

**COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS DE OLIGÓMERO DE MORFOLINO
FÓSFORODIAMIDATO**

SOLICITUDES RELACIONADAS

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la
solicitud de patente provisional de los Estados Unidos no.
62/340,947, presentada el 24 de mayo de 2016, y la solicitud
de patente provisional de Estados Unidos no. 62/429,160,
presentada el 2 de diciembre de 2016, los contenidos completos
10 de cada una de las cuales se incorporan en la presente como
referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La tecnología antisentido proporciona un medio para
15 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
20 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
25 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 caracteriza 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.

Eteplirsén es un oligómero de morfolino fósforodiamidato (PMO) diseñado para omitir el exón 51 del gen de distrofina humana en pacientes con DMD que son susceptibles

a la omisión de exón 51 para restaurar el marco de lectura y producir una forma funcional más corta de la proteína distrofina. Sarepta Therapeutics, Inc., presentó una Solicitud de Nuevo Fármaco (NDA) a la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (FDA) que busca la aprobación para el tratamiento de DMD en pacientes susceptibles a la omisión de exón 51. La NDA de Sarepta actualmente está bajo revisión por la FDA.

Aunque se ha realizado un progreso significativo en el campo de la tecnología antisentido, permanece una necesidad en la técnica de formulaciones farmacéuticas que comprenden oligonucleótidos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden Eteplirsen en donde la concentración de Eteplirsen es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica. En la presente también se proporcionan métodos para tratar una enfermedad muscular en un sujeto en necesidad de los mismos, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de la descripción.

Por consiguiente, en un aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) Eteplirsen;
- b) cloruro de sodio;

- c) cloruro de potasio;
- d) fosfato de potasio monobásico;
- e) fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua,

5 en donde la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

También se conciben otras sustancias de formulación que son conocidas en general por un experto en la técnica.

En todavía otro aspecto, en la presente se
10 proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) 40-60 mg de Eteplirsén;
- b) 6.4-9.6 mg de cloruro de sodio;
- c) 0.16-0.24 mg de cloruro de potasio;
- d) 0.16-0.24 mg de fosfato de potasio monobásico;
- 15 e) 0.91-1.37 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) 80-120 mg de Eteplirsén;
- 20 b) 12.8-19.2 mg de cloruro de sodio;
- c) 0.32-0.48 mg de cloruro de potasio;
- d) 0.32-0.48 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 1.02-1.54 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

25 En aún otro aspecto, en la presente se proporciona

una composición farmacéutica, que comprende:

- a) 400-600 mg de Eteplirsén;
- b) 64-96 mg de cloruro de sodio;
- c) 1.6-2.4 mg de cloruro de potasio;
- 5 d) 1.6-2.4 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 9.0-14.0 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

Las composiciones farmacéuticas de la descripción comprenden una concentración de Eteplirsén de aproximadamente
10 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

En otro aspecto, en la presente se proporciona un método para tratar una enfermedad muscular en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica proporcionada en la presente.

15

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La **Figura 1** muestra un cromatograma de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) analítica representativa de una sustancia farmacológica cruda Eteplirsén sintetizada y
20 desprotegida (AVI-4658) (ver Ejemplo 1).

La **Figura 2** muestra un cromatograma de HPLC analítica representativa de una solución de sustancia farmacológica Eteplirsén purificada (ver Ejemplo 2).

La **Figura 3** muestra un cromatograma de HPLC analítica
25 representativa de una sustancia farmacológica Eteplirsén

desalada y liofilizada (ver Ejemplo 2).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En la presente se proporcionan composiciones
5 farmacéuticas que comprenden Eteplirsén. En la presente también
se proporcionan métodos para tratar una enfermedad muscular en
un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al
sujeto una composición farmacéutica de la descripción. El
oligonucleótido de morfolino descrito en la presente
10 (Eteplirsén) muestra una afinidad más fuerte por ADN y ARN sin
comprometer la selectividad de secuencia, con respecto a los
oligonucleótidos nativos o no modificados. En algunas
modalidades, el oligonucleótido de la descripción minimiza o
previene la escisión por RNasa H. En algunas modalidades, el
15 oligonucleótido antisentido de la descripción no activa RNasa
H.

Definiciones

A continuación se listan las definiciones de varios
20 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.

25 El término "unido al soporte" se refiere a una porción

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. Los soportes sólidos y superficies sólidas particularmente útiles 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 un nucleósido 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-
10 [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, 51, 4503, vendido bajo la marca comercial "BIOPAK"
15 por aguas Associates); TENTAGEL (ver, por ejemplo, Wright, et al., *Tetrahedron Lett.* 1993, 34, 3373); matriz en perla de copolímero de estireno/divinilbenceno reticulado, o POROS, un copolímero de poliestireno/divinilbenceno (disponible de
20 PerSeptive 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
25

Internacional WO 1990/02749); copolímeros de dimetilacrilamida reticulada con N,N'-bisacriloloiletilendiamina, incluyendo una cantidad conocida de N-tercbutoxicarbonil-beta-alanil-N'-acrilolihexametilendiamina (ver Atherton, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1975, 97, 6584; Atheron et al., *Bioorg. Chem.* 1979, 8, 351, y Atheron et al., *J. Chem. Soc. Perkin I* 1981; 538); 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, 30, 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 "tratar" o "tratamiento", como se usa en la presente, comprende un tratamiento que alivia, reduce o

mejora al menos un síntoma en un sujeto o produce un retraso en la progresión de una enfermedad. Por ejemplo, el tratamiento puede ser la disminución de uno o varios síntomas de un trastorno o la erradicación completa de un trastorno, tal como

5 distrofia muscular, por ejemplo, distrofia muscular de Duchenne. Dentro del significado de la presente descripción, el término "tratar" también denota detener, retrasar la aparición (es decir, el período anterior a la manifestación clínica de una enfermedad) o reducir el riesgo de desarrollar

10 o empeorar una enfermedad. El término "proteger" se usa en la presente para significar prevenir, retrasar o tratar, o todo, como sea apropiado, el desarrollo, continuación o empeoramiento de una enfermedad en un sujeto, por ejemplo, un mamífero o un humano. El término "prevenir", "previniendo" o "prevención",

15 como se usa en la presente, comprende la prevención de al menos un síntoma asociado o causado por el estado, enfermedad o trastorno que se previene.

El término "sujeto" o "paciente" como se usa en la presente pretende incluir animales, que pueden sufrir o padecer

20 una enfermedad muscular o cualquier trastorno que implica, directa o indirectamente, una enfermedad muscular. Los ejemplos de sujetos incluyen mamíferos, por ejemplo, humanos, monos, monos, perros, vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, gatos, ratones, conejos, ratas y animales transgénicos no humanos. En

25 una modalidad, el sujeto es un humano, por ejemplo, un humano

que sufre, tiene riesgo de padecer o es potencialmente capaz de padecer enfermedades musculares.

“Susceptible a la omisión del exón 51”, como se usa en la presente con respecto a un sujeto o paciente, se destina a incluir sujetos y pacientes que tienen diversas mutaciones en el gen de distrofina que son susceptibles a la omisión de exón 51. Los ejemplos no limitantes de mutaciones en los siguientes exones del gen de distrofina son susceptibles a la omisión de exón 51, por ejemplo: 45-50, 47-50, 48-50, 49-50, 50, 52, 52-63 (base de datos de mutaciones de distrofia muscular de Leiden Duchenne, Leiden University Medical Center, Países Bajos). Determinar si un paciente tiene una mutación en el gen de distrofina que es susceptible a la omisión de exón está dentro del alcance de un experto en la técnica (ver, por ejemplo, Aartsma-Rus et al., *Hum Mut* 2009, 30, 293-299).

Los términos “que comprende” y “que incluye” se usan en la presente en su sentido abierto y no limitante, a menos que se indique lo contrario.

Se debe interpretar que los términos “un” y “uno” y “el” y referencias similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) cubren tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en la presente o claramente se contradiga por el contexto. Cuando la forma plural se usa para compuestos, sales y similares, se considera que esto

significa también un solo compuesto, sal o similares.

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

"USP" se refiere a la Farmacopea de Estados Unidos, incorporada en la presente como referencia en su totalidad, e indica que el material así identificado cumple con las
10 especificaciones de la USP.

"NF" se refiere al Formulario Nacional, incorporado en la presente como referencia en su totalidad, e indica que el material así identificado cumple con las especificaciones de NF.

15

Oligómeros

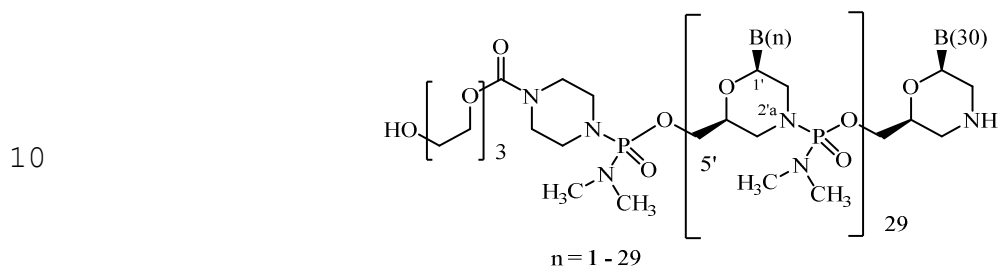
Los oligómeros a base de morfolino (incluyendo los oligómeros antisentido) se detallan, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos Nos. 5,698,685, 5,217,866,
20 5,142,047, 5,034,506, 5,166,315, 5,185,444, 5,521,063, 5,506,337, 8,299,206 y 8,076,476, Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional Nos. WO/2009/064471 y WO/2012/043730, y Summerton et al., *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 1997, 7, 187-195, cada una de las cuales se incorpora en la presente
25 como referencia en su totalidad.

Eteplirsén (ver por ejemplo, Publicación de Solicitud de Patente Internacional No. WO 2006/000057, incorporada en la presente como referencia en su totalidad) ha sido el objeto de estudios clínicos para analizar su seguridad y eficacia y el desarrollo clínico está en curso. Eteplirsén es un oligonucleótido antisentido de morfolino fósforodiamidato (PMO). La distrofina terapéutica "Eteplirsén", también conocida como "AVI-4658", es un PMO que tiene la secuencia base 5'-CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG-3' (SEQ ID NO:1). Eteplirsén se registró bajo el Número de Registro CAS 1173755-55-9. Los nombres químicos incluyen: ARN, [P-desoxi-P-(dimetilamino)](2',3'-didesoxi-2',3'-imino-2',3'-seco)(2'a→5')(C-m5U-C-C-A-A-C-A-m5U-C-A-A-G-G-A-A-G-A-m5U-G-G-C-A-m5U-m5U-m5U-C-m5U-A-G) (SEQ ID NO:2), 5'-[P-[4-[[2-[2-(2-hidroxietoxi)etoxi]etoxi]carbonil]-1-piperazinil]-N,N-dimetilfosfonamidato] y P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-5'-O-{P-[4-(10-hidroxi-2,5,8- trioxadecanoil)piperazin-1-il]-N,N-dimetilfosfonamidoil}-2',3'-imino-2',3'-secocitidilil-(2'a→5')-P,3'-didesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secotimidilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secocitidilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secocitidilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secoadenilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secoadenilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-

(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secocitidilil-(2'a→5')-
 P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-
 secoadenilil-(2'a→5')-P,3'-didesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-
 imino-2',3'-secotimidilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-
 5 (dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secocitidilil-(2'a→5')-
 P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-
 secoadenilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-
 2',3'-imino-2',3'-secoadenilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-
 (dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secoguanilil-(2'a→5')-
 10 P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-
 secoguanilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-
 2',3'-imino-2',3'-secoadenilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-
 (dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secoadenilil-(2'a→5')-
 P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-
 15 secoguanilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-
 2',3'-imino-2',3'-secoadenilil-(2'a→5')-P,3'-didesoxi-P-
 (dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secotimidilil-(2'a→5')-
 P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-
 secoguanilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-
 20 2',3'-imino-2',3'-secoguanilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-
 (dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secocitidilil-(2'a→5')-
 P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-
 secoadenilil-(2'a→5')-P,3'-didesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-
 imino-2',3'-secotimidilil-(2'a→5')-P,3'-didesoxi-P-
 25 (dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secotimidilil-(2'a→5')-P,3'-

didesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secotimidilil-(
 (2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-(dimetilamino)-2',3'-imino-
 2',3'-secocitidilil-(2'a→5')-P,3'-didesoxi-P-(dimetilamino)-
 2',3'-imino-2',3'-secotimidilil-(2'a→5')-P,2',3'-tridesoxi-P-
 5 (dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secoadenilil-(2'a→5')-2',3'-
 didesoxi-2',3'-imino-2',3'-secoguanosina.

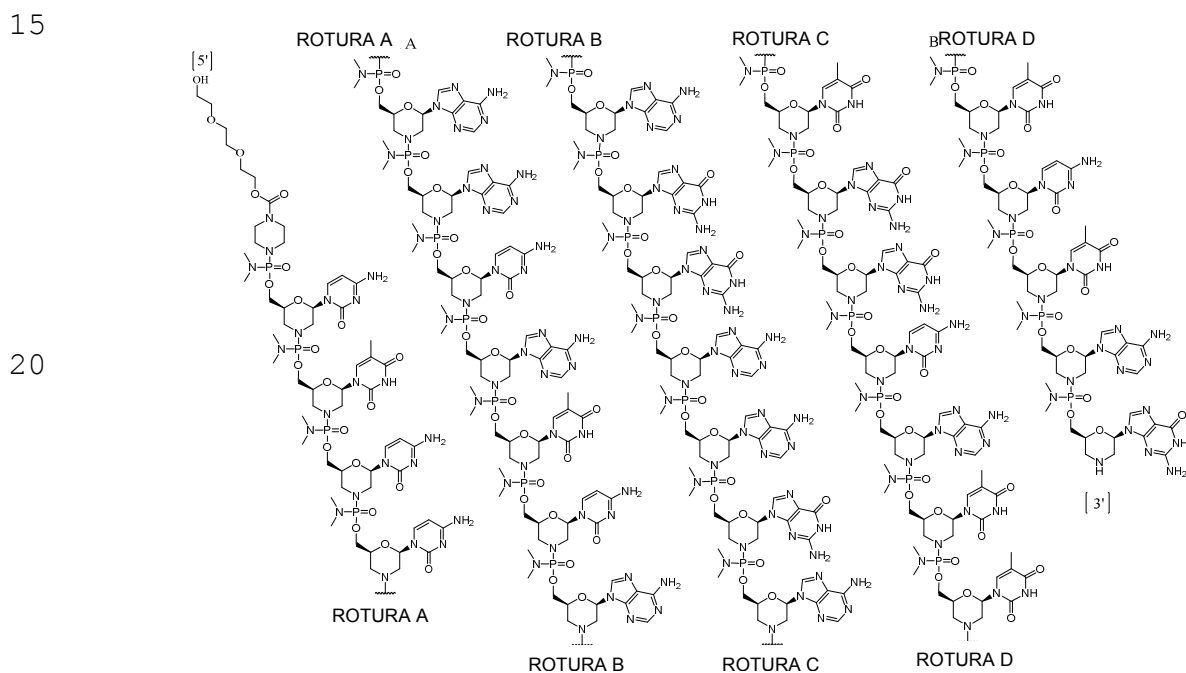
Eteplirsén tiene la siguiente estructura:



B(1-30):

C-T-C-C-A-A-C-A-T-C-A-A-G-G-A-A-G-A-T-G-G-C-A-T-T-T-C-T-A-G (SEQ ID NO:1)

Eteplirsén también se puede representar como se muestra a continuación:



Para mayor claridad, la fórmula estructural de Eteplirsén es una fórmula estructural continua de 5' a 3' y, por la conveniencia de representar la fórmula completa en una forma compacta en la fórmula estructural anterior, los

5 Solicitantes han incluido varias rupturas de ilustración marcadas como "ROTURA A", "ROTURA B", "ROTURA C" y "ROTURA D". Como entendería el experto en la técnica, por ejemplo, cada indicación de "ROTURA A" muestra una continuación de la ilustración de la fórmula estructural en estos puntos. El

10 experto en la técnica entiende que lo mismo es cierto para cada instancia de "ROTURA B", "ROTURA C" y "ROTURA D" en la fórmula estructural de Eteplirsén anterior. Sin embargo, ninguna de las roturas de ilustración pretende indicar, ni los expertos en la técnica entenderían que significan, una interrupción real de

15 la fórmula estructural de Eteplirsén anterior.

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

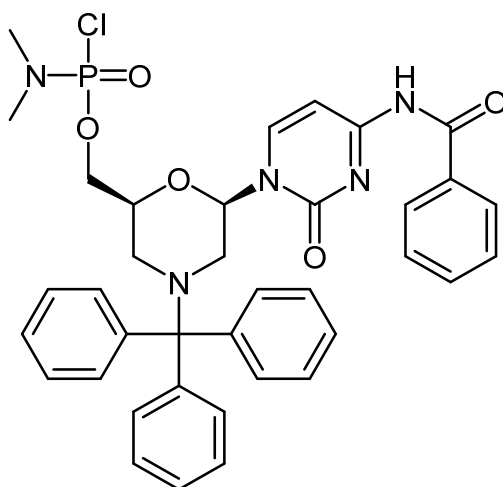
20 York, 1994, páginas 1119-1190, y March, J., *Advanced Organic Chemistry*, 3d. Ed., Chap. 4, John Wiley & Sons, New York (1985)), y pueden presentarse como racematos, mezclas racémicas y como diastereómeros individuales, con todos los posibles isómeros y mezclas de los mismos, incluyendo isómeros ópticos.

25 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
5 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 el Compuesto C, Compuesto D, Compuesto E y Compuesto F:

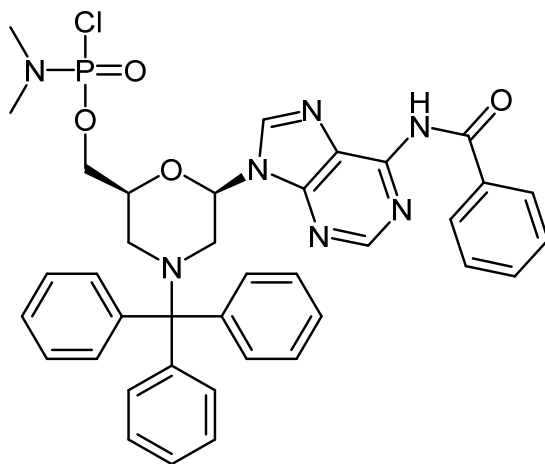
10



15

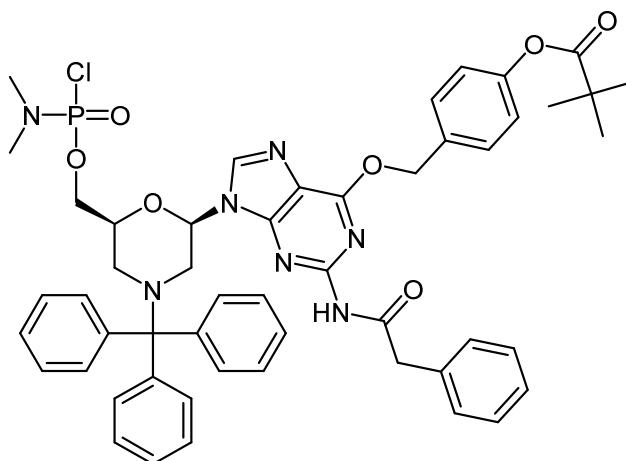
Compuesto (C)

20

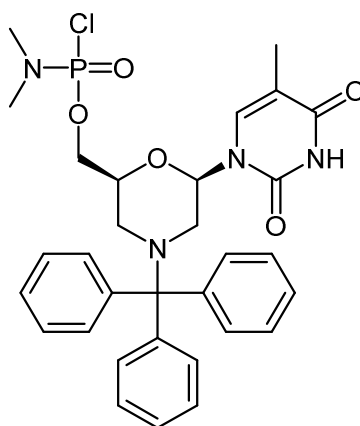


25

Compuesto (D)

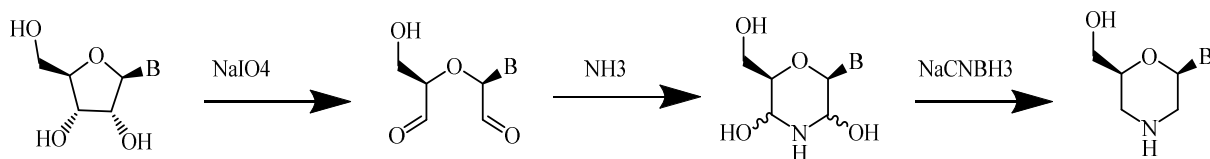


Compuesto (E)



Compuesto (F)

Cada uno del Compuesto C, Compuesto D, Compuesto E y Compuesto F 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. 1997, 7, 187-195. Sin desear estar vinculado a cualquier

teoría particular, la estereoquímica de los dos carbonos quirales es retenida bajo las condiciones de síntesis. Sin estar vinculado por cualquier teoría particular, un número de posible estereoisómeros adicionales de cada subunidad de morfolino se puede producir de otro modo 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.

Sin estar vinculado a cualquier teoría particular, la incorporación de 10 a 40 compuestos independientemente seleccionados del grupo que consiste del Compuesto C, Compuesto D, Compuesto E y Compuesto F y los estereoisómeros adicionales de cada subunidad de morfolino por ejemplo, en un compuesto oligomérico puede resultar en numerosos posibles estereoisómeros. Sin desear estar vinculado a cualquier teoría particular, los compuestos oligoméricos de la descripción comprenden uno más enlaces de intersubunidades que contienen fósforo, las cuales crean un centro quiral en cada fósforo, 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 fósforo 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 intersubunidades que contienen fósforo - con cada enlace de intersubunidad que contiene fósforo teniendo una configuración quiral aleatoria. Específicamente, sin desear estar vinculado a cualquier teoría particular, cada enlace de intersubunidad de una subunidad de morfolino adicional duplica 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 intersubunidades que contienen fósforo.

Composiciones Farmacéuticas

En la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden Eteplirsén, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica. En ciertas modalidades, las composiciones son adecuadas para uso en el tratamiento de una enfermedad muscular.

Por consiguiente, en un aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) Eteplirsén;
- b) cloruro de sodio;
- 5 c) cloruro de potasio;
- d) fosfato de potasio monobásico;
- e) fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua,

en donde la concentración de Eteplirsén es
10 aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

En todavía otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) 40-60 mg de Eteplirsén;
- b) 6.4-9.6 mg de cloruro de sodio;
- 15 c) 0.16-0.24 mg de cloruro de potasio;
- d) 0.16-0.24 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 0.91-1.37 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

En una modalidad de este aspecto, la composición
20 farmacéutica comprende aproximadamente 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad de este aspecto, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 1 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- 25 a) aproximadamente 50 mg de Eteplirsén;

b) aproximadamente 8 mg de cloruro de sodio;
c) aproximadamente 0.2 mg de cloruro de potasio;
d) aproximadamente 0.2 mg de fosfato de potasio monobásico;

5 e) aproximadamente 1.14 mg de fosfato de sodio dibásico; y
f) agua.

En una modalidad de este aspecto, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 1 ml.

10 En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

a) 50 mg de Eteplirsén;
b) 8 mg de cloruro de sodio;
c) 0.2 mg de cloruro de potasio;
15 d) 0.2 mg de fosfato de potasio monobásico;
e) 1.14 mg de fosfato de sodio dibásico; y
f) agua.

En una modalidad de este aspecto, el volumen total de la composición farmacéutica es 1 ml.

20 En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

a) 80-120 mg de Eteplirsén;
b) 12.8-19.2 mg de cloruro de sodio;
c) 0.32-0.48 mg de cloruro de potasio;
25 d) 0.32-0.48 mg de fosfato de potasio monobásico;

e) 1.02-1.54 mg de fosfato de sodio dibásico; y

f) agua.

En una modalidad de este aspecto, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 100 mg de Eteplirsén.

5 En otra modalidad de este aspecto, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 2 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

a) aproximadamente 100 mg de Eteplirsén;

10 b) aproximadamente 16 mg de cloruro de sodio;

c) aproximadamente 0.4 mg de cloruro de potasio;

d) aproximadamente 0.4 mg de fosfato de potasio monobásico;

e) aproximadamente 2.28 mg de fosfato de sodio
15 dibásico; y

f) agua.

En una modalidad de este aspecto, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 2 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una
20 composición farmacéutica, que comprende:

a) 100 mg de Eteplirsén;

b) 16 mg de cloruro de sodio;

c) 0.4 mg de cloruro de potasio;

d) 0.4 mg de fosfato de potasio monobásico;

25 e) 2.28 mg de fosfato de sodio dibásico; y

f) agua.

En una modalidad de este aspecto, el volumen total de la composición farmacéutica es 2 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una
5 composición farmacéutica, que comprende:

- a) 400-600 mg de Eteplirsén;
- b) 64-96 mg de cloruro de sodio;
- c) 1.6-2.4 mg de cloruro de potasio;
- d) 1.6-2.4 mg de fosfato de potasio monobásico;
- 10 e) 9.0-14.0 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

En una modalidad de este aspecto, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 500 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, el volumen total de la composición
15 farmacéutica es aproximadamente 10 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) aproximadamente 500 mg de Eteplirsén;
- b) aproximadamente 80 mg de cloruro de sodio;
- 20 c) aproximadamente 2 mg de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 2 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) aproximadamente 11.4 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- 25 f) agua.

En una modalidad de este aspecto, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 10 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- 5 a) 500 mg de Eteplirsén;
- b) 80 mg de cloruro de sodio;
- c) 2 mg de cloruro de potasio;
- d) 2 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 11.4 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- 10 f) agua.

En una modalidad de este aspecto, el volumen total de la composición farmacéutica es 10 ml.

En modalidades que incluyen, por ejemplo, algunas modalidades de las composiciones farmacéuticas discutidas anteriormente, la concentración de Eteplirsén es
15 aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 45 mg/ml a aproximadamente 55 mg/ml. En algunas modalidades, la
20 concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica varía desde 45 mg/ml a 55 mg/ml. En ciertas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 47.5 mg/ml a aproximadamente 52.5 mg/ml. En ciertas modalidades, la concentración de Eteplirsén
25 en la composición farmacéutica varía desde 47.5 mg/ml a 52.5

mg/ml. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsen en la composición farmacéutica es aproximadamente 50 mg/ml $\pm$ 10%. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsen en la composición farmacéutica es 50 mg/ml $\pm$ 10%. En ciertas modalidades, la concentración de Eteplirsen en la composición farmacéutica está dentro de $\pm$ 10% de 50 mg/ml. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsen en la composición farmacéutica es aproximadamente 50 mg/ml $\pm$ 5%. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsen en la composición farmacéutica es 50 mg/ml $\pm$ 5%.

En ciertas modalidades, la concentración de Eteplirsen en la composición farmacéutica está dentro de $\pm$ % de 50 mg/ml. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsen varía desde aproximadamente 45.5 mg/ml a 55 mg/ml, aproximadamente 46 mg/ml a aproximadamente 54.5 mg/ml, aproximadamente 46.5 mg/ml a aproximadamente 54 mg/ml, aproximadamente 47 mg/ml a aproximadamente 53.5 mg/ml, aproximadamente 47.5 mg/ml a aproximadamente 53 mg/ml, aproximadamente 45.5 mg/ml a aproximadamente 52.5 mg/ml, aproximadamente 45.5 mg/ml a aproximadamente 52 mg/ml, aproximadamente 48 mg/ml a aproximadamente 51.5 mg/ml, aproximadamente 48.5 mg/ml a aproximadamente 51 mg/ml, aproximadamente 49 mg/ml a aproximadamente 50.5 mg/ml, o aproximadamente 49.5 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica es aproximadamente 45 mg/ml, 45.5 mg/ml, 46 mg/ml, 46.5 mg/ml, 47 mg/ml, 47.5 mg/ml, 48 mg/ml, 48.5 mg/ml, 49 mg/ml, 49.5 mg/ml, 50 mg/ml, 50.5 mg/ml, 51 mg/ml, 51.5 mg/ml, 52 mg/ml, 52.5 mg/ml, 53 mg/ml, 53.5 mg/ml, 54 mg/ml, 54,5 mg/ml o 55 mg/ml de la composición farmacéutica. En ciertas modalidades, la concentración de Eteplirsén es 45 mg/ml, 45.5 mg/ml, 46 mg/ml, 46.5 mg/ml, 47 mg/ml, 47.5 mg/ml, 48 mg/ml, 48.5 mg/ml, 49 mg/ml, 49,5 mg/ml, 50 mg/ml, 50,5 mg/ml, 51 mg/ml, 51,5 mg/ml, 52 mg/ml, 52.5 mg/ml, 53 mg/ml, 53.5 mg/ml, 54 mg/ml, 54.5 mg/ml, o 55 mg/ml de la composición farmacéutica.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) aproximadamente 5% p/v de Eteplirsén;
- b) aproximadamente 0.8% p/v de cloruro de sodio;
- c) aproximadamente 0,02% p/v de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 0.02% p/v de fosfato de potasio monobásico;
- e) aproximadamente 0.114% p/v de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

En una modalidad de este aspecto que especifica ciertos porcentajes de p/v, el volumen total de la composición es 1-10 mL. En otra modalidad, el volumen total de la

composición es aproximadamente 1 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es aproximadamente 2 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 2 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es
5 aproximadamente 10 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 10 ml.

En otra modalidad de este aspecto que especifica ciertos porcentajes de p/v, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 50 mg de Eteplirsén. En algunas
10 modalidades, la composición farmacéutica comprende 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 100 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 100 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica
15 comprende aproximadamente 500 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 500 mg de Eteplirsén.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- 20 a) 5% p/v de Eteplirsén;
 b) 0.8% p/v de cloruro de sodio;
 c) 0.02% p/v de cloruro de potasio;
 d) 0.02% p/v de fosfato de potasio monobásico;
 e) 0.114% p/v de fosfato de sodio dibásico; y
25 f) agua.

En una modalidad de este aspecto que especifica ciertos porcentajes de p/v, el volumen total de la composición es 1-10 mL. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 1 ml. En otra modalidad, el volumen total de la
5 composición es 2 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 10 ml. En otra modalidad de este aspecto que especifica ciertos porcentajes de p/v, la composición farmacéutica comprende 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 100 mg de Eteplirsén. En
10 otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 500 mg de Eteplirsén.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) aproximadamente 50 mg/ml de Eteplirsén;
- 15 b) aproximadamente 8 mg/ml de cloruro de sodio;
- c) aproximadamente 0.2 mg/ml de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 0.2 mg/ml de fosfato de potasio monobásico;
- e) aproximadamente 1.14 mg/ml de fosfato de sodio
20 dibásico; y
- f) agua.

En una modalidad de este aspecto que especifica ciertas relaciones de mg/ml, el volumen total de la composición es 1-10 ml. En otra modalidad, el volumen total de la
25 composición es aproximadamente 1 ml. En otra modalidad, el

volumen total de la composición es aproximadamente 2 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 2 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es aproximadamente 10 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 10 ml.

En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 100 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 100 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 500 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 500 mg de Eteplirsén.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) 50 mg/ml de Eteplirsén;
- b) 8 mg/ml de cloruro de sodio;
- c) 0.2 mg/ml de cloruro de potasio;
- d) 0.2 mg/ml de fosfato de potasio monobásico;
- e) 1.14 mg/ml de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

En una modalidad de este aspecto que especifica ciertas relaciones de mg/ml, el volumen total de la composición

es 1-10 ml. En otra modalidad, el volumen total de la
composición es 1 ml. En otra modalidad, el volumen total de la
composición es 2 ml. En otra modalidad, el volumen total de la
composición es 10 ml. En otra modalidad, la composición
5 farmacéutica comprende 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad,
la composición farmacéutica comprende 100 mg de Eteplirsén. En
otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 500 mg
de Eteplirsén.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una
10 composición farmacéutica, que comprende:

- a) aproximadamente 50 mg de Eteplirsén;
 - b) aproximadamente 8 mg de cloruro de sodio;
 - c) aproximadamente 0.2 mg de cloruro de potasio;
 - d) aproximadamente 0.2 mg de fosfato de potasio
15 monobásico;
 - e) aproximadamente 1.14 mg de fosfato de sodio
dibásico; y
 - f) agua,
- en donde el volumen total de la composición
20 farmacéutica es aproximadamente 1 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una
composición farmacéutica, que comprende:

- a) 50 mg de Eteplirsén;
- b) 8 mg de cloruro de sodio;
- 25 c) 0.2 mg de cloruro de potasio;

d) 0.2 mg de fosfato de potasio monobásico;

e) 1.14 mg de fosfato de sodio dibásico; y

f) agua,

5 en donde el volumen total de la composición
farmacéutica es 1 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una
composición farmacéutica, que comprende:

a) aproximadamente 100 mg de Eteplirsén;

b) aproximadamente 16 mg de cloruro de sodio;

10 c) aproximadamente 0.4 mg de cloruro de potasio;

d) aproximadamente 0.4 mg de fosfato de potasio
monobásico;

e) aproximadamente 2.28 mg de fosfato de sodio
dibásico; y

15 f) agua,

en donde el volumen total de la composición
farmacéutica es aproximadamente 2 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una
composición farmacéutica, que comprende:

20 a) 100 mg de Eteplirsén;

b) 16 mg de cloruro de sodio;

c) 0.4 mg de cloruro de potasio;

d) 0.4 mg de fosfato de potasio monobásico;

e) 2.28 mg de fosfato de sodio dibásico; y

25 f) agua,

en donde el volumen total de la composición farmacéutica es 2 ml.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- 5 a) aproximadamente 500 mg de Eteplirsén;
 b) aproximadamente 80 mg de cloruro de sodio;
 c) aproximadamente 2 mg de cloruro de potasio;
 d) aproximadamente 2 mg de fosfato de potasio monobásico;

- 10 e) aproximadamente 11.4 mg de fosfato de sodio dibásico; y

 f) agua,

en donde el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 10 ml.

- 15 En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) 500 mg de Eteplirsén;
 b) 80 mg de cloruro de sodio;
 c) 2 mg de cloruro de potasio;
20 d) 2 mg de fosfato de potasio monobásico;
 e) 11.4 mg de fosfato de sodio dibásico; y
 f) agua,

en donde el volumen total de la composición farmacéutica es 10 ml.

- 25 En otro aspecto, en la presente se proporciona una

composición farmacéutica, que comprende:

- a) 50 mg de Eteplirsén;
- b) 8 mg de cloruro de sodio, USP;
- c) 0.2 mg de cloruro de potasio, USP;
- 5 d) 0.2 mg de fosfato de potasio monobásico, NF;
- e) 1.14 mg de fosfato de sodio dibásico anhidro, USP;

y

f) agua inyectable, USP,
en donde el volumen total de la composición
10 farmacéutica es 1 ml, el pH de la composición farmacéutica es
aproximadamente 7.5, y la osmolalidad de la composición
farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm a
aproximadamente 320 mOsm.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una
15 composición farmacéutica, que comprende:

- a) 100 mg de Eteplirsén;
- b) 16 mg de cloruro de sodio, USP;
- c) 0.4 mg de cloruro de potasio, USP;
- d) 0.4 mg de fosfato de potasio monobásico, NF;
- 20 e) 2.28 mg de fosfato de sodio dibásico anhidro, USP;

y

f) agua inyectable, USP,
en donde el volumen total de la composición
farmacéutica es 2 ml, el pH de la composición farmacéutica es
25 aproximadamente 7.5 y la osmolalidad de la composición

farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm a aproximadamente 320 mOsm.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- 5 a) 500 mg de Eteplirsén;
- b) 80 mg de cloruro de sodio, USP;
- c) 2 mg de cloruro de potasio, USP;
- d) 2 mg de fosfato de potasio monobásico, NF;
- e) 11.4 mg de fosfato de sodio dibásico anhidro, USP;

10 y

- f) agua inyectable, USP,

 en donde el volumen total de la composición farmacéutica es 10 ml, el pH de la composición farmacéutica es aproximadamente 7.5 y la osmolalidad de la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm a aproximadamente 320 mOsm.

En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) 50 mg de Eteplirsén;
- 20 b) 8 mg de cloruro de sodio;
- c) 0.2 mg de cloruro de potasio;
- d) 0.2 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 1.14 mg de fosfato de sodio dibásico anhidro; y
- f) agua inyectable,

25 en donde el volumen total de la composición

farmacéutica es 1 ml, el pH de la composición farmacéutica es aproximadamente 7.5, y la osmolalidad de la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm a aproximadamente 320 mOsm.

5 En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- a) 100 mg de Eteplirsén;
 - b) 16 mg de cloruro de sodio;
 - c) 0.4 mg de cloruro de potasio;
 - 10 d) 0.4 mg de fosfato de potasio monobásico;
 - e) 2.28 mg de fosfato de sodio dibásico anhidro; y
 - f) agua inyectable,
- en donde el volumen total de la composición farmacéutica es 2 ml, el pH de la composición farmacéutica es
- 15 aproximadamente 7.5 y la osmolalidad de la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm a aproximadamente 320 mOsm.

 En otro aspecto, en la presente se proporciona una composición farmacéutica, que comprende:

- 20 a) 500 mg de Eteplirsén;
- b) 80 mg de cloruro de sodio;
- c) 2 mg de cloruro de potasio;
- d) 2 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 11.4 mg de fosfato de sodio dibásico anhidro; y
- 25 f) agua inyectable,

en donde el volumen total de la composición farmacéutica es 10 ml, el pH de la composición farmacéutica es aproximadamente 7.5 y la osmolalidad de la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm a
5 aproximadamente 320 mOsm.

En algunas modalidades que incluyen, por ejemplo, algunas modalidades discutidas anteriormente, el pH de la composición farmacéutica es aproximadamente 7.5 o es 7.5. En algunas modalidades, el pH de la composición farmacéutica se
10 ajusta a aproximadamente pH 7.5 con NaOH, NF, HCl, NF, o una combinación de los mismos.

En ciertas modalidades que incluyen, por ejemplo, algunas modalidades discutidas anteriormente, la osmolalidad de la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 260
15 mOsm a aproximadamente 320 mOsm. En algunas modalidades, el pH de la composición farmacéutica es aproximadamente 7.5 y la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm a aproximadamente 320 mOsm.

En una modalidad adicional, las composiciones
20 farmacéuticas de la descripción pueden comprender adicionalmente un carbohidrato como se proporciona en Han et al., *Nat. Comms.* 2016, 7, 10981, la totalidad del cual se incorpora en la presente como referencia. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas de la descripción
25 pueden comprender 5% de un carbohidrato de hexosa. Por ejemplo,

la composición farmacéutica de la descripción puede comprender 5% de glucosa, 5% de fructosa o 5% de manosa. En ciertas modalidades, las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden comprender 2.5% de glucosa y 2.5% de fructosa. En algunas 5 modalidades, las composiciones farmacéuticas de la descripción pueden comprender un carbohidrato seleccionado de: arabinosa presente en una cantidad de 5% en volumen, glucosa presente en una cantidad de 5% en volumen, sorbitol presente en una cantidad de 5% en volumen, galactosa presente en una cantidad de 5% en 10 volumen, fructosa presente en una cantidad de 5% en volumen, xilitol presente en una cantidad de 5% en volumen, manosa presente en una cantidad de 5% en volumen, una combinación de glucosa y fructosa cada una presente en una cantidad de 2.5% en volumen, y una combinación de glucosa presente en una 15 cantidad de 5.7% en volumen, fructosa presente en una cantidad de 2.86% en volumen y xilitol presente en una cantidad de 1.4% en volumen.

Métodos

20 En la presente se proporcionan métodos para tratar una enfermedad muscular en un sujeto en necesidad de los mismos, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de la descripción.

Por consiguiente, en un aspecto, en la presente se 25 proporciona un método para tratar una enfermedad muscular en

un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica descrita en la presente. En una modalidad, la enfermedad muscular es distrofia muscular de Duchenne.

5 En otro aspecto, en la presente se proporciona un método para prevenir una enfermedad muscular en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica descrita en la presente. En una modalidad, la enfermedad muscular es distrofia muscular de
10 Duchenne.

 En un aspecto adicional, en la presente se proporciona un método para tratar la distrofia muscular de Duchenne en un sujeto en necesidad del mismo, en donde el sujeto tiene una mutación del gen de distrofina que es susceptible a
15 la omisión del exón 51, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de la descripción.

 El sujeto considerado en la presente es típicamente un humano. Sin embargo, el sujeto puede ser cualquier mamífero para el que se desee un tratamiento. Por lo tanto, los métodos
20 descritos en la presente se pueden aplicar a aplicaciones tanto humanas como veterinarias.

 Se apreciará que las composiciones farmacéuticas proporcionadas en la presente se pueden administrar por cualquier medio conocido en la técnica. Las composiciones
25 farmacéuticas proporcionadas en la presente se suministran

más preferiblemente por rutas de administración intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular o subcutánea.

Por consiguiente, en un aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende:

- a) 40-60 mg de Eteplirsén;
- b) 6.4-9.6 mg de cloruro de sodio;
- c) 0.16-0.24 mg de cloruro de potasio;
- 10 d) 0.16-0.24 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 0.91-1.37 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

En una modalidad de este método, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad de este método, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 1 ml.

En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende:

- 20 a) aproximadamente 50 mg de Eteplirsén;
- b) aproximadamente 8 mg de cloruro de sodio;
- c) aproximadamente 0.2 mg de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 0.2 mg de fosfato de potasio monobásico;
- 25 e) aproximadamente 1,14 mg de fosfato de sodio

dibásico; y

f) agua.

En una modalidad de este método, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 1 ml.

5 En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende:

a) 80-120 mg de Eteplirsén;

b) 12.8-19.2 mg de cloruro de sodio;

10 c) 0.32-0.48 mg de cloruro de potasio;

d) 0.32-0.48 mg de fosfato de potasio monobásico;

e) 1.02-1.54 mg de fosfato de sodio dibásico; y

f) agua.

En una modalidad de este método, la composición
15 farmacéutica comprende aproximadamente 100 mg de Eteplirsén. En otra modalidad de este método, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 2 ml. En otra modalidad de este método, el volumen total de la composición farmacéutica es 2 ml.

20 En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende:

a) aproximadamente 100 mg de Eteplirsén;

b) aproximadamente 16 mg de cloruro de sodio;

25 c) aproximadamente 0.4 mg de cloruro de potasio;

d) aproximadamente 0.4 mg de fosfato de potasio monobásico;

e) aproximadamente 2.28 mg de fosfato de sodio dibásico; y

5 f) agua.

En una modalidad de este método, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 2 ml. En una modalidad de este método, el volumen total de la composición farmacéutica es 2 ml.

10 En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende:

a) 400-600 mg de Eteplirsén;

b) 64-96 mg de cloruro de sodio;

15 c) 1.6-2.4 mg de cloruro de potasio;

d) 1.6-2.4 mg de fosfato de potasio monobásico;

e) 9.0-14.0 mg de fosfato de sodio dibásico; y

f) agua.

En una modalidad de este método, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 500 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 10 ml. En una modalidad de este método, la composición farmacéutica comprende 500 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, el volumen total de la
20 composición farmacéutica es 10 ml.
25

En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende:

- a) aproximadamente 500 mg de Eteplirsén;
- 5 b) aproximadamente 80 mg de cloruro de sodio;
- c) aproximadamente 2 mg de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 2 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) aproximadamente 11.4 mg de fosfato de sodio
- 10 dibásico; y
- f) agua.

En una modalidad de este método, el volumen total de la composición farmacéutica es aproximadamente 10 ml. En una modalidad de este método, el volumen total de la composición

15 farmacéutica es 10 ml.

En modalidades que incluyen, por ejemplo, algunas modalidades de las composiciones farmacéuticas discutidas anteriormente, la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica. En

20 algunas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 45 mg/ml a aproximadamente 55 mg/ml. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica varía desde 45 mg/ml a 55 mg/ml. En ciertas modalidades, la

25 concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica

varía desde aproximadamente 47.5 mg/ml a aproximadamente 52.5 mg/ml. En ciertas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica varía desde 47.5 mg/ml a 52.5 mg/ml. Por ejemplo, la concentración de Eteplirsén en la
5 composición farmacéutica varía desde

En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica es aproximadamente 50 mg/ml $\pm$ 10%. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica es 50 mg/ml $\pm$ 10%.
10 En ciertas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica está dentro de $\pm$ 10% de 50 mg/ml. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica es aproximadamente 50 mg/ml $\pm$ 5%. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la
15 composición farmacéutica es 50 mg/ml $\pm$ 5%.

En ciertas modalidades, la concentración de Eteplirsén en la composición farmacéutica está dentro de $\pm$ 5% de 50 mg/ml. En algunas modalidades, la concentración de Eteplirsén varía desde aproximadamente 45.5 mg/ml a 55 mg/ml,
20 aproximadamente 46 mg/ml a aproximadamente 54,5 mg/ml, aproximadamente 46.5 mg/ml a aproximadamente 54 mg/ml, aproximadamente 47 mg/ml a aproximadamente 53.5 mg/ml, aproximadamente 47.5 mg/ml a aproximadamente 53 mg/ml, aproximadamente 45.5 mg/ml a aproximadamente 52.5 mg/ml,
25 aproximadamente 45.5 mg/ml a aproximadamente 52 mg/ml,

aproximadamente 48 mg/ml a aproximadamente 51.5 mg/ml,
aproximadamente 48.5 mg/ml a aproximadamente 51 mg/ml,
aproximadamente 49 mg/ml a aproximadamente 50.5 mg/ml, o
aproximadamente 49.5 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml de la
5 composición farmacéutica.

En algunas modalidades, la concentración de
Eteplirsén en la composición farmacéutica es aproximadamente
45.5 mg/ml, 46 mg/ml, 46.5 mg/ml, 47 mg/ml, 47.5 mg/ml, 48
mg/ml, 48.5 mg/ml, 49 mg/ml, 49.5 mg/ml, 50 mg/ml, 50.5 mg/ml,
10 51 mg/ml, 51.5 mg/ml, 52 mg/ml, 52.5 mg/ml, 53 mg/ml, 53.5
mg/ml, 54 mg/ml, 54.5 mg/ml, o 55 mg/ml de la composición
farmacéutica. En ciertas modalidades, la concentración de
Eteplirsén es 45 mg/ml, 45.5 mg/ml, 46 mg/ml, 46.5 mg/ml, 47
mg/ml, 47.5 mg/ml, 48 mg/ml, 48.5 mg/ml, 49 mg/ml, 49.5 mg/ml,
15 50 mg/ml, 50.5 mg/ml, 51 mg/ml, 51.5 mg/ml, 52 mg/ml, 52.5
mg/ml, 53 mg/ml, 53.5 mg/ml, 54 mg/ml, 54.5 mg/ml, o 55 mg/ml
de la composición farmacéutica.

En otro aspecto, los métodos de la descripción
comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica,
20 la composición farmacéutica comprende:

- a) aproximadamente 5% p/v Eteplirsén;
- b) aproximadamente 0.8% p/v de cloruro de sodio;
- c) aproximadamente 0.02% p/v de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 0.02% p/v de fosfato de potasio
25 monobásico;

e) aproximadamente 0.114% p/v de fosfato de sodio dibásico; y

f) agua.

En una modalidad de este método que especifica
5 ciertos porcentajes de p/v, el volumen total de la composición
es 1-10 mL. En otra modalidad, el volumen total de la
composición es aproximadamente 1 ml. En otra modalidad, el
volumen total de la composición es aproximadamente 2 ml. En
otra modalidad, el volumen total de la composición es 2 ml. En
10 otra modalidad, el volumen total de la composición es
aproximadamente 10 ml. En otra modalidad, el volumen total de
la composición es 10 ml.

En otra modalidad de este método que especifica
ciertos porcentajes de p/v, la composición farmacéutica
15 comprende aproximadamente 50 mg de Eteplirsén. En otra
modalidad, la composición farmacéutica comprende 50 mg de
Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica
comprende aproximadamente 100 mg de Eteplirsén. En otra
modalidad, la composición farmacéutica comprende 100 mg de
20 Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica
comprende aproximadamente 500 mg de Eteplirsén. En otra
modalidad, la composición farmacéutica comprende 500 mg de
Eteplirsén.

En otro aspecto, los métodos de la descripción
25 comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica,

la composición farmacéutica comprende:

- a) 5% p/v Eteplirsén;
- b) 0.8% p/v de cloruro de sodio;
- c) 0.02% p/v de cloruro de potasio;
- 5 d) 0.02% p/v de fosfato de potasio monobásico;
- e) 0.114% p/v de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

En una modalidad de este aspecto que especifica ciertos porcentajes de p/v, el volumen total de la composición es 1-10 mL. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 1 mL. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 2 mL. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 10 mL. En otra modalidad de este aspecto que especifica ciertos porcentajes de p/v, la composición farmacéutica comprende 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 100 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 500 mg de Eteplirsén.

En otra modalidad de este método que especifica ciertos porcentajes de p/v, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 100 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 100 mg de

Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 500 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 500 mg de Eteplirsén.

5 En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende:

- a) aproximadamente 50 mg/ml de Eteplirsén;
- b) aproximadamente 8 mg/ml de cloruro de sodio;
- 10 c) aproximadamente 0.2 mg/ml de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 0.2 mg/ml de fosfato de potasio monobásico;
- e) aproximadamente 1.14 mg/ml de fosfato de sodio dibásico; y
- 15 f) agua.

En una modalidad de este aspecto que especifica ciertas relaciones de mg/ml, el volumen total de la composición es 1-10 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es aproximadamente 1 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es aproximadamente 2 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es aproximadamente 10 ml. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende aproximadamente 100 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la

20

25

composición farmacéutica comprende aproximadamente 500 mg de Eteplirsén.

En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica,

5 la composición farmacéutica comprende:

- a) 50 mg/ml de Eteplirsén;
- b) 8 mg/ml de cloruro de sodio;
- c) 0.2 mg/ml de cloruro de potasio;
- d) 0.2 mg/ml de fosfato de potasio monobásico;
- 10 e) 1.14 mg/ml de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua.

En una modalidad de este aspecto que especifica ciertas relaciones de mg/ml, el volumen total de la composición es 1-10 ml. En otra modalidad, el volumen total de la
15 composición es 1 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 2 ml. En otra modalidad, el volumen total de la composición es 10 ml. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 50 mg de Eteplirsén. En otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 100 mg de Eteplirsén. En
20 otra modalidad, la composición farmacéutica comprende 500 mg de Eteplirsén.

En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica, la composición farmacéutica comprende:

25 a) 50 mg de Eteplirsén;

- b) 8 mg de cloruro de sodio;
- c) 0.2 mg de cloruro de potasio;
- d) 0.2 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 1.14 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua,

5

en donde el volumen total de la composición farmacéutica es 1 ml.

En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica,

10 la composición farmacéutica comprende:

- a) 100 mg de Eteplirsén;
- b) 16 mg de cloruro de sodio;
- c) 0.4 mg de cloruro de potasio;
- d) 0.4 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 2.28 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- f) agua,

15

en donde el volumen total de la composición farmacéutica es 2 ml.

En otro aspecto, los métodos de la descripción comprenden administrar al sujeto una composición farmacéutica,

20

la composición farmacéutica comprende:

- a) 500 mg de Eteplirsén;
- b) 80 mg de cloruro de sodio;
- c) 2 mg de cloruro de potasio;
- d) 2 mg de fosfato de potasio monobásico;

25

e) 11.4 mg de fosfato de sodio dibásico; y

f) agua,

en donde el volumen total de la composición farmacéutica es 10 ml.

5 En algunas modalidades que incluyen, por ejemplo, algunas modalidades discutidas anteriormente, el pH de la composición farmacéutica es aproximadamente 7.5 o es 7.5. En algunas modalidades, el pH de la composición farmacéutica se ajusta a aproximadamente pH 7.5 con NaOH, NF, HCl, NF, o una
10 combinación de los mismos.

 En ciertas modalidades que incluyen, por ejemplo, algunas modalidades discutidas anteriormente, la osmolalidad de la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm a aproximadamente 320 mOsm. En algunas modalidades, el pH
15 de la composición farmacéutica es aproximadamente 7.5 y la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm a aproximadamente 320 mOsm.

 En una modalidad adicional, las composiciones farmacéuticas de la descripción se pueden coadministrar con un
20 carbohidrato en los métodos de la descripción, ya sea en la misma formulación o en una formulación separada, como se proporciona en Han et al., *Nat. Comms.* 2016, 7, 10981, la totalidad del cual se incorpora en la presente como referencia. En algunas modalidades, las composiciones farmacéuticas de la
25 descripción se pueden coadministrar con 5% de un carbohidrato

de hexosa. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas de la descripción se pueden coadministrar con 5% de glucosa, 5% de fructosa o 5% de manosa. En ciertas modalidades, las composiciones farmacéuticas de la descripción se pueden coadministrar con 2.5 de glucosa y 2.5% de fructosa. En algunas modalidades, la composición farmacéutica de la descripción se puede coadministrar con un carbohidrato seleccionado de: arabinosa presente en una cantidad de 5% en volumen, glucosa presente en una cantidad de 5% en volumen, sorbitol presente en una cantidad de 5% en volumen, galactosa presente en una cantidad de 5% en volumen, fructosa presente en una cantidad de 5% en volumen, xilitol presente en una cantidad de 5% en volumen, manosa presente en una cantidad de 5% en volumen, una combinación de glucosa y fructosa cada una presente en una cantidad de 2.5% en volumen, y una combinación de glucosa presente en una cantidad de 5.7% en volumen, fructosa presente en una cantidad de 2.86% en volumen y xilitol presente en una cantidad de 1.4% en volumen.

20 *Kits*

En otras modalidades, se proporcionan kits. Los kits de acuerdo con la descripción incluyen envases que comprenden Eteplirsén, o composiciones farmacéuticas de la descripción. En algunas modalidades, los kits comprenden Eteplirsén, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La frase "envase" significa cualquier recipiente que contenga oligonucleótidos o composiciones presentadas en la presente. En algunas modalidades, el envase puede ser una caja o envoltura. Los materiales de envasado para uso en envasado
5 de productos farmacéuticos son bien conocidos por los expertos en la técnica. Los ejemplos de materiales de envasado farmacéuticos incluyen, entre otros, botellas, tubos, inhaladores, bombas, bolsas, viales, recipientes, jeringas, botellas y cualquier material de envasado adecuado para una
10 formulación seleccionada y el modo de administración y tratamiento previstos.

El kit también puede contener elementos que no están contenidos dentro del envase, pero que están adjuntos al exterior del envase, por ejemplo, pipetas.

15 Los kits pueden contener además instrucciones para administrar Eteplirsén o composiciones farmacéuticas de la descripción a un paciente. Los kits también pueden incluir instrucciones de usos aprobados de Eteplirsén por parte de las agencias reguladoras, tal como la Administración de Alimentos
20 y Fármacos de los Estados Unidos. Los kits también pueden contener etiquetas o insertos de productos para Eteplirsén. Los envases o cualquier inserto del producto, o ambos, pueden ser aprobados por las agencias reguladoras. Los kits pueden incluir Eteplirsén en la fase sólida o en una fase líquida (tales como
25 los amortiguadores proporcionados) en un envase. Los kits

también pueden incluir envases para preparar soluciones para realizar los métodos y pipetas para transferir líquidos de un recipiente a otro.

5

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.

20

Ejemplo 1: Síntesis en Fase Sólida de 50 L de Sustancia

Farmacológica Cruda Eteplirsén

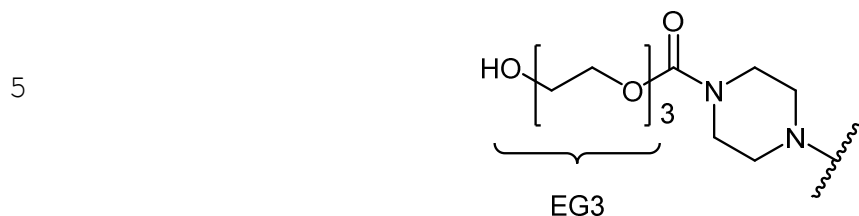
1. Materiales

25

Tabla 1: Materiales de Partida

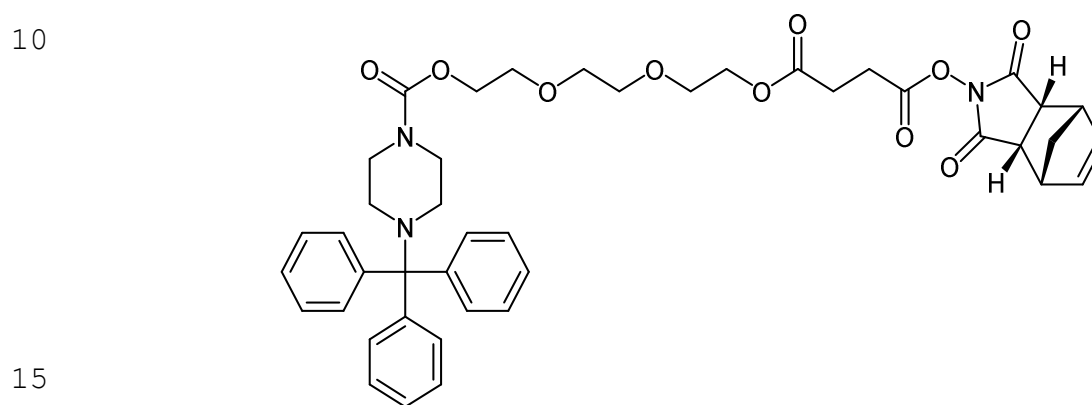
	Nombre del Material	Nombre Químico	Número CAS	Fórmula Química	Peso Molecular
5	Subunidad A Activada	Éster <i>N,N</i> -dimetil-, [6-[6-(benzoilamino)-9H-purin-9-il]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metílico del ácido fosforamidoclorídico	1155373-30-0	C ₃₈ H ₃₇ ClN ₇ O ₄ P	722.2
10	Subunidad C Activada	Éster <i>N,N</i> -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 ₅ O ₅ P	698.2
15	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 ₇ O ₇ P	942.2
20	Subunidad T Activada	Fosforamidocloridic acid, Éster <i>N,N</i> -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 ₄ O ₅ P	609.1
25	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 ₃ O ₁₀	765.9

El término "EG3" se refiere a porciones de trietilenglicol conjugadas al oligómero, por ejemplo en su extremo 3' o 5':



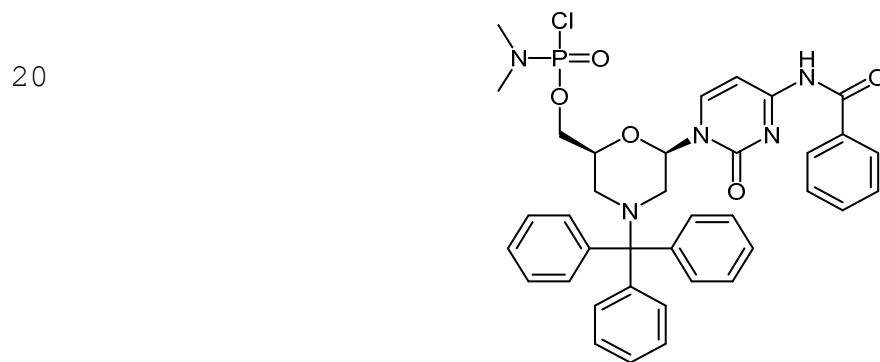
Estructuras Químicas de los Materiales de Partida:

A. Cola de EG3 Activada



Compuesto (B)

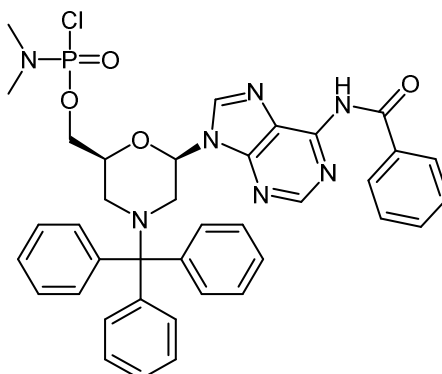
B. Subunidad C Activada (Para la preparación, ver US 8,067,571)



Compuesto (C)

C. Subunidad A Activada (Para la preparación, ver US 8,067,571)

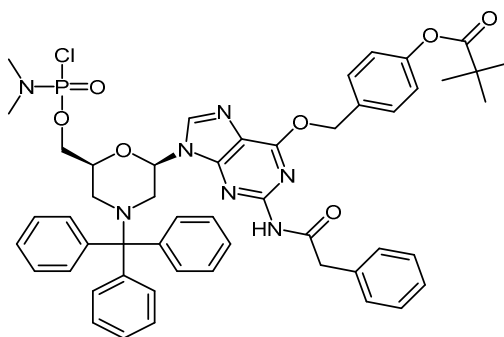
5



Compuesto (D)

D. Subunidad DPG Activada (Para la preparación, ver WO
10 2009/064471)

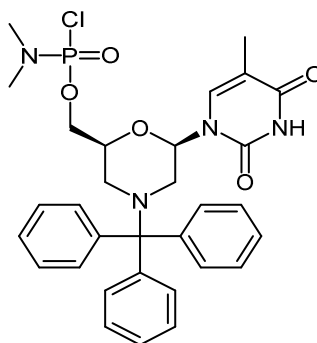
15



Compuesto (E)

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

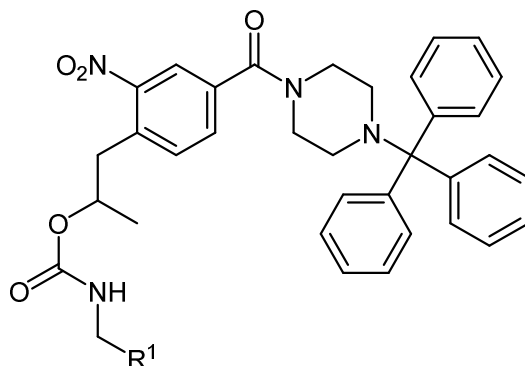
20



25

Compuesto (F)

F. Resina Cargada con Anclaje



Formula (I)

en donde R¹ es un medio de soporte.

Tabla 2: Descripción de Soluciones para la Síntesis de Oligómero en Fase Sólida de la Sustancia Farmacológica Cruda Eteplirsén

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 Eteplirsén

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 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 se lavó tres veces con 5.5 L cada una de 30% TFE/DCM y se drenó. 5.5 L de Solución de CYFTA durante 15 minutos, se drenó y se repitió 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 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 dos veces con 5.5 L cada una de Solución de Neutralización durante 5 minutos por cada lavado, y una vez con 5.5 L de DCM y se drenó. Una solución de 374.8 g de anhídrido benzoico, 195 mL de NEM en 2680 mL de NMP se cargaron y se agitó durante 15 minutos y se drenó. La resina se agitó con 5.5 L de Solución de Neutralización durante 5 minutos, luego se lavó una vez con 5.5 L de DCM 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

5 i. Tratamientos de pre-acoplamiento

Antes de cada ciclo de acoplamiento como se describe en la Tabla 3, 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
10 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 3.

ii. Tratamientos Post-Acoplamiento

15 Después que cada solución de subunidad se drenó como se describe en la Tabla 3, la resina: 1) se lavó con DCM; y 2) se lavó dos veces con 30% TFE/DCM. Si la resina se mantuvo durante un periodo de tiempo antes del siguiente ciclo de acoplamiento, el segundo lavado con TFE/DCM no se drenó y la
20 resina se retuvo en la solución de lavado con TFE/DCM. Ver Tabla 3.

iii. Ciclos de Acoplamiento de Subunidad Activada

Los ciclos de acoplamiento se realizaron como se
25 describe en la Tabla 3.

iv. Lavado con IPA Final

La resina se lavó 8 veces con 19.5 L cada una de IPA, se secó bajo vacío a temperatura ambiente durante aproximadamente 63.5 horas a un peso seco de 5,579.8 g.

5

D. Escisión

La Sustancia Farmacológica Cruda Eteplirsén unida a la resina anterior se dividió en dos lotes, cada lote se trató como sigue. Un lote de 2,789.9 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 Eteplirsén 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.

25

Tabla 3:

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
5	1:C	5.5 L a) 5.5 L b) 5.5 L, 122 ml	3x5.5 L	5.5 L	536.7 g; 195 ml de NEM; 3.2 L de DMI	5	5.5 L	2x5.5 L
10	2:T	7.0 L a) 7L b) 7 L, 158 ml	3x7 L	2x7 L	468.2 g y 195 ml de NEM 3.2 L de DMI	4.25	7 L	2x7 L ²
15	3:C	8 L a) 8 L b) 8 L, 182 ml	3x8 L	2x8 L	536.7 g; 195 ml de NEM; 3.4 L de DMI	4.25	8 L	2x8 L
20	4:C	9 L a) 9 L b) 9 L, 206 ml	3x9 L	2x9 L	536.7 g; 195 ml de NEM; 3.6 L de DMI	4.25	9 L	2x9 L ³
	5:A	9.5 L a) 9.5 L b) 9.5 L, 220 ml	3x9.5 L	2x9.5 L	555.2 g; 195 ml de NEM; 3.4 L de DMI	4.25	9.5 L	2x9.5 L
	6:A	10 L a) 10 L b) 10 L, 232 ml	3x10 L	2x10 L	555.2 g; 195 ml de NEM; 3.45 L de DMI	4.25	10 L	2x10 L ⁴
	7:C	11L a) 11L b) 11L, 256ml	3x11L	2x11L	536.7g; 195ml de NEM; 3.57L de DMI	4.25	11L	2x11L
	8:A	11L a) 11L b) 11L, 256ml	3x11L	2x11L	555.2g; 195ml de NEM; 3.64L de DMI	4.25	11L	2x11L ⁵

	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
5	9:T	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	2x11.5L
10	10:C	12L	a) 12L b) 12L, 280ml	3x12L	2x12L	536.7g; 195ml de NEM; 3.96L de DMI	4.25	12L	2x12L ⁶
	11:A	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	2x13.5L
	12:A	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	2x13.5L ⁷
15	13:DPG	14L	a) 14L b) 14L, 216ml	3x14L	2x14L	941.9g; 253ml de NEM; 4.02L de DMI	4.25	14L	2x14L
20	14:DPG	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	2x14.5L ⁸
	15:A	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	2x15.5L
	16:A	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	2x15.5L ⁹

5

10

15

20

25

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
17:DPG	16L	a) 16L b) 16L, 366ml	3x16L	2x16L	941.9g; 253ml de NEM; 4.4L de DMI	4.75	16L	2x16L
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	2x16.5L ¹⁰
19:T	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	2x16.5L
20:DPG	17L	a) 17L b) 17L, 390ml	3x17L	2x17L	941.9g; 253ml de NEM; 4.57L de DMI	4.75	17L	2x17L ¹¹
21:DPG	17L	a) 17L b) 17L, 390ml	3x17L	2x17L	1159.2g; 311ml de NEM; 4.72L DE DMI	4.25	17L	2x17L
22:C	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	2x17.5L ¹²
23:A	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	2x17.5L
24:T	18L	a) 18L b) 18L, 414ml	3x18L	2x18L	749.1g; 311ml de NEM; 4.95L de DMI	4.25	18L	2x18L ¹³
25:T	18L	a) 18L b) 18L, 414ml	3x18L	2x18L	749.1g; 311ml de NEM; 5.1L de DMI	4.25	18L	2x18L
26:T	18.5L	a) 18.5L b) 18.5L, 426ml	3x18.5L	2x 18.5L	749.1g; 311ml de NEM; 5.1L de DMI	4.25	18.5L	2x18.5L ¹⁴

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	
5	27:C	18.5L	a) 18.5L b) 18.5L, 426ml	3x18.5L	2x 18.5L	858.7g; 311ml de NEM; 5.25L de DMI	4.25	18.5L	2x18.5L
	28:T	19L	a) 19L b) 19L, 438ml	3x19L	2x19L	749.1g; 311ml de NEM; 5.25L de DMI	4.25	19L	2x19L ¹⁵
10	29:A	19L	a) 19L b) 19L, 438ml	3x19L	2x19L	888.3g; 311ml de NEM; 5.41L de DMI	4.25	19L	2x19L
	30:DPG	19.5L	a) 19.5L b) 19.5L, 450ml	3x19.5L	2x 19.5L	1159.2g; 311ml de NEM; 5.44L de DMI	4.75	19.5L	2x19.5L

15

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

² La resina se mantuvo en esta etapa durante 1/2 día

³ La resina se mantuvo en esta etapa durante 1/2 día

⁴ La resina se mantuvo en esta etapa durante 0.4 días

⁵ La resina se mantuvo en esta etapa durante 2.5 días

⁶ La resina se mantuvo en esta etapa durante 1/2 día

⁷ La resina se mantuvo en esta etapa durante 0.4 días

⁸ La resina se mantuvo en esta etapa durante 0.4 días

⁹ La resina se mantuvo en esta etapa durante 0.4 días

¹⁰ La resina se mantuvo en esta etapa durante 1.5 días

20

¹¹ La resina se mantuvo en esta etapa durante 0.3 días

¹² La resina se mantuvo en esta etapa durante 0.4 días

¹³ La resina se mantuvo en esta etapa durante 0.4 días

¹⁴ La resina se mantuvo en esta etapa durante 0.4 días

¹⁵ La resina se mantuvo en esta etapa durante 0.3 días

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 NH₄OH que se había enfriado en 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. La solución de desprotección que contenía la sustancia farmacológica cruda Eteplirsén se diluyó 3:1 con agua purificada y el pH se ajustó a 3.0 con ácido fosfórico 2M, luego a pH 8.03 con NH₄OH. HPLC (C18) 73-74% (**Figura 1**).

Tabla 4. Datos de la Figura 1

Pico #	Nombre del Compuesto	Tiempo de Retención (min)	Tiempo de Ret. Rel. (Producto)	Área {mAu*min}	Área Rel. %	Placas (USP)
1		2.488	0.381	0.821928	0.18	1105
2		3.047	0.467	17.661449	3.91	4047
3		3.324	0.509	0.818258	0.18	n.a.
4		3.605	0.552	0.465598	0.10	7
5		4.213	0.645	6.558899	1.45	301
6		4.504	0.690	3.324238	0.74	191690
7		5.160	0.790	5.644073	1.25	651
8	AVI-4658	6.531	1.000	332.238891	73.47	2313
9		7.269	1.113	2.063159	0.46	n.a.
10		7.643	1.170	5.556411	1.23	2734
11		8.139	1.246	8.711530	1.93	3572
12		8.382	1.283	4.654783	1.03	1835
13		8.678	1.329	0.562426	0.12	n.a.
14		9.009	1.379	12.031923	2.66	6078
15		9.500	1.455	0.385563	0.09	n.a.
16		9.626	1.474	1.171507	0.26	46084
17		9.898	1.516	0.484362	0.11	21328
18		10.598	1.623	14.589918	3.23	n.a.
19		10.680	1.635	7.520577	1.66	918
20		10.811	1.656	8.604558	1.90	296
21		11.045	1.691	18.351689	4.06	49919

Ejemplo 2: Purificación de la Sustancia Farmacológica Cruda

Eteplirsén

La solución de desprotección del Ejemplo 1, que contenía la sustancia farmacológica cruda Eteplirsén 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: 97.74% (C18) 94.58% (SCX; **Figura 2**) .

La solución de sustancia farmacológica purificada se desaló y se liofilizó a 1959 g de sustancia farmacológica Eteplirsén purificada. Rendimiento de 61.4%; HPLC: 97.7% (C18) 94.6% (SCX; **Figura 3**) .

Tabla 5. Datos de la Figura 2

Pico #	Nombre del Compuesto	Tiempo de Retención (min)	Tiempo de Ret. Rel. (Producto)	Área {mAu*min}	Porcentaje de Área	Placas (USP)
1		6.837	0.750	0.050757	0.058	41574
2		7.405	0.813	0.303271	0.344	841
3		8.086	0.887	1.130007	1.280	13
4		8.615	0.946	2.265128	2.567	761
5	AVI-4658	9.111	1.000	83.468700	94.583	4405
6		10.019	1.100	0.704599	0.798	n.a.
7		11.069	1.215	0.326550	0.370	3044

Tabla 6. Datos de la Figura 3

Pico #	Nombre del Compuesto	Tiempo de Retención (min)	Tiempo de Ret. Rel. (Producto)	Área (mAu*min)	Porcentaje de Área	Placas (USP)
1		6.866	0.751	0.044399	0.063	608
2		7.794	0.852	0.280589	0.397	n.a.
3		8.188	0.895	0.816793	1.156	209
4		8.644	0.945	1.842896	2.608	1147
5	AVI-4658	9.145	1.000	66.857088	94.622	4664
6		10.058	1.100	0.575793	0.815	n.a.
7		11.103	1.214	0.239454	0.339	4375

Tabla 7. Acrónimos

Acrónimo	Nombre
DBU	1,8-Diazabicycloundec-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

Ejemplo 3: Composiciones Farmacéuticas de Eteplirsén**Ejemplares****Tabla 8.**

Composición Ejemplar 1: Volumen total de 1 ml		
5	Eteplirsén	50 mg
	cloruro de sodio, USP	8 mg
	cloruro de potasio, USP	0.2 mg
	fosfato de potasio monobásico, NF	0.2 mg
	fosfato de sodio dibásico anhidro, USP	1.14 mg
	Agua inyectable, USP	c.s.

10

Composición Ejemplar 2: Volumen total de 2 ml		
15	Eteplirsén	100 mg
	cloruro de sodio, USP	16 mg
	cloruro de potasio, USP	0.4 mg
	fosfato de potasio monobásico, NF	0.4 mg
	fosfato de sodio dibásico anhidro, USP	2.28 mg
	agua inyectable, USP	c.s.

20

Composición Ejemplar 3: Volumen total de 10 ml		
20	Eteplirsén	500 mg
	cloruro de sodio, USP	80 mg
	cloruro de potasio, USP	2 mg
	fosfato de potasio monobásico, NF	2 mg
	fosfato de sodio dibásico anhidro, USP	11.4 mg
	agua inyectable, USP	c.s.

25

5	Composición Ejemplar 4: Volumen total de 1 ml	
	Eteplirsén	50 mg
	cloruro de sodio	8 mg
	cloruro de potasio	0.2 mg
	fosfato de potasio monobásico	0.2 mg
	fosfato de sodio dibásico anhidro	1.14 mg
	Agua inyectable	c.s.

10	Composición Ejemplar 5: Volumen total de 2 ml	
	Eteplirsén	100 mg
	cloruro de sodio	16 mg
	cloruro de potasio	0.4 mg
	fosfato de potasio monobásico	0.4 mg
	fosfato de sodio dibásico anhidro	2.28 mg
	agua inyectable	qs.

15 20	Composición Ejemplar 6: Volumen total de 10 ml	
	Eteplirsén	500 mg
	cloruro de sodio	80 mg
	cloruro de potasio	2 mg
	fosfato de potasio monobásico	2 mg
	fosfato de sodio dibásico anhidro	11.4 mg
	agua inyectable	c.s.

Para cada una de las Composiciones Ejemplares 1-6 (Tabla 8), la cantidad de agua presente es suficiente para lograr una concentración de Eteplirsén de aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica. Además, el pH de las

Composiciones Ejemplares es aproximadamente 7.5, y la osmolalidad de las Composiciones Ejemplares varía desde aproximadamente 260 mOsm a aproximadamente 320 mOsm.

5 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.

15 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.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende:

- 5 a) Eteplirsén;
- b) cloruro de sodio;
- c) cloruro de potasio;
- d) fosfato de potasio monobásico;
- e) fosfato de sodio dibásico; y
- 10 f) agua,

 en donde la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

2. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende:

- 15 a) 40-60 mg de Eteplirsén;
- b) 6.4-9.6 mg de cloruro de sodio;
- c) 0.16-0.24 mg de cloruro de potasio;
- d) 0.16-0.24 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 0.91-1.37 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- 20 f) agua,

 en donde la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

3. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 2, caracterizada porque comprende
25 aproximadamente 50 mg de Eteplirsén.

4. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende:

- a) aproximadamente 50 mg de Eteplirsén;
- b) aproximadamente 8 mg de cloruro de sodio;
- 5 c) aproximadamente 0.2 mg de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 0.2 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) aproximadamente 1.14 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- 10 f) agua,

en donde la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

5. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende:

- 15 a) 80-120 mg de Eteplirsén;
- b) 12.8-19.2 mg de cloruro de sodio;
- c) 0.32-0.48 mg de cloruro de potasio;
- d) 0.32-0.48 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 1.02-1.54 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- 20 f) agua,

en donde la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

6. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 5, caracterizada porque comprende
25 aproximadamente 100 mg de Eteplirsén.

7. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 5, caracterizada porque comprende:

- a) aproximadamente 100 mg de Eteplirsén;
- b) aproximadamente 16 mg de cloruro de sodio;
- 5 c) aproximadamente 0.4 mg de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 0.4 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) aproximadamente 2.28 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- 10 f) agua,

en donde la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

8. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende:

- 15 a) 400-600 mg de Eteplirsén;
- b) 64-96 mg de cloruro de sodio;
- c) 1.6-2.4 mg de cloruro de potasio;
- d) 1.6-2.4 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) 9.0-14.0 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- 20 f) agua,

en donde la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

9. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, caracterizada porque comprende
25 aproximadamente 500 mg de Eteplirsén.

10. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 8, caracterizada porque comprende:

- a) aproximadamente 500 mg de Eteplirsén;
- b) aproximadamente 80 mg de cloruro de sodio;
- 5 c) aproximadamente 2 mg de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 2 mg de fosfato de potasio monobásico;
- e) aproximadamente 11.4 mg de fosfato de sodio dibásico; y
- 10 f) agua,

en donde la concentración de Eteplirsén es aproximadamente 50 mg/ml de la composición farmacéutica.

11. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende:

- 15 a) aproximadamente 5% p/v Eteplirsén;
- b) aproximadamente 0.8% p/v de cloruro de sodio;
- c) aproximadamente 0.02% p/v de cloruro de potasio;
- d) aproximadamente 0.02% p/v de fosfato de potasio monobásico;
- e) aproximadamente 0.114% p/v de fosfato de sodio dibásico; y
- 20 f) agua.

12. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 1, caracterizada porque comprende:

- 25 a) aproximadamente 50 mg/ml de Eteplirsén;

b) aproximadamente 8 mg/ml de cloruro de sodio;
c) aproximadamente 0.2 mg/ml de cloruro de potasio;
d) aproximadamente 0.2 mg/ml de fosfato de potasio monobásico;

5 e) aproximadamente 1.14 mg/ml de fosfato de sodio dibásico; y
f) agua.

13. La composición farmacéutica de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1-12, caracterizada porque
10 el pH de la composición farmacéutica es aproximadamente 7.5, y la osmolalidad de la composición farmacéutica varía desde aproximadamente 260 mOsm y aproximadamente 320 mOsm.

14. Un método para tratar distrofia muscular de Duchenne (DMD) en un sujeto en necesidad del mismo,
15 caracterizado porque el sujeto tiene una mutación del gen de distrofina que es susceptible a la omisión del exón 51, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-13.

15. Uso de la composición farmacéutica de conformidad
20 con cualquiera de las reivindicaciones 1-13, para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de distrofia muscular de Duchenne (DMD) en un sujeto en necesidad del mismo, en donde el sujeto tiene una mutación del gen de distrofina que es susceptible a la omisión del exón 51.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden Eteplirsén. En la presente también se proporcionan métodos para tratar una enfermedad muscular en un sujeto en necesidad de los mismos, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica de la descripción.

10

15

20

25

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 591698: SPT-004PC	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2017/034265	International filing date (<i>day/month/year</i>) 24 May 2017 (24-05-2017)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 24 May 2016 (24-05-2016)
Applicant SAREPTA THERAPEUTICS, INC		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant
☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING ETEPLIRSEN

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
☐ as suggested by the applicant
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/034265

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/7125 A61P21/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/144978 A2 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 18 September 2014 (2014-09-18) page 9, line 6 - line 14 page 19, line 16 - page 20, paragraph 1 Study Drug; page 65	1-15
T	----- Kladnik: "PHOSPHATE BUFFERED SALINE (PBS)", 1 February 2007 (2007-02-01), page 1, XP055396017, Retrieved from the Internet: URL: http://botanika.biologija.org/exp/protocols/PBS_buffer.pdf [retrieved on 2017-08-03] the whole document -----	



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

4 August 2017

Date of mailing of the international search report

14/08/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Young, Astrid

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/034265

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014144978 A2	18-09-2014	AU 2014233456 A1	08-10-2015
		CA 2906812 A1	18-09-2014
		CN 105307723 A	03-02-2016
		EA 201591792 A1	29-02-2016
		EP 2968991 A2	20-01-2016
		HK 1220154 A1	28-04-2017
		JP 2016516066 A	02-06-2016
		KR 20150133768 A	30-11-2015
		US 2014315862 A1	23-10-2014
		US 2014329762 A1	06-11-2014
		WO 2014144978 A2	18-09-2014

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43*bis*.1)

Date of mailing (day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION See paragraph 2 below
--

International application No. PCT/US2017/034265	International filing date (day/month/year) 24.05.2017	Priority date (day/month/year) 24.05.2016
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC INV. A61K31/7125 A61P21/00		
Applicant SAREPTA THERAPEUTICS, INC		

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43*bis*.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1*bis*(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465	Date of completion of this opinion see form PCT/ISA/210	Authorized Officer Young, Astrid Telephone No. +49 89 2399-0
--	--	--



Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed.
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing:
 - a. ☐ forming part of the international application as filed:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-15</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-15</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-15</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Re Item V:

1 Reference is made to the following documents:

D1 WO 2014/144978 A2 (SAREPTA THERAPEUTICS INC [US]) 18
September 2014 (2014-09-18)

D2 Kladnik: "PHOSPHATE BUFFERED SALINE (PBS)",
, 1 February 2007 (2007-02-01), page 1, XP055396017,
Retrieved from the Internet:
URL:[http://botanika.biologija.org/exp/protocols/PBS buffer.pdf](http://botanika.biologija.org/exp/protocols/PBS%20buffer.pdf)
[retrieved on 2017-08-03]

The cited passage(s) for each citation will be considered unless otherwise specified.

2 Claims 14 and 15 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provision of Rule 39.1(iv)/67.1(iv) PCT. The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPO, for example, does not recognise as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.

3 Novelty, Article 33(2) PCT

Document D1 discloses the use of eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy (DMD). It is further disclosed that a composition comprising eteplirsen and a pharmaceutically acceptable carrier, such as phosphate buffered saline is used. The study drug used in the example (page 65) contains 100mg/ml eteplirsen in phosphate-buffered saline.

Different concentrations of eteplirsen are found on page 19, line 16 onwards such as 20mg/kg to 50mg/kg.

It is known to the skilled person that phosphate buffered saline consists of sodium chloride, potassium chloride, potassium phosphate monobasic, sodium phosphate dibasic and water. This is evidenced by document D2.

Taken together document D1 discloses all the features of claims 1-15 and is thus found novelty destroying for these claims under Article 33(2) PCT.

4 Inventive step, Article 33(3) PCT

Since, the subject-matter of claims 1-15 is found to lack novelty it is consequently also found to lack an inventive merit under Article 33(3) PCT.

Moreover, the application does not shown that any special effect is linked to any of the compositions as claimed.