

REIVINDICACIONES

1. Un oligonucleótido de hebra simple que inhibe la actividad de iARN de un agente de ácido ribonucleico de hebra doble (ARNhd) que comprende un nucleótido térmicamente desestabilizante en la hebra antisentido,

CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple comprende una secuencia nucleotídica sustancialmente complementaria a la hebra antisentido del agente de ARNhd,

donde el oligonucleótido de hebra simple tiene entre 16 y 30 nucleótidos de longitud,

donde sustancialmente todos los nucleótidos del oligonucleótido de hebra simple comprenden una modificación nucleotídica, y

donde por lo menos tres de las modificaciones nucleotídicas son una modificación nucleotídica de alta afinidad.

2. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE sustancialmente todos los nucleótidos comprenden una modificación nucleotídica que se selecciona del grupo que consiste en una modificación con 2'-O-alquilo, una modificación con 2'-alcoxilo sustituido, una modificación con 2'-alquilo sustituido, una modificación con 2'-halo, una modificación con desoxinucleótido, una modificación de ácido nucleico bloqueado (LNA), una modificación con D-metilenoxi (4'-CH₂-O-2') ácido nucleico bloqueado (LNA), una modificación con 2'-O-(2-Metoxietilo) (MOE), ácido nucleico con puente (2',4'-BNA), 2'-O-Etilo (cEt), y una modificación con 2'-O-metilo.

3. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 1 o 2,

CARACTERIZADO PORQUE todos los nucleótidos comprenden una modificación nucleotídica que se selecciona del grupo que consiste en una modificación con 2'-O-alquilo, una modificación con 2'-alcoxilo sustituido, una modificación con 2'-alquilo sustituido, una modificación con 2'-halo, una modificación con desoxinucleótido, una modificación con D-metilenoxi (4'-CH₂-O-2') ácido nucleico bloqueado (LNA), ácido nucleico con puente (2',4'-BNA), 2'-O-Etilo (cEt), y una modificación con 2'-O-metilo.

4. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, CARACTERIZADO PORQUE por lo menos cuatro de las modificaciones nucleotídicas son una modificación nucleotídica de alta afinidad.

5. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, CARACTERIZADO PORQUE por lo menos cinco de las modificaciones nucleotídicas son una modificación nucleotídica de alta afinidad.

6. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, CARACTERIZADO PORQUE por lo menos dos de las modificaciones nucleotídicas de alta afinidad están en las posiciones 2 y 6; posiciones 2 y 5; posiciones 2 y 7; posiciones 2 y 8; posiciones 2 y 9; posiciones 2 y 14; posiciones 2 y 15; y/o posiciones 2 y 16, contando desde el extremo 3' del oligonucleótido.

7. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 6, CARACTERIZADO PORQUE las modificaciones nucleotídicas de alta afinidad están en las posiciones 2, 6, 8, y 14; 2, 4, 5, 6, y 7; 2, 4, 6, 8, y 13; 2, 4, 6, 8, y 14; 2, 4, 6, 8, y 15; 2, 4, 6, 8, y 16; 2, 8, 10, y 14; 2, 4, 6, 8, y 14; o 2, 8, 12, y 14, contando desde el extremo 3' del oligonucleótido.

8. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 7, CARACTERIZADO PORQUE por lo menos uno de los nucleótidos que comprende una modificación nucleotídica de alta afinidad forma un apareamiento de bases con el nucleótido que comprende el nucleótido térmicamente desestabilizante de la hebra antisentido del agente de ARNhd.

9. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 8, CARACTERIZADO PORQUE la modificación de alta afinidad se selecciona del grupo que consiste en una modificación de ácido nucleico bloqueado (LNA), una modificación de ácido nucleico con etilo con restricción estérica (cEtNA), y una modificación de ácido nucleico con puente (BNA).

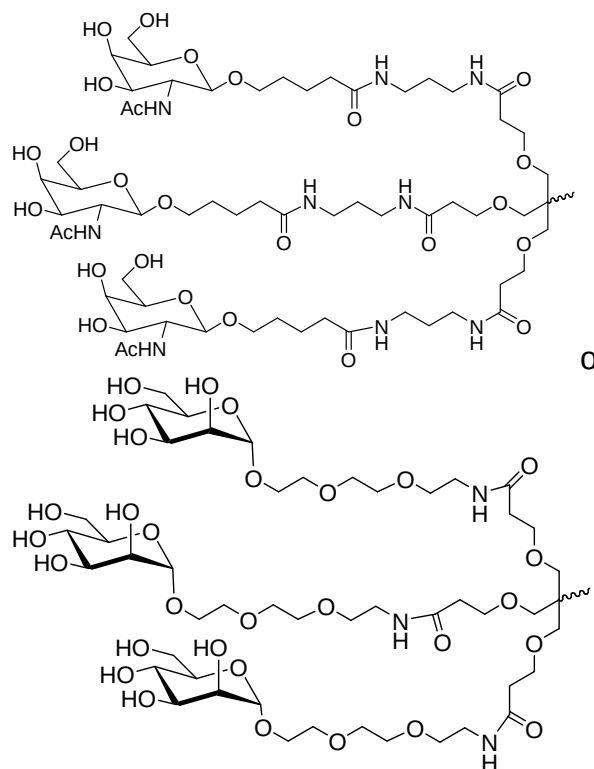
10. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, CARACTERIZADO PORQUE además comprende por lo menos cinco modificaciones internucleotídicas de fosforotioato.

11. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple está conjugado a por lo menos un ligando.

12. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 11, CARACTERIZADO PORQUE el ligando es un derivado de N-acetilgalactosamina (GalNAc).

13. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 11, CARACTERIZADO PORQUE el ligando es uno o más derivados de GalNAc unidos a través de un conector ramificado monovalente, bivalente o trivalente.

14. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 13, CARACTERIZADO PORQUE el ligando es



15. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, CARACTERIZADO PORQUE el ligando está conjugado a un nucleósido que comprende un desoxiazúcar en el oligonucleótido de hebra simple.

16. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 15, CARACTERIZADO PORQUE el desoxiazúcar es una 2'-desoxirribosa.

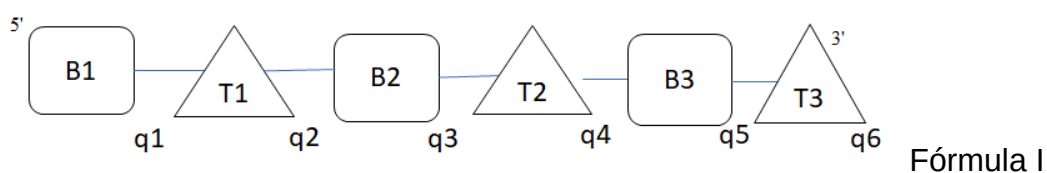
17. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 16, CARACTERIZADO PORQUE el ligando está conjugado al extremo 3' del oligonucleótido de hebra simple.

18. Un oligonucleótido de hebra simple que inhibe la actividad de iARN de un agente de ácido ribonucleico de hebra doble (ARNihd) que comprende un nucleótido térmicamente desestabilizante en la hebra antisentido,

CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple comprende una secuencia nucleotídica sustancialmente complementaria a la hebra antisentido del agente de ARNhd,

donde el oligonucleótido de hebra simple tiene entre 18 y 24 nucleótidos de longitud,

donde el oligonucleótido de hebra simple comprende por lo menos cinco modificaciones internucleotídicas de fosforotioato y está representado por la fórmula (I):



en donde:

B1, B2 y B3 representan cada uno de manera independiente un nucleótido que comprende una modificación nucleotídica que se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en una modificación con 2'-desoxilo, 2'-ribo, 2'-O-alquilo, una modificación con 2'-alcoxilo sustituido, una modificación con 2'-alcoxialquilo sustituido, una modificación con 2'-alquilo sustituido, y una modificación con 2'-halo;

T1, T2, y T3 representan cada uno de manera independiente un nucleótido que comprende una modificación nucleotídica que se selecciona del grupo que consiste en una modificación con desoxinucleótido, una modificación con D-metilenoxi (4'-CH₂-O-2') ácido nucleico bloqueado (LNA), una modificación con 2'-O-(2-Metoxietilo) (MOE), una modificación de ácido nucleico con puente (2',4'-BNA), modificación 2'-O-Etilo (cEt), una modificación con 2'-desoxi-2'-flúor, y una modificación con 2'-O-metilo;

q^1 , q^3 y q^5 tienen cada uno de manera independiente entre 3 y 12 nucleótidos de longitud;

q^2 , q^4 y q^6 tienen de manera independiente entre 1 y 6 nucleótidos de longitud; y

donde el oligonucleótido de hebra simple está conjugado a por lo menos un ligando.

19. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple comprende entre 5 y 15 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato; entre 5 y 14 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato; entre 5 y 13 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato; entre 5 y 12 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato; entre 5 y 11 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato; entre 5 y 10 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato; entre 5 y 9 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato; entre 5 y 8 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato; entre 5 y 7 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato; o entre 5 y 6 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato.

20. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 19, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple comprende entre 6 y 14 modificaciones internucleotídicas de fosforotioato.

21. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, CARACTERIZADO PORQUE tiene entre 18 y 22 o entre 18 y 20 nucleótidos de longitud.

22. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 21, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de

hebra simple es por lo menos aproximadamente 90% complementario a la hebra antisentido de longitud completa del agente de ARNhd.

23. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple es 90% complementario a los nucleótidos 2 a 16 de la hebra antisentido del agente de ARNhd.

24. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 23, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple es completamente complementario a la hebra antisentido del agente de ARNhd.

25. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, CARACTERIZADO PORQUE la secuencia nucleotídica de la hebra antisentido del agente de ARNhd comprende la secuencia nucleotídica 5'- UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA-3' de la SEQ ID NO: 9.

26. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, CARACTERIZADO PORQUE la modificación nucleotídica térmicamente desestabilizante se selecciona del grupo que consiste en una modificación abásica; una falta de complementariedad con el nucleótido opuesto en el dúplex; una modificación de azúcar desestabilizante, una modificación con 2'-desoxilo, un nucleótido acíclico, un ácido nucleico no bloqueado (UNA), y un ácido nucleico glicólico (GNA).

27. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 26, CARACTERIZADO PORQUE la secuencia nucleotídica de la hebra antisentido del agente de ARNhd comprende la secuencia nucleotídica 5'- usGfsuac(Tgn)cucauugUfgGfaugacsgsa -3' de la SEQ ID NO: 11, donde a, c, g,

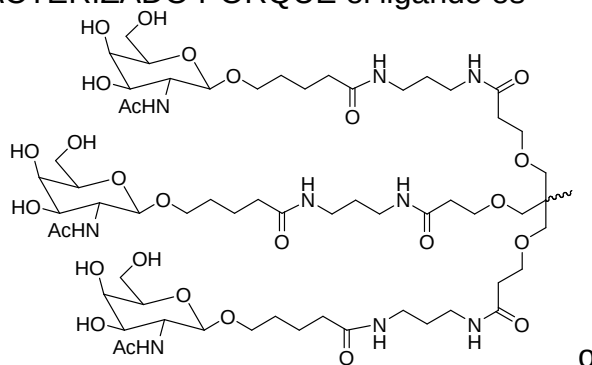
y u son 2'-O-metiladenosina-3'-fosfato, 2'-O-metilcitidina-3'-fosfato, 2'-O-metilguanosina-3'-fosfato, y 2'-O-metiluridina-3'-fosfato, respectivamente; Af, Cf, Gf, y Uf son 2'-O-fluoroadenosina-3'-fosfato, 2'-O-fluorocitidina-3'-fosfato, 2'-O-fluoroguanosina-3'-fosfato, y 2'-O-fluorouridina-3'-fosfato, respectivamente; dT es una desoxi-timina; s es una unión fosforotioato; y (Tgn) es el isómero S de timidina-ácido nucleico glicólico (GNA).

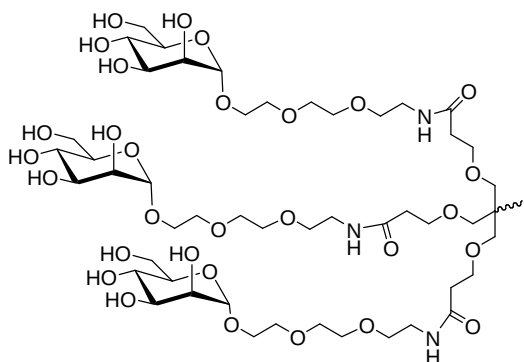
28. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 27, CARACTERIZADO PORQUE la secuencia nucleotídica del oligonucleótido de hebra simple es por lo menos 90% idéntica a la secuencia nucleotídica completa de cualquiera de las secuencias nucleotídicas sin modificar de la Tabla 6.

29. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 28, CARACTERIZADO PORQUE el ligando es un derivado de N-acetilgalactosamina (GalNAc).

30. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 29, CARACTERIZADO PORQUE el ligando es uno o más derivados de GalNAc unidos a través de un conector ramificado monovalente, bivalente o trivalente.

31. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 30, CARACTERIZADO PORQUE el ligando es





32. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 18 a 31, CARACTERIZADO PORQUE el ligando está conjugado a un nucleósido que comprende un desoxiazúcar en el oligonucleótido de hebra simple.

33. El oligonucleótido de hebra simple de la reivindicación 32, CARACTERIZADO PORQUE el desoxiazúcar es una 2'-desoxirribosa.

34. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 18 a 33, CARACTERIZADO PORQUE el ligando está conjugado al extremo 3' del oligonucleótido de hebra simple.

35. El oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 34, CARACTERIZADO PORQUE comprende una secuencia nucleotídica modificada que difiere en no más de 4 nucleótidos modificados de cualquiera de las secuencias nucleotídicas modificadas de la Tabla 6.

36. Una composición farmacéutica CARACTERIZADA PORQUE comprende el oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35.

37. La composición farmacéutica de la reivindicación 36, CARACTERIZADA PORQUE el oligonucleótido de hebra simple se encuentra en una solución no amortiguada.

38. La composición farmacéutica de la reivindicación 37, CARACTERIZADA PORQUE la solución no amortiguada es solución salina o agua.

39. La composición farmacéutica de la reivindicación 36, CARACTERIZADA PORQUE el oligonucleótido de hebra simple se encuentra en una solución amortiguadora.

40. La composición farmacéutica de la reivindicación 39, CARACTERIZADA PORQUE la solución amortiguadora comprende acetato, citrato, prolamina, carbonato, o fosfato o cualquier combinación de los mismos.

41. Una célula aislada CARACTERIZADA PORQUE comprende el oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35 o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 36 a 40.

42. Un método para inhibir la actividad inhibidora de ARNi de un agente de ARNhd que comprende una modificación nucleotídica térmicamente desestabilizante en la hebra antisentido, CARACTERIZADO PORQUE el método comprende

poner en contacto el agente de ARNhd con el oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35 o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 36 a 40, inhibiendo de esta manera la actividad inhibidora de ARNi de un agente de ARNhd que comprende una modificación nucleotídica térmicamente desestabilizante en la hebra antisentido.

43. El método de la reivindicación 42, CARACTERIZADO PORQUE el agente de ARNhd se encuentra en una célula.

44. El método de la reivindicación 43, CARACTERIZADO PORQUE

la célula se encuentra dentro de un sujeto humano.

45. Un método para tratar a un sujeto que lo requiere, CARACTERIZADO PORQUE el método comprende

administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35 o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 36 a 40, tratando de esta manera al sujeto.

46. El método de la reivindicación 45, CARACTERIZADO PORQUE al sujeto que lo requiere se le administró previamente un agente de ARNi de hebra doble que inhibe la expresión de un gen diana y que comprende una modificación nucleotídica térmicamente desestabilizante en la hebra antisentido.

47. El método de la reivindicación 46, CARACTERIZADO PORQUE el gen diana es angiotensinógeno (AGT).

48. El método de la reivindicación 47, CARACTERIZADO PORQUE el sujeto que lo requiere padece hipotensión.

49. El método de la reivindicación 47, CARACTERIZADO PORQUE el sujeto que lo requiere padece hiperpotasemia.

50. El método de la reivindicación 47, CARACTERIZADO PORQUE el sujeto que lo requiere padece disfunción renal.

51. El método de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 50, CARACTERIZADO PORQUE además comprende administrar al sujeto una terapia o agente terapéutico adicional que se selecciona del grupo que consiste en

fluidos/sal de la dieta aumentados, tratamiento con

fludrocortisona/midodrina, fluidos intravenosos, medicamentos vasopresores, disminución de la dosis o interrupción de medicamentos antihipertensivos concomitantes, una dieta baja en potasio, medicamentos tiazida/diuréticos de asa, quelantes orales de potasio, calcio, glucosa, insulina, y hemodiálisis, o combinaciones de los mismos.

52. El método de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 51, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple o la composición farmacéutica se administran al sujeto por vía subcutánea.

53. El método de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 51, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple o la composición farmacéutica se administran al sujeto por vía intravenosa.

54. El método de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 53, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica tiene una relación de aproximadamente 1:1, 2:1 o 3:1 con la dosis del agente de ARNhd administrada previamente al sujeto.

55. Un método para aliviar un efecto secundario de un agente de ARNhd en un sujeto que inhibe la expresión de un gen diana y que comprende una modificación nucleotídica térmicamente desestabilizante en la hebra antisentido, CARACTERIZADO PORQUE el método comprende

administrar al sujeto una cantidad eficaz del oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35 o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 36 a 40, aliviando de esta manera el efecto secundario del agente de ARNhd en el sujeto.

56. El método de la reivindicación 55, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica tiene

una relación de aproximadamente 1:1 con la dosis del agente de ARNhd administrada previamente al sujeto.

57. El método de la reivindicación 55 o 56, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica tiene una relación de aproximadamente 2:1 con la dosis del agente de ARNhd administrada previamente al sujeto.

58. El método de cualquiera de las reivindicaciones 55 a 57, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica tiene una relación de aproximadamente 3:1 con la dosis del agente de ARNhd administrada previamente al sujeto.

59. El método de cualquiera de las reivindicaciones 55 a 58, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica se divide en tres dosis y se administra al sujeto en intervalos de 24 horas.

60. El método de cualquiera de las reivindicaciones 55 a 58, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica se divide en dos dosis y se administra al sujeto en intervalos de 24 horas.

61. El método de cualquiera de las reivindicaciones 55 a 58, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica se divide en tres dosis y se administra al sujeto en intervalos de 12 horas.

62. El método de cualquiera de las reivindicaciones 55 a 58, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica se divide en dos dosis y se administra al sujeto en

intervalos de 12 horas.

63. El método de cualquiera de las reivindicaciones 55 a 58, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica se divide en tres dosis y se administra al sujeto en intervalos de 8 horas.

64. El método de cualquiera de las reivindicaciones 55 a 58, CARACTERIZADO PORQUE la dosis del oligonucleótido de hebra simple o composición farmacéutica se divide en dos dosis y se administra al sujeto en intervalos de 8 horas.

65. El método de cualquiera de las reivindicaciones 55 a 64, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple o la composición farmacéutica se administran al sujeto por vía subcutánea.

66. El método de cualquiera de las reivindicaciones 55 a 64, CARACTERIZADO PORQUE el oligonucleótido de hebra simple o la composición farmacéutica se administran al sujeto por vía intravenosa.

67. Un kit CARACTERIZADO PORQUE comprende el oligonucleótido de hebra simple de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 35 o la composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 36 a 40, e instrucciones para su uso, y opcionalmente, medios para la administración del oligonucleótido de hebra simple o la composición farmacéutica.

68. El kit de la reivindicación 67, CARACTERIZADO PORQUE además comprende un agente de ARNi de hebra doble que inhibe la expresión de un gen diana y que comprende una modificación nucleotídica térmicamente desestabilizante en la hebra antisentido, y opcionalmente medios para la administración del agente de ARNi de hebra doble.