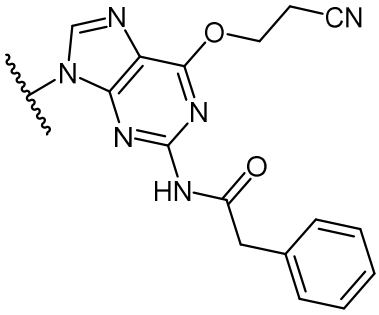

(PC),


(DPG),


(T),


(PA),


(P5mC),


(U), 
(I), y 
(PG); y

(h) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A11) con un agente de desprotección para formar el compuesto oligomérico de Fórmula (A).

En una modalidad, la etapa (d) o etapa (e2) comprende además poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV) o el compuesto formado por la etapa inmediatamente previa, respectivamente, con un agente de terminación de cadena.

En otra modalidad, cada etapa se realiza en la presencia de al menos un solvente.

En todavía otra modalidad, el agente de desbloqueo usado en cada etapa es una solución que comprende un ácido halogenado.

En aún otra modalidad, el agente de desbloqueo usado en cada etapa es ácido cianoacético.

En otra modalidad, el ácido halogenado se selecciona del grupo que consiste de ácido cloroacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido fluoroacético, ácido difluoroacético, y ácido trifluoroacético.

En otra modalidad, el ácido halogenado es ácido trifluoroacético.

En todavía otra modalidad, al menos una de las etapas (a), (c), (e1), y (f) comprende además la etapa de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada etapa con un agente de neutralización.

En aún otra modalidad, cada una de las etapas (a), (c), (e1), y (f) comprende además la etapa de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada etapa con un agente de neutralización.

En otra modalidad, el agente de neutralización está en una solución que comprende diclorometano y alcohol isopropílico.

En todavía otra modalidad, el agente de neutralización es un monoalquilo, dialquilo, o trialquil amina.

En aún otra modalidad, el agente de neutralización es N,N-diisopropiletilamina.

En otra modalidad, el agente de desbloqueo usado en cada etapa es una solución que comprende 4-cianopiridina, diclorometano, ácido trifluoroacético, trifluoroetanol y agua.

En todavía otra modalidad, el agente de terminación de cadena está en una solución que comprende etilmorfolina y metilpirrolidinona.

En aún otra modalidad, el agente de terminación de cadena es un anhídrido ácido.

En otra modalidad, el anhídrido ácido es anhídrido benzoico.

En otra modalidad, los compuestos de Fórmula (A4) y Formula (A8) están cada uno, independientemente, en una solución que comprende etilmorfolina y dimetilimidazolidinona.

En otra modalidad, el agente de escisión comprende ditiotreitol y 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno.

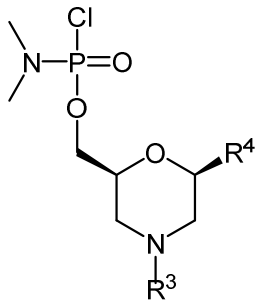
En aún otra modalidad, el agente de escisión está en una solución que comprende N-metil-2-pirrolidona.

En todavía otra modalidad, el agente de desprotección comprende NH_3.

En aún otra modalidad, el agente de desprotección está en una solución acuosa.

En todavía otra modalidad, el medio de soporte comprende poliestireno con 1% divinilbenceno reticulado.

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (A4) es de Fórmula (A4a):

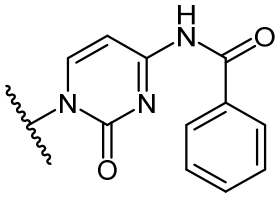
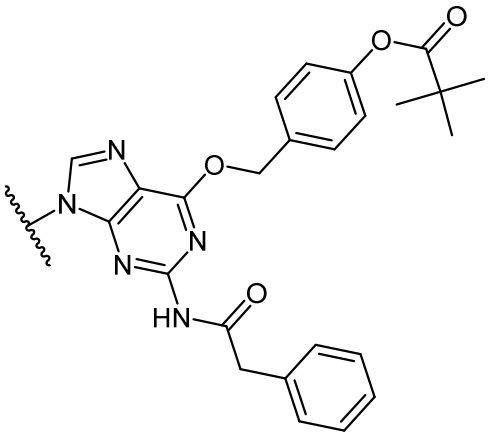
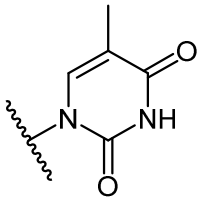
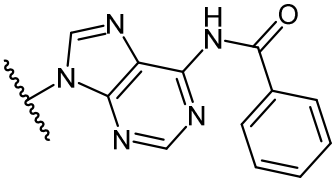
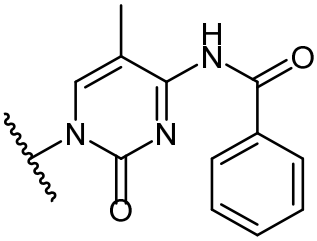
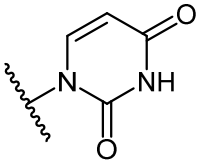
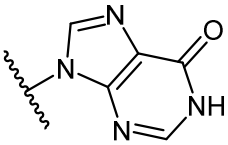
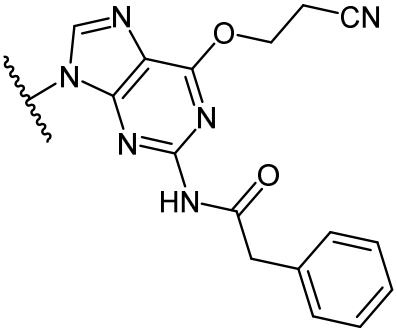


(A4a);

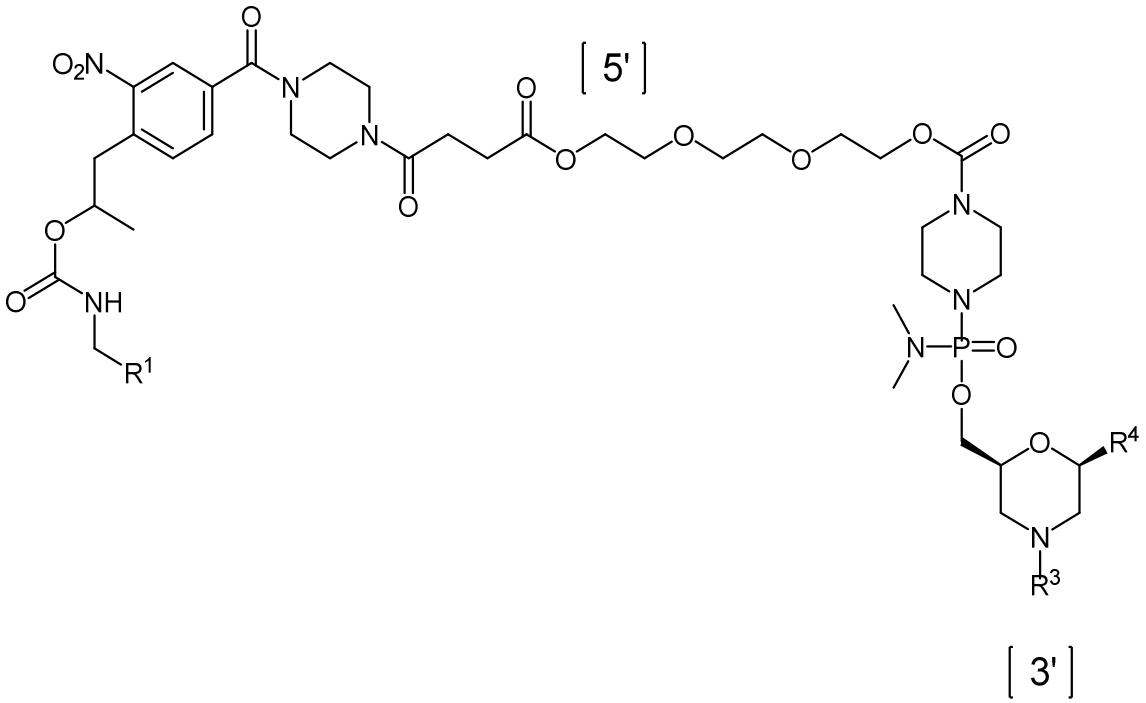
en donde:

R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

R^4 se selecciona de:


(PC),

(DPG),

(T),

(PA),

(P5mC),

(U),

(I), y

(PG).

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (A5) es de Fórmula (A5a):



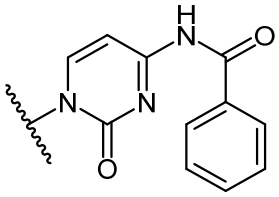
(A5a);

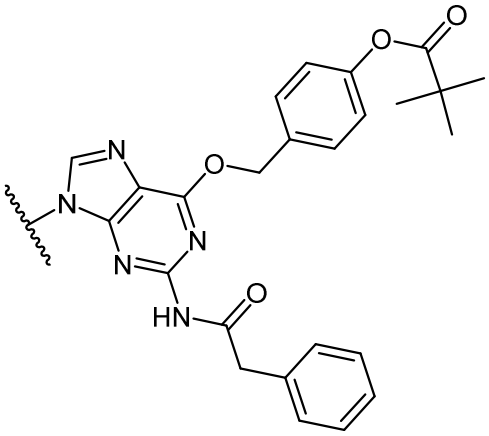
en donde:

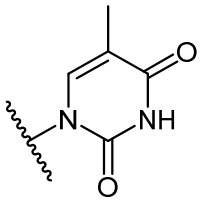
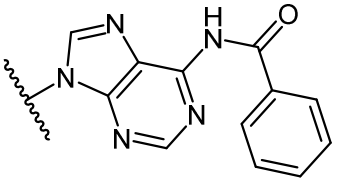
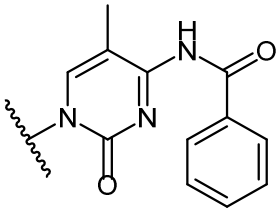
R^1 es un medio de soporte

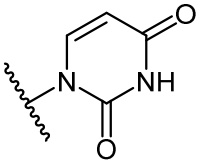
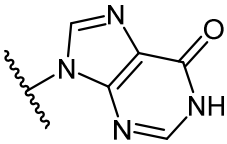
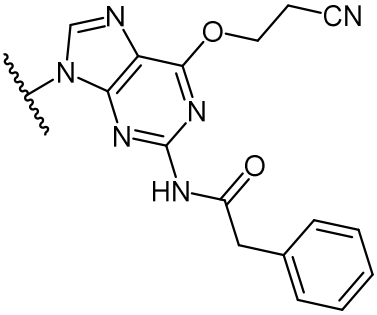
R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

R^4 se selecciona de:

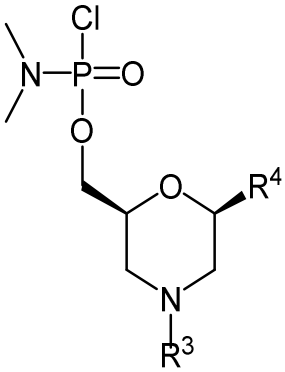

(PC),


(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG).

En todavía otra modalidad, el compuesto de Fórmula (A8) es de Fórmula (A8a):

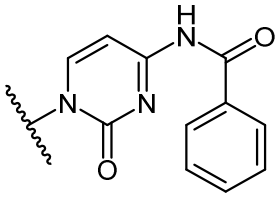
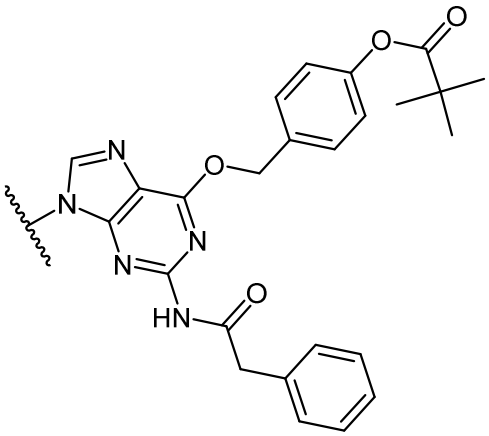


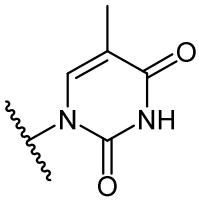
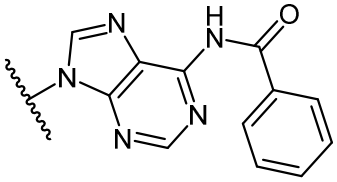
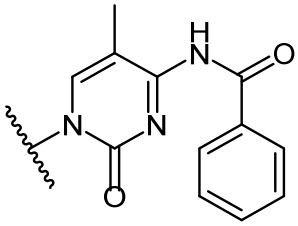
(A8a);

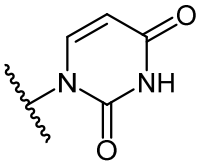
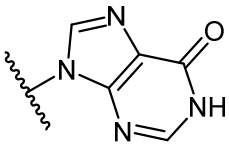
en donde:

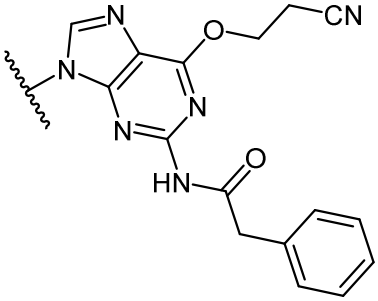
R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

R^4, independientemente en cada aparición del compuesto de Fórmula (A8a), se selecciona del grupo que consiste de:

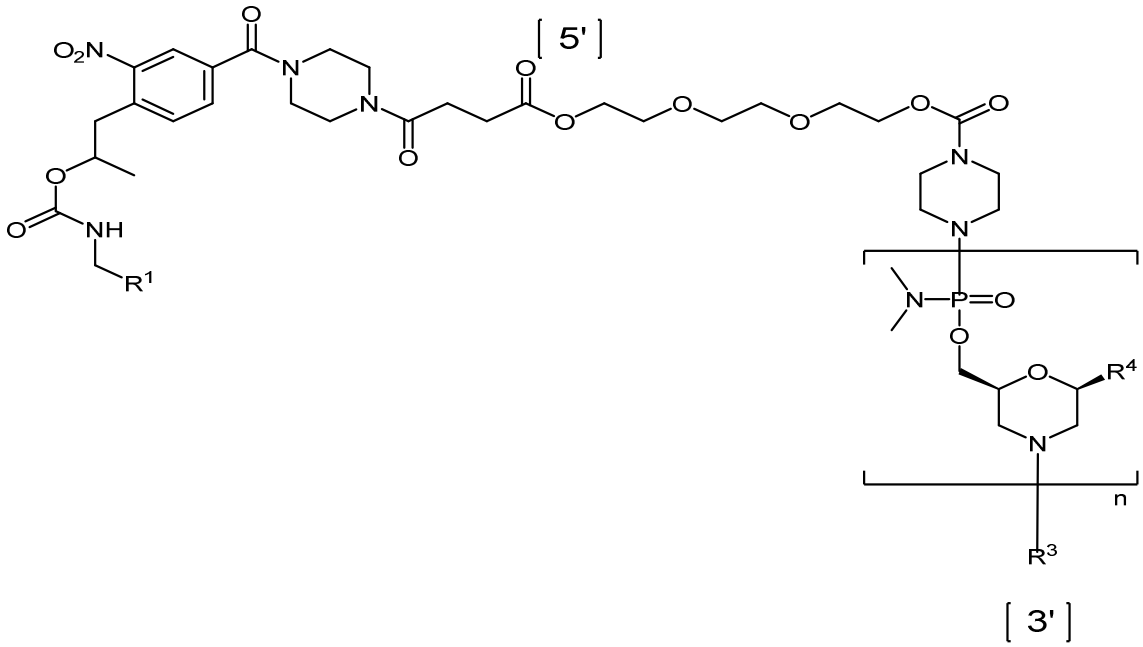

(PC),

(DPG),


(T),

(PA),


(P5mC),

(U),

(I), y


(PG).

En aún otra modalidad, el compuesto de Fórmula (A9) es de Fórmula (A9a):



(A9a);

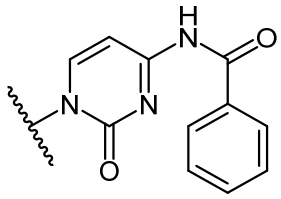
en donde:

n es un número entero desde 10 a 40,

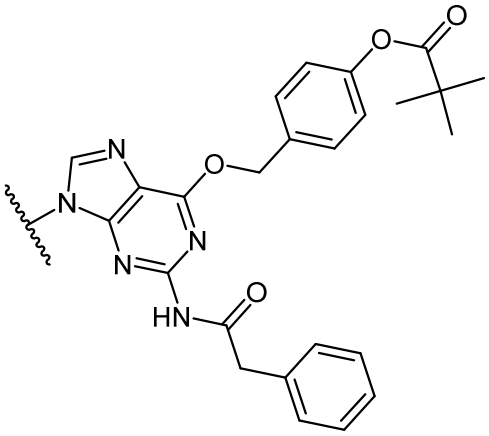
R^1 es un medio de soporte

R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

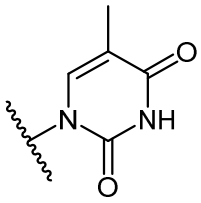
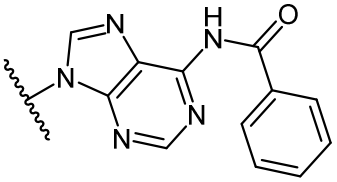
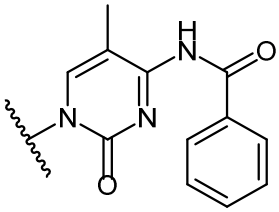
R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

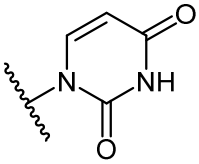
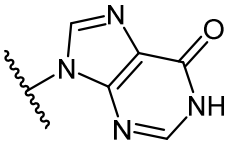
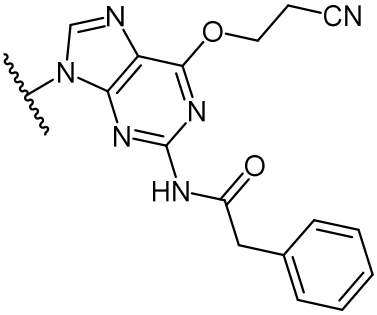


(PC),

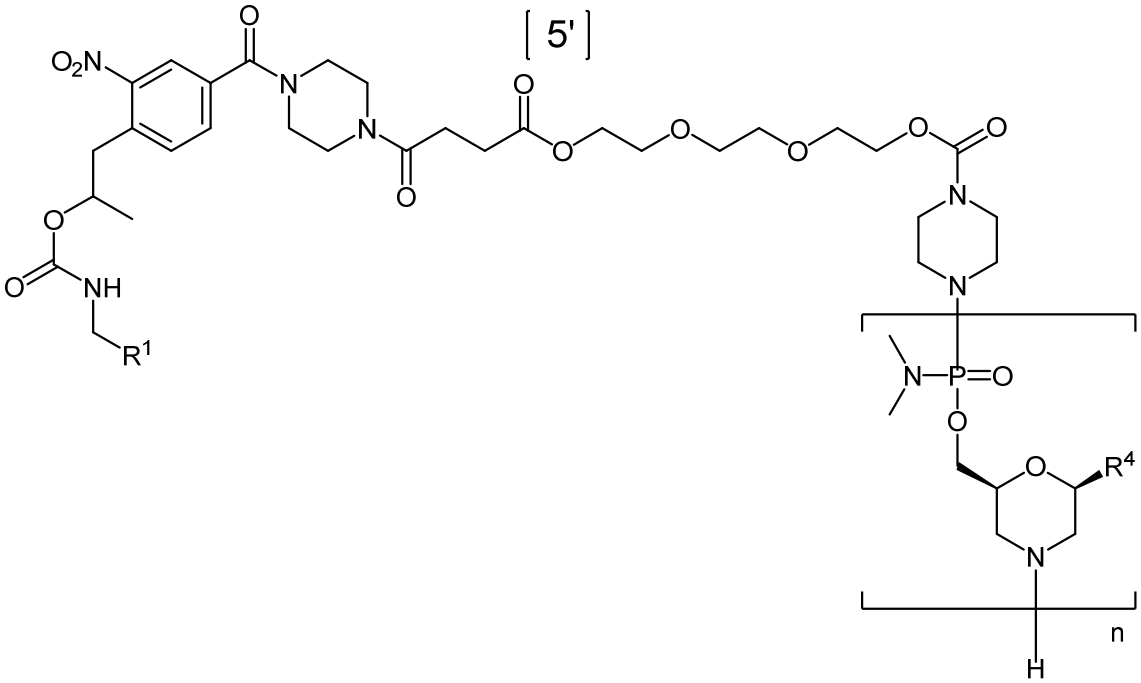


(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG).

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (A10) es de Fórmula (A10a):



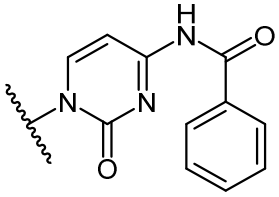
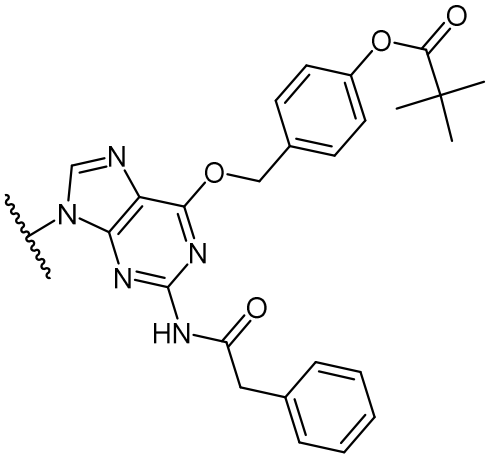
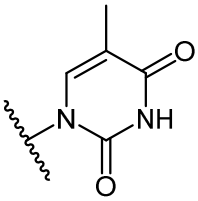
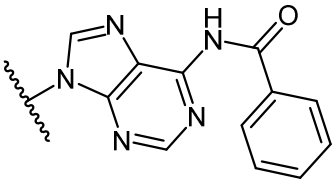
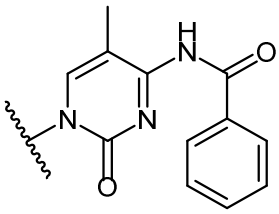
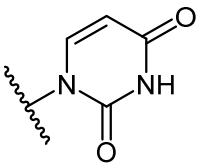
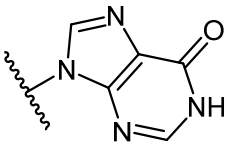
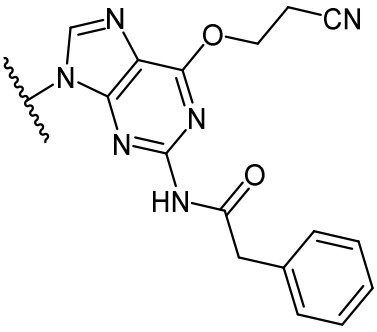
(A10a);

en donde:

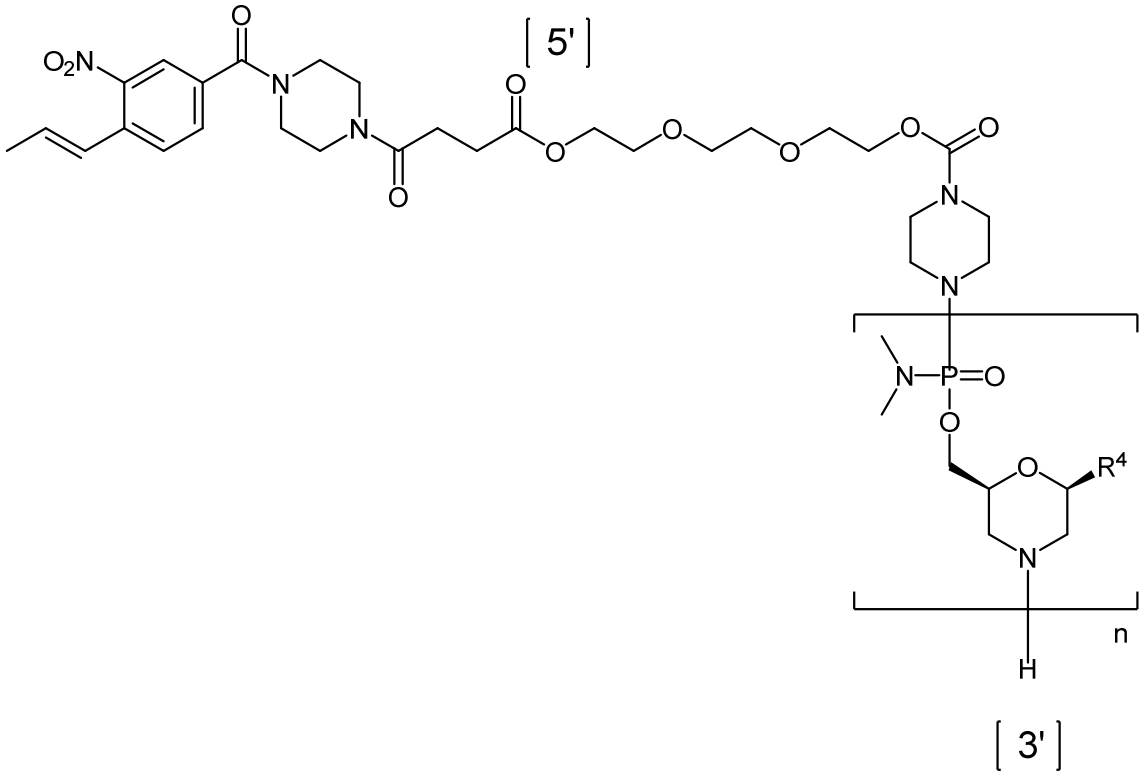
n es un número entero desde 10 a 40,

R^1 es un medio de soporte, y

R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T),

(PA),

(P5mC),

(U),

(I), y

(PG).

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (A11) es de Fórmula (A11a):

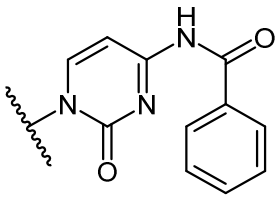


(A11a);

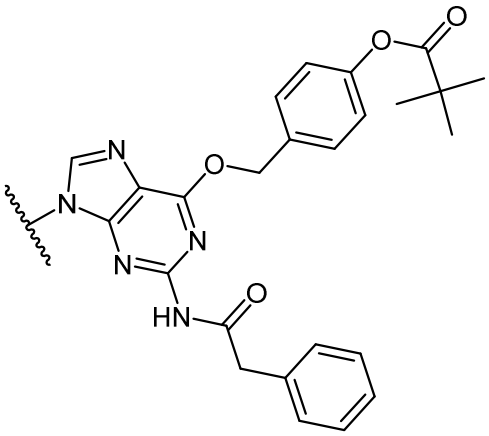
en donde:

n es un número entero desde 10 a 40, y

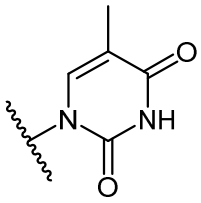
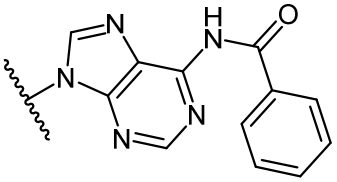
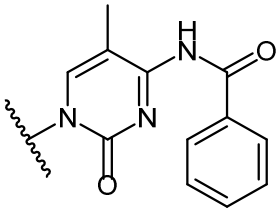
R^4, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

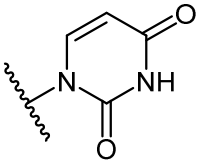
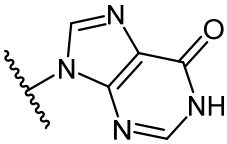
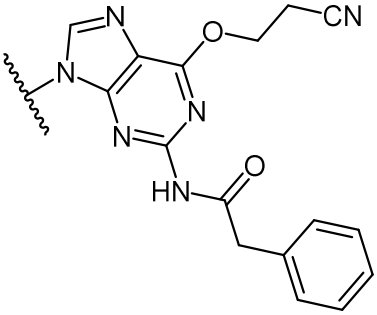


(PC),



(DPG),

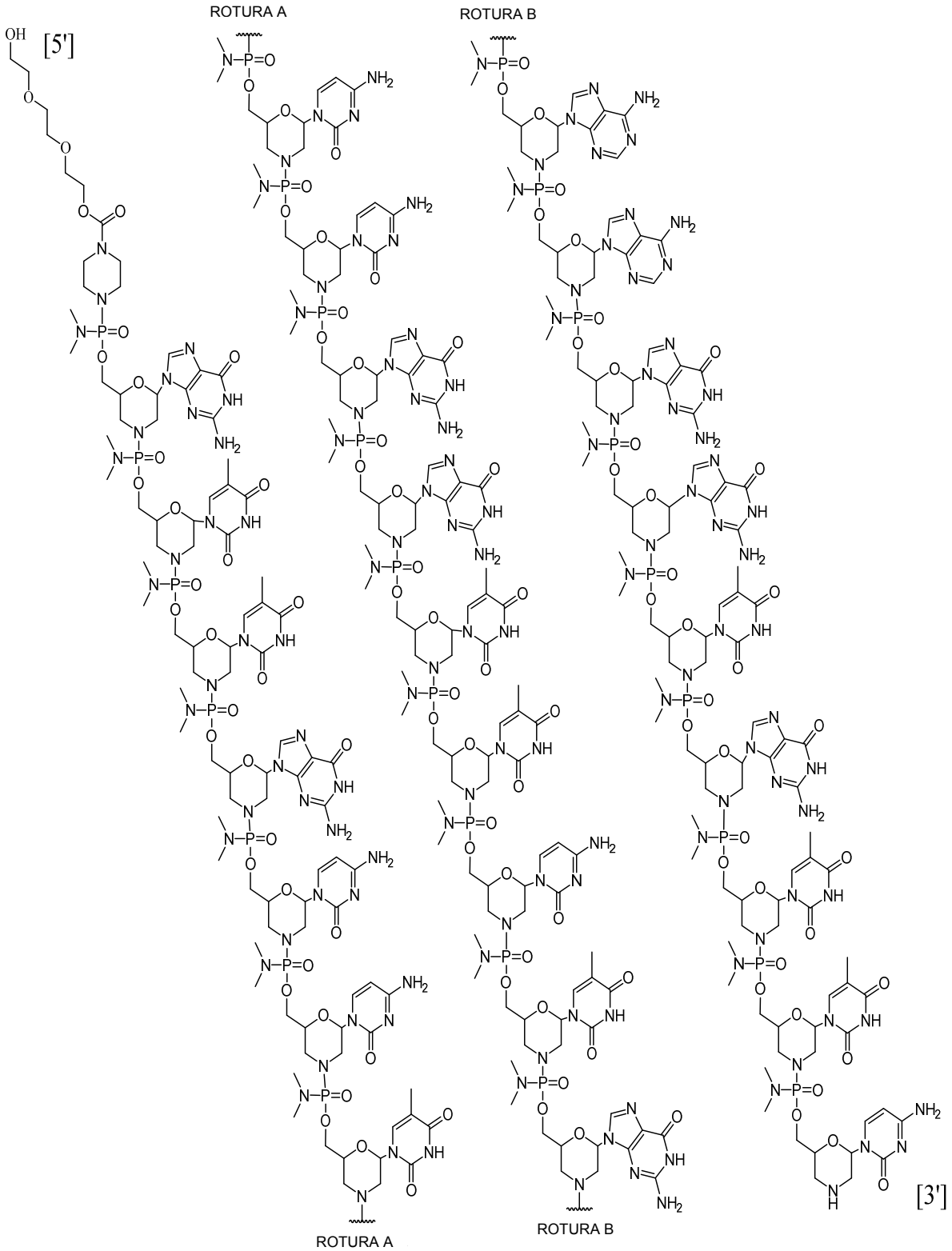

(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG).

En una modalidad del compuesto oligomérico de Fórmula (A), n es 30, y R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	G	11	G	21	T
2	T	12	T	22	G
3	T	13	T	23	T
4	G	14	C	24	T
5	C	15	T	25	C
6	C	16	G		
7	T	17	A		
8	C	18	A		
9	C	19	G		
10	G	20	G		

en donde el compuesto oligomérico de Fórmula (A) es un compuesto de Fórmula (G):



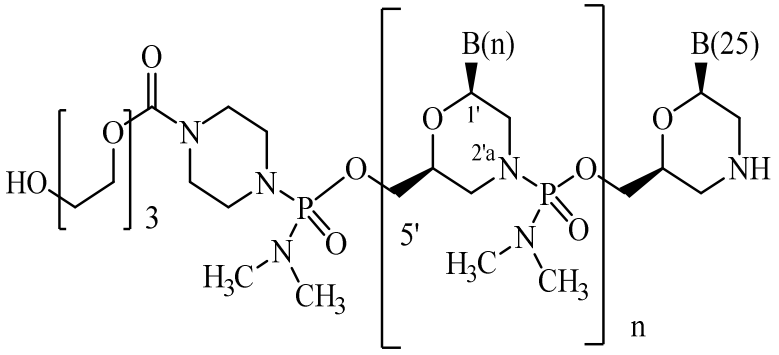
(G),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Golodirsen, antes conocido por su nombre de código "SPR-4053", es un PMO que tiene la secuencia de base 5'-GTTGCCTCCGGTTCTGAAGGTGTTC-3'(SEQ ID NO:1). Golodirsen está registrado bajo el Número de Registro CAS 1422959-91-8. Los nombres químicos incluyen:

todo-P-ambo-[*P*,2',3'-tridesoxi-*P*-(dimethylamino)-2',3'-imino-2',3'-seco](2'a→5')(G-T-T-G-C-C-T-C-C-G-G-T-T-C-T-G-A-A-G-G-T-G-T-T-C)5'-[4-({2-[2-(2-hidroxietoxi)etoxi]etoxi}carbonil)-*N*,*N*-dimetilpiperazin-1-fosfonamidato]

Golodirsen tiene la siguiente estructura:

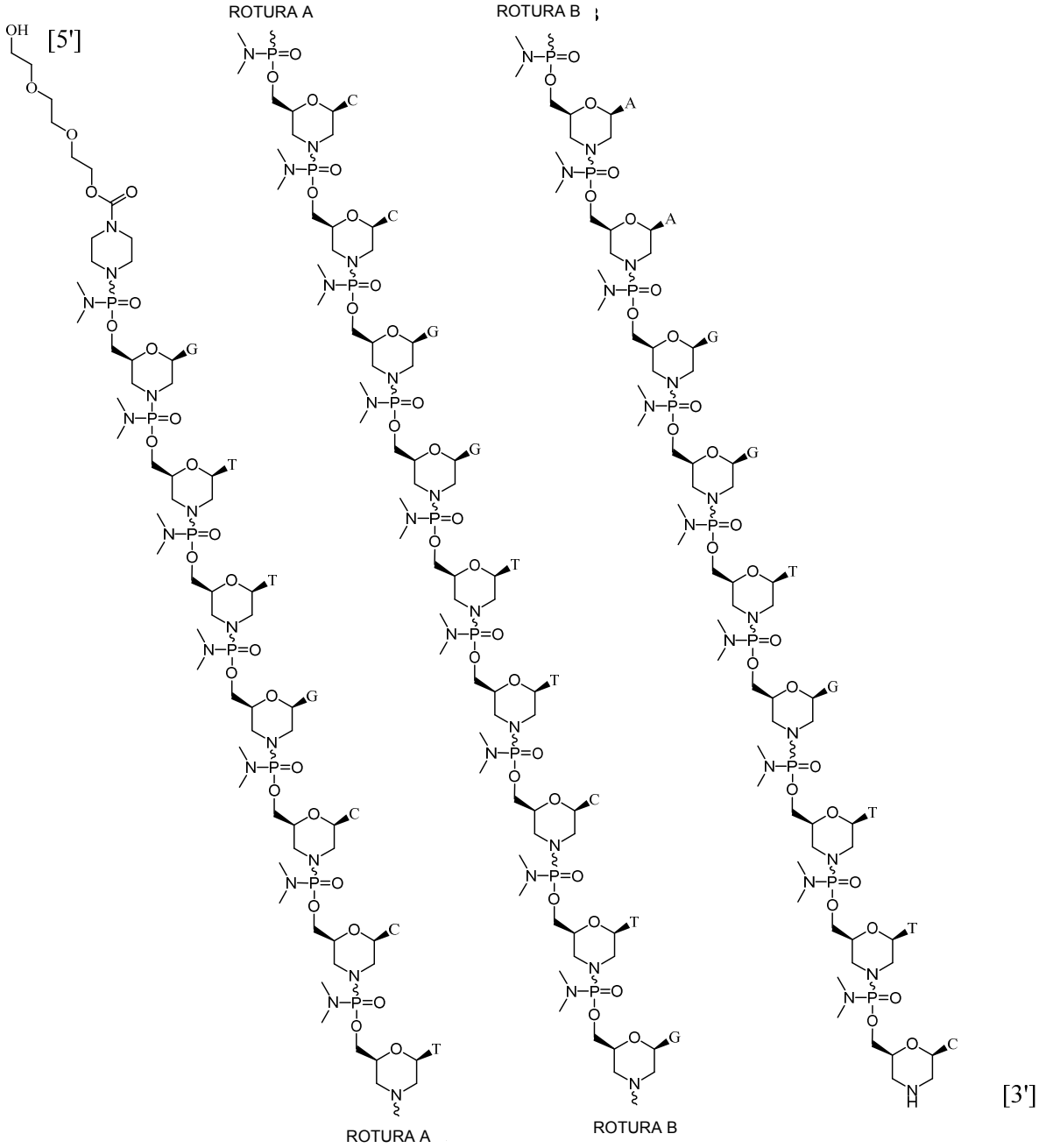


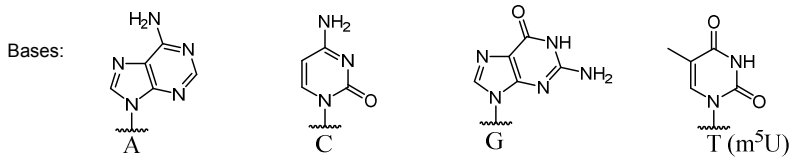
n = 1 - 24

B(1-25):

G-T-T-G-C-C-T-C-C-G-G-T-T-C-T-G-A-A-G-G-T-G-T-T-C

y también se representa por la siguiente estructura química:

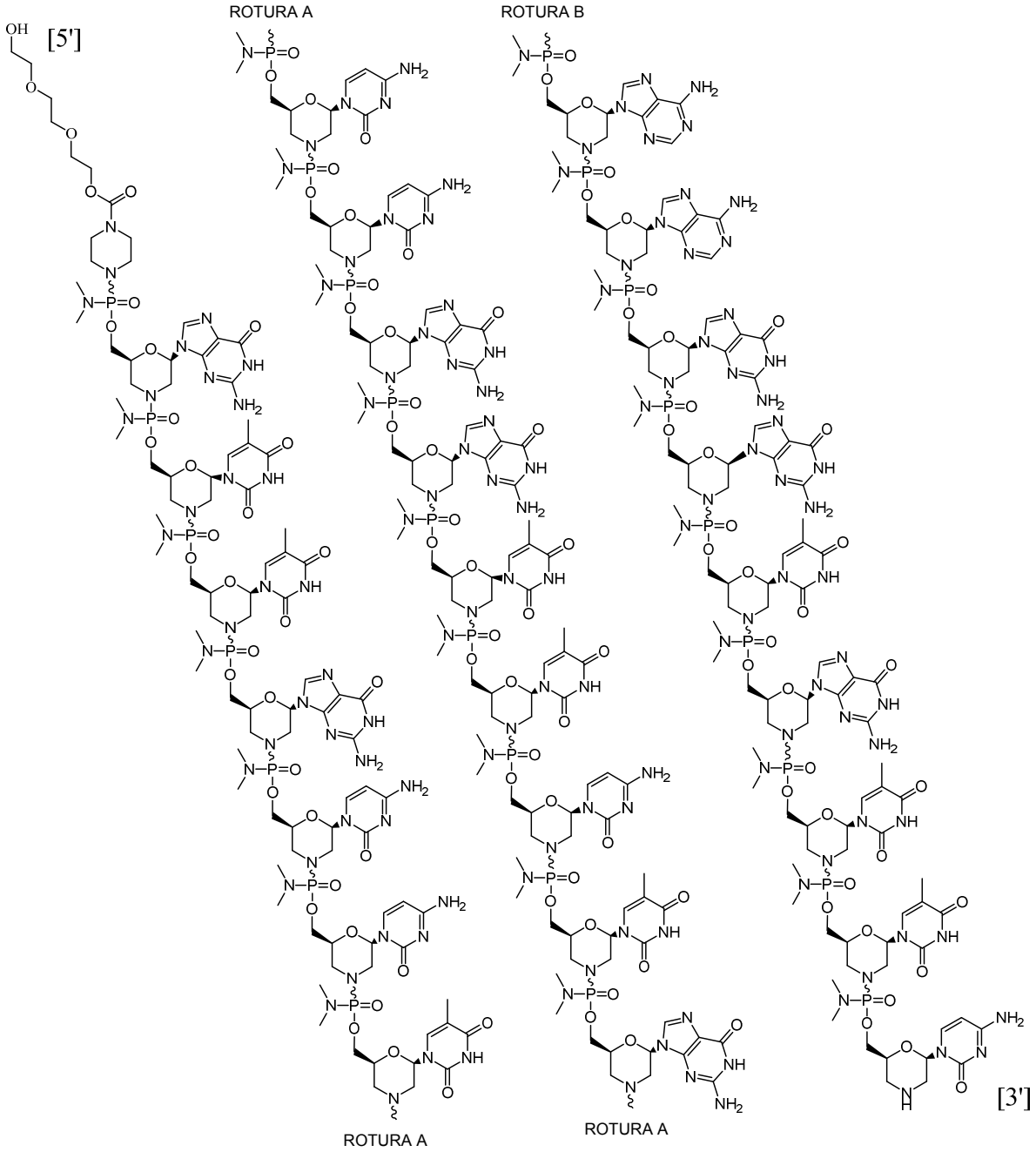




La secuencia de bases del extremo 5' al extremo 3' es:

GTTGCCTCCGGTTCTGAAGGTGTTC

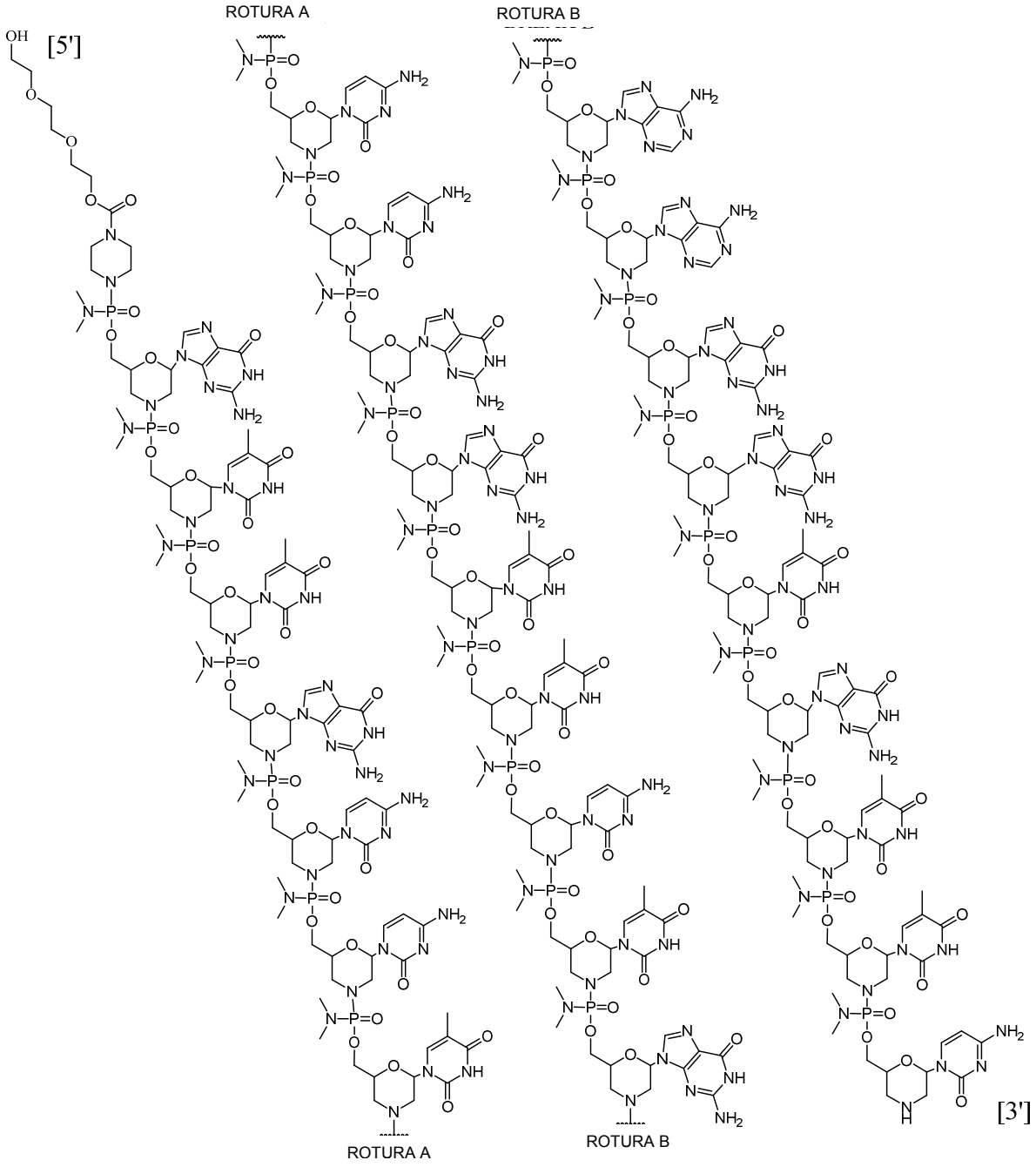
Golodirsen también se puede representar por la estructura de Fórmula (XII):



(XII).

Por lo tanto, en una modalidad del proceso descrito anteriormente, el compuesto oligomérico de Fórmula (A) es un

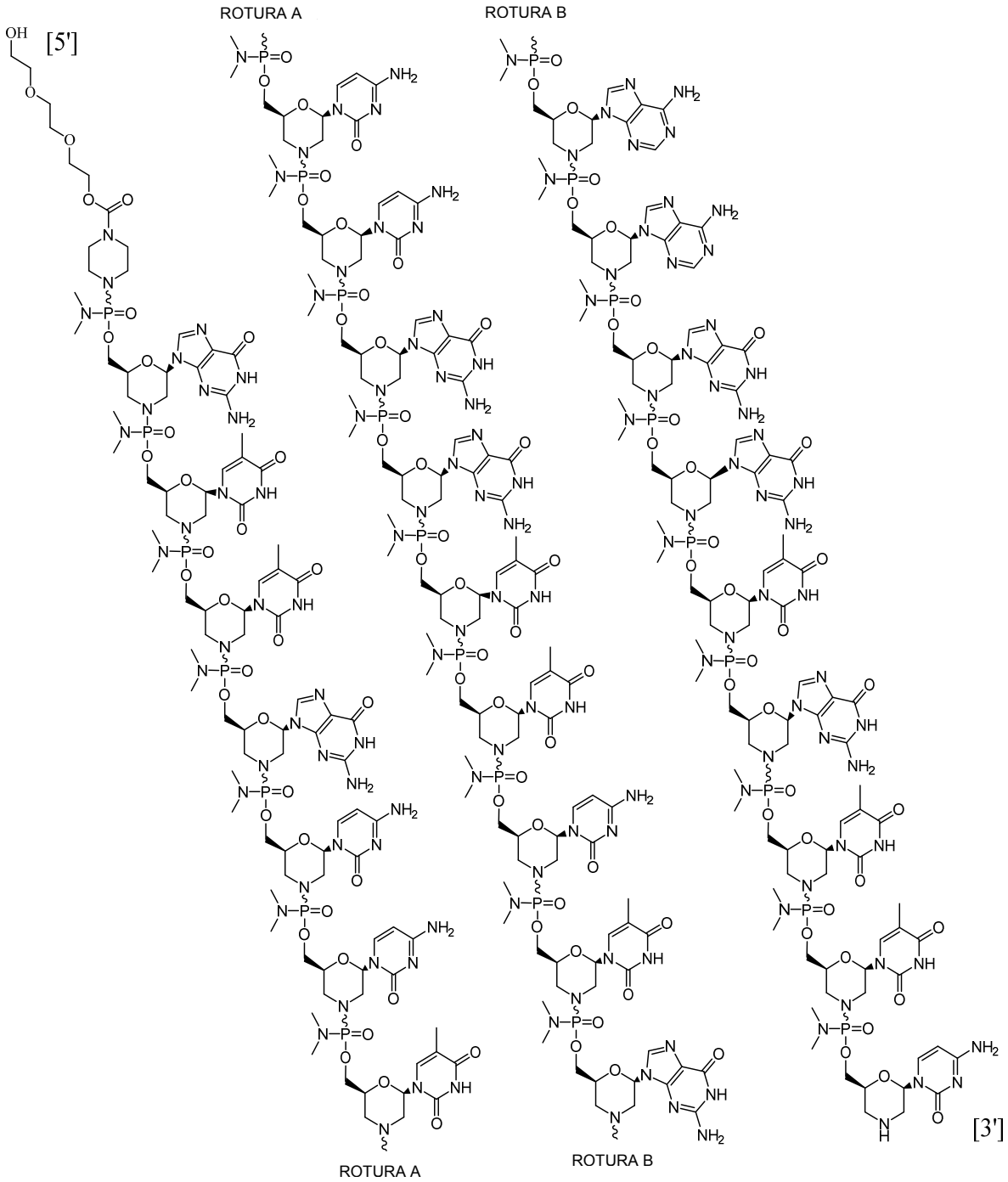
compuesto de Fórmula (G):



(G),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En todavía otra modalidad, el compuesto oligomérico de Fórmula (G) es un compuesto oligomérico de Fórmula (XII):



(XII),

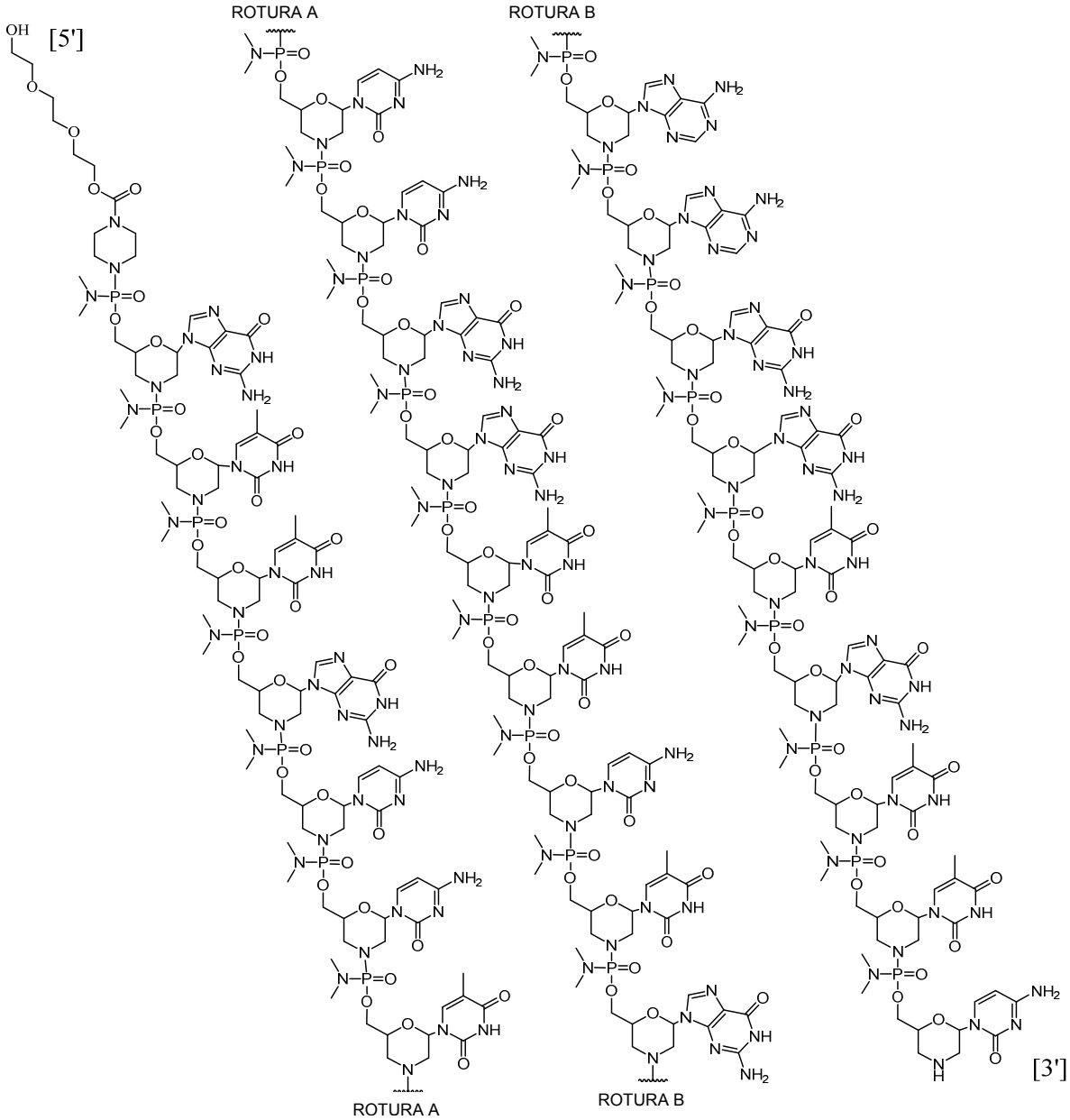
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En aún otra modalidad, R^3, en cada aparición, es tritilo.

Procesos para Preparar Golodirsen

En la presente se proporcionan procesos para preparar Golodirsen.

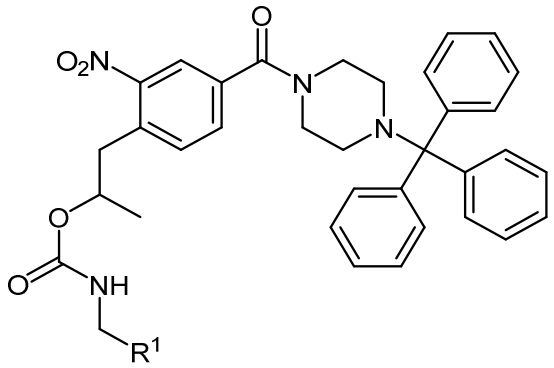
En un aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (G):



(G);

en donde el proceso comprende las etapas secuenciales de:

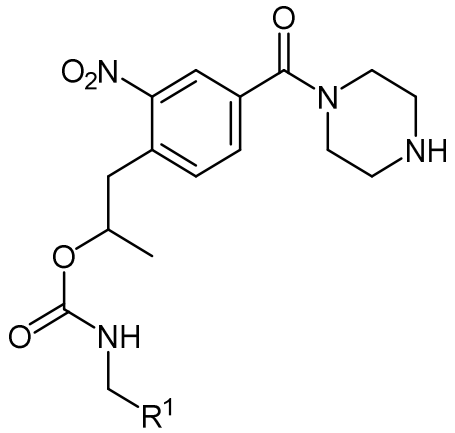
(a) poner en contacto un compuesto de Fórmula (I):



(I);

en donde R^1 es un medio de soporte,

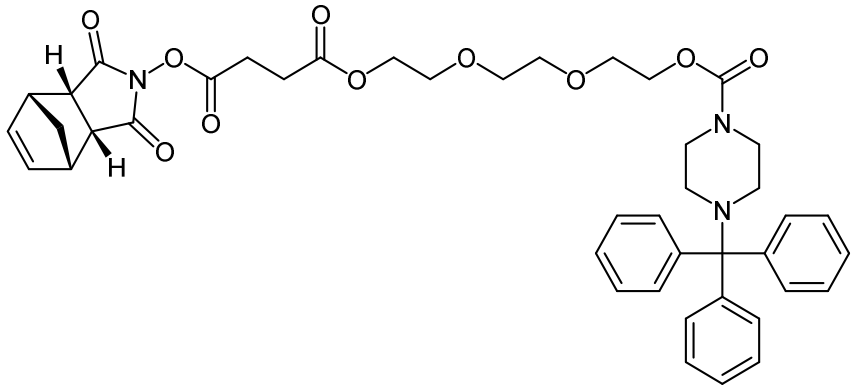
con un agente de desbloqueo para formar el compuesto de Fórmula (II):



(II);

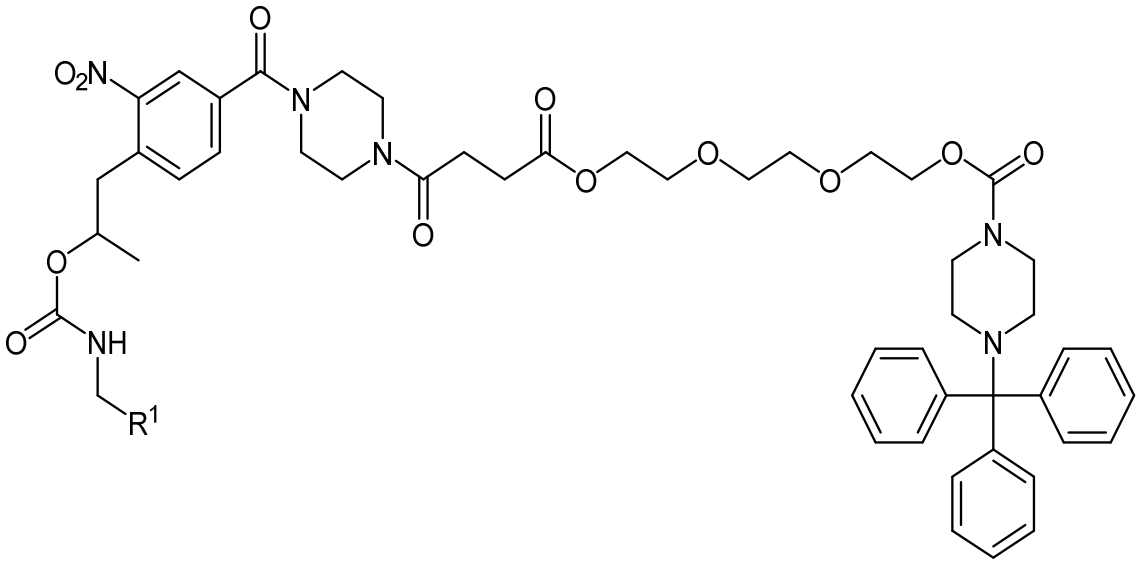
en donde R^1 es un medio de soporte;

(b) poner en contacto el compuesto de Fórmula (II) con compuesto (B):



(B);

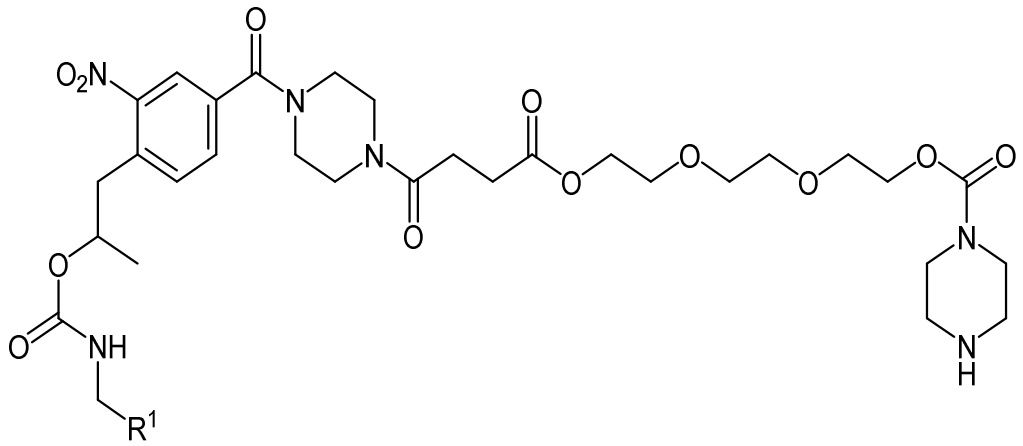
para formar un compuesto de Fórmula (III):



(III);

en donde R^1 es un medio de soporte;

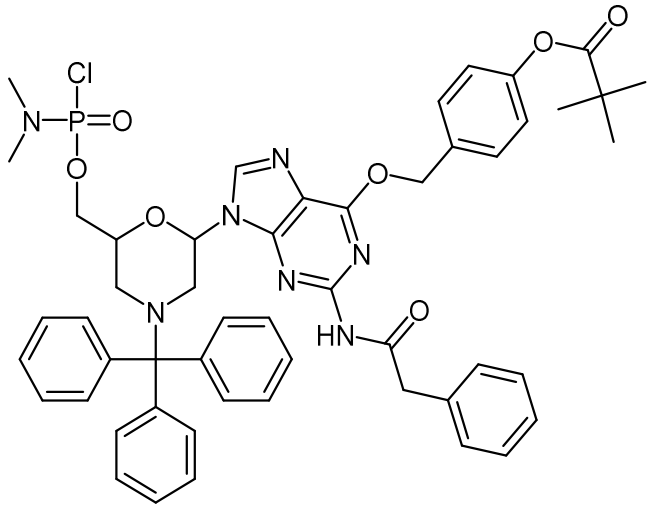
(c) poner en contacto el compuesto de Fórmula (III) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (IV):



(IV);

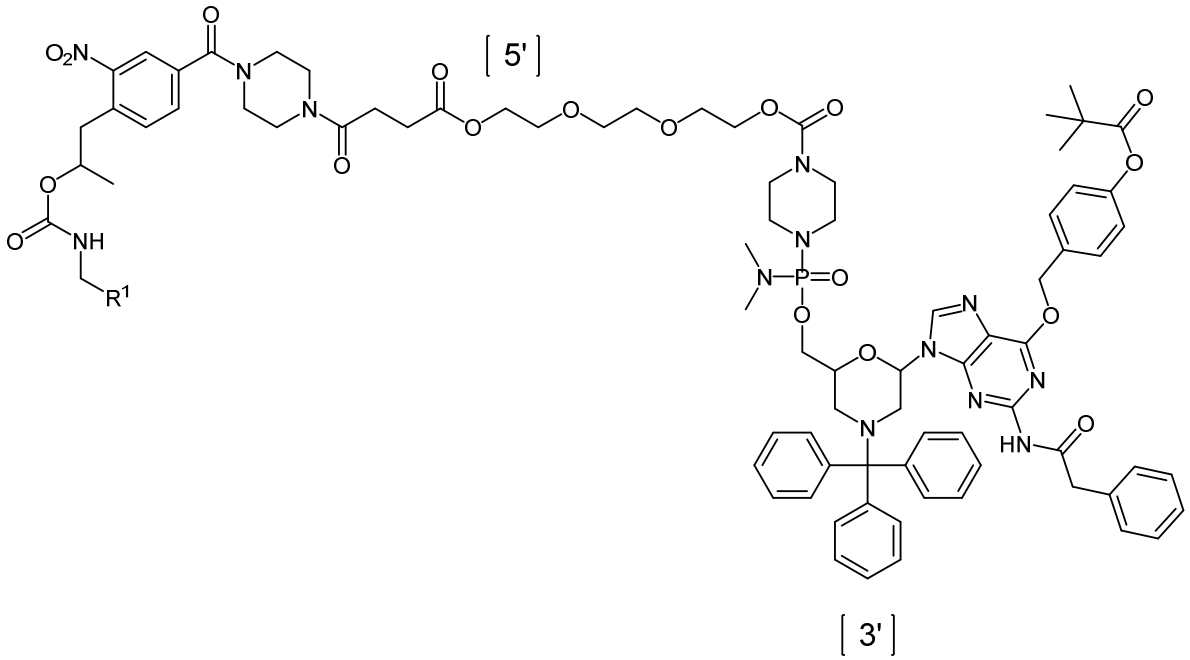
en donde R^1 es un medio de soporte;

(d) poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV) con un compuesto de Fórmula (DPG):



(DPG);

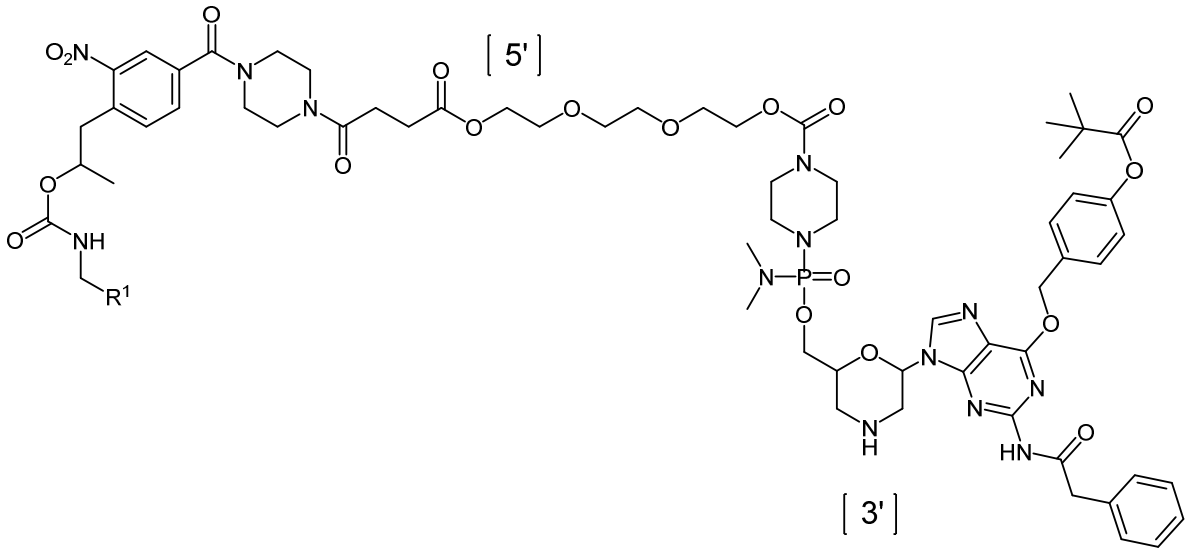
para formar un compuesto de Fórmula (V):



(V);

en donde R^1 es un medio de soporte;

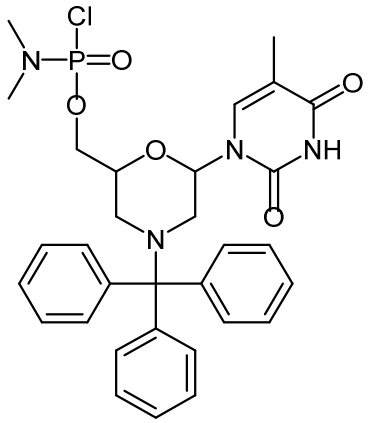
(e) poner en contacto el compuesto de Fórmula (V) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (VI):



(VI);

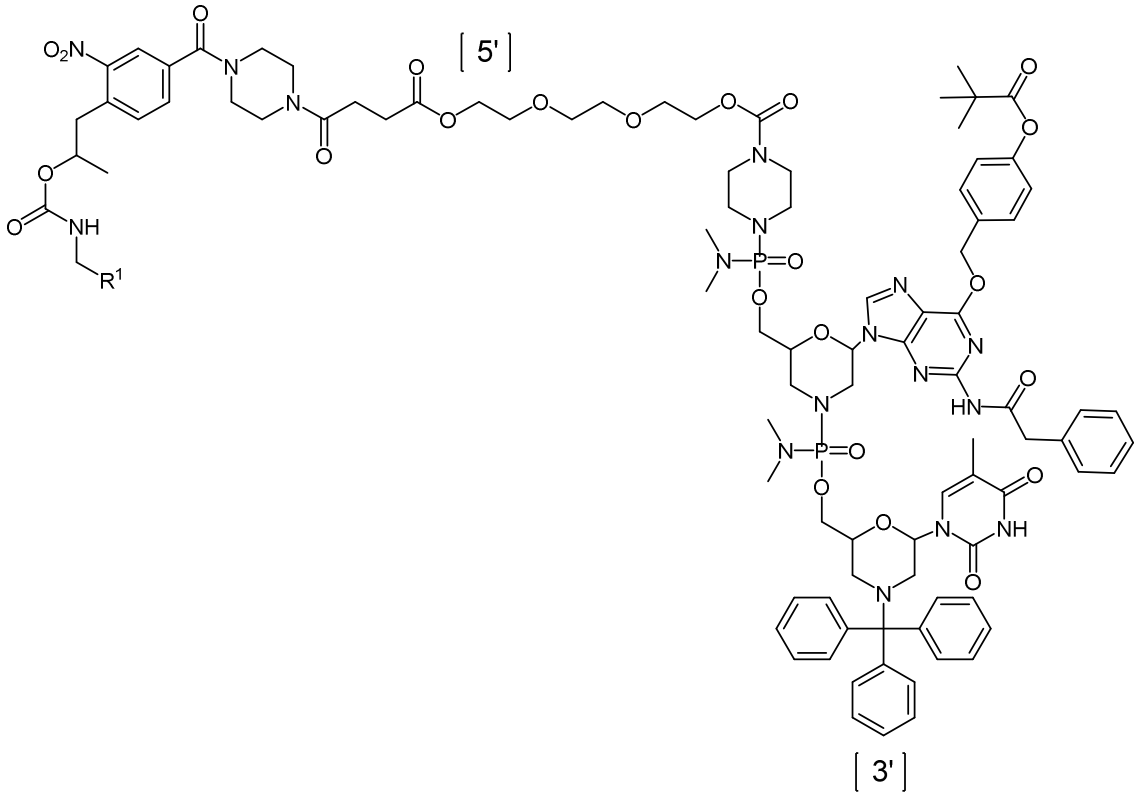
en donde R^1 es un medio de soporte;

(f) poner en contacto el compuesto de Fórmula (VI) con un compuesto de Fórmula (T):



(T);

para formar un compuesto de Fórmula (VII):



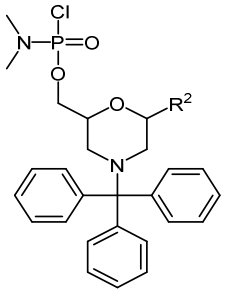
(VII);

en donde R^1 es un medio de soporte;

(g) realizar 23 iteraciones de las etapas secuenciales de:

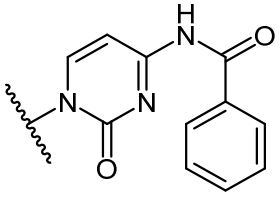
(g1) poner en contacto el producto formado por la etapa inmediatamente previa con un agente de desbloqueo; y

(g2) poner en contacto el compuesto formado por la etapa inmediatamente previa con un compuesto de Fórmula (VIII):

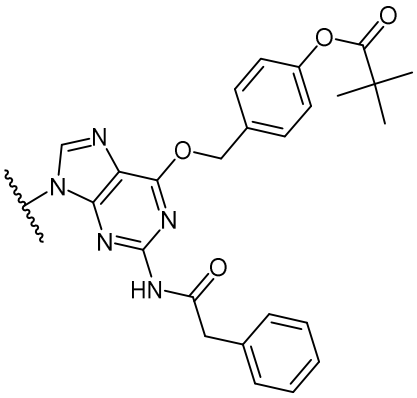


(VIII);

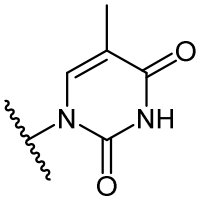
en donde R^2, independientemente de cada compuesto de Fórmula (VIII), se selecciona del grupo que consiste de:



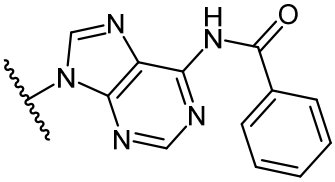
(PC),



(DPG),



(T), y

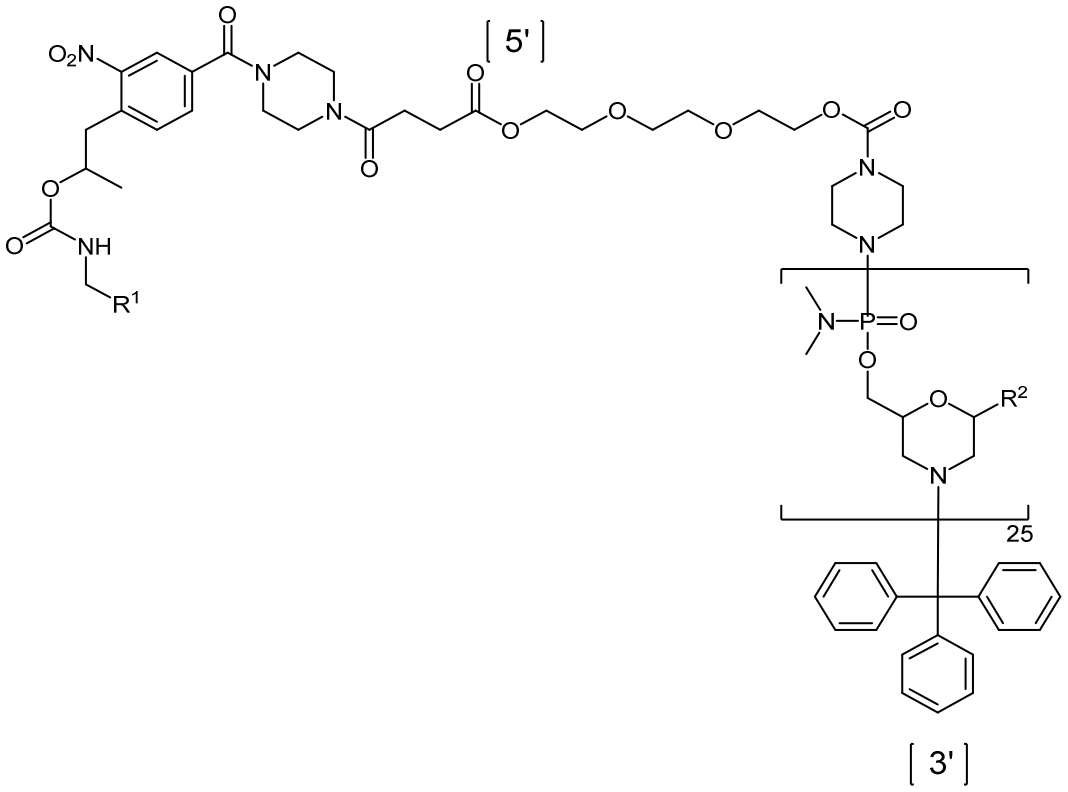


(PA),

en donde, para cada iteración desde 1 a 23, R^2 es:

No. de Iteración	R^2	No. de Iteración	R^2	No. de Iteración	R^2
1	T	11	T	21	T
2	DPG	12	PC	22	T
3	PC	13	T	23	PC
4	PC	14	DPG		
5	T	15	PA		
6	PC	16	PA		
7	PC	17	DPG		
8	DPG	18	DPG		
9	DPG	19	T		
10	T	20	DPG		

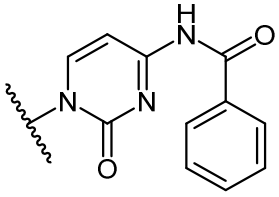
para formar un compuesto de Fórmula (IX):

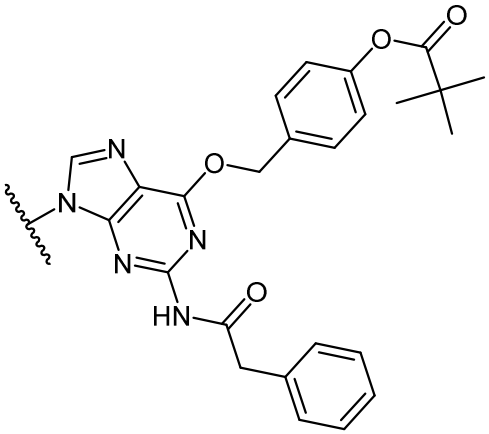


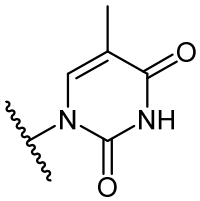
(IX);

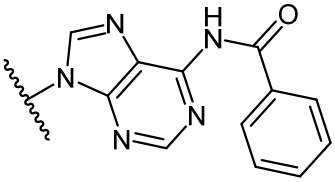
en donde R^1 es un medio de soporte,

en donde R^2, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),


(DPG),

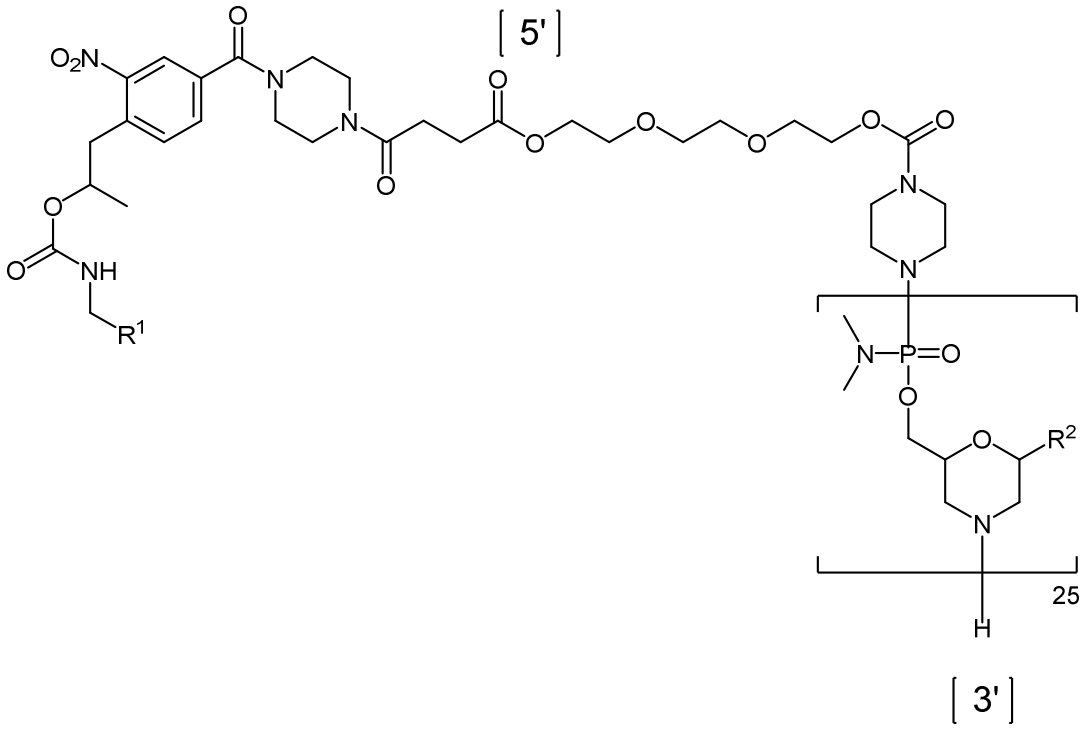

(T), y


(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

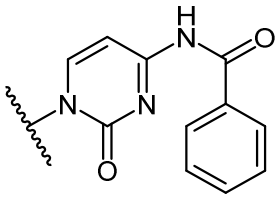
(h) poner en contacto el compuesto de Fórmula (IX) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (X):

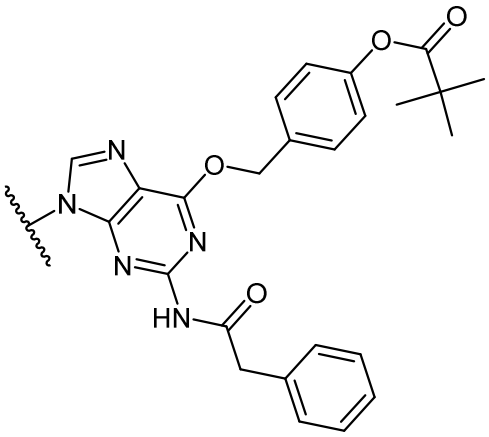


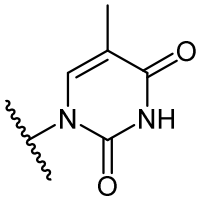
(X);

en donde R^1 es un medio de soporte,

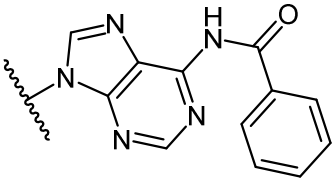
en donde R^2, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),


(DPG),



(T), y

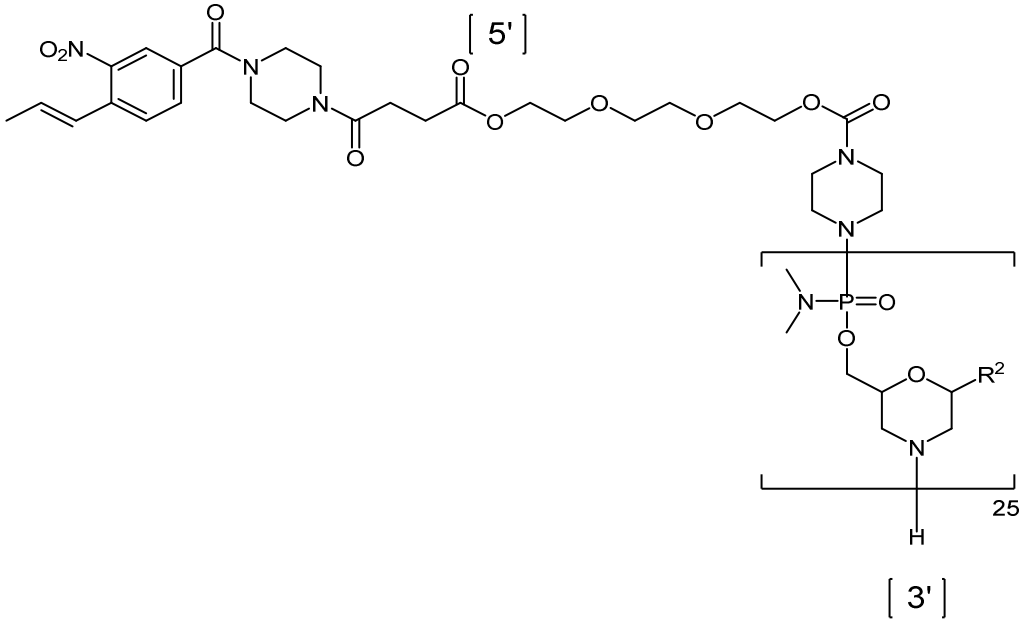


(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

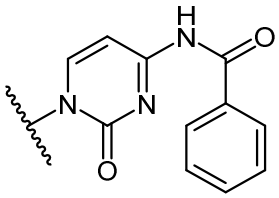
Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

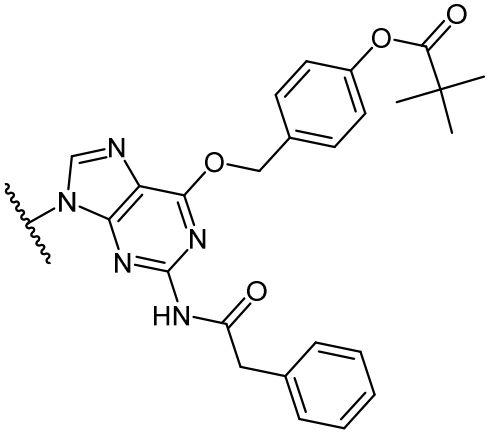
(i) poner en contacto el compuesto de Fórmula (X) con un agente de escisión para formar un compuesto de Fórmula (XI):

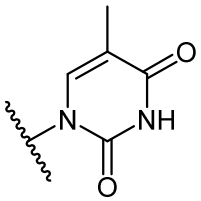


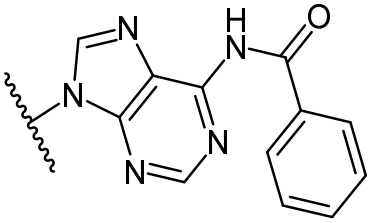
(XI),

en donde R^2, independientemente de cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),


(DPG),


(T), y


(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

y

(j) poner en contacto el compuesto de Fórmula (XI) con un agente de desprotección para formar el compuesto oligomérico de Fórmula (G).

En una modalidad, la etapa (d), la etapa (f), la etapa (g2), o combinaciones de las mismas comprenden además poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV), Formula (VI), o el compuesto formado por la etapa inmediatamente previa, respectivamente, con un agente de terminación de cadena.

En ciertas modalidades, cada una de la etapa (d), la etapa (f) y la etapa (g2) comprende además poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV), Formula (VI), o el compuesto formado por la etapa inmediatamente previa, respectivamente, con un agente de terminación de cadena.

En otra modalidad, cada etapa se realiza en la presencia de al menos un solvente.

En todavía otra modalidad, el agente de desbloqueo usado en cada etapa es una solución que comprende un ácido halogenado.

En aún otra modalidad, el agente de desbloqueo usado en cada etapa es ácido cianoacético.

En otra modalidad, el ácido halogenado se selecciona del grupo que consiste de ácido cloroacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido fluoroacético, ácido difluoroacético, y ácido trifluoroacético.

En todavía otra modalidad, el ácido halogenado es ácido trifluoroacético.

En aún otra modalidad, al menos una de las etapas (c), (e1), y (f) comprende además la etapa de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada etapa con un agente de neutralización.

En otra modalidad, cada una de las etapas (c), (e1), y (f) comprende además la etapa de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada etapa con un agente de neutralización.

En todavía otra modalidad, el agente de neutralización está en una solución que comprende diclorometano y alcohol isopropílico.

En aún otra modalidad, el agente de neutralización es un monoalquilo, dialquilo, o trialquil amina.

En otra modalidad, el agente de neutralización es N,N-diisopropiletilamina.

En todavía otra modalidad, el agente de desbloqueo usado en cada etapa es una solución que comprende 4-cianopiridina, diclorometano, ácido trifluoroacético, trifluoroetanol y agua.

En aún otra modalidad, el agente de terminación de cadena está en una solución que comprende etilmorfolina y metilpirrolidinona.

En otra modalidad, el agente de terminación de cadena

es un anhídrido ácido.

En todavía otra modalidad, el anhídrido ácido es anhídrido benzoico.

En aún otra modalidad, el compuesto de Fórmula (VIII), compuesto de Fórmula (DPG), y compuesto (F) están cada uno, independientemente, en una solución que comprende etilmorfolina y dimetilimidazolidinona.

En otra modalidad, el agente de escisión comprende ditiotreitol y 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undec-7-eno.

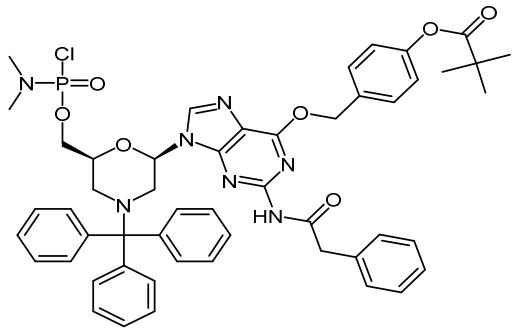
En todavía otra modalidad, el agente de escisión está en una solución que comprende N-metil-2-pirrolidona.

En aún otra modalidad, el agente de desprotección comprende NH_3.

En otra modalidad, el agente de desprotección está en una solución acuosa.

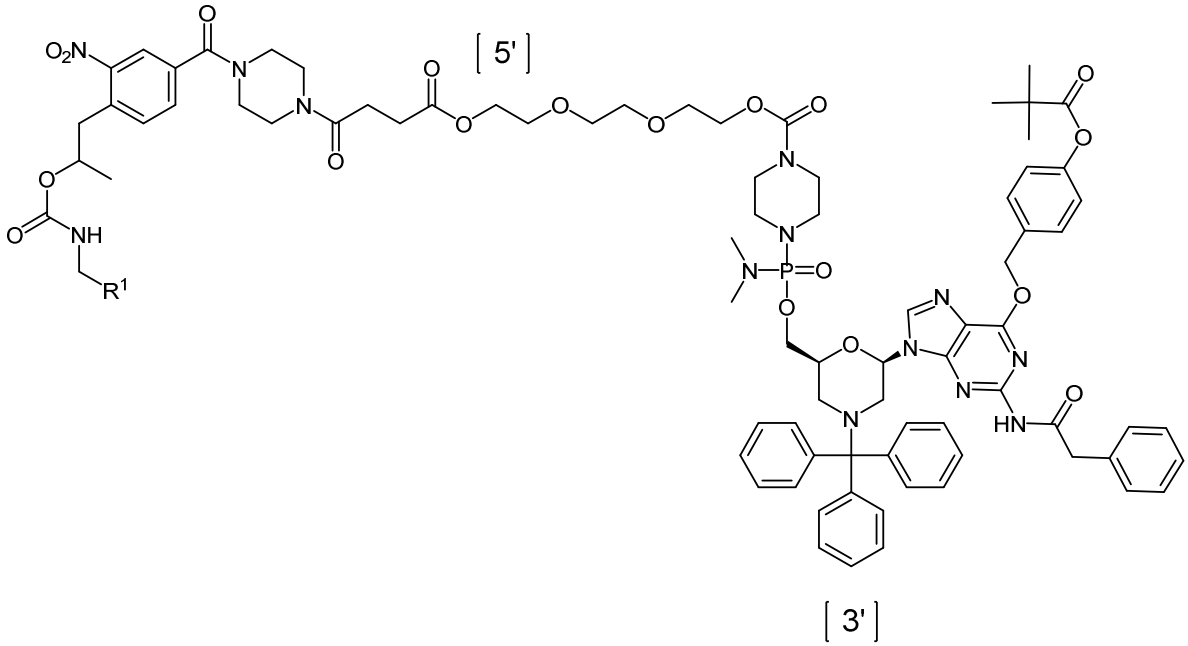
En todavía otra modalidad, el medio de soporte comprende poliestireno con 1% divinilbenceno reticulado.

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (DPG) es de Fórmula (DPG1):



(DPG1).

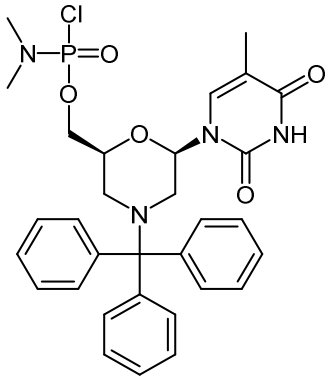
En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (V) es de Fórmula (Va):



(Va),

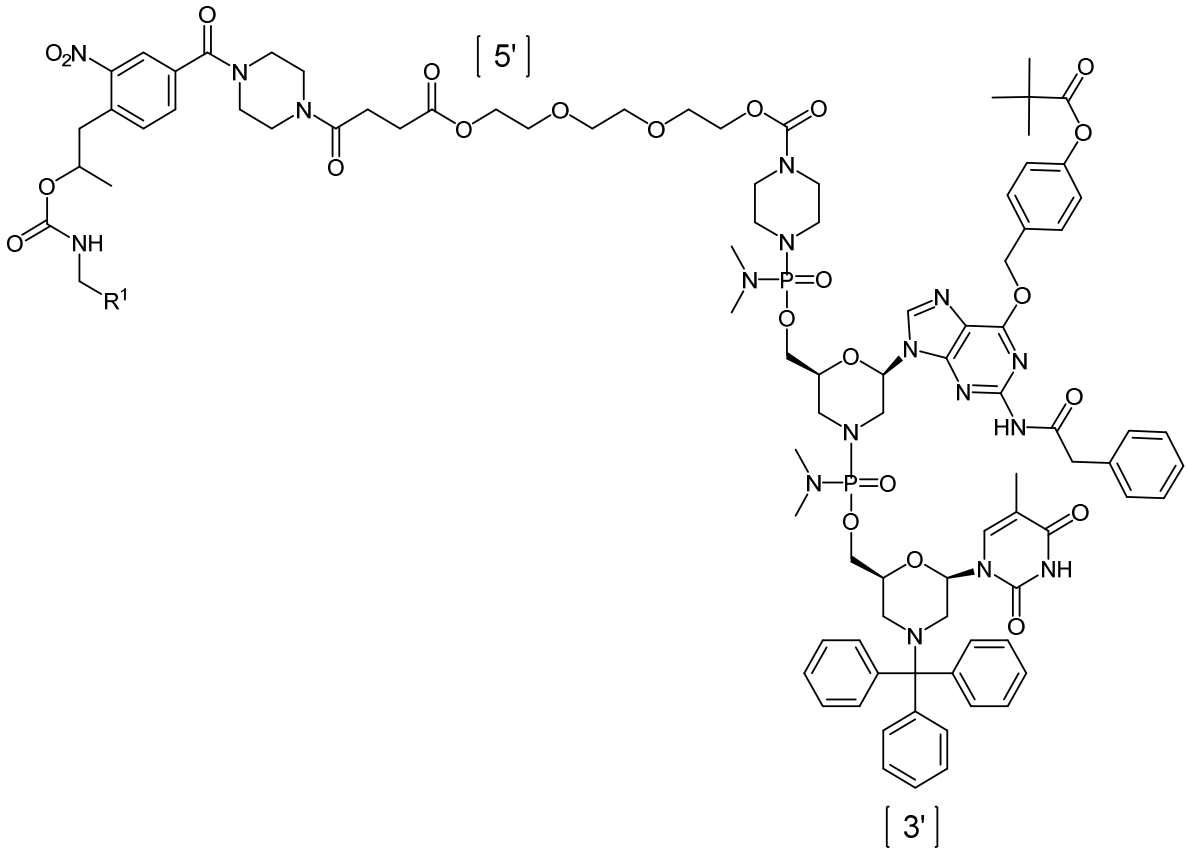
en donde R^1 es un medio de soporte.

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (T) es de Fórmula (T1):



(T1).

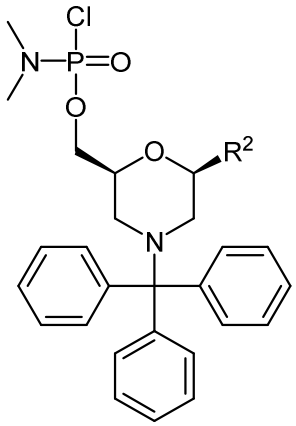
En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (VII) es de Fórmula (VIIa):



(VIIa),

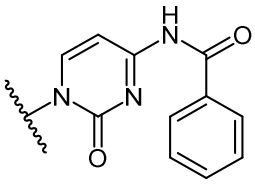
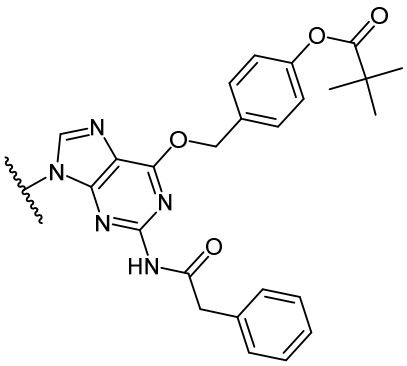
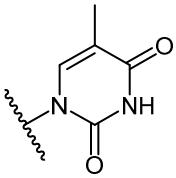
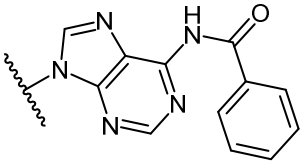
en donde R^1 es un medio de soporte.

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (VIII) es de Fórmula (VIIIa):

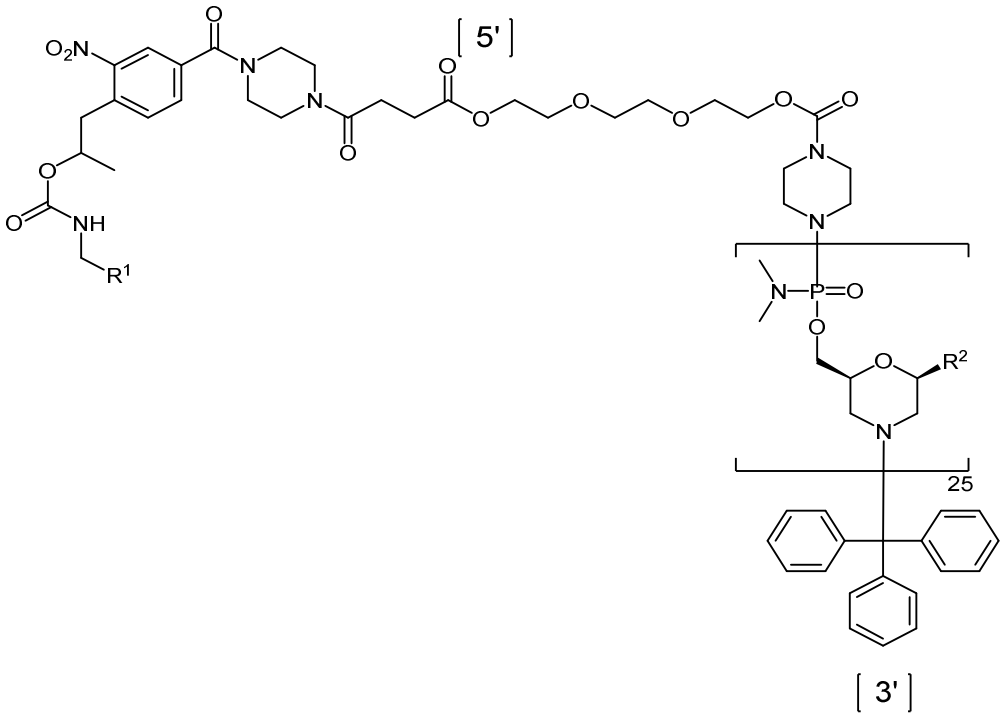


(VIIIa);

en donde R^2, independientemente de cada compuesto de Fórmula (VIIIa), se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T), y

(PA).

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (IX) es de Fórmula (IXa):

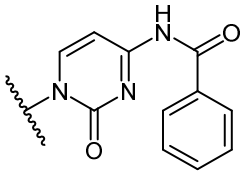
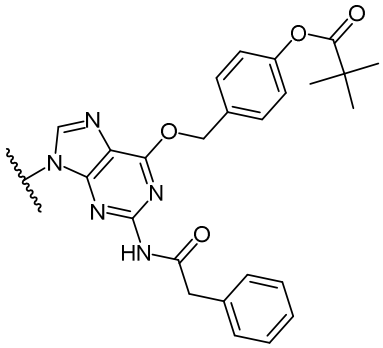
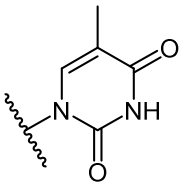
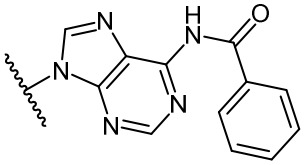


(IXa),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 es un medio de soporte, y

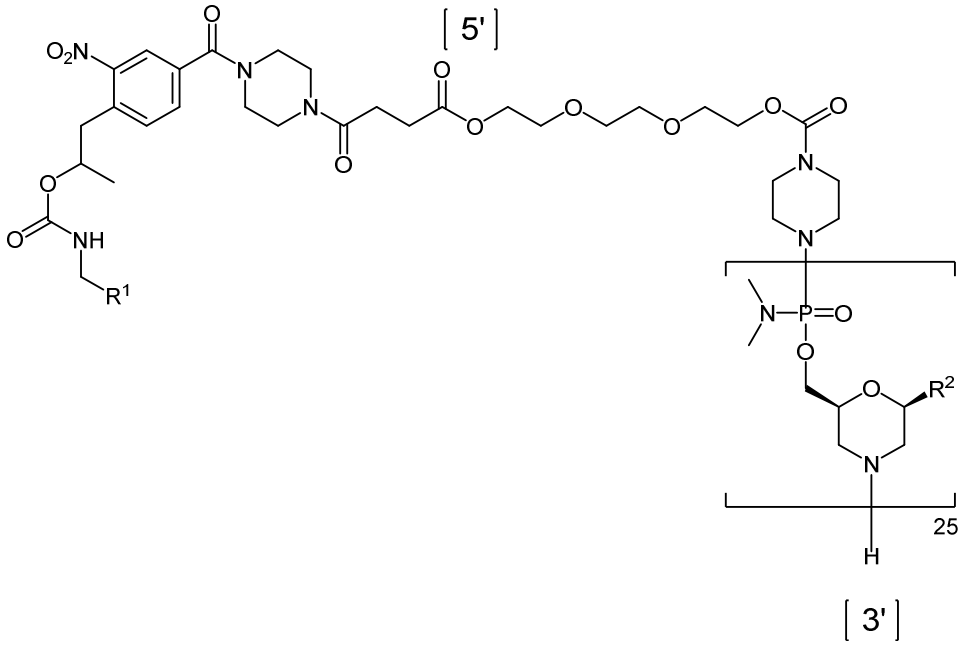
R^2, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T), y

(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (X) es de Fórmula (Xa):

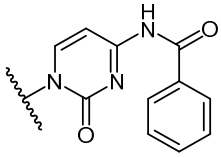


(Xa),

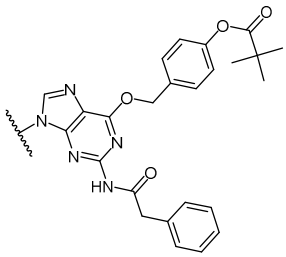
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 es un medio de soporte, y

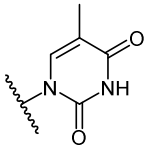
R^2, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:



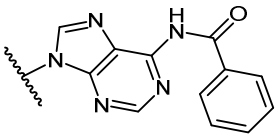
(PC),



(DPG),



(T), y

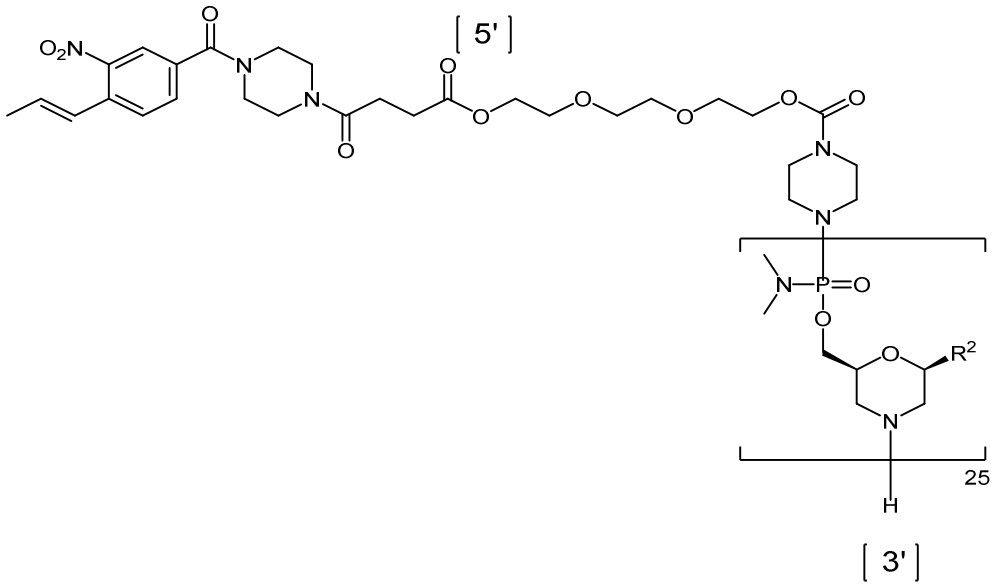


(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

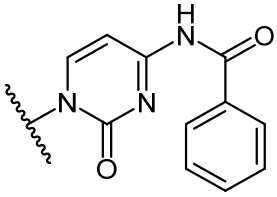
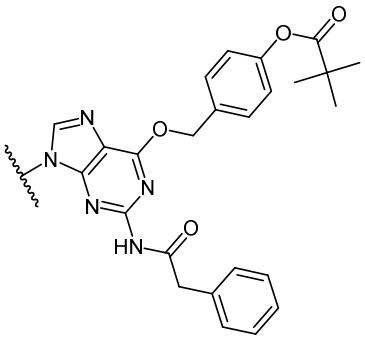
En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (XI) es de Fórmula (XIa):

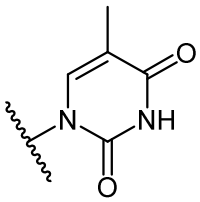
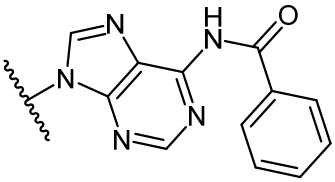


(XIa),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

R^2, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

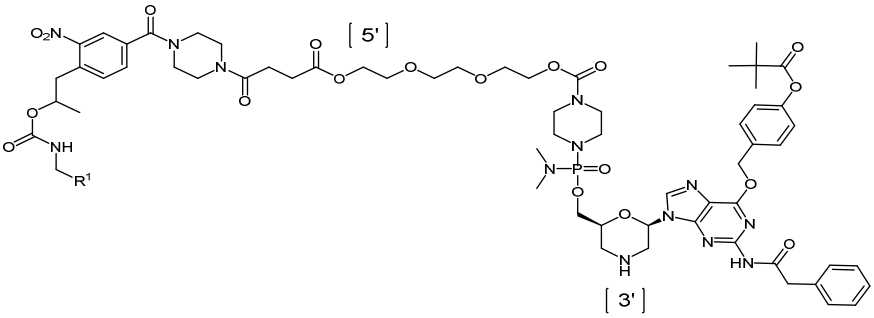

(PC),

(DPG),


(T), y

(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

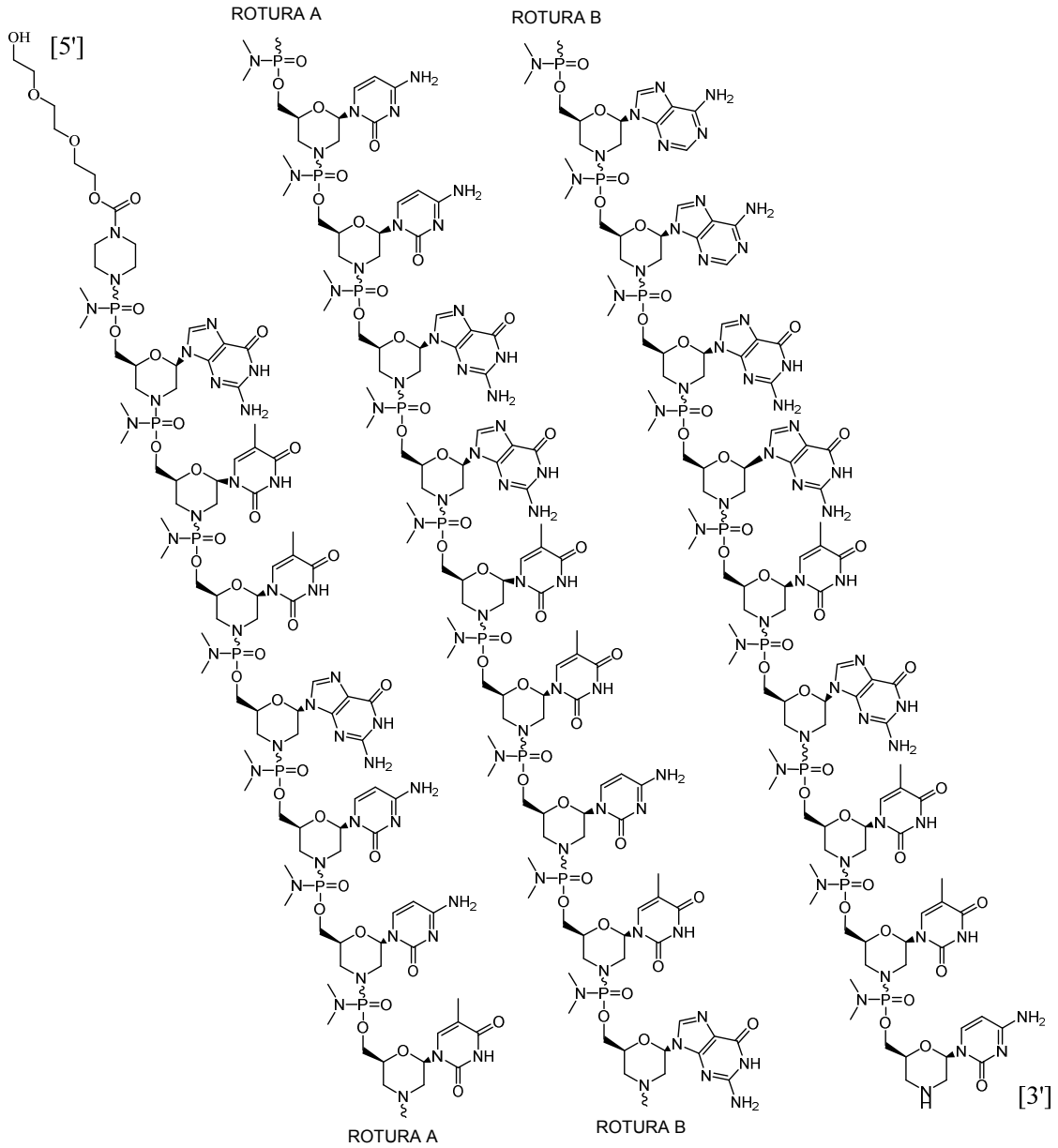
En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (VI) es de Fórmula (VIa):



(VIa);

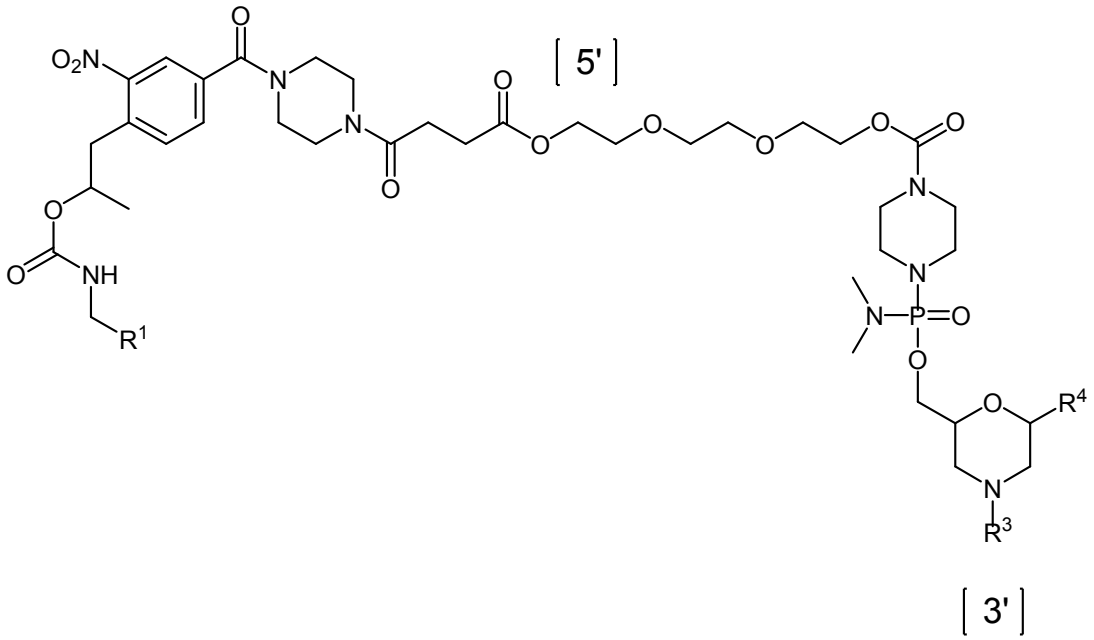
en donde R^1 es un medio de soporte.

En aún otra modalidad, el compuesto oligomérico de Fórmula (G) es un compuesto oligomérico de Fórmula (XII):



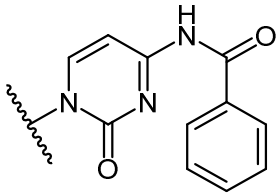
(XII).

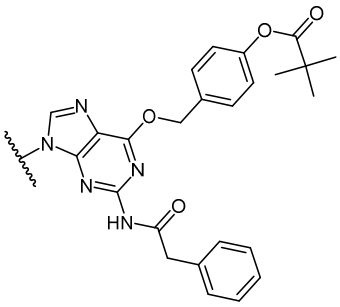
En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (A5):

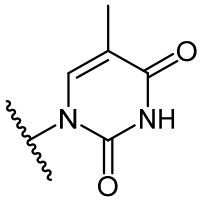


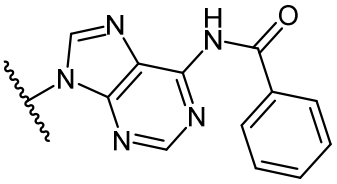
(A5);

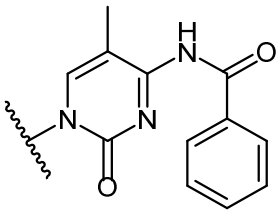
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4 se selecciona del grupo que consiste de:

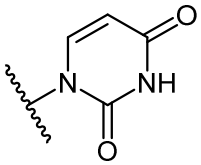
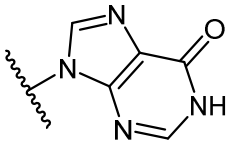
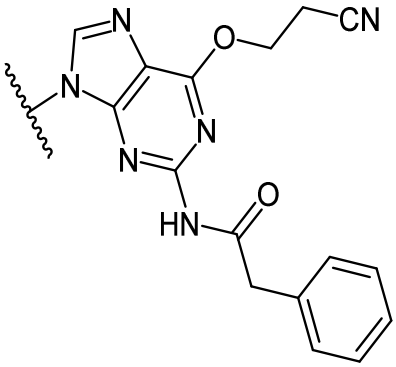

(PC),


(DPG),

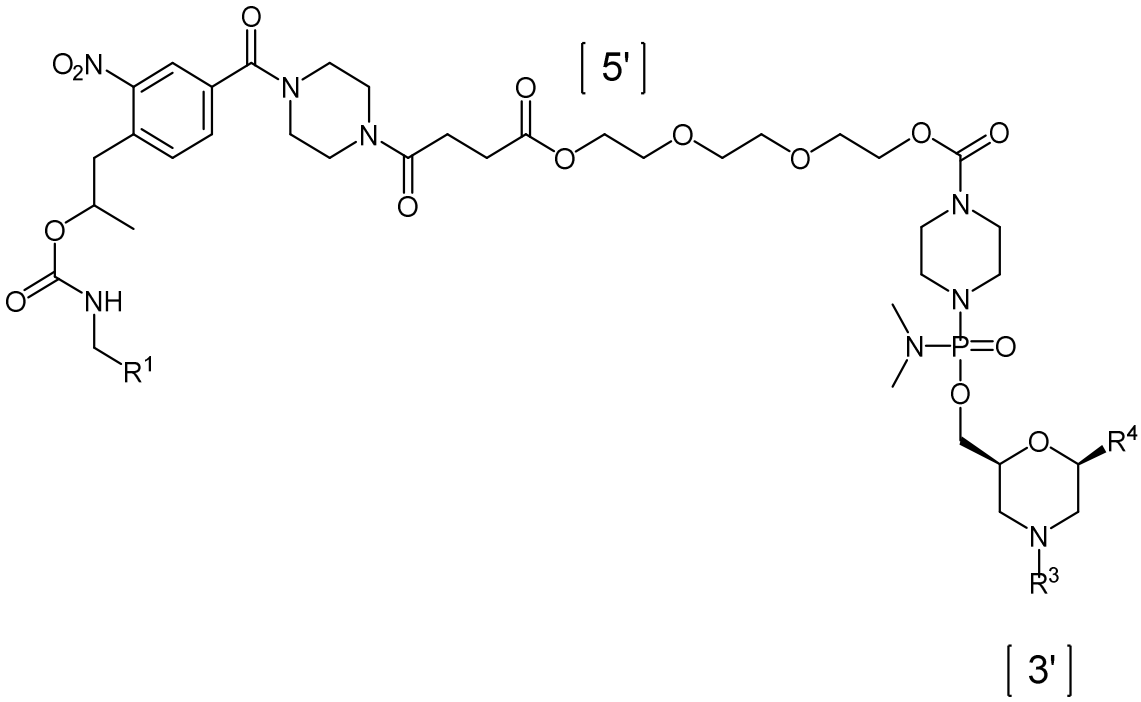

(T),


(PA),


(P5mC),

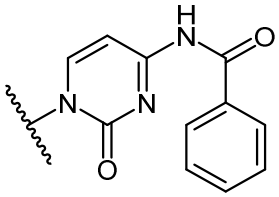
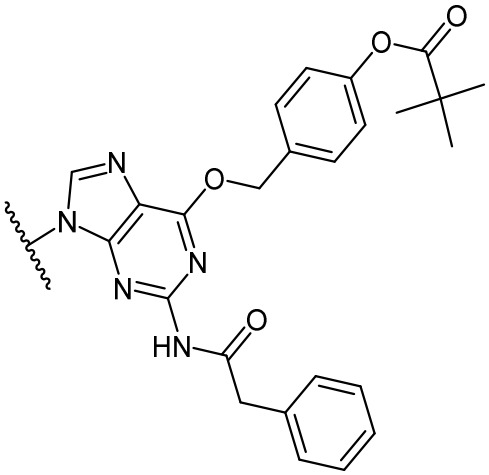

(U), 
(I), y 
(PG).

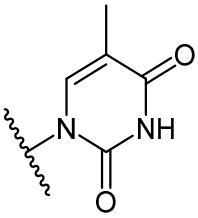
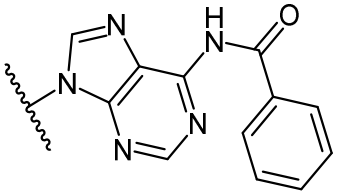
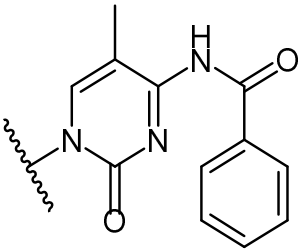
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A5) es de Fórmula (A5a):

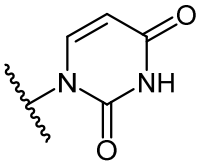
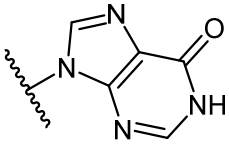


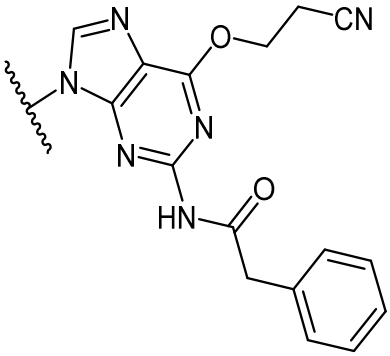
(A5a);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4 se selecciona del grupo que consiste de:

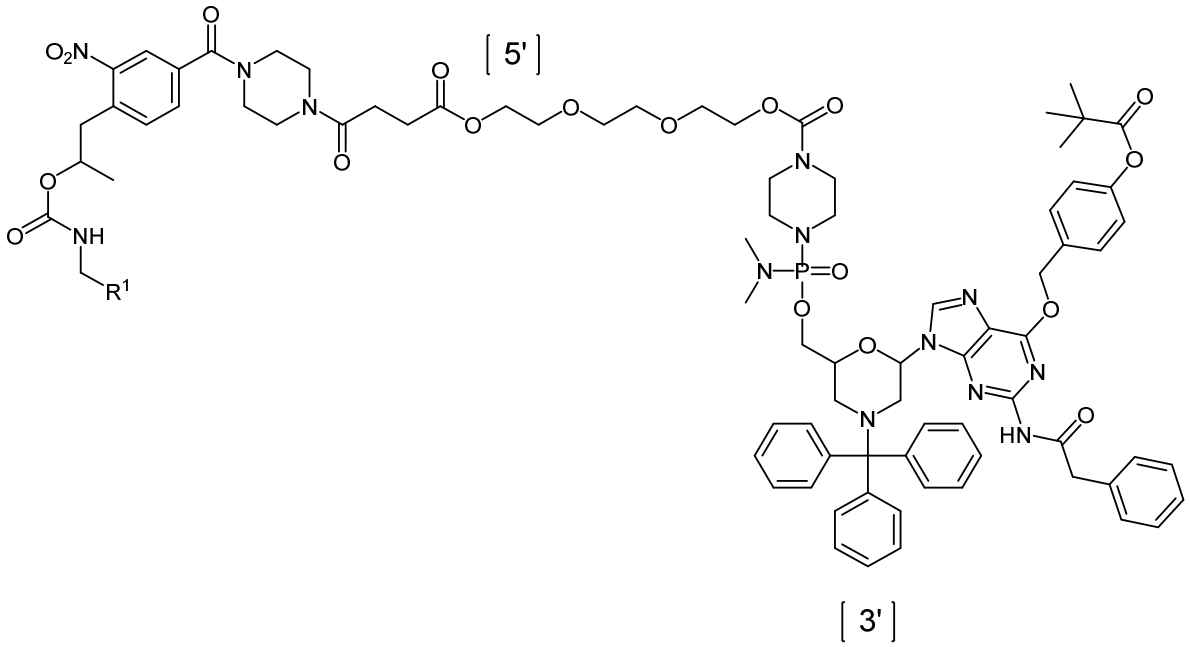

(PC),

(DPG),


(T),

(PA),


(P5mC),

(U),

(I), y


(PG).

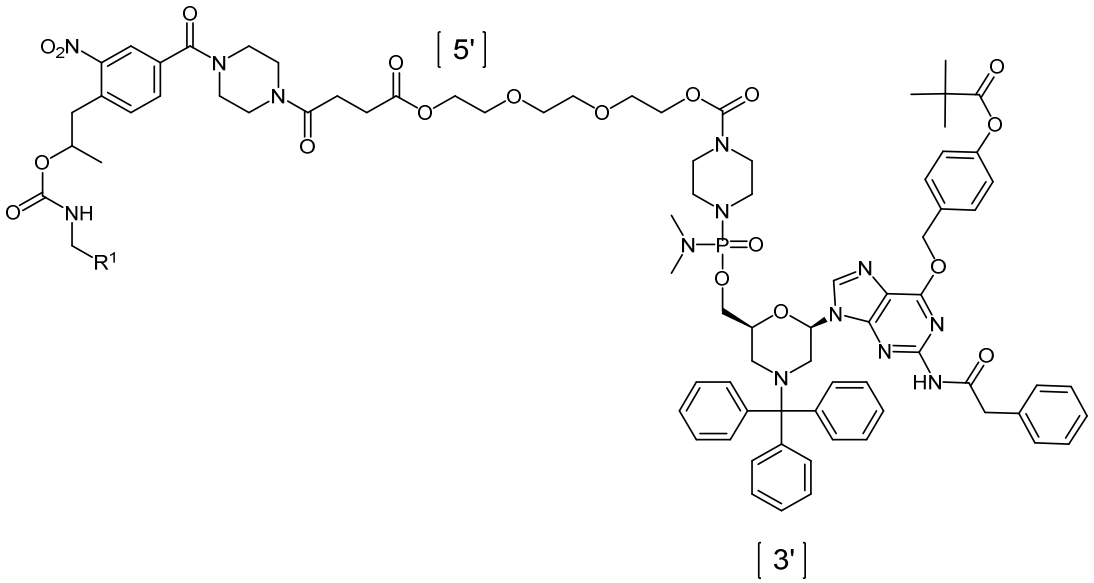
En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (V):



(V);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es un medio de soporte.

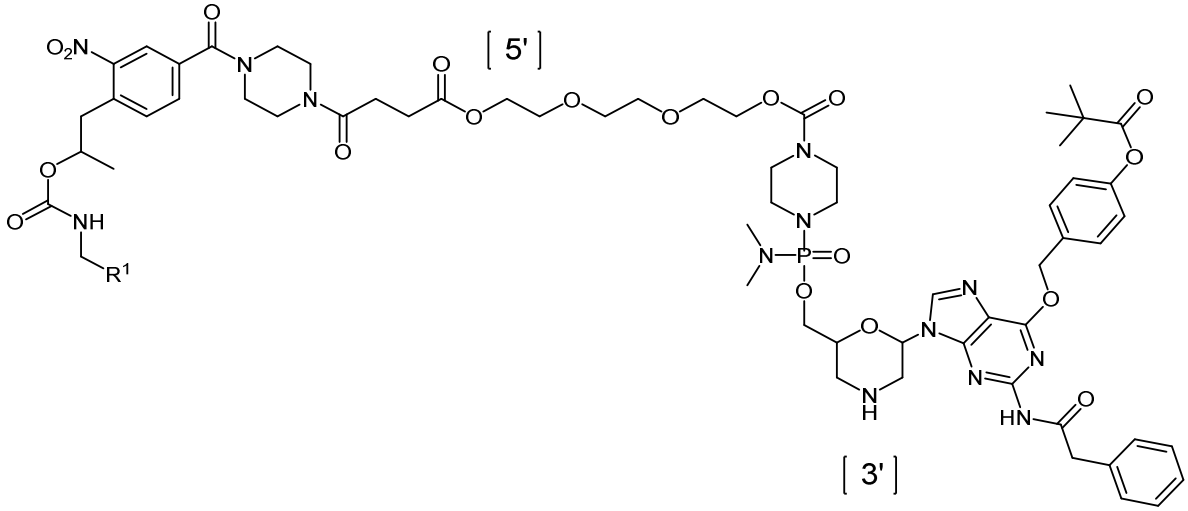
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (V) es de Fórmula (Va):



(Va),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es un medio de soporte.

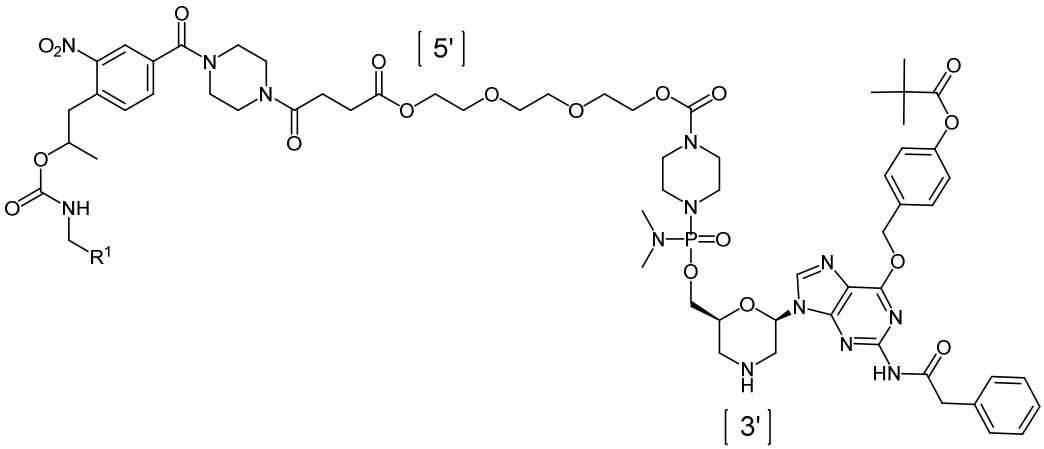
En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (VI):



(VI);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es un medio de soporte.

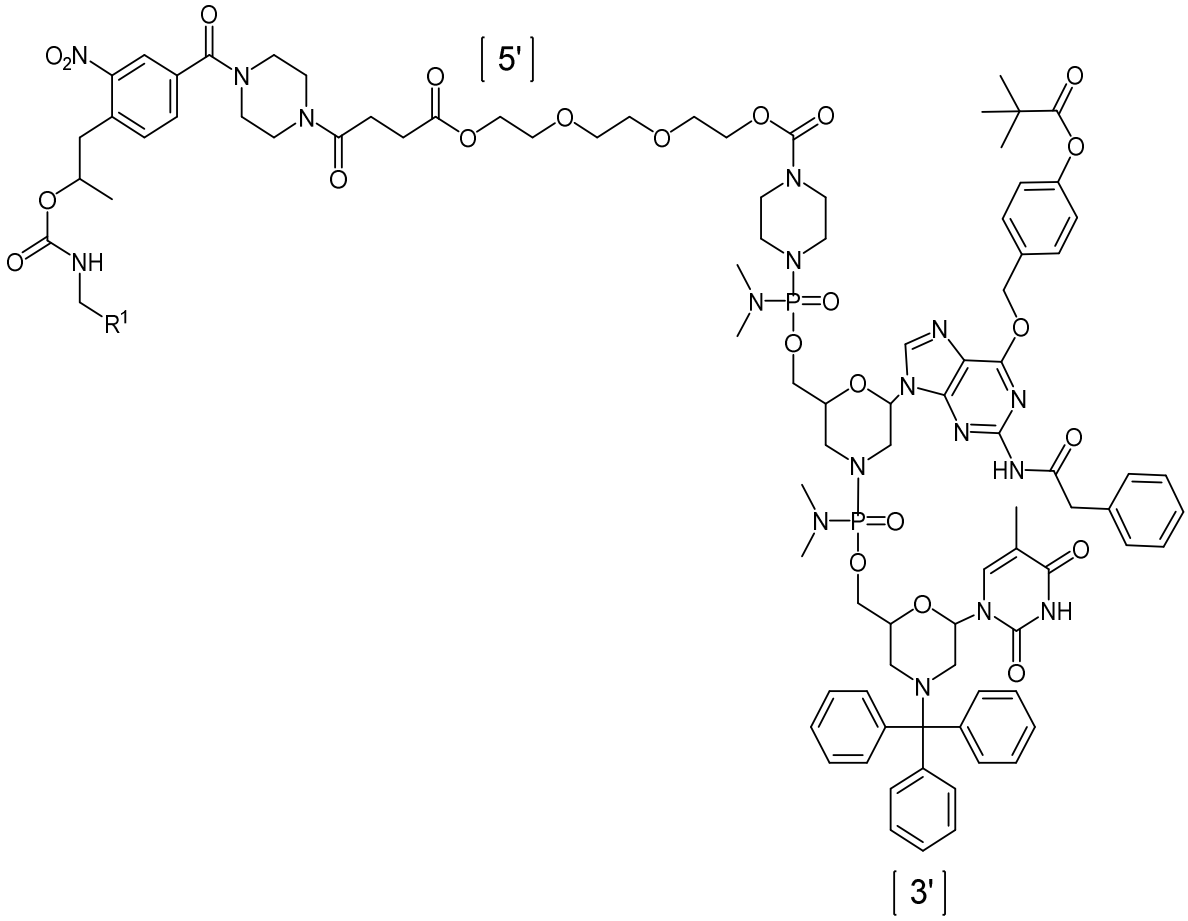
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (VI) es de Fórmula (VIa):



(VIa);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es un medio de soporte.

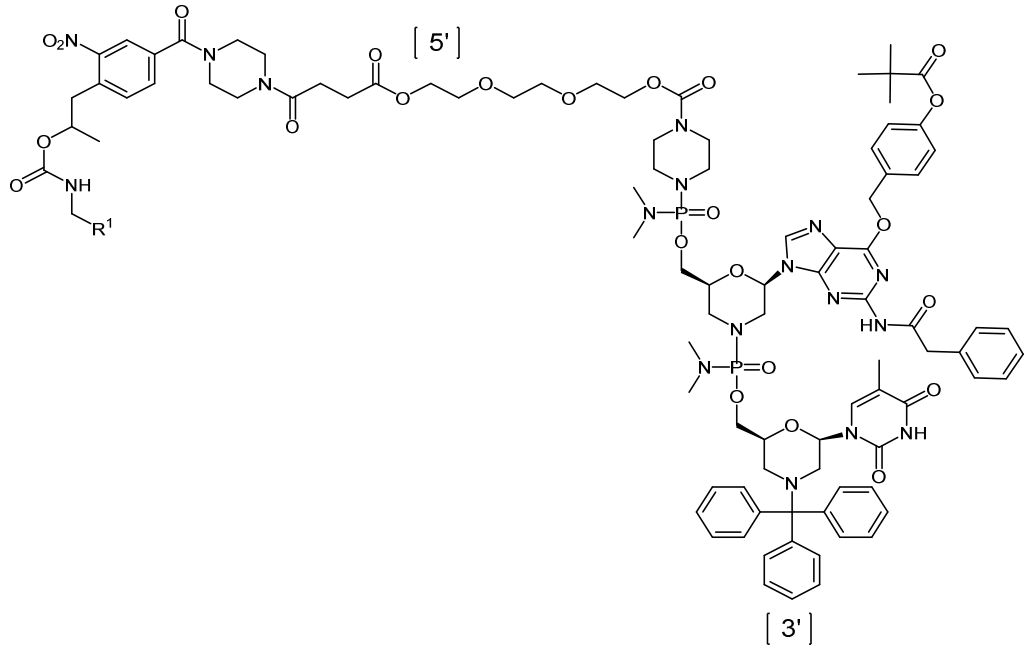
En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (VII):



(VII);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es un medio de soporte.

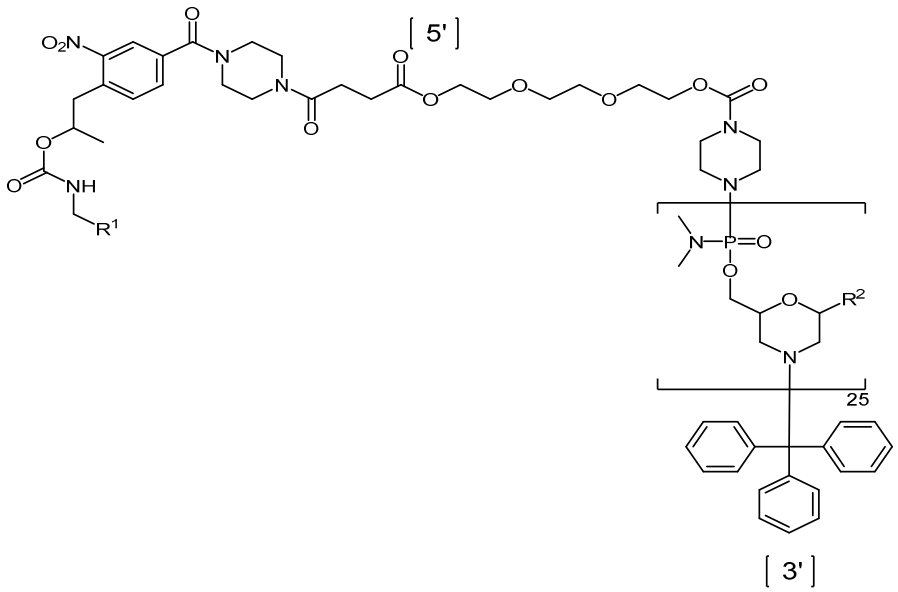
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (VII) es de Fórmula (VIIa):



(VIIa),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^1 es un medio de soporte.

En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (IX):

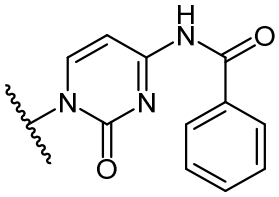
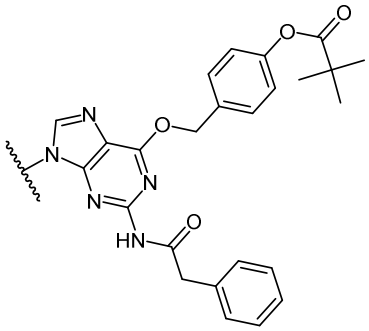
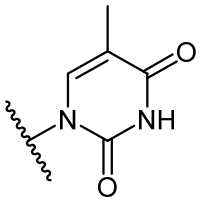
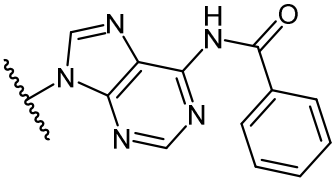


(IX),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

R^1 es un medio de soporte, y

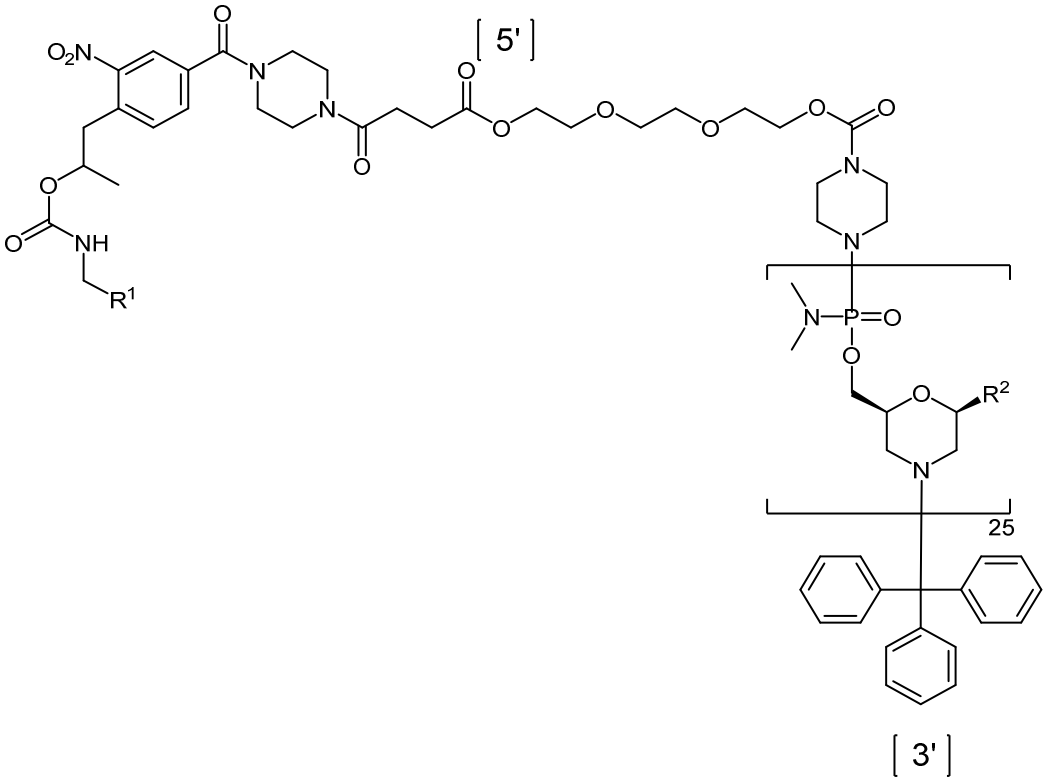
R^2, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T), y

(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	PC	20	DPG	30	DPG

En una modalidad, el compuesto de Fórmula (IX) es de Fórmula (IXa):

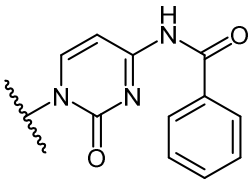


(IXa),

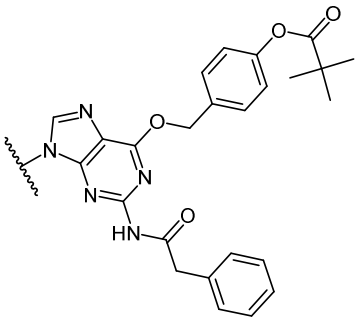
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 es un medio de soporte, y

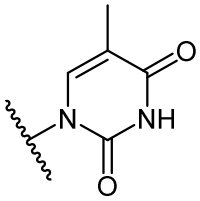
R^2, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:



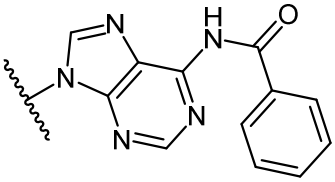
(PC),



(DPG),



(T), y

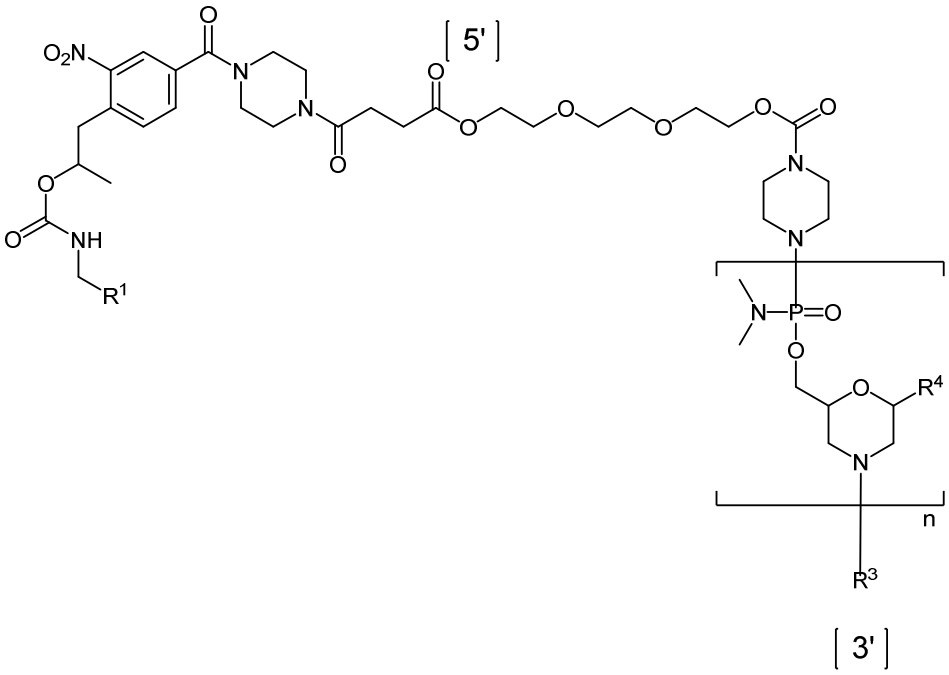


(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (A9):



(A9),

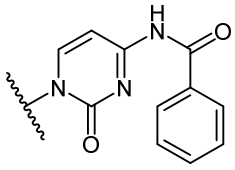
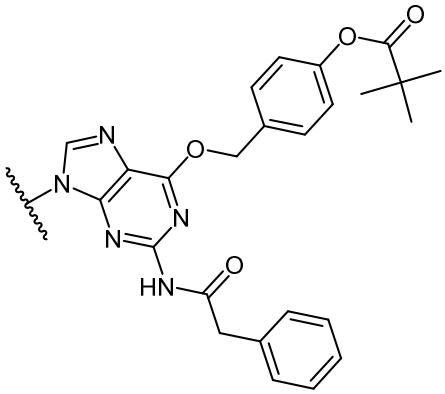
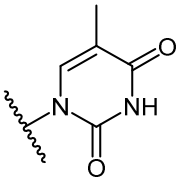
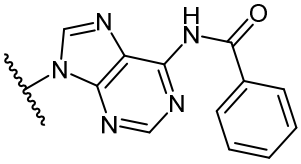
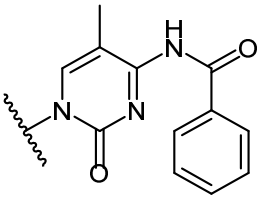
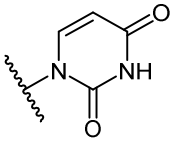
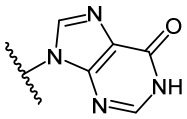
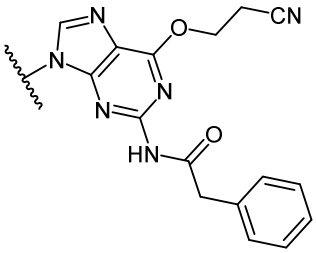
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

n es un número entero desde 10 a 40;

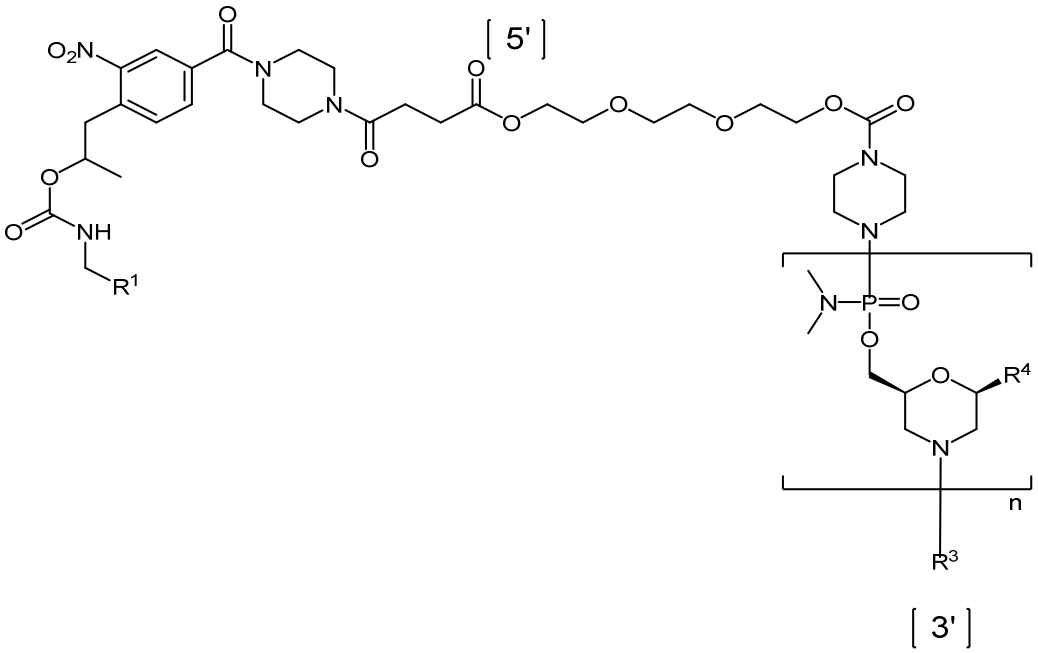
R^1 es un medio de soporte;

R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo; y

R^4, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T),

(PA),

(P5mC),

(U),

(I), y

(PG).

En una modalidad, el compuesto de Fórmula (A9) es de Fórmula (A9a):



(A9a),

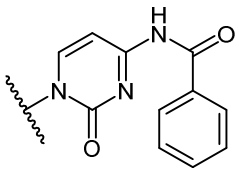
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

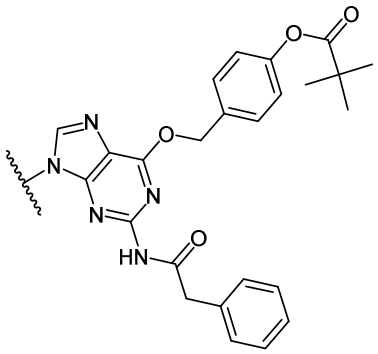
n es un número entero desde 10 a 40;

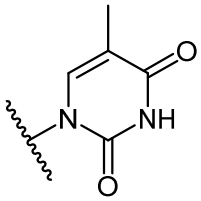
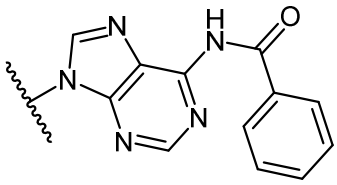
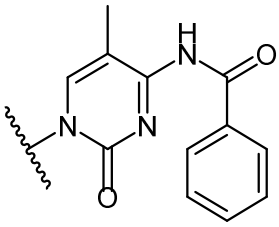
R^1 es un medio de soporte;

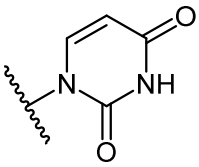
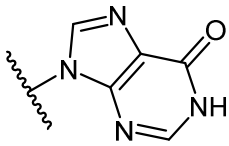
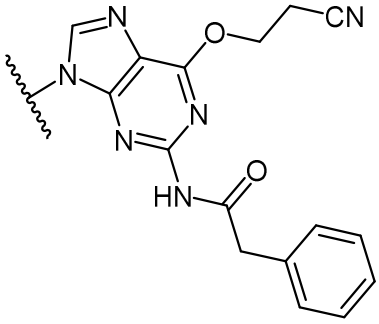
R^3 se selecciona del grupo que consiste de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo; y

R^4, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

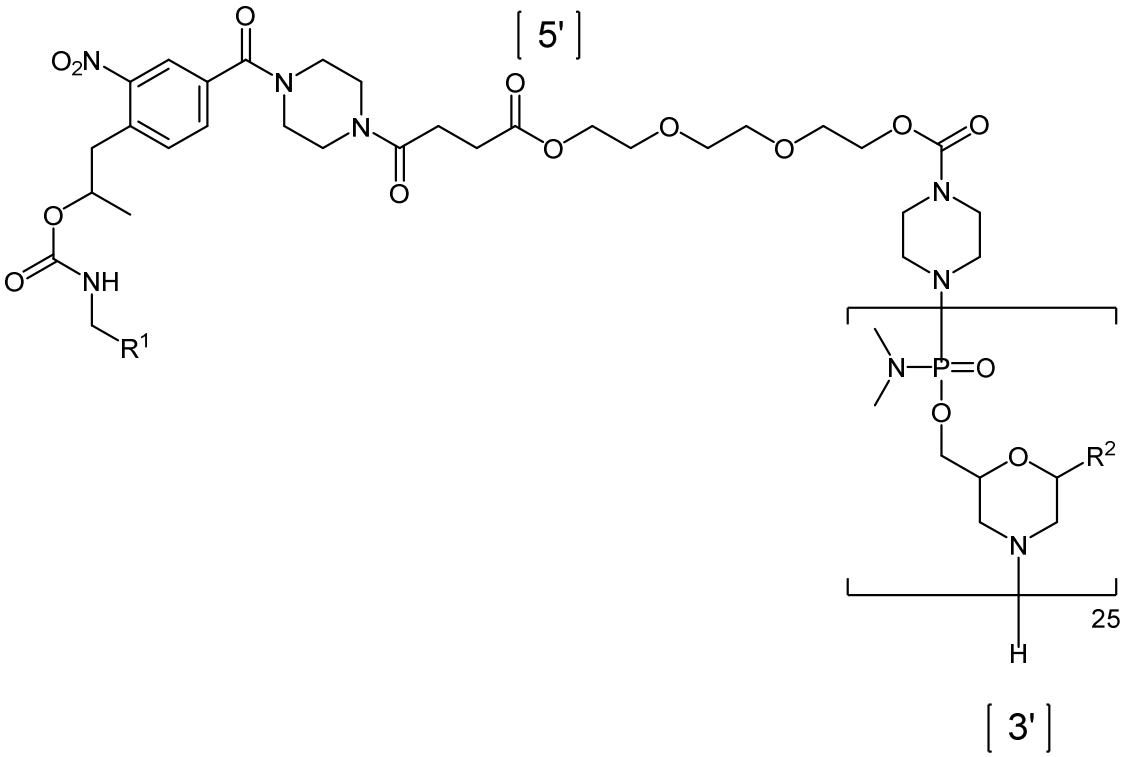

(PC),


(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG).

En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (X):



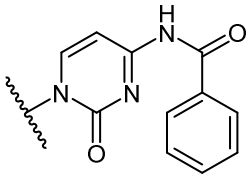
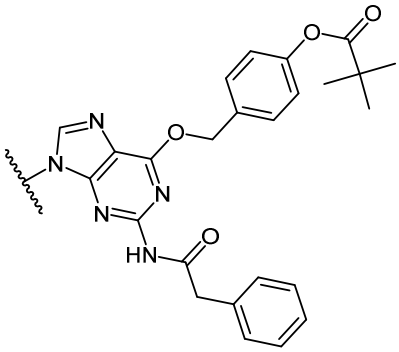
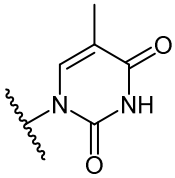
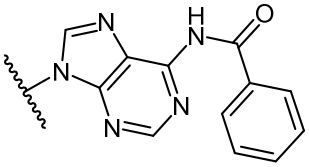
(X);

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en

donde

R^1 es un medio de soporte, y

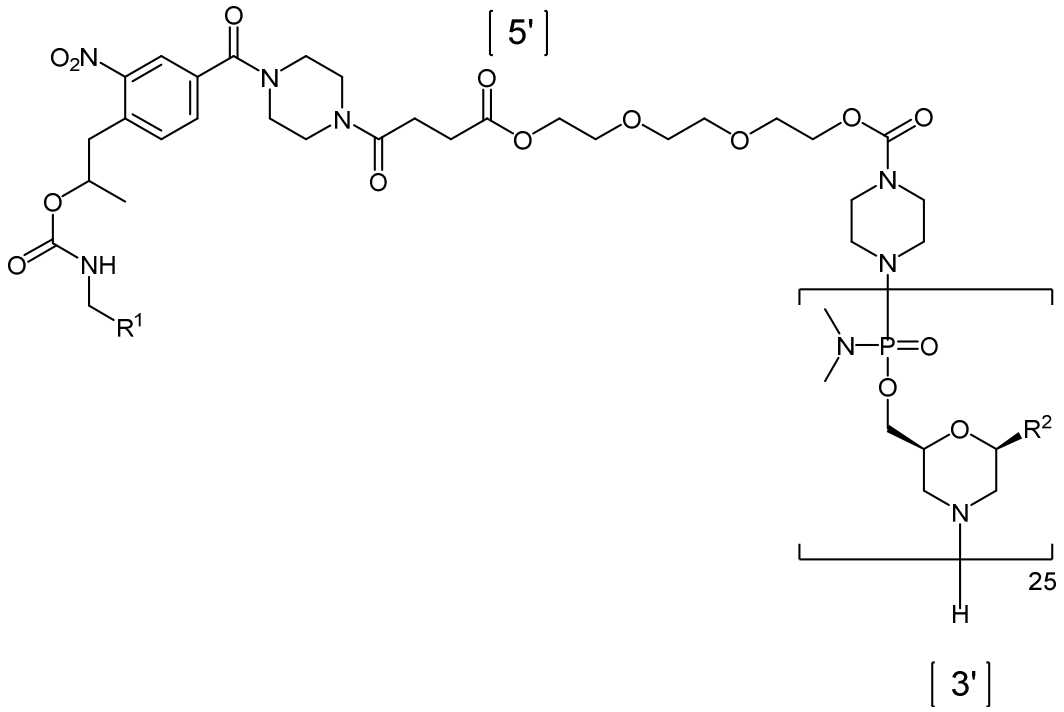
R^2, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T), y

(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

En una modalidad, el compuesto de Fórmula (X) es de Fórmula (Xa):

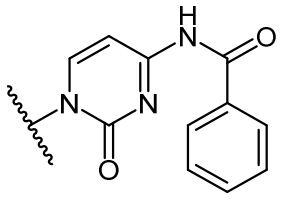


(Xa),

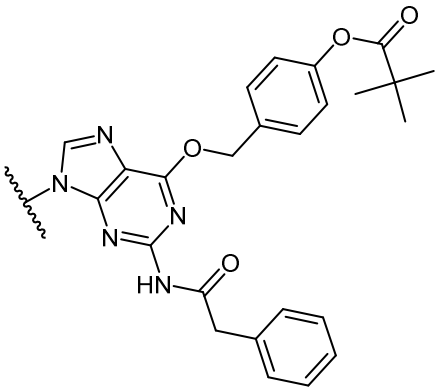
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 es un medio de soporte, y

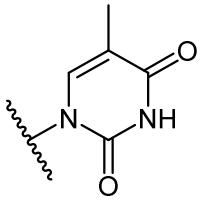
R^2, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:



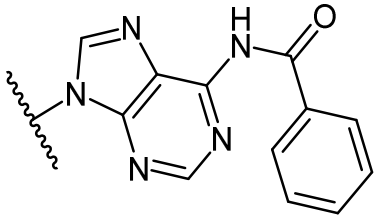
(PC),



(DPG),



(T), y

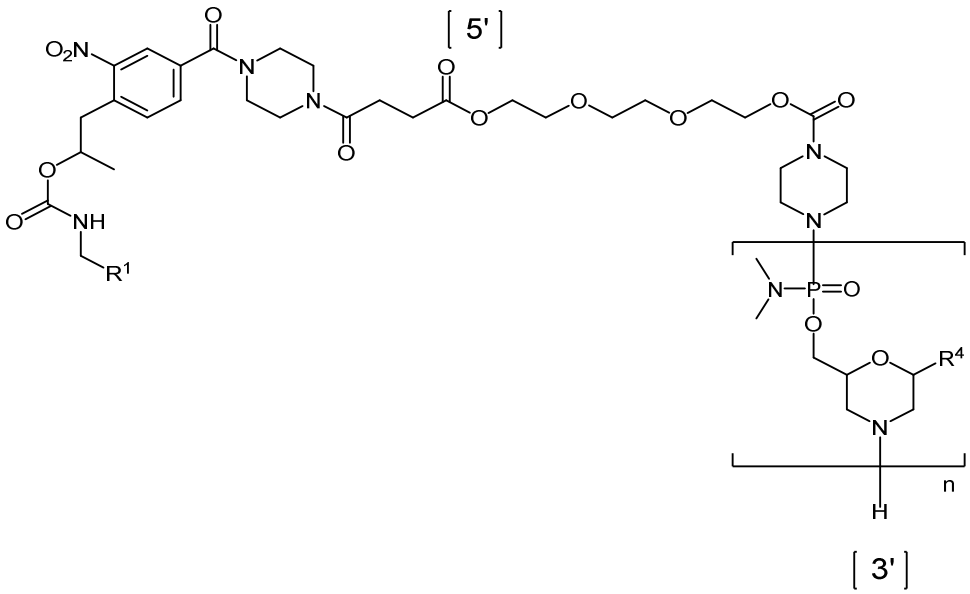


(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (A10):



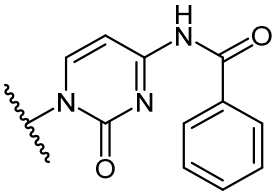
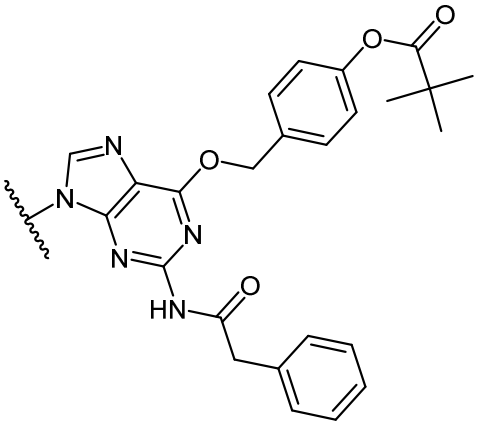
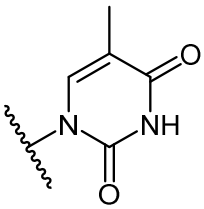
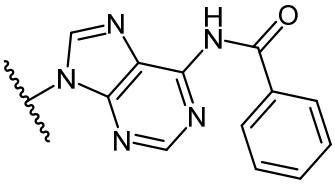
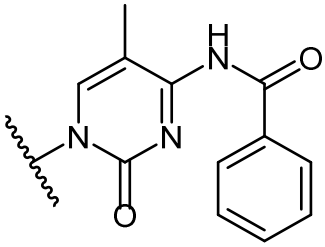
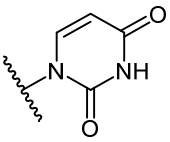
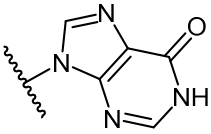
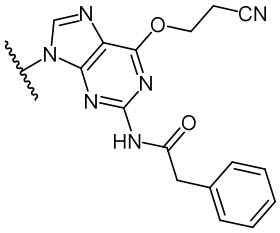
(A10),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

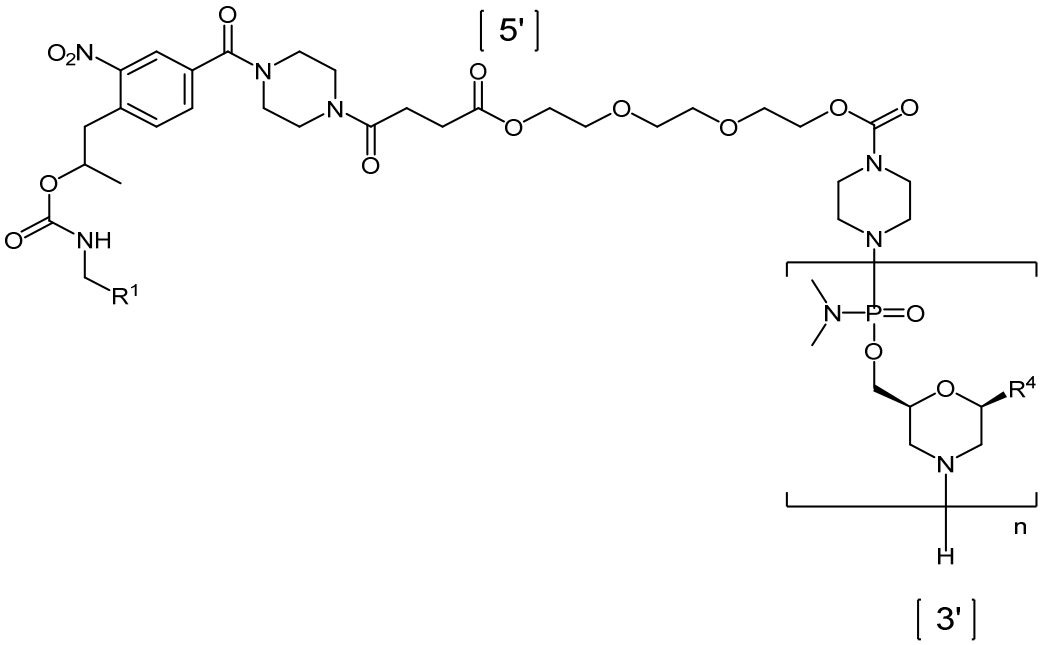
n es un número entero desde 10 a 40;

R^1 es un medio de soporte; y

R^4, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T),

(PA),

(P5mC),

(U),

(I), y

(PG).

En una modalidad, el compuesto de Fórmula (A10) es de Fórmula (A10a):



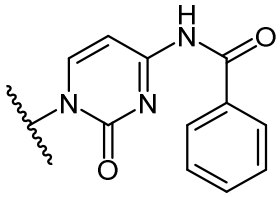
(A10a),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

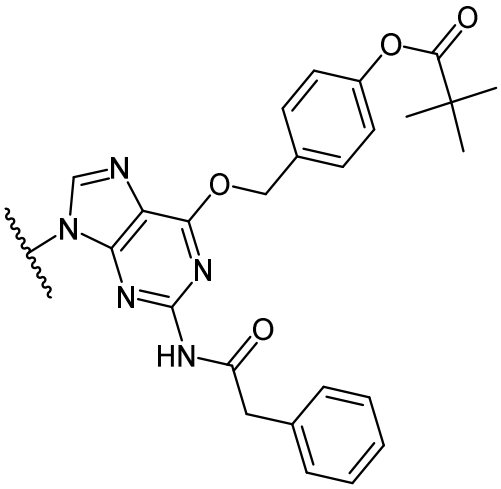
n es un número entero desde 10 a 40;

R^1 es un medio de soporte; y

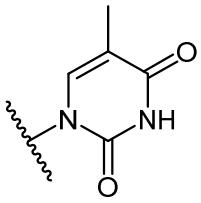
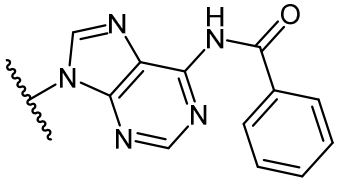
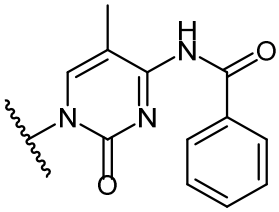
R^4, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

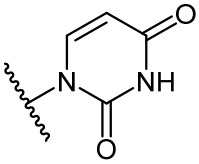
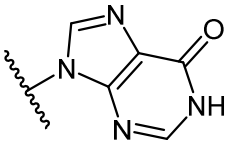
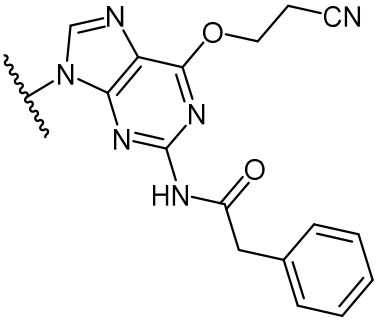


(PC),



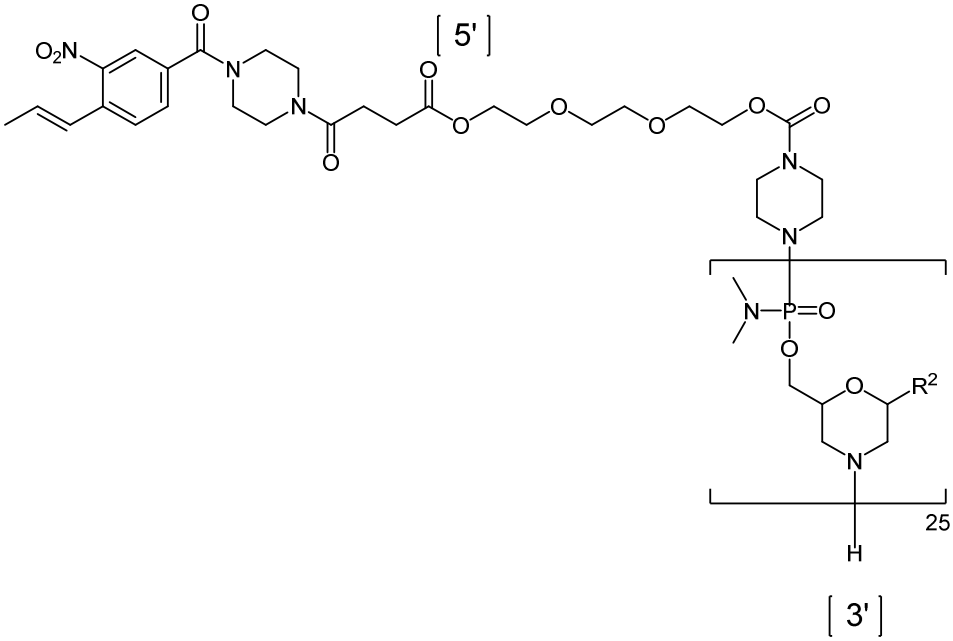
(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG).

En otra modalidad de estos compuestos, el medio de soporte comprende poliestireno con 1% divinilbenceno reticulado.

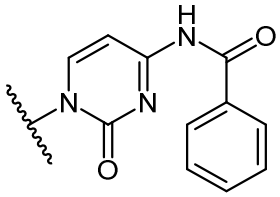
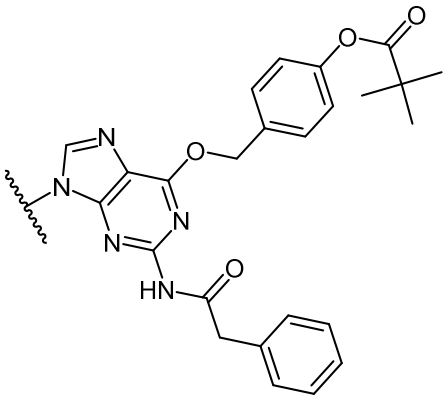
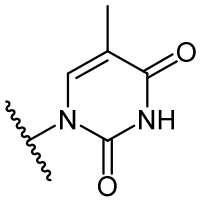
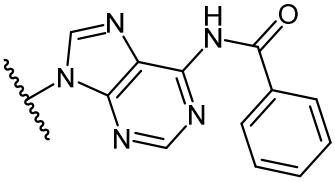
En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (XI):



(XI),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

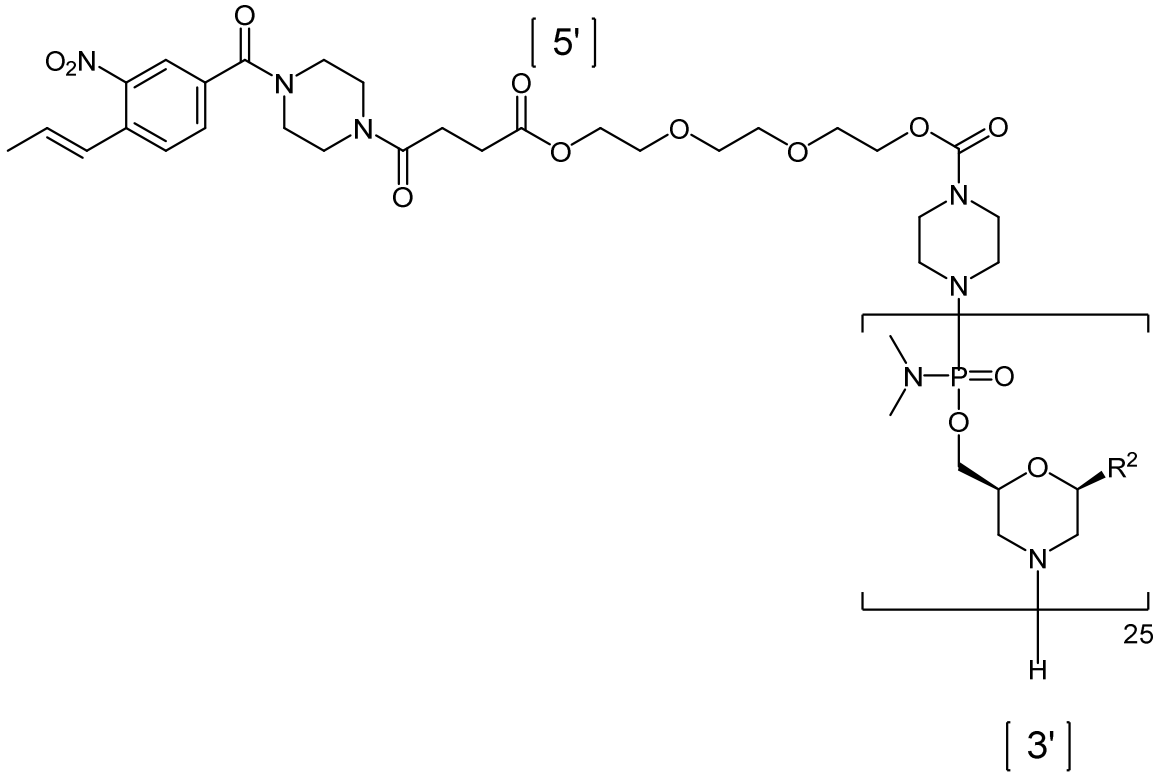
R^2, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T), y

(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

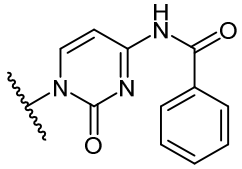
En una modalidad, el compuesto de Fórmula (XI) es de Fórmula (XIa):



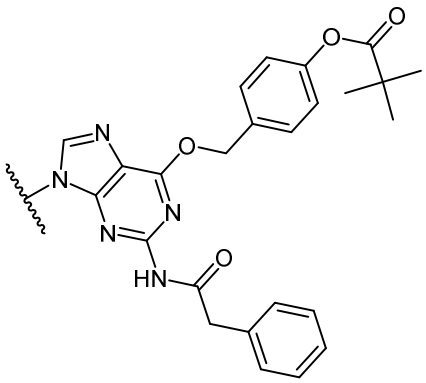
(XIa),

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

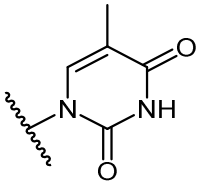
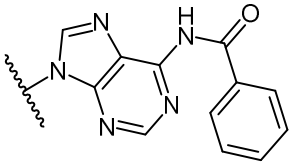
R^2, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:



(PC),



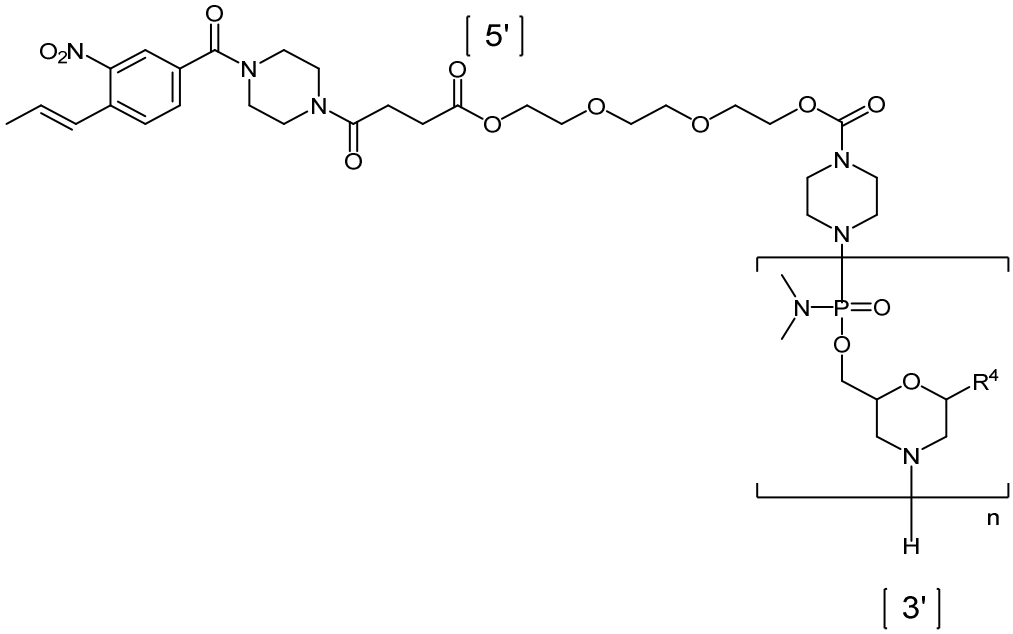
(DPG),


(T), y

(PA), y

en donde R^2 en cada posición es desde 1 a 25 y 5′ a 3′:

Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2	Posición No. 5′ a 3′	R^2
1	DPG	11	DPG	21	T
2	T	12	T	22	DPG
3	T	13	T	23	T
4	DPG	14	PC	24	T
5	PC	15	T	25	PC
6	PC	16	DPG		
7	T	17	PA		
8	PC	18	PA		
9	PC	19	DPG		
10	DPG	20	DPG		

En otro aspecto, en la presente se proporciona un compuesto de Fórmula (A11):

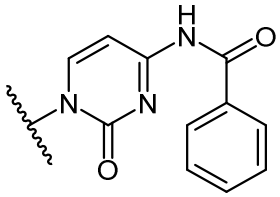
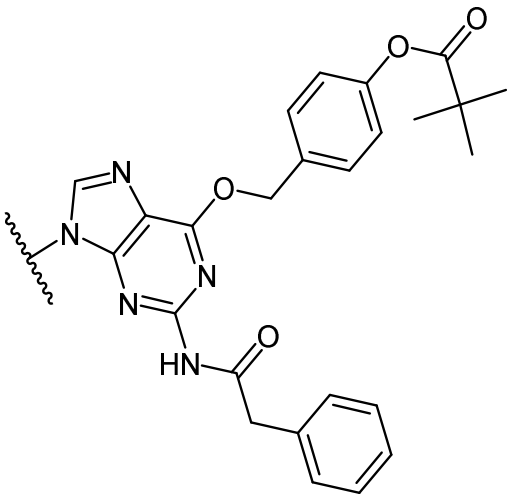
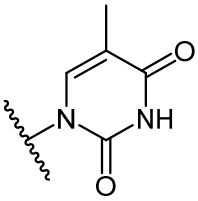
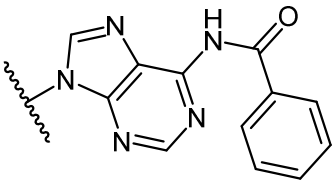
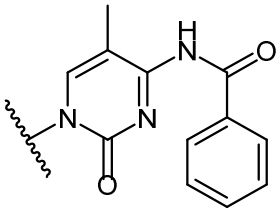
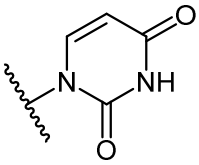
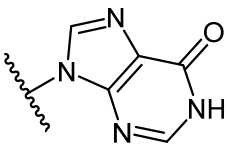
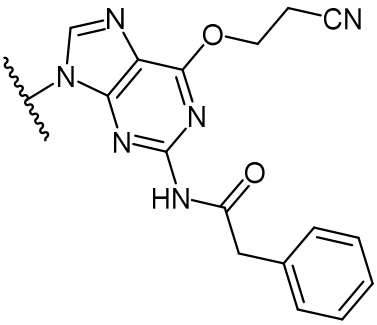


(A11),

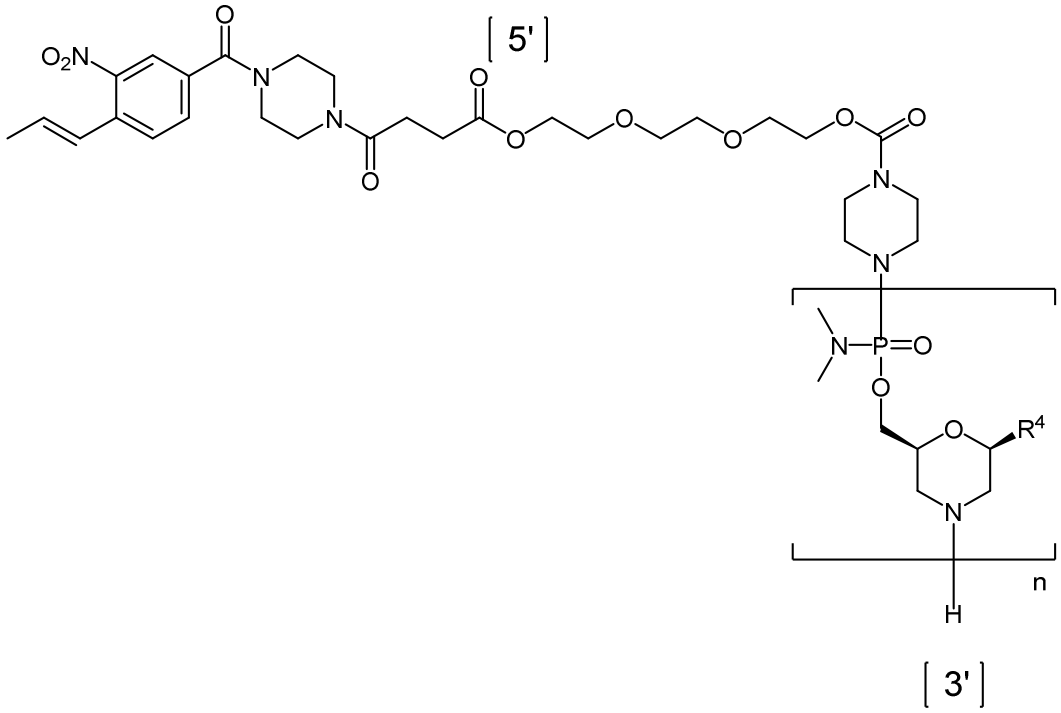
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

n es un número entero desde 10 a 40; y

R^4, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T),

(PA),

(P5mC),

(U),

(I), y

(PG).

En una modalidad, el compuesto de Fórmula (A11) es de Fórmula (A11a):

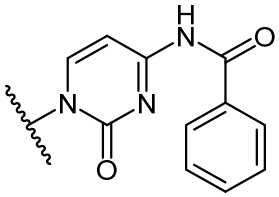


(A11a),

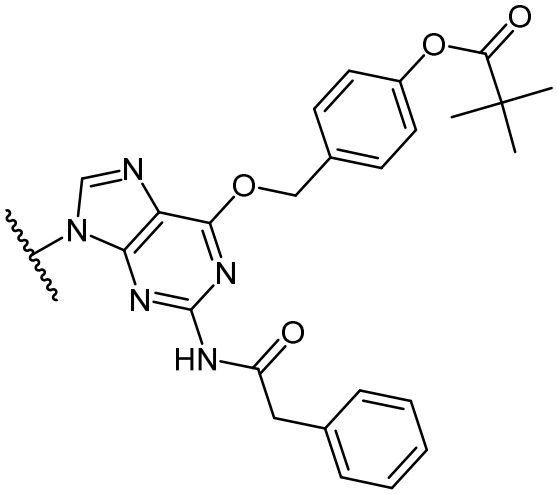
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

n es un número entero desde 10 a 40; y

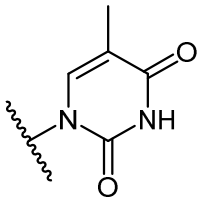
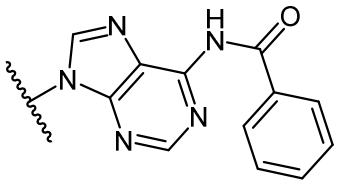
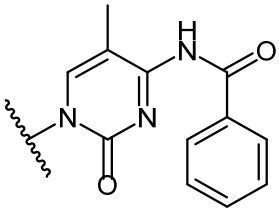
R^4, independientemente en cada aparición, se selecciona del grupo que consiste de:

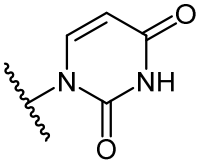
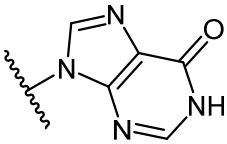
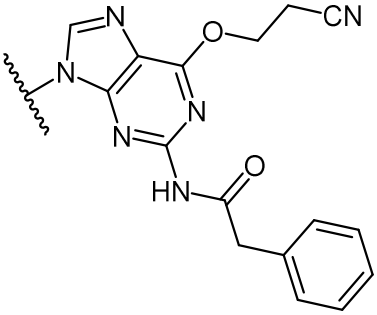


(PC),



(DPG),


(T),

(PA),

(P5mC),


(U),

(I), y

(PG).

Oligómeros

Las propiedades importantes de subunidades a base de morfolino incluyen: 1) la capacidad de ser enlazadas en una forma oligomérica por enlaces de esqueleto estables, no cargados o positivamente cargados; 2) la capacidad de soportar una base de nucleótido (por ejemplo adenina, citosina, guanina, timidina, uracilo, 5-metil-citosina e hipoxantina) de modo que el polímero formado puede hibidrarse con un ácido nucleico objetivo de base complementaria, incluyendo ARN objetivo; 3) la capacidad del oligómero para ser activa o pasivamente transportado en células de mamífero; y 4) la capacidad del oligómero y heterodúplex de oligómero:ARN para resistir la degradación de ARNsa y RNasa H, respectivamente.

En algunas modalidades, los oligómeros antisentido contienen modificaciones o sustituciones de base. Por ejemplo,

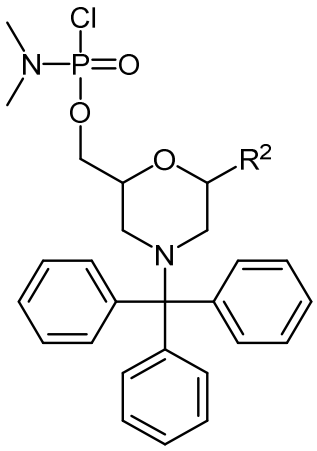
ciertas nucleobases se pueden seleccionar para aumentar la afinidad de unión de los oligómeros antisentido descritos en la presente. Se ha mostrado que las sustituciones de 5-metilcitosina aumentan la estabilidad dúplex del ácido nucleico por 0.6-1.2°C, y se pueden incorporar en los oligómeros antisentido descritos en la presente. En una modalidad, al menos una base de pirimidina del oligómero comprende una base de pirimidina 5-sustituida, en donde la base de pirimidina se selecciona del grupo que consiste de citosina, timina y uracilo. En una modalidad, la base de primidina 5-sustituida es 5-metilcitosina. En otra modalidad, al menos una base de purina del oligómero comprende hipoxantina.

Los oligómeros a base de morfolino (incluyendo los oligómeros antisentido) se detallan, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos Nos. 5,698,685, 5,217,866, 5,142,047, 5,034,506, 5,166,315, 5,185,444, 5,521,063, 5,506,337, 8,299,206, y 8, 076,476, Publicaciones de Solicitudes de Patentes Internacionales Nos. WO/2009/064471 y WO/2012/043730, y Summerton et al. (1997, Antisense and Nucleic Acid Drug Development, 7, 187-195), cada una de las cuales se incorpora en en la presente como referencia en su totalidad.

Los compuestos oligoméricos de la descripción pueden tener centros asimétricos, ejes quirales y planos quirales (como se describe, por ejemplo, en: E. L. Eliel and S. H. Wilen, Stereo-chemistry of Carbon Compounds, John Wiley & Sons, New

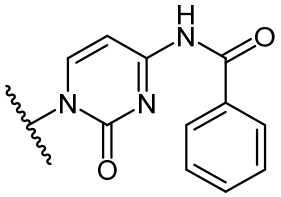
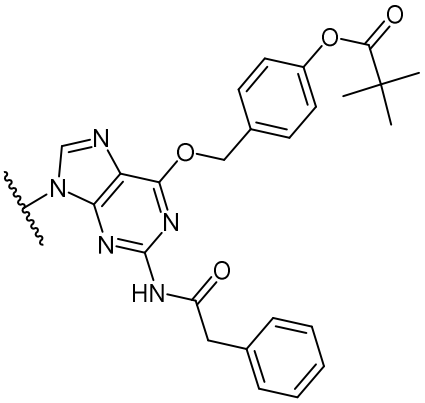
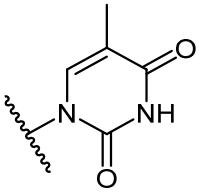
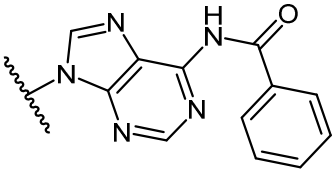
York, 1994, páginas 1119-1190, y March, J., Advanced Organic Chemistry, 3d. Ed., Chap. 4, John Wiley & Sons, New York (1985)), y pueden presentarse como racematos, mezclas racémicas y como diastereómeros individuales, con todos los posibles isómeros y mezclas de los mismos, incluyendo isómeros ópticos. Los compuestos oligoméricos de la descripción específicamente mencionados en la presente, sin alguna indicación de su estereoquímica, se destinan a representar todos los posibles isómeros y mezclas de los mismos.

Específicamente, sin desear estar limitado a cualquier teoría particular, los compuestos oligoméricos de la descripción se prepararon, como se discute en la presente, a partir de las subunidades de morfolino activadas incluyendo tales ejemplos no limitantes tal como un compuesto de Fórmula (VIII):

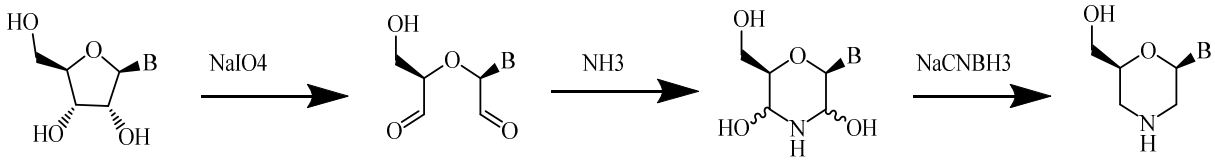


(VIII);

en donde R^2, independientemente de cada compuesto de Fórmula (VIII), se selecciona del grupo que consiste de:


(PC),

(DPG),

(T), y

(PA).

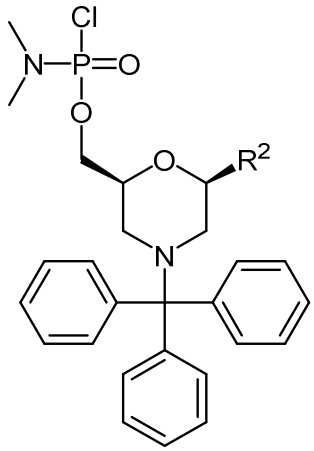
Cada uno de los compuestos mencionados anteriormente de Fórmula (VIII), se pueden preparar, por ejemplo, a partir del correspondiente beta-D-ribofuranosilo como se representa a continuación:



Ver Summerton et al., Antisense & Nucleic Acid Drug Dev. 7:187-195 (1997). Sin desear estar vinculado a cualquier teoría particular, la estereoquímica de los dos carbonos quirales es retenida bajo las condiciones de síntesis de manera que un número de posibles estereoisómeros de cada subunidad de morfolino se puede producir con base en la selección de, por ejemplo, un material de partida alfa-L-ribofuranosilo, alfa-D-ribofuranosilo, beta-L-ribofuranosilo, o beta-D-

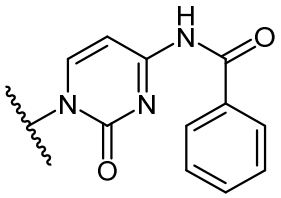
ribofuranosilo.

Por ejemplo, en algunas modalidades, un compuesto de Fórmula (VIII) de la descripción puede ser de Fórmula (VIIIa):

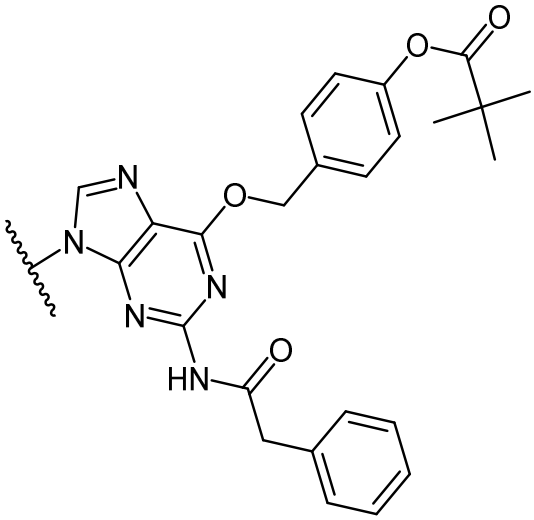


(VIIIa);

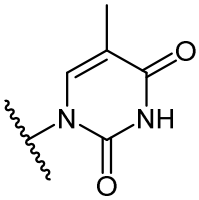
en donde R^2, independientemente de cada compuesto de Fórmula (VIIIa), se selecciona del grupo que consiste de:



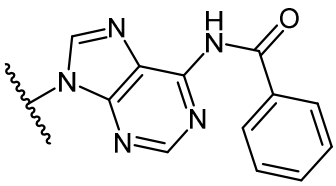
(PC),



(DPG),



(T), y



(PA).

Sin desear estar vinculado a cualquier teoría particular, la incorporación de 10 a 40 compuestos de Fórmula (VIII), por ejemplo, en un compuesto oligomérico de la descripción puede resultar en numerosos posibles estereoisómeros.

Sin desear estar vinculado a cualquier teoría particular, los compuestos oligoméricos de la descripción comprenden una o más intersubunidades que contienen fosforo, las cuales crean un centro quiral en cada fosforo, cada uno de los cuales se designa ya sea como una configuración “Sp” o “Rp” como se entiende en la técnica. Sin desear estar vinculado a cualquier teoría particular, esta quiralidad crea estereoisómeros, los cuales tienen una composición química idéntica pero diferente arreglo tridimensional de sus átomos.

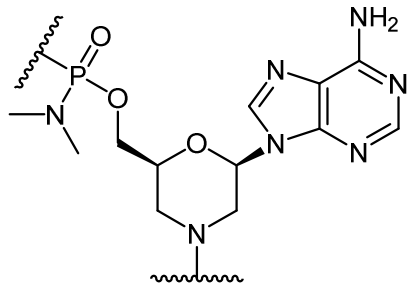
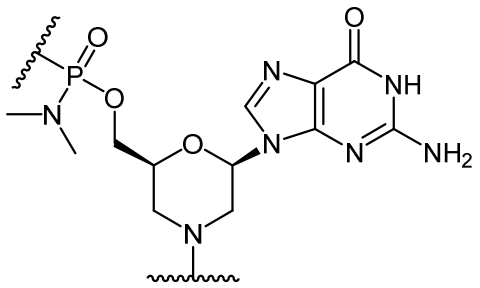
Sin desear estar vinculado a cualquier teoría particular, la configuración de cada enlace de intersubunidad de fosforo se presenta aleatoriamente durante la síntesis de, por ejemplo, compuestos oligoméricos de la descripción. Sin desear estar vinculado a cualquier teoría particular, el proceso de síntesis genera un número exponencialmente grande de estereoisómeros de un compuesto oligomérico de la descripción debido a que los compuestos oligoméricos de la descripción están comprendidos de numerosos enlaces de intersubunidad de fosforo – con cada enlace de intersubunidad de fosforo teniendo una configuración quiral aleatoria.

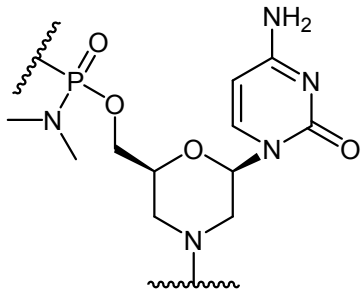
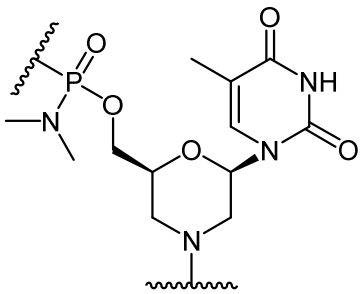
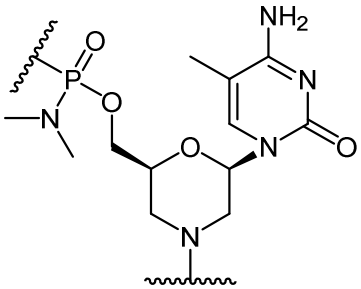
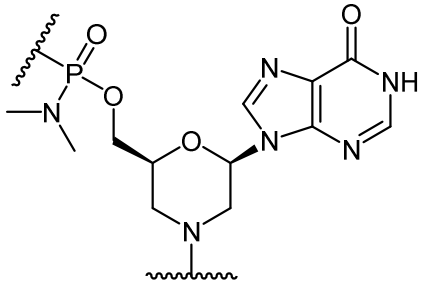
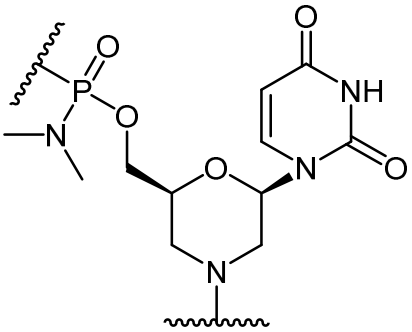
Específicamente, sin desear estar vinculado a cualquier teoría particular, cada enlace de intersubunidad de una subunidad de morfolino adicional dúplica el número de estereoisómeros del producto, de modo que una preparación convencional de un compuesto oligomérico de la descripción es de hecho una mezcla altamente heterogénea de 2^N estereoisómeros, donde N representa el número de enlaces de intersubunidad de fosforo.

Por lo tanto, a menos que se indique lo contrario, tales isómeros, incluyendo mezclas diastereoméricas y enantioméricas y enantiómeros y diastereómeros puros se incluyen tal como, por ejemplo, cuando uno o más enlaces de uno o más estereocentros se indica por "-" o "~~" o un equivalente como se entendería en la técnica.

La Tabla 1 representa varias modalidades de subunidades de morfolino proporcionas en los procesos descritos en la presente.

Tabla 1: Diversas modalidades de subunidades de morfolino.

A = 	G = 

C = 	T = 
5-Me-C = 	I = 
U = 	

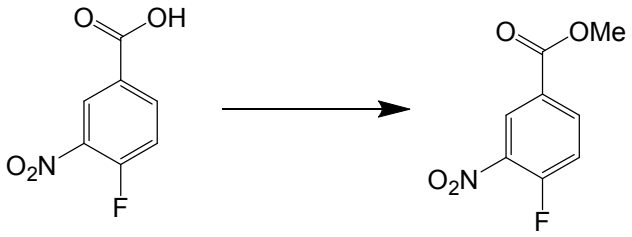
EJEMPLOS

Los ejemplos se han descrito a continuación para el propósito de ilustración y para describir ciertas modalidades específicas de la descripción. Sin embargo, el alcance de las reivindicaciones de ninguna manera será limitado por los ejemplos descritos en la presente. Varios cambios y modificaciones a las modalidades descritas serán evidentes para los expertos en la técnica y tales cambios y modificaciones incluyendo, sin limitación, los relacionados con las

estructuras, sustituyentes, derivados, formulaciones o métodos químicos de la descripción se pueden realizar sin apartarse del espíritu de la descripción y el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Las definiciones de las variables en las estructuras en los esquemas de reacción son acordes con las de las posiciones correspondientes en las fórmulas presentadas en la presente.

Ejemplo 1: Síntesis de Anclaje de NCP2

1. Preparación de 4-Fluoro-3-Nitrobenzoato de metilo (**1**)



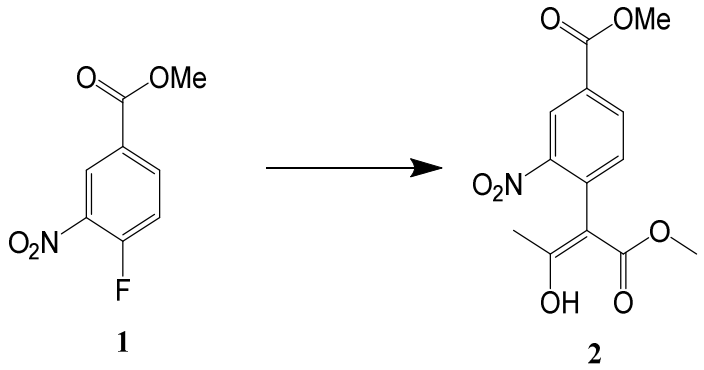
1

A un matraz de 100 L se cargaron 12.7 kg de ácido 4-fluoro-3-nitrobenzoico, se añadieron 40 kg de metanol y 2.82 kg de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se agitó a reflujo (65° C) durante 36 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0° C. Se formaron cristales a 38° C. La mezcla se mantuvo a 0° C durante 4 hrs, luego se filtró bajo nitrógeno. El matraz de 100 L se lavó y la torta de filtro se lavó con 10 kg de metanol que se había enfriado a 0° C. La torta de filtro sólida se secó en el embudo durante 1 hora, se transfirió a bandejas y se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente a un peso constante

de 13.695 kg de 4-fluoro-3-nitrobenzoato de metilo (100% de rendimiento; HPLC 99%).

2. Preparación de Ácido 3-Nitro-4-(2-oxopropil)benzoico

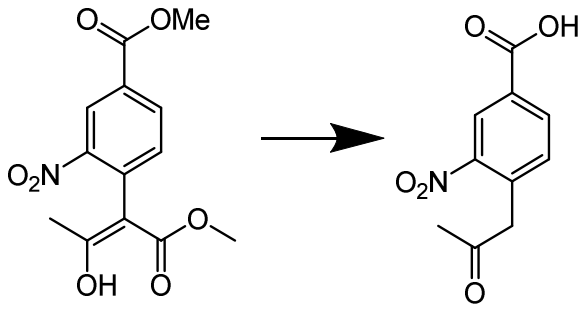
A. (Z)-4-(3-Hidroxi-1-Metoxi-1-Oxobut-2-en-2-il)-3-Nitrobenzoato de Metilo (**2**)



A un matraz de 100 L se cargaron 3.98 kg de 4-fluoro-3-nitrobenzoato de metilo (**1**) de la etapa previa, 9.8 kg de DMF, 2.81 kg de acetoacetato de metilo. La mezcla se agitó y se enfrió a 0° C. A esto se añadieron 3.66 kg de DBU durante aproximadamente 4 horas mientras la temperatura se mantuvo a o por debajo de 5° C. La mezcla se agitó 1 hora adicional. Al matraz de reacción se añadió una solución de 8.15 kg de ácido cítrico en 37.5 kg de agua purificada mientras la temperatura de reacción se mantuvo a o por debajo de 15° C. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó unos 30 minutos adicionales, luego se filtró bajo nitrógeno. La torta de filtro húmeda se regresó al matraz de 100 L junto con 14.8 kg de agua purificada. La lechada se agitó durante 10 minutos, luego se

filtró. La torta húmeda de nuevo se regresó al matraz de 100 L, se formó en lechada con 14.8 kg de agua purificada durante 10 minutos, y se filtró a (Z)-4-(3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobut-2-en-2-il)-3-nitrobenzoato de metilo crudo.

B. Ácido 3-Nitro-4-(2-oxopropil)benzoico

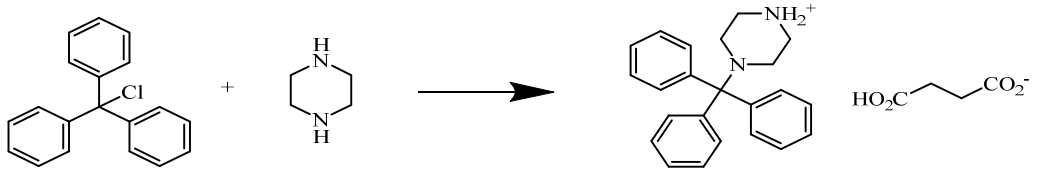


2 **3**

El (Z)-4-(3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobut-2-en-2-il)-3-nitrobenzoato de metilo crudo se cargó a un matraz de reacción de 100 L bajo nitrógeno. A esto se añadieron 14.2 kg de 1,4-dioxano y luego se agitó. A la mezcla se añadió una solución de 16.655 kg de HCl concentrado y 13.33 kg de agua purificada (HCl 6M) durante 2 horas mientras la temperatura de la mezcla de reacción se mantuvo por debajo de 15° C. Cuando la adición se completó, la mezcla de reacción se calentó a reflujo (80° C) durante 24 horas, se enfrió a temperatura ambiente, y se filtró bajo nitrógeno. La torta de filtro sólida se trituró con 14.8 kg de agua purificada, se filtró, se trituró de nuevo con 14.8 kg de agua purificada, y se filtró. El sólido se regresó al matraz de 100 L con 39.9 kg de DCM y se sometió a reflujo

con agitación durante 1 hora. Se añadieron 1.5 kg de agua purificada para disolver los sólidos remanentes. La capa orgánica inferior se dividió a un matraz precalentado de 72 L, luego se regresó a un matraz limpio y seco de 100 L. La solución se enfrió a 0° C, se mantuvo durante 1 hora, luego se filtró. La torta de filtro sólida se lavó dos veces cada una con una solución de 9.8 kg de DCM y 5 kg de heptano, luego se secó en el embudo. El sólido se transfirió a bandejas y se secó a un peso constante de 1.855 kg de Ácido 3-Nitro-4-(2-oxopropil)benzoico. Rendimiento general de 42% del compuesto **1**. HPLC 99.45%.

3. Preparación de Succinato de N-Tritilpiperazina (NTP)



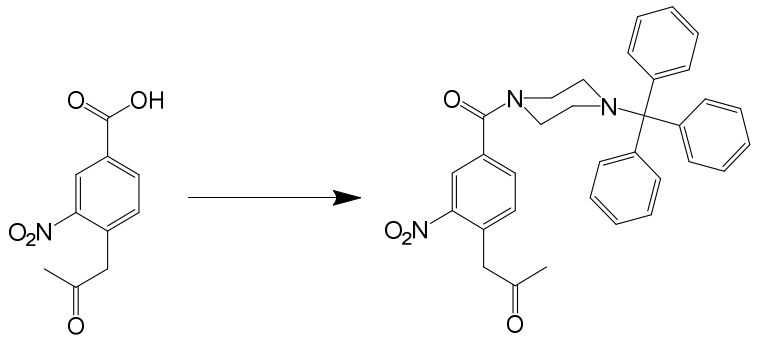
A un matraz encamisado de 72 L se cargaron bajo nitrógeno 1.805 kg de cloruro de trifenilmetilo y 8.3 kg de tolueno (Solución de TPC). La mezcla se agitó hasta que los sólidos se disolvieron. A un matraz de reacción encamisado de 100 L se añadieron bajo nitrógeno 5.61 kg de piperazina, 19.9 kg de tolueno, y 3.72 kg de metanol. La mezcla se agitó y se enfrió a 0° C. A esto se añadió lentamente en porciones la solución de TPC durante 4 horas mientras la temperatura de reacción se mantuvo a o por debajo de 10° C. La mezcla se agitó

durante 1.5 horas a 10° C, luego se dejó calentar a 14° C. Se cargaron 32.6 kg de agua purificada al matraz de 72 L, luego se transfirió al matraz de 100 L mientras la temperatura interna del lote se mantuvo a 20+/-5° C. Las capas se dejaron dividir y la capa acuosa inferior se separó y se almacenó. La capa orgánica se extrajo tres veces con 32 kg de agua purificada cada una, y las capas acuosas se separaron y combinaron con la solución acuosa almacenada.

La capa orgánica restante se enfrió a 18° C y una solución de 847 g de ácido succínico en 10.87 kg de agua purificada se añadió lentamente en porciones a la capa orgánica. La mezcla se agitó durante 1.75 horas a 20+/-5° C. La mezcla se filtró, y los sólidos se lavaron con 2 kg de TBME y 2 kg de acetona, luego se secaron en el embudo. La torta de filtro se trituró dos veces con 5.7 kg cada una de acetona y se filtró y se lavó con 1 kg de acetona entre las trituraciones. El sólido se secó en el embudo, luego se transfirió a bandejas y se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente a un peso constante de 2.32 kg de NTP. Rendimiento de 80%.

4. Preparación de (4-(2-Hidroxipropil)-3-Nitrofenil)(4-Tritilpiperazin-1-il)Metanona

A. Preparación de 1-(2-Nitro-4(4-Tritilpiperazin-1-Carbonil)Fenil)Propan-2-ona

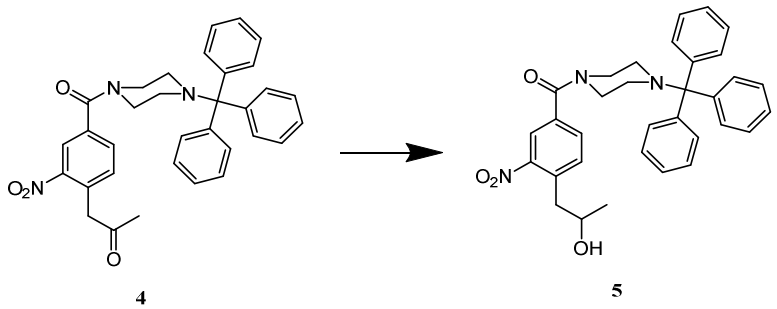


3 **4**

A un matraz encamisado de 100 L se cargaron bajo nitrógeno 2 kg de Ácido 3-Nitro-4-(2-oxopropil)benzoico (**3**), 18.3 kg de DCM, 1.845 kg de clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC.HCl). La solución se agitó hasta que se formó una mezcla homogénea. Se añadieron 3.048 kg de NTP durante 30 minutos a temperatura ambiente y se agitó durante 8 horas. Se añadieron 5.44 kg de agua purificada a la mezcla de reacción y se agitó durante 30 minutos. Las capas se dejaron separar y la capa orgánica inferior que contenía el producto se drenó y se almacenó. La capa acuosa se extrajo dos veces con 5.65 kg de DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución de 1.08 kg de cloruro de sodio en 4.08 kg agua purificada. Las capas orgánicas se secaron sobre 1.068 kg de sulfato de sodio y se filtraron. El sulfato de sodio se lavó con 1.3 kg de DCM. Las capas orgánicas combinadas se formaron en lechada con 252 g de gel de sílice y se filtraron a través de un embudo de filtro que contenía un lecho de 252 g de gel de sílice. El lecho de gel de sílice se lavó con 2 kg de DCM. Las capas orgánicas combinadas se

evaporaron en un evaporador rotatorio. Se añadieron 4.8 kg de THF al residuo y luego se evaporó en el evaporador rotatorio hasta que se lograron 2.5 volúmenes de la 1-(2-nitro-4(4-tritilpiperazin-1-carbonil)fenil)propan-2-ona cruda en THF.

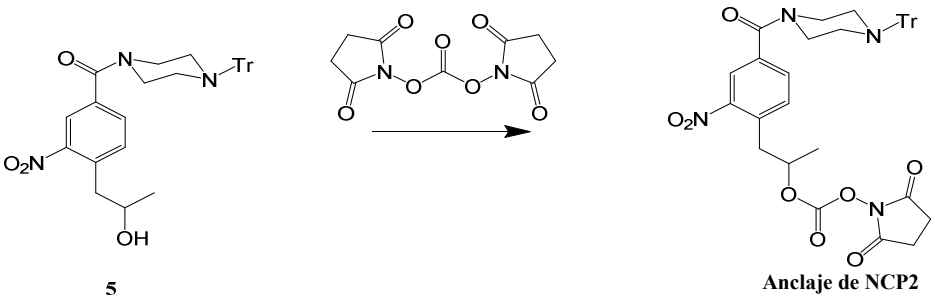
B. Preparación de (4-(2-Hidroxipropil)-3-Nitrofenil)(4-Tritilpiperazin-1-il)Metanona (**5**)



A un matraz encamisado de 100 L se cargaron bajo nitrógeno 3600 g de **4** de la etapa previa y 9800 g de THF. La solución agitada se enfrió to ≤5°C. La solución se diluyó con 11525 g de etanol y se añadieron 194 g de borohidruro de sodio durante aproximadamente 2 horas a ≤5°C. La mezcla de reacción se agitó unas 2 horas adicionales a ≤5°C. La reacción se apagó con una solución de aproximadamente 1.1 kg de cloruro de amonio en aproximadamente 3 kg de agua por adición lenta para mantener la temperatura a ≤10°C. La mezcla de reacción se agitó unos 30 minutos adicionales, se filtró para remover los inorgánicos, y se recargó a un matraz encamisado de 100 L y se extrajo con 23 kg de DCM. La capa orgánica se separó y lo acuoso se extrajo dos veces más con 4.7 kg de DCM cada una. Las capas orgánicas

combinadas se lavaron con una solución de aproximadamente 800 g de cloruro de sodio en aproximadamente 3 kg de agua, luego se secaron sobre 2.7 kg de sulfato de sodio. La suspensión se filtró y la torta de filtro se lavó con 2 kg de DCM. Los filtrados combinados se concentraron a 2.0 volúmenes, se diluyeron con aproximadamente 360 g de acetato de etilo, y se evaporaron. El producto crudo se cargó sobre una columna de gel de sílice de 4 kg de sílice empacada con DCM bajo nitrógeno y se eluyó con 2.3 kg acetato de etilo en 7.2 kg de DCM. Las fracciones combinadas se evaporaron y el residuo se recuperó en 11.7 kg de tolueno. La solución de tolueno se filtró y la torta de filtro se lavó dos veces con 2 kg de tolueno cada una. La torta de filtro se secó a un peso constante de 2.275 kg de compuesto **5** (46% de rendimiento del compuesto **3**) HPLC 96.99%.

5. Preparación de 2,5-Dioxopirrolidin-1-il(1-(2-Nitro-4-(4-trifenilmetilpiperazin-1 Carbonil)Fenil)Propan-2-il)Carbonato (**Anclaje de NCP2**)



A un matraz encamisado de 100 L se cargaron bajo nitrógeno 4.3 kg de compuesto **5** (el peso se ajustó con base en

el tolueno residual por ^{1}H NMR; todos los reactivos aquí después se escalaron por consiguiente) y 12.7 kg de piridina. A esto se cargaron 3.160 kg de DSC (78.91% en peso por ^{1}H NMR) mientras que la temperatura interna se mantuvo a ≤35°C. La mezcla de reacción se envejeció durante aproximadamente 22 horas a ambiente, luego se filtró. La torta de filtro se lavó con 200 g de piridina. En dos lotes, cada uno comprendiendo ½ del volumen filtrado, el lavado de filtrado se cargó lentamente a un matraz encamisado de 100 L que contenía una solución de aproximadamente 11 kg de ácido cítrico en aproximadamente 50 kg de agua y se agitó durante 30 minutos para permitir la precipitación de sólido. El sólido se recolectó con un embudo de filtro, se lavó dos veces con 4.3 kg de agua por lavado y se secó en el embudo de filtro bajo vacío.

Los sólidos combinados se cargaron a un matraz encamisado de 100 L y se disolvieron en 28 kg de DCM y se lavaron con una solución de 900 g de carbonato de potasio en 4.3 kg de agua. Después de 1 hora, las capas se dejaron separar y la capa acuosa se removió. La capa orgánica se lavó con 10 kg de agua, se separó y se secó durante 3.5 kg de sulfato de sodio. El DCM se filtró, se evaporó y se secó bajo vacío a 6.16 kg de **anclaje de NCP2** (114% de rendimiento).

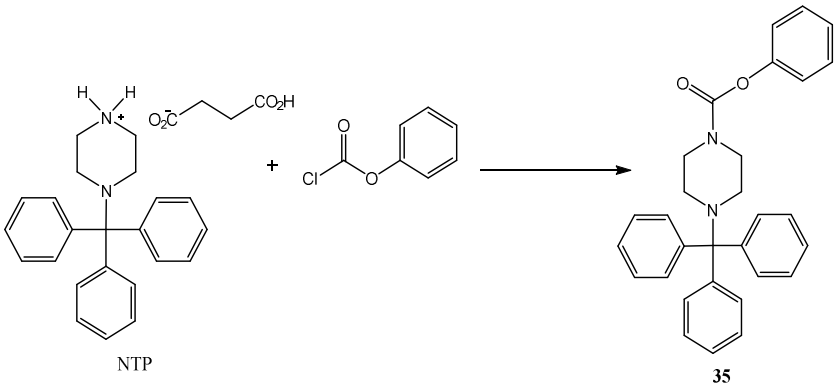
Ejemplo 2: Síntesis de Resina Cargada con Anclaje

A un reactor de síntesis de fase sólida de 75 L se

cargaron aproximadamente 52 L de NMP y 2600 g de resina de aminometil poliestireno. La resina se agitó en el NMP para hincharse durante aproximadamente 2 horas, luego se drenó. La resina se lavó dos veces con aproximadamente 39 L de DCM por lavado, luego dos veces con 39 L de Solución de Neutralización por lavado, luego dos veces con 39 L de DCM por lavado. La Solución de Anclaje de NCP2 se añadió lentamente a la solución de resina agitada, se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente, y se drenó. La resina se lavó cuatro veces con 39 L de NMP por lavado, y seis veces con 39 L de DCM por lavado. La resina se trató y se agitó con ½ de la Solución de Terminación de Cadena DEDC durante 30 minutos, se drenó y se trató y se agitó con la 2ª ½ de la Solución de Terminación de Cadena DEDC durante 30 minutos y se drenó. La resina se lavó seis veces con 39 L de DCM por lavado, luego se secó en un horno a peso constante de 3573.71 g de Resina Cargada con Anclaje.

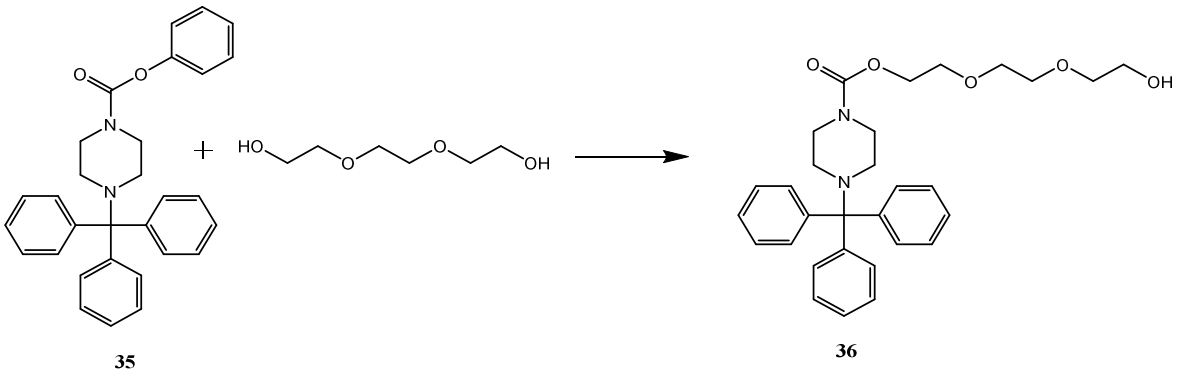
Ejemplo 3: Preparación de Cola EG3 Activada

1. Preparación de Tritil Piperazin Fenil Carbamato 35



A una suspensión enfriada de NTP en diclorometano (6 mL/g NTP) se añadió una solución de carbonato de potasio (3.2 eq) en agua (4 mL/g de carbonato de potasio). A esta mezcla de dos fases se añadió lentamente una solución de cloroformiato de fenilo (1.03 eq) en diclorometano (2 g/g de cloroformiato de fenilo). La mezcla de reacción se calentó a 20°C. Tras la terminación de la reacción (1-2 hr), las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con agua, y se secó sobre carbonato de potasio anhidro. El producto 35 se aisló por cristalización a partir de acetonitrilo. Rendimiento = 80%

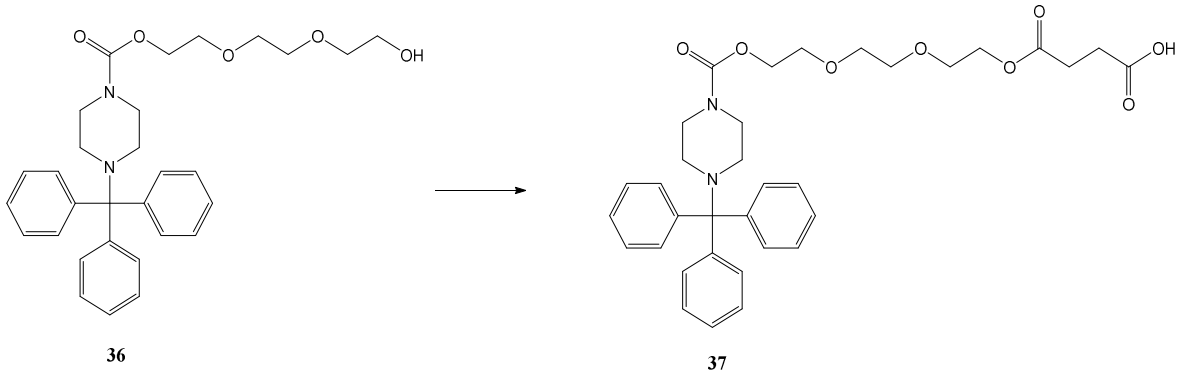
2. Preparación de Alcohol Alcohol de Carbamato 36



Anhídrido de sodio (1.2 eq) se suspendió en 1-metil-2-pirrolidinona (32 mL/g de hidruro de sodio). A esta suspensión se añadieron trietilenglicol (10.0 eq) y compuesto 35 (1.0 eq). La lechada resultante se calentó a 95° C. Tras la terminación de la reacción (1-2 hr), la mezcla se enfrió a 20° C. A esta mezcla, se añadió 30% diclorometano/metil terc-butil éter (v:v) y agua. La capa orgánica que contenía el producto se lavó

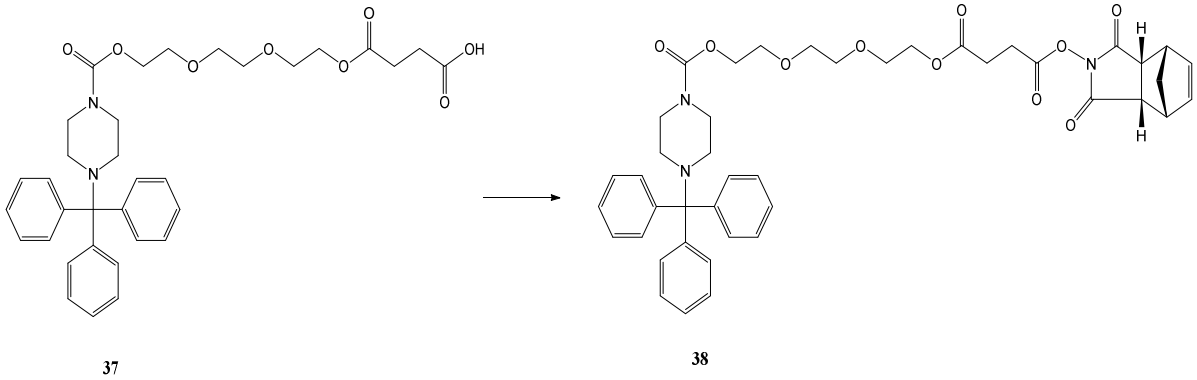
sucesivamente con NaOH acuoso, ácido succínico acuoso y cloruro de sodio acuoso saturado. El producto 36 se aisló por cristalización a partir de diclorometano/metil terc-butil éter/heptano. Rendimiento = 90%.

3. Preparación de Ácido de Cola de EG3 37



A una solución del compuesto 36 en tetrahidrofurano (7 mL/g 36) se añadió anhídrido succínico (2.0 eq) y DMAP (0.5 eq). La mezcla se calentó a 50° C. Tras la terminación de la reacción (5 hr), la mezcla se enfrió a 20° C y se ajustó a pH 8.5 con $NaHCO_3$ acuoso. Se añadió metil terc-butil éter, y el producto se extrajo en la capa acuosa. Se añadió diclorometano, y la mezcla se ajustó a pH 3 con ácido cítrico acuoso. La capa orgánica que contenía el producto se lavó con una mezcla de amortiguador de citrato pH = 3 y cloruro de sodio acuoso saturado. Esta solución de diclorometano de 37 se utilizó sin aislamiento en la preparación del compuesto 38.

4. Preparación de Cola de EG3 Activada 38



A la solución del compuesto 37 se añadió imida del ácido N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboxílico (HONB) (1.02 eq), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0.34 eq), y luego clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC) (1.1 eq). La mezcla se calentó a 55° C. Tras la terminación de la reacción (4-5 hr), la mezcla se enfrió a 20° C y se lavó sucesivamente con ácido cítrico 0.2 M/salmuera 1:1 y salmuera. La solución de diclorometano se sometió a intercambio de solvente con acetona y luego con N,N-dimetilformamida y el producto se aisló por precipitación a partir de acetona/N,N-dimetilformamida en cloruro de sodio acuoso saturado. El producto crudo se reformó en lechada varias veces en agua para remover la N,N-dimetilformamida residual y sales. Rendimiento = 70% de Cola de EG3 Activada 38 del compuesto 36.

Ejemplo 4: Síntesis en Fase Sólida de 50 L de Sustancia Farmacológica Cruda Golodirsen [Compuesto Oligomérico (XII)]

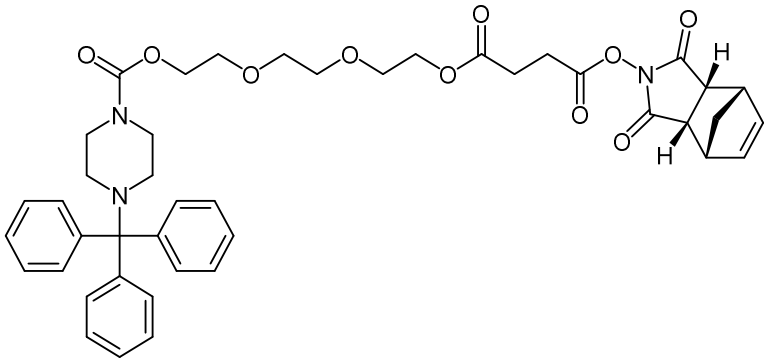
1. Materiales

Tabla 2: Materiales de Partida

Nombre del Material	Nombre Químico	Número CAS	Fórmula Química	Peso Molecular
Subunidad A Activada	Éster *N,N*-dimetil-,[6-[6-(benzoilamino)-9H-purin-9-il]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metílico del ácido fosforamidoclorídico	1155373-30-0	$C_{38}H_{37}ClN_7O_4P$	722.2
Subunidad C Activada	Éster *N,N*-dimetil-,[6-[4-(benzoilamino)-2-oxo-1(2H)-pirimidinil]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metílico del ácido fosforamidoclorídico	1155373-31-1	$C_{37}H_{37}ClN_5O_5P$	698.2
Subunidad DPG Activada	Éster 2,2-dimetil-,4-[[[9-[6-[[[cloro(dimetilamino)fosfinil]oxi]metil]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]-2-[(2-fenilacetil)amino]-9H-purin-6-il]oxi]metil]fenílico del ácido propanoico	1155309-89-9	$C_{51}H_{53}ClN_7O_7P$	942.2
Subunidad T Activada	Fosforamidocloridic acid, Éster *N,N*-dimetil-,[6-(3,4-dihidro-5-metil-2,4-dioxo-1(2H)-pirimidinil)]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metílico del ácido fosforamidoclorídico	1155373-34-4	$C_{31}H_{34}ClN_4O_5P$	609.1
Cola de EG3 Activada	Éster 1-[3aR,4S,7R,7aS)-1,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1,3-dioxo-4,7-metano-2H-isoindol-2-il] 4-[2-[2-[2-[[[4-(trifenilmetil)-1-piperazinil]carbonil]oxi]etoxi]etoxi]etil] del ácido butanodioico	1380600-06-5	$C_{43}H_{47}N_3O_{10}$	765.9

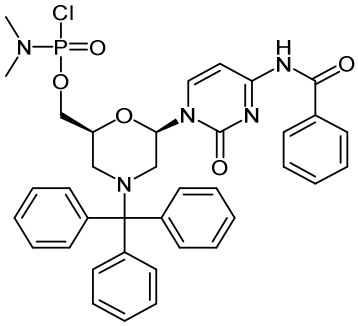
Estructuras Químicas de los Materiales de Partida:

A. Cola de EG3 Activada



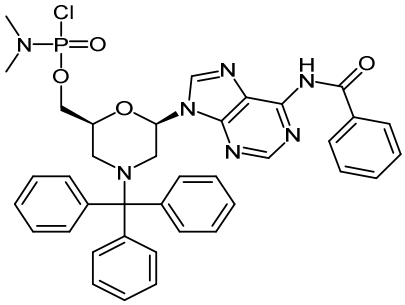
Compuesto (B)

B. Subunidad C Activada (Para la preparación, ver Patente de Estados Unidos No. 8,067,571)



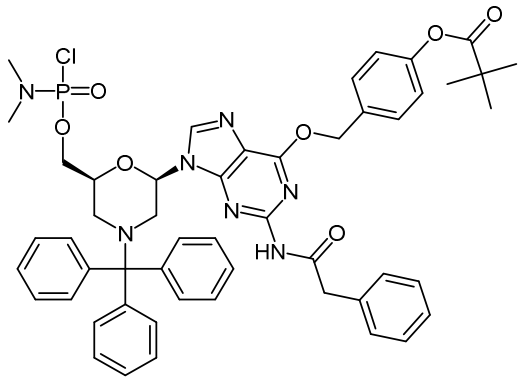
Compuesto (C1)

C. Subunidad A Activada (Para la preparación, ver Patente de Estados Unidos No. 8,067,571)



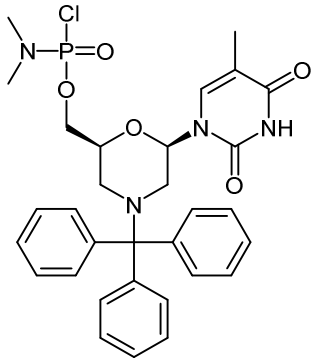
Compuesto (D1)

D. Subunidad DPG Activada (Para la preparación, ver WO 2009/064471)



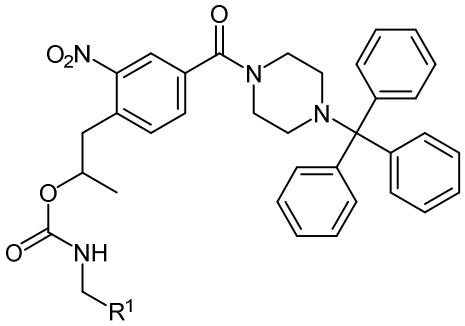
Compuesto (DPG1)

E. Subunidad T Activada (Para la preparación, ver WO 2013/082551)



Compuesto (T1)

F. Resina Cargada con Anclaje



Formula (I)

en donde R^1 es un medio de soporte.

Tabla 3: Descripción de Soluciones para la Síntesis de Oligómero en Fase Sólida de la Sustancia Farmacológica Cruda Golodirsen

Nombre de la Solución	Composición de la Solución
Solución de Anclaje de NCP2	37.5 L de NMP y 1292 g de Anclaje de NCP2
Solución de Terminación de Cadena DEDC	4.16 L de Dicarbonato de Dietilo (DEDC), 3.64 L de NEM, y 33.8 L de DCM
Solución CYTFA	2.02 kg de 4-cianopiridina, 158 L de DCM, 1.42 L de TFA, 39 L de TFE, y 2 L de agua purificada
Solución de Neutralización	35.3 L de IPA, 7.5 L de DIPEA, y 106.5 L de DCM
Solución de Escisión	1,530.04 g de DTT, 6.96 L de NMP, y 2.98 L de DBU

2. Síntesis de la Sustancia Farmacológica Cruda Golodirsen

A. Hinchamiento de la resina

Se cargaron 750 g de Resina Cargada con Anclaje y 10.5 L de NMP a un reactor silanizado de 50 L y se agitó durante 3 horas. El NMP se drenó y la Resina Cargada con Anclaje se lavó dos veces con 5.5 L cada una de DCM y dos veces con 5.5 L cada una de 30% TFE/DCM.

B. Ciclo 0: Acoplamiento de Cola de EG3

La Resina Cargada con Anclaje se lavó tres veces con

5.5 L cada una de 30% TFE/DCM y se drenó, se lavó con 5.5 L de solución de CYFTA durante 15 minutos y se drenó y de nuevo se lavó con 5.5 L de Solución de CYTFA durante 15 minutos sin drenado a la cual se cargaron 122 mL de 1:1 NEM/DCM y la suspensión se agitó durante 2 minutos y se drenó. La resina se lavó una vez con 5.5 L de Solución de Neutralización durante 10 minutos y se drenó, dos veces con 5.5 L de Solución de Neutralización durante 5 minutos y se drenó, luego dos veces con 5.5 L cada una de DCM y se drenó. Una solución de 706.2 g de cola de EG3 activada (MW 765.85) y 234 mL de NEM en 3 L de DMI se cargaron a la resina y se agitó durante 3 horas a RT y se drenó. La resina se lavó una vez con 5.5 L de Solución de Neutralización durante 10 minutos y se drenó, una vez con 5.5 L de Solución de Neutralización durante 10 minutos y se drenó, una vez con 5.5 L de Solución de Neutralización durante 5 minutos y se drenó, y una vez con 5.5 L de DCM y se drenó. Una solución de 374.8 g de anhídrido benzoico y 195 mL de NEM en 2680 mL de NMP se cargaron y se agitó durante 15 minutos y se drenó. La resina se lavó una vez con 5.5 L de Solución de Neutralización durante 10 minutos y se drenó, una vez con 5.5 L de Solución de Neutralización durante 5 minutos y se drenó y una vez con 5.5 L de DCM y se drenó y dos veces con 5.5 L cada una de 30% TFE/DCM. La resina se suspendió en 5.5 L de 30% TFE/DCM y se mantuvo durante 14 horas.

C. Ciclos 1-30 de Acoplamiento de Subunidad

i. Tratamientos de pre-acoplamiento

Antes de cada ciclo de acoplamiento como se describe en la Figura 1, la resina: 1) se lavó con 30% TFE/DCM; 2) a) se trató con Solución de CYTFA 15 minutos y se drenó, y b) se trató con Solución de CYTFA durante 15 minutos a la cual se añadió 1:1 NEM/DCM, se agitó, y se drenó; 3) se agitó tres veces con Solución de Neutralización; y 4) se lavó dos veces con DCM. Ver Tabla 4.

ii. Tratamientos Post-Acoplamiento

Después que cada solución de subunidad se drenó como se describe en la Tabla 4, la resina: 1) se lavó con DCM; y 2) se lavó tres veces con 30% TFE/DCM. Si la resina se mantuvo durante un periodo de tiempo antes del siguiente ciclo de acoplamiento, el primer lavado con TFE/DCM no se drenó y la resina se retuvo en la solución de lavado con TFE/DCM. Ver Tabla 4.

iii. Ciclos de Acoplamiento de Subunidad Activada

Los ciclos de acoplamiento se realizaron como se describe en la Tabla 4.

iv. Lavado con IPA Final

Después que la etapa de acoplamiento final se realizó

como se describe en la Tabla 4, la resina se lavó 8 veces con 19.5 L cada una de IPA, y se secó bajo vacío a temperatura ambiente durante aproximadamente 63.5 horas a un peso seco de 4857.9 g.

D. Escisión

La Sustancia Farmacológica Cruda Eteplisen unida a la resina anterior se dividió en dos lotes, cada lote se trató como sigue. Un lote de 1619.3 g de resina: 1) se agitó con 10 L de NMP durante 2 hrs, luego el NMP se drenó; 2) se lavó tres veces con 10 L cada una de 30% TFE/DCM; 3) se trató con 10 L de Solución de CYTFA durante 15 minutos; y 4) 10 L de Solución de CYTFA durante 15 minutos a la cual luego se añadieron 130 ml de 1:1 NEM/DCM y se agitó durante 2 minutos y se drenó. La resina se trató tres veces con 10 L cada una de Solución de Neutralización, se lavó seis veces con 10 L de DCM, y ocho veces con 10 L cada una de NMP. La resina se trató con una Solución de Escisión de 1530.4 g de DTT y 2980 DBU en 6.96 L de NMP durante 2 horas para separar la Sustancia Farmacológica Cruda Eteplisen de la resina. La Solución de Escisión se drenó y se retuvo en un recipiente separado. El reactor y la resina se lavaron con 4.97 L de NMP la cual se combinó con la Solución de Escisión.

Tabla 4:

Ciclo No.: Subunidad (SU)	Tratamiento de Pre-Acoplamiento				Ciclo de Acoplamiento		Tratamiento de Post-Acoplamiento	
	1	2	3	4			1	2
	Lavado con 30% TFE/DCM	Solución de CYTFA[1]	Solución de Neutralización	Lavado con DCM	Cantidad de SU (g) NEM (L) DMI (L)	Tiempo de Acoplamiento RT (Hrs.)	Lavado con DCM	Lavado con 30% TFE/DCM
1:DPG	5.5L	a) 5,5L b) 5.5L, 122ml	3x5.5L	5.5L	536.7g; 195 ml de NEM; 3.2L de DMI	5	5.5L	3x5.5L
2:T	7.0L	a) 7L b) 7L, 158ml	3x7L	2x7L	468.2g y 195ml de NEM 3.2L de DMI	4.25	7L	3x7L
3:T	8L	a) 8L b) 8L, 182ml	3x8L	2x8L	536.7g; 195ml de NEM; 3.4L de DMI	4.25	8L	3x8L
4:DPG	9L	a) 9L b) 9L, 206ml	3x9L	2x9L	536.7g; 195ml de NEM; 3.6L de DMI	4.25	9L	3x9L
5:C	9.5L	a) 9.5L b) 9.5L, 220ml	3x9.5L	2x9.5L	555.2g; 195ml de NEM; 3.4L de DMI	4.25	9.5L	3x9.5L
6:C	10L	a) 10L b) 10L, 232ml	3x10L	2x10L	555.2g; 195ml de NEM; 3.45L de DMI	4.25	10L	3x10L

Ciclo No.: Subunidad (SU)	Tratamiento de Pre-Acoplamiento				Ciclo de Acoplamiento		Tratamiento de Post-Acoplamiento	
	1	2	3	4			1	2
	Lavado con 30% TFE/DCM	Solución de CYTFA[1]	Solución de Neutralización	Lavado con DCM	Cantidad de SU (g) NEM (L) DMI (L)	Tiempo de Acoplamiento RT (Hrs.)	Lavado con DCM	Lavado con 30% TFE/DCM
7:T	11L	a) 11L b) 11L, 256ml	3x11L	2x11L	536.7g; 195ml de NEM; 3.57L de DMI	4.25	11L	3x11L
8:C	11L	a) 11L b) 11L, 256ml	3x11L	2x11L	555.2g; 195ml de NEM; 3.64L de DMI	4.25	11L	3x11L
9:C	11.5L	a) 11.5L b) 11.5L 268ml	3x11.5L	2x 11.5L	468.2g; 195ml de NEM; 3.72L de DMI	4.25	11.5L	3x11.5L
10:DPG	12L	a) 12L b) 12L, 280ml	3x12L	2x12L	536.7g; 195ml de NEM; 3.96L de DMI	4.25	12L	3x12L
11:DPG	13.5L	a) 13.5L b) 13.5L, 204ml	3x13.5L	2x 13.5L	721.7g; 253ml de NEM; 4.02L de DMI	4.25	13.5L	3x13.5L
12:T	13.5L	a) 13.5L b) 13.5L, 204ml	3x13.5L	2x 13.5L	721.7g; 253ml de NEM; 4.02L de DMI	4.25	13.5L	3x13.5L
13:T	14L	a) 14L b) 14L, 216ml	3x14L	2x14L	941.9g; 253ml de NEM;	4.25	14L	3x14L

Ciclo No.: Subunidad (SU)	Tratamiento de Pre-Acoplamiento				Ciclo de Acoplamiento		Tratamiento de Post-Acoplamiento	
	1	2	3	4			1	2
	Lavado con 30% TFE/DCM	Solución de CYTFA[1]	Solución de Neutralización	Lavado con DCM	Cantidad de SU (g) NEM (L) DMI (L)	Tiempo de Acoplamiento RT (Hrs.)	Lavado con DCM	Lavado con 30% TFE/DCM
					4.02L de DMI			
14:C	14.5L	a) 14.5L b) 14.5L, 228ml	3x14.5L	2x 14.5L	941.9g; 253ml de NEM; 4.1L de DMI	4.25	14.5L	3x14.5L
15:T	15.5L	a) 15.5L b) 15.5L, 254ml	3x15.5L	2x 15.5L	721.7g; 253ml de NEM; 4.26L de DMI	4.25	15.5L	3x15.5L
16:DPG	15.5L	a) 15.5L b) 15.5L, 254ml	3x15.5L	2x 15.5L	721.7g; 253ml de NEM; 4.26L de DMI	4.25	15.5L	3x15.5L
17:A	16L	a) 16L b) 16L, 366ml	3x16L	2x16L	941.9g; 253ml de NEM; 4.4L de DMI	4.75	16L	3x16L
18:A	16.5L	a) 16.5L b) 16.5L, 378ml	3x16.5L	2x 16.5L	721.7g; 253ml de NEM; 4.4L de DMI	4.25	16.5L	3x16.5L
19: DPG	16.5L	a) 16.5L b) 16.5L, 378ml	3x16.5L	2x 16.5L	608.7g; 253ml de NEM; 4.57L de DMI	4.25	16.5L	3x16.5L

Ciclo No.: Subunidad (SU)	Tratamiento de Pre-Acoplamiento				Ciclo de Acoplamiento		Tratamiento de Post-Acoplamiento	
	1	2	3	4			1	2
	Lavado con 30% TFE/DCM	Solución de CYTFA[1]	Solución de Neutralización	Lavado con DCM	Cantidad de SU (g) NEM (L) DMI (L)	Tiempo de Acoplamiento RT (Hrs.)	Lavado con DCM	Lavado con 30% TFE/DCM
20:DPG	17L	a) 17L b) 17L, 390ml	3x17L	2x17L	941.9g; 253ml de NEM; 4.57L de DMI	4.75	17L	3x17L
21:T	17L	a) 17L b) 17L, 390ml	3x17L	2x17L	1159.2g; 311ml de NEM; 4.72L de DMI	4.25	17L	3x17L
22: DPG	17.5L	a) 17.5L b) 17.5L, 402ml	3x17.5L	2x 17.5L	858.7g; 311ml de NEM; 4.72L de DMI	4.75	17.5L	3x17.5L
23:T	17.5L	a) 17.5L b) 17.5L, 402ml	3x17.5L	2x 17.5L	888.3g; 311ml de NEM; 4.88L de DMI	4.25	17.5L	3x17.5L
24:T	18L	a) 18L b) 18L, 414ml	3x18L	2x18L	749.1g; 311ml de NEM; 4.95L de DMI	4.25	18L	3x18L
25:C	18L	a) 18L b) 18L, 414ml	3x18L	2x18L	749.1g; 311ml de NEM; 5.1L de DMI	4.25	18L	3x18L

[1] ml indica la cantidad de 1:1 NEM/DCM

E. Desprotección

La Solución de Escisión combinada y lavado con NMP se transfirieron a un recipiente de presión al cual se añadieron 39.8L de NH_4OH ($NH_3 \bullet H_2O$) que se había enfriado a una temperatura de -10° a -25°C en un congelador. El recipiente de presión se selló y se calentó a 45°C durante 16hrs, luego se dejó enfriar a 25°C. Esta solución de desprotección que contenía la sustancia farmacológica cruda Golodirsen se diluyó 3:1 con agua purificada antes de la remoción del solvente. Durante la remoción del solvente, la solución de desprotección se ajustó de pH a 3.0 con ácido fosfórico 2M, luego a pH 8.03 con NH_4OH. HPLC: C18 77.552% (**Fig. 1**) y SCX-10 73.768% (**Fig. 2**).

Ejemplo 5: Purificación de la Sustancia Farmacológica Cruda Golodirsen

La solución de desprotección del Ejemplo 4, parte E, que contenía la sustancia farmacológica cruda Golodirsen se cargó en una columna de resina de intercambio aniónico ToyoPearl Super-Q 650S (Tosoh Bioscience) y se eluyó con una gradiente de 0-35% B sobre 17 volúmenes de columna (Amortiguador A: hidróxido de sodio 10 mM; Amortiguador B: cloruro de sodio 1 M en hidróxido de sodio 10 mM) y fracciones de pureza aceptable (C18 y SCX HPLC) se agruparon a una solución de producto farmacéutico purificada. HPLC: 93.571% (**C18; Fig. 3**) 88.270% (SCX; **Fig. 4**).

La solución de sustancia farmacológica purificada se desaló y se liofilizó a 1959 g de sustancia farmacológica Golodirsen purificada. Rendimiento de 54.56%; HPLC: 93.531% (**Fig. 5**; C18) 88.354% (**Fig. 6**; SCX).

Tabla 5. Acrónimos

Acrónimo	**Nombre**
DBU	1,8-Diazabicicloundec-7-eno
DCM	Diclorometano
DIPEA	N,N-Diisopropiletilamina
DMI	1,3-Dimetil-2-imidazolidinona
DTT	Ditiotreitol
IPA	Alcohol Isopropílico
MW	Peso molecular
NEM	N-Etilmorfolina
NMP	N-Metil-2-pirrolidona
RT	Temperatura ambiente
TFA	Ácido 2,2,2-Trifluoroacético
TFE	2,2,2-Trifluoroetanol

INCORPORACIÓN COMO REFERENCIA

El contenido de todas las referencias (incluyendo referencias de literatura, patentes emitidas, solicitudes de patente publicadas y solicitudes de patente copendientes) citadas en toda esta solicitud se incorporan expresamente en la presente en sus totalidades. A menos que se define de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la

presente son de acuerdo con el significado comúnmente conocido por un experto ordinario en la técnica.

EQUIVALENTES

Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar usando no más que experimentación rutinaria, muchos equivalentes de las modalidades específicas de la descripción descrita en la presente. Tales equivalentes están destinados a ser incluidos por las siguientes reivindicaciones.