

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 993 738**

51 Int. Cl.:

C07F 9/6558 (2006.01)

C07F 9/6561 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.05.2017 PCT/US2017/034235**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.11.2017 WO17205496**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.05.2017 E 17731336 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2024 EP 3464305**

54 Título: **Procesos para la preparación de oligómeros**

30 Prioridad:

24.05.2016 US 201662341049 P

30.06.2016 US 201662357153 P

30.06.2016 US 201662357166 P

30.06.2016 US 201662357072 P

30.06.2016 US 201662356923 P

18.05.2017 US 201762508256 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.01.2025

73 Titular/es:

SAREPTA THERAPEUTICS, INC. (100.00%)

215 First Street

Cambridge, MA 02142, US

72 Inventor/es:

CAI, BAO;

MARTINI, MITCHELL;

SHIMABUKU, ROSS;

THOMAS, KATIE;

FRANK, DIANE ELIZABETH y

BESTWICK, RICHARD K.

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 993 738 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procesos para la preparación de oligómeros

5 SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional de Estados Unidos de América núm. 62/508,256, presentada el 18 de mayo de 2017; la solicitud de patente provisional de Estados Unidos de América núm. 62/341,049, presentada el 24 de mayo de 2016; la solicitud de patente provisional de Estados Unidos de América núm. 62/356,923, presentada el 30 de junio de 2016; la solicitud de patente provisional de Estados Unidos de América núm. 62/357,072, presentada el 30 de junio de 2016; la solicitud de patente provisional de Estados Unidos de América núm. 62/357,153, presentada el 30 de junio de 2016; y la solicitud de patente provisional de Estados Unidos de América núm. 62/357,166, presentada el 30 de junio de 2016.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La tecnología antisentido proporciona un medio para modular la expresión de uno o más productos genéticos específicos, incluidos productos de empalme alternativos, y es excepcionalmente útil en una serie de aplicaciones terapéuticas, de diagnóstico y de investigación. El principio detrás de la tecnología antisentido es que un compuesto antisentido, por ejemplo, un oligonucleótido, el cual se hibrida con un ácido nucleico diana, modula las actividades de expresión génica tales como la transcripción, el empalme o la traducción a través de cualquiera de varios mecanismos antisentido. La especificidad de secuencia de los compuestos antisentido los hace atractivos como herramientas para la validación de dianas y la funcionalización de genes, así como terapias para modular selectivamente la expresión de genes implicados en enfermedades.

La distrofia muscular de Duchenne (DMD) se provoca por un defecto en la expresión de la proteína de distrofina. El gen que codifica para la proteína contiene 79 exones propagados en 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, dando por resultado la DMD.

Los ensayos clínicos recientes que prueban la seguridad y eficacia de los oligonucleótidos de cambio de empalme (SSO) para el tratamiento de la DMD son con base en la tecnología de SSO para inducir el empalme alternativo de pre-ARNm por el 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 tratar la DMD son limitadas.

Eteplirsén es un oligómero de fosforodiamidato morfolino (PMO) diseñado para omitir el exón 51 del gen de la distrofina humana en pacientes con DMD que se pueden modificar para omitir el exón 51 para restaurar el marco de lectura y producir una forma funcional más corta de la proteína de distrofina. Sarepta Therapeutics, Inc., presentó una Solicitud de Nuevo Medicamento (NDA) a la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de América (FDA) buscando la aprobación para el tratamiento de la DMD en pacientes modificable a la omisión de exón 51. La NDA de Sarepta está actualmente bajo revisión por parte de la FDA.

WO2013/082551 A1 describe el uso de un compuesto antisentido para inducir la inclusión de exones como tratamiento para la Atrofia Muscular Espinal (SMA). Más particularmente, se refiere a inducir la inclusión del exón 7 para restaurar los niveles de proteína de la neurona motora de supervivencia (SMN) codificada por el gen de la neurona motora de supervivencia (SMN). Este documento enseña además procesos para la producción de oligonucleótidos antisentido de morfolino.

WO 2014/153240 A2 describe moléculas antisentido capaces de unirse a un sitio diana seleccionado en el gen de la distrofina humana para inducir la omisión de exón 53. Este documento enseña además procesos para la producción de oligonucleótidos antisentido de morfolino.

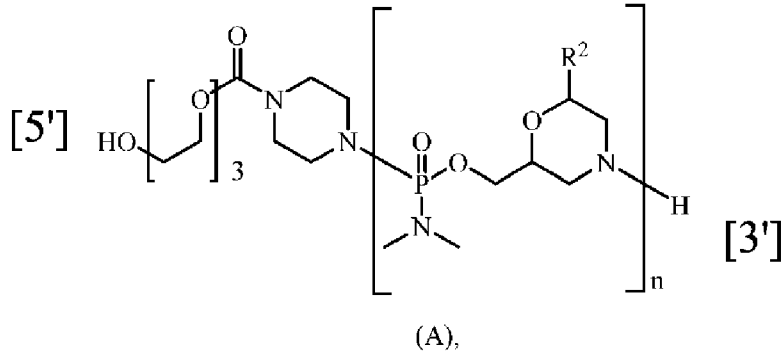
WO 2011/150408 A2 divulga oligonucleótidos antisentido útiles para el tratamiento de enfermedades en las que la inhibición de la expresión de proteínas o la corrección de productos de empalme de ARNm aberrantes produce efectos terapéuticos beneficiosos. Este documento enseña además procesos para la producción de oligonucleótidos antisentido de morfolino.

Aunque se ha logrado un progreso significativo en el campo de la tecnología antisentido, sigue existiendo la necesidad en la técnica de métodos para preparar oligómeros de fosforodiamidato morfolino con un rendimiento antisentido o antigénico mejorado.

65 BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

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

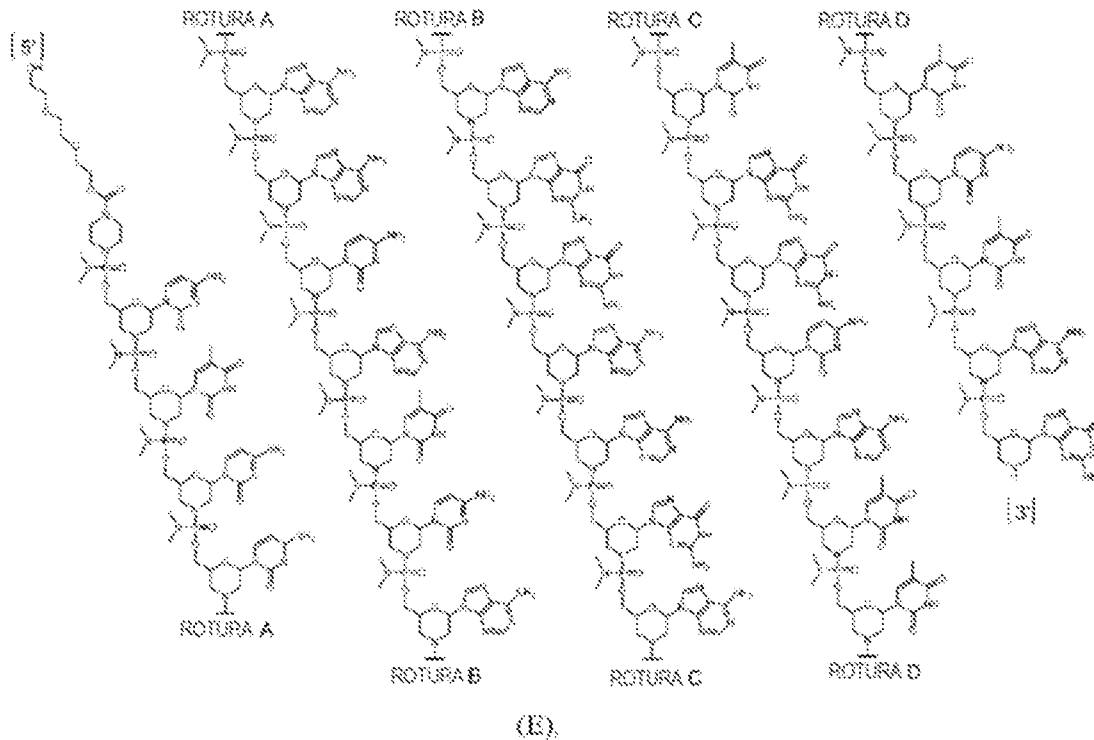
5 La presente invención proporciona un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (A):



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde R² y n son como se definen en la presente.

10

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

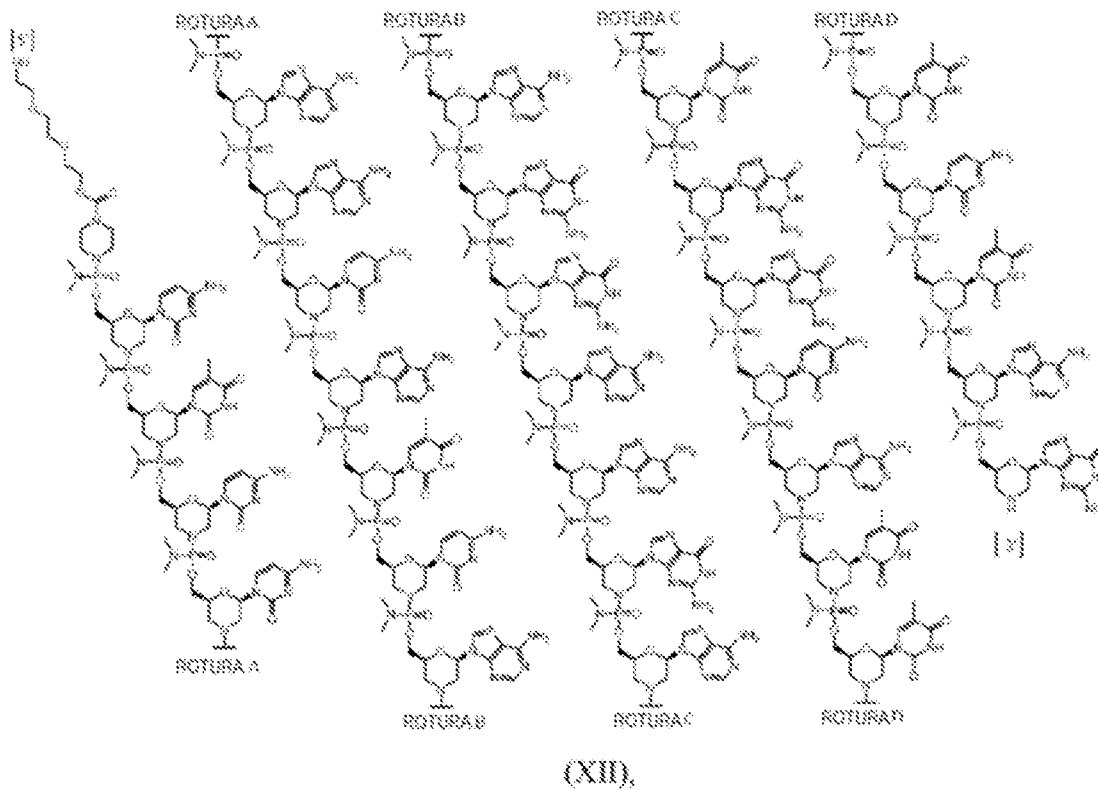


15

o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En aun otra modalidad, el compuesto oligomérico de la divulgación que incluye, por ejemplo, algunas modalidades de un compuesto oligomérico de Fórmula (E), es un compuesto oligomérico de Fórmula (XII):

20



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

5 Para claridad, las fórmulas estructurales que incluyen, por ejemplo, el compuesto oligomérico de Fórmula (E) y Eteplirsén representado por la Fórmula (XII), son una fórmula estructural continua de 5' a 3' y, para la conveniencia de representar la fórmula completa en una forma compacta en las fórmulas estructurales anteriores, los Solicitantes han incluido varias roturas de ilustración etiquetadas "ROTURAA", "ROTURAB", "ruptura C" y "ROTURAD." Como entendería el experto en la técnica, por ejemplo, cada indicación de "ROTURAA" muestra una continuación de la ilustración de la fórmula estructural en estos puntos. El experto en la técnica entiende que lo mismo es cierto para cada instancia de "ROTURAB", "ROTURAC" y "ROTURAD" en las fórmulas estructurales anteriores que incluyen Eteplirsén. Sin embargo, no se propone que ninguna de las roturas de la ilustración indique, ni el experto en la técnica las entendería como una discontinuación real de las fórmulas estructurales anteriores, incluido Eteplirsén.

15 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

20 **La Figura 1** muestra un cromatograma representativo de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) analítica de una sustancia de fármaco bruta de Eteplirsén (AVI-4658) sintetizada y desprotegida (ver el Ejemplo 4).

25 **La Figura 2** muestra un cromatograma de HPLC analítico representativo de una solución de sustancia de fármaco de Eteplirsén purificada (ver el ejemplo 5).

30 **La Figura 3** muestra un cromatograma de HPLC analítico representativo de una sustancia farmacológica de Eteplirsén desalada y liofilizada (ver el ejemplo 5).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

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

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

Definiciones

5 A continuación, se enumeran las definiciones de varios términos utilizados para describir esta divulgación. Estas definiciones se aplican a los términos tal como se utilizan a lo largo de esta memoria descriptiva y reivindicaciones, a menos que se limiten de otro modo en casos específicos, ya sea individualmente o como parte de un grupo más grande.

10 "Protegido de bases" o "protección de bases" se refiere a la protección de los grupos de emparejamiento de bases, por ejemplo, bases de purina o pirimidina, en las subunidades de morfolino con grupos protectores adecuados para impedir la reacción o interferencia de los grupos de emparejamiento de bases durante la síntesis de oligómeros por pasos. Un ejemplo de una subunidad de morfolino protegida por base es el compuesto de subunidad C activada (C) que tiene un grupo protector de CBZ en el grupo amino de citosina que se representa a continuación.

15 Un "grupo fosforamidato activado" es habitualmente un grupo clorofosforamidato, que tiene sustitución en el nitrógeno que se desea en el enlace fosforodiamidato eventual en el oligómero. Un ejemplo es (dimetilamino)clorofosforamidato, es decir, $-OP(=O)(NMe_2)Cl$.

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

25 El término "medio de soporte" se refiere a cualquier material que incluye, por ejemplo, cualquier partícula, perla o superficie, sobre la cual se puede unir o sintetizar un oligómero, 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 tal 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, nylon o nitrocelulosa, cerámica, resinas, sílice o materiales basados en sílice incluyendo silicio y silicio modificado, carbono, metales, vidrios inorgánicos, plásticos, haces de fibras ópticas, y una variedad de otros polímeros. Las superficies sólidas y de medio de soporte 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 divinilbenceno reticulado al 1%.

35 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 divulgación comprende uno o más grupos amino o hidroxilo terminales capaces de formar un enlace químico con una subunidad entrante u otro grupo activado para unir o sintetizar un oligómero.

40 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 por oxalilo (ver, por ejemplo, Alul et al., *Nucleic Acids Research* 1991, 19, 1527); partículas que contienen sílice, tal como perlas de vidrio poroso y gel de sílice tal como el formado por la reacción de tricloro-[3-(4-clorometil)fenil]propilsilano y perlas de vidrio poroso (ver Parr y Grohmann, *Angew. Chem. Internatl. Ed.* 1972, 11, 314, vendido bajo la marca comercial "PORASIL E" por Waters Associates, Framingham, Mass., EUA); un monoéster de 1,4-dihidroximetilbenceno y sílice (ver Bayer y Jung, *Tetrahedron Lett.* 1970, 51, 4503, vendido bajo la marca comercial "BIOPAK" por Waters Associates); TENTAGEL (ver, por ejemplo, Wright et al., *Tetrahedron Lett.* 1993, 34, 3373); matriz en perlas de copolímero de estireno/divinilbenceno reticulado, o POROS, un copolímero de poliestireno/divinilbenceno (disponible de PerSeptive Biosystems); medio de soporte soluble tal como PEG de polietilenglicol (ver Bonora et al., *Organic Process Research & Development* 2000, 4, 225-231); soporte de PEPS, que es una película de polietileno (PE) con injertos colgantes de poliestireno de cadena larga (PS) (ver Berg et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1989, 111, 8024 y la solicitud de patente internacional WO 1990/02749); copolímeros de dimetilacrilamida reticulados con N,N'-bisacriloiletilendiamina, incluyendo una cantidad conocida de N-terbutoxicarbonil-beta-alanil-N'-acriloilhexametilendiamina (ver Atherton et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1975, 97, 6584, Atherton et al., *Bioorg. Chem.* 1979, 8, 351, y Atherton et al., *J. Chem. Soc. Perkin* 11981, 538); partículas de vidrio recubiertas con un polímero de estireno reticulado hidrófobo (ver Scott et al., *J. Chrom. Sci.* 1971, 9, 577); polímero de etileno fluorado en el que se ha injertado poliestireno (ver Kent y Merrifield, *Israel J. Chem.* 1978, 17, 243 y van Rietschoten en *Peptides* 1974, Y. Wolman, Ed., Wiley and Sons, Nueva York, 1975, págs. 113-116); membranas de polipropileno recubiertas con hidroxipropilacrilato (Daniels et al., *Tetrahedron Lett.* 1989, 4345); barras de polietileno injertadas con ácido acrílico (Geysen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1984, 81, 3998); una "bolsa de té" que contiene perlas de polímero utilizadas tradicionalmente (Houghten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1985, 82, 5131); y combinaciones de los mismos.

60 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).

65

El término "agente de desbloqueo" se refiere a una composición (por ejemplo, una solución) que comprende un ácido químico o combinación de ácidos químicos para remover grupos protectores. Los ácidos químicos de ejemplo utilizados en agentes de desbloqueo incluyen ácidos halogenados, por ejemplo, ácido cloroacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido fluoroacético, ácido difluoroacético, y ácido trifluoroacético. En algunas modalidades, un agente de desbloqueo remueve uno o más grupos trilito de, por ejemplo, un oligómero, un oligómero unido al soporte, una subunidad unida al soporte u otra porción nitrógeno u oxígeno protegido.

Los términos "halógeno" y "halo" se refieren a un átomo seleccionado del grupo que consta de flúor, cloro, bromo, y yodo.

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

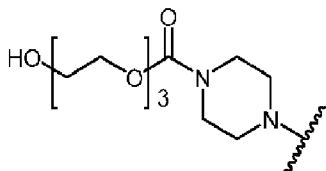
El término "agente de escisión" se refiere a una composición (por ejemplo, una solución líquida o mezcla gaseosa) que comprende una base química (por ejemplo, amoníaco o 1,8-diazabicycloundec-7-eno) o una combinación de bases químicas útiles para escindir, por ejemplo, un oligómero unido al soporte de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

El término "agente de desprotección" se refiere a una composición (por ejemplo, una solución líquida o mezcla gaseosa) que comprende una base química (por ejemplo, amoníaco, 1,8-diazabicycloundec-7-eno o carbonato de potasio) o una combinación de bases químicas útiles para remover grupos protectores. Por ejemplo, un agente de desprotección, en algunas modalidades, puede remover la protección de base de, por ejemplo, una subunidad de morfolino, subunidades de morfolino de un oligómero de morfolino, o versiones unidas al soporte de las mismas.

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

Las frases "oligómero de morfolino" y "oligómero de morfolino de fosfordiamidato" o "PMO" se refieren a un oligómero que tiene subunidades de morfolino vinculadas entre sí por enlaces de fosfordiamidato, que unen el nitrógeno de morfolino de una subunidad al carbono 5'-exocíclico de una subunidad adyacente. Cada subunidad de morfolino comprende un resto de emparejamiento de nucleobase eficaz para unirse, mediante enlaces de hidrógeno específicos de nucleobase, a una nucleobase en una diana.

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



En ciertas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación puede tener una longitud de 10 a 40 nucleótidos, 10 a 30 nucleótidos, 10 a 25 nucleótidos, 10 a 24 nucleótidos, 10 a 23 nucleótidos, 10 a 22 nucleótidos, 10 a 21 nucleótidos, 10 a 20 nucleótidos, 15 a 30 nucleótidos, 15 a 25 nucleótidos, 15 a 24 nucleótidos, 15 a 23 nucleótidos, 15 a 22 nucleótidos, 15 a 21 nucleótidos, 15 a 20 nucleótidos, 20 a 30 nucleótidos, 20 a 25 nucleótidos, 20 a 24 nucleótidos, 20 a 23 nucleótidos, o 20 a 22 nucleótidos de longitud, incluyendo todos los números enteros entre estos intervalos. Preferentemente, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación es de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 20 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 21 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 22 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene

23 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 24 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 25 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 26 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 27 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 28 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 29 nucleótidos de longitud. En algunas modalidades, un compuesto oligomérico preparado por los métodos de la divulgación tiene 30 nucleótidos de longitud.

Por consiguiente, en algunas modalidades de compuestos oligoméricos preparados por los métodos de la divulgación que incluyen, por ejemplo, modalidades de compuestos oligoméricos de la Fórmula (A) , n es un número entero que varía de 10 a 40, 10 a 30, 10 a 25, 10 a 24, 10 a 23, 10 a 22, 10 a 21, 10 a 20, 15 a 30, 15 a 25, 15 a 24, 15 a 23, 15 a 22, 15 a 21, 15 a 20, 20 a 30, 20 a 25, 20 a 24, 20 a 23, o 20 a 22. En ciertas modalidades, n es 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o 40. En algunas modalidades, n es 10. En algunas modalidades, n es 11. En algunas modalidades, n es 12. En algunas modalidades, n es 15. En algunas modalidades, n es 18. En algunas modalidades, n es 20. En algunas modalidades, n es 21. En algunas modalidades, n es 22. En algunas modalidades, n es 23. En algunas modalidades, n es 24. En algunas modalidades, n es 25. En algunas modalidades, n es 26. En algunas modalidades, n es 27. En algunas modalidades, n es 28. En algunas modalidades, n es 29. En algunas modalidades, n es 30.

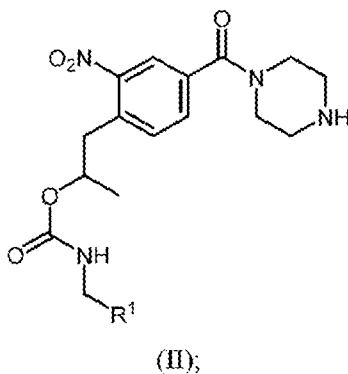
Los términos "alrededor de" o "aproximadamente" en general se entienden por personas con conocimientos en el área temática pertinente, pero en ciertas circunstancias pueden significar dentro de $\pm 10\%$, o dentro de $\pm 5\%$, de un valor o intervalo determinado.

Procesos para la preparación de oligómeros de morfolino

La síntesis se prepara en general, como se describe en la presente, en un medio de soporte. En general, un primer sintón (por ejemplo, un monómero, tal como una subunidad de morfolino) se une primero a un medio de soporte, y el oligómero se sintetiza entonces por el acoplamiento secuencial de subunidades al sintón unido al soporte. Este alargamiento iterativo finalmente da por resultado un compuesto oligomérico final. Los medios de soporte adecuados pueden ser solubles o insolubles, o pueden poseer solubilidad variable en diferentes solventes para permitir que el polímero unido al soporte en crecimiento esté dentro o fuera de la solución según se desee. Los medios de soporte tradicionales son en su mayor parte insolubles y se colocan de manera rutinaria en recipientes de reacción mientras que los reactivos y solventes reaccionan con y/o lavan la cadena en crecimiento hasta que el oligómero ha alcanzado la longitud diana, después de lo cual el oligómero se escinde del soporte y, si es necesario, se procesa adicionalmente para producir el compuesto polimérico final. Enfoques más recientes han introducido soportes solubles que incluyen soportes poliméricos solubles para permitir la precipitación y disolución del producto sintetizado iterativamente en los puntos deseados de la síntesis (Gravert et al., Chem. Rev. 1997, 97,489-510).

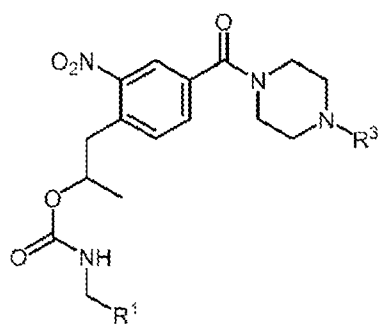
En la presente se proporcionan procesos para la preparación de oligómeros de morfolino.

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



en donde R¹ es un medio de soporte;

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



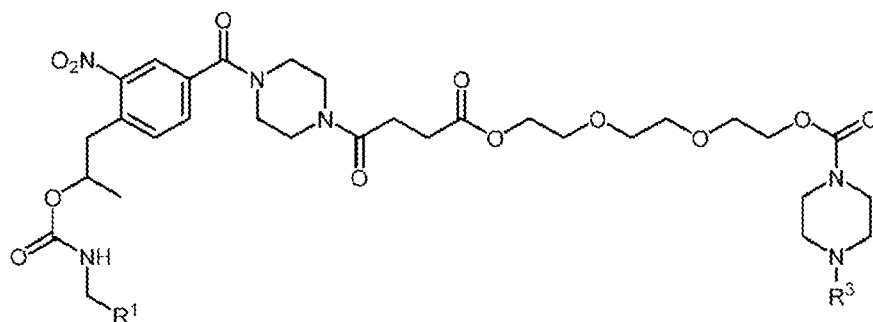
(A1);

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

5

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

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



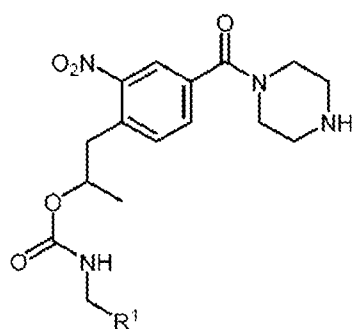
(A3);

10

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

15

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

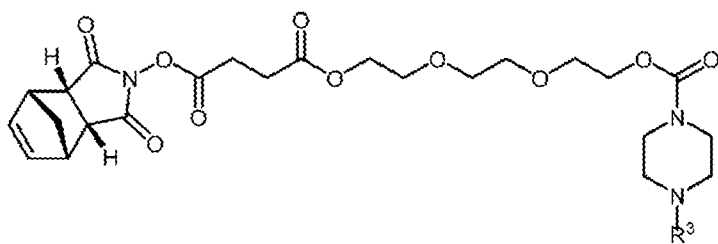


(II);

en donde R^1 es un medio de soporte;

20

con un compuesto de Fórmula (A2):

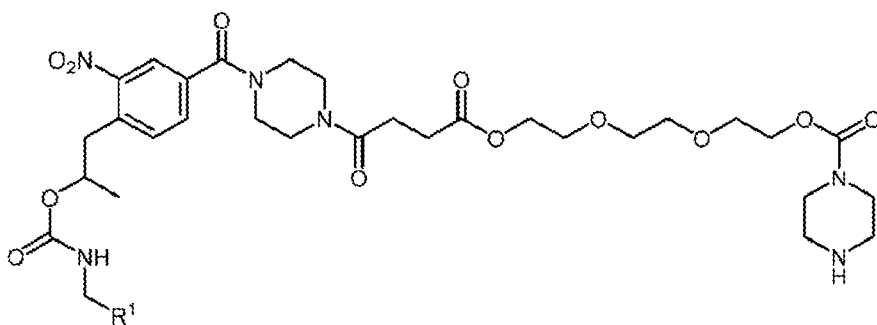


(A2);

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

5 para formar el compuesto de Fórmula (A3).

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

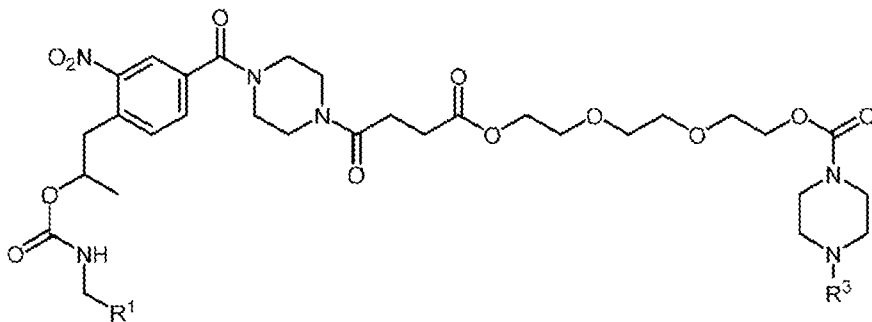


(IV);

10

en donde R^1 es un medio de soporte;

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



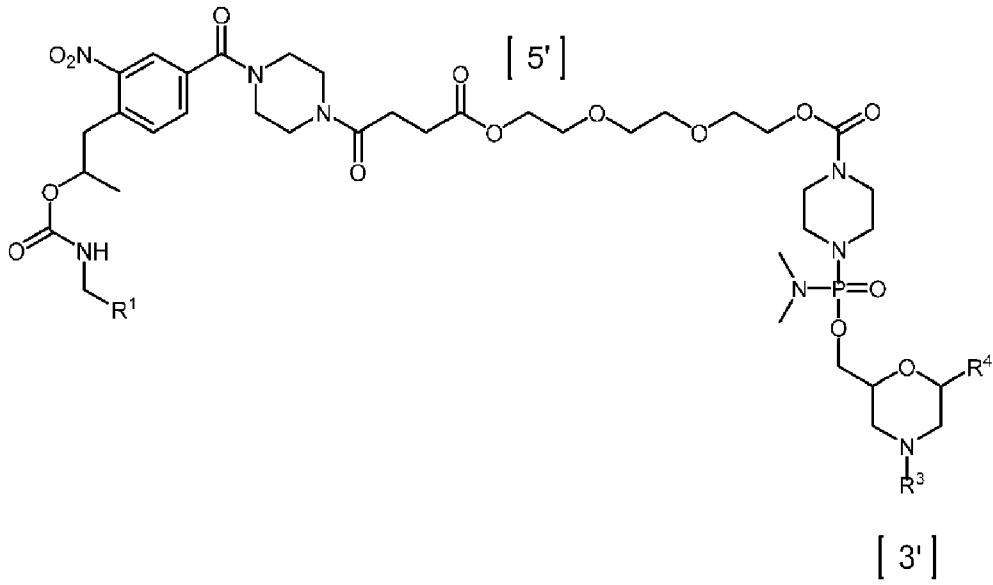
(A3);

15

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

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

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

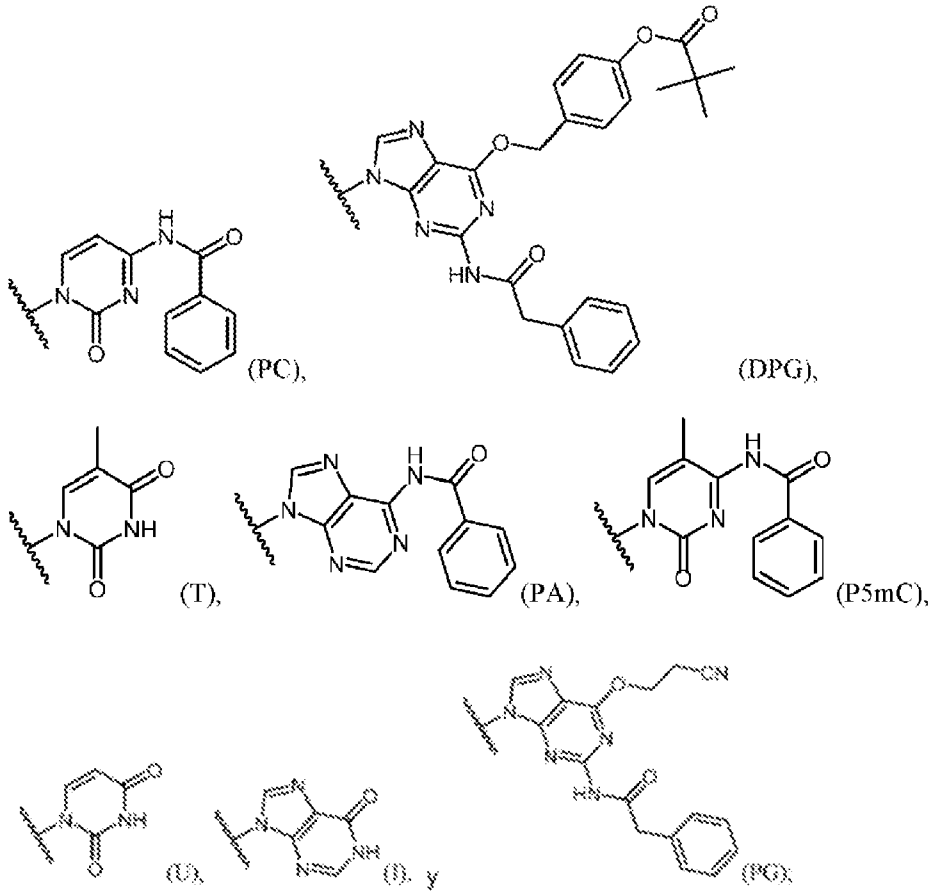


(A5);

en donde R¹ es un medio de soporte, R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

5

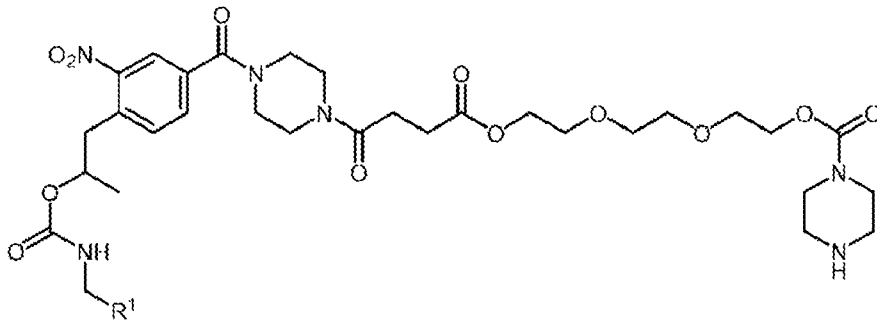
R⁴ se selecciona del grupo que consta de:



10

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

15

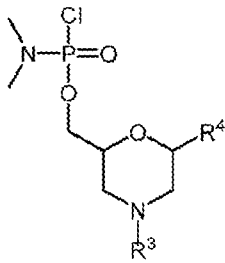


(IV);

en donde R¹ es un medio de soporte;

5

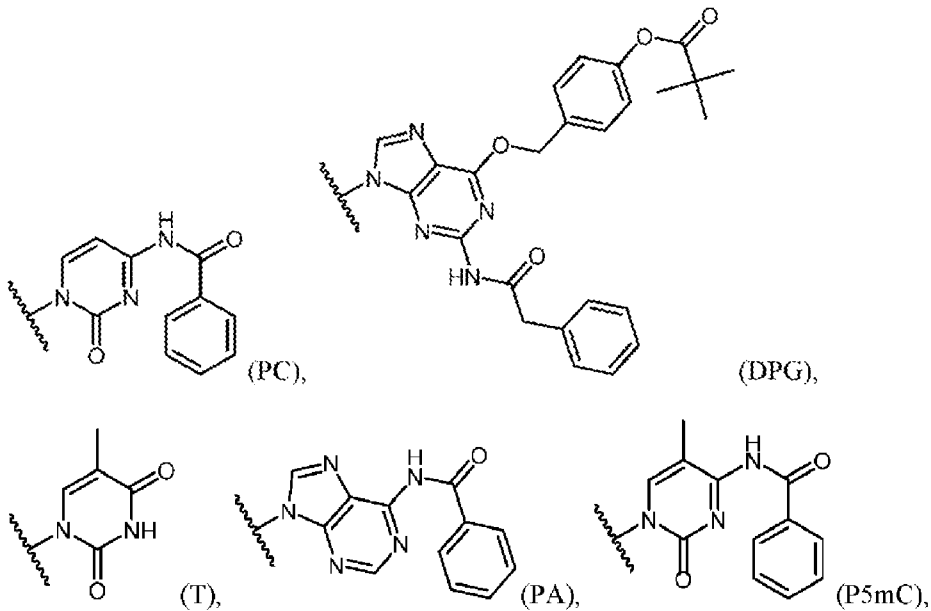
con un compuesto de Fórmula (A4);



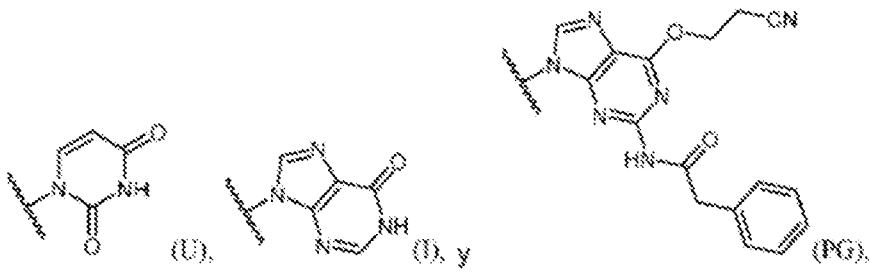
(A4);

en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona del grupo que consta de:

10

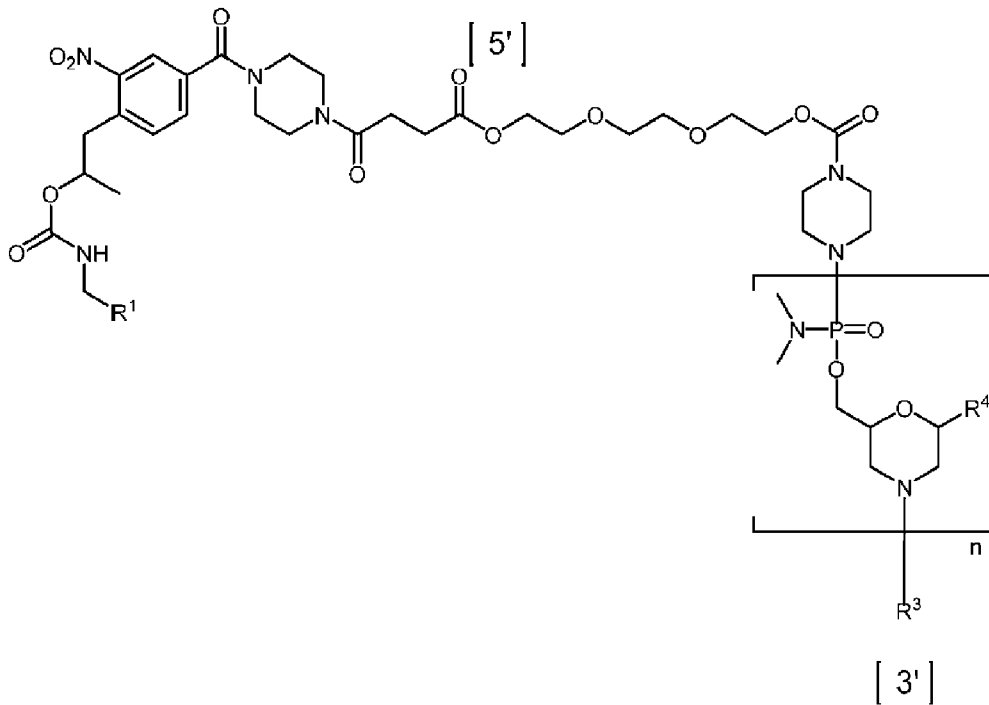


15



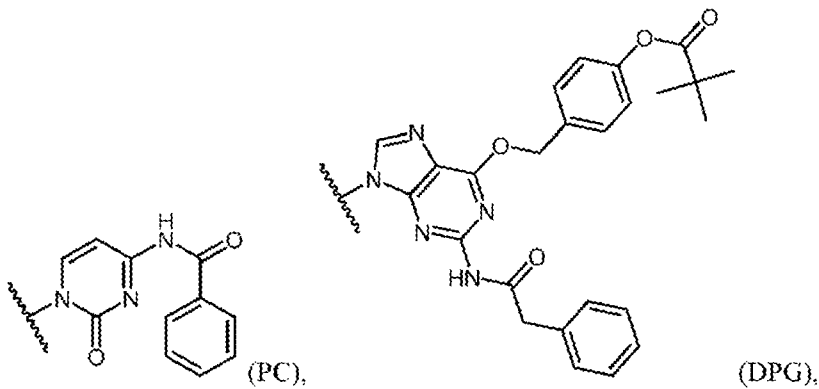
para formar un compuesto de Fórmula (A5).

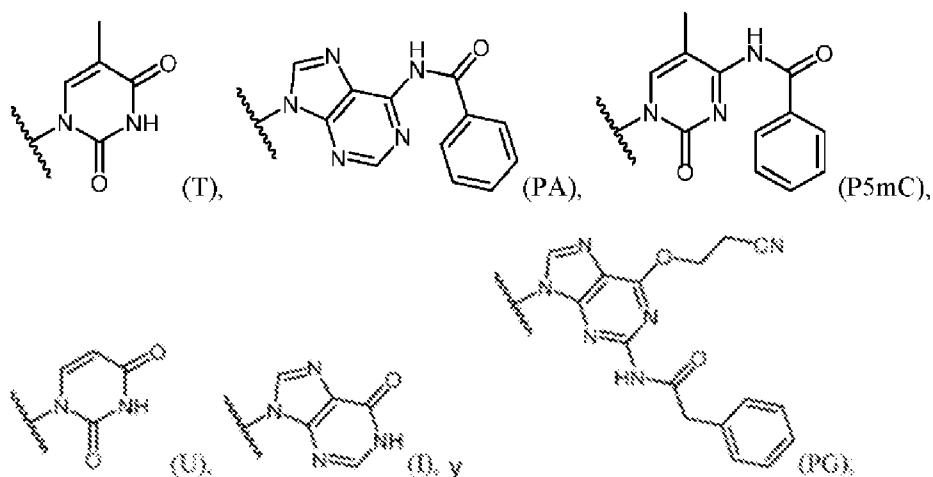
5 En otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A9):



(A9);

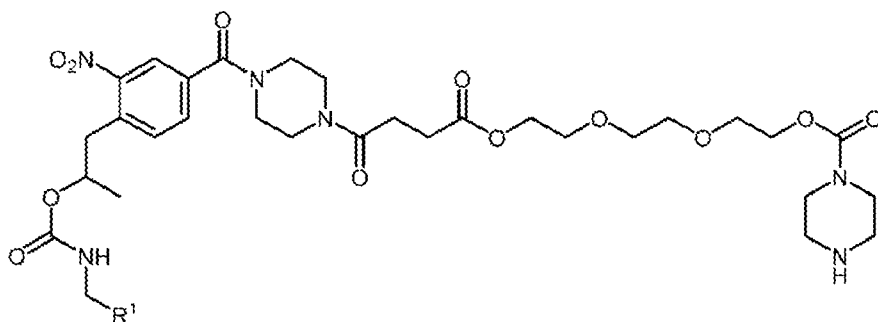
10 en donde n es un número entero de 10 a 40, R¹ es un medio de soporte, R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:





5 y en donde el proceso comprende los pasos secuenciales de:

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

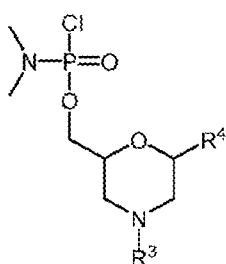


(IV);

10

en donde R¹ es un medio de soporte;

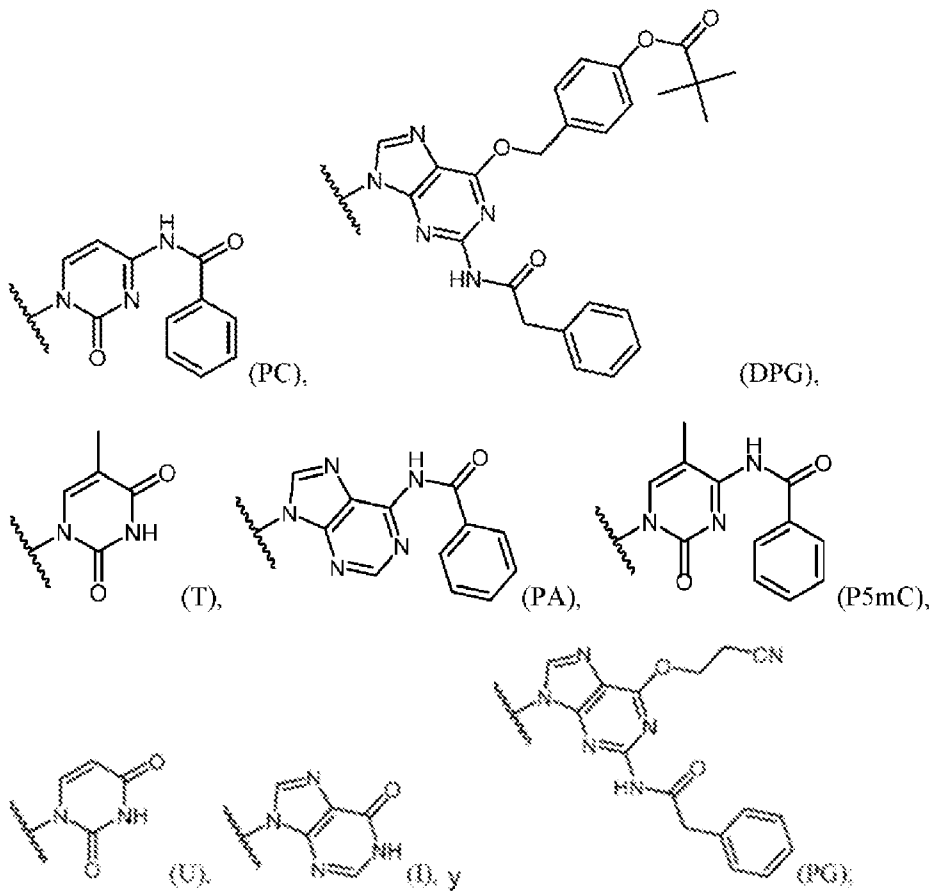
con un compuesto de Fórmula (A4);



15

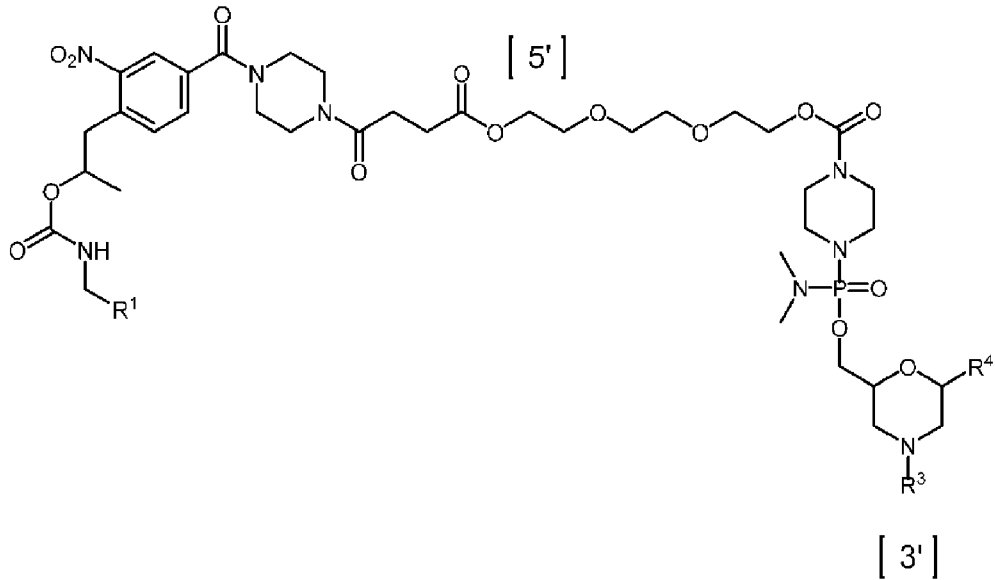
(A4);

en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona del grupo que consta de:



5

para formar un compuesto de Fórmula (A5):

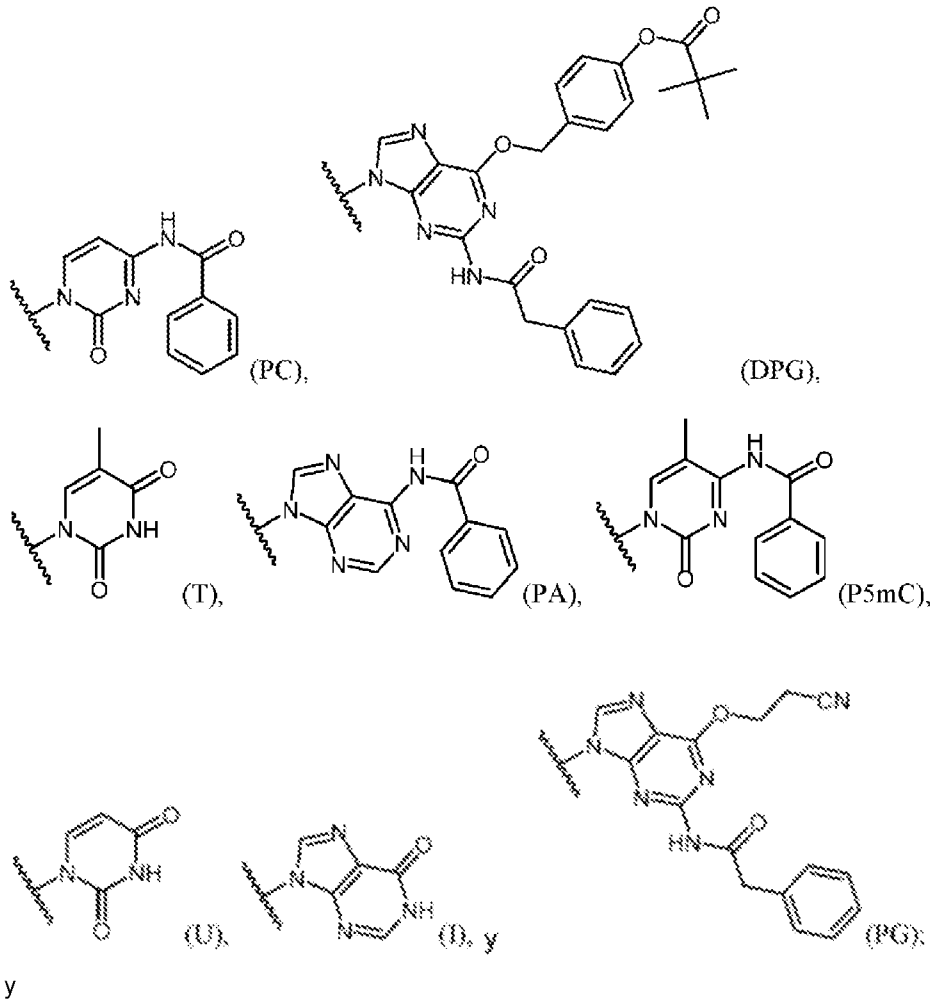


10

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

15

R^4 se selecciona del grupo que consta de:



5

y

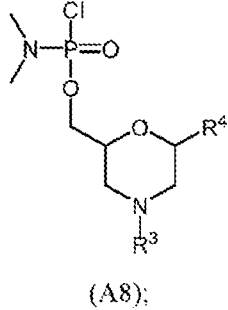
(b) realizar N-1 iteraciones de los pasos secuenciales de:

10

(b1) poner en contacto el producto formado por el paso inmediatamente anterior con un agente de desbloqueo; y

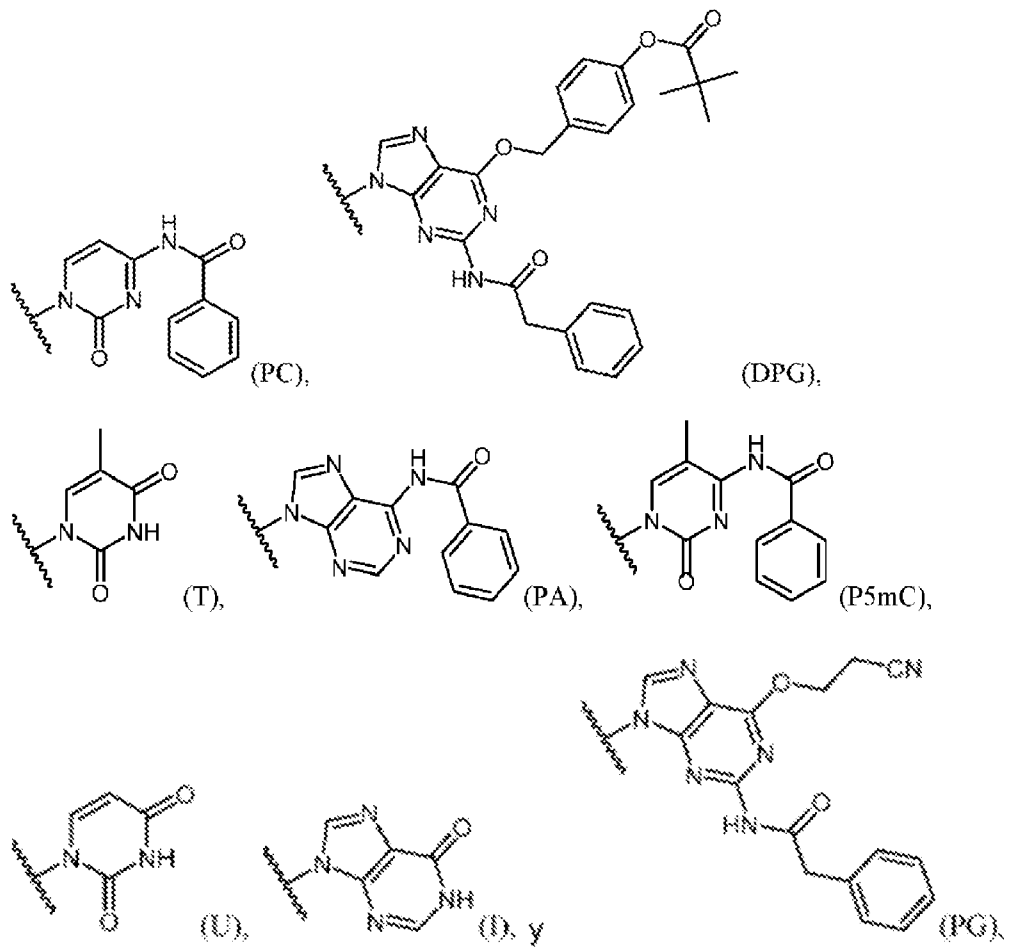
15

(b2) poner en contacto el compuesto formado por el paso inmediatamente anterior con un compuesto de Fórmula (A8):



20

en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona del grupo que consta de:

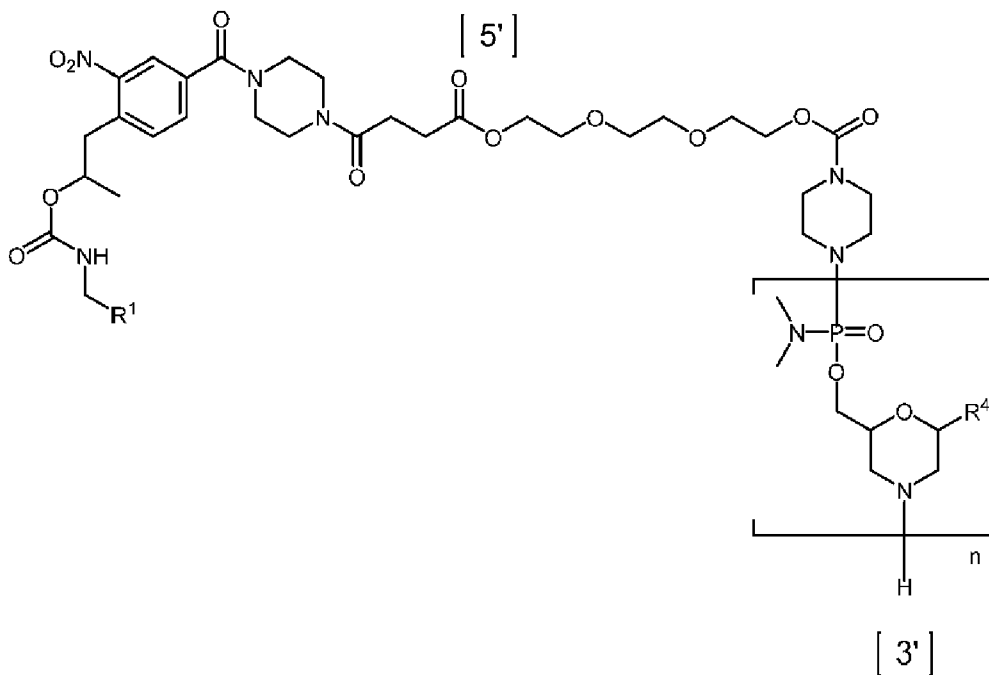


5

para formar un compuesto de Fórmula (A9).

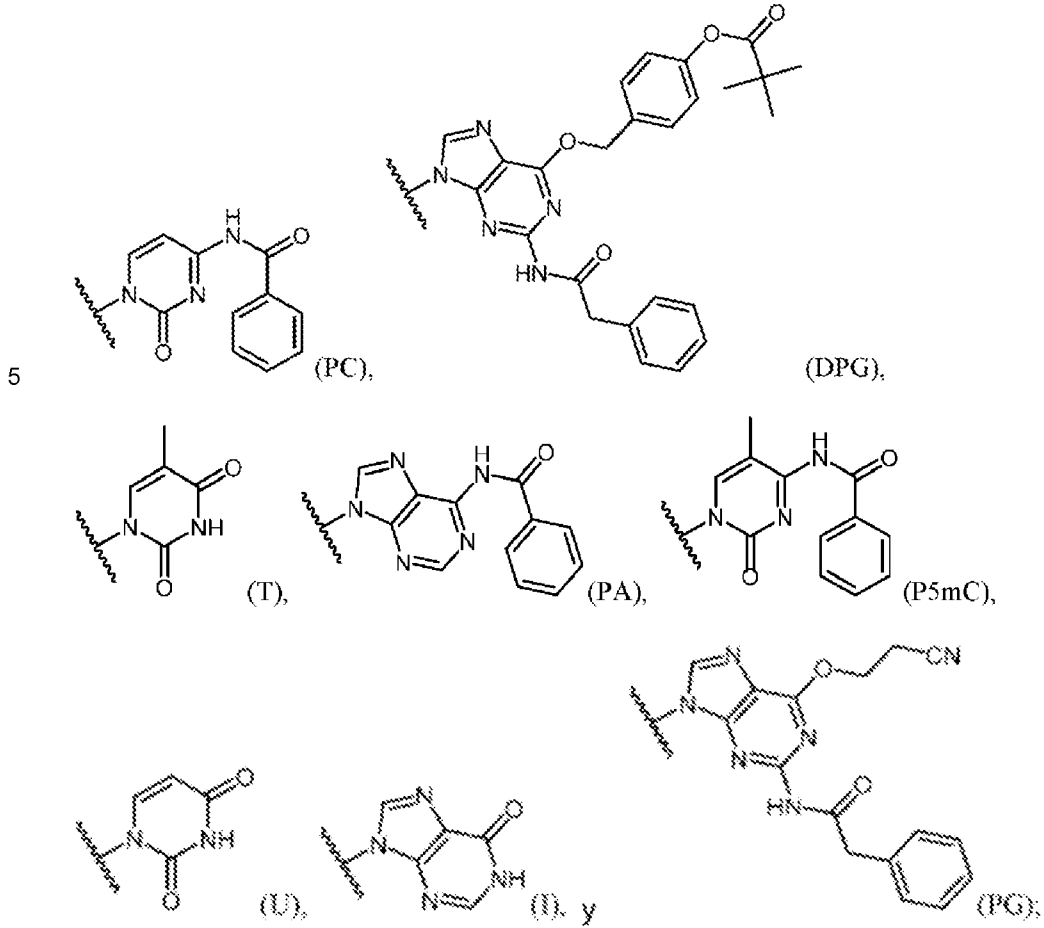
En aun otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A10):

10

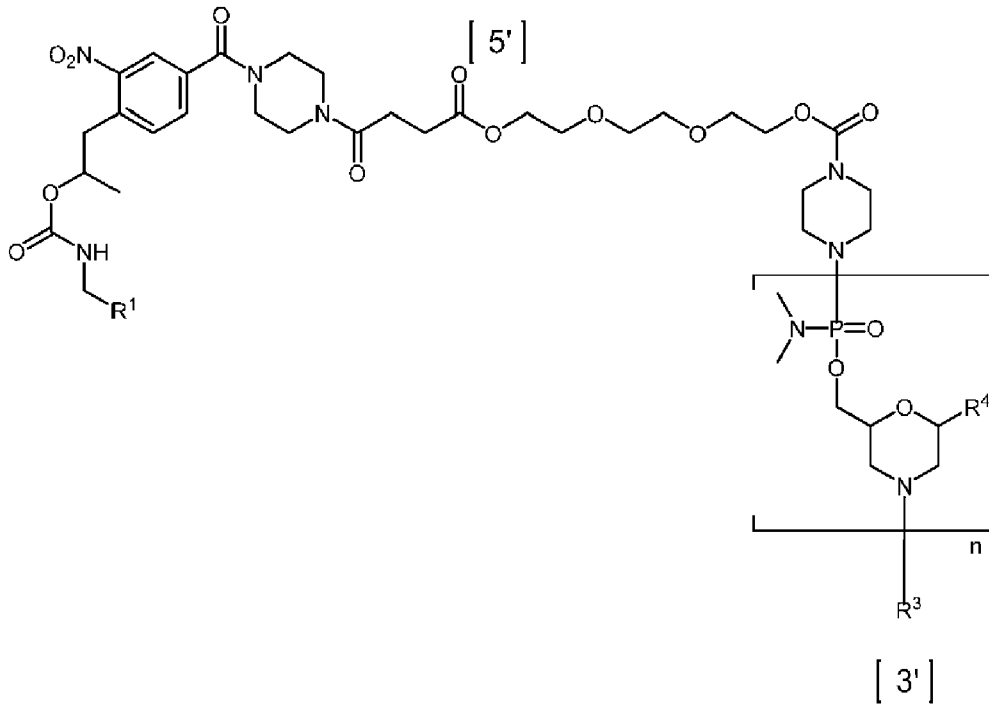


(A10);

en donde n es un número entero de 10 a 40, R¹ es un medio de soporte y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



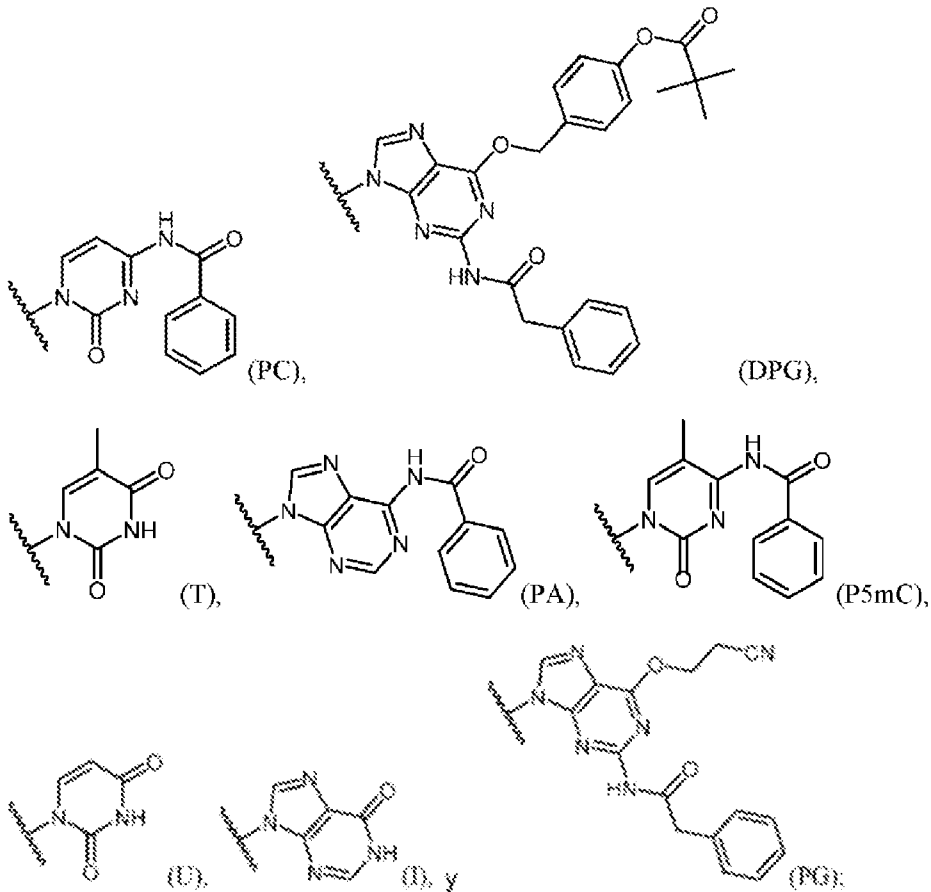
en donde el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (A9):



(A9);

en donde n es un número entero de 10 a 40, R¹ es un medio de soporte, R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:

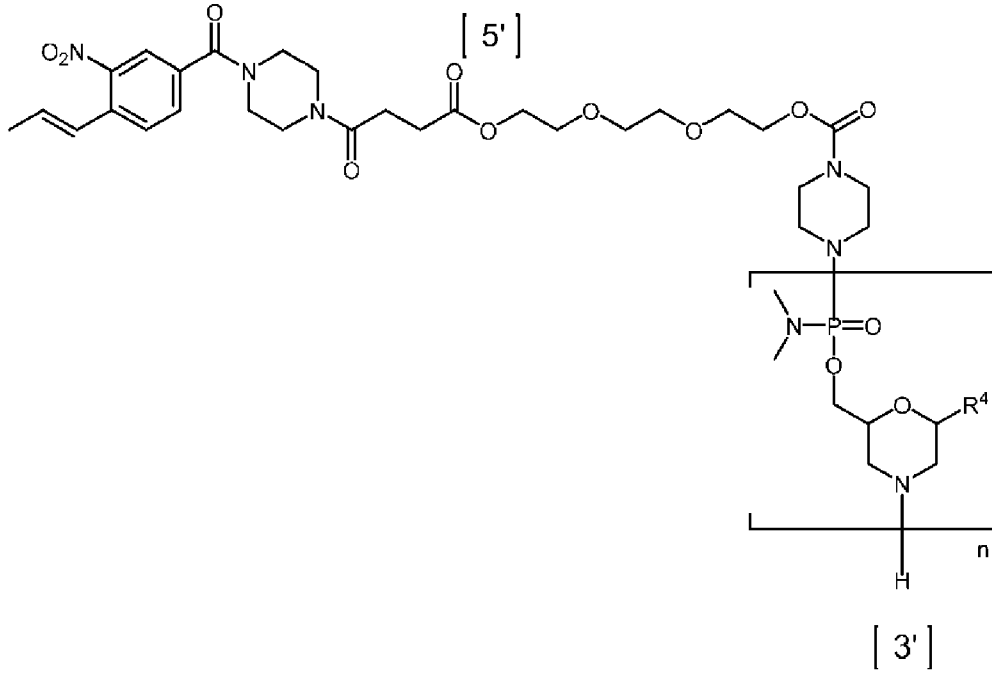
5



10

y con un agente de desbloqueo para formar el compuesto de Fórmula (A10):

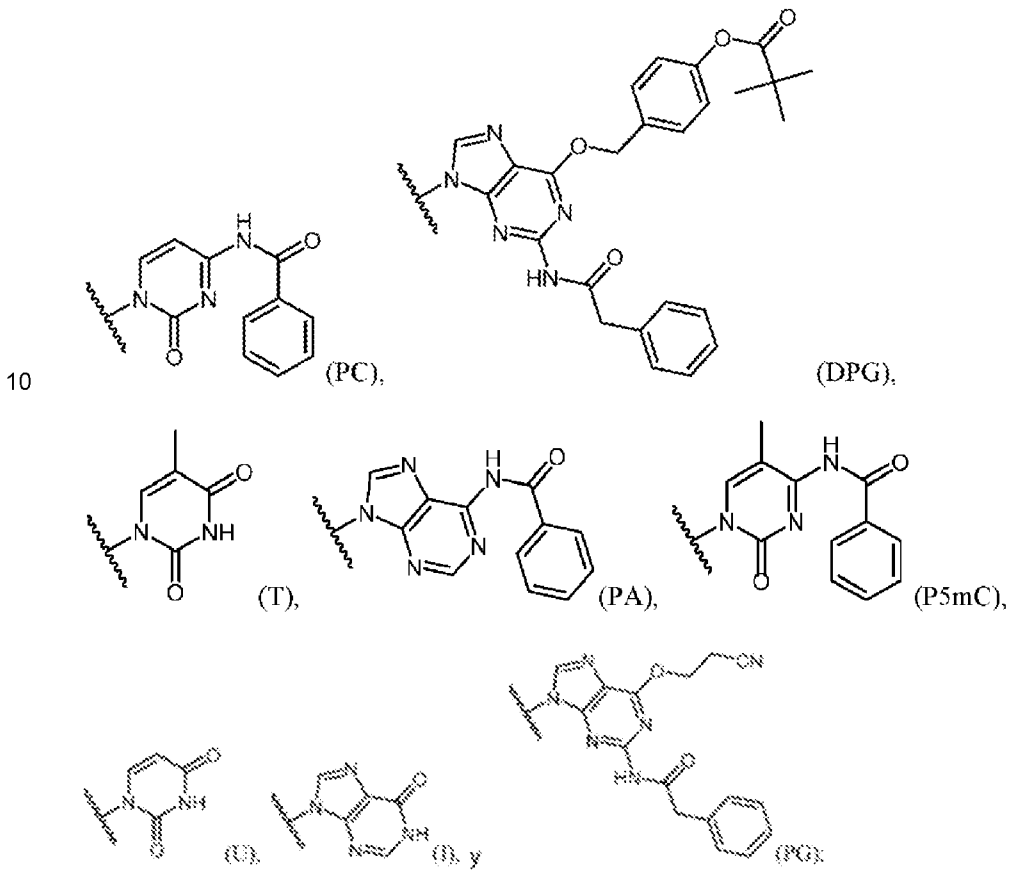
En aun otro aspecto, en la presente se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A11):



5

(A11);

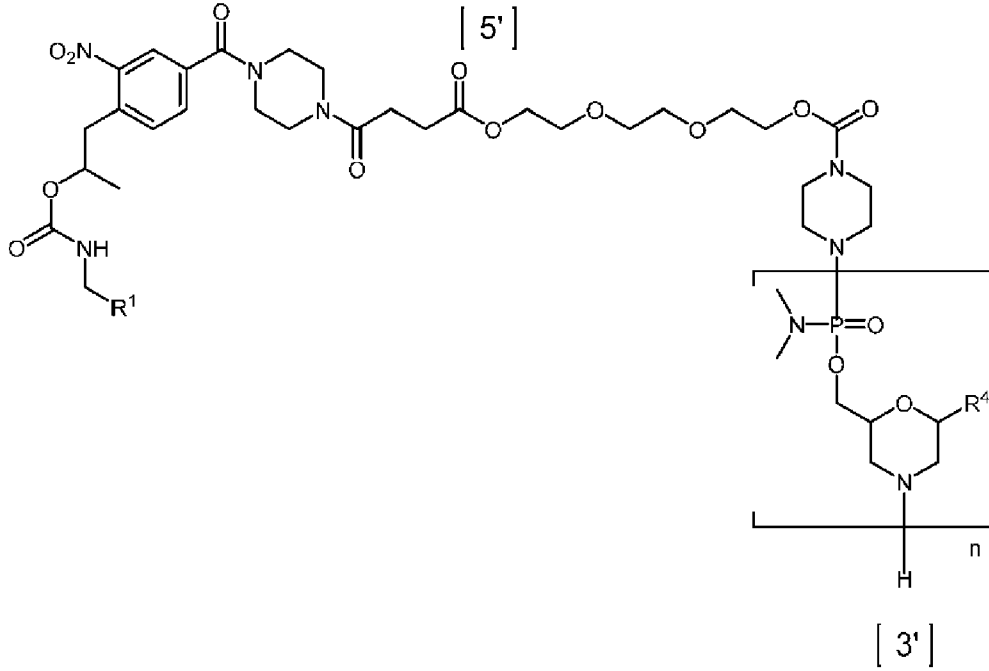
en donde n es un número entero de 10 a 40, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



y

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

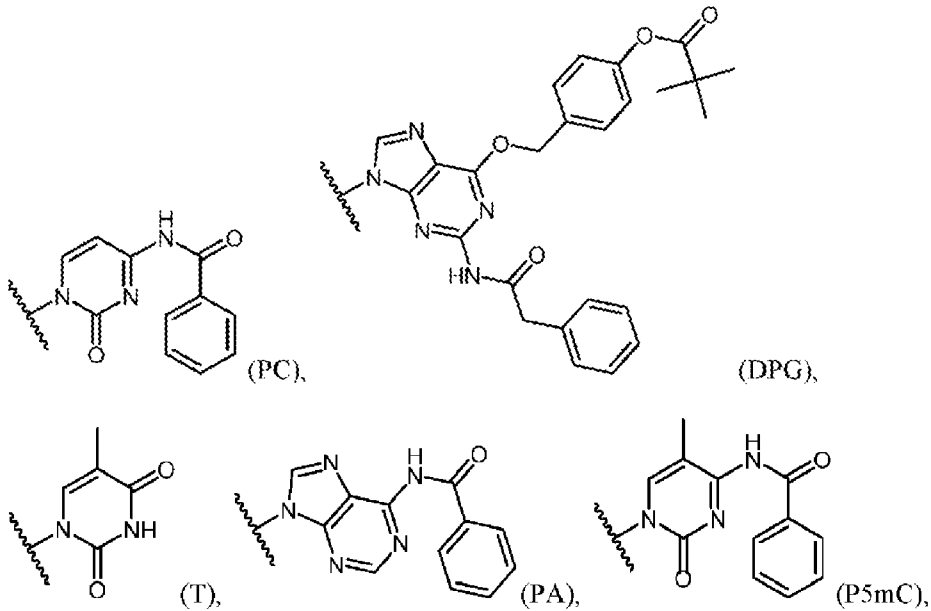
5

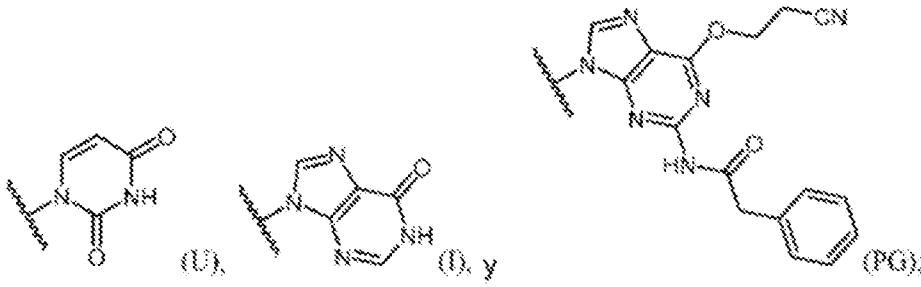


(A10);

en donde n es un número entero de 10 a 40, R¹ es un medio de soporte y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:

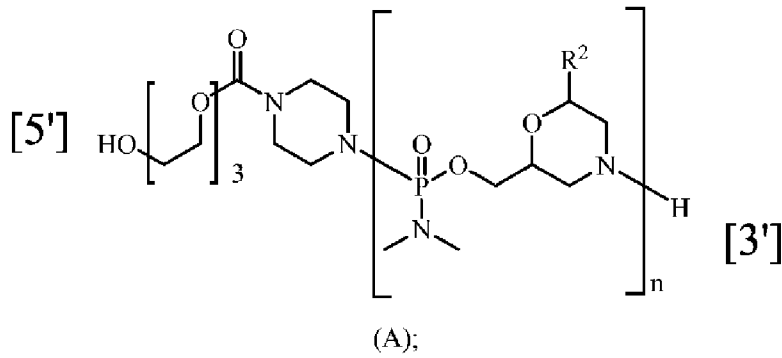
10



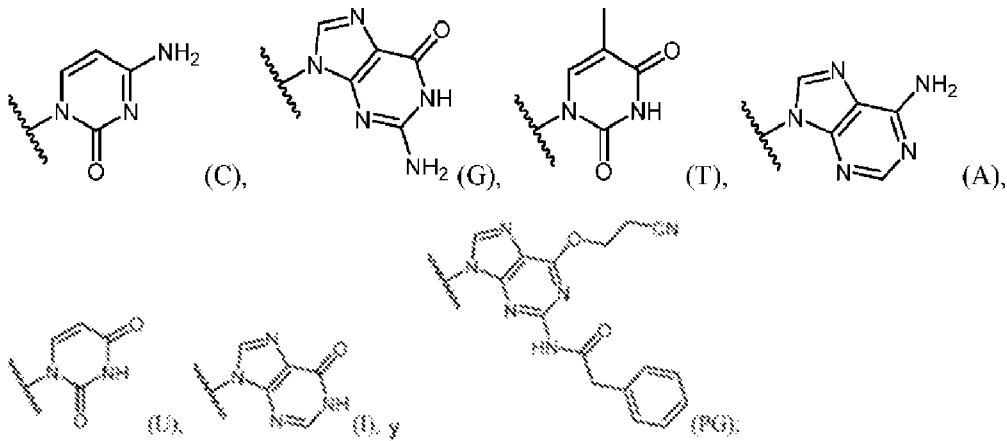


con un agente de escisión para formar un compuesto de Fórmula (A11):

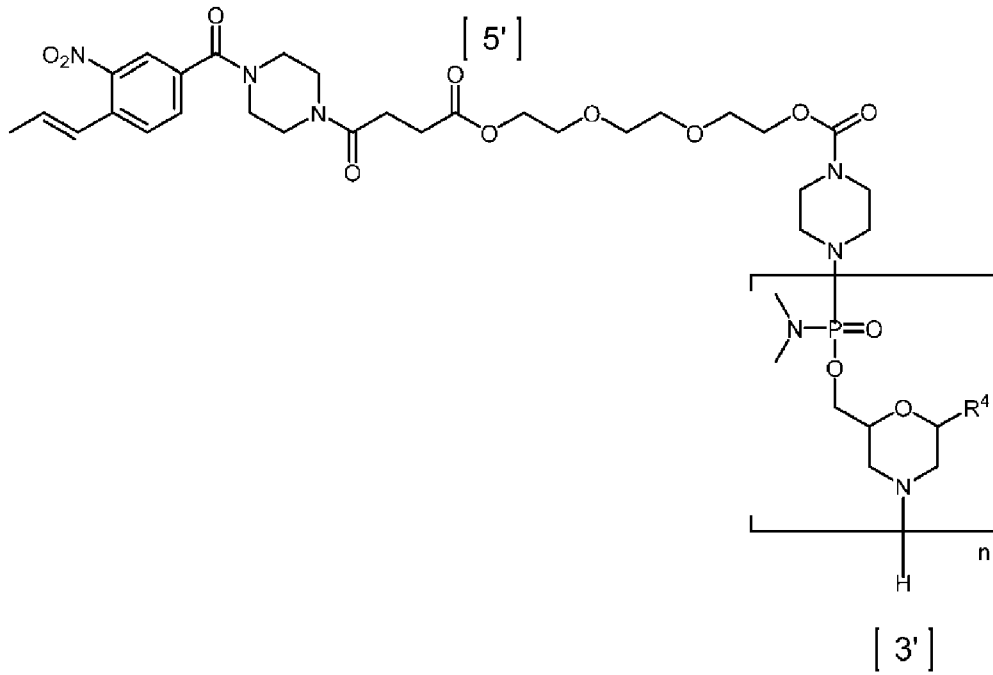
5 La presente invención se refiere a un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (A):



10 en donde n es un número entero de 10 a 40, y cada R² se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



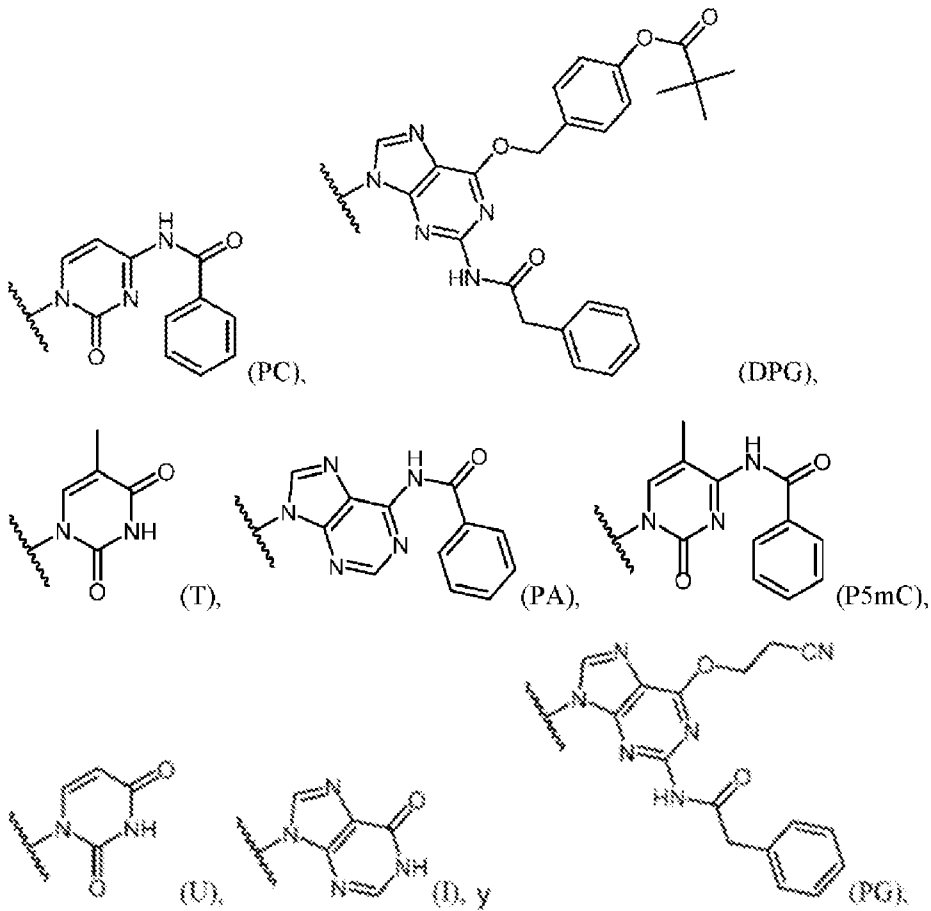
15 en donde el proceso comprende poner en contacto un compuesto de Fórmula (A11):



(A11);

en donde n es un número entero de 10 a 40, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:

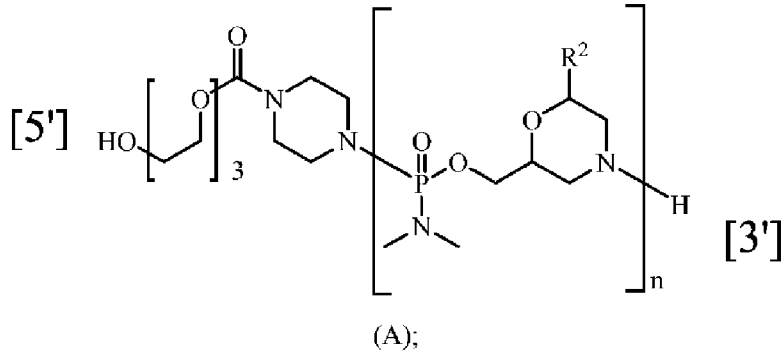
5



10

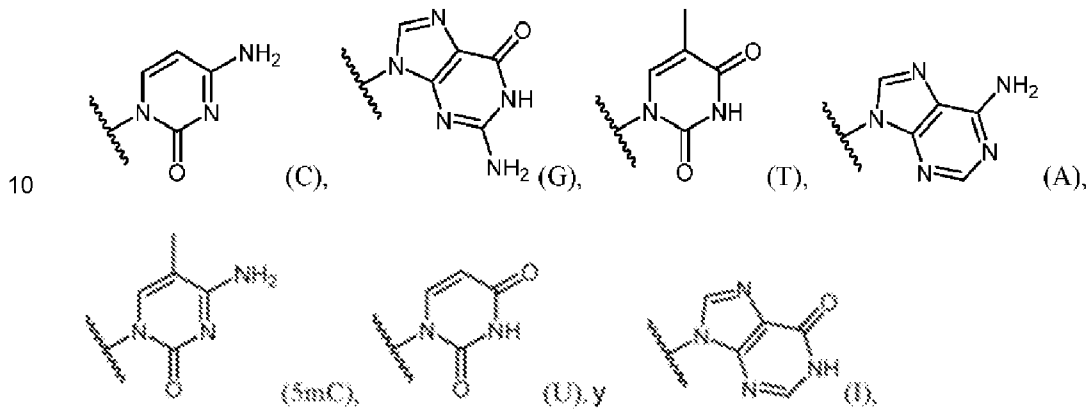
con un agente de desprotección para formar el compuesto oligomérico de Fórmula (II):

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



5

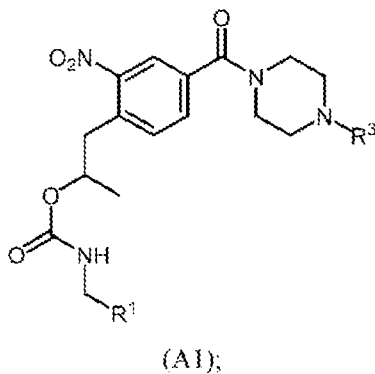
en donde n es un número entero de 10 a 40, y cada R² se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



15

en donde el proceso comprende los pasos secuenciales de:

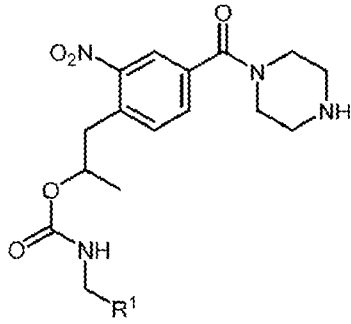
(a) poner en contacto un compuesto de Fórmula (A1):



20

en donde R¹ es un medio de soporte y R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

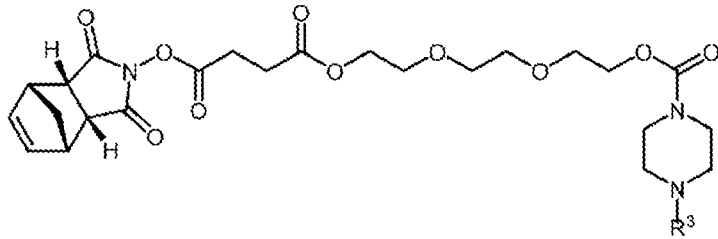
con un agente de desbloqueo para formar el compuesto de Fórmula (II):



(II);

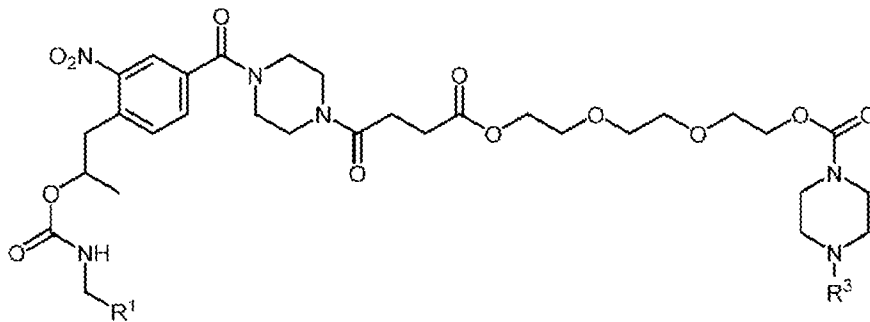
en donde R¹ es un medio de soporte;

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



(A2);

10 en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;
para formar un compuesto de Fórmula (A3):

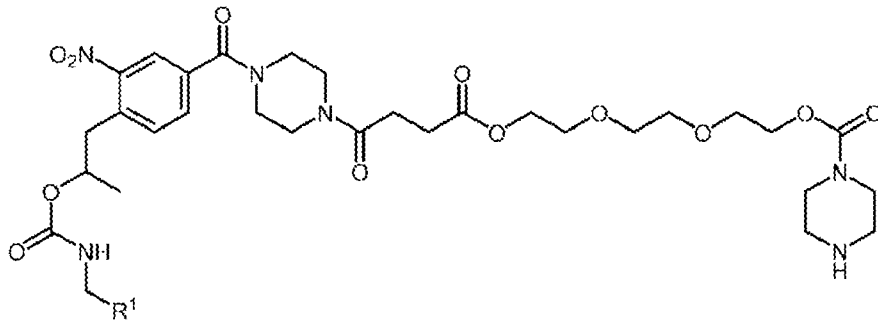


(A3);

15 en donde R¹ es un medio de soporte, y R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo,
dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

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

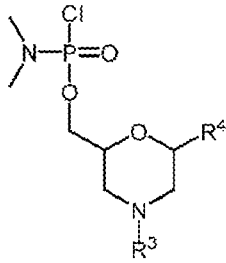
20



(IV);

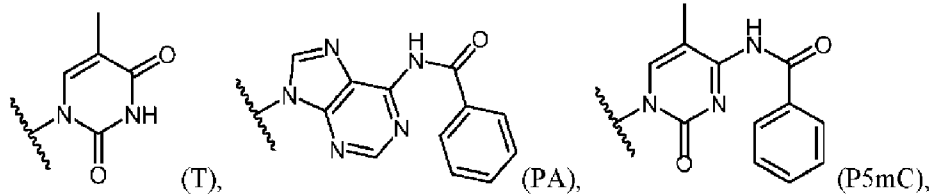
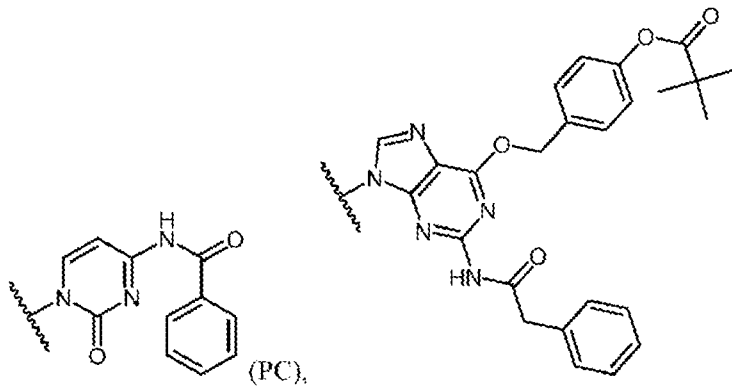
en donde R¹ es un medio de soporte;

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

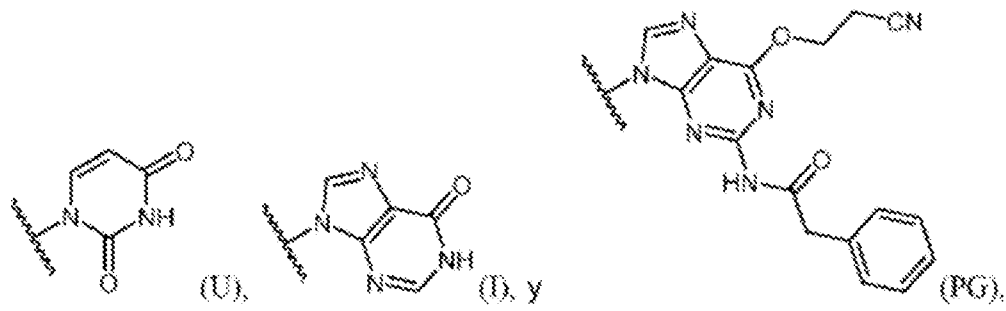


(A4);

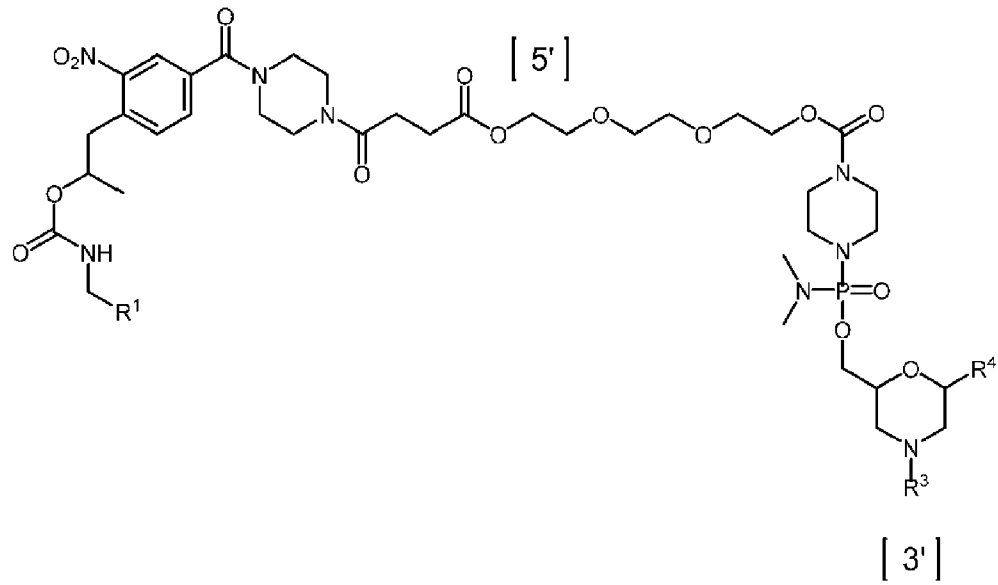
10 en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona del grupo que consta de:



15



para formar un compuesto de Fórmula (A5):



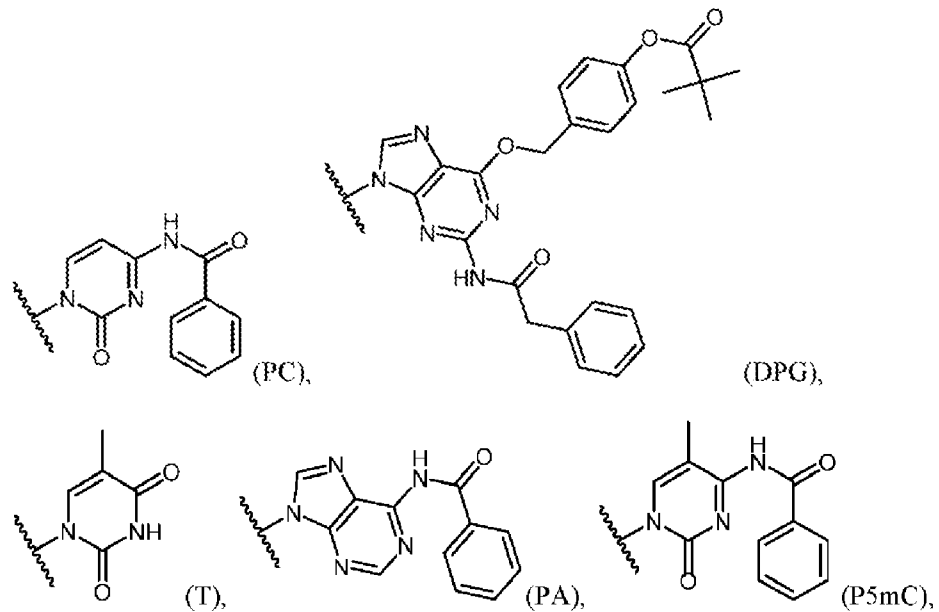
5

(A5);

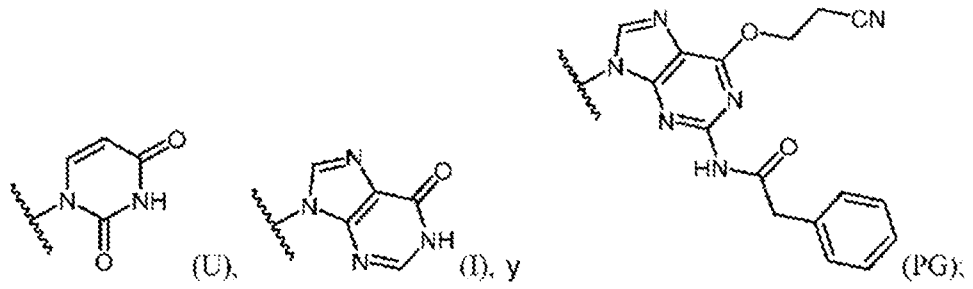
en donde R¹ es un medio de soporte, R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

10

R⁴ se selecciona del grupo que consta de:



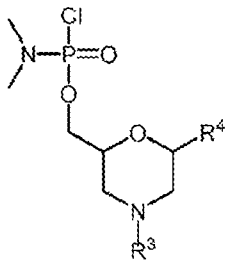
15



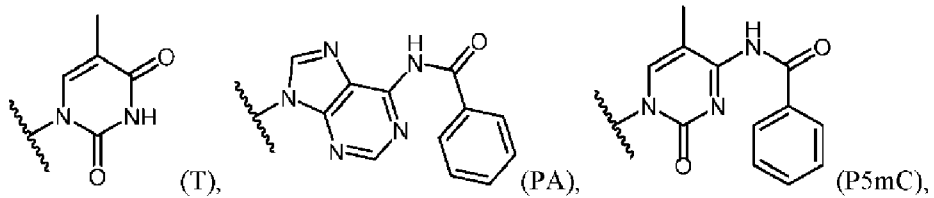
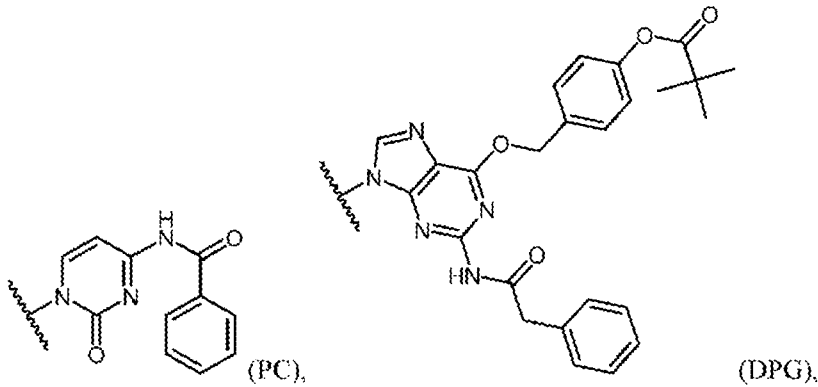
(e) realizar N-1 iteraciones de los pasos secuenciales de:

5 (e1) poner en contacto el producto formado por el paso inmediatamente anterior con un agente de desbloqueo; y

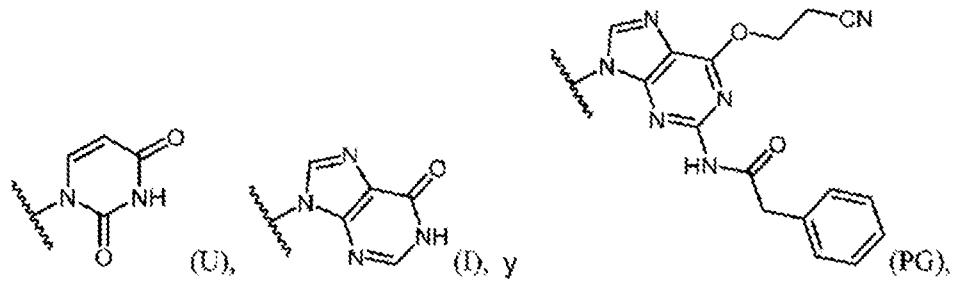
10 (e2) poner en contacto el compuesto formado por el paso inmediatamente anterior con un compuesto de Fórmula (A8);



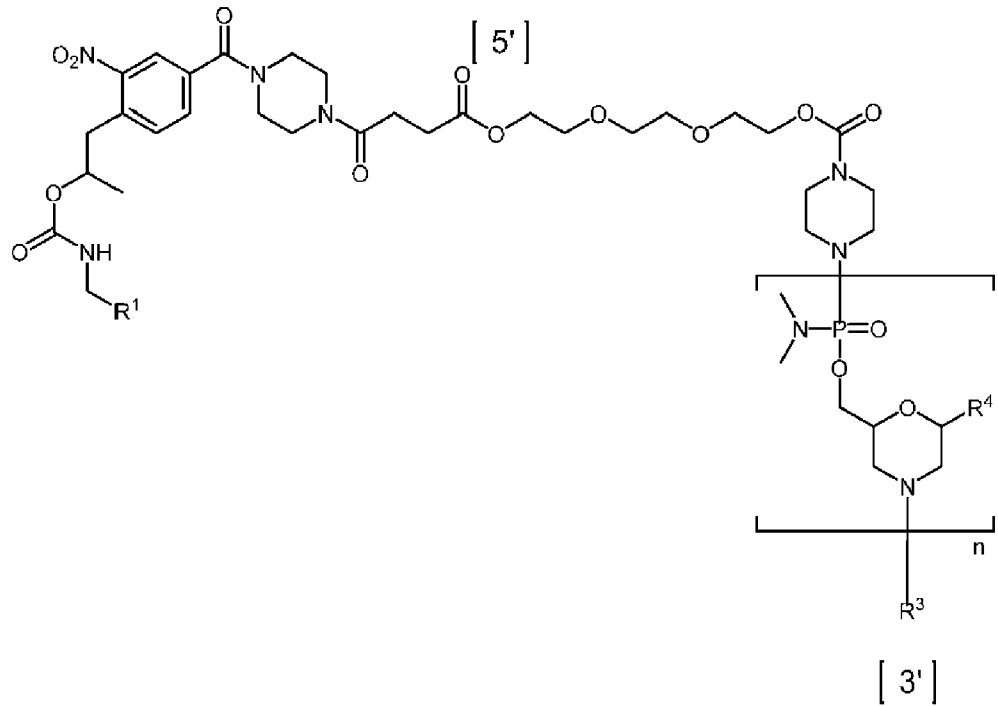
15 en donde R^3 se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4 se selecciona, independientemente para cada compuesto de Fórmula (A8), del grupo que consta de:



20



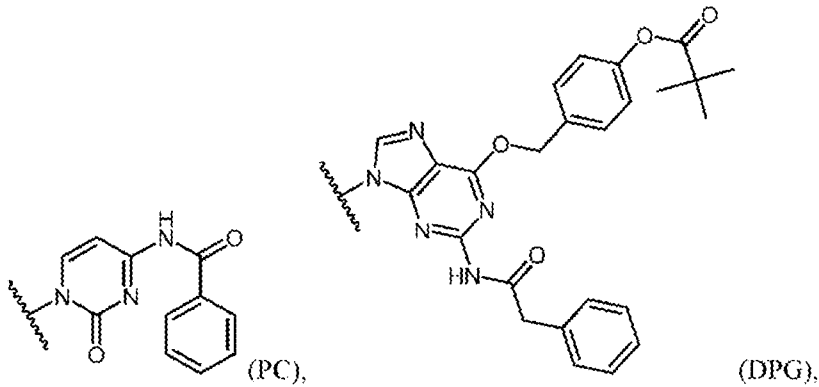
para formar un compuesto de Fórmula (A9):

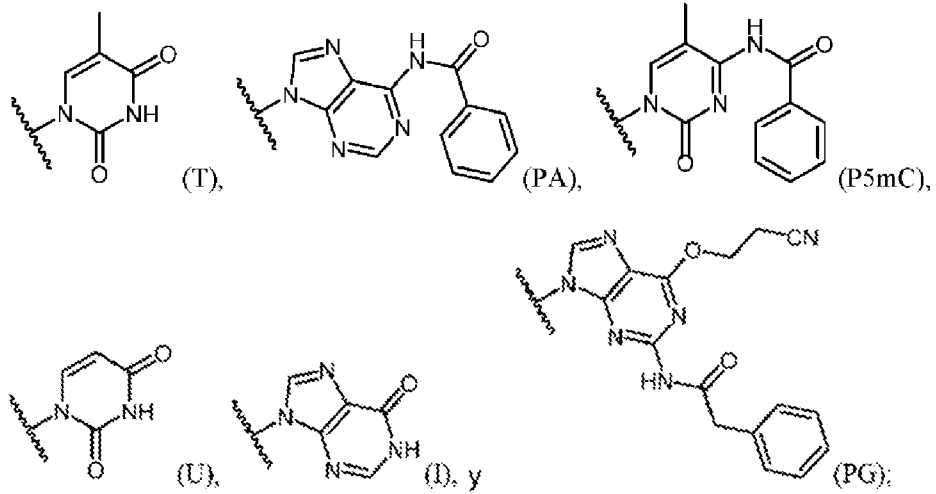


5

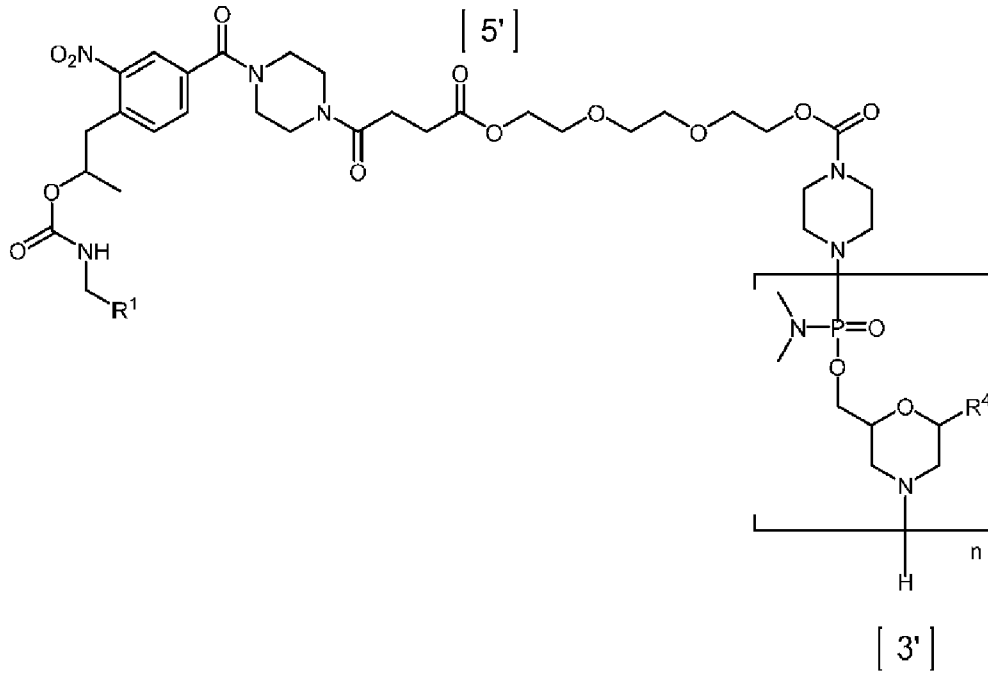
en donde n es un número entero de 10 a 40, R¹ es un medio de soporte, R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:

10

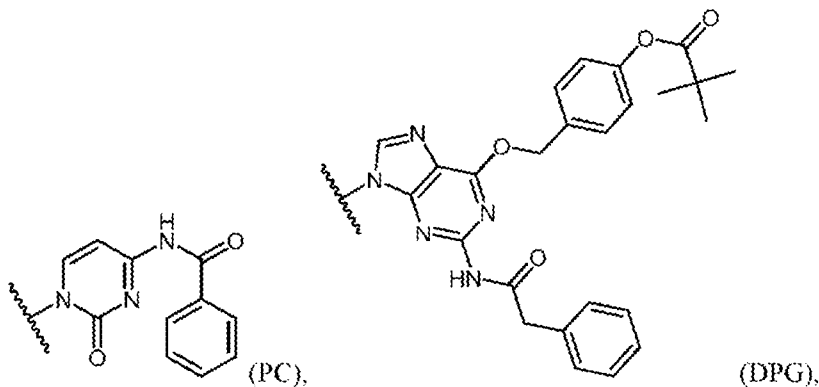


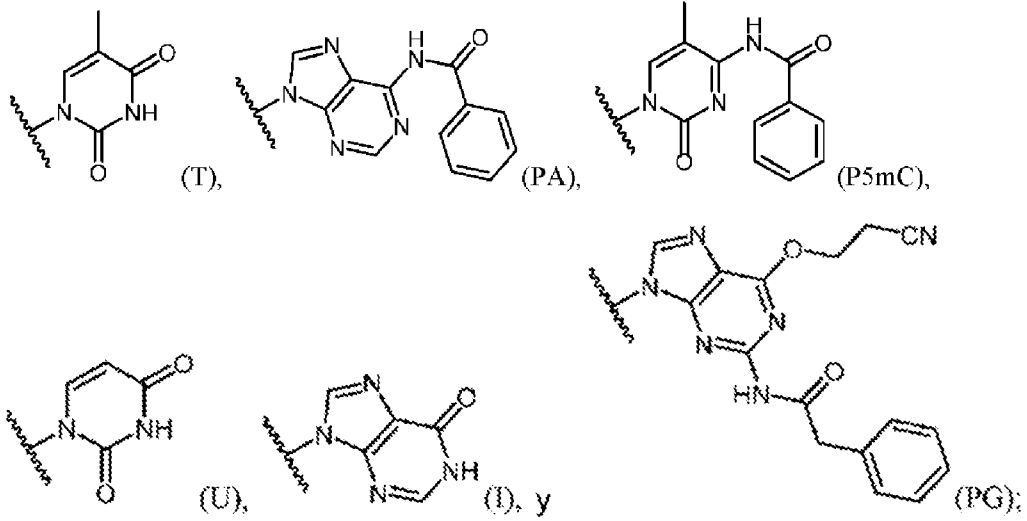


5 (f) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A9) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (A10):



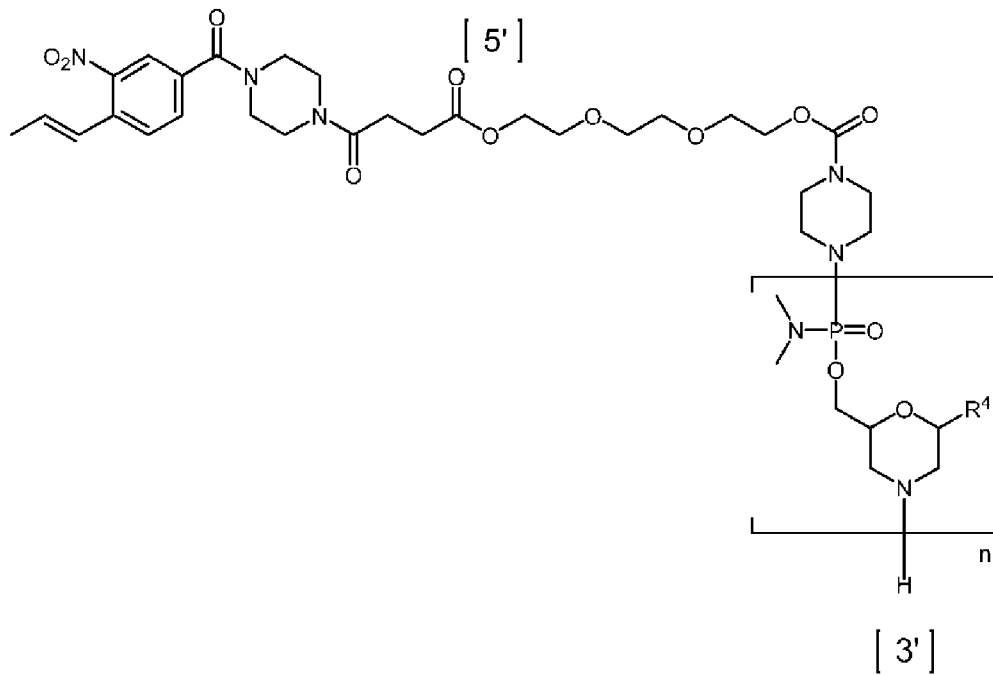
10 en donde n es un número entero de 10 a 40, R¹ es un medio de soporte y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:





5

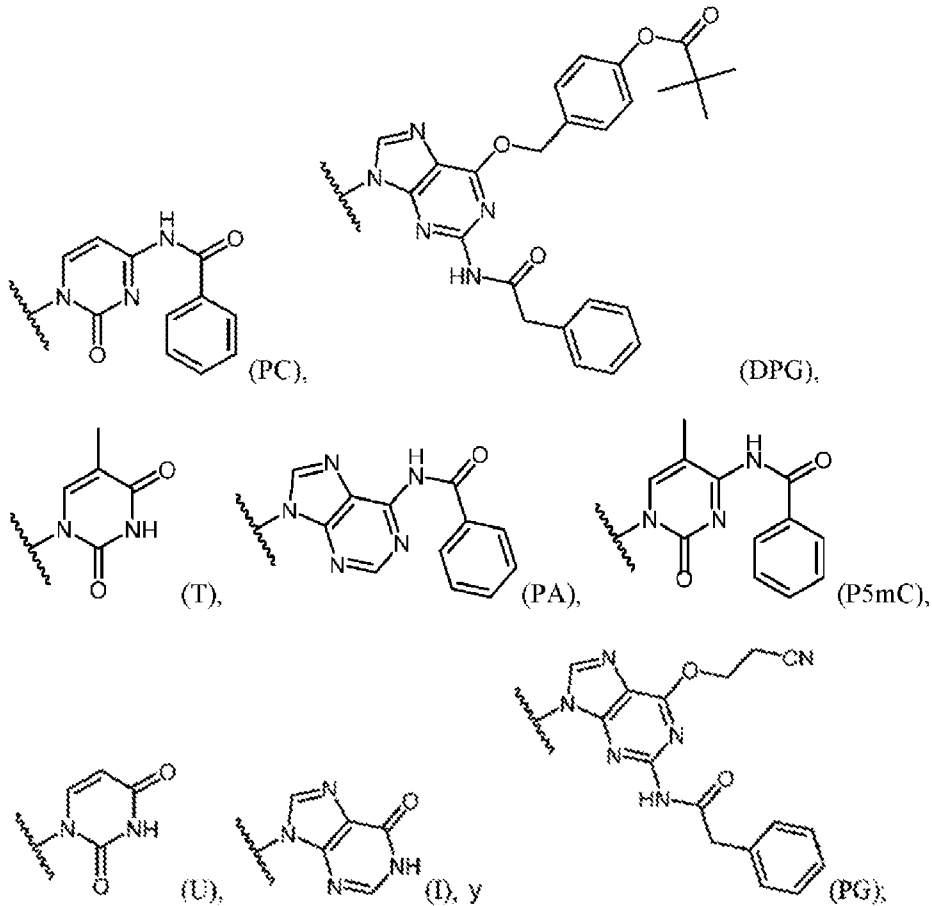
(g) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A10) con un agente de escisión para formar un compuesto de Fórmula (A11):



(A11);

10

en donde n es un número entero de 10 a 40, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



5

y

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

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

15

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

20 En aun otra modalidad, el agente de desbloqueo utilizado en cada paso es una solución que comprende un ácido halogenado.

20

En aun otra modalidad, el agente de desbloqueo utilizado en cada paso es ácido cianoacético.

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

25

En otra modalidad, el ácido halogenado es ácido trifluoroacético.

30 En aun otra modalidad, al menos uno de los pasos (a), (c), (e1) y (f) comprende además el paso de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada paso con un agente de neutralización.

30

En aun otra modalidad, cada uno de los pasos (a), (c), (e1) y (f) comprende además el paso de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada paso con un agente de neutralización.

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

35

En aun otra modalidad, el agente de neutralización es una monoalquilo, dialquilo, o trialquilamina.

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

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

5

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

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

10

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

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

15

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

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

20

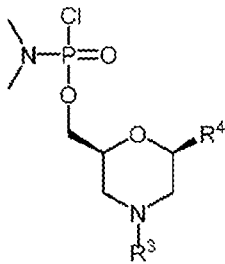
En aun otra modalidad, el agente de desprotección comprende NH₃.

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

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

25

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



30

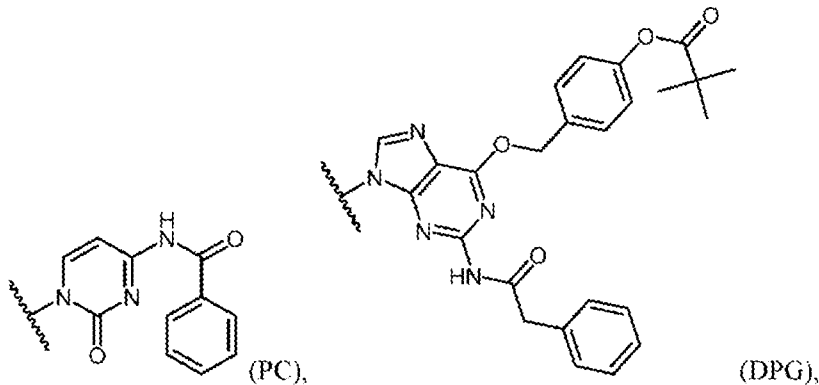
(A4a);

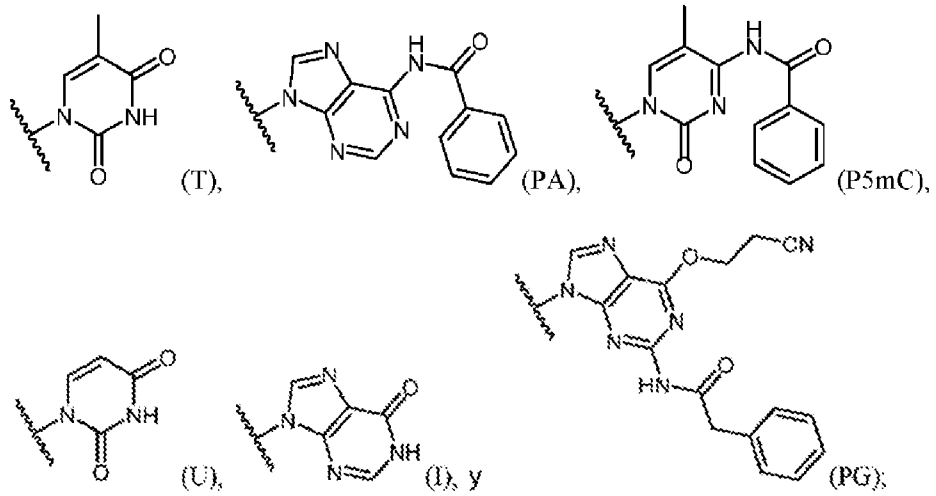
en donde:

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

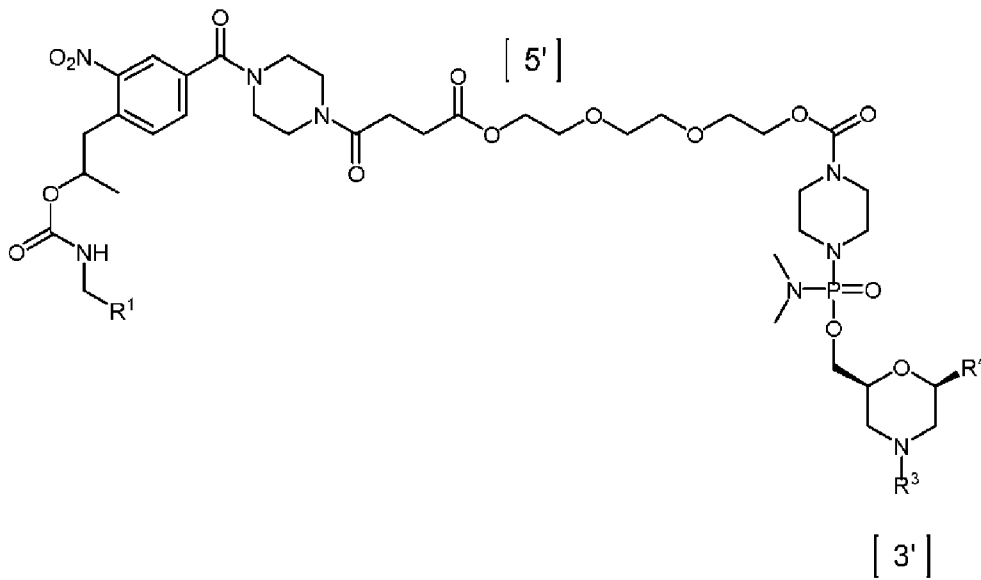
35

R⁴ se selecciona de:





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



(A5a);

en donde:

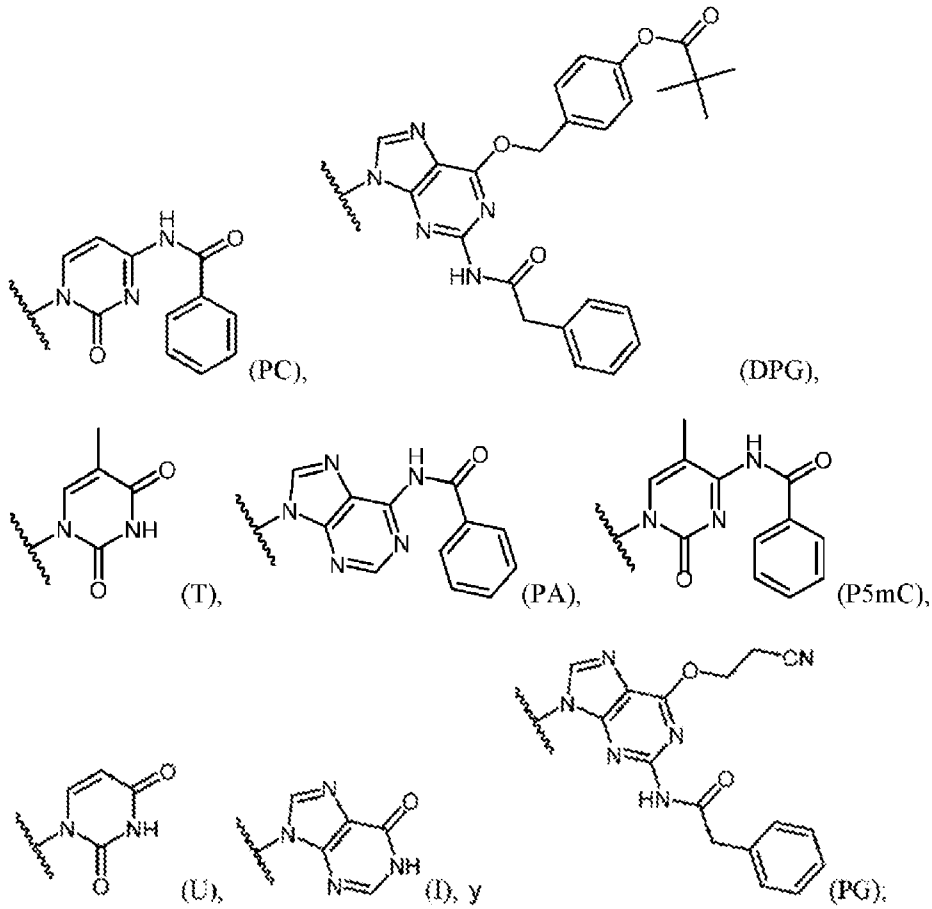
10

R¹ es un medio de soporte

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

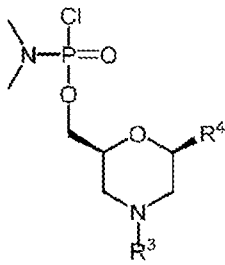
15

R⁴ se selecciona de:



5

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



(A8a);

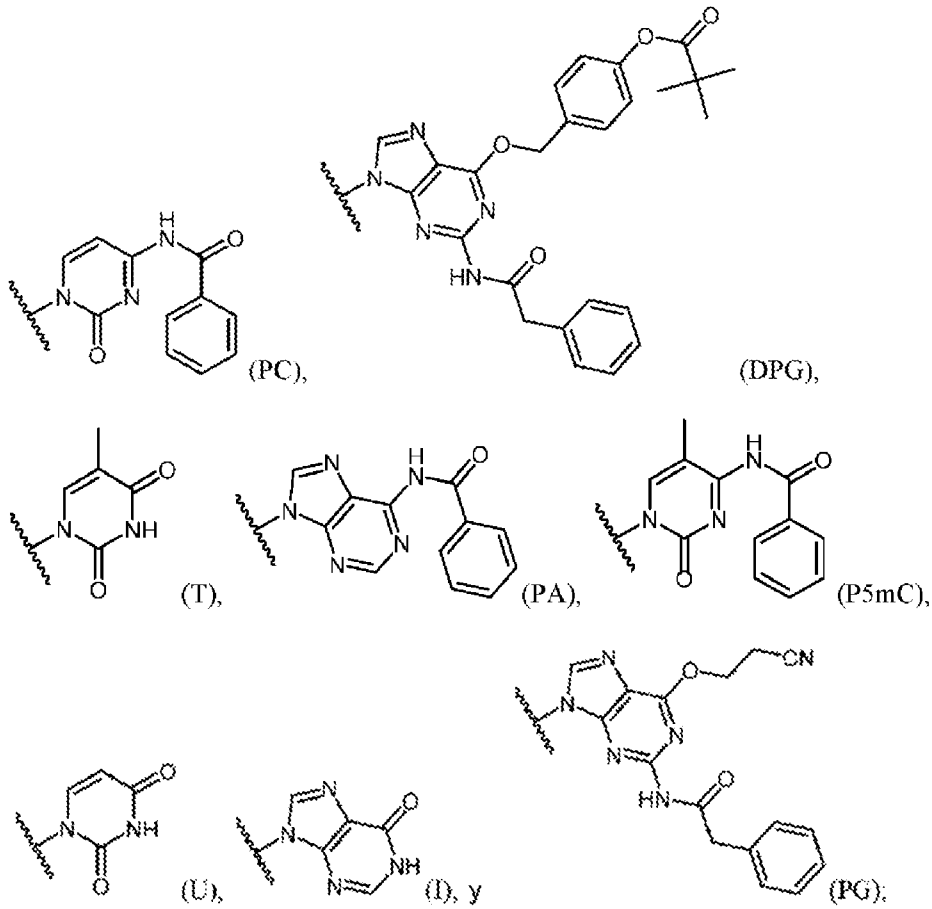
10

en donde:

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

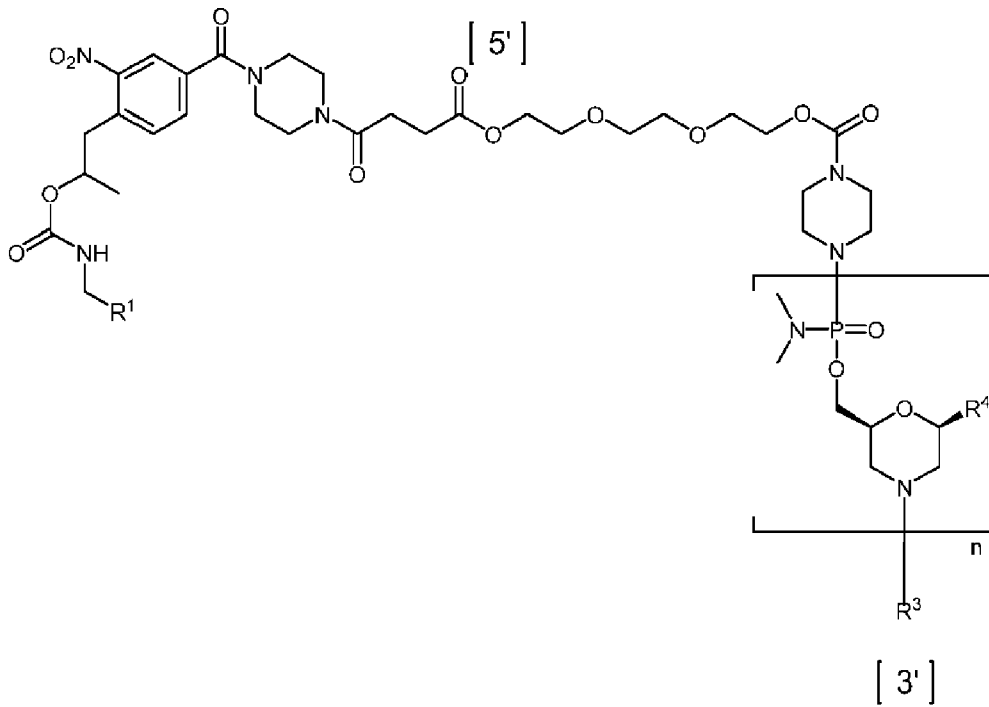
15

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



5

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



(A9a);

10

en donde:

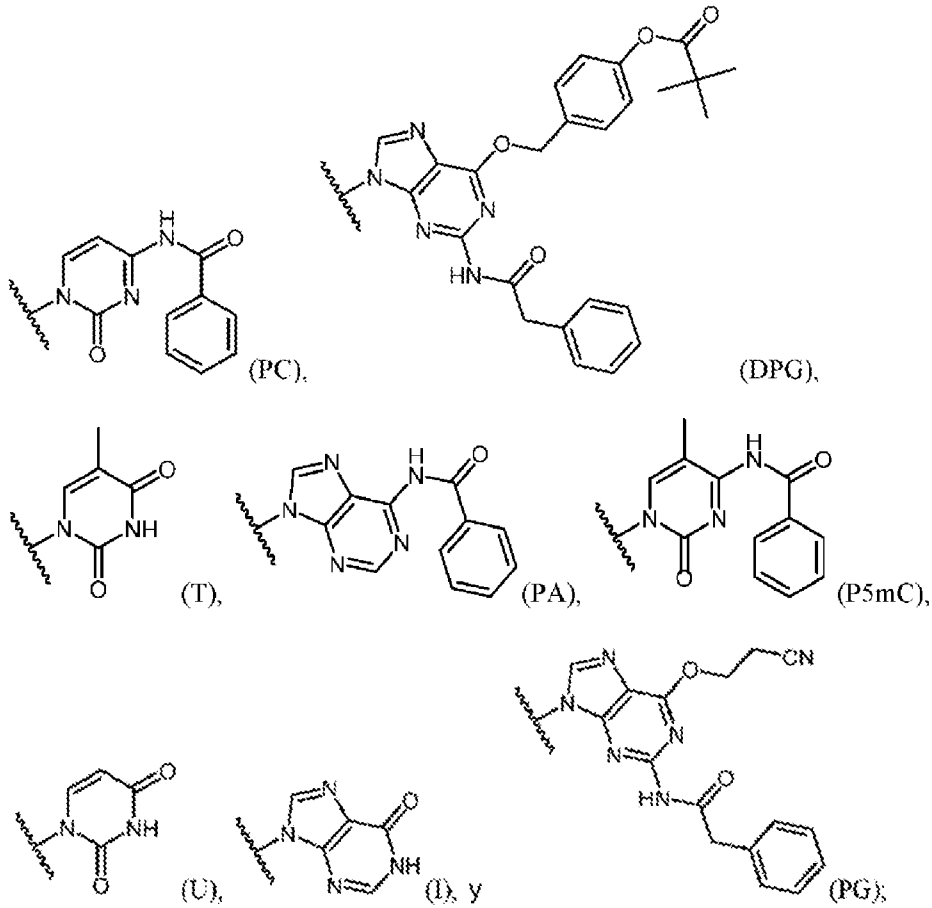
n es un número entero de 10 a 40,

R¹ es un medio de soporte,

5

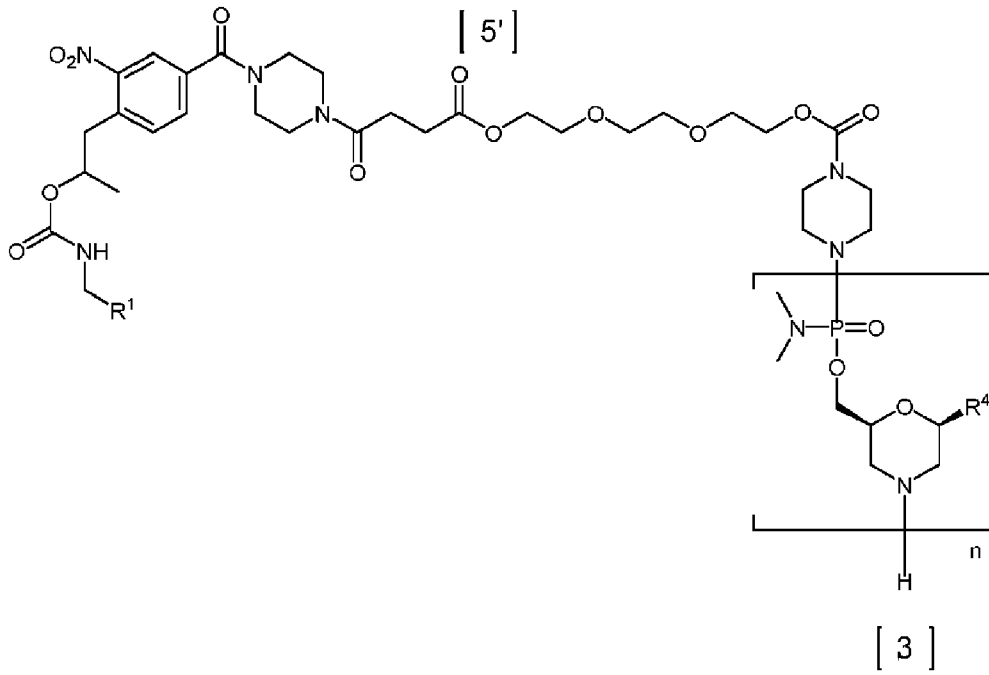
R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



15

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



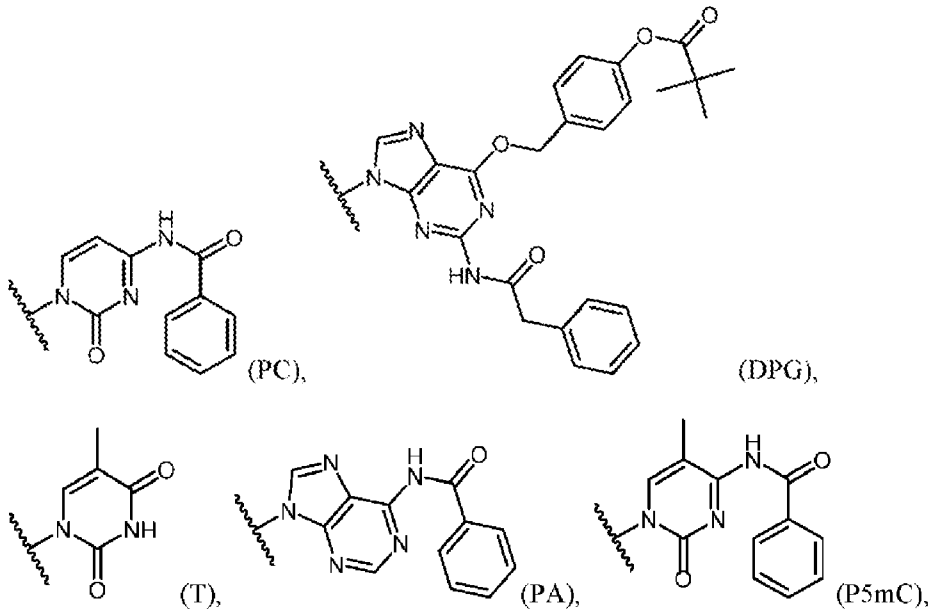
(A10a);

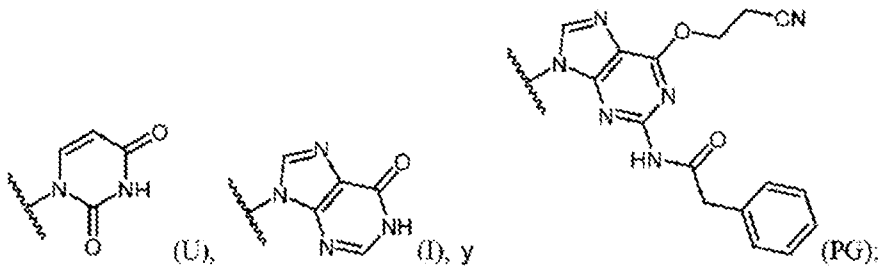
en donde:

5 n es un número entero de 10 a 40,

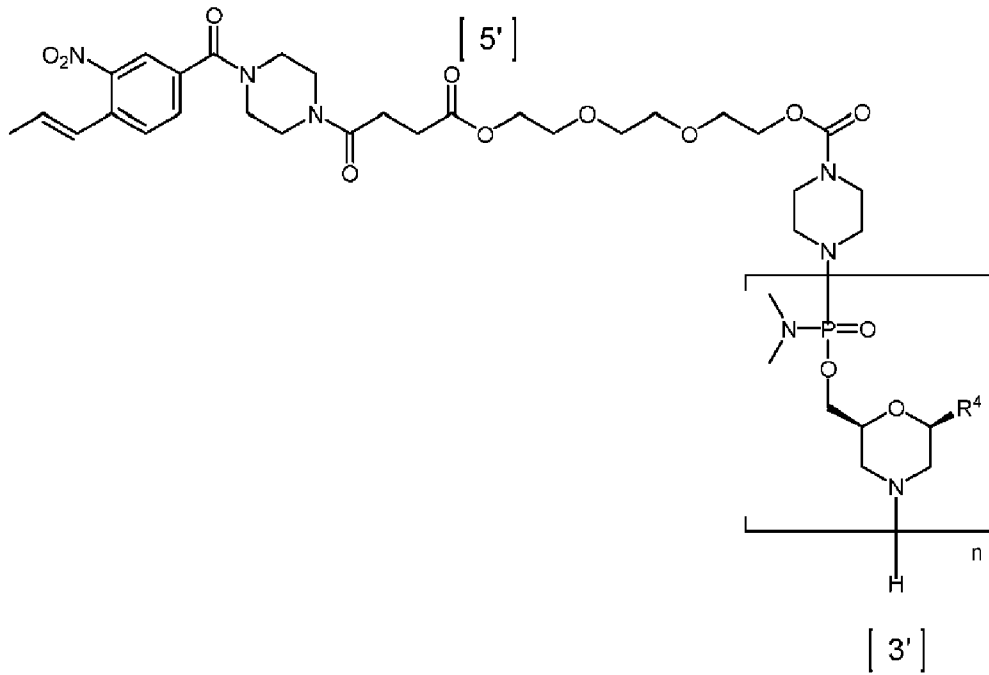
R¹ es un medio de soporte, y

10 R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:





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



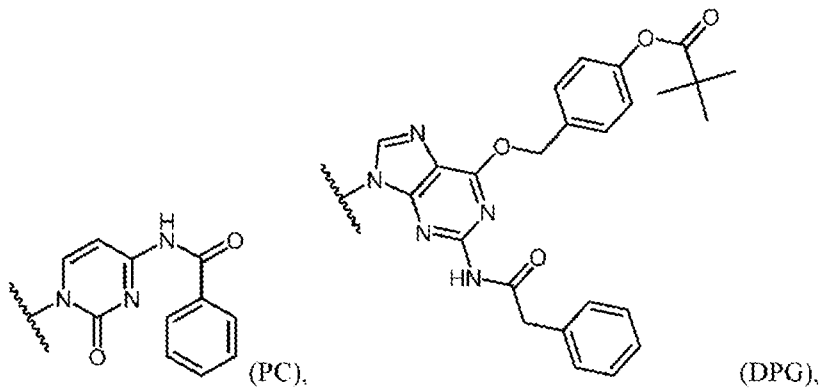
5

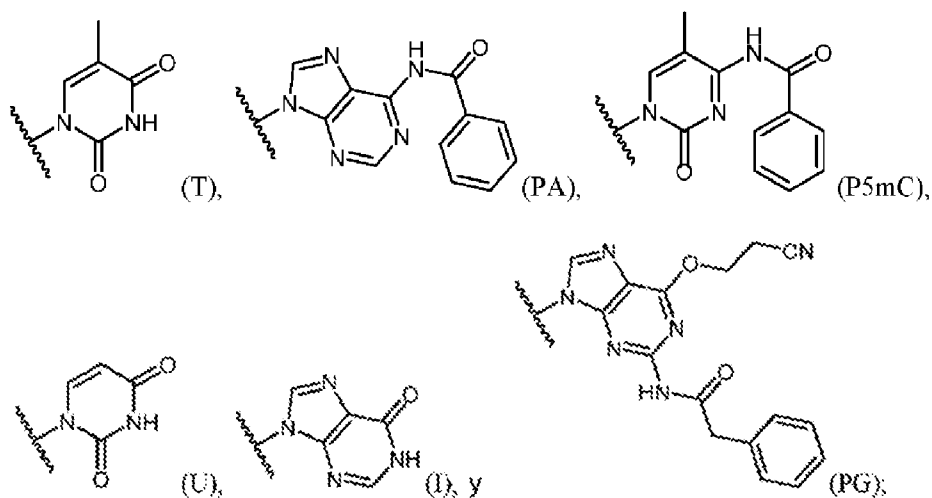
en donde:

n es un número entero de 10 a 40, y

10

R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



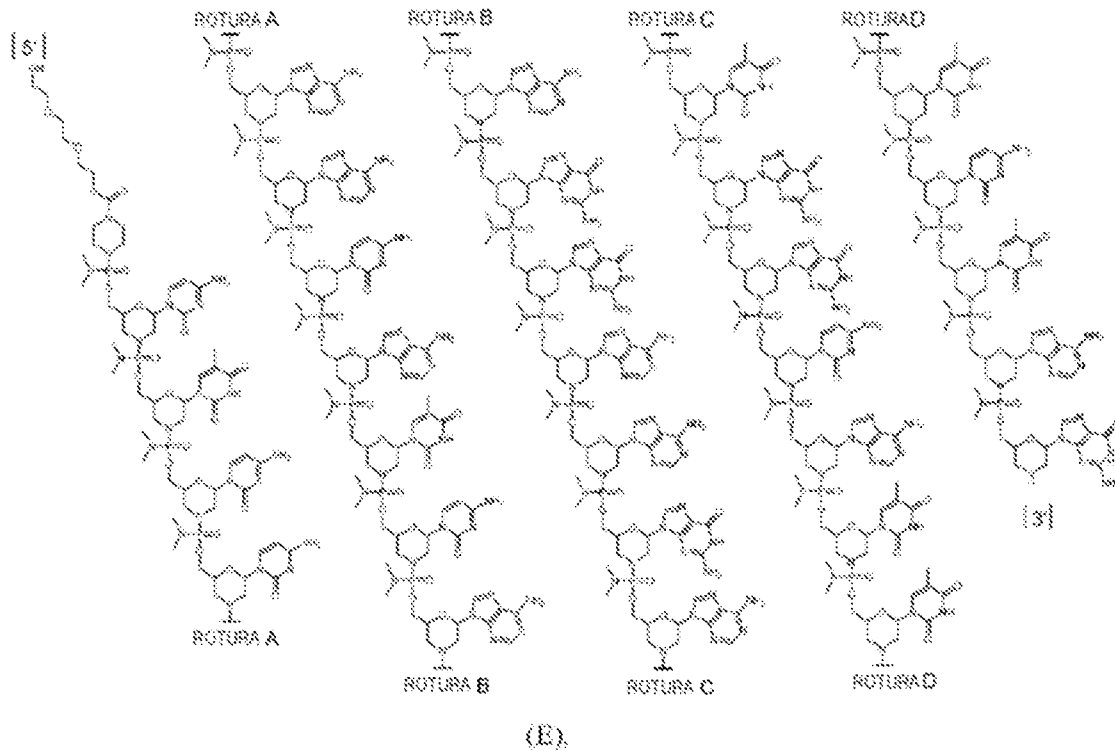


- 5 En una modalidad del compuesto oligomérico de Fórmula (A), n es 30 y R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	C	11	A	21	G
2	T	12	A	22	C
3	C	13	G	23	A
4	C	14	G	24	T
5	A	15	A	25	T
6	A	16	A	26	T
7	C	17	G	27	C
8	A	18	A	28	T
9	T	19	T	29	A
10	C	20	G	30	G

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

10

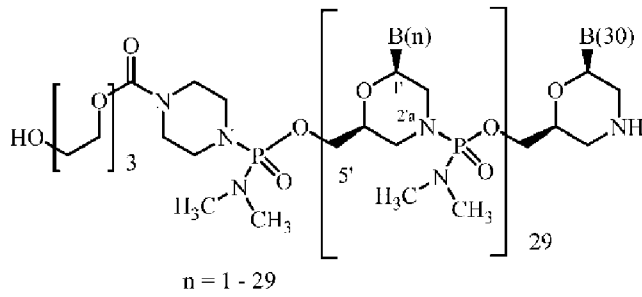


o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

5 Eteplirsén (ver, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente Internacional Núm. WO 2006/000057) ha sido objeto de estudios clínicos para probar su seguridad y eficacia, y el desarrollo clínico está en curso. Eteplirsén es un oligómero de fosfordiamidato morfolino (PMO). El agente terapéutico de distrofina "Eteplirsén", también conocido como "AVI-4658" es un PMO que tiene la secuencia de bases 5'-CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTCTAG-3' (SEQ ID NO:1). Eteplirsén está registrada bajo el Número de Registro de 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'-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*-(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'-secoguanilil-(2'a→5')-*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'-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*-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secotimidilil-(2'a→5')-*P*,3'-didesoxi-*P*-(dimetilamino)-2',3'-imino-2',3'-secocitidilil-(2'a→5')-*P*,3'-didesoxi-*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')-2',3'-didesoxi-2',3'-imino-2',3'-secoguanosina.

Eteplirsén tiene la siguiente estructura:

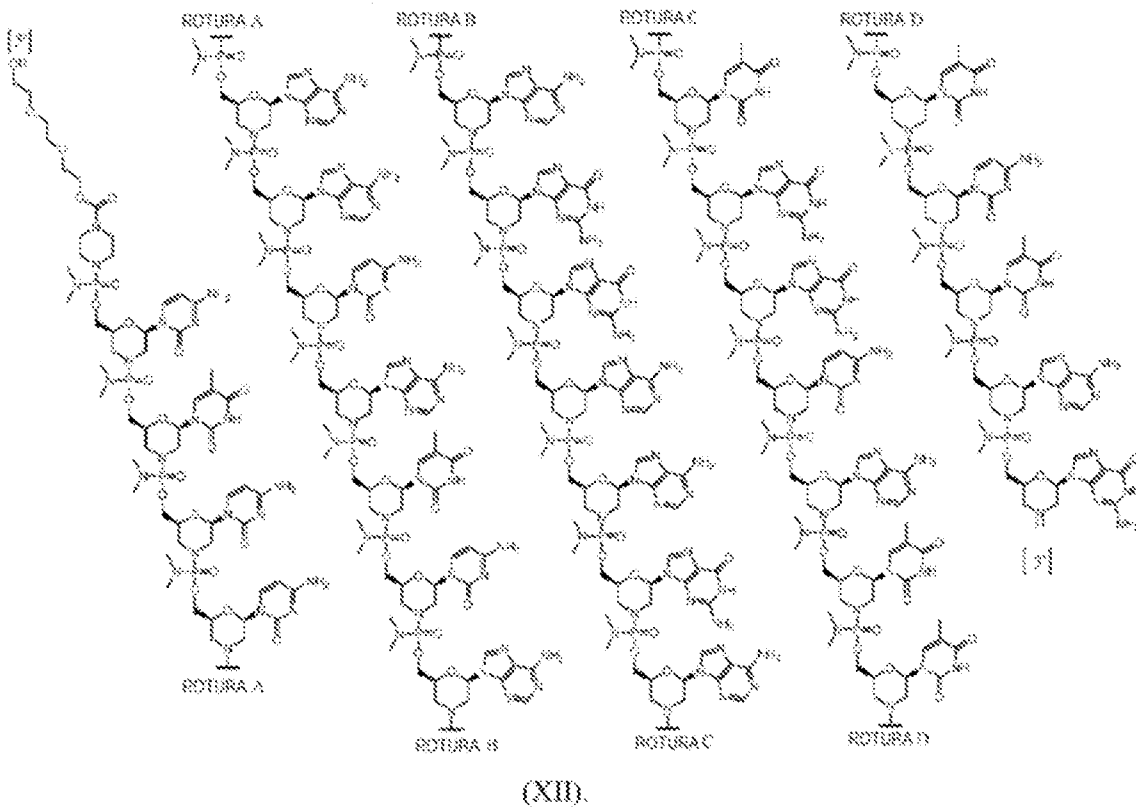
35



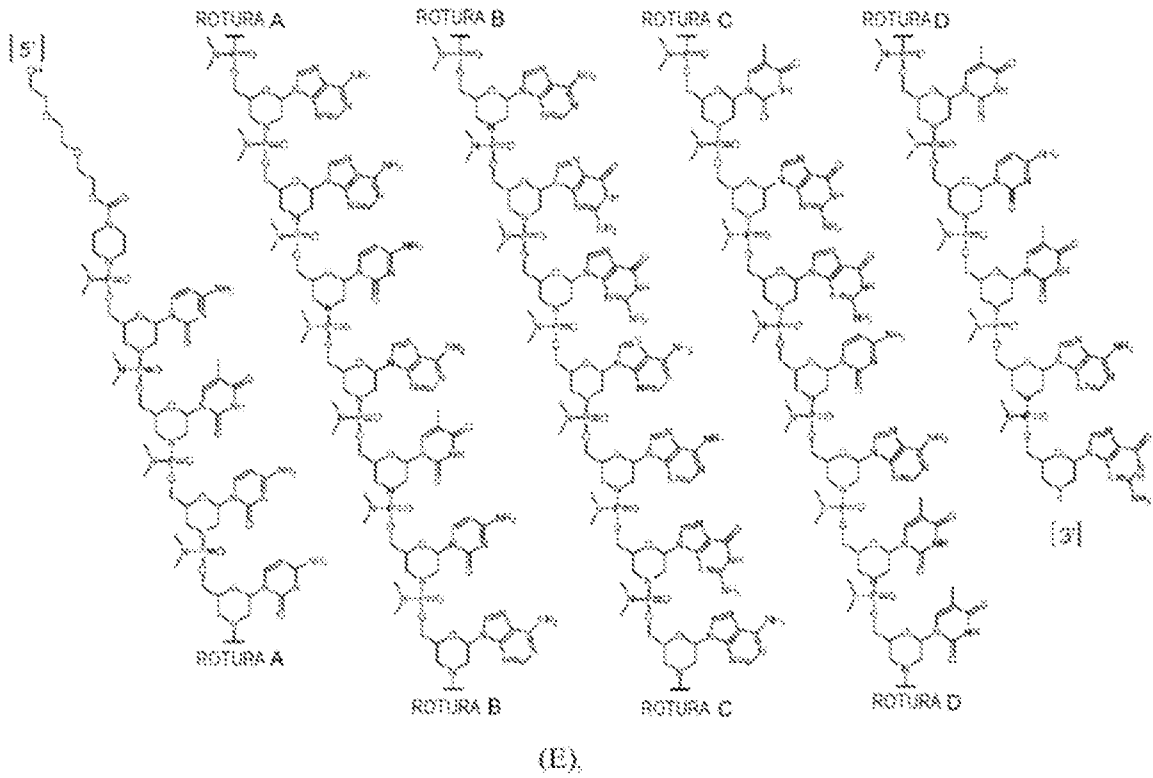
B(1-30):

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)

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

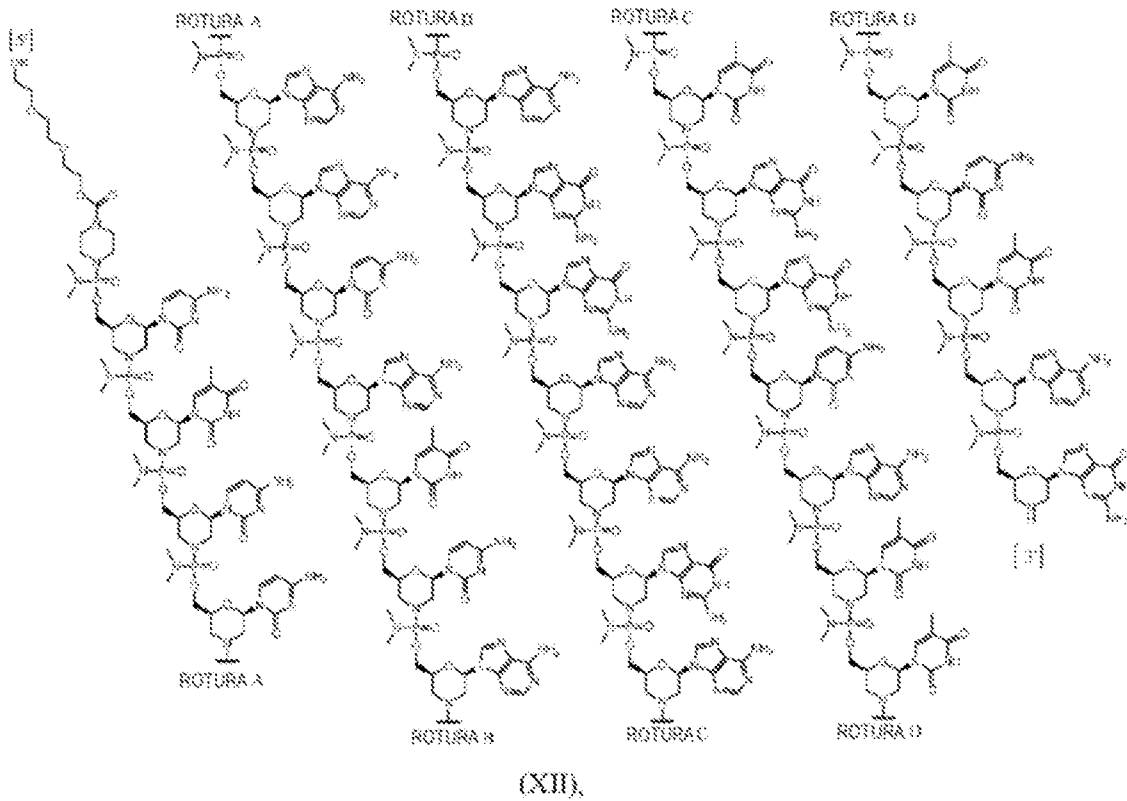


10 Por lo tanto, en una modalidad del proceso descrito anteriormente, el compuesto oligomérico de Fórmula (A) es un compuesto de Fórmula (E):



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

5 En aun otra modalidad, el compuesto oligomérico de Fórmula (E) es un compuesto oligomérico de Fórmula (XII):

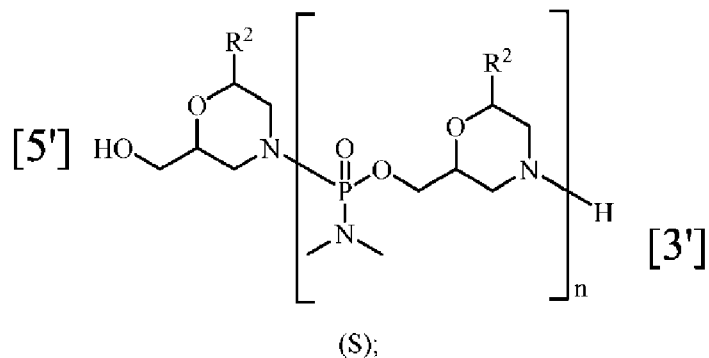


o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En aun otra modalidad, R³ es, en cada presentación, tritilo.

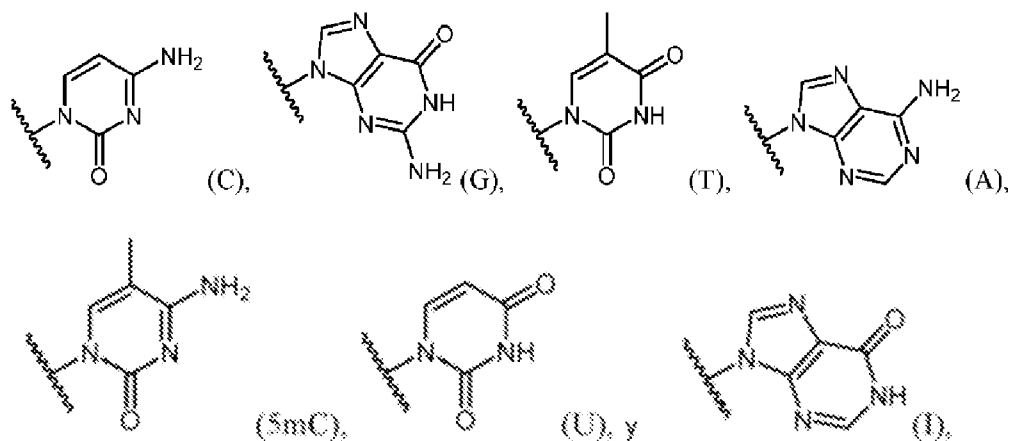
En otro aspecto en la presente, pero que no forma parte de la presente invención, se describe un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (S):

5



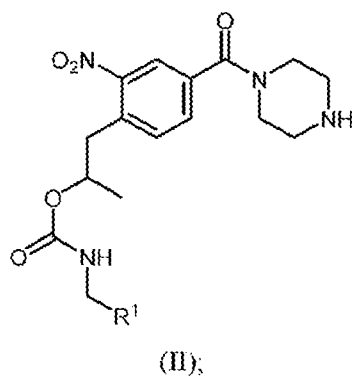
en donde n es un número entero de 10 a 40, y cada R² se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:

10



15 en donde el proceso comprende los pasos secuenciales de:

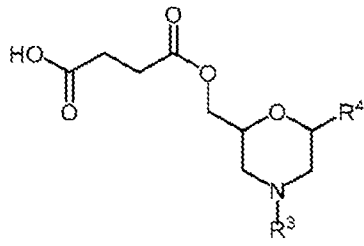
(a) poner en contacto un compuesto de Fórmula (II):



20

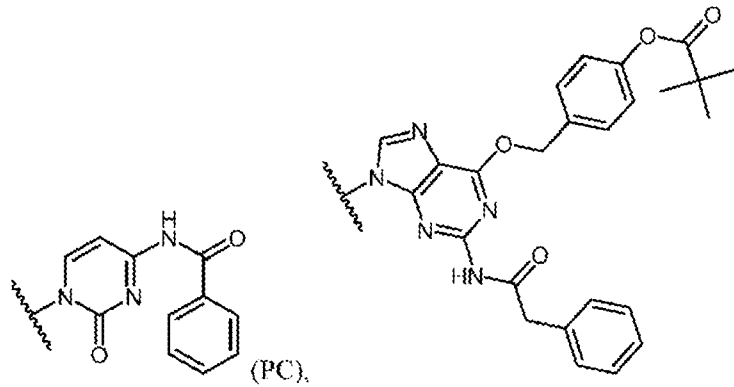
en donde R¹ es un medio de soporte;

con un compuesto de Fórmula (S2):

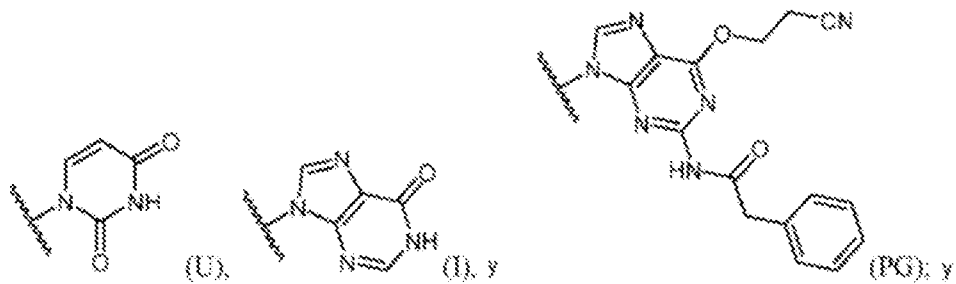
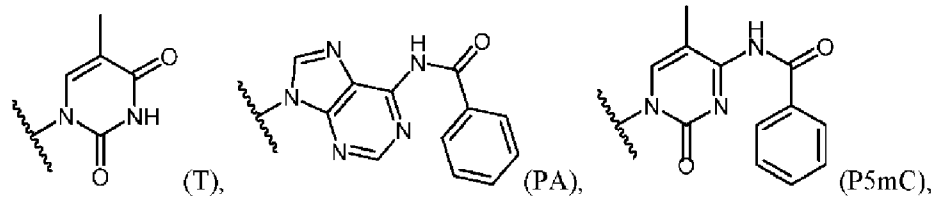


(S2);

en donde R⁴ se selecciona del grupo que consta de:



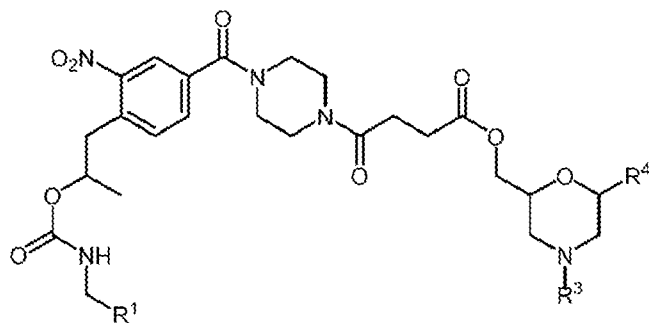
5



10

en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

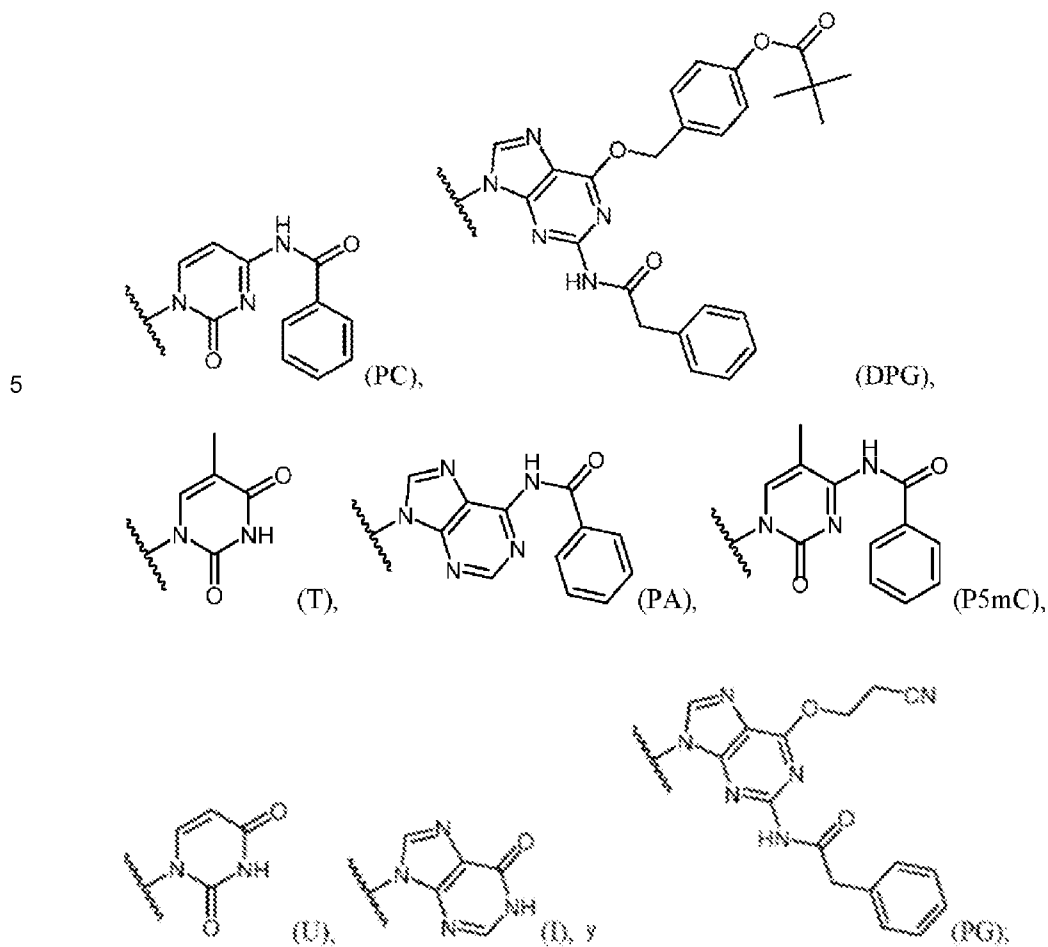
para formar un compuesto de Fórmula (S3):



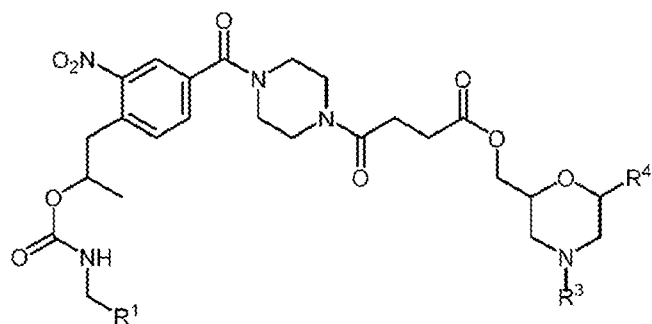
(S3),

15

en donde R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4 se selecciona del grupo que consta de:

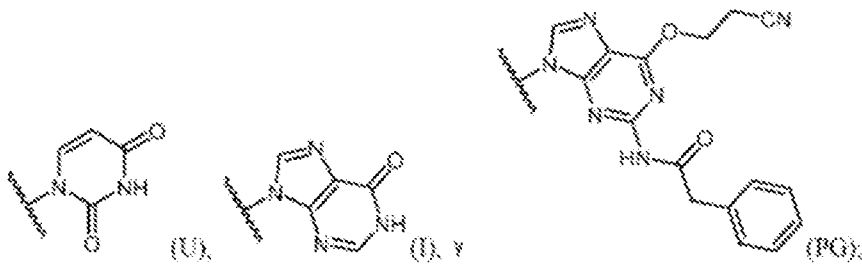
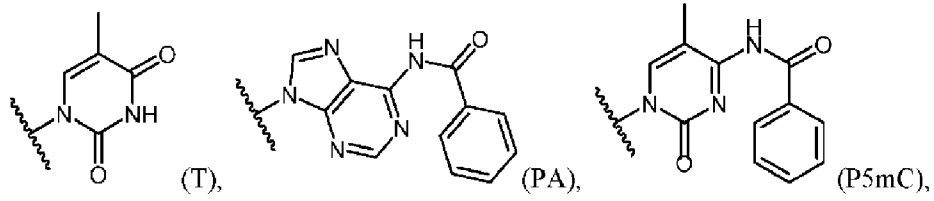
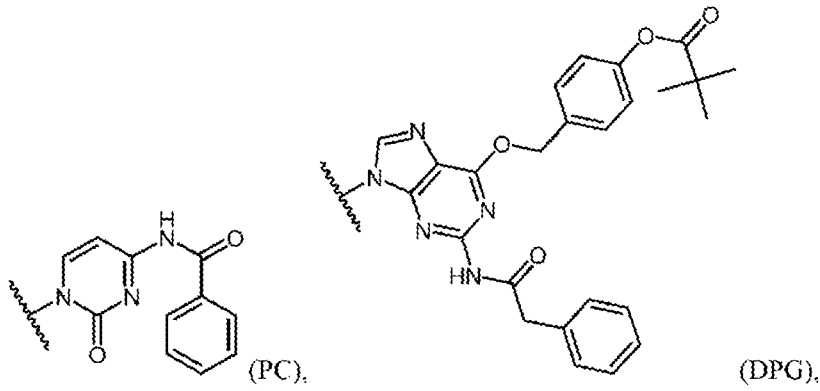


(b) poner en contacto el compuesto de Fórmula (S3) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (IV-S):



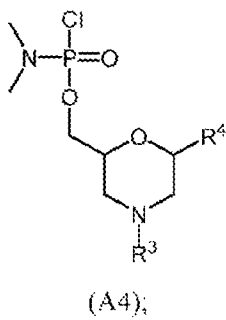
en donde R^1 es un medio de soporte, R^3 se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R^4 se selecciona del grupo que consta de:

15



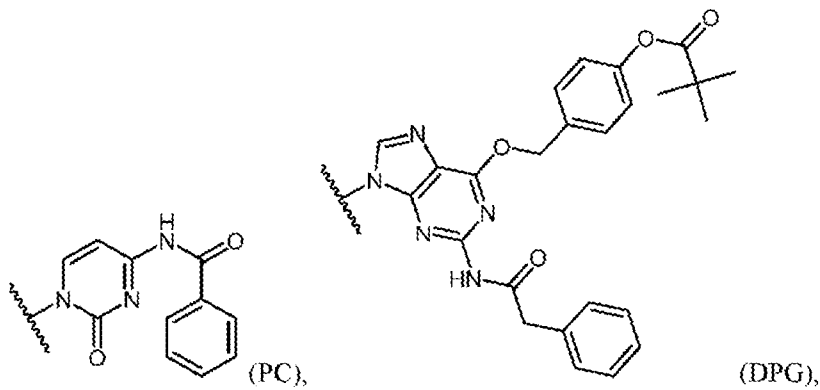
5

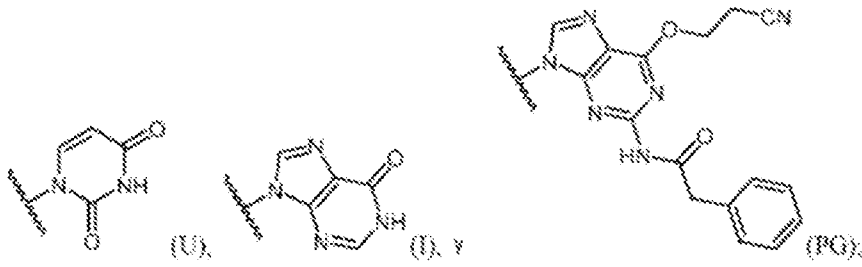
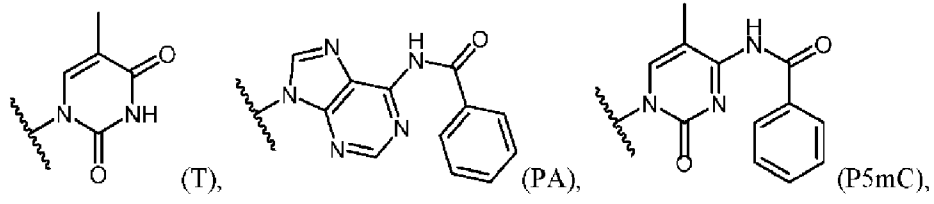
(c) poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV-S) con un compuesto de Fórmula (A4):



10

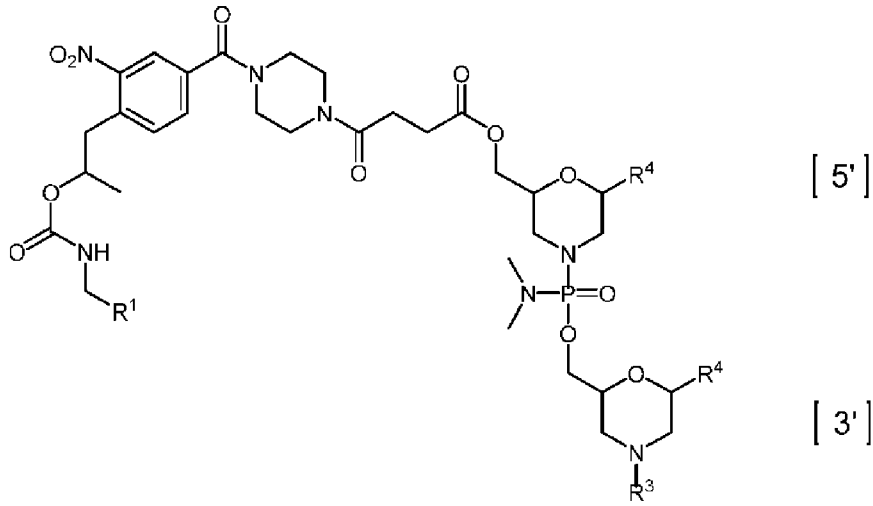
en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona del grupo que consta de:





5

para formar un compuesto de Fórmula (S5):

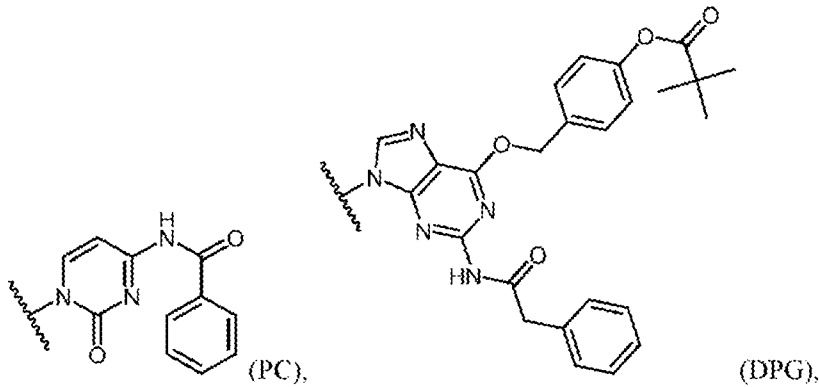


(S5);

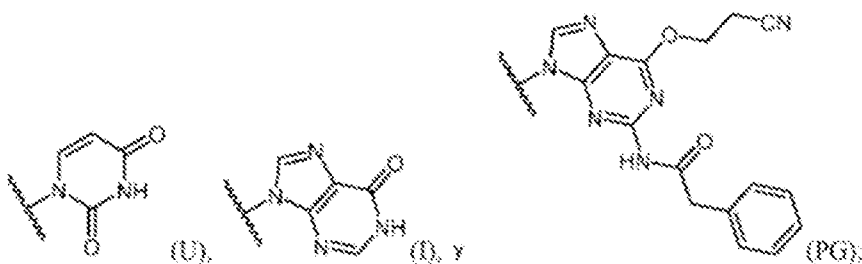
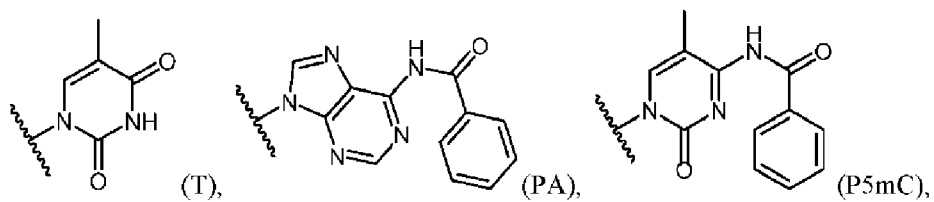
10

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

R^4 se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



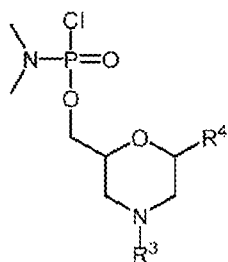
15



5 (b) realizar n-2 iteraciones de los pasos secuenciales de:

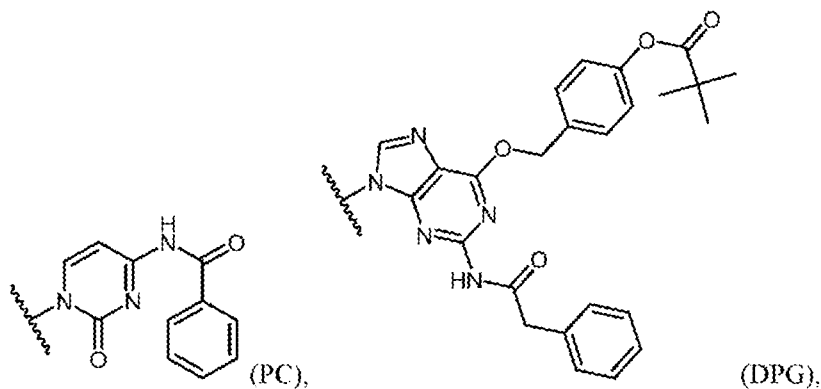
(d1) poner en contacto el producto formado por el paso inmediatamente anterior con un agente de desbloqueo; y

10 (d2) poner en contacto el compuesto formado por el paso inmediatamente anterior con un compuesto de Fórmula (A8):

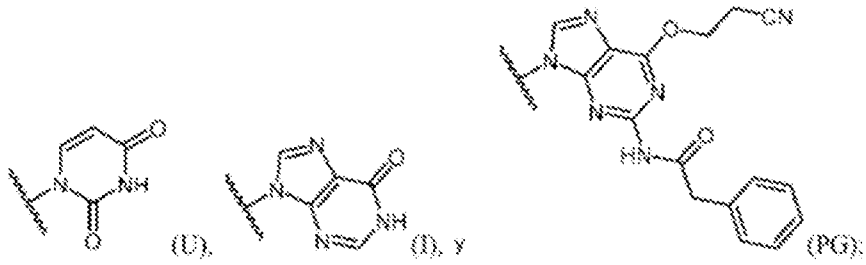
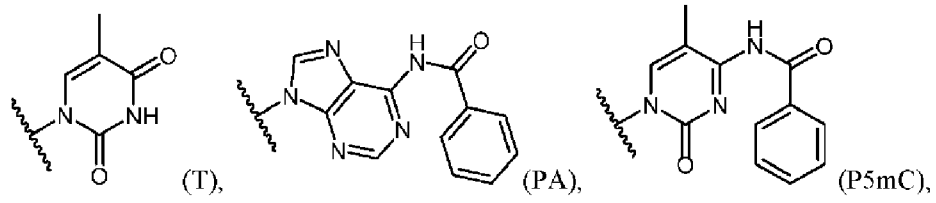


(A8);

15 en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada compuesto de Fórmula (A8), del grupo que consta de:

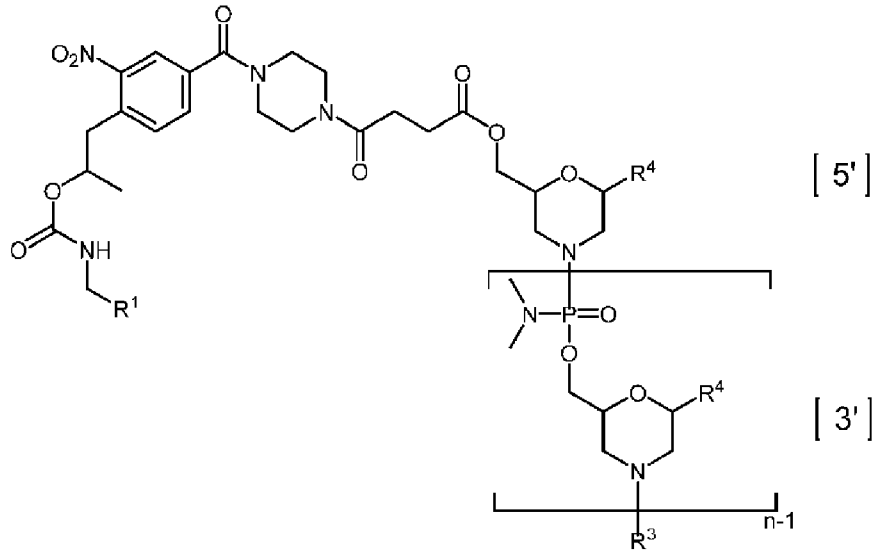


20



5

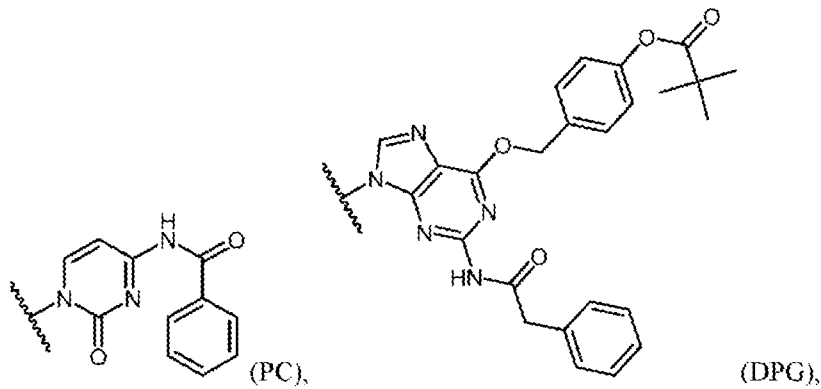
para formar un compuesto de Fórmula (S9):

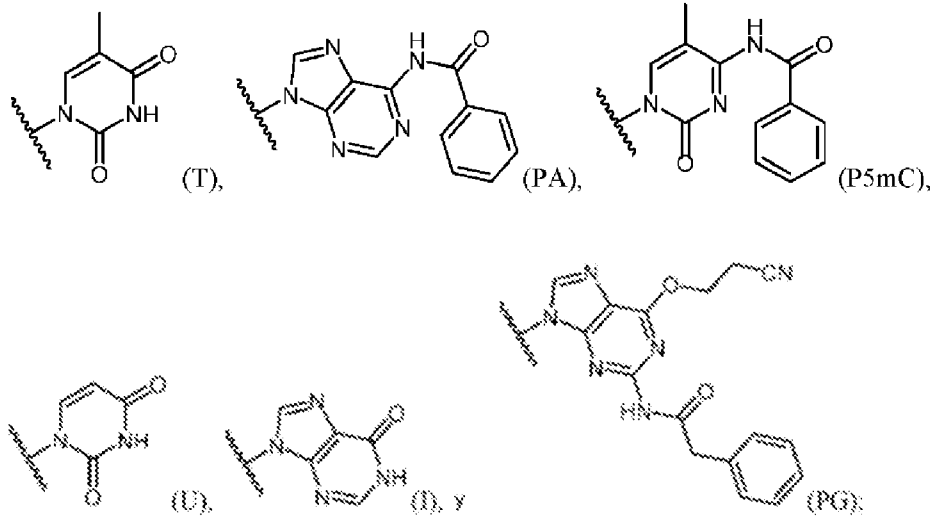


(S9);

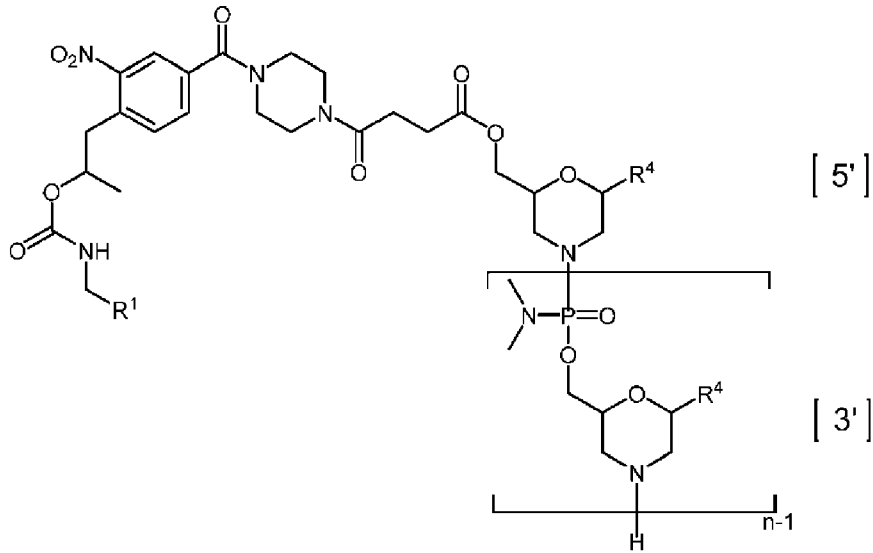
10

en donde n es un número entero de 10 a 40, R¹ es un medio de soporte, R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



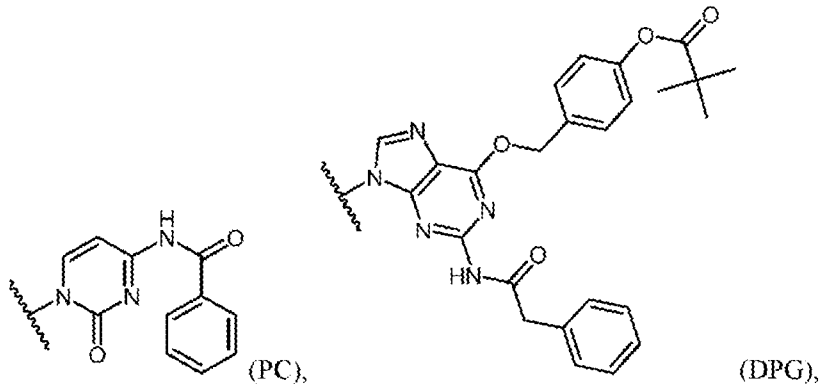


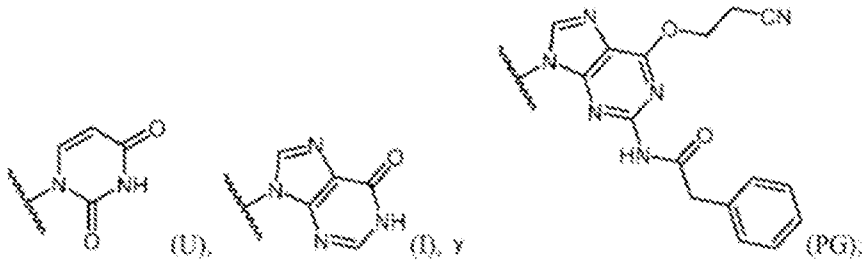
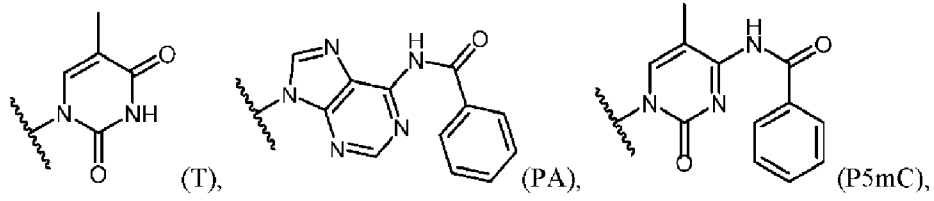
5 (e) poner en contacto el compuesto de Fórmula (S9) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (S10):



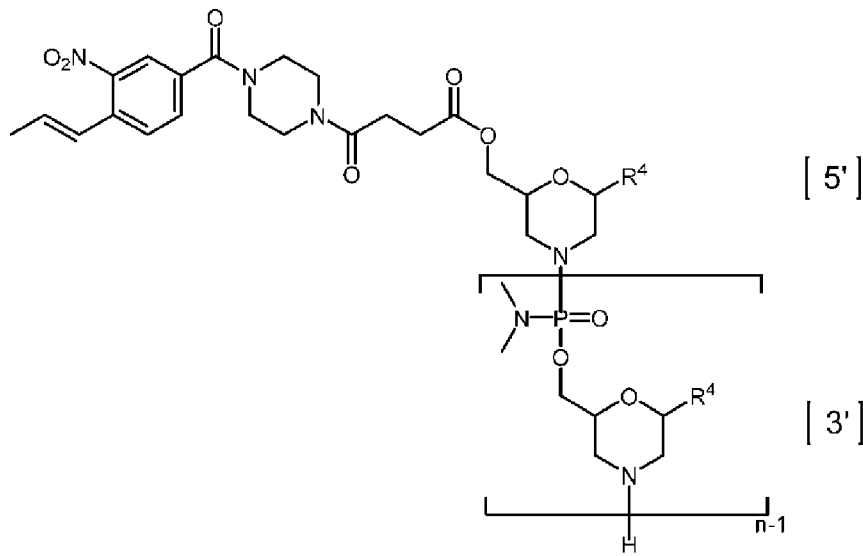
(S10);

10 en donde n es un número entero de 10 a 40, R¹ es un medio de soporte y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



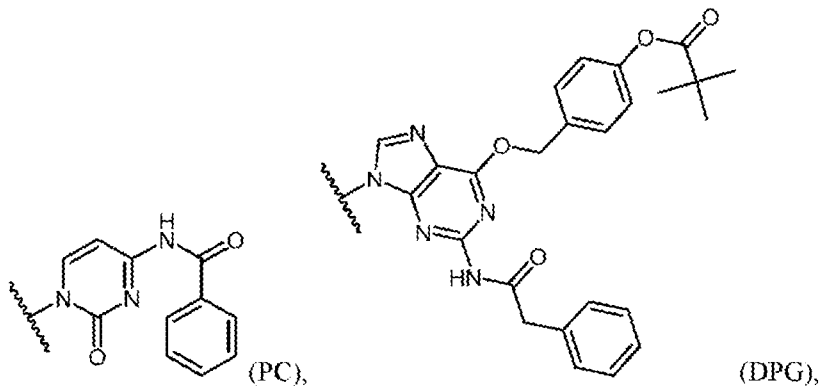


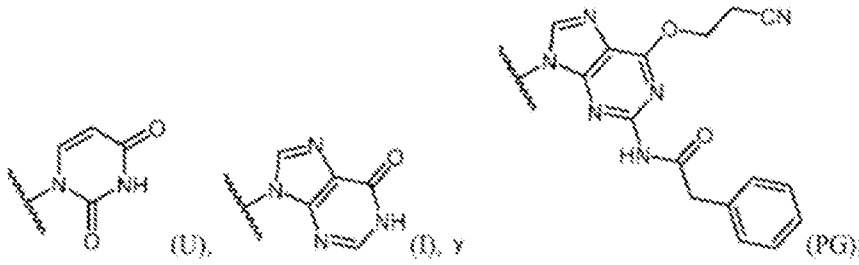
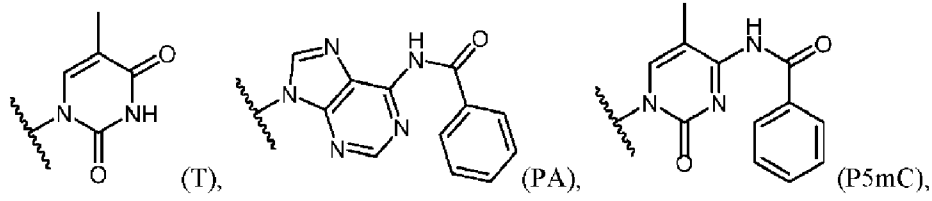
- 5 (f) poner en contacto el compuesto de Fórmula (S10) con un agente de escisión para formar un compuesto de Fórmula (S11):



(S11);

- 10 en donde n es un número entero de 10 a 40, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:





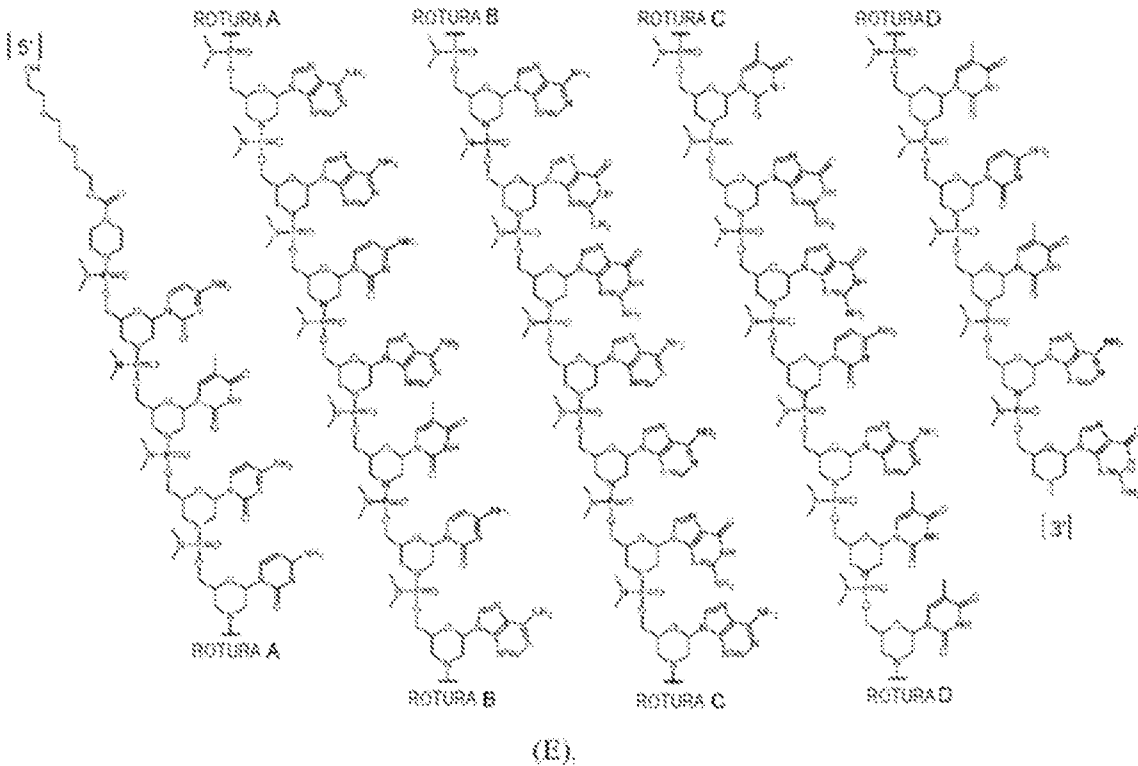
5 y

(g) poner en contacto el compuesto de Fórmula (S11) con un agente de desprotección para formar el compuesto oligomérico de Fórmula (S).

10 **Procesos para la preparación de Eteplirsén**

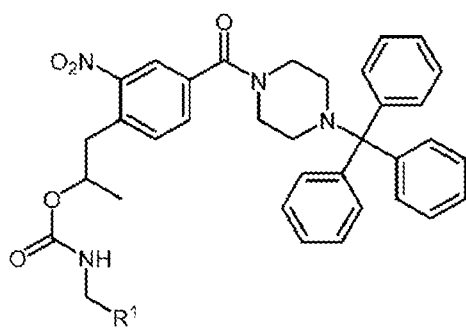
En la presente se proporcionan procesos para la preparación de Eteplirsén.

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



20 en donde el proceso comprende los pasos secuenciales de:

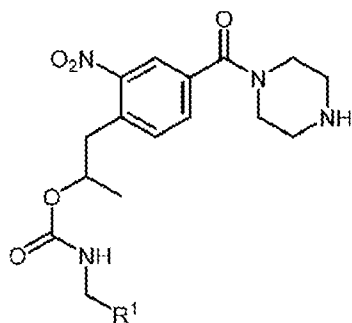
(a) poner en contacto un compuesto de Fórmula (I):



(I);

en donde R¹ es un medio de soporte,

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

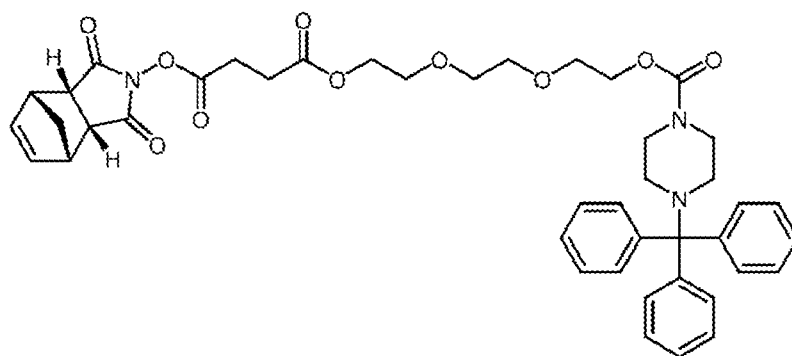


(II);

en donde R¹ es un medio de soporte;

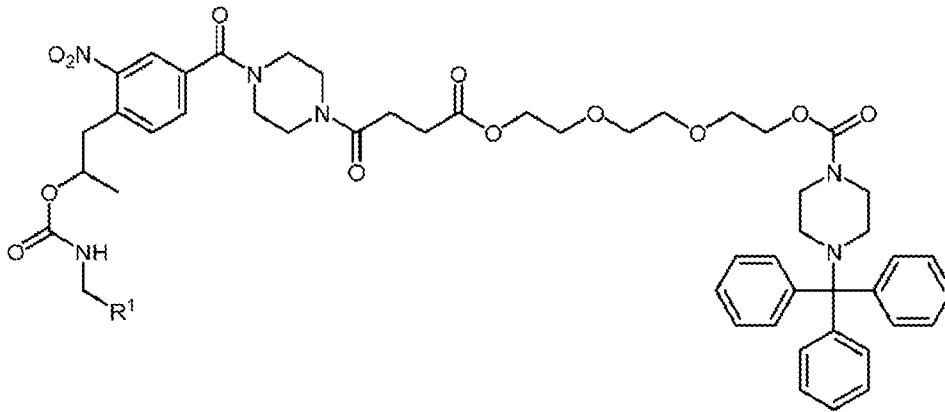
10

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



(B);

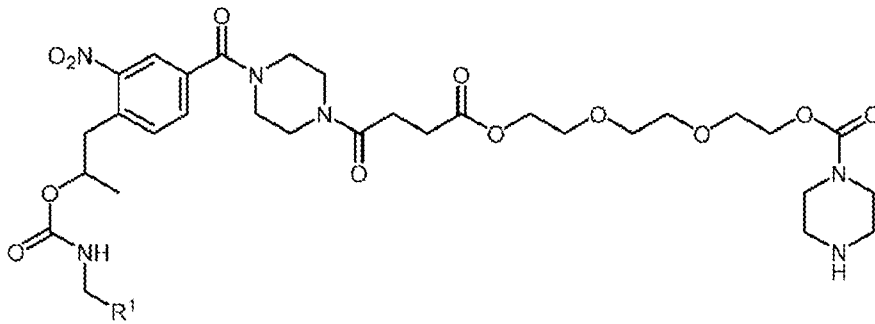
15 para formar un compuesto de Fórmula (III):



(III);

en donde R¹ es un medio de soporte;

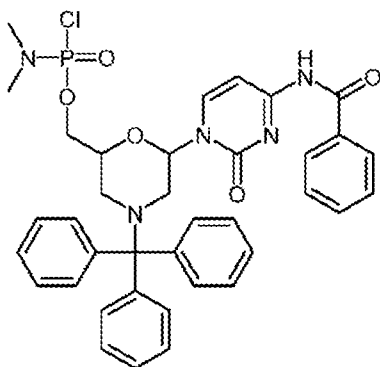
- 5 (c) poner en contacto el compuesto de Fórmula (III) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (IV):



(IV);

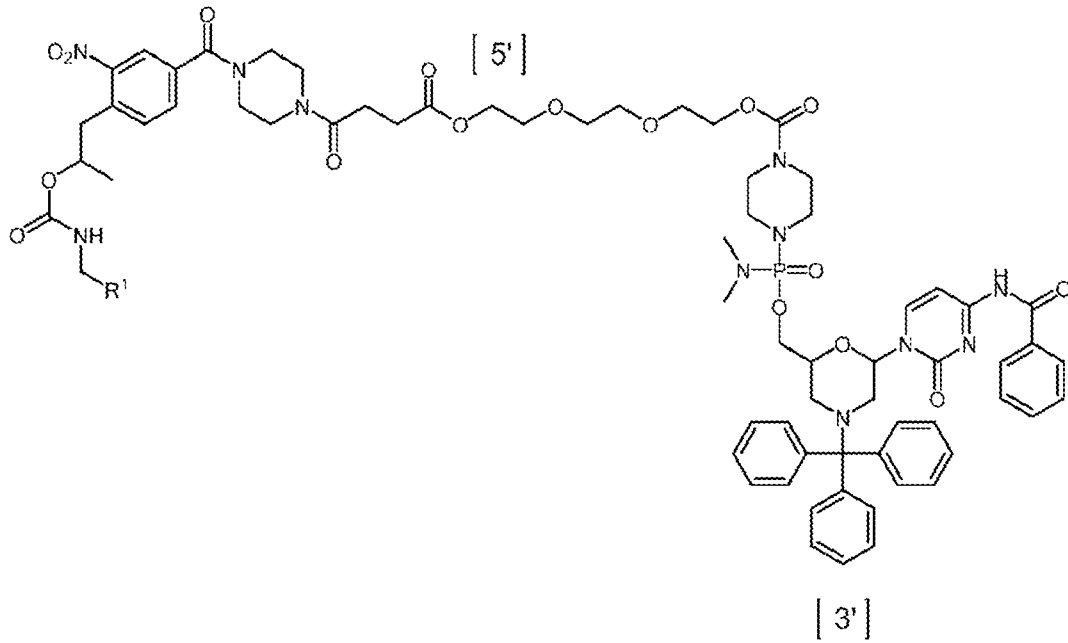
- 10 en donde R¹ es un medio de soporte;

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



(C);

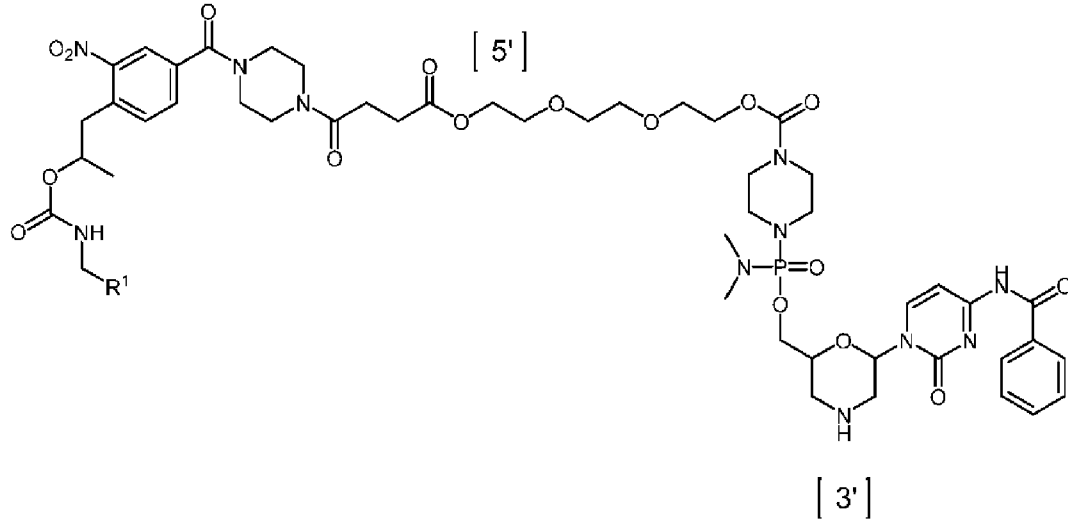
- 15 para formar un compuesto de Fórmula (V):



(V);

en donde R¹ es un medio de soporte;

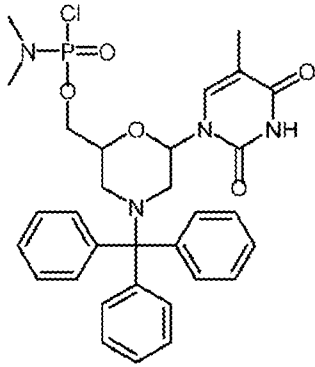
- 5 (e) poner en contacto el compuesto de Fórmula (V) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (VI):



(VI);

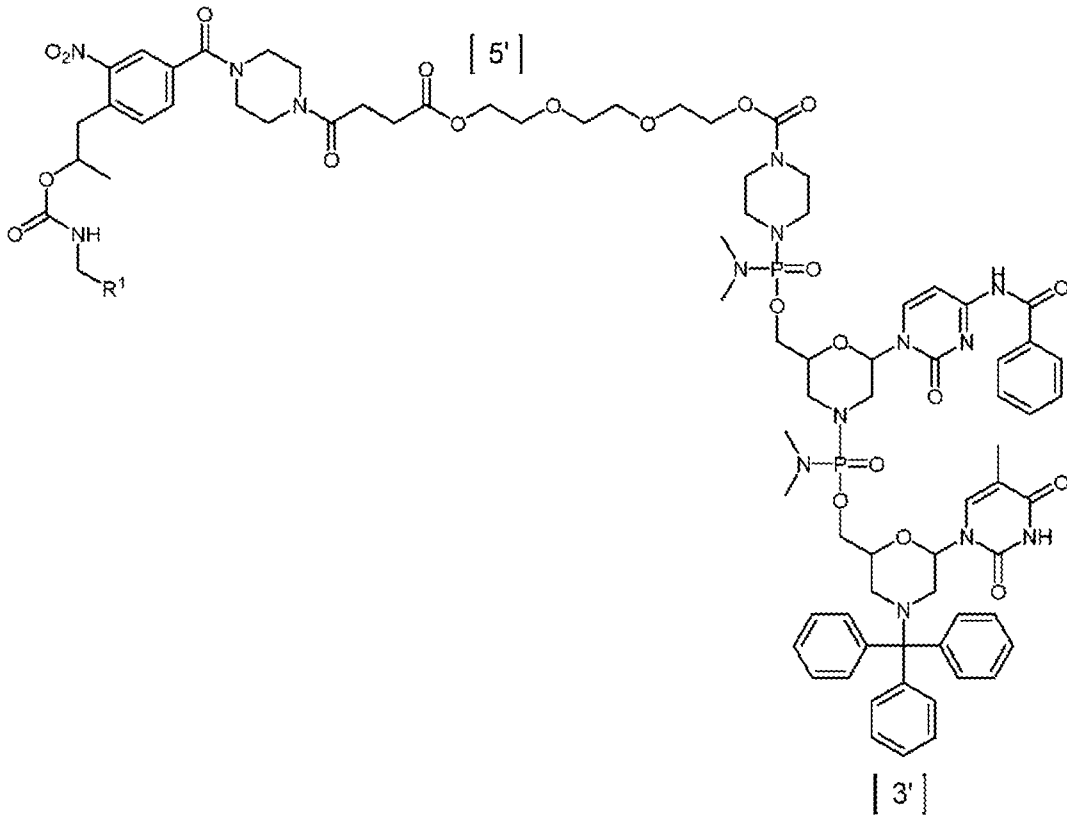
- 10 en donde R¹ es un medio de soporte;

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



(F);

para formar un compuesto de Fórmula (VII):



(VII);

5

en donde R¹ es un medio de soporte;

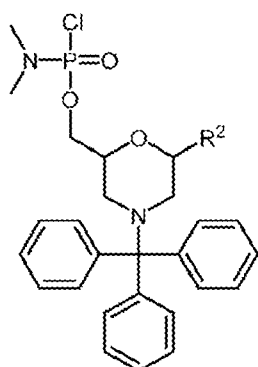
10

(g) realizar 28 iteraciones de los pasos secuenciales de:

(g1) poner en contacto el producto formado por el paso inmediatamente anterior con un agente de desbloqueo; y

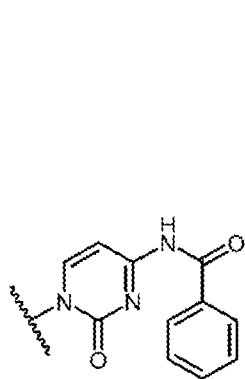
(g2) poner en contacto el compuesto formado por el paso inmediatamente anterior con un compuesto de Fórmula (VIII):

15

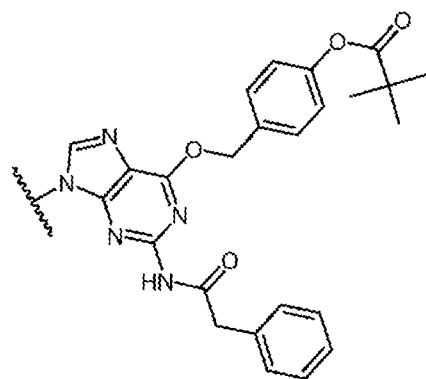


(VIII);

en donde R² se selecciona, independientemente para cada compuesto de Fórmula (VIII), del grupo que consta de:

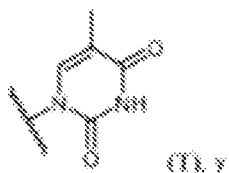


(PC),

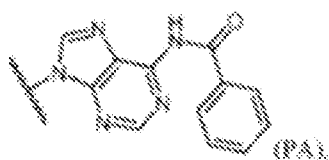


(DPG),

5



(T),



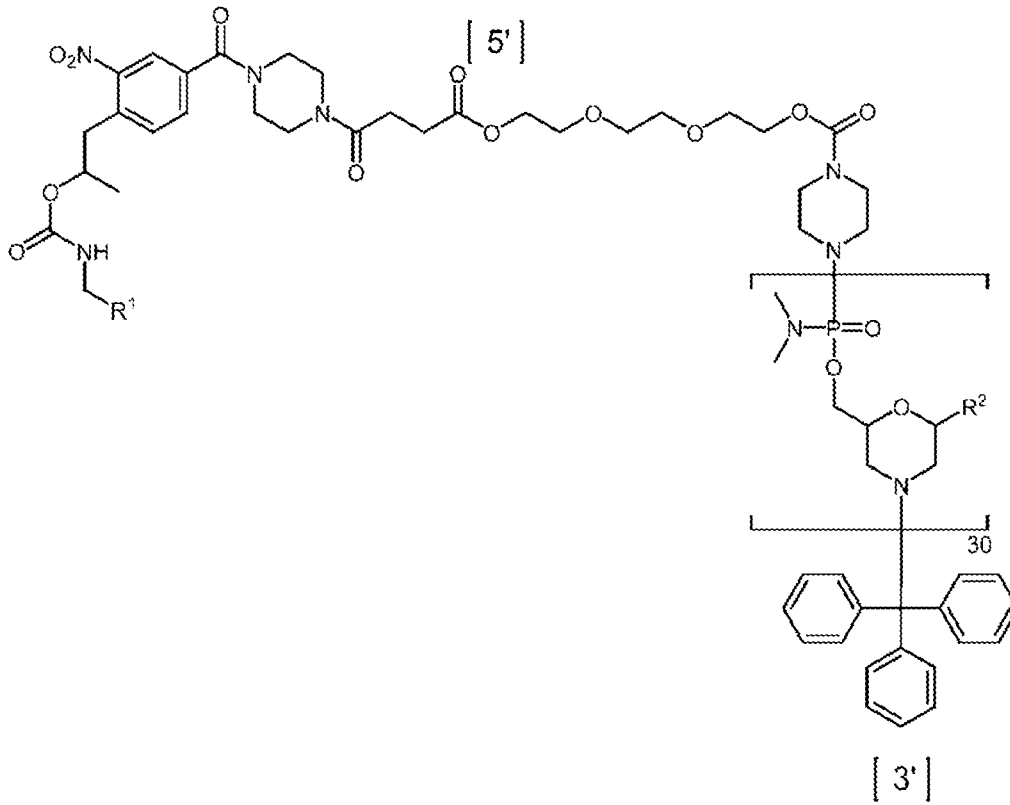
(PA),

en donde, para cada iteración de 1 a 28, R² es:

10

Iteración núm.	R ²	Iteración núm.	R ²	Iteración núm.	R ²
1	PC	11	DPG	21	PA
2	PC	12	DPG	22	T
3	PA	13	PA	23	T
4	PA	14	PA	24	T
5	PC	15	DPG	25	PC
6	PA	16	PA	26	T
7	T	17	T	27	PA
8	PC	18	DPG	28	DPG
9	PA	19	DPG		
10	PA	20	PC		

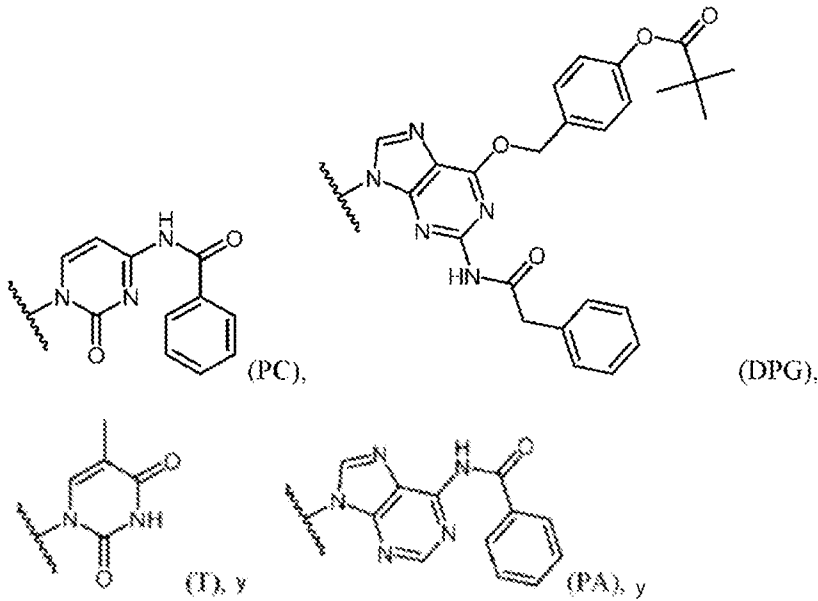
para formar un compuesto de Fórmula (IX):



(IX);

en donde R¹ es un medio de soporte,

5 en donde R² se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



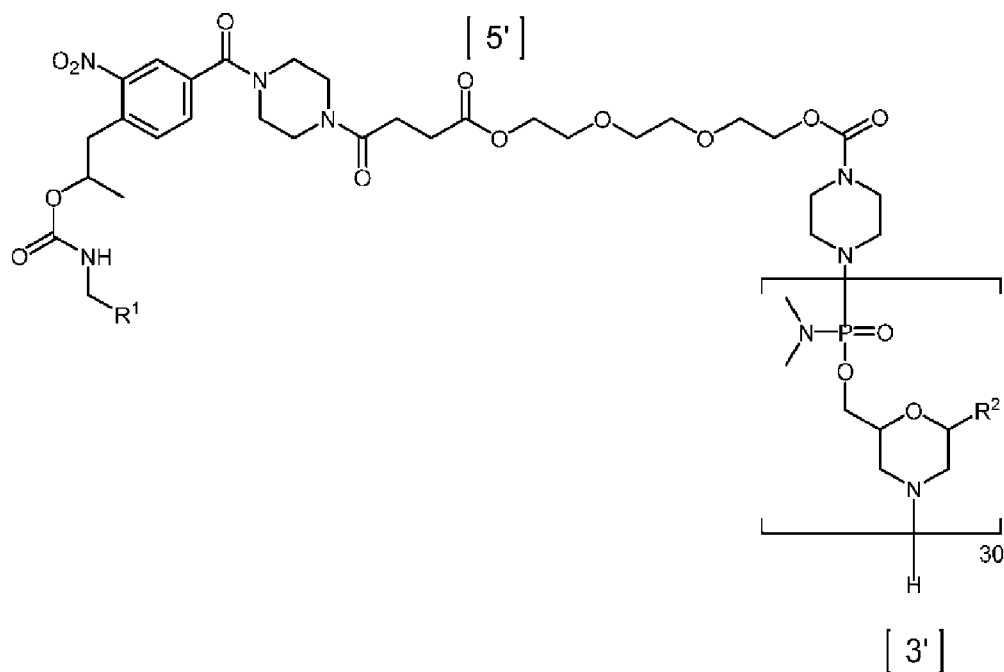
10

en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

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

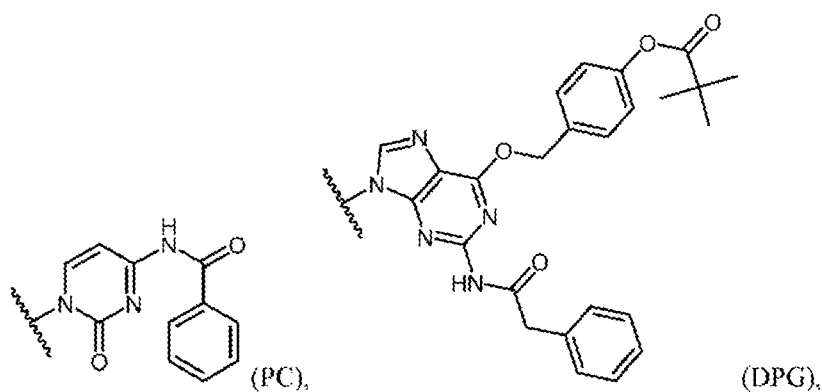


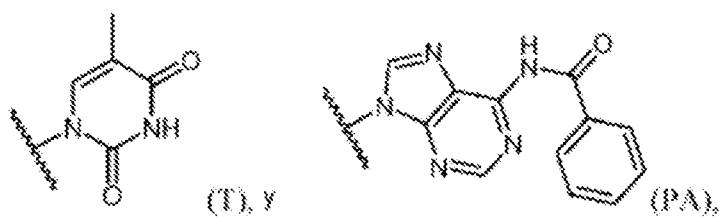
5

en donde R¹ es un medio de soporte,

10

en donde R² se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



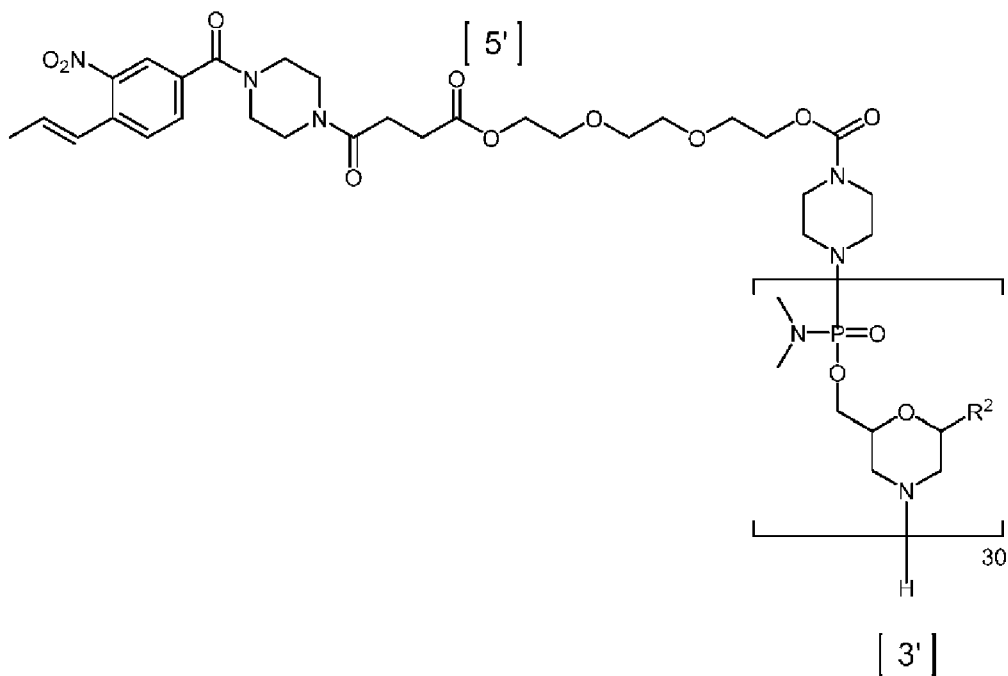


en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

5

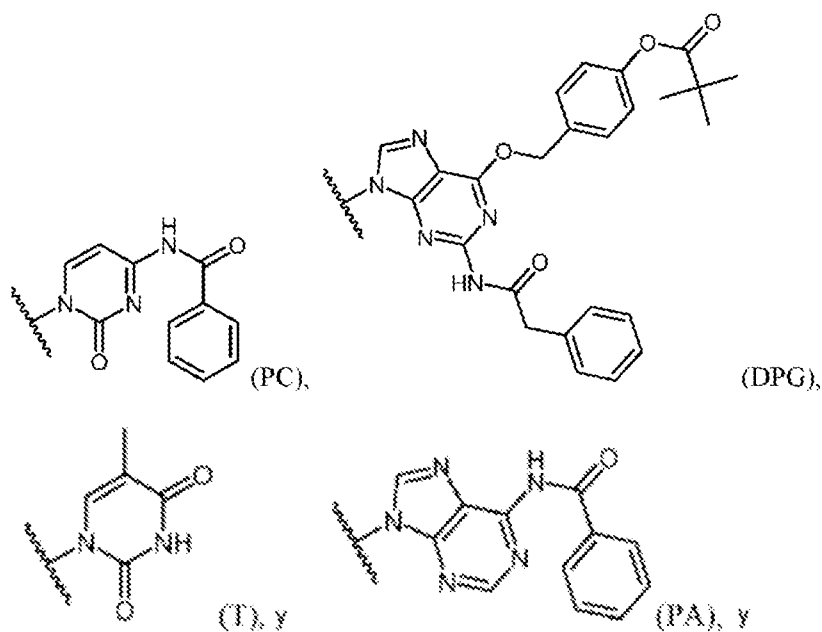
(i) poner en contacto el compuesto de Fórmula (X) con un agente de escisión para formar un compuesto de Fórmula (XI):



(XI),

10

en donde R² se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



5 en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

y

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

15 En una modalidad, el paso (d), el paso (f), el paso g(2) o combinaciones de estos comprenden además poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV), Fórmula (VI) o el compuesto formado por el paso inmediatamente anterior, respectivamente, con un agente de terminación de cadena.

20 En ciertas modalidades, cada uno del paso (d), el paso (f) y el paso g(2) comprende además poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV), Fórmula (VI) o el compuesto formado por el paso inmediatamente anterior, respectivamente, con un agente de terminación de cadena.

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

En aun otra modalidad, el agente de desbloqueo utilizado en cada paso es una solución que comprende un ácido halogenado.

25 En aun otra modalidad, el agente de desbloqueo utilizado en cada paso es ácido cianoacético.

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

5 En aun otra modalidad, el ácido halogenado es ácido trifluoroacético.

En aun otra modalidad, al menos uno de los pasos (c), (e1), y (f) comprende además el paso de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada paso con un agente de neutralización.

10 En otra modalidad, cada uno de los pasos (c), (e1) y (f) comprende además el paso de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada paso con un agente de neutralización.

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

15 En aun otra modalidad, el agente de neutralización es un monoalquilo, dialquilo o trialquilamina.

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

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

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

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

En aun otra modalidad, el anhídrido de ácido es anhídrido benzoico.

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

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

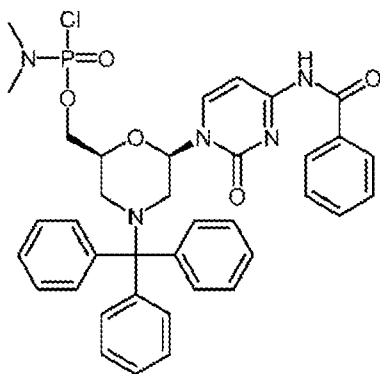
35 En aun otra modalidad, el agente de escisión está en una solución que comprende N-metil-2-pirrolidona.

En aun otra modalidad, el agente de desprotección comprende NH₃.

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

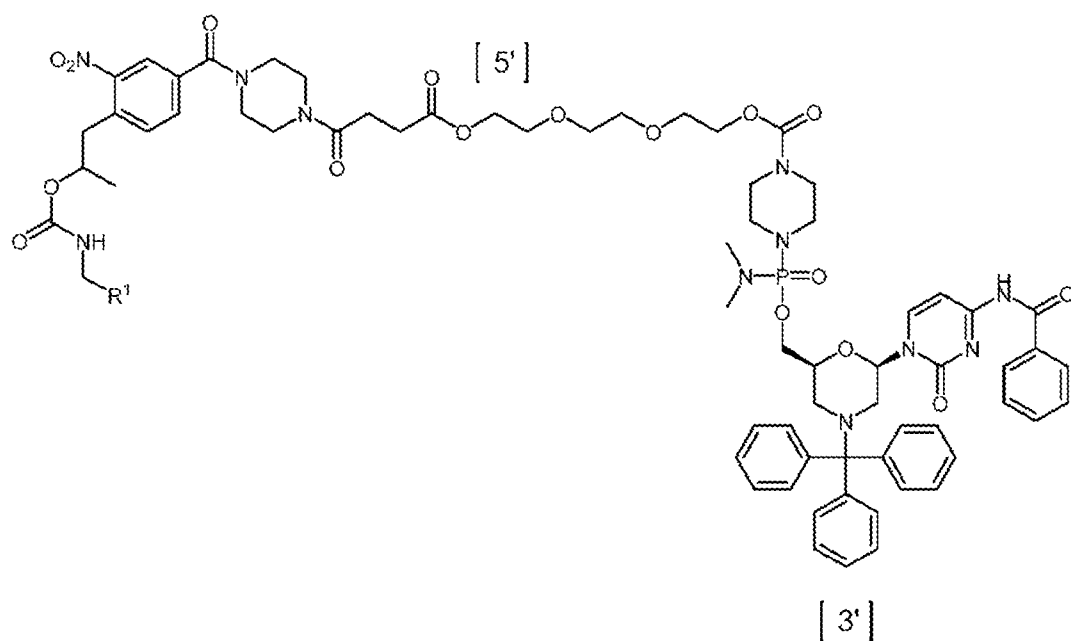
40 En aun otra modalidad, el medio de soporte comprende poliestireno con divinilbenceno reticulado al 1%.

En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (C) es de Fórmula (C1):



(C1).

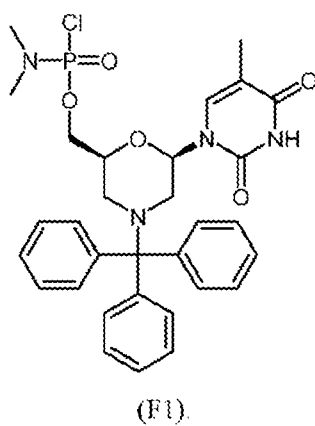
45 En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (V) es de Fórmula (Va):



(Va),

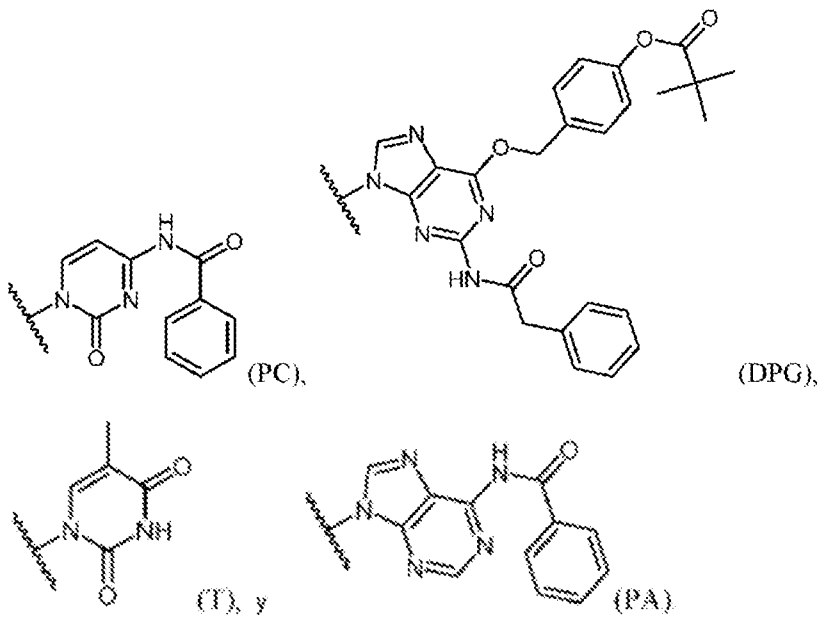
en donde R¹ es un medio de soporte,

- 5 En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (F) es de Fórmula (F1):

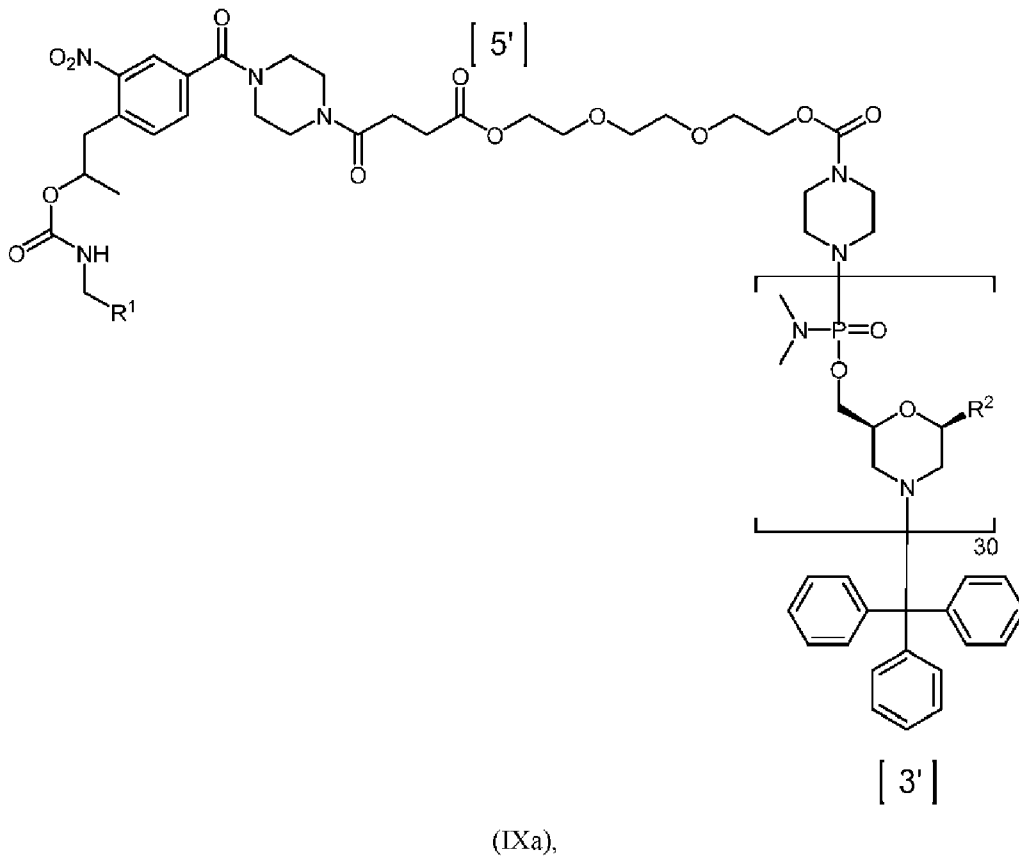


(F1).

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

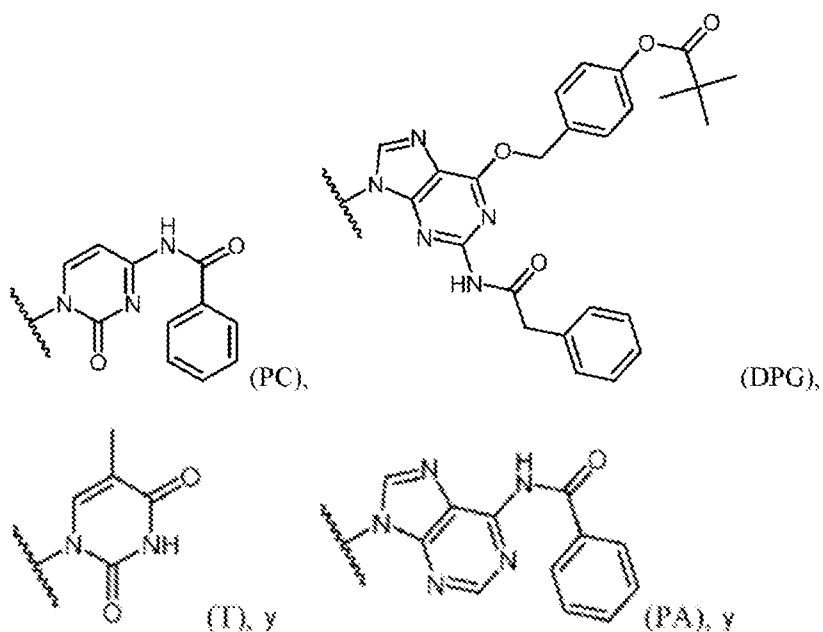


5 En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (IX) es de Fórmula (IXa):



10 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde
R¹ es un medio de soporte, y

R² se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



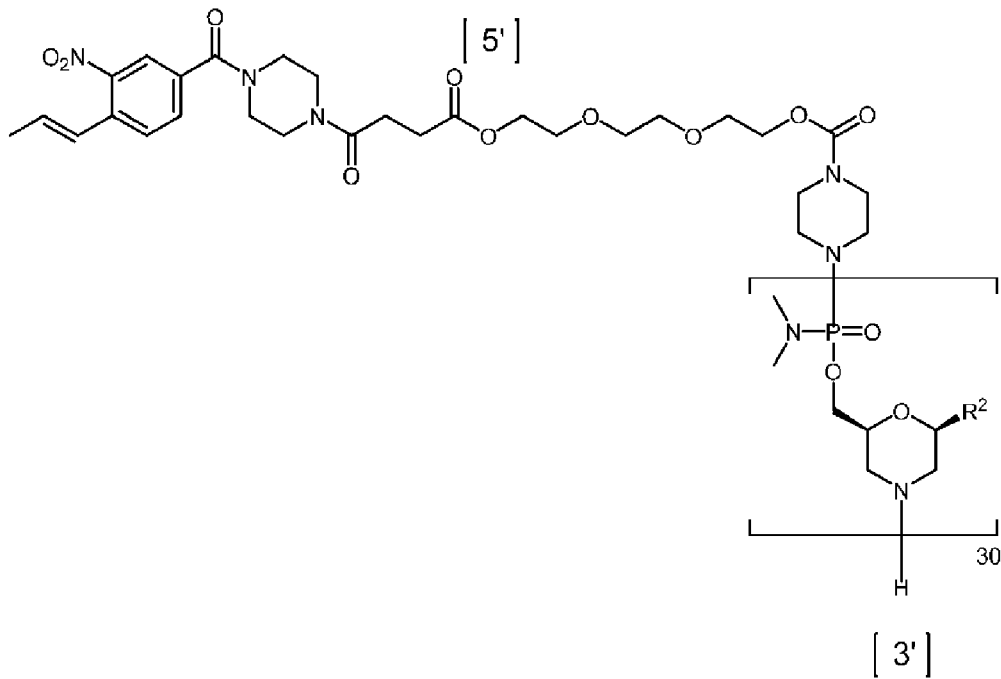
5 en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

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

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

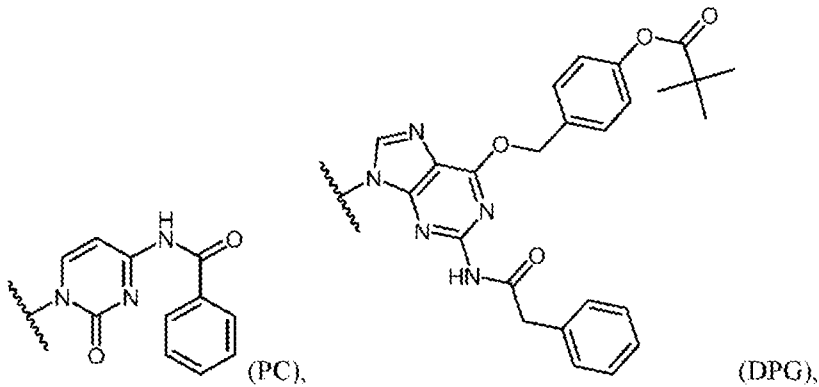
En otra modalidad, el compuesto de Fórmula (XI) es de Fórmula (XIa):



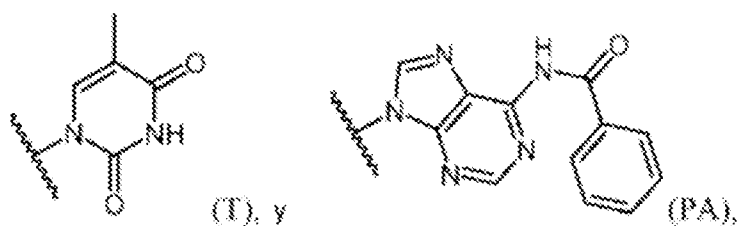
5

una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

R² se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



10

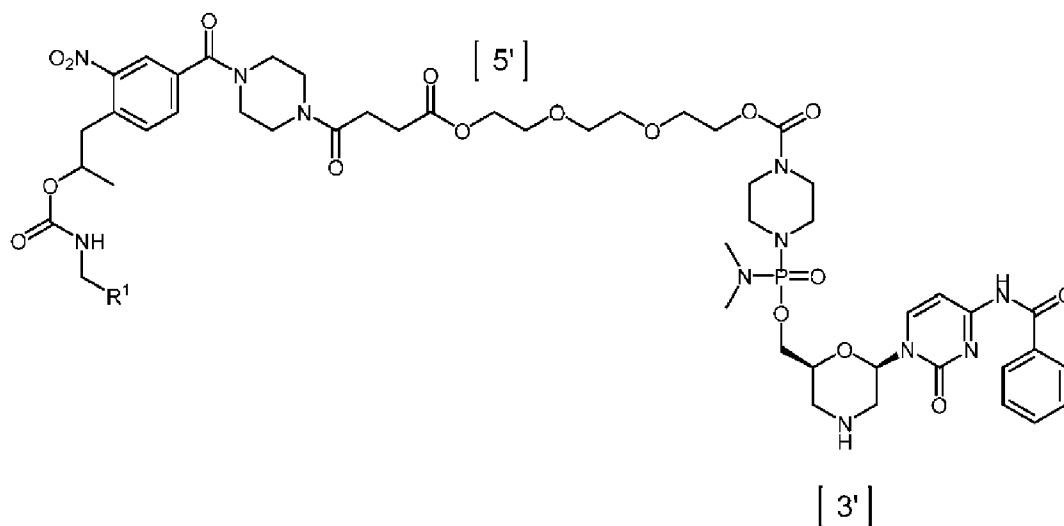


y

5 en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

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



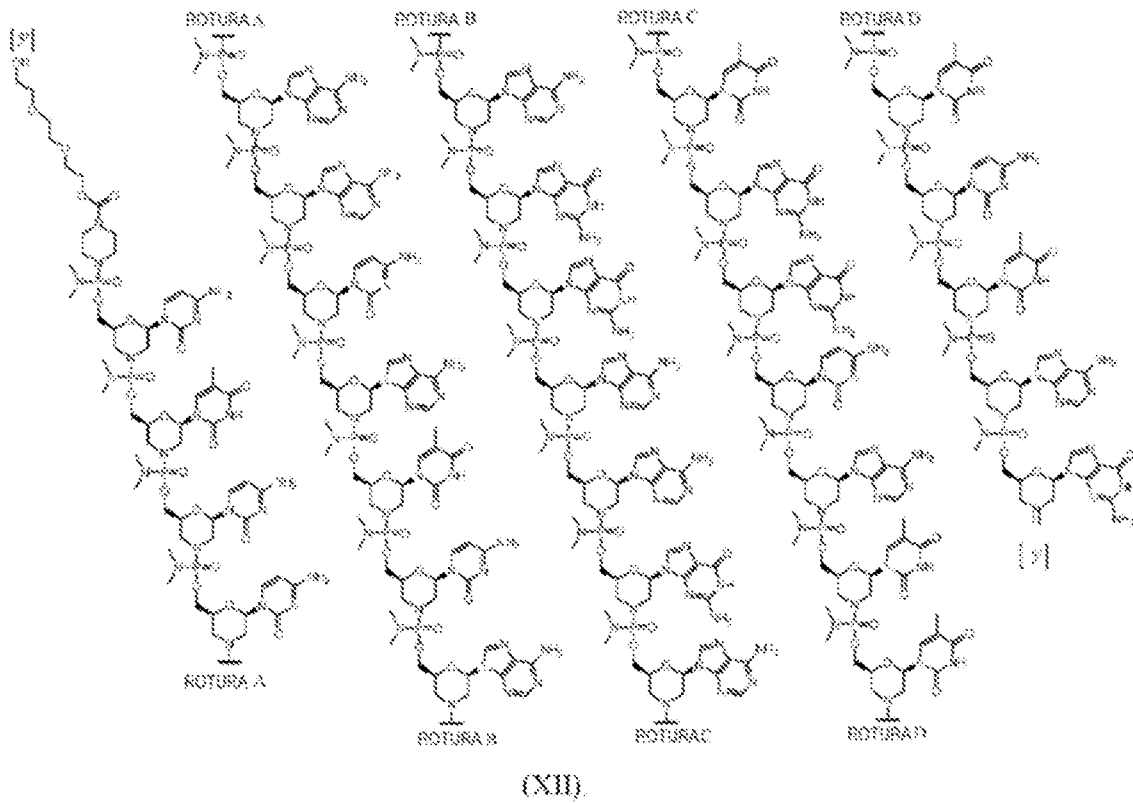
10

(VIa);

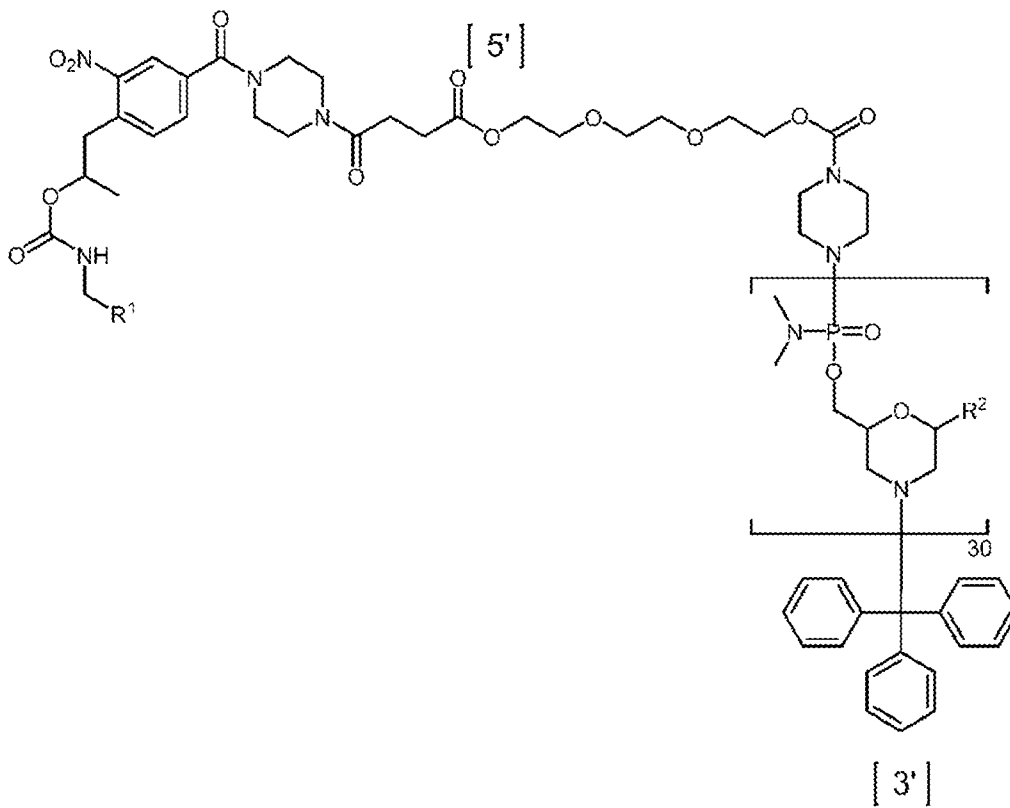
en donde R¹ es un medio de soporte,

15

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



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

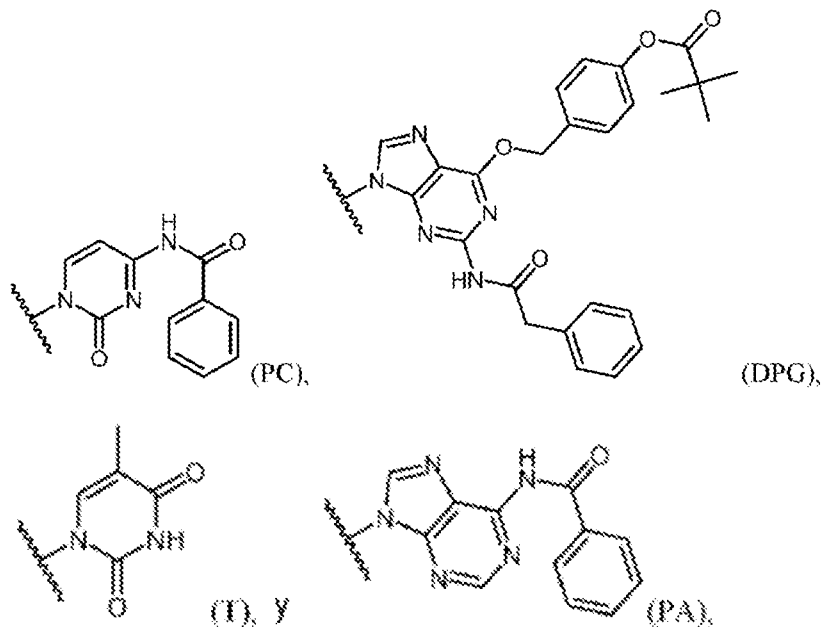


una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

R¹ es un medio de soporte, y

R² se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:

5

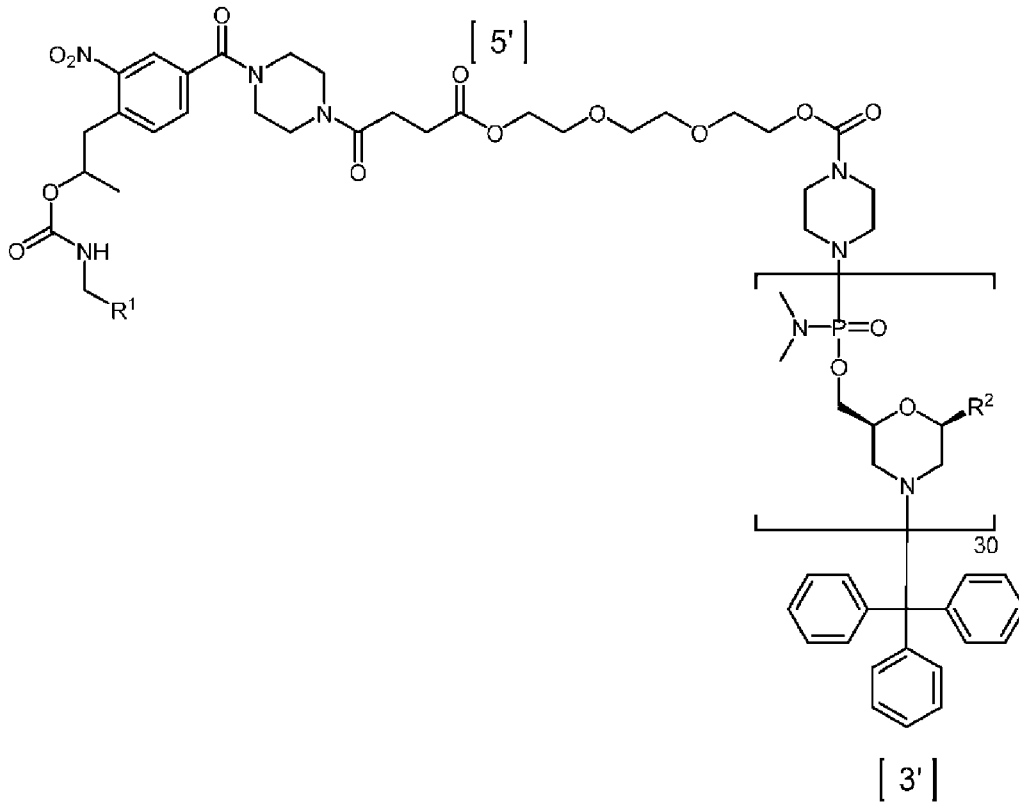


10 y

en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

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



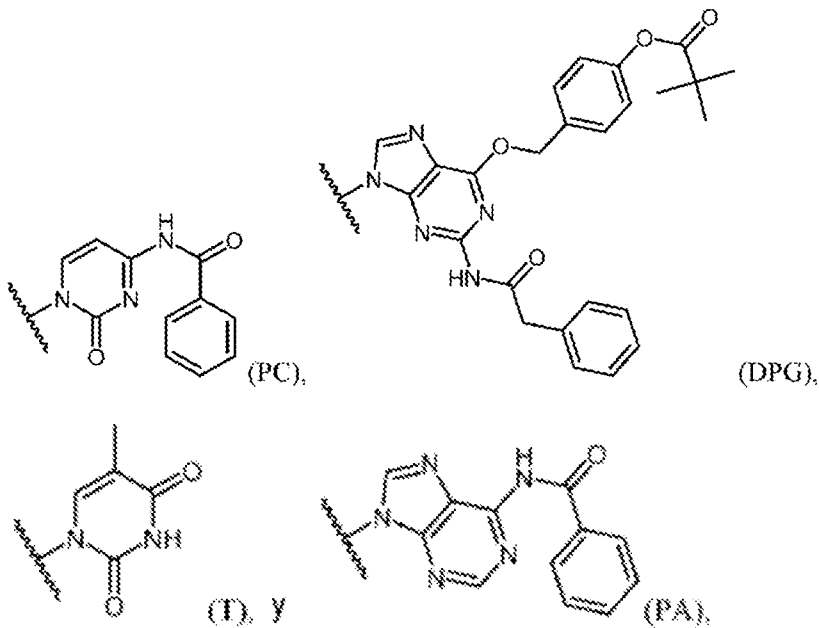
(IXa),

5 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde

R¹ es un medio de soporte, y

R² se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:

10

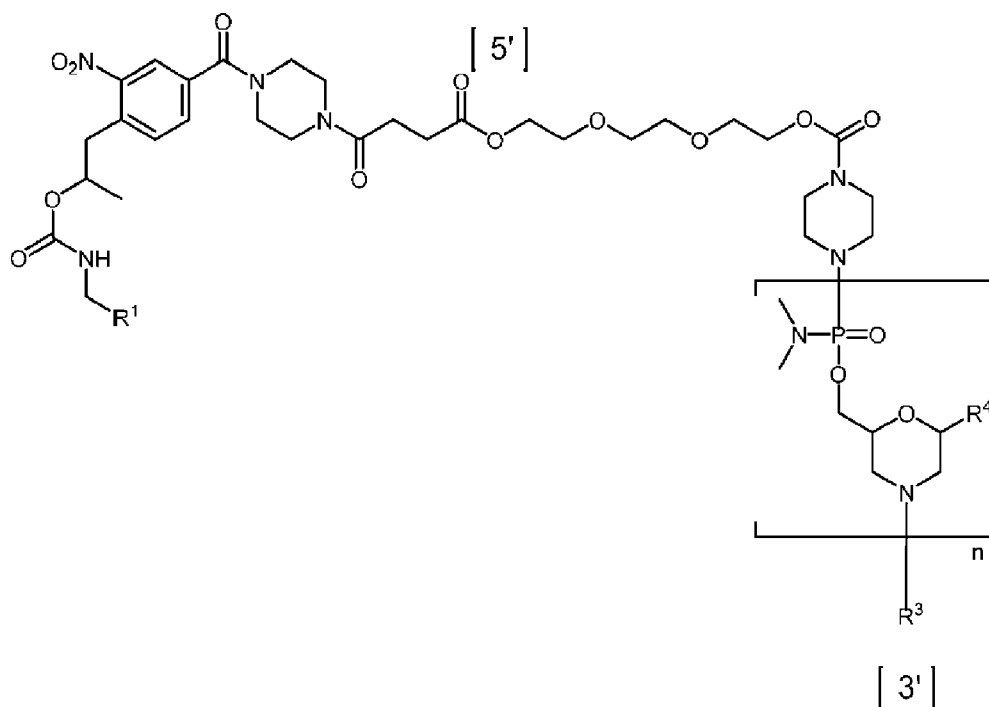


15 y

en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

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



5

(A9),

una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

10

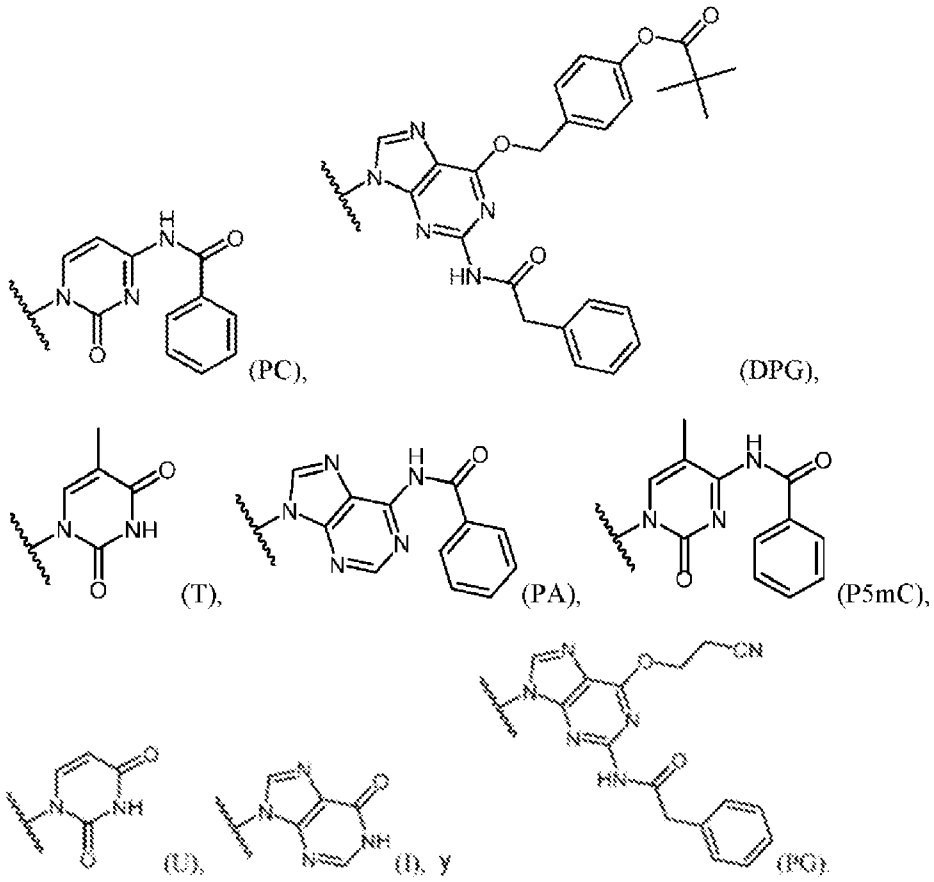
n es un número entero de 10 a 40;

R¹ es un medio de soporte;

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo; y

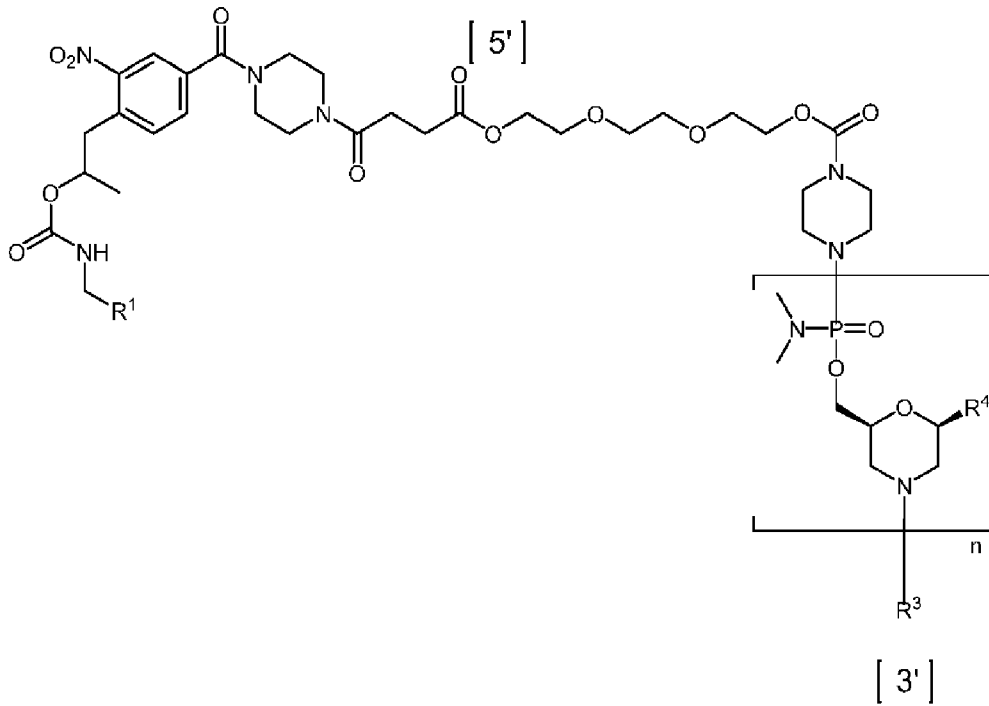
15

R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



5

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



(A9a),

10

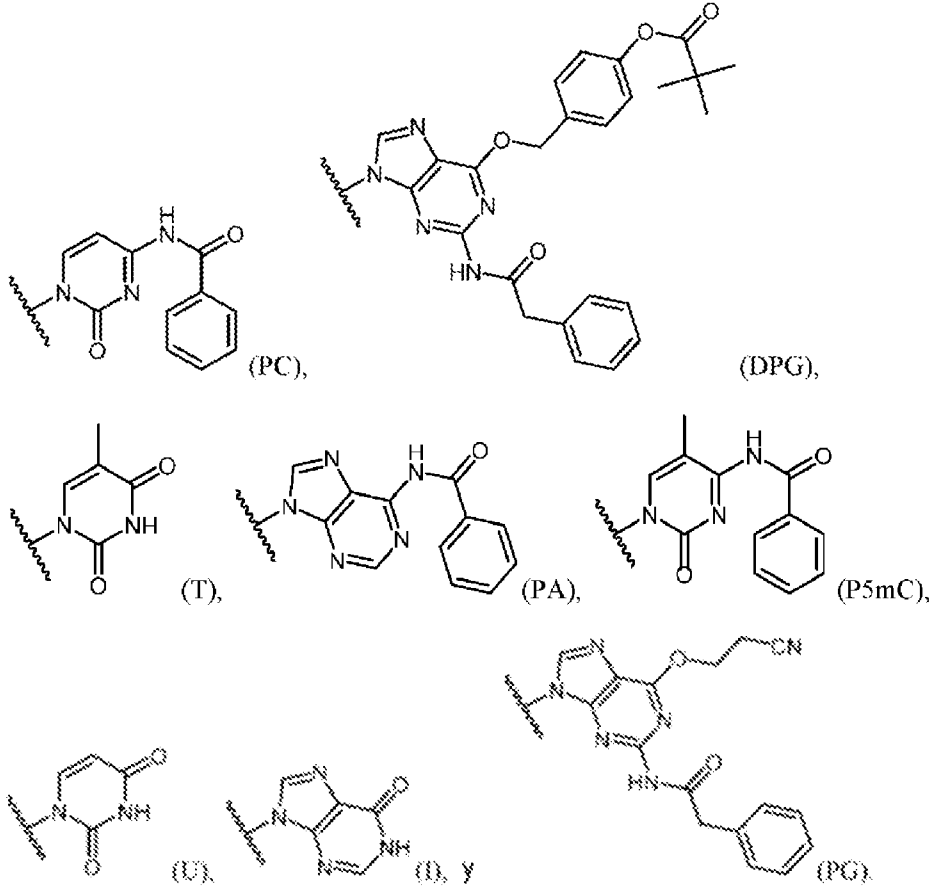
una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

n es un número entero de 10 a 40;

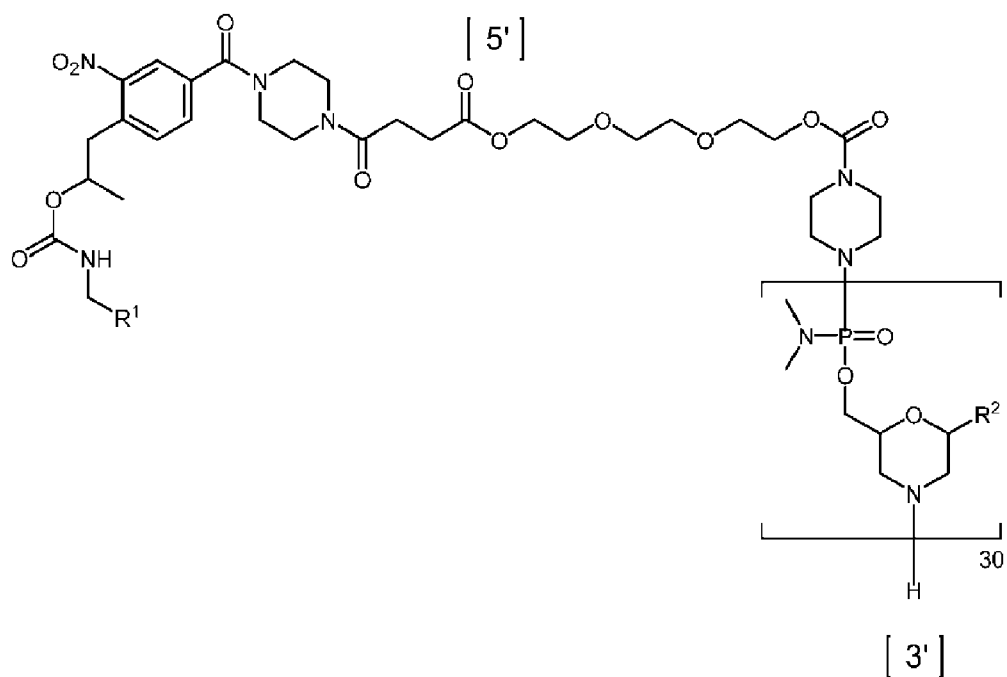
R¹ es un medio de soporte;

5 R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo; y

R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



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



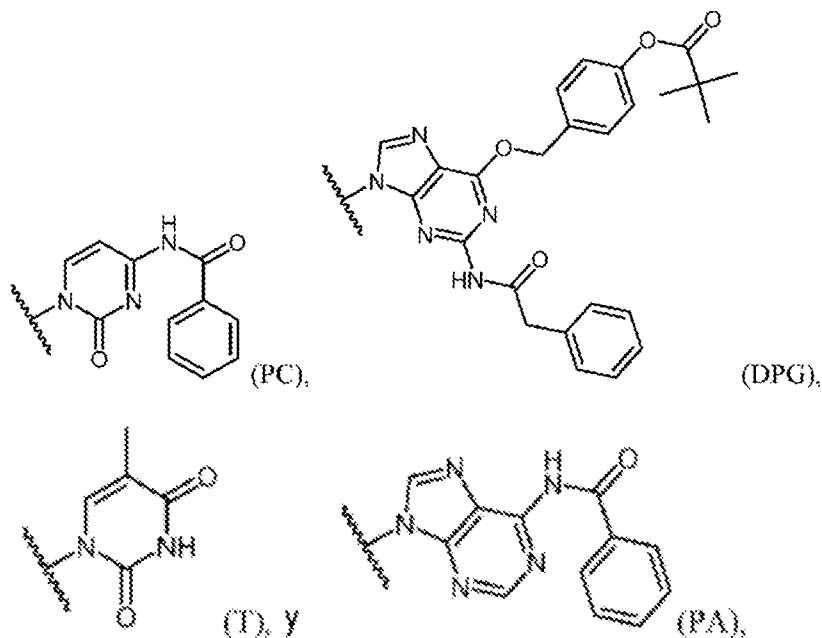
(X);

5 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde

R¹ es un medio de soporte, y

R² se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:

10



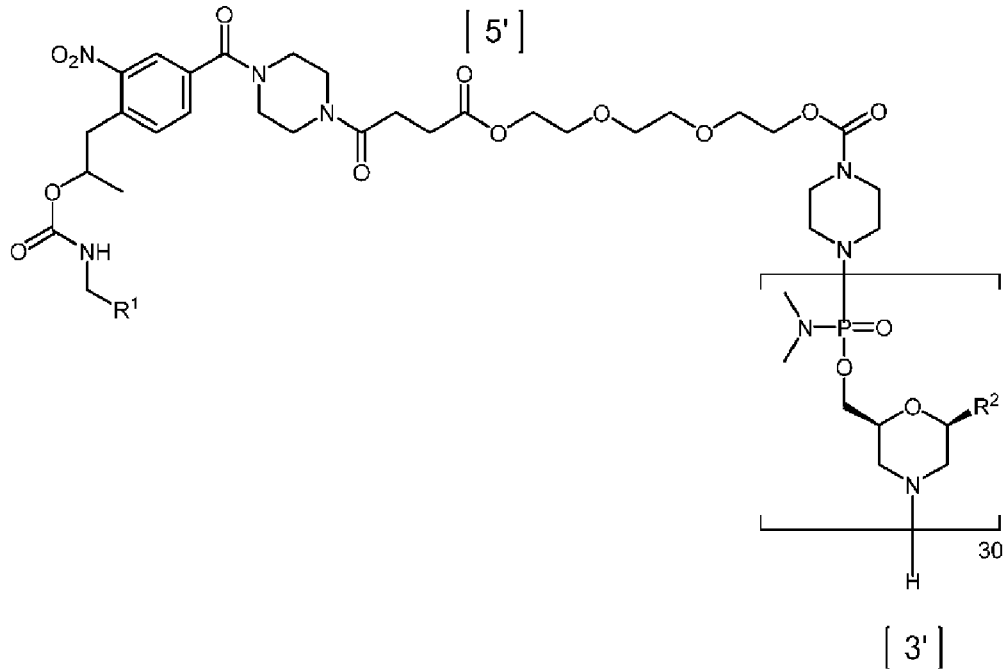
15 y

en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

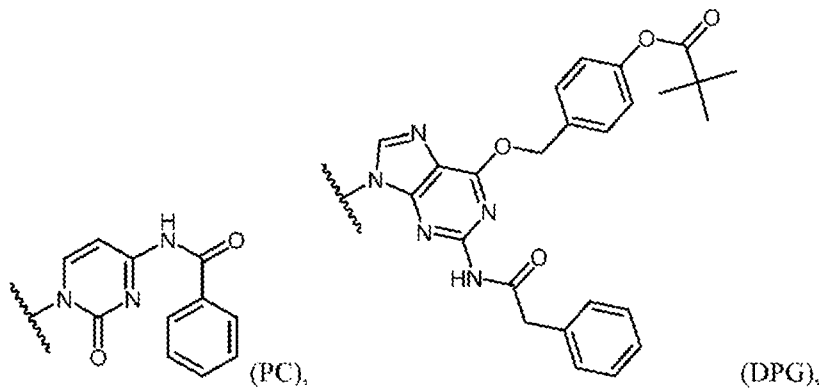
En una modalidad, el compuesto de Fórmula (X) es de Fórmula (Xa):

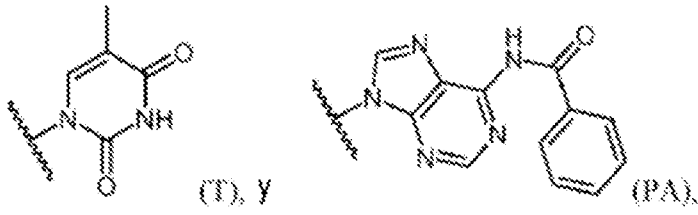


5 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde

R¹ es un medio de soporte, y

10 R² se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:

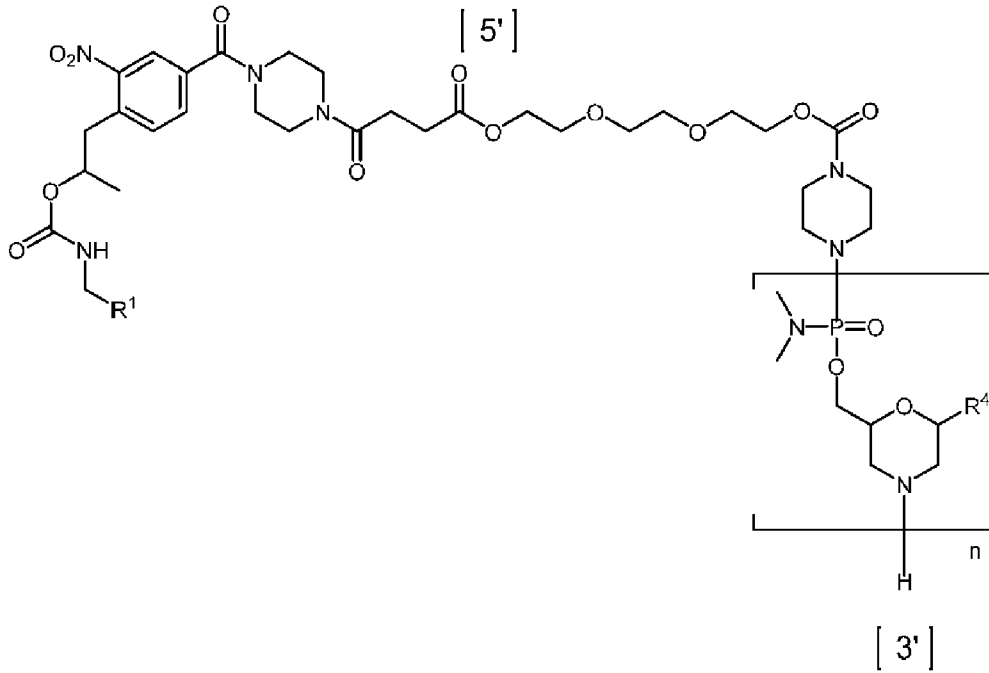




5 y
 en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

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

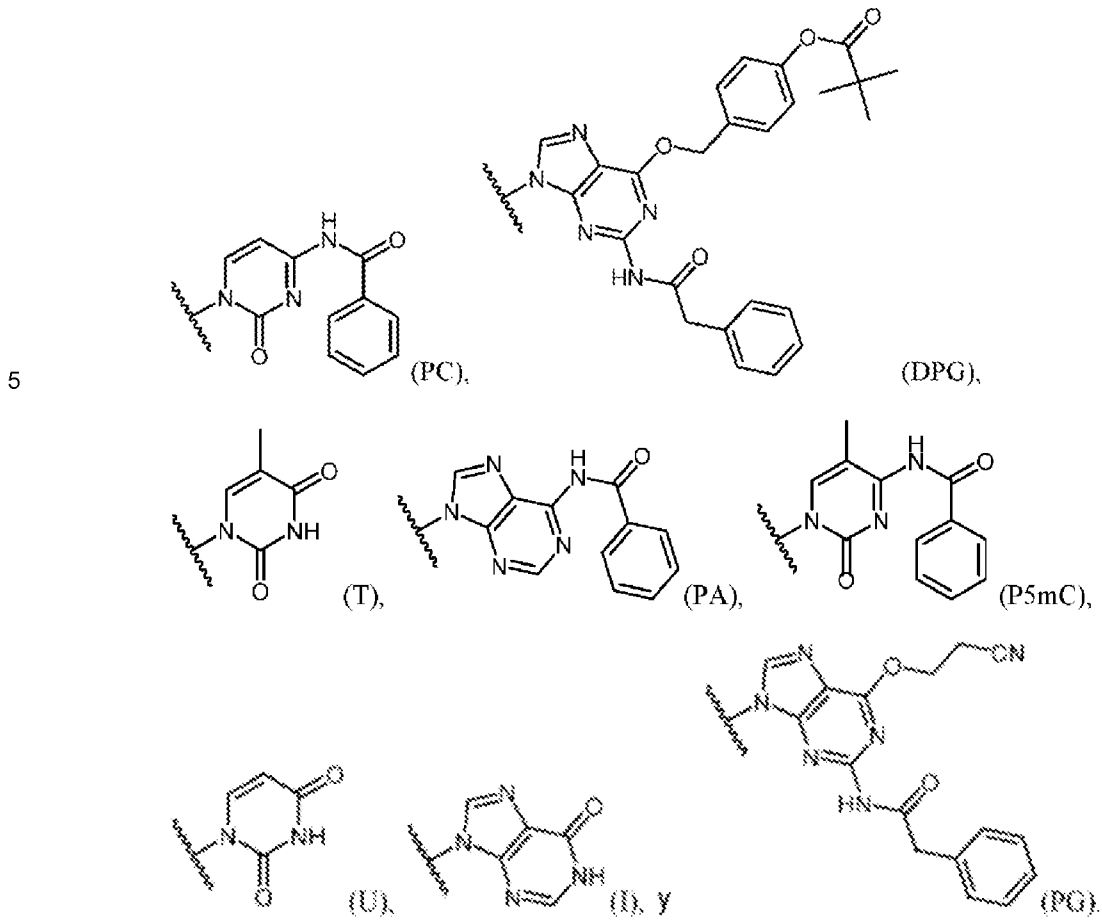


una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

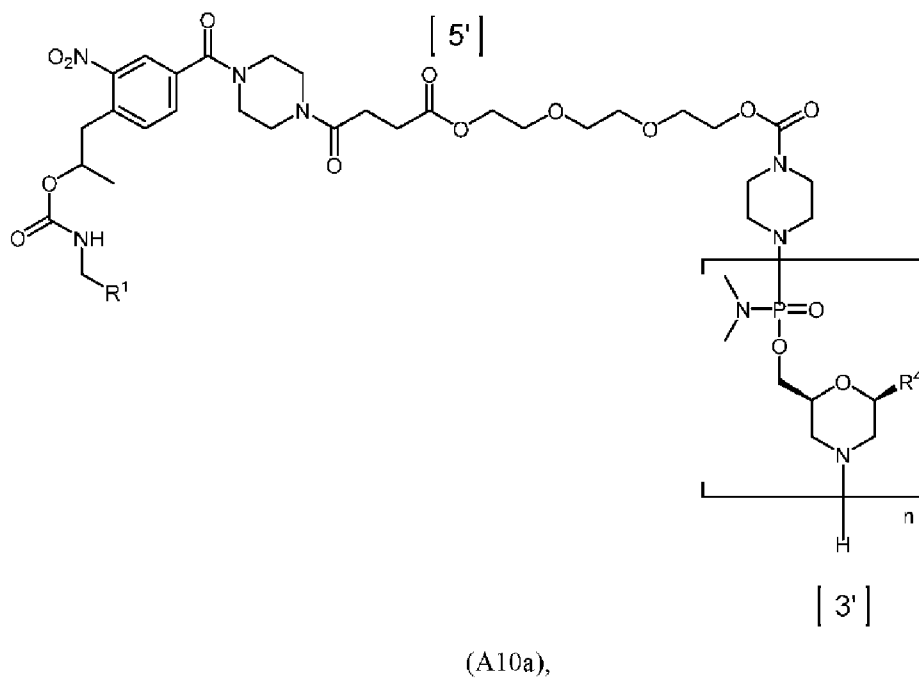
15 n es un número entero de 10 a 40;

R¹ es un medio de soporte; y

R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



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

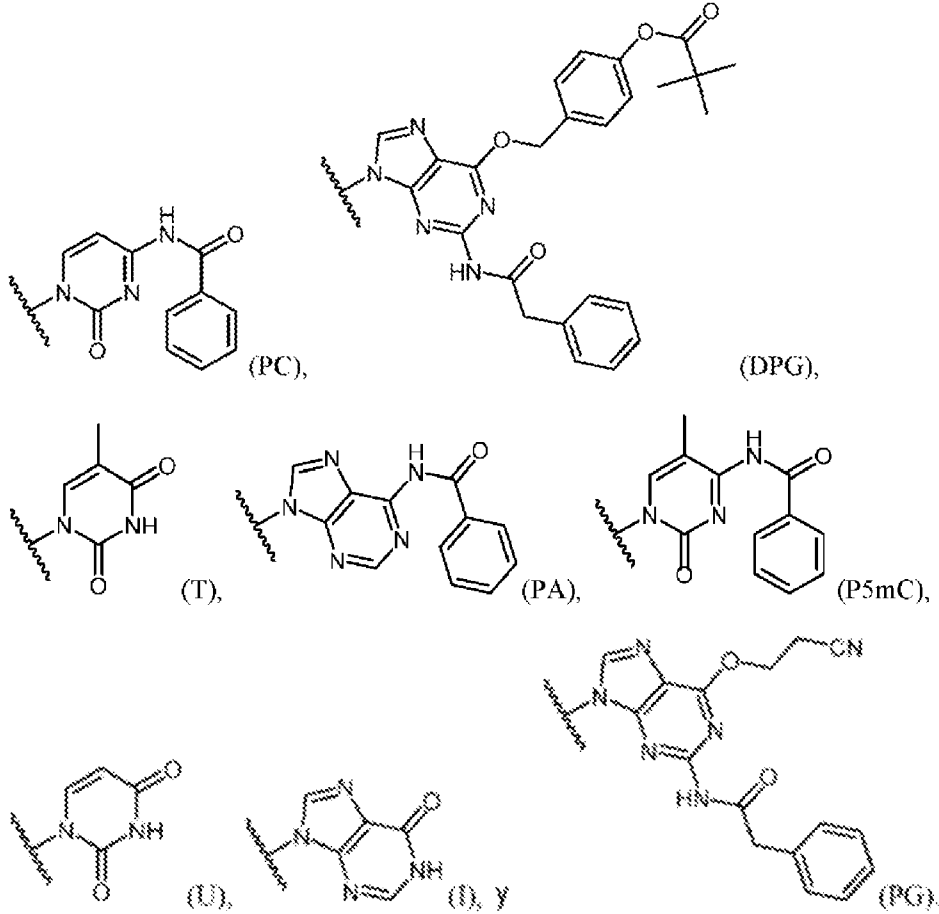


una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

n es un número entero de 10 a 40;

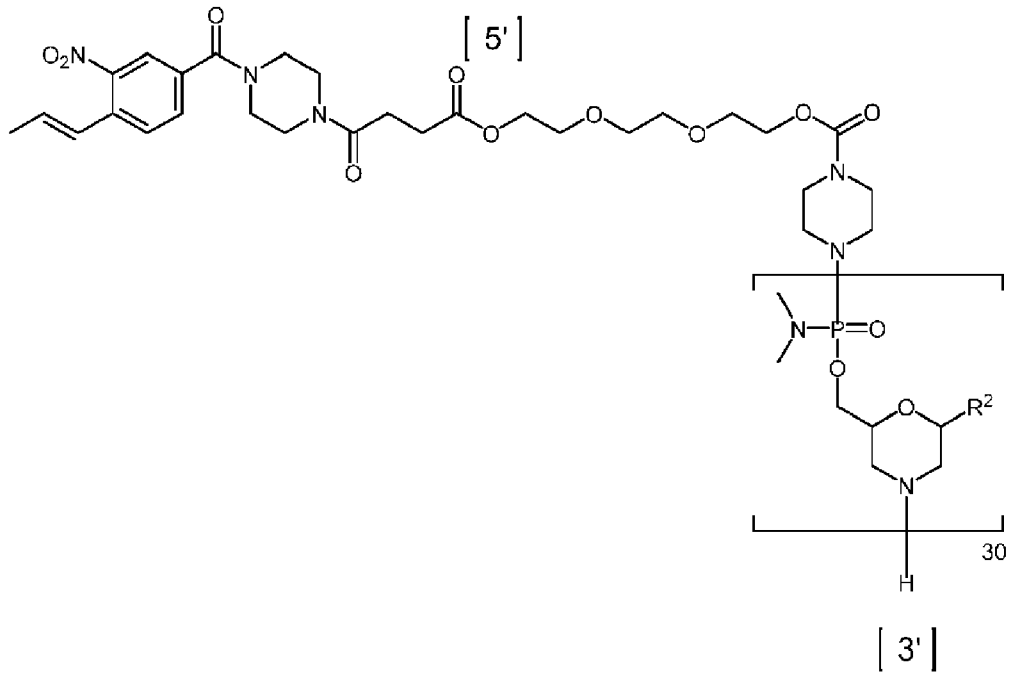
5 R¹ es un medio de soporte; y

R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



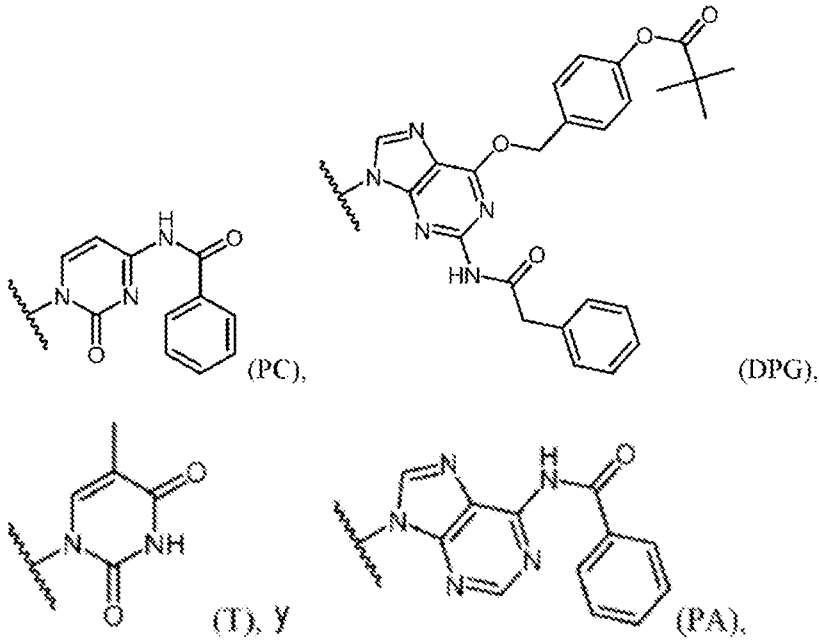
15 En otra modalidad de estos compuestos, el medio de soporte comprende poliestireno con divinilbenceno reticulado al 1%.

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



una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

- 5 R² se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



10

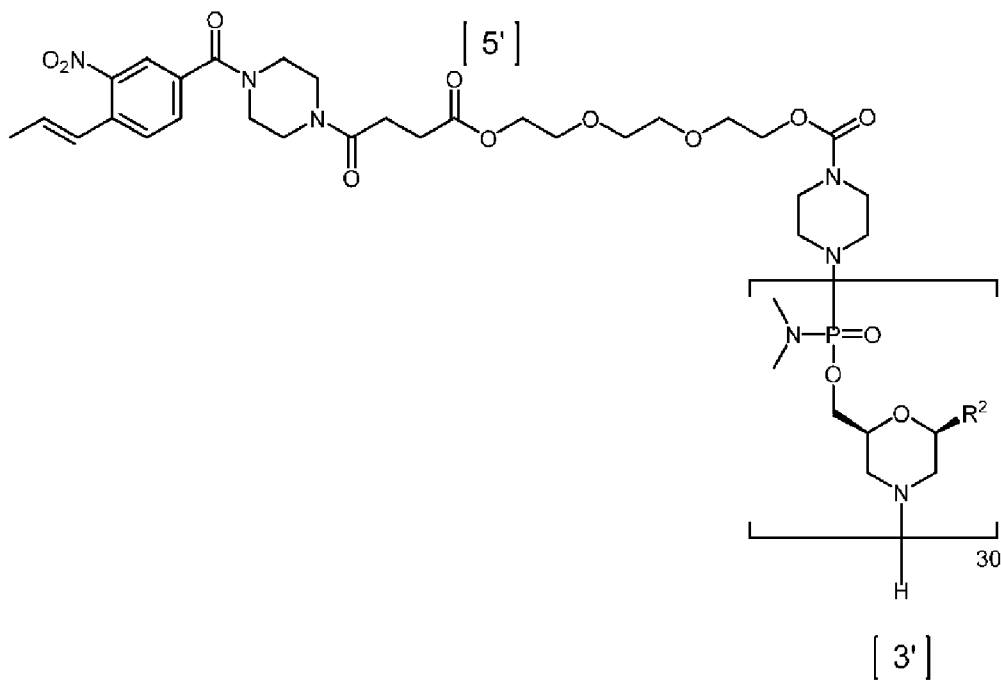
y

en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

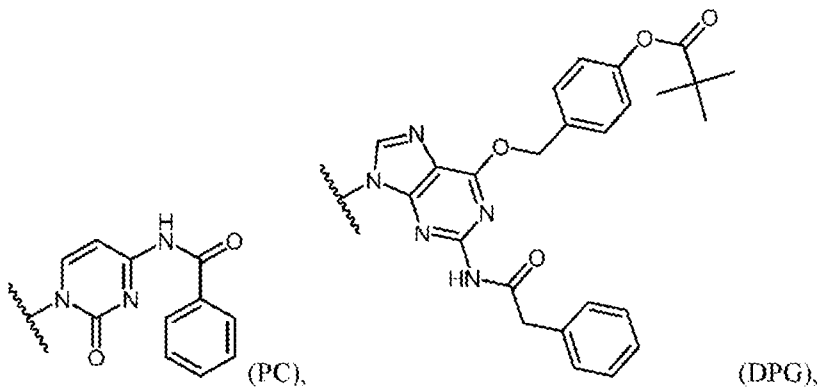
En una modalidad, el compuesto de Fórmula (XI) es de Fórmula (XIa):



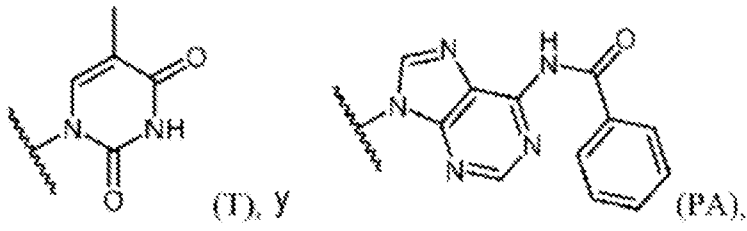
5

una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

R² se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



10

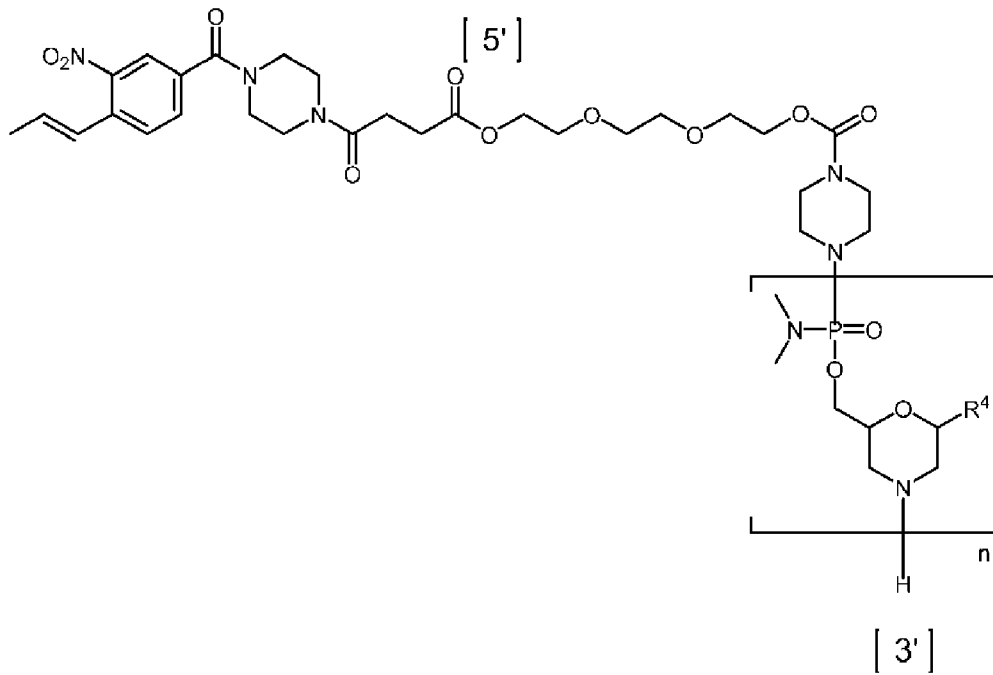


y

5 en donde R² está en cada posición de 1 a 30 y de 5' a 3':

Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²	Posición núm. 5' a 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

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



10

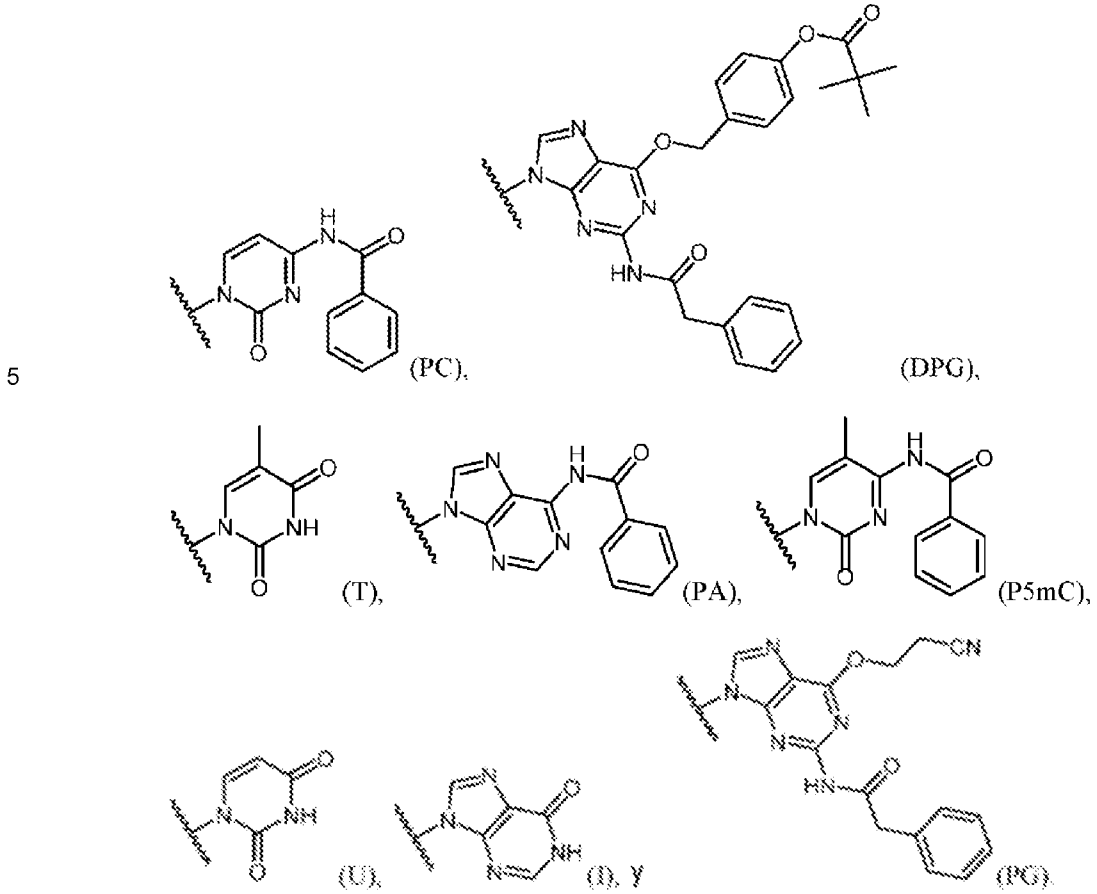
una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

n es un número entero de 10 a 40;

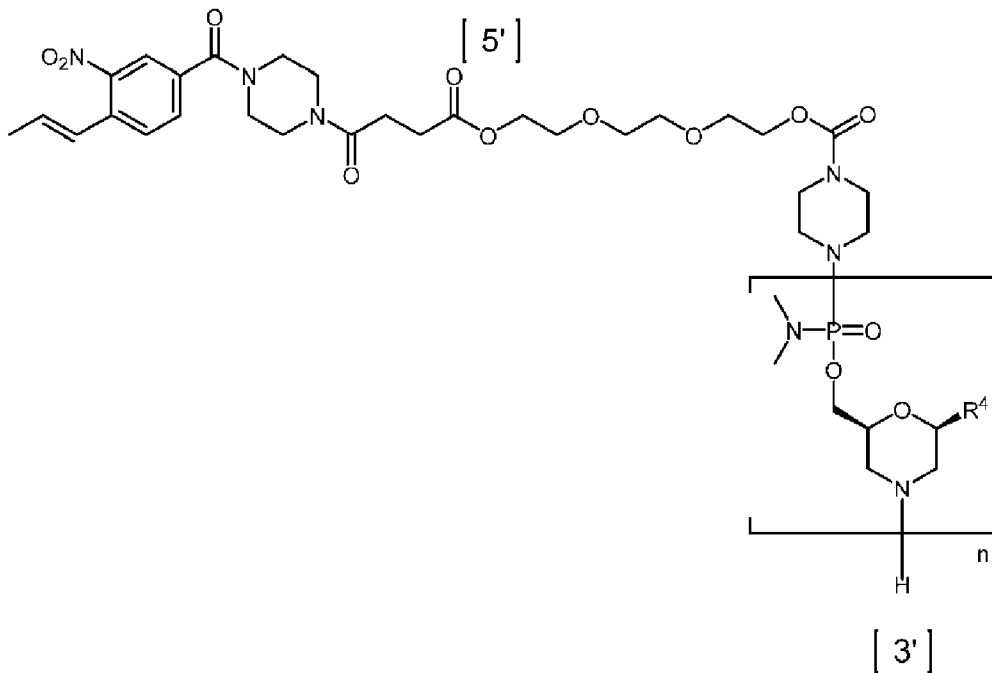
15

R¹ es un medio de soporte; y

R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



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

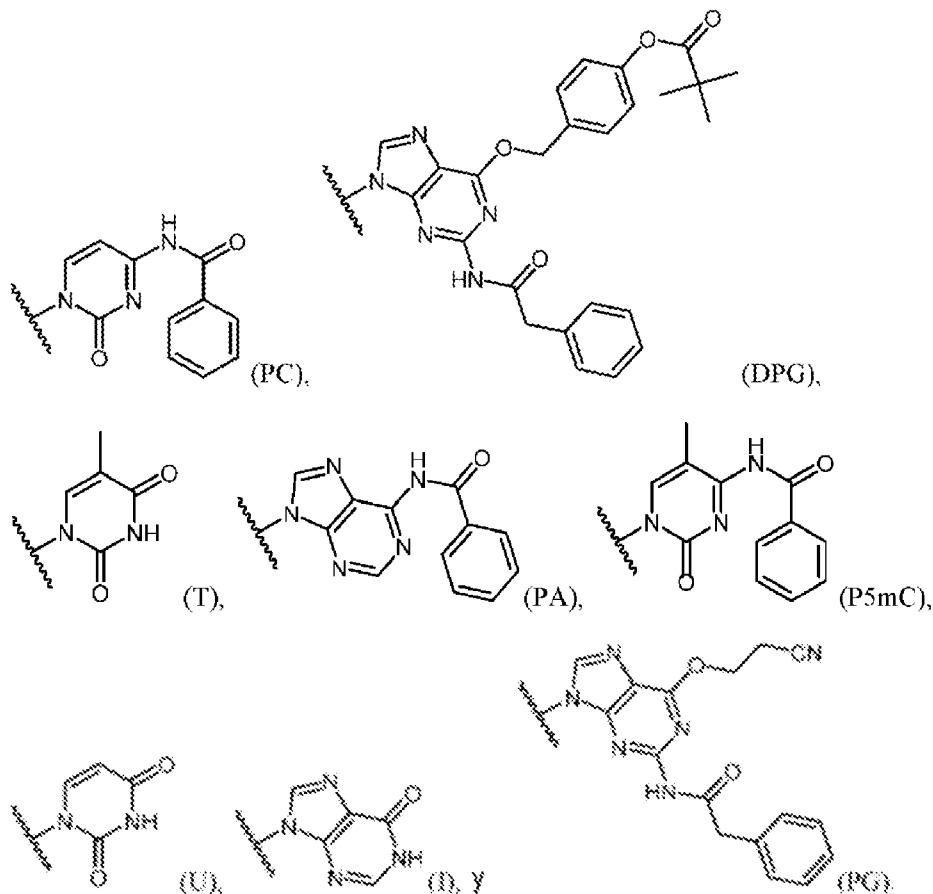


una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde:

n es un número entero de 10 a 40;

R¹ es un medio de soporte; y

R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:



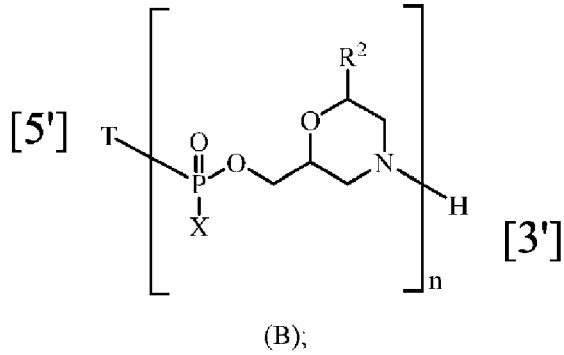
Oligómeros de morfolino

Las propiedades importantes de las subunidades basadas en morfolino incluyen: 1) la capacidad de unirse en una forma oligomérica mediante enlaces estructurales estables, no cargados o cargados positivamente; 2) la capacidad de soportar una base nucleotídica (por ejemplo, adenina, citosina, guanina, timidina, uracilo, 5-metil-citosina e hipoxantina) tal que el polímero formado se pueda hibridar con un ácido nucleico diana de base complementaria, que incluye ARN diana; 3) la capacidad del oligómero para transportarse de manera activa o pasivamente a células de mamífero; y 4) la capacidad del oligómero y el oligómero: heterodúplex de ARN para resistir la degradación de ARNasa y RNasa H, respectivamente.

En algunas modalidades, los oligómeros antisentido contienen modificaciones o sustituciones de bases. Por ejemplo, se pueden seleccionar ciertas nucleobases para incrementar la afinidad de unión de los oligómeros antisentido descritos en la presente. Se ha mostrado que las sustituciones de 5-metilcitosina incrementan la estabilidad del dúplex de ácido nucleico en 0.6-1.2°C, y se pueden incorporar en los oligómeros antisentido descritos en la presente. En una modalidad, al menos una base de pirimidina del oligómero comprende una base de pirimidina 5-sustituida, en donde la base de pirimidina se selecciona del grupo que consta de citosina, timina y uracilo. En una realización, la base de pirimidina 5-sustituida es 5-metilcitosina. En otra modalidad, al menos una base de purina del oligómero comprende hipoxantina.

Los oligómeros basados en morfolino (que incluyen oligómeros antisentido) se detallan, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos de América núm. 5,698,685, 5,217,866, 5,142,047, 5,034,506, 5,166,315, 5,185,444, 5,521,063, 5,506,337, 8,299,206, y 8,076,476; las publicaciones de solicitud de patente internacional núm. WO/2009/064471 y WO/2012/043730; y Summerton et al., *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 1997, 7, 187-195.

En algunas modalidades, en la presente se describe, pero no es parte de la presente invención, un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (B):

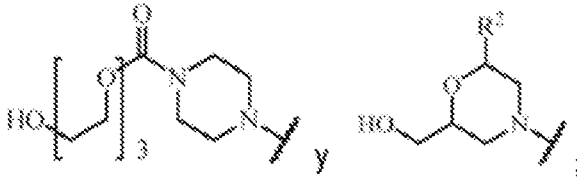


5

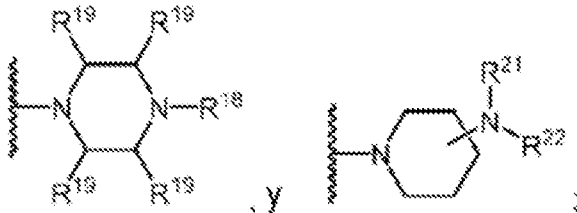
en donde n es un número entero de 10 a 40,

T se selecciona de

10



X se selecciona, independientemente en cada presentación, de H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,



15

en donde

R¹⁷ es, independientemente para cada presentación, H o alquilo C₁₋₆;

20

R¹⁸ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, -C(=NH)NH₂, -C(O)(CH₂)_qNR²⁰C(=NH)NH₂ y -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁰C(=NH)NH₂;

q es 1, 2, 3, 4, o 5;

25

R¹⁹ es, independientemente para cada presentación, H o metilo;

R²⁰ es H o alquilo C₁₋₆;

30

R²¹ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, C(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)_rNR²³C(=NH)NH₂, C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²³C(=NH)NH₂, y C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂;

R²² es H o alquilo C₁₋₆;

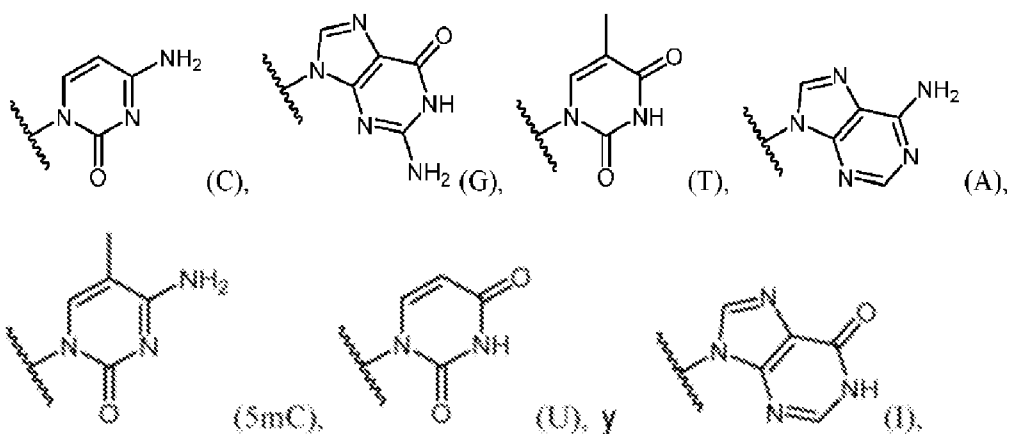
35

R²³ es H o alquilo C₁₋₆; y

r es 1, 2, 3, 4, o 5;

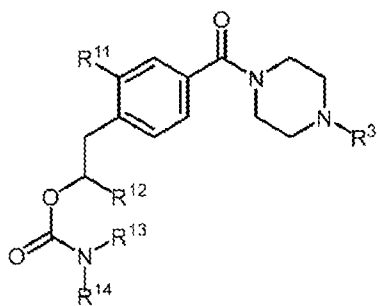
40

cada R² se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



5 en donde el proceso comprende los pasos secuenciales de:

(a) poner en contacto un compuesto de Fórmula (B1):



(B1);

10

en donde

R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;

15

R¹² es alquilo C₁₋₆;

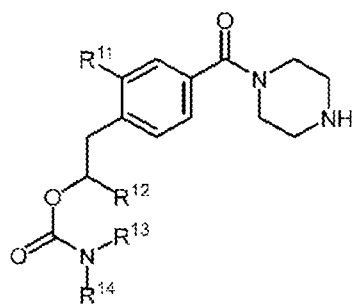
R¹³ es H o alquilo C₁₋₆; y

20

R¹⁴ es un primer ligador unido a un medio de soporte,

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

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



(II-B);

25

en donde

R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;

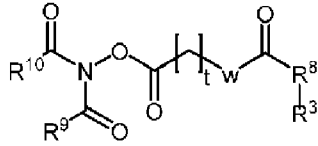
30

R¹² es alquilo C₁₋₆;

R¹³ es H o alquilo C₁₋₆; y

5 R¹⁴ es un primer ligador unido a un medio de soporte;

(b) poner en contacto el compuesto de Fórmula (II) con un compuesto de Fórmula (III);



(III-B);

10

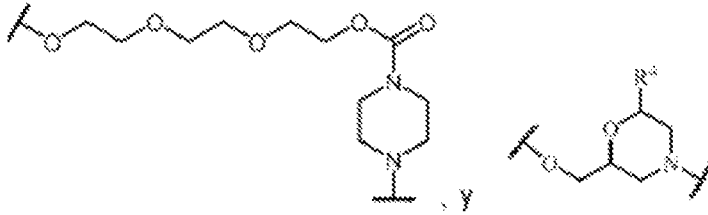
en donde

w se selecciona de O o C;

15

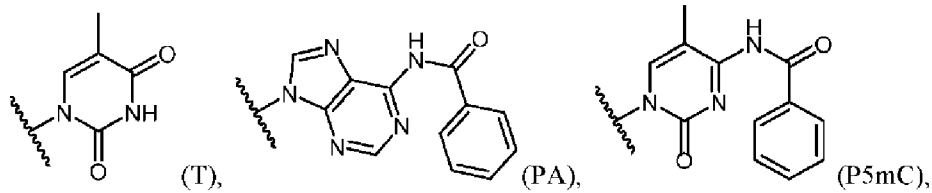
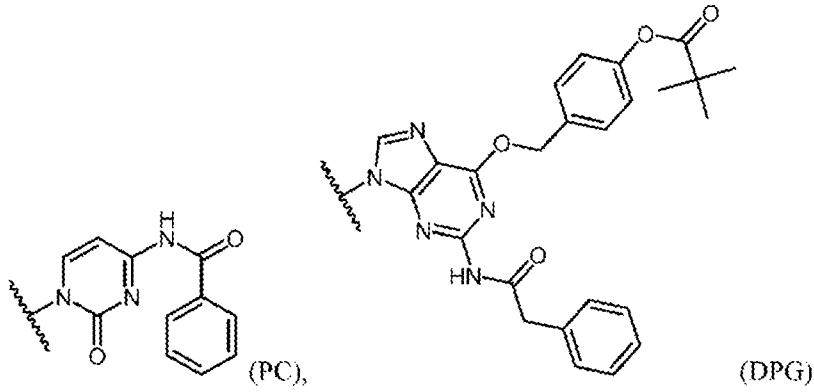
t es 1, 2, 3, 4, o 5;

R⁸ se selecciona de:

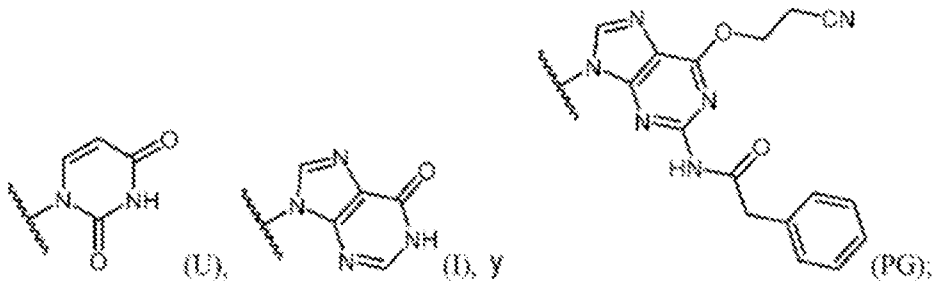


20

en donde R⁴ se selecciona del grupo que consta de:



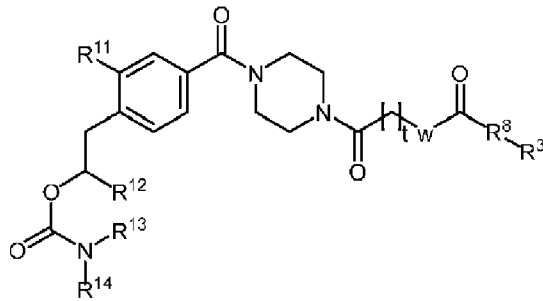
25



R³ se selecciona independientemente en cada presentación del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo.

5

R⁹ y R¹⁰ son, independientemente, alquilo C₁₋₆, o R⁹ y R¹⁰, junto con los átomos a los cuales se unen, forman un anillo cíclico o policíclico que comprende 4-10 átomos de carbono para formar un compuesto de la fórmula (B3):



(B3);

10

en donde

w se selecciona de O o C;

15

t es 1, 2, 3, 4, o 5;

R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;

20

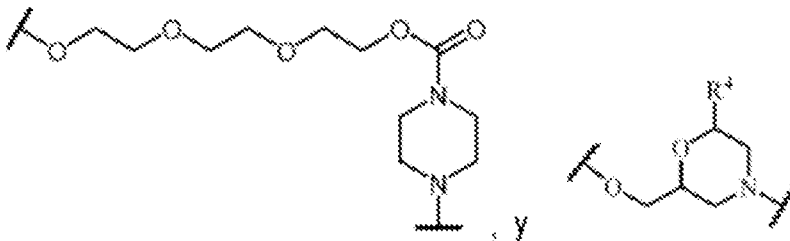
R¹² es alquilo C₁₋₆;

R¹³ es H o alquilo C₁₋₆;

R¹⁴ es un primer ligador unido a un medio de soporte;

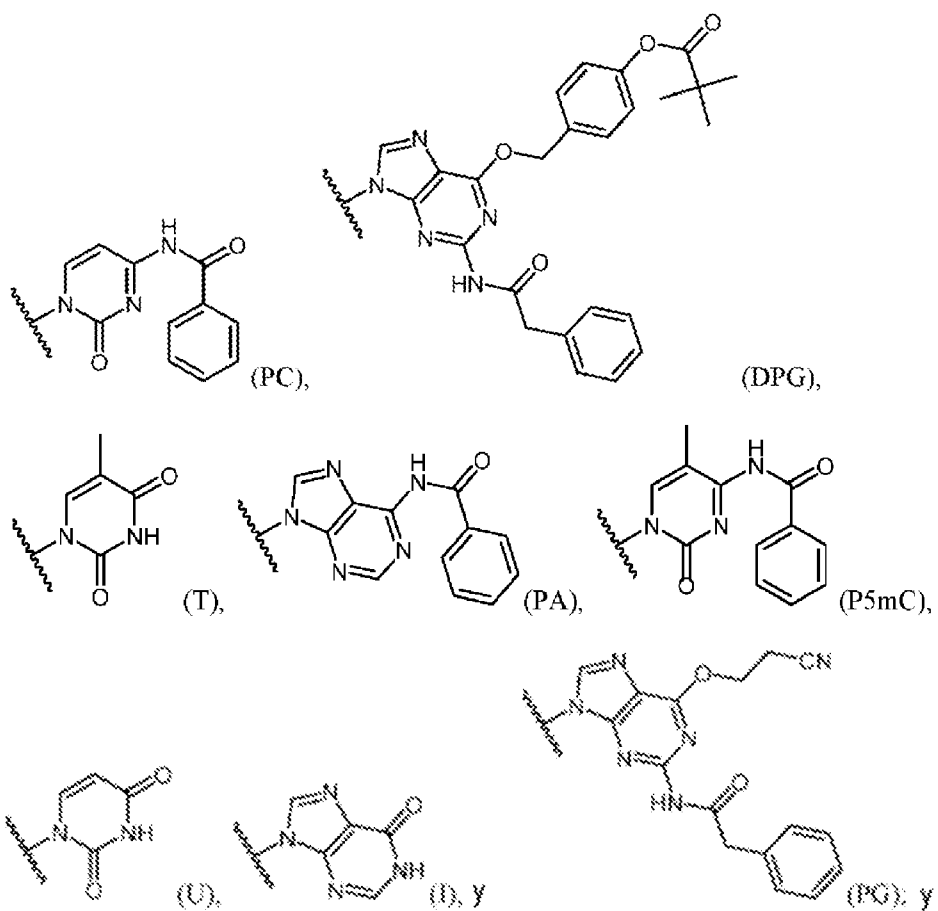
25

R⁸ se selecciona de:



30

en donde R⁴ se selecciona del grupo que consta de:

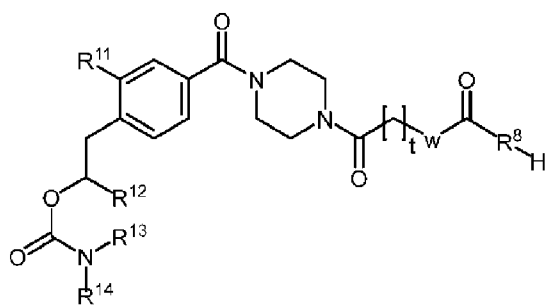


5

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

10

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



(IV-B);

15

en donde

w se selecciona de O o C;

t es 1, 2, 3, 4, o 5;

20

R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;

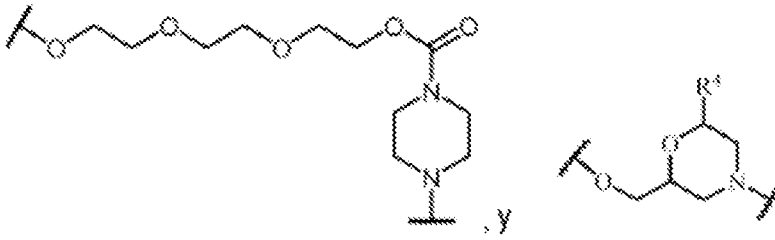
R¹² es alquilo C₁₋₆;

R¹³ es H o alquilo C₁₋₆;

25

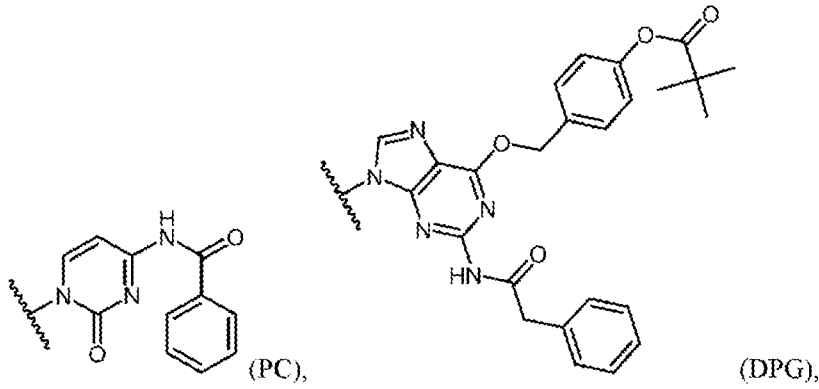
R¹⁴ es un primer ligador unido a un medio de soporte; y

R⁸ se selecciona de:

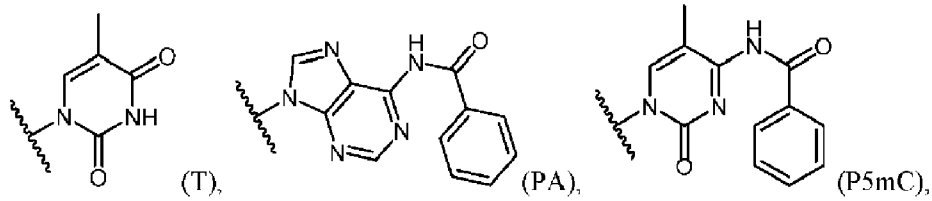


5

en donde R⁴ se selecciona del grupo que consta de:

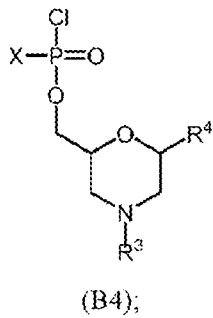


10



15

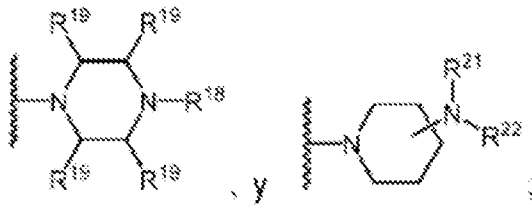
(d) poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV-B) con un compuesto de Fórmula (B4):



en donde

20

X se selecciona, independientemente en cada presentación, de H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,



R¹⁷ es, independientemente para cada presentación, H o alquilo C₁₋₆;

5 R¹⁸ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, -C(=NH)NH₂, -C(O)(CH₂)_qNR²⁰C(=NH)NH₂ y -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁰C(=NH)NH₂;

q es 1, 2, 3, 4, o 5;

10 R¹⁹ es, independientemente para cada presentación, H o metilo;

R²⁰ es H o alquilo C₁₋₆;

15 R²¹ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, C(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)_rNR²³C(=NH)NH₂, C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²³C(=NH)NH₂, y C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂;

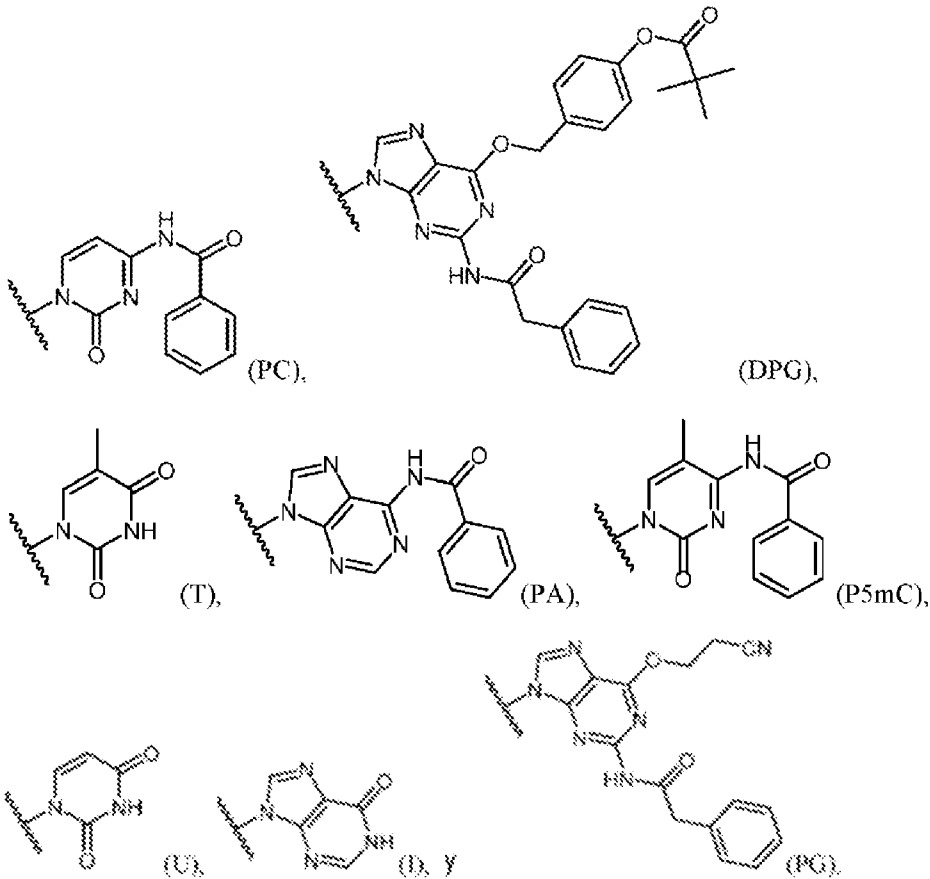
R²² es H o alquilo C₁₋₆;

20 R²³ es H o alquilo C₁₋₆; y

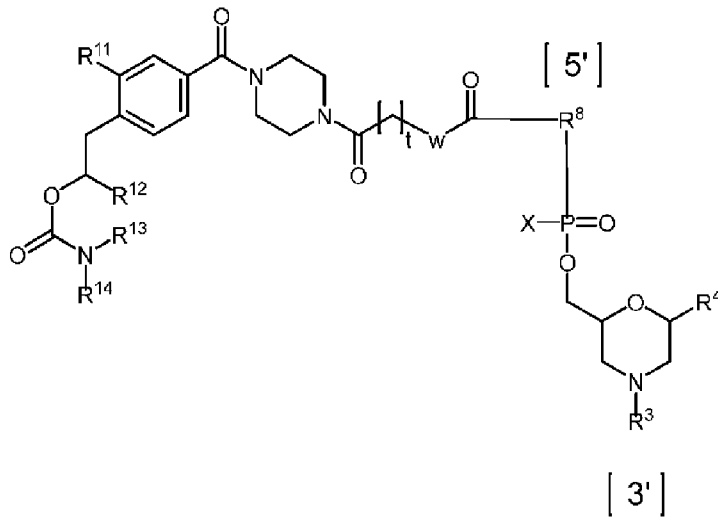
r es 1, 2, 3, 4, o 5;

25 R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

R⁴ se selecciona del grupo que consta de:



para formar un compuesto de Fórmula (B5):



(B5);

5

en donde:

w se selecciona de O o C;

10

t es 1, 2, 3, 4, o 5;

R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;

R¹² es alquilo C₁₋₆;

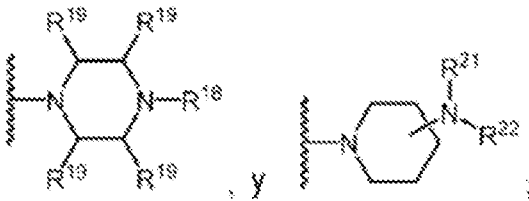
15

R¹³ es H o alquilo C₁₋₆;

R¹⁴ es un primer ligador unido a un medio de soporte;

20

X se selecciona, independientemente en cada presentación, de H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,



en donde:

25

R¹⁷ es, independientemente para cada presentación, H o alquilo C₁₋₆;

R¹⁸ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, -C(=NH)NH₂,

30

-C(O)(CH₂)_qNR²⁰C(=NH)NH₂,

y -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁰C(=NH)NH₂;

q es 1, 2, 3, 4, o 5;

35

R¹⁹ es, independientemente para cada presentación, H o metilo;

R²⁰ es H o alquilo C₁₋₆;

R²¹ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, C(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)_rNR²³C(=NH)NH₂, C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²³C(=NH)NH₂, y C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂;

5 R²² es H o alquilo C₁₋₆;

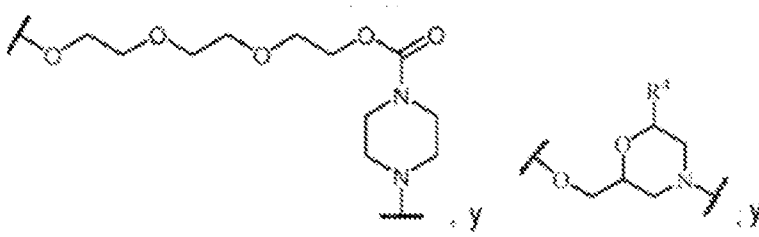
R²³ es H o alquilo C₁₋₆; y

r es 1, 2, 3, 4, o 5;

10

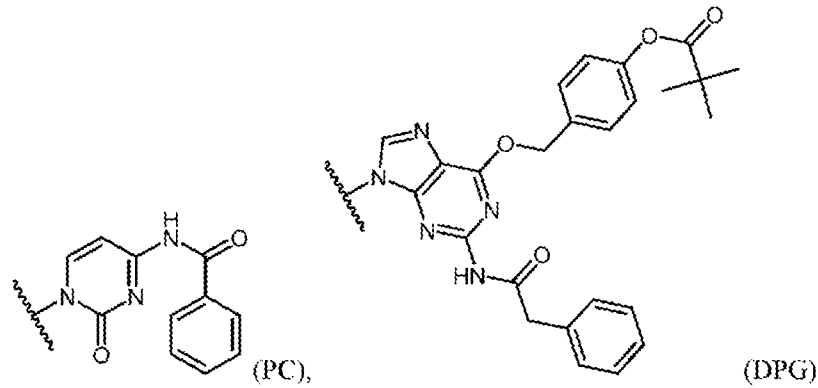
R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo,

R⁸ se selecciona de:

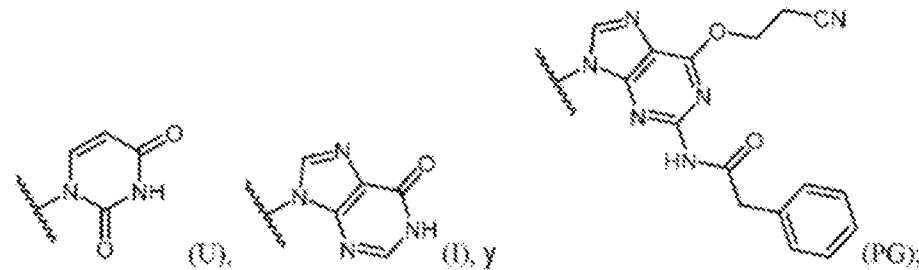
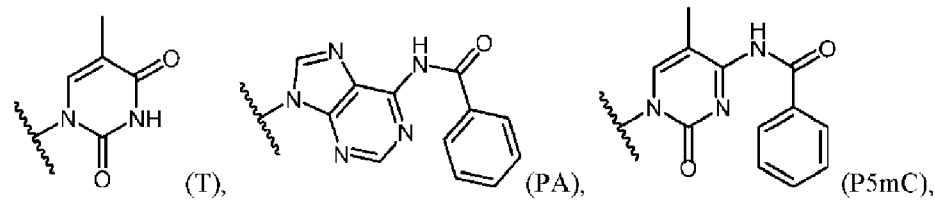


15

R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación, de:



20

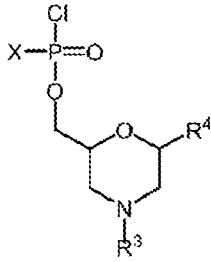


25

(e) realizar N-1 iteraciones de los pasos secuenciales de:

(e1) poner en contacto el producto formado por el paso inmediatamente anterior con un agente de desbloqueo; y

(e2) poner en contacto el compuesto formado por el paso inmediatamente anterior con un compuesto de Fórmula (B8):

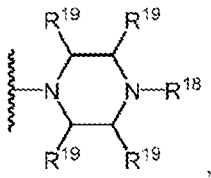


(B8);

5

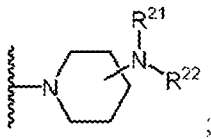
en donde:

X se selecciona de H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,



10

y



15

en donde

R¹⁷ es, independientemente para cada presentación, H o alquilo C₁₋₆;

20

R¹⁸ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, -C(=NH)NH₂,



25

y -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁰C(=NH)NH₂;

q es 1, 2, 3, 4, o 5;

R¹⁹ es, independientemente para cada presentación, H o metilo;

30

R²⁰ es H o alquilo C₁₋₆;

R²¹ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, C(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)_rNR²³C(=NH)NH₂,
 C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²³C(=NH)NH₂, y
 C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂;

35

R²² es H o alquilo C₁₋₆;

R²³ es H o alquilo C₁₋₆;

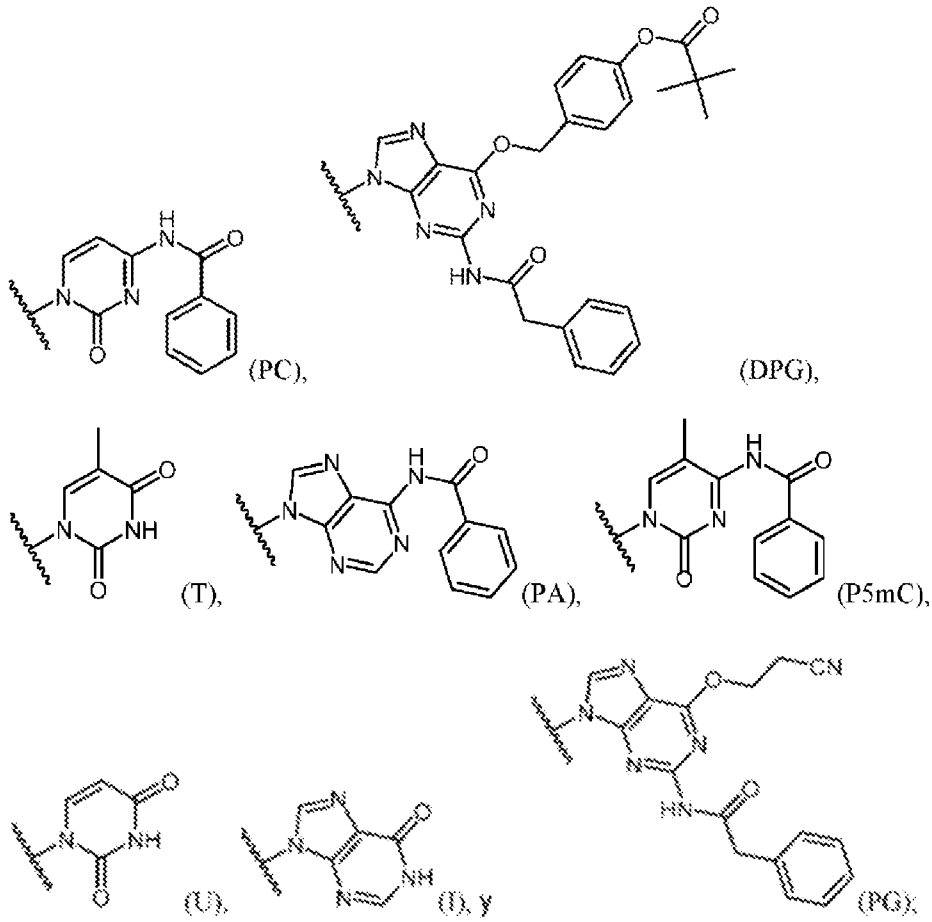
40

r es 1, 2, 3, 4, o 5;

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

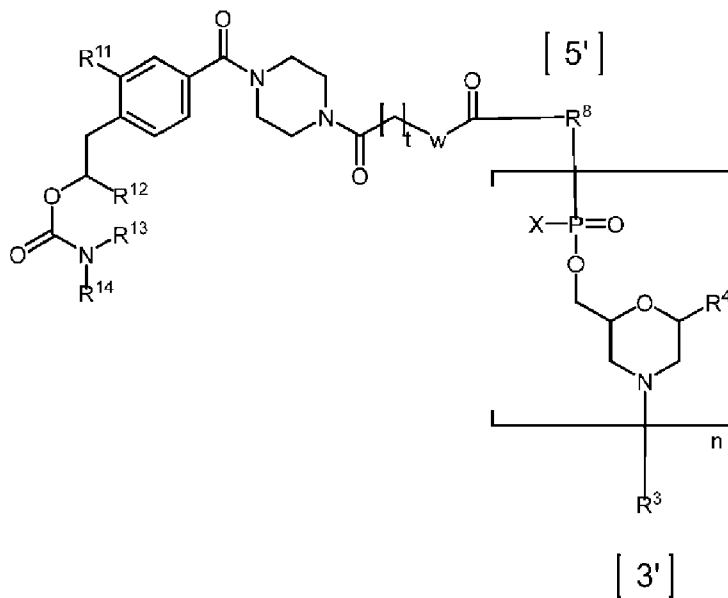
45

R⁴ se selecciona, independientemente para cada compuesto de Fórmula (A8), del grupo que consta de:



5

para formar un compuesto de Fórmula (B9):



(B9);

10

en donde:

w se selecciona de O o C;

15

t es 1, 2, 3, 4, o 5;

R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;

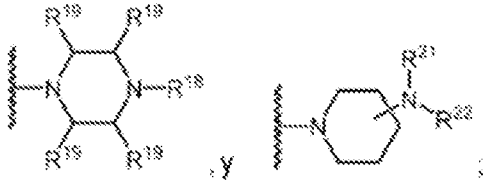
R¹² es alquilo C₁₋₆;

R¹³ es H o alquilo C₁₋₆;

R¹⁴ es un primer ligador unido a un medio de soporte;

n es un número entero de 10 a 40,

X se selecciona, independientemente en cada presentación, de H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,



en donde:

R¹⁷ es, independientemente para cada presentación, H o alquilo C₁₋₆;

R¹⁸ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, -C(=NH)NH₂,



y -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁰C(=NH)NH₂;

q es 1, 2, 3, 4, o 5;

R¹⁹ es, independientemente para cada presentación, H o metilo;

R²⁰ es H o alquilo C₁₋₆;

R²¹ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, C(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)_rNR²³C(=NH)NH₂,
C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²³C(=NH)NH₂, y
C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂;

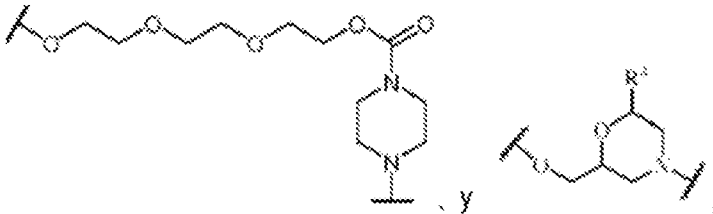
R²² es H o alquilo C₁₋₆;

R²³ es H o alquilo C₁₋₆; y

r es 1, 2, 3, 4, o 5;

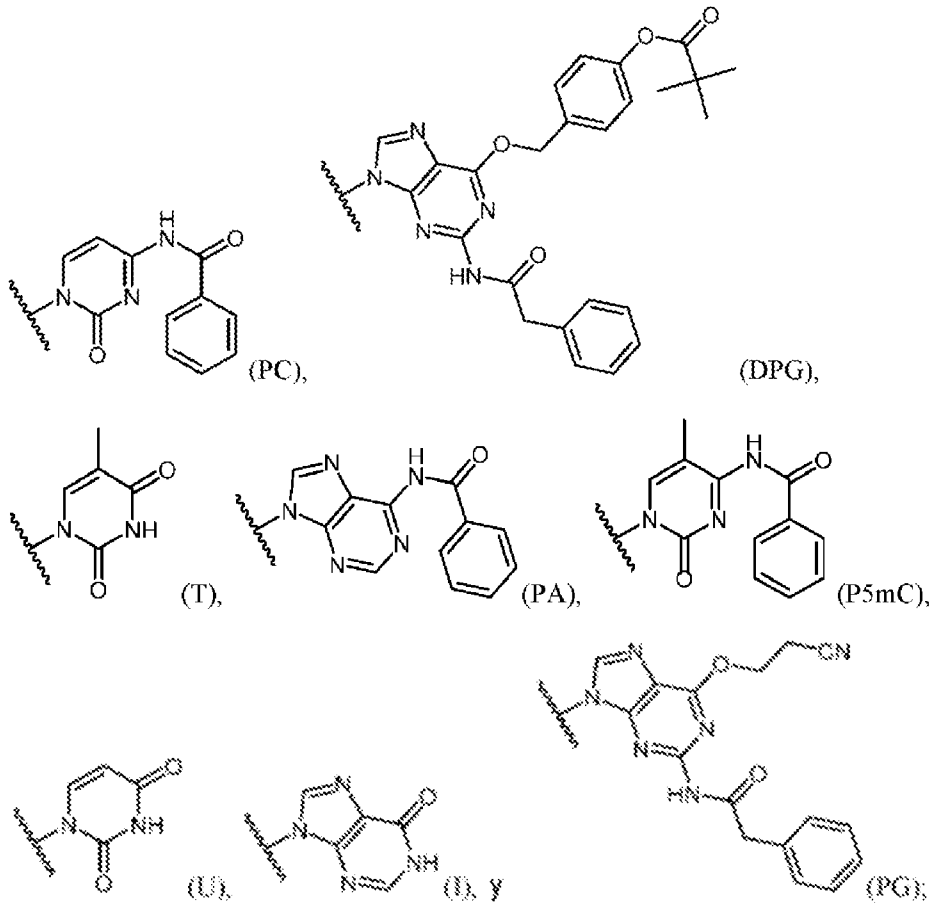
R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo,

R⁸ se selecciona de:



y

R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:

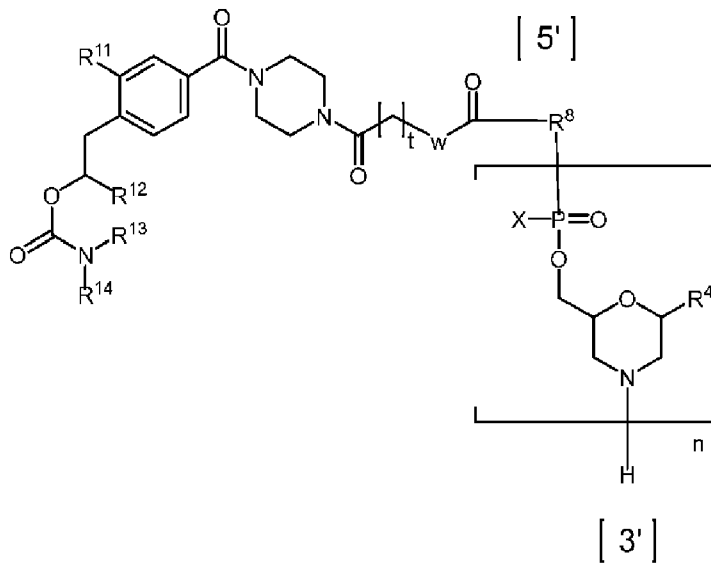


5

y

10

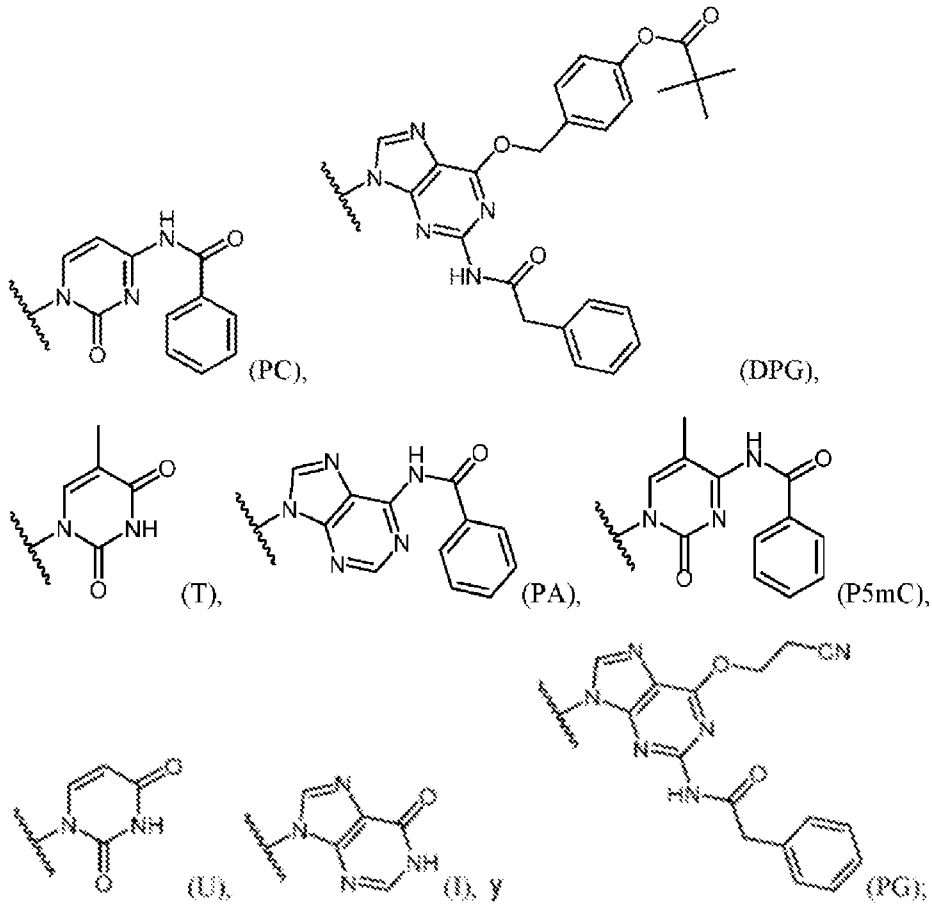
(f) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A9) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (B10):



en donde:

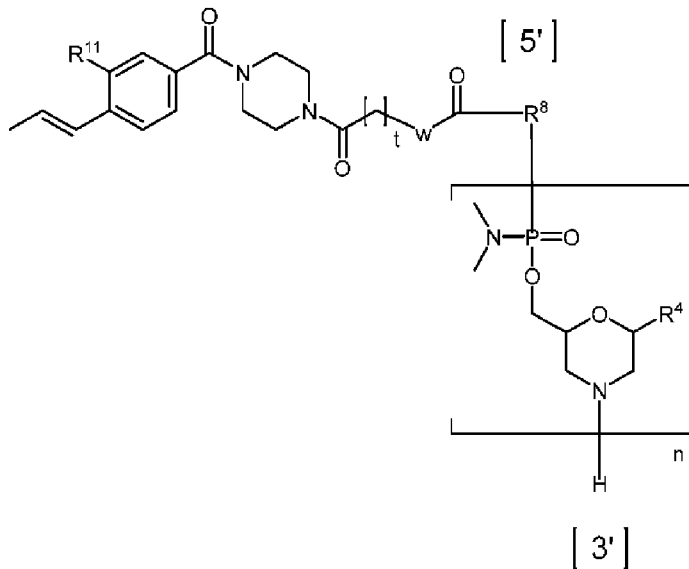
15

w se selecciona de O o C;



5

(g) poner en contacto el compuesto de Fórmula (B10) con un agente de escisión para formar un compuesto de Fórmula (B11):



(B11);

en donde:

w se selecciona de O o C;

t es 1, 2, 3, 4, o 5;

10

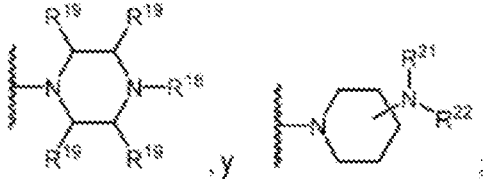
15

R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;

n es un número entero de 10 a 40,

5

X se selecciona, independientemente en cada presentación, de H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,



10

en donde:

R¹⁷ es, independientemente para cada presentación, H o alquilo C₁₋₆;

R¹⁸ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, -C(=NH)NH₂,

15



y -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁰C(=NH)NH₂;

20

q es 1, 2, 3, 4, o 5;

R¹⁹ es, independientemente para cada presentación, H o metilo;

25

R²⁰ es H o alquilo C₁₋₆;

R²¹ se selecciona del grupo que consta de H, alquilo C₁₋₆, C(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)_rNR²³C(=NH)NH₂,
C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²³C(=NH)NH₂, y
C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂;

30

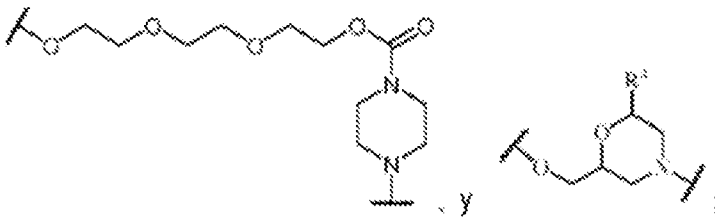
R²² es H o alquilo C₁₋₆;

R²³ es H o alquilo C₁₋₆; y

35

r es 1, 2, 3, 4, o 5;

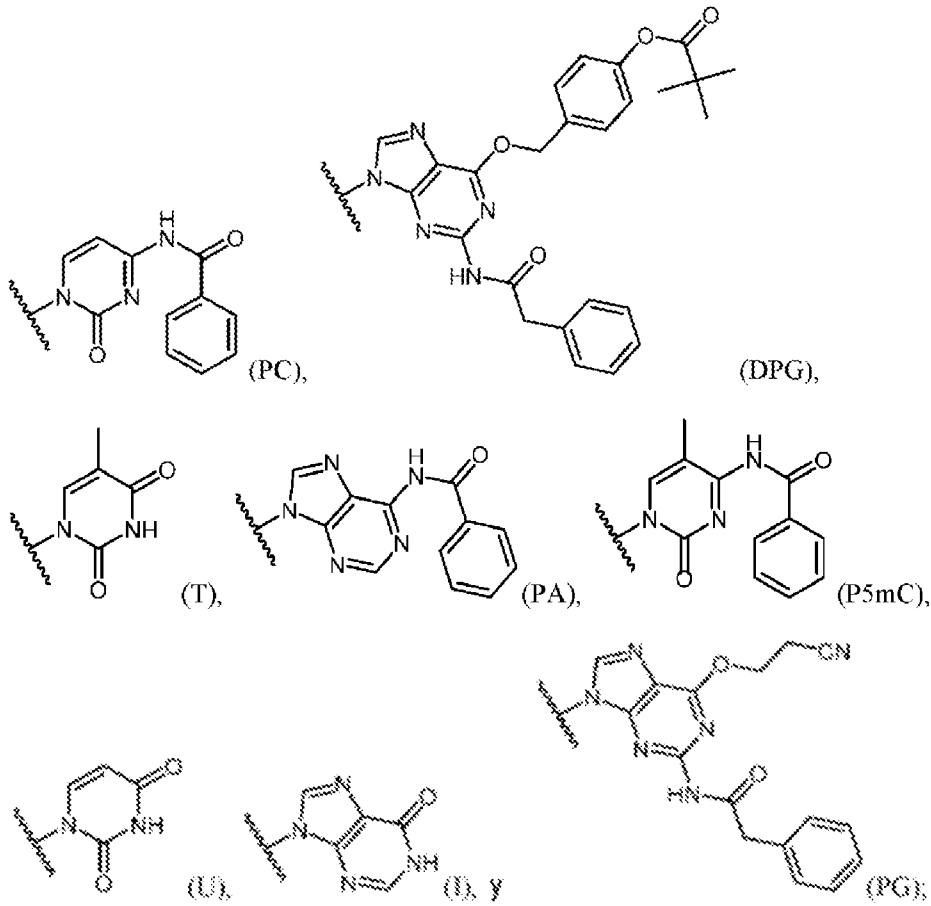
R⁸ se selecciona de:



40

y

R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



y

(j) poner en contacto el compuesto de Fórmula (B11) con un agente de desprotección para formar el compuesto oligomérico de Fórmula (B).

En algunas modalidades, el paso (d) o el paso (e2) comprende además poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV-B) o el compuesto formado por el paso inmediatamente anterior, respectivamente, con un agente de terminación de cadena.

En algunas modalidades, cada paso se realiza en la presencia de al menos un solvente.

En algunas modalidades, el agente de desbloqueo utilizado en cada paso es una solución que comprende un ácido halogenado. En algunas modalidades, el agente de desbloqueo utilizado en cada paso es ácido cianoacético. En algunas modalidades, el ácido halogenado se selecciona del grupo que consta de ácido cloroacético, ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, ácido fluoroacético, ácido difluoroacético, y ácido trifluoroacético. En algunas modalidades, el ácido halogenado es ácido trifluoroacético.

En algunas modalidades, al menos uno de los pasos (a), (c), (e1) y (f) comprende además el paso de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada paso con un agente de neutralización. En algunas modalidades, cada uno de los pasos (a), (c), (e1), y (f) comprende además el paso de poner en contacto el compuesto desbloqueado de cada paso con un agente de neutralización. En algunas modalidades, el agente de neutralización está en una solución que comprende diclorometano y alcohol isopropílico. En algunas modalidades, el agente de neutralización es un monoalquilo, dialquilo o trialquilamina. En algunas modalidades, el agente de neutralización es N,N-diisopropiltilamina.

En algunas modalidades, el agente de desbloqueo utilizado en cada paso es una solución que comprende 4-cianopiridina, diclorometano, ácido trifluoroacético, trifluoroetanol, y agua.

En algunas modalidades, el agente de terminación de cadena está en una solución que comprende etilmorfolina y metilpirrolidinona. En algunas modalidades, el agente de terminación de cadena es un anhídrido de ácido. En algunas modalidades, el anhídrido de ácido es anhídrido benzoico.

En algunas modalidades, los compuestos de Fórmula (B4) y Fórmula (B8) se encuentran cada uno, independientemente, en una solución que comprende etilmorfolina y dimetilimidazolidinona.

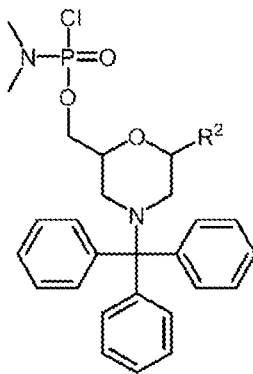
5 En algunas modalidades, el agente de escisión comprende ditiotreitól y 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno. En algunas modalidades, el agente de escisión está en una solución que comprende N-metil-2-pirrolidona.

En algunas modalidades, el agente de desprotección comprende NH_3 . En algunas modalidades, el agente de desprotección está en una solución acuosa.

10 En algunas modalidades, el medio de soporte comprende poliestireno con divinilbenceno reticulado al 1%.

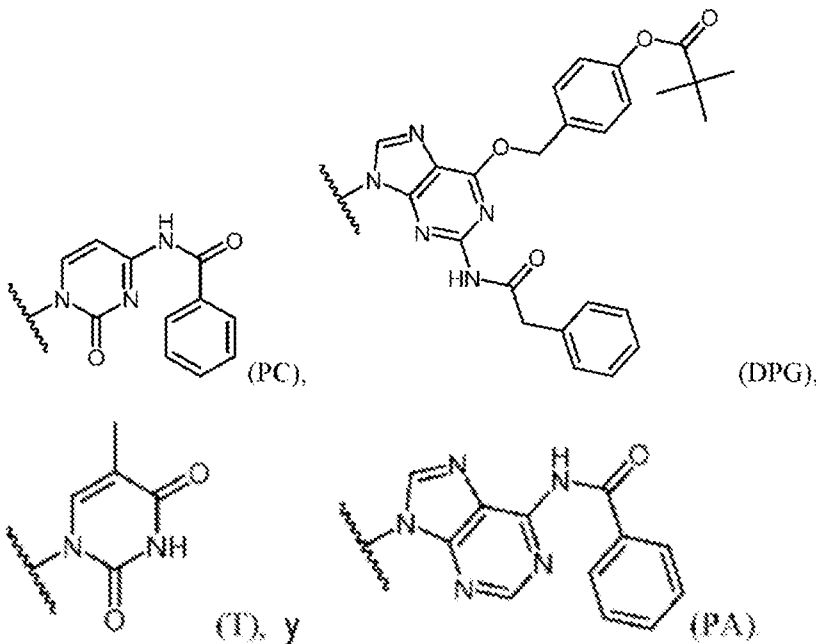
Los compuestos oligoméricos de la divulgación pueden tener centros asimétricos, ejes quirales, y planos quirales (como se describe, por ejemplo, en: E. L. Eliel y S. H. Wilen, Stereo-chemistry of Carbon Compounds, John Wiley & Sons, Nueva York, 1994, páginas 1119-1190, y March, J. , Advanced Organic Chemistry, 3d. Ed., Chap. 4, John Wiley & Sons, Nueva York (1985)), y se pueden presentar como racematos, mezclas racémicas, y como diastereómeros individuales, con todos los isómeros posibles y mezclas de los mismos, incluidos los isómeros ópticos. Los compuestos oligoméricos de la divulgación mencionados específicamente en la presente, sin ninguna indicación de su estereoquímica, se propone que representen todos los isómeros posibles y mezclas de los mismos.

20 Específicamente, sin desear limitarse a ninguna teoría particular, los compuestos oligoméricos de la divulgación se preparan, como se analiza en la presente, a partir de subunidades de morfolino activadas que incluyen estos ejemplos no limitantes, tal como un compuesto de Fórmula (VIII):



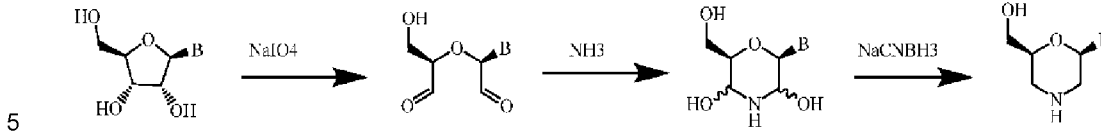
(VIII);

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



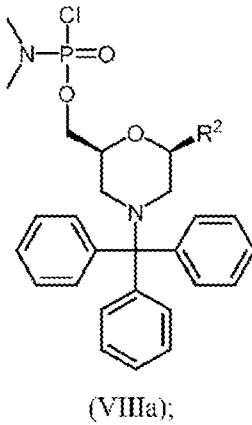
30

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

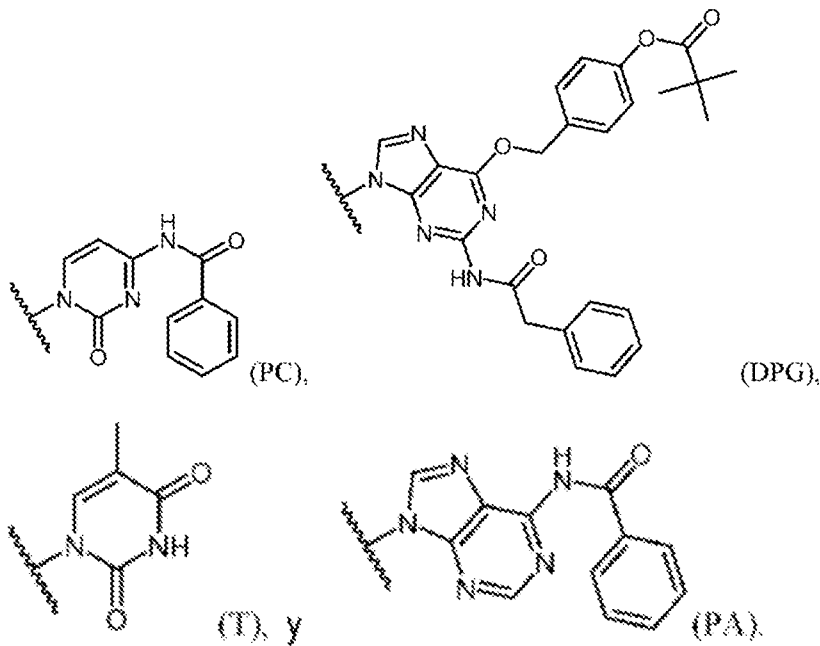


Ver Summerton et al., Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 1997, 7, 187-195. Sin limitarse a ninguna teoría particular, la estereoquímica de los dos carbonos quirales se retiene en las condiciones sintéticas tal que se puede producir una cantidad de posibles estereoisómeros de cada subunidad de morfolino con base en la selección de, por ejemplo, un material de partida de alfa-L-ribofuranosilo, alfa-D-ribofuranosilo, beta-L-ribofuranosilo, o beta-D-ribofuranosilo.

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



en donde R² se selecciona, independientemente para cada compuesto de Fórmula (VIIIa), del grupo que consta de:



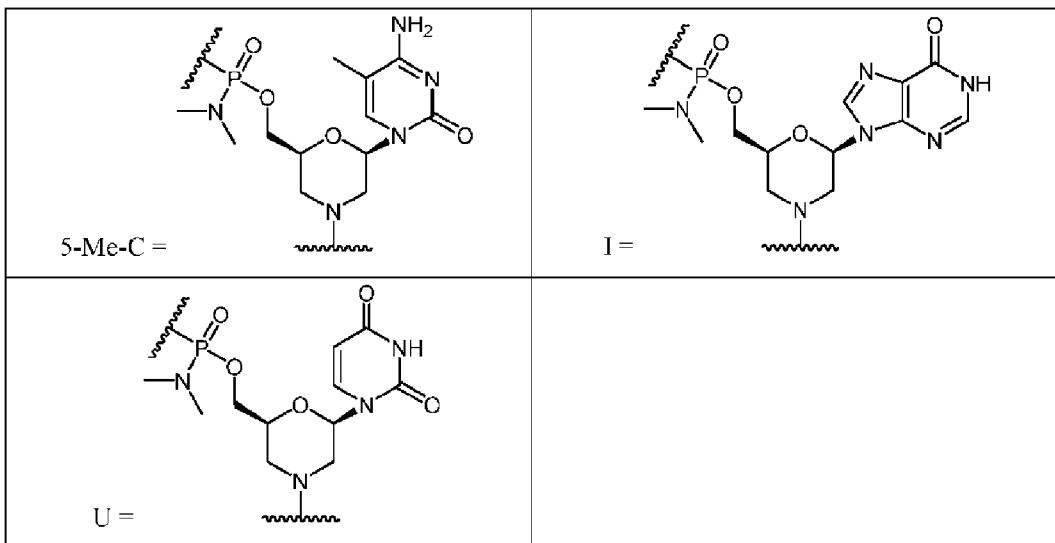
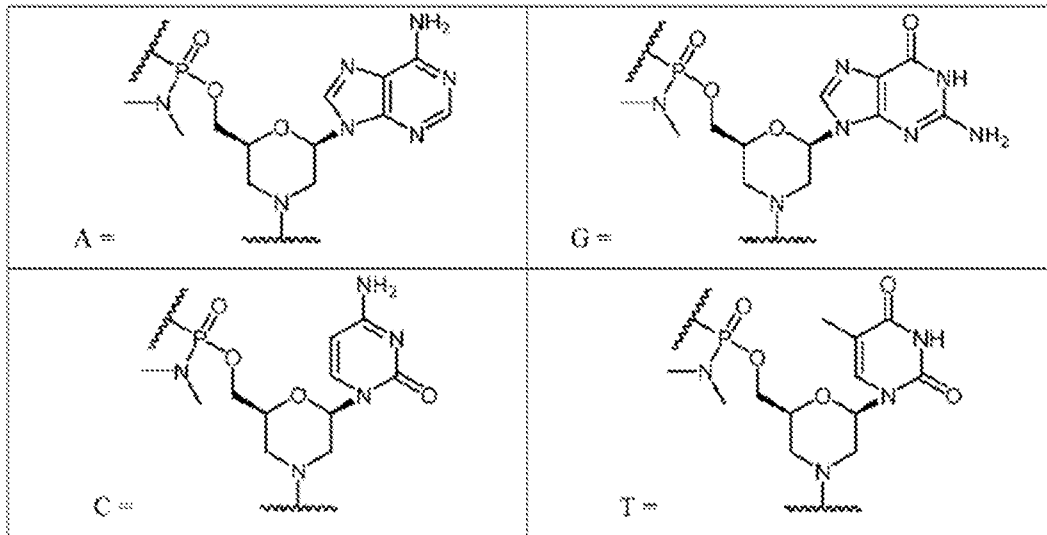
25 Sin limitarse a ninguna teoría particular, la incorporación de 10 a 40 compuestos de Fórmula (VIII), por ejemplo, en un compuesto oligomérico de la divulgación puede dar por resultado numerosos estereoisómeros posibles.

5 Sin desear limitarse a ninguna teoría particular, los compuestos oligoméricos de la divulgación comprenden uno o más enlaces intersubunitarios que contienen fósforo, que crean un centro quiral en cada fósforo, cada uno de los cuales se designa como ya sea una configuración "Sp" o "Rp" como se entiende en la técnica. Sin querer limitarse a ninguna teoría en particular, esta quiralidad crea estereoisómeros, que tienen una composición química idéntica pero una disposición tridimensional diferente de sus átomos.

10 Sin desear limitarse a ninguna teoría particular, la configuración de cada enlace de intersubunidad que contiene fósforo se produce aleatoriamente durante la síntesis de, por ejemplo, compuestos oligoméricos de la divulgación. Sin desear limitarse a ninguna teoría particular, el proceso de síntesis genera una cantidad exponencialmente grande de estereoisómeros de un compuesto oligomérico de la divulgación debido a que los compuestos oligoméricos de la divulgación se componen por numerosos enlaces de intersubunidad que contienen fósforo, con cada enlace de intersubunidad que contiene fósforo que tiene una configuración quiral aleatoria. Específicamente, sin desear limitarse a ninguna 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 divulgación es de hecho una mezcla altamente heterogénea de 2^N estereoisómeros, donde N representa el número de enlaces intersubunitarios que contienen fósforo.

20 La tabla 1 ilustra diversas modalidades de subunidades de morfolino proporcionadas en los procesos descritos en la presente.

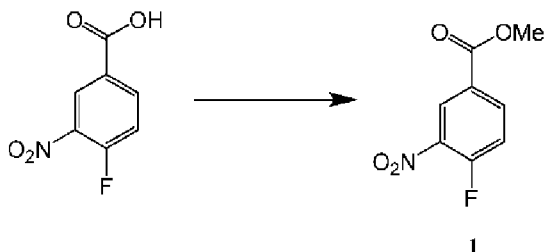
Tabla 1: Varias realizaciones de subunidades de morfolino.



5 A continuación, se exponen ejemplos con fines ilustrativos y para describir ciertas realizaciones específicas de la divulgación. Sin embargo, el alcance de las reivindicaciones no debe verse limitado de ninguna manera por los ejemplos establecidos en el presente documento. Las definiciones de las variables en las estructuras de los esquemas del presente documento son proporcionales a las de las posiciones correspondientes en las fórmulas presentadas en el presente documento.

Ejemplo 1: Síntesis de anclaje de NCP2

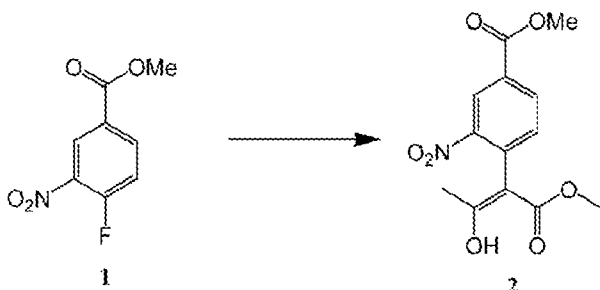
10 1. Preparación de 4-fluoro-3-nitrobenzoato de metilo (1)



15 En un matraz de 100 L se cargaron 12.7 kg de ácido 4-fluoro-3-nitrobenzoico, se adicionaron 40 kg de metanol y 2.82kg de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se agitó a reflujo (65°C) durante 36 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Los cristales se formaron a 38 °C. La mezcla se mantuvo a 0 °C durante 4 h y entonces se filtró bajo nitrógeno. El matraz de 100 L se lavó y la torta de filtro se lavó con 10 kg de metanol que se había enfriado a 0 °C. La torta de filtro sólida se secó en el embudo durante 1 hora, se transfirió a bandejas y se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente hasta un peso constante de 13.695 kg de 4-fluoro-3-nitrobenzoato de metilo (100% de rendimiento; HPLC 99%).

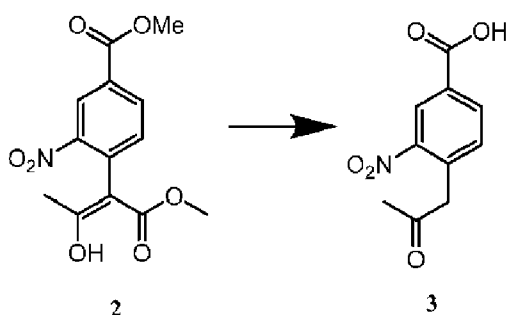
2. Preparación de ácido 3-nitro-4-(2-oxopropil)benzoico

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



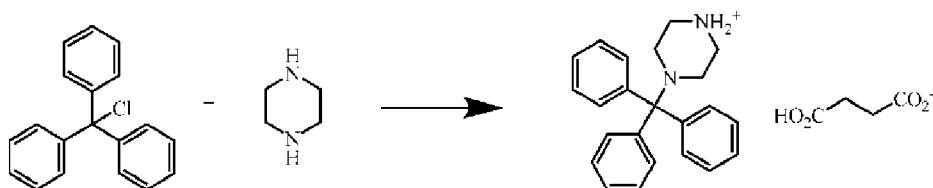
30 En un matraz de 100 L se cargaron 3.98kg de 4-fluoro-3-nitrobenzoato de metilo (1) del paso anterior 9.8 kg de DMF, 2.81kg de acetoacetato de metilo. La mezcla se agitó y se enfrió a 0 °C. A esto se le adicionaron 3.66kg de DBU durante aproximadamente 4 horas en tanto que la temperatura se mantenía a o por debajo de 5 °C. La mezcla se agitó durante 1 hora adicional. Al matraz de reacción se adicionó una solución de 8.15kg de ácido cítrico en 37.5 kg de agua purificada en tanto que la temperatura de reacción se mantenía a o por debajo de 15 °C. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y entonces se filtró bajo nitrógeno. La torta de filtro húmeda se retornó al matraz de 100 L junto con 14.8 kg de agua purificada. La suspensión espesa se agitó durante 10 minutos y entonces se filtró. La torta húmeda se retornó de nuevo al matraz de 100 L, se hizo suspensión espesa con 14.8 kg de agua purificada durante 10 minutos y se filtró a 4-(3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobut-2-en-2-il)-3-nitrobenzoato de (Z)-metilo bruto.

40 B. Ácido 3-nitro-4-(2-oxopropil)benzoico



El 4-(3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobut-2-en-2-il)-3-nitrobenzoato de (Z)-metilo bruto se cargó en un matraz de reacción de 100 L bajo nitrógeno. A esto se le adicionaron 14.2 kg de 1,4-dioxano y se agitó. A la mezcla se le añadió una solución de 16.655 kg de HCl concentrado y 13.33kg de agua purificada (HCl 6 M) durante 2 horas en tanto que la temperatura de la mezcla de reacción se mantuvo por debajo de 15 °C. Cuando se completó la adición, la mezcla de reacción se calentó a reflujo (80 °C) durante 24 horas, se enfrió a temperatura ambiente, y se filtró bajo nitrógeno. La torta de filtro sólida se trituró con 14.8 kg de agua purificada, se filtró, se trituró nuevamente con 14.8 kg de agua purificada, y se filtró. El sólido se devolvió al matraz de 100 L con 39.9 kg de DCM y se sometió a reflujo con agitación durante 1 hora. Se adicionaron 1.5 kg de agua purificada para disolver los sólidos restantes. La capa orgánica inferior se dividió en un matraz de 72 L precalentado, entonces se retornó a un matraz de 100 L limpio y seco. La solución se enfrió a 0 °C, se mantuvo durante 1 hora y entonces se filtró. La torta de filtro sólida se lavó dos veces cada una con una solución de 9.8 kg de DCM y 5 kg de heptano, entonces se secó en el embudo. El sólido se transfirió a bandejas y se secó hasta un peso constante de 1.855 kg de ácido 3-nitro-4-(2-oxopropil)benzoico. Rendimiento global del 42% a partir del compuesto 1. HPLC 99.45%.

3. Preparación de succinato de N-tritilpiperazina (NTP)

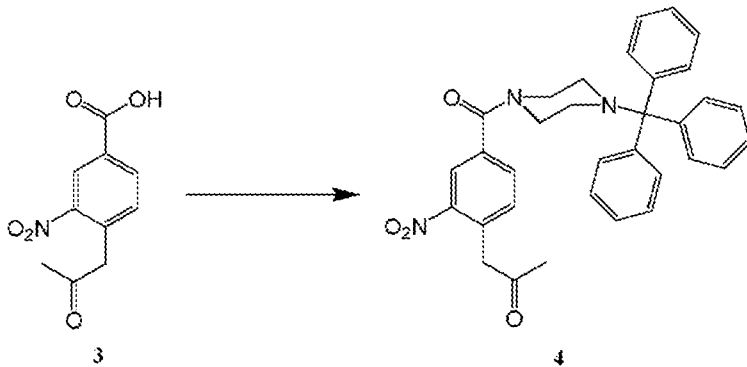


A un matraz con chaqueta de 72 L se cargó bajo nitrógeno 1.805 kg de cloruro de trifenilmetilo y 8.3 kg de tolueno (solución de TPC). La mezcla se agitó hasta que se disolvieron los sólidos. A un matraz de reacción con chaqueta de 100 L se adicionaron bajo nitrógeno 5.61kg de piperazina, 19.9 kg de tolueno, y 3.72kg de metanol. La mezcla se agitó y se enfrió a 0 °C. A esto se adicionó lentamente en porciones la solución de TPC durante 4 horas en tanto que la temperatura de reacción se mantenía a o por debajo de 10 °C. La mezcla se agitó durante 1.5 horas a 10 °C, entonces se dejó calentar a 14 °C. Se cargaron 32.6 kg de agua purificada en el matraz de 72L, entonces se transfirió al matraz de 100L en tanto que la temperatura interna del lote se mantenía a 20+/-5 °C. Las capas se dejaron dividir y la capa acuosa inferior se separó y almacenó. La capa orgánica se extrajo tres veces con 32 kg de agua purificada cada una, y las capas acuosas se separaron y combinaron con la solución acuosa almacenada.

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

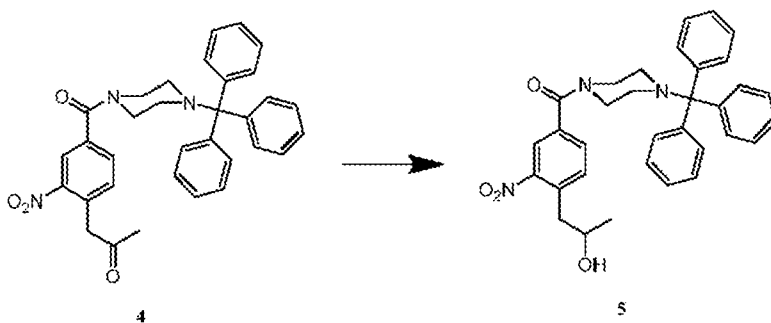
4. Preparación de (4-(2-hidroxiopropil)-3-nitrofenil)(4-tritilpiperazin-1-il)metanona

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



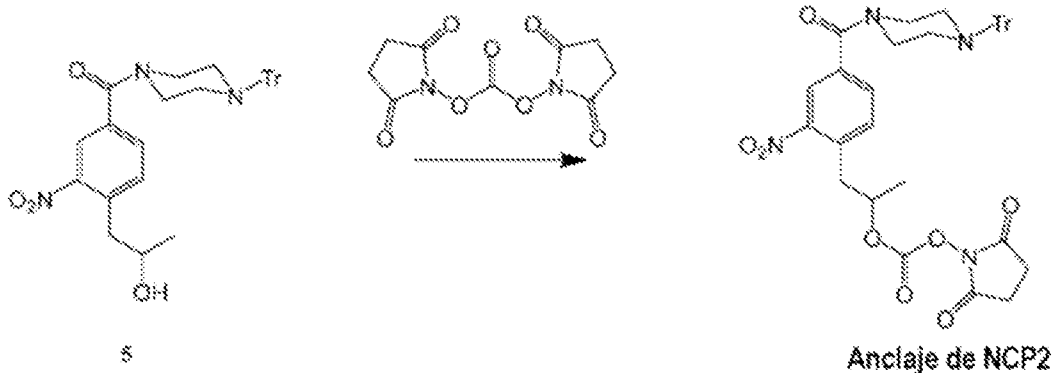
En un matraz con chaqueta de 100 L se cargaron bajo nitrógeno 2 kg de ácido 3-nitro-4-(2-oxopropil)benzoico (3), 18.3 kg de DCM, 1.845 kg de clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC.HCl). La solución se agitó hasta que se formó una mezcla homogénea. Se adicionaron 3.048 kg de NTP durante 30 minutos a temperatura ambiente y se agitó durante 8 horas. Se adicionaron 5.44kg de agua purificada a la mezcla de reacción y se agitó durante 30 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la capa orgánica inferior que contenía el producto se drenó y almacenó. La capa acuosa se extrajo dos veces con 5.65kg de DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución de 1.08kg de cloruro de sodio en 4.08kg de agua purificada. Las fases orgánicas se secaron sobre 1.068 kg de sulfato de sodio y se filtraron. El sulfato de sodio se lavó con 1.3 kg de DCM. Las capas orgánicas combinadas se suspendieron con 252 g de gel de sílice y se filtraron a través de un embudo de filtro que contenía un lecho de 252 g de gel de sílice. El lecho de gel de sílice se lavó con 2 kg de DCM. Las capas orgánicas combinadas se evaporaron en un evaporador rotativo. Se adicionaron 4.8 kg de THF al residuo y entonces se evaporó en el evaporador rotatorio hasta que se alcanzaron 2.5 volúmenes de 1-(2-nitro-4(4-trifilpiperazin-1-carbonil)fenil)propan-2-ona bruta en THF.

B. Preparación de (4-(2-hidroxiopropil)-3-nitrofenil)(4-trifilpiperazin-1-il)metanona (5)



En un matraz con chaqueta de 100 L se cargaron bajo nitrógeno 3600 g de **4** del paso anterior y 9800 g de THF. La solución agitada se enfrió a ≤ 5 °C. La solución se diluyó con 11525 g de etanol y se adicionaron 194 g de borohidruro de sodio durante aproximadamente 2 horas a ≤ 5 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas adicionales a ≤ 5 °C. La reacción se extinguió con una solución de aproximadamente 1.1 kg de cloruro de amonio en aproximadamente 3 kg de agua por adición lenta para mantener la temperatura a ≤ 10 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos adicionales, se filtró para remover los compuestos inorgánicos, y se recargó en un matraz con chaqueta de 100 L y se extrajo con 23 kg de DCM. La capa orgánica se separó y la acuosa se extrajo dos veces más con 4.7 kg de DCM cada una. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una solución de aproximadamente 800 g de cloruro de sodio en aproximadamente 3 kg de agua, entonces se secaron sobre 2.7 kg de sulfato de sodio. La suspensión se filtró y la torta de filtro se lavó con 2 kg de DCM. Los productos filtrados combinados se concentraron a 2.0 volúmenes, se diluyeron con aproximadamente 360 g de acetato de etilo, y se evaporaron. El producto bruto se cargó en una columna de gel de sílice de 4 kg de sílice envasada con DCM bajo nitrógeno y se eluyó con 2.3 kg de acetato de etilo en 7.2 kg de DCM. Las fracciones combinadas se evaporaron y el residuo se recolectó en 11.7 kg de tolueno. La solución de tolueno se filtró y la torta de filtro se lavó dos veces con 2 kg de tolueno cada una. La torta de filtro se secó hasta un peso constante de 2.275 kg del compuesto **5** (46% de rendimiento a partir del compuesto **3**) HPLC 96.99%.

5. Preparación de (1-(2-nitro-4-(4-trifenilmetilpiperazina-1-carbonil)fenil)propan-2-il)carbonato de 2,5-dioxopirrolidin-1-ilo (anclaje de NCP2)



En un matraz con chaqueta de 100 L se cargaron 4.3 kg de nitrógeno del compuesto 5 (peso ajustado con base en el tolueno residual por H¹ NMR; todos los reactivos posteriores se aumentaron en escala en consecuencia) y 12.7 kg de piridina. A esto se le cargaron 3.160 kg de DSC (78.91% en peso por H¹ NMR) en tanto que la temperatura interna se mantenía a ≤35° C. La mezcla de reacción se envejeció durante aproximadamente 22 horas a temperatura ambiente y entonces se filtró. La torta de filtro se lavó con 200 g de piridina. En dos lotes, cada uno de los cuales comprende ½ del volumen de producto filtrado, el lavado de producto filtrado se cargó lentamente en un matraz con chaqueta de 100 L que contenía una solución de aproximadamente 11 kg de ácido cítrico en aproximadamente 50 kg de agua y se agitó durante 30 minutos para permitir la precipitación sólida. El sólido se recolectó con un embudo de filtro, se lavó dos veces con 4.3 kg de agua por lavado y se secó en el embudo de filtro bajo vacío.

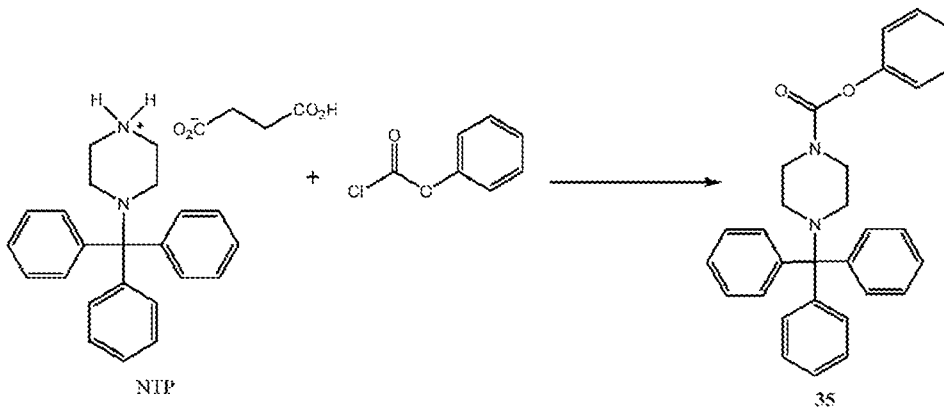
Los sólidos combinados se cargaron en un matraz con chaqueta de 100 L y se disolvieron en 28 kg de DCM y se lavaron con una solución de 900 g de carbonato de potasio en 4.3 kg de agua. Después de 1 hora, se dejó que las capas se separaran y se removió la capa acuosa. La capa orgánica se lavó con 10 kg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

Ejemplo 2: Síntesis de resina cargada de anclaje

En un reactor de síntesis de fase sólida de 75 L con un grifo de cierre de teflón se cargaron aproximadamente 52 L de NMP y 2300 g de resina de aminometil poliestireno. La resina se agitó en el NMP para que se hinchara durante aproximadamente 2 horas y entonces se drenó. La resina se lavó dos veces con aproximadamente 4 L de DCM por lavado, entonces dos veces con 39 L de solución de neutralización por lavado, entonces dos veces con 39 L de DCM por lavado. La solución de anclaje de NCP2 se adicionó lentamente a la solución de resina en agitación, se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente y se drenó. La resina se lavó cuatro veces con 39 L de NMP por lavado, y seis veces con 39 L de DCM por lavado. La resina se trató y se agitó con ½ de la solución de terminación de cadena de DEDC durante 30 minutos, se drenó, y se trató y se agitó con el 2º ½ de la solución de terminación de cadena de DEDC durante 30 minutos y se drenó. La resina se lavó seis veces con 39L de DCM por lavado, entonces se secó en un horno hasta un peso constante de 3573.71 g de resina cargada de anclaje.

Ejemplo 3: Preparación de la cola de EG3 activada (ver figura 2)

1. Preparación de carbamato de tritil piperazina fenilo 35

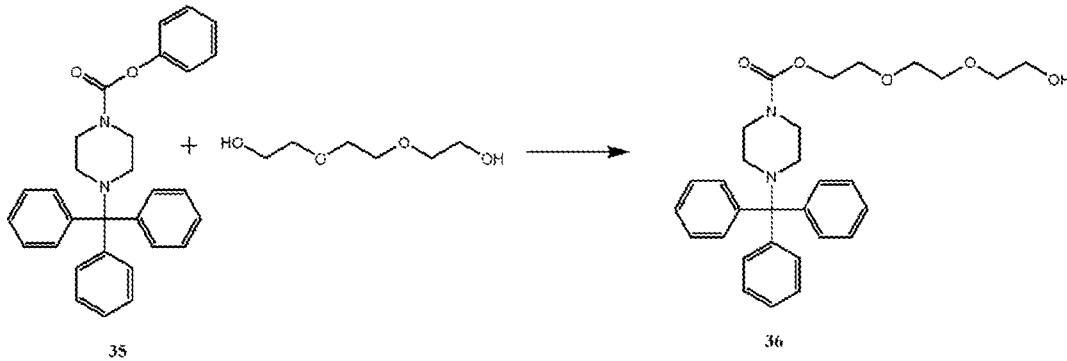


A una suspensión enfriada de NTP en diclorometano (6 mL/g de NTP) se le adicionó una solución de carbonato de potasio (3.2 eq) en agua (4 mL/g de carbonato de potasio). A esta mezcla de dos fases se le adicionó lentamente

una solución de cloroformiato de fenilo (1.03 eq) en diclorometano (2 g/g de cloroformiato de fenilo). La mezcla de reacción se calentó a 20 °C. Al finalizar la reacción (1-2 h), las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con agua y se secó sobre carbonato de potasio anhidro. El producto 35 se aisló por cristalización a partir de acetonitrilo. Rendimiento=80%.

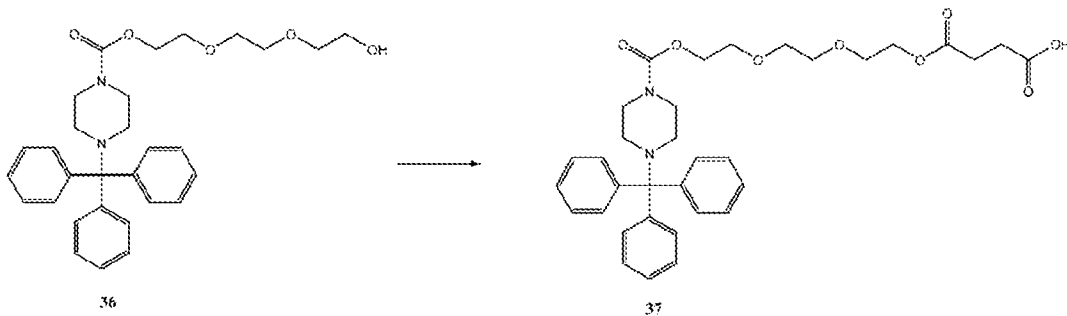
5

2. Preparación de alcohol de carbamato 36



10 Se suspendió hidruro de sodio (1.2 eq) en 1-metil-2-pirrolidinona (32 mL/g de hidruro de sodio). A esta suspensión se adicionaron trietilenglicol (10.0 eq) y compuesto 35 (1.0 eq). La suspensión resultante se calentó a 95 °C. Después de la compleción de reacción (1-2 h), la mezcla se enfrió a 20 °C. A esta mezcla se le adicionó diclorometano al 30%/éter metil-terbutílico (v:v) y agua. La capa orgánica que contenía el producto se lavó sucesivamente con NaOH acuoso, ácido succínico acuoso, y cloruro de sodio acuoso saturado. El producto 36 se
15 aisló por cristalización a partir de diclorometano/éter metil-terbutílico/heptano. Rendimiento=90%.

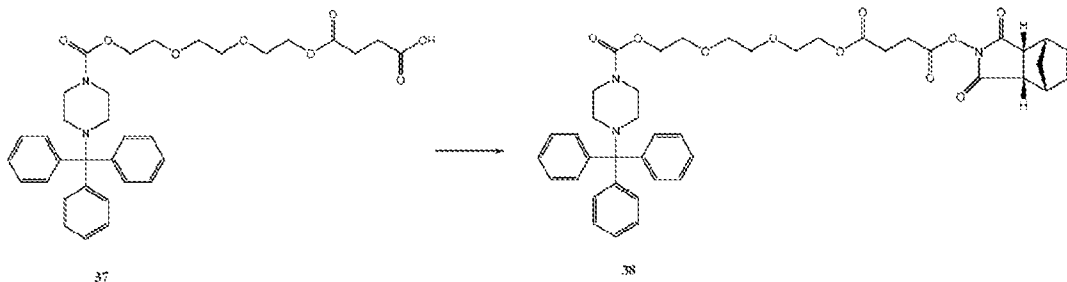
3. Preparación del ácido de cola de EG3 37



20

A una solución del compuesto 36 en tetrahidrofurano (7 mL/g 36) se le adicionó anhídrido succínico (2.0 eq) y DMAP (0.5 eq). La mezcla se calentó a 50 °C. Después de la compleción de reacción (5 h), la mezcla se enfrió a 20 °C y se ajustó a pH 8.5 con NaHCO₃ acuoso. Se adicionó éter metil-terbutílico, y el producto se extrajo en la
25 capa acuosa. Se adicionó diclorometano, y la mezcla se ajustó a pH 3 con ácido cítrico acuoso. La capa orgánica que contenía el producto se lavó con una mezcla de agente amortiguador de citrato pH=3 y cloruro de sodio acuoso saturado. Esta solución de diclorometano de 37 se utilizó sin aislamiento en la preparación del compuesto 38.

4. Preparación de la cola de EG3 activada 38



30

A la solución del compuesto 37 se le adicionó imida de ácido N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboxílico (HONB) (1.02 eq), 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0.34 eq) y entonces clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDC) (1.1 eq). La mezcla se calentó a 55 °C. Después de la compleción de reacción (4-5 h), la

mezcla se enfrió a 20 °C y se lavó sucesivamente con 1: 1 ácido cítrico/salmuera 0.2 M y salmuera. La solución de diclorometano se sometió a intercambio de solvente a acetona y entonces a N,N-dimetilformamida, y el producto se aisló por precipitación de acetona/N,N-dimetilformamida en cloruro de sodio acuoso saturado. El producto bruto se volvió a hacer suspensión espesa varias veces en agua para remover la N,N-dimetilformamida residual y las sales. Rendimiento=70% de cola de EG3 activada 38 del compuesto 36.

Ejemplo 4: 50L de Síntesis en fase sólida de

Sustancia de fármaco bruta de Eteplirsen [Compuesto oligomérico (XII)]

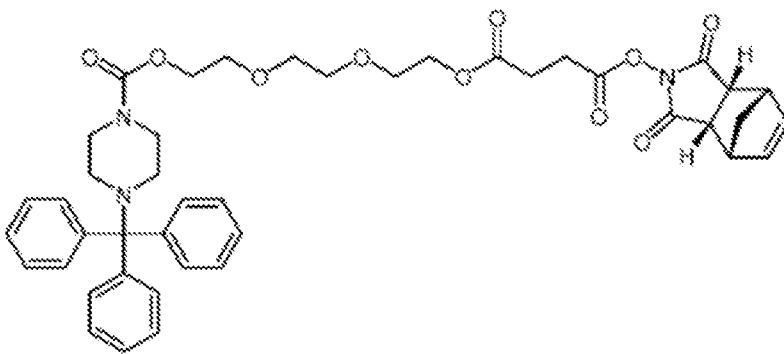
1. Materiales

Tabla 2: Material de partida

Nombre de Material	Nombre químico	Número de CAS	Fórmula química	MW
Subunidad A activada	Ácido fosforamidoclorídico, éster <i>N,N</i> -dimetil-, [6-[6-(benzoilamino)-9H-purin-9-il]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metílico	1155373-30-0	C ₃₈ H ₃₇ ClN ₇ O ₄ P	722.2
Subunidad C activada	Ácido fosforamidoclorídico, éster <i>N,N</i> -dimetil-, [6-[4-(benzoilamino)-2-oxo-1(2H)-pirimidinil]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metílico	1155373-31-1	C ₃₇ H ₃₇ ClN ₅ O ₅ P	698.2
Subunidad DPG activada	Ácido propanoico, 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	1155309-89-9	C ₅₁ H ₅₃ ClN ₇ O ₇ P	942.2
Subunidad T activada	Ácido fosforamidoclorídico, éster <i>N,N</i> -dimetil-[6-(3,4-dihidro-5-metil-2,4-dioxo-1(2H)-pirimidinil)-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metílico	1155373-34-4	C ₃₁ H ₃₄ ClN ₄ O ₅ P	609.1
Cola de EG3 activada	Ácido butanodioico, 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]éster	1380600-06-5	C ₄₃ H ₄₇ N ₃ O ₁₀	765.9

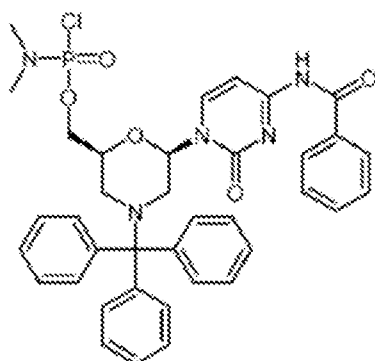
Estructuras químicas de los materiales de partida:

A. Cola de EG3 activada



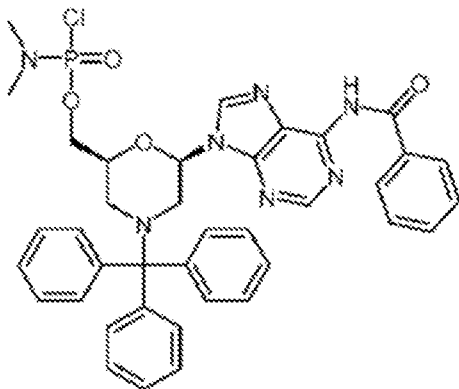
Compuesto (B)

B. Subunidad C activada (para la preparación, ver la Patente de los Estados Unidos de América núm. 8,067,571)



Compuesto (C1)

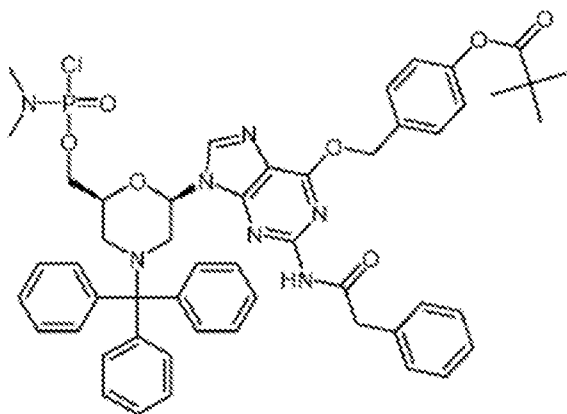
C. Subunidad A activada (para la preparación, ver la Patente de los Estados Unidos de América núm. 8,067,571)



Compuesto (D1)

5

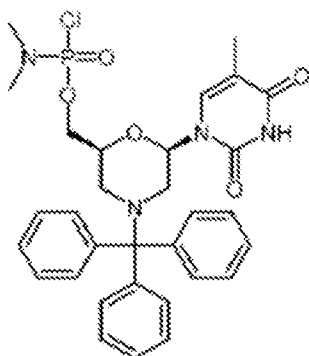
D. Subunidad DPG activada (para la preparación, ver WO 2009/064471)



Compuesto (E1)

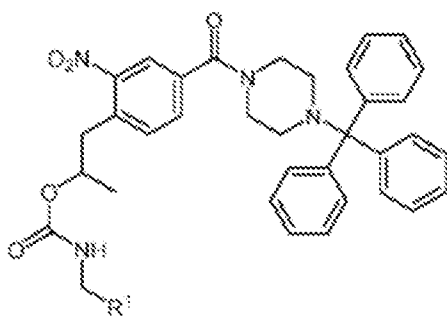
10

E. Subunidad T activada (para la preparación, ver WO 2013/082551)



Compuesto (F1)

F. Resina cargada de anclaje



Fórmula (I)

5

en donde

R¹ es un medio de soporte.

10

Tabla 3: Descripción de soluciones para la síntesis de oligómeros en fase sólida de la sustancia de fármaco bruta de Eteplirsén

Nombre de solución	Composición de solución
Solución de anclaje de NCP2	37.5L de NMP y 1292g de Anclaje de NCP2
Solución de terminación de cadena de DEDC	4.16L de dicarbonato de dietilo (DEDIC), 3.64L de NEM y 33.8L de DCM
Solución de 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	de 35.3 L de IPA, 7.5 L de DIPEA, y 106.5 L de DCM
Solución de escisión	1,530.04 g de TDT, 6.96 L de NMP, y 2.98 L de DBU

15 2. Síntesis de la sustancia de fármaco bruta de Eteplirsén

A. Hinchazón de resina

20 Se cargaron 750 g de resina cargada de anclaje y 10.5 L de NMP en un reactor silanizado de 50 L y se agitó durante 3 horas. El NMP se drenó y la resina cargada de anclaje se lavó dos veces con 5.5L de cada uno de DCM y dos veces con 5.5 L de cada uno de TFE/DCM al 30%.

B. Ciclo 0: Acoplamiento de cola de EG3

25 La resina cargada de anclaje se lavó tres veces con 5.5 L de TFE/DCM al 30% cada una y se drenó, se lavó con 5.5 L de solución de CYTFA durante 15 minutos y se drenó, y de nuevo se lavó con 5.5 L de solución de CYTFA durante 15 minutos sin drenar a la que se cargaron 122 mL de NEM/DCM 1:1 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, entonces dos veces con 5.5 L de cada uno de DCM y se drenó. Una solución de 706.2 g de cola de EG3 activada (PM 765.85) y 234 mL de NEM en 3 L de DMI se cargó a la resina y se agitó durante 3 horas a TA y se drenó. La resina se lavó dos veces con 5.5 L de Solución de Neutralización durante 5 minutos por cada lavado, y una vez con 5.5 L de DCM y se drenó. Se cargó una solución de 374.8 g de anhídrido benzoico y 195 mL de NEM en 2680 mL de NMP y se agitó durante 15 minutos y se drenó. La resina se agitó con 5.5 L de solución de neutralización durante 5 minutos, entonces se lavó una vez con 5.5 L de DCM y dos veces con 5.5 L de TFE/DCM al 30% cada una. La resina se suspendió en 5.5 L de TFE/DCM al 30% y se mantuvo durante 14 horas.

C. Ciclos de acoplamiento de subunidad 1-30

i. Tratamientos de preacoplamiento

Antes de cada ciclo de acoplamiento como se describe en la tabla 4, la resina fue: 1) lavada con TFE/DCM al 30%; 2) a) tratada con solución de CYTFA 15 minutos y drenada, y b) tratada con solución de CYTFA durante 15 minutos a los que se adicionó 1: 1 NEM/DCM, agitada, y drenada; 3) agitada tres veces con solución de neutralización; y 4) lavada dos veces con DCM. Ver tabla 4.

ii. Tratamientos posteriores al acoplamiento

Después de drenar cada solución de subunidad como se describe en la tabla 4, la resina fue: 1) lavada con DCM; y 2) lavada dos veces con TFE/DCM al 30%. Si la resina se mantuvo durante un período de tiempo anterior al siguiente ciclo de acoplamiento, el segundo lavado de TFE/DCM no se drenó y la resina se retuvo en esta solución de lavado de TFE/DCM. Ver tabla 4.

iii. Ciclos de acoplamiento de subunidad activada

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

iv. Lavado de IPA final

Después de realizar el paso de acoplamiento final como se describe en la tabla 4, la resina se lavó 8 veces con 19.5 L de cada uno de IPA, y se secó bajo vacío a temperatura ambiente durante aproximadamente 63.5 horas hasta un peso seco de 5,579.8 g.

D. Escisión

La sustancia de fármaco bruta de Eteplirsén unida a resina anterior se dividió en dos lotes, cada lote se trató de la siguiente manera. Un lote de 2,789.9 g de resina fue: 1) agitado con 10 L de NMP durante 2 horas, entonces se drenó el NMP; 2) lavado tres veces con 10 L de TFE/DCM al 30% cada vez; 3) tratado con 10 L de solución de CYTFA durante 15 minutos; y 4) 10 L de solución de CYTFA durante 15 minutos a los que entonces se adicionaron 130 ml de NEM/DCM 1:1 y se agitó durante 2 minutos y se drenó. La resina se trató tres veces con 10 L de cada Solución de Neutralización, se lavó seis veces con 10 L de DCM y ocho veces con 10 L de cada uno de NMP. La resina se trató con una solución de escisión de 1530.4 g de DTT y 2980 DBU en 6.96L de NMP durante 2 horas para separar la sustancia de fármaco bruta de 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 4.97L de NMP que se combinó con la solución de escisión.

Tabla 4

Núm. de ciclo: Subunidad (SU)	Tratamiento de preacoplamiento				Ciclo de acoplamiento		Tratamiento posterior al acoplamiento	
	1	2	3	4	Cantidad SU (g)	Tiempo de acoplamiento a TA (horas)	1	2
EC	30 % Lavado de TFE/DCM	Solución de CYTFA	Solución de neutralización	Lavado de DCM	NEM (L) DMI (L)	5	Lavado de DCM	Lavado de TFE/DCM al 30%
	5,5L	a) 5,5L b) 5,5L, 122ml	3x5,5L	5,5L	536,7g; 195 ml de NEM; 3,2L de DMI		5,5L	2x5,5L
2:T	7,0L	a) 7L b) 7L, 158ml	3x7L	2x7L	468,2g y 195ml	4,25	7L	2x7L ^{1 2}

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

² Resina mantenida en este paso durante ½ día

ES 2 993 738 T3

					NEM 3,2L de DMI			
3:C	8L	a) 8L b) 8L, 182ml	3x8L	2x8L	536,7g; 195 ml de NEM; 3,4L de DMI	4,25	8L	2x8L
4:C	9L	a) 9L b) 9L, 206ml	3x9L	2x9L	536,7g; 195 ml de NEM; 3,6L de DMI	4,25	9L	2x9L ³
5:A	9,5L	a) 9,5L b) 9,5L, 220ml	3x9,5L	2x9,5 L	555,2g; 195 ml de NEM; 3,4L de DMI	4,25	9,5L	2x9,5L
6:A	10L	a) 10L b) 10L, 232ml	3x10L	2x10 L	555,2g; 195 ml de NEM; 3,45L DMI	4,25	10L	2x10 L ⁴

³ Resina mantenida en este paso durante ½ día

⁴ Resina mantenida en esta etapa durante 0,4 días

Tabla 4 Continuación

Núm. de ciclo: Subunidad (SU)	Tratamiento de preacoplamiento				Ciclo de acoplamiento		Tratamiento posterior al acoplamiento	
	1	2	3	4	Cantidad SU (g)	Tiempo de acoplamiento a TA (horas)	1	2
	30 % Lavado de TFE/DCM	Solución de CYTFA	Solución de neutralización	Lavado de DCM	NEM (L) DMI (L)		Lavado de DCM	Lavado de TFE/DCM al 30%
7:C	11L	a) 11L b) 11L, 256ml	3x11 L	2x11 L	536,7g; 195 ml de NEM; 3,57L DE DMI	4,25	11L	2x11 L
8:A	11L	a) 11L b) 11L, 256ml	3x11 L	2x11 L	555,2g; 195 ml de NEM; 3,64L DE DMI	4,25	11L	2x11 L ⁵
9:T	11,5L	a) 11,5L b) 11,5L 268ml	3x11,5L	2x11,5L	468,2g; 195 ml de NEM; 3,72L de DMI	4,25	11,5 L	2x11,5L
10:C	12L	a) 12L b) 12L, 280ml	3x12L	2x12 L	536,7g; 195 ml de NEM; 3,96L de DMI	4,25	12L	2x12L ⁶
11:A	13,5L	a) 13,5L b) 13,5L, 204ml	3x13,5L	2x13,5L	721,7g; 253 ml de NEM; 4,02L de DMI	4,25	13,5 L	2x13,5L
12:A	13,5L	a) 13,5L b) 13,5L, 204ml	3x13,5L	2x13,5L	721,7g; 253 ml de NEM; 4,02L de DMI	4,25	13,5 L	2x13,5L ⁷

⁵ Resina mantenida en esta etapa durante 2,5 días

⁶ Resina mantenida en esta etapa durante ½ día

⁷ Resina mantenida en esta etapa durante 0,4 días

Tabla 4 Continuación

Núm. de ciclo: Subunidad (SU)	Tratamiento de preacoplamiento				Ciclo de acoplamiento		Tratamiento posterior al acoplamiento	
	1	2	3	4	Cantidad SU (g)	Tiempo de acoplamiento a TA (horas)	1	2
	30 % Lavado de TFE/DCM	Solución de CYTFA	Solución de neutralización	Lavado de DCM	NEM (L) DMI (L)		Lavado de DCM	Lavado de TFE/DCM al 30%
13:DPG	14L	a) 14L b) 14L, 216ml	3x14L	2x14 L	941,9g; 253 ml de NEM; 4,02L de DMI	4,25	14L	2x14L
14:DPG	14,5L	a) 14,5L b) 14,5L, 228ml	3x14,5L	2x14,5L	941,9g; 253 ml de NEM; 4,1L de DMI	4,25	14,5 L	2x14,5L ⁸
15:A	15,5L	a) 15,5L b) 15,5L, 254ml	3x15,5L	2x15,5L	721,7g; 253 ml de NEM; 4,26L de DMI	4,25	15,5 L	2x15,5L
16:A	15,5L	a) 15,5L b) 15,5L, 254ml	3x15,5L	2x15,5L	721,7g; 253 ml de NEM; 4,26L de DMI	4,25	15,5 L	2x15,5L ⁹
17:DPG	16L	a) 16L b) 16L, 366ml	3x16L	2x16 L	941,9g; 253 ml de NEM; 4,4L de DMI	4,75	16L	2x16L
18:A	16,5L	a) 16,5L b) 16,5L, 378ml	3x16,5L	2x16,5L	721,7g; 253 ml de NEM; 4,4L de DMI	4,25	16,5 L	2x16,5L ¹⁰

⁸ Resina mantenida en esta etapa durante 0,4 días

⁹ Resina mantenida en esta etapa durante 0,4 días

¹⁰ Resina mantenida en esta etapa durante 1,5 días

Tabla 4 Continuación

Núm. de ciclo: Subunidad (SU)	Tratamiento de preacoplamiento				Ciclo de acoplamiento		Tratamiento posterior al acoplamiento	
	1	2	3	4			1	2
	30 % Lavado de TFE/DCM	Solución de CYTFA	Solución de neutralización	Lavado de DCM	Cantidad SU (g) NEM (L) DMI (L)	Tiempo de acoplamiento a TA (horas)	Lavado de DCM	Lavado de TFE/DCM al 30%
19:T	16,5L	a) 16,5L b) 16,5L, 378ml	3x16,5L	2x16,5L	608,7g; 253 ml de NEM; 4,57L de DMI	4,25	16,5L	2x16,5 L
20:DPG	17L	a) 17L b) 17L, 390ml	3x17L	2x17L	941,9g; 253 ml de NEM; 4,57L de DMI	4,75	17L	2x17L
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	2x17,5L	858,7g; 311 ml de NEM; 4,72L de DMI	4,75	17,5L	2x17,5 L ¹¹ _{12 13}
23: A	17,5L	a) 17,5L b) 17,5L, 402ml	3x17,5L	2x17,5L	888,3g; 311 ml de NEM; 4,88L de DMI	4,25	17,5L	2x17,5 L
24:T	18L	a) 18L b) 18L, 414ml	3x18L	2x18L	749,1g; 311 ml de NEM; 4,95L de DMI	4,25	18L	2x18L 13

¹¹ Resina mantenida en esta etapa durante 0,3 días¹² Resina mantenida en esta etapa durante 0,4 días¹³ Resina mantenida en esta etapa durante 0,4 días

Tabla 4 Continuación

Núm. de ciclo: Subunidad (SU)	Tratamiento de preacoplamiento				Ciclo de acoplamiento		Tratamiento posterior al acoplamiento	
	1	2	3	4	1	2	1	2
	30 % Lavado de TFE/DCM	Solución de CYTFA	Solución de neutralización	Lavado de DCM	Cantidad SU (g) NEM (L) DMI (L)	Tiempo de acoplamiento a TA (horas)	Lavado de DCM	Lavado de TFE/DCM al 30%
25:T	18L	a) 18L b) 18L, 414ml	3x18L	2x18L	749,1g; 311 ml de NEM; 5,1 L de DMI	4,25	18L	2x18L
26:T	18,5L	a) 18,5L b) 18,5L, 426ml	3x18,5L	2x18,5L	749,1g; 311 ml de NEM; 5,1 L de DMI	4,25	18,5 L	2x18,5L ¹⁴
27:C	18,5L	a) 18,5L b) 18,5L, 426ml	3x18,5L	2x18,5L	858,7g; 311 ml de NEM; 5,25L de DMI	4,25	18,5 L	2x18,5L
28:T	19L	a) 19L b) 19L, 438ml	3x19L	2x19L	749,1g; 311 ml de NEM; 5,25L de DMI	4,25	19L	2x19L ¹⁵
29:A	19L	a) 19L b) 19L, 438ml	3x19L	2x19L	888,3g; 311 ml de NEM; 5,41L de DMI	4,25	19L	2x19L
30:DPG	19,5L	a) 19,5L b) 19,5L, 450ml	3x19,5L	2x19,5L	1159,2g; 311ml de NEM; 5,44L de DMI	4,75	19,5 L	2x19,5L

¹⁴ Resina mantenida en esta etapa durante 0,4 días

¹⁵ Resina mantenida en esta etapa durante 0,3 días

E. Desprotección

5 La solución de escisión y el lavado de NMP combinados se transfirieron a un recipiente a presión al que se adicionaron 39.8 L de NH₄OH (NH₃•H₂O) que se había enfriado a una temperatura de -10° a -25° C en un congelador. El recipiente a presión se selló y se calentó a 45° C durante 16 horas, entonces se dejó enfriar a 25° C. Esta solución de desprotección que contenía la sustancia de fármaco bruta de Eteplirsén se diluyó 3:1 con agua purificada y el pH se ajustó a 3.0 con ácido fosfórico 2M, entonces a pH 8.03 con NH₄OH. HPLC (C18) 73-74% (Figura 1).

10 **Tabla 5.** Datos de la figura 1

Pico #	Nombre de Compuesto	Tiempo de retención (min)	Rel. Tiempo de Ret. Producto	Área {mAu*min}	% de 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 5: Purificación de la sustancia de fármaco bruta de Eteplirsén

15 La solución de desprotección del ejemplo 2, parte D, que contiene la sustancia de fármaco bruta de Eteplirsén se cargó en una columna de resina de intercambio aniónico TosoPearl Super-Q 650S (Tosoh Bioscience) y se eluyó con un gradiente de 0-35% de B sobre 17 volúmenes de columna (Agente amortiguador A: Hidróxido de sodio 10 mM; Agente Amortiguador B: cloruro de sodio 1 M en hidróxido de sodio 10 mM) y las fracciones de pureza aceptable (C18 y SCX HPLC) se agruparon en una solución de producto de fármaco purificado. HPLC (figura 2):

20 97.74% (C18) 94.58% (SCX).

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

25 **Tabla 6.** Datos de la figura 2

Pico #	Nombre de Compuesto	Tiempo de retención (min)	Rel. Tiempo de Ret. (Producto)	Área {mAu*min}	Porcentaje de área	Placas (USP)
1		6.837	0.750	0.050757	0.058	41574

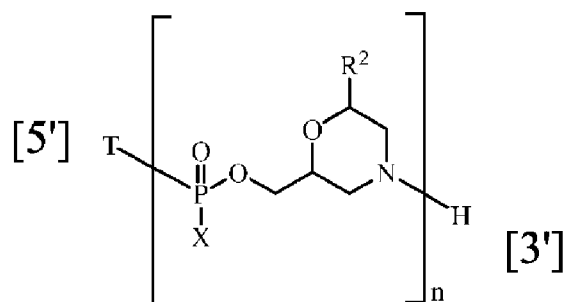
Pico #	Nombre de Compuesto	Tiempo de retención (min)	Rel. Tiempo de Ret. (Producto)	Área (mAu*min)	Porcentaje de área	Placas (USP)
2		7.405	0.813	0.303271	0.344	841
3		8.086	0.887	1.130007	1.280	13
4		8.615	0.946	2.265128	2.567	761
5	AVI-4658	9.111	1.000	83.468700	94.583	4405
6		10.019	1.100	0.704599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

Tabla 7. Datos de la figura 3

Pico #	Nombre de Compuesto	Tiempo de retención. (min)	Rel. Tiempo de Ret. (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

5 **Ejemplo 6: Oligómeros adicionales preparados por el proceso de la divulgación**

Los siguientes oligómeros de las siguientes secuencias se prepararon de acuerdo con los métodos de los ejemplos 4 y 5 sobre:



10

donde R² se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:

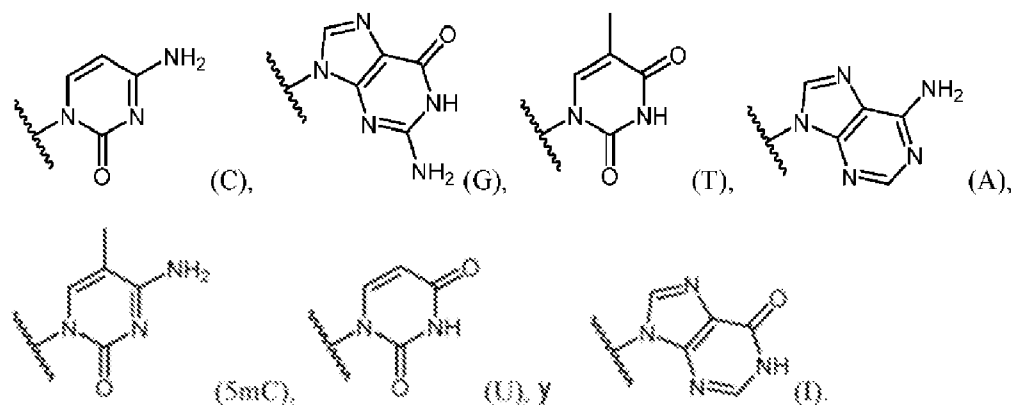
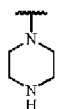


Tabla 8. El oligómero R² en cada posición de 1 a n y de 5' a 3':

Nombre	n	R ² 5' a 3' y 1 a n	T
PMO1	22	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G	EG3
PMO2	25	GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT GTT C	EG3
AVI-7100	20	CGGT+TAGAAGAC+TCATC+TTT	EG3
AVI-7537	19	GCC+ATGGT+TTT+TTC+TC+AGG	EG3
AVI-7288	23	GAATATTAAC+AI+AC+TGAC+A+AGTC	EG3

En la Tabla 8 anterior, "+" indica donde X es



5

de lo contrario, X es -N(CH₃)₂.

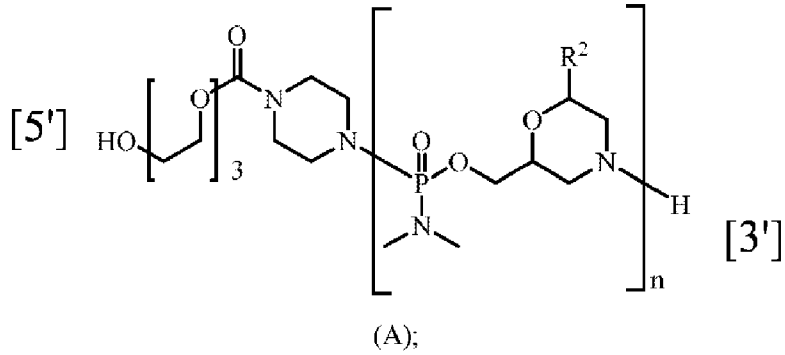
Tabla 9. Acrónimos

10

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
TA	Temperatura ambiente
TFA	Ácido 2,2,2-trifluoroacético
TFE	2,2,2-Trifluoroetanol

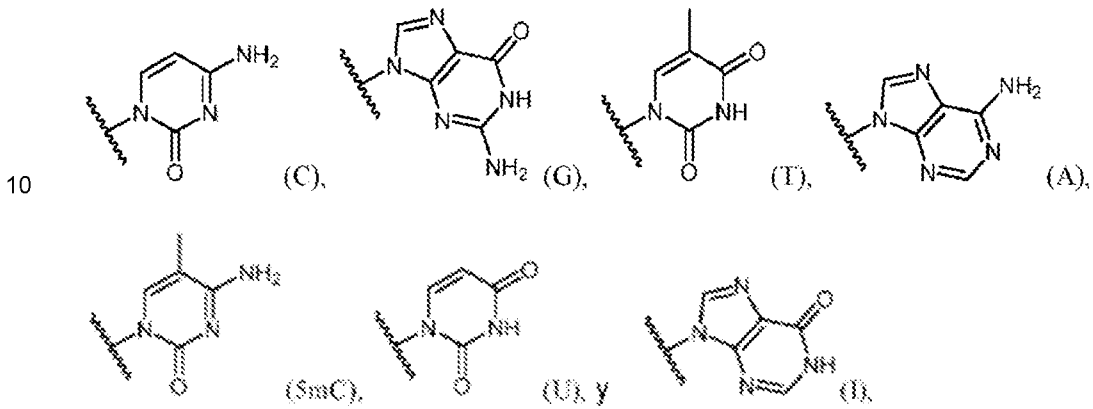
REIVINDICACIONES

1. Un proceso para preparar un compuesto oligomérico de Fórmula (A):



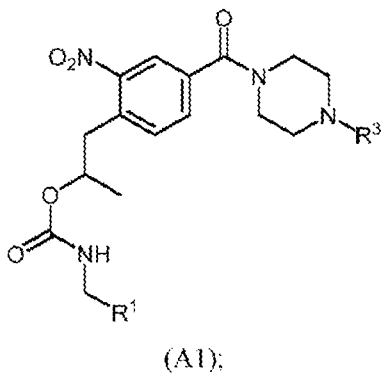
5

en donde n es un número entero de 10 a 40, y cada R² se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



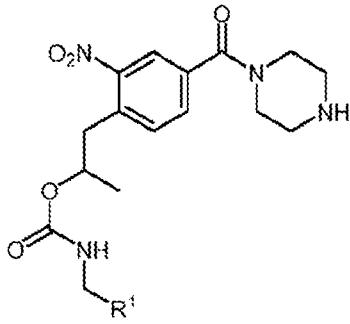
15

en donde el proceso comprende los pasos secuenciales de:
(a) poner en contacto un compuesto de Fórmula (A1):



20

en donde R¹ es un medio de soporte y R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;
con un agente de desbloqueo para formar el compuesto de Fórmula (II):

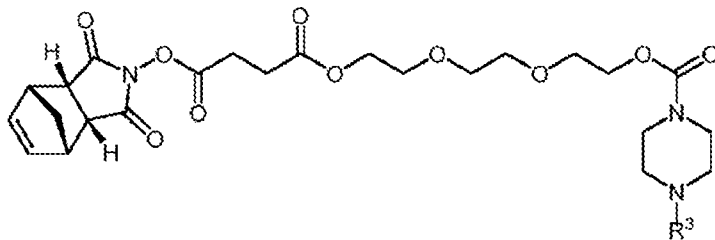


(II);

en donde R¹ es un medio de soporte;

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

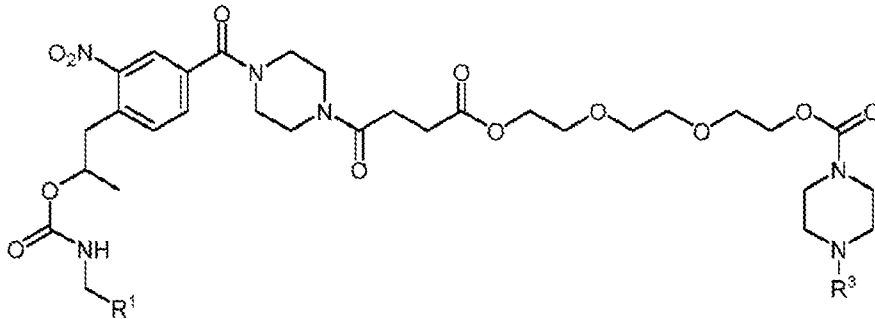
5



(A2);

en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo; para formar un compuesto de Fórmula (A3):

10

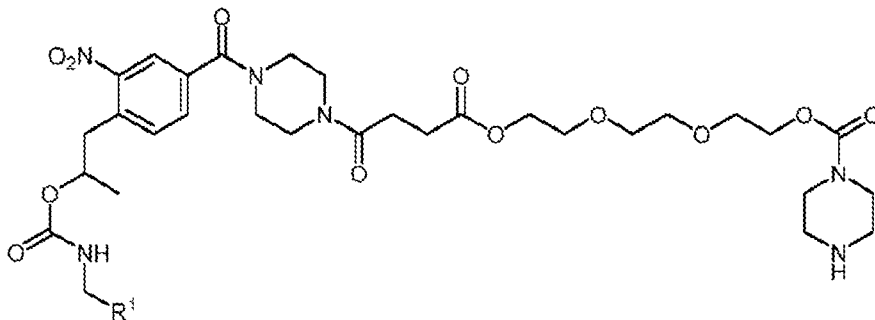


(A3);

en donde R¹ es un medio de soporte, y R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo;

15

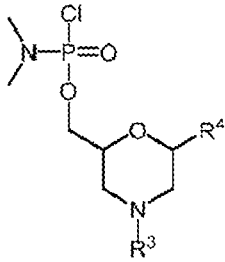
(c) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A3) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (IV):



(IV);

en donde R¹ es un medio de soporte;

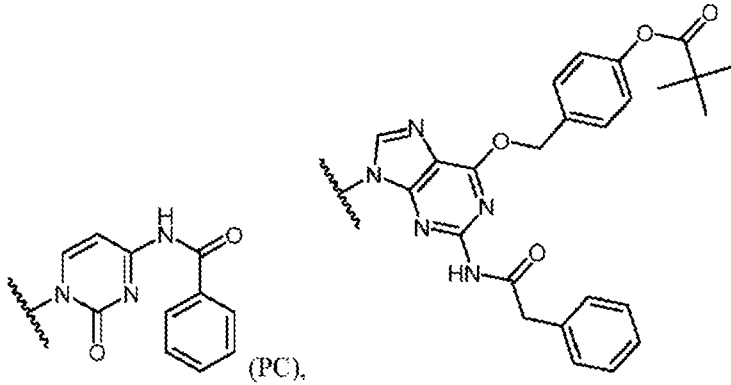
(d) poner en contacto el compuesto de Fórmula (IV) con un compuesto de Fórmula (A4):



(A4);

5

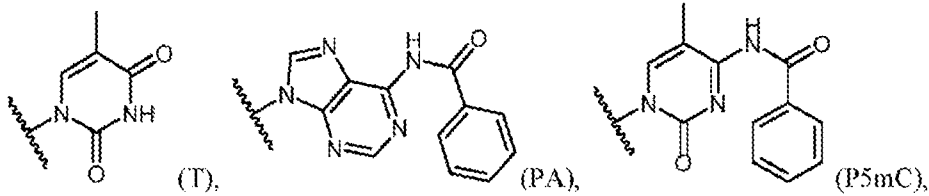
en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona del grupo que consta de:



(PC),

(DPG),

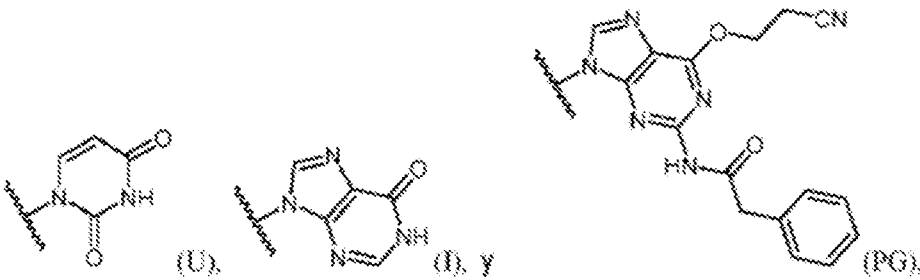
10



(T),

(PA),

(P5mC),

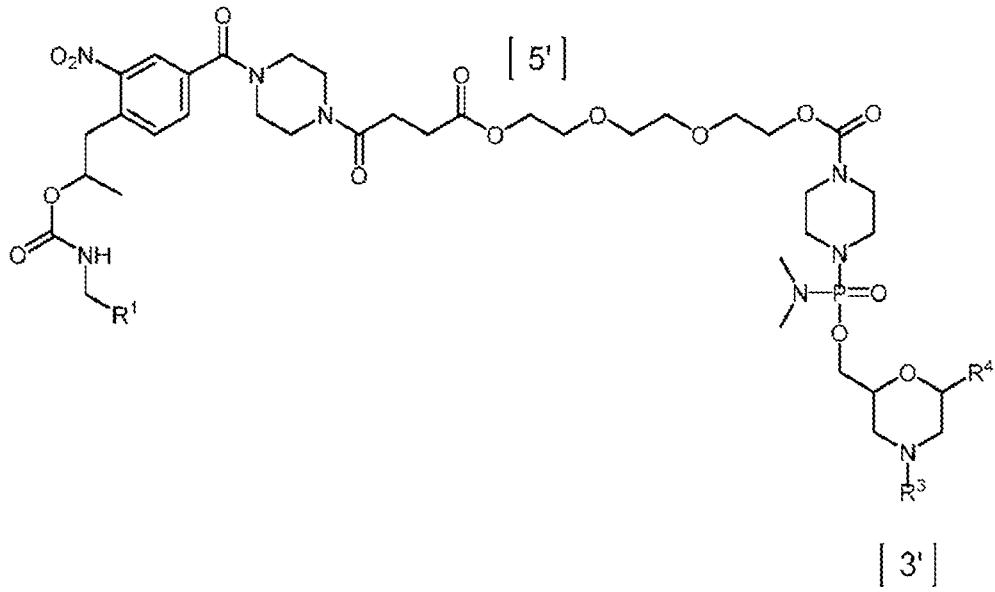


(U),

(V),

(PG),

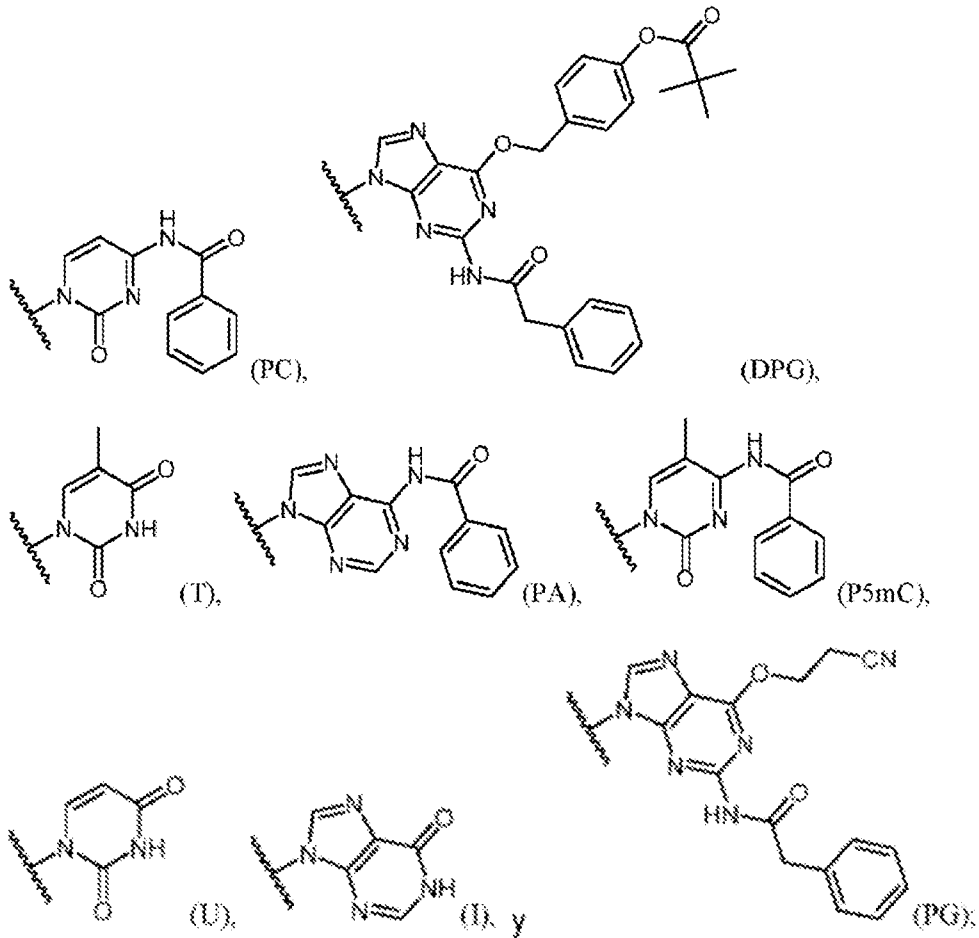
15 para formar un compuesto de Fórmula (A5):



(A5);

en donde R¹ es un medio de soporte, R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona de:

5

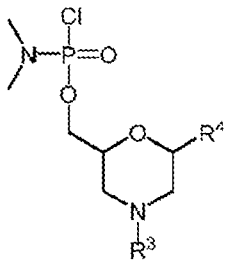


10

(e) realizar N-1 iteraciones de los pasos secuenciales de:

(e1) poner en contacto el producto formado por el paso inmediatamente anterior con un agente de desbloqueo; y

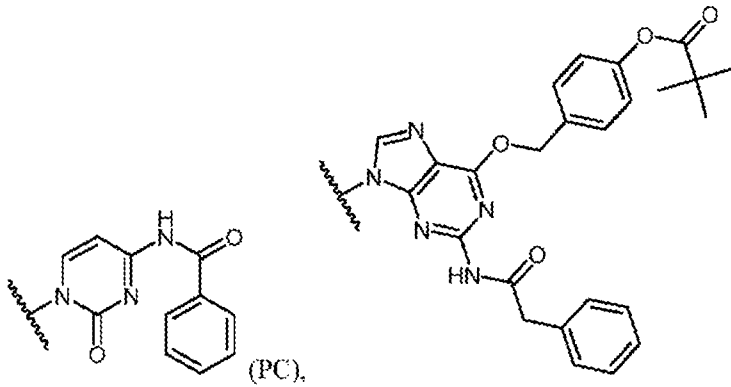
(e2) poner en contacto el compuesto formado por el paso inmediatamente anterior con un compuesto de Fórmula (A8):



(A8);

5

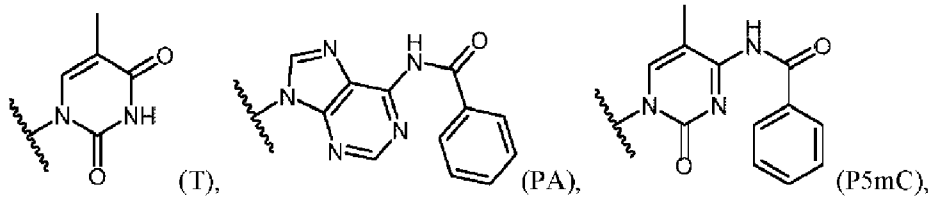
en donde R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y R⁴ se selecciona, independientemente para cada compuesto de Fórmula (A8), del grupo que consta de:



(PC),

(DPG),

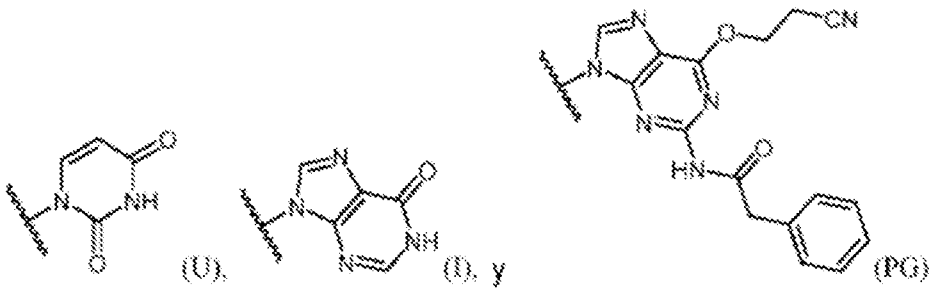
10



(T),

(PA),

(P5mC),

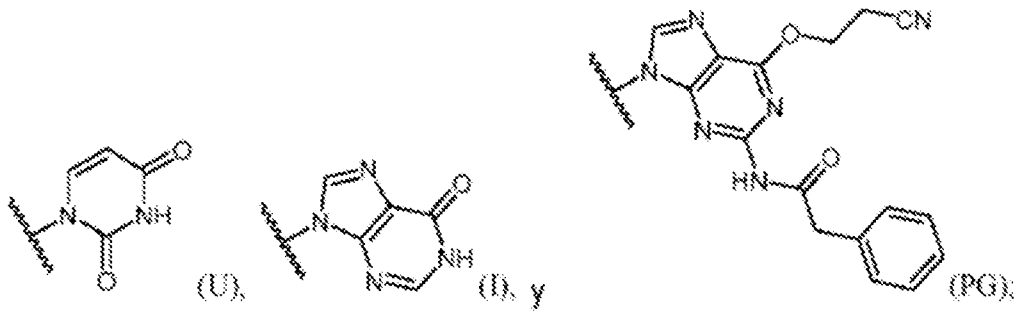


(U),

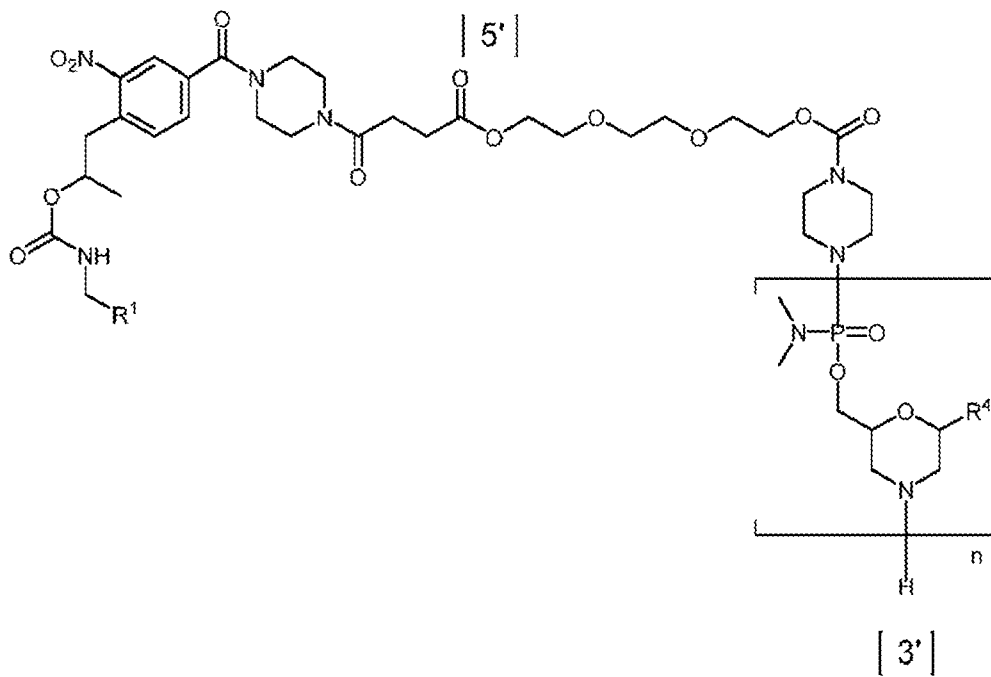
(I), y

(PG),

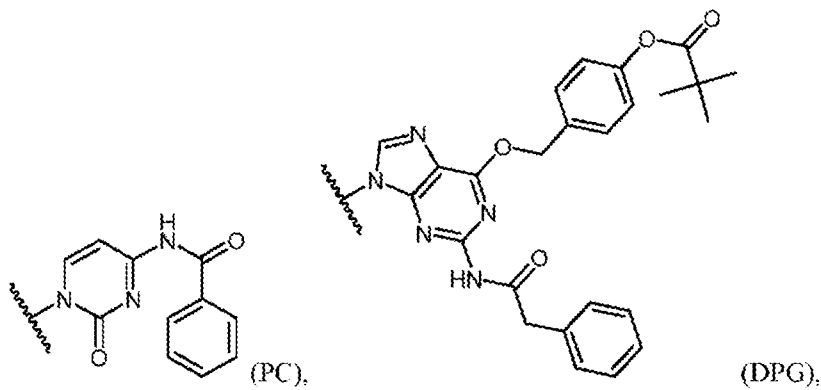
15 para formar un compuesto de Fórmula (A9):

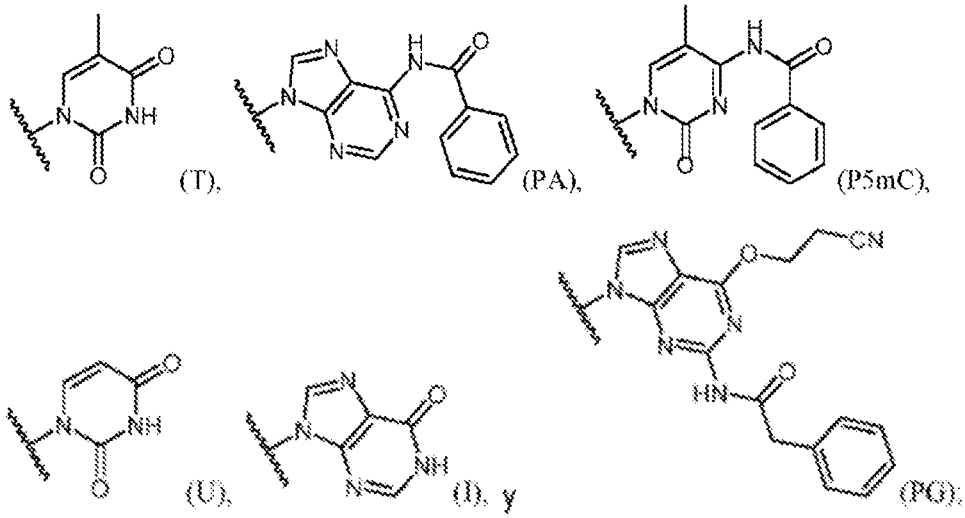


5 y (f) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A9) con un agente de desbloqueo para formar un compuesto de Fórmula (A10);

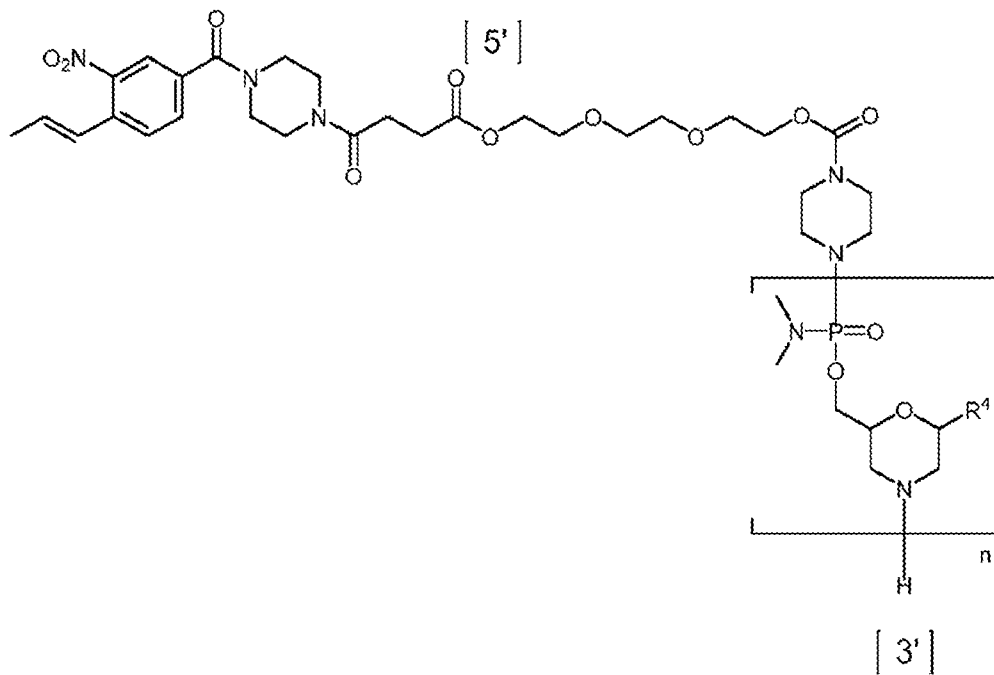


10 en donde n es un número entero de 10 a 40, R¹ es un medio de soporte y R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



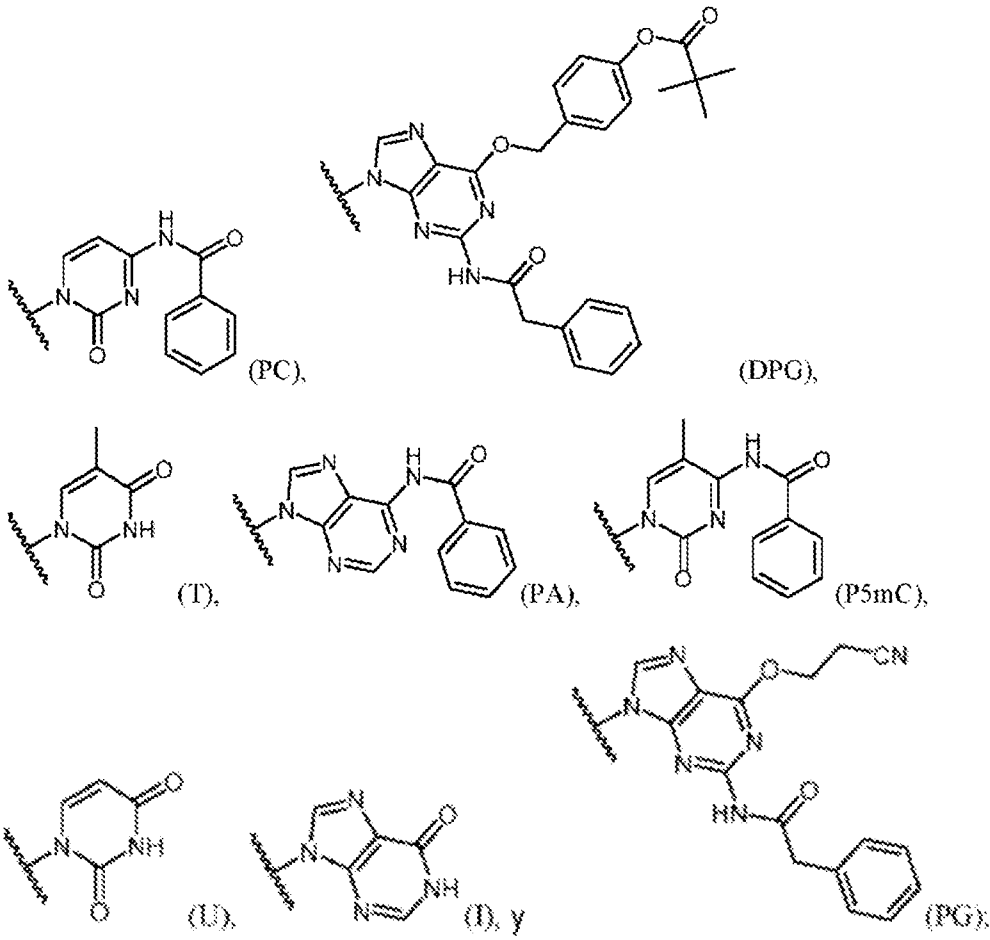


- 5 (g) poner en contacto el compuesto de Fórmula (A10) con un agente de escisión para formar un compuesto de Fórmula (A11):



(A11);

- 10 en donde n es un número entero de 10 a 40, y R^4 se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:

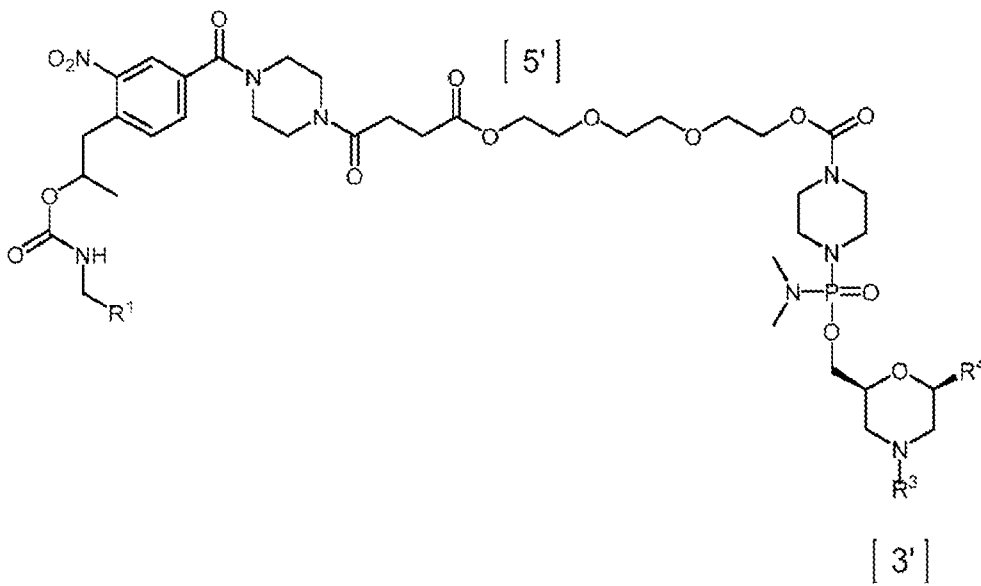


5

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

10

2. El proceso de las reivindicaciones 1-4, en donde el compuesto de Fórmula (A5) es de Fórmula (A5a):

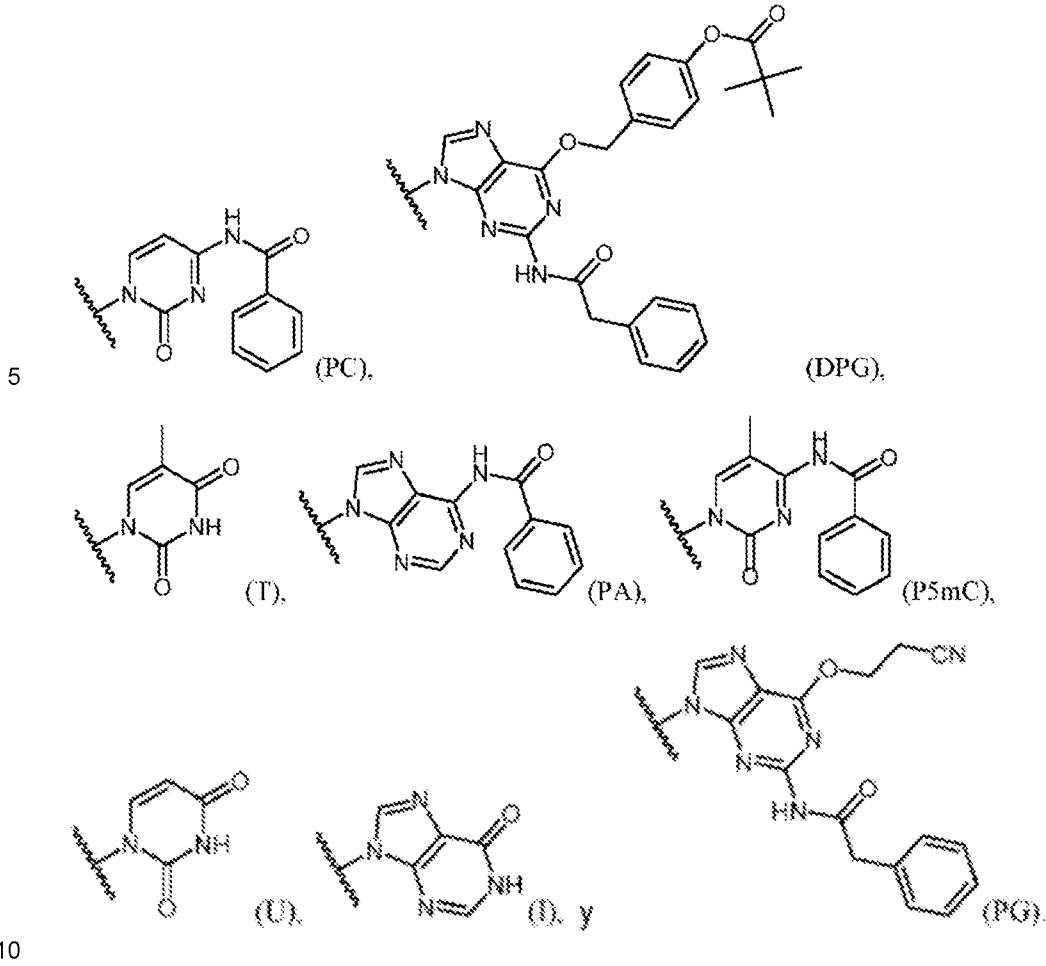


15 en donde:

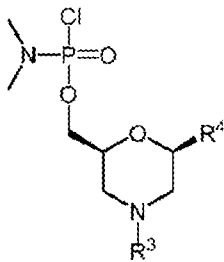
R¹ es un medio de soporte;

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

R⁴ se selecciona de:



3. El proceso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el compuesto de Fórmula (A8) es de Fórmula (A8a):

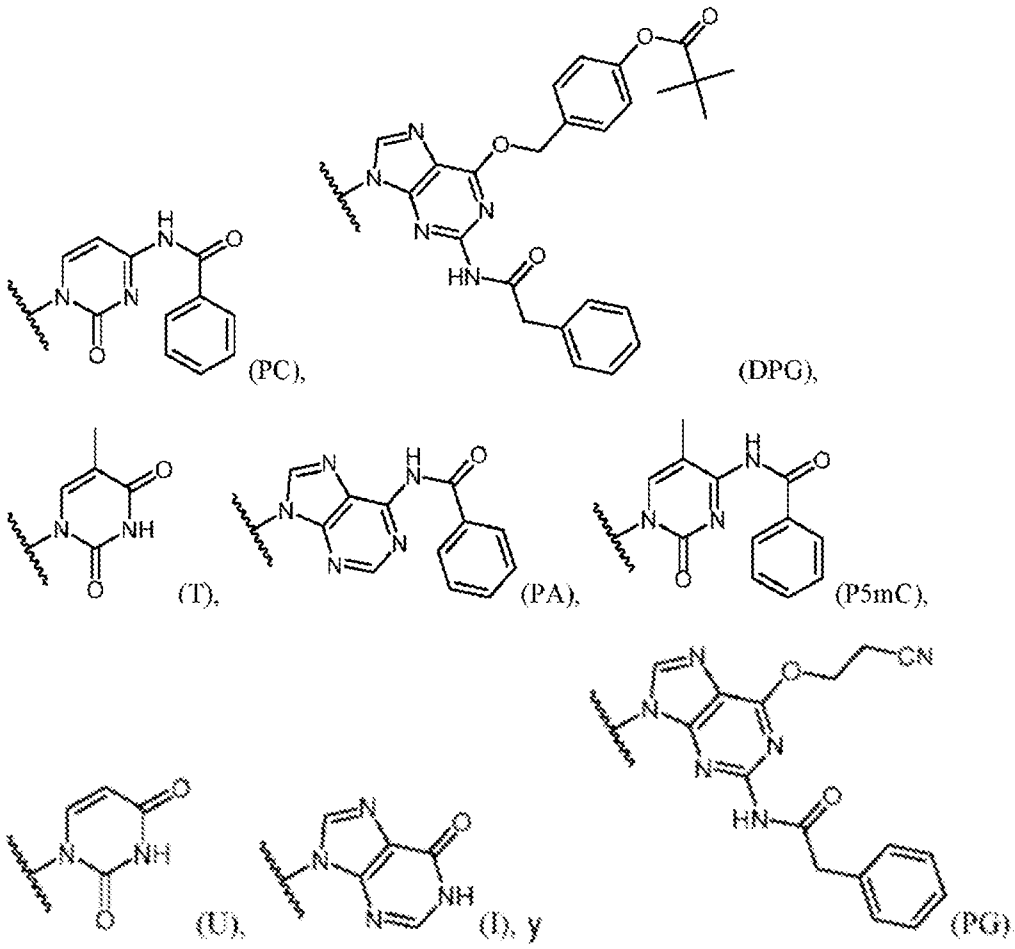


en donde:

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

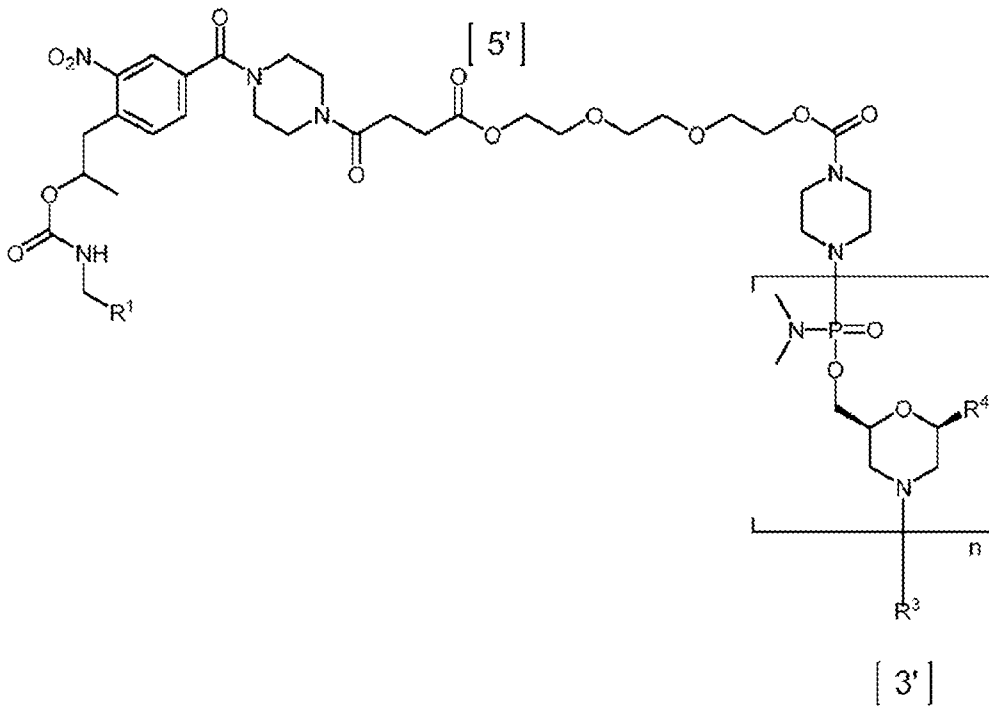
R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación del compuesto de Fórmula (A8a), del grupo que consta de:

20



5

4. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el compuesto de Fórmula (A9) es de Fórmula (A9a):



(A9a):

10

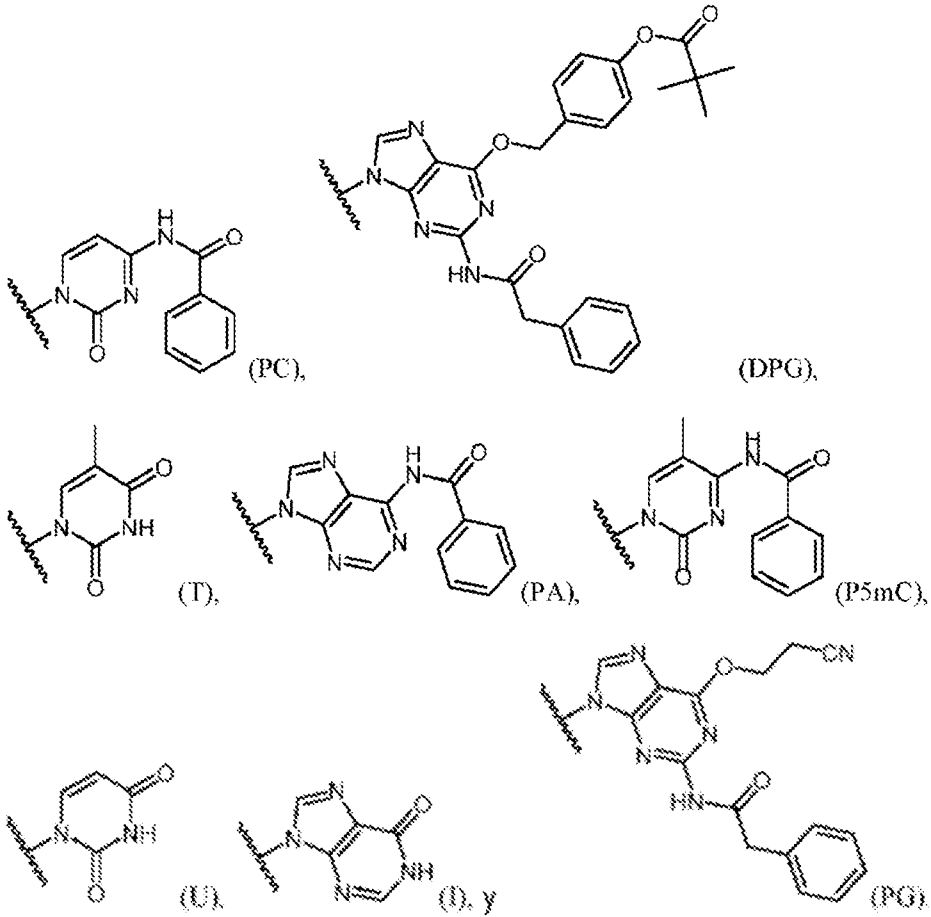
en donde:

n es un número entero de 10 a 40,

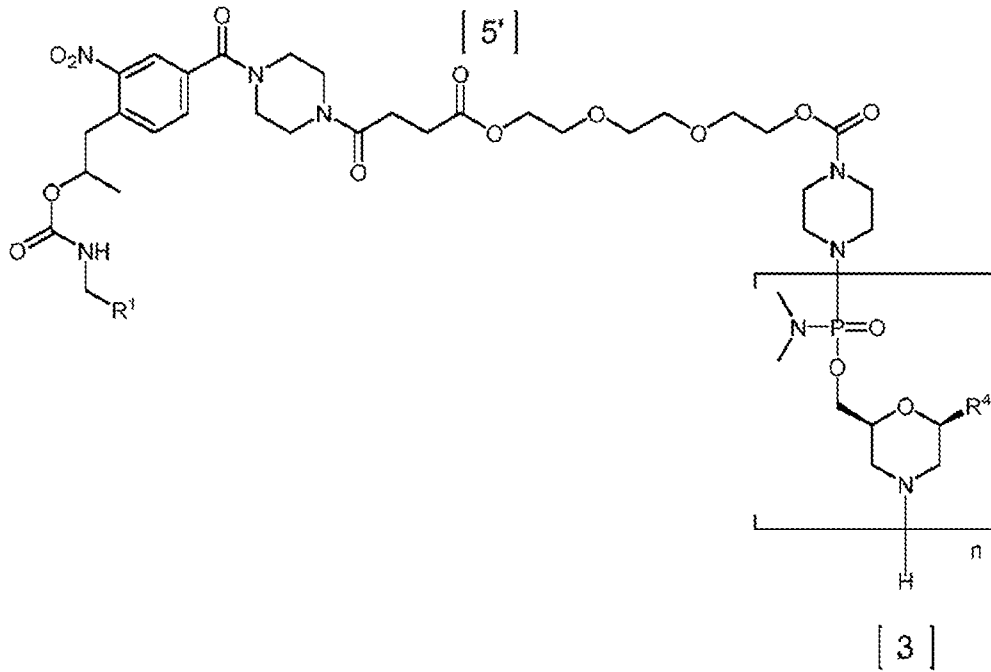
R¹ es un medio de soporte

5 R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo, y

R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



15 5. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde el compuesto de Fórmula (A10) es de Fórmula (A10a):



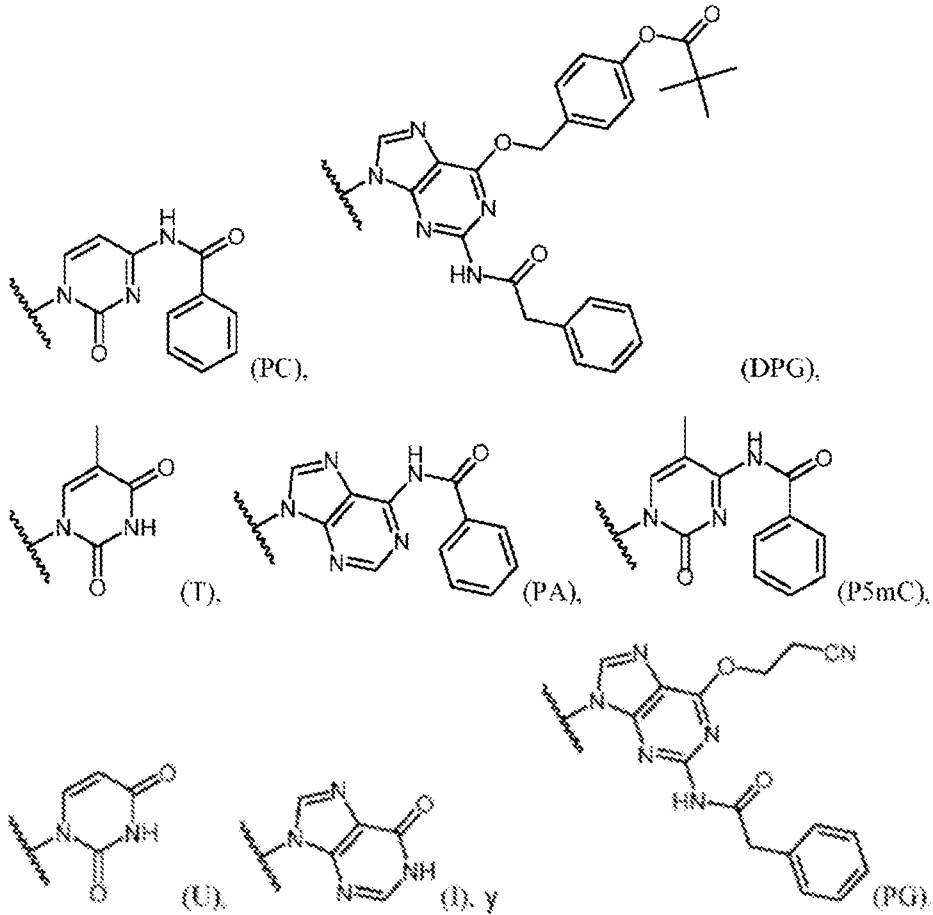
(A10a);

en donde:

n es un número entero de 10 a 40,

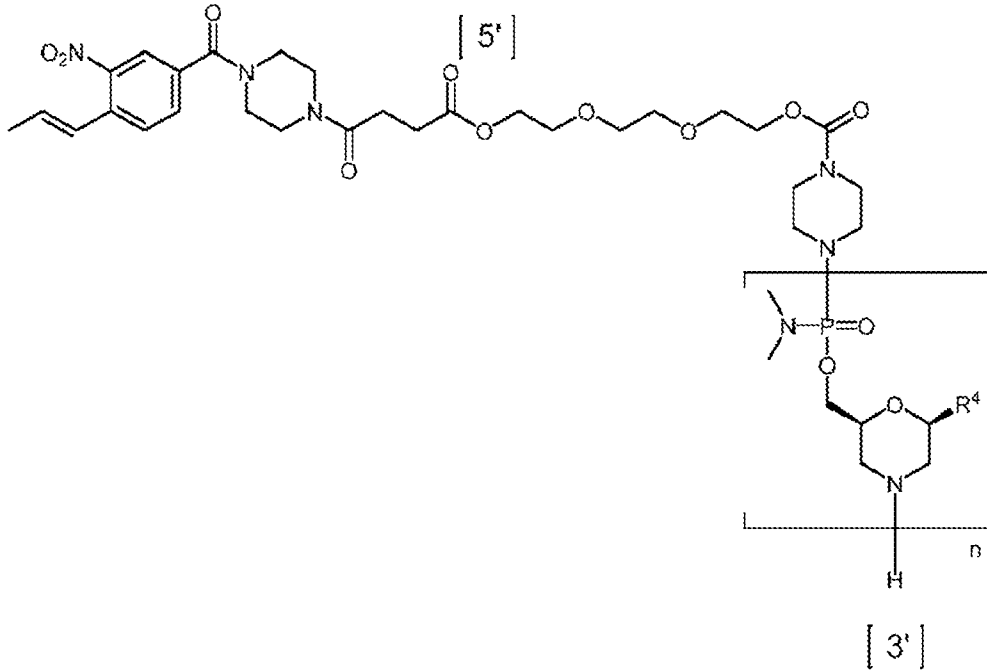
5 R¹ es un medio de soporte, y

R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:



10

6. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el compuesto de Fórmula (A11) es de Fórmula (A11a):



(A11a);

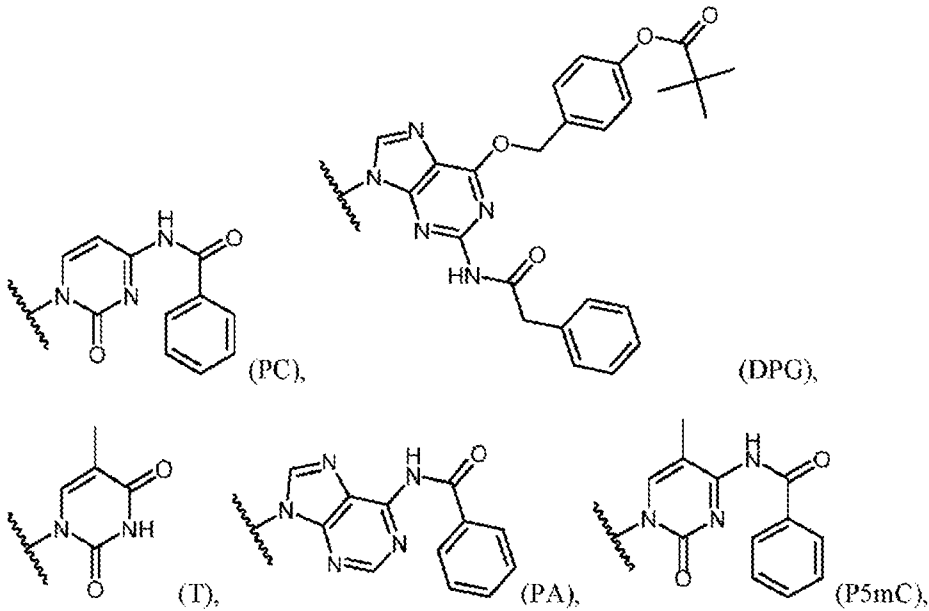
5

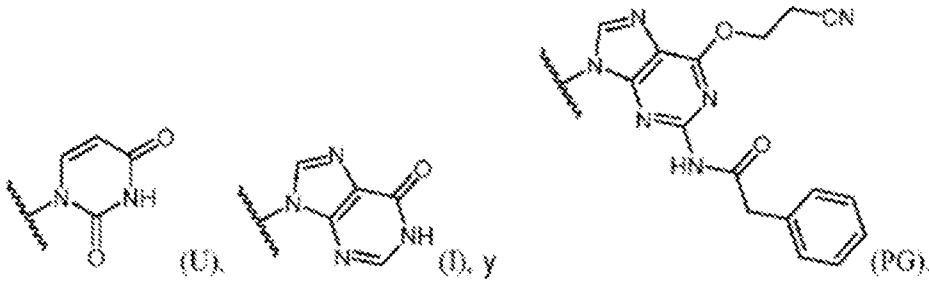
en donde:

n es un número entero de 10 a 40, y

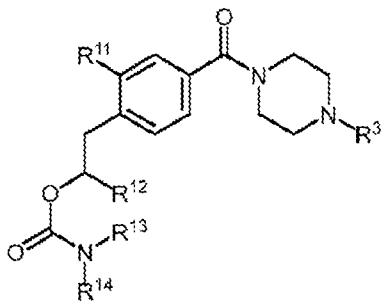
R⁴ se selecciona, independientemente para cada presentación, del grupo que consta de:

10





7. Un compuesto de Fórmula (B1):



5 (B1);

o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma
en donde

R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;

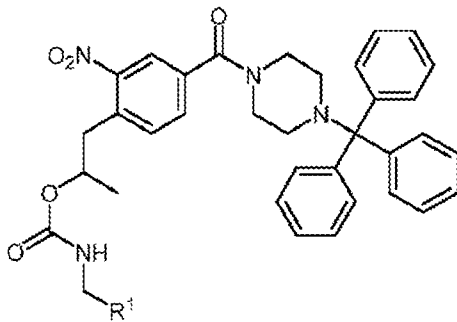
10 R¹² es alquilo C₁₋₆;

R¹³ es H o alquilo C₁₋₆; y

R¹⁴ es un primer ligador unido a un medio de soporte,

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo.

15 8. El compuesto de la reivindicación 7, en donde el compuesto de Fórmula (B1) es de Fórmula (I):

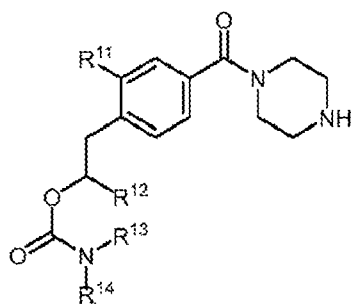


(I).

en donde R¹ es un medio de soporte,

20

9. Un compuesto de Fórmula (II-B):

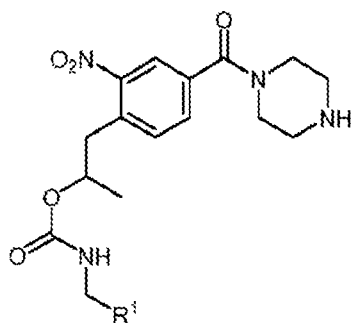


(II-B);

o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en donde

- 5 R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;
 R¹² es alquilo C₁₋₆;
 R¹³ es H o alquilo C₁₋₆; y
 R¹⁴ es un primer ligador unido a un medio de soporte.

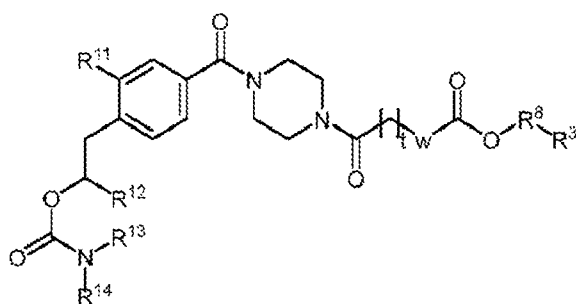
- 10 10. El compuesto de la reivindicación 9, en donde el compuesto de Fórmula (II-B) es de Fórmula (I):



(II);

en donde R¹ es un medio de soporte,

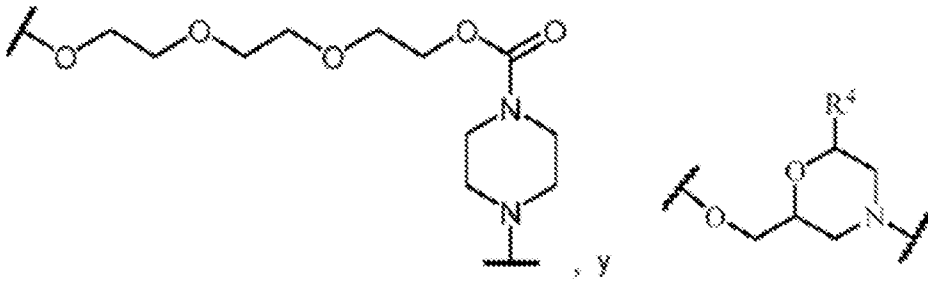
- 15 11. Un compuesto de Fórmula (B3):



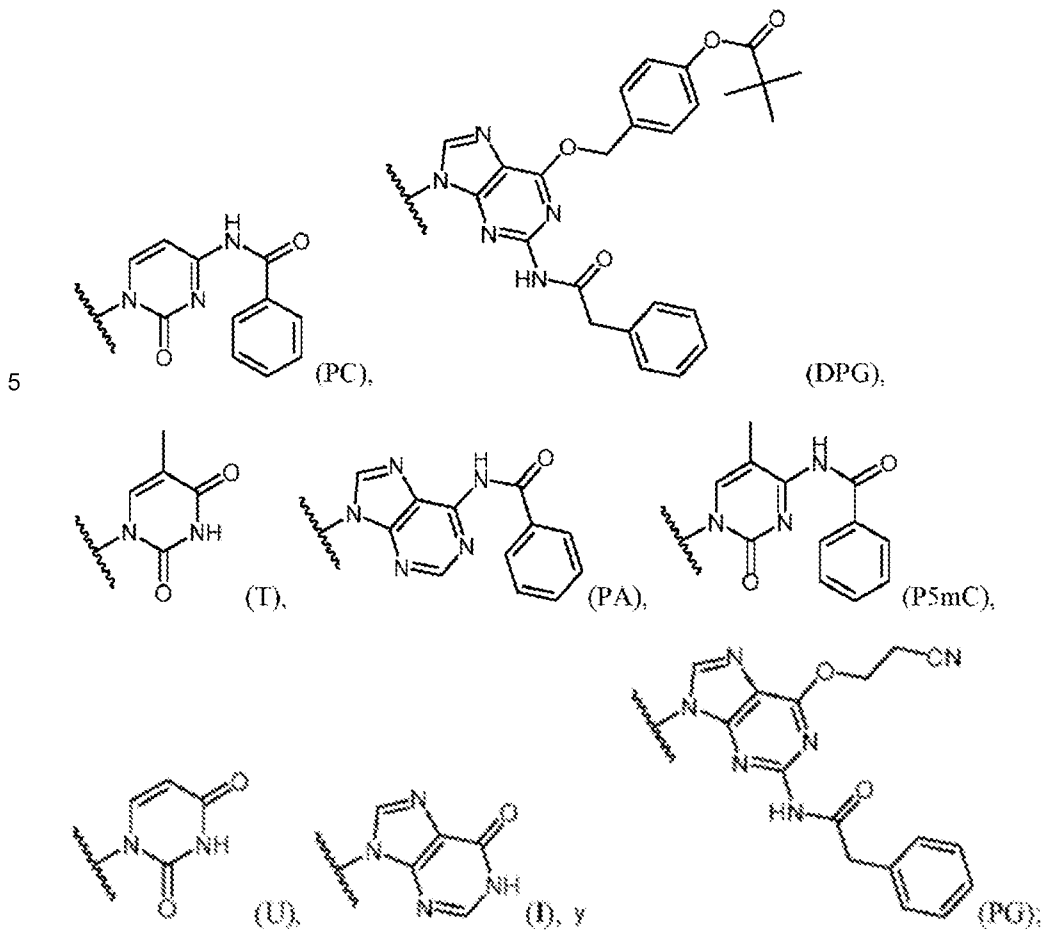
(B3);

20 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en donde

- w se selecciona de O o C;
 t es 1, 2, 3, 4, o 5;
 R¹¹ se selecciona del grupo que consta de halo, CN y NO₂;
 25 R¹² es alquilo C₁₋₆;
 R¹³ es H o alquilo C₁₋₆;
 R¹⁴ es un primer ligador unido a un medio de soporte;
 R⁸ se selecciona de:



en donde R^4 se selecciona del grupo que consta de:

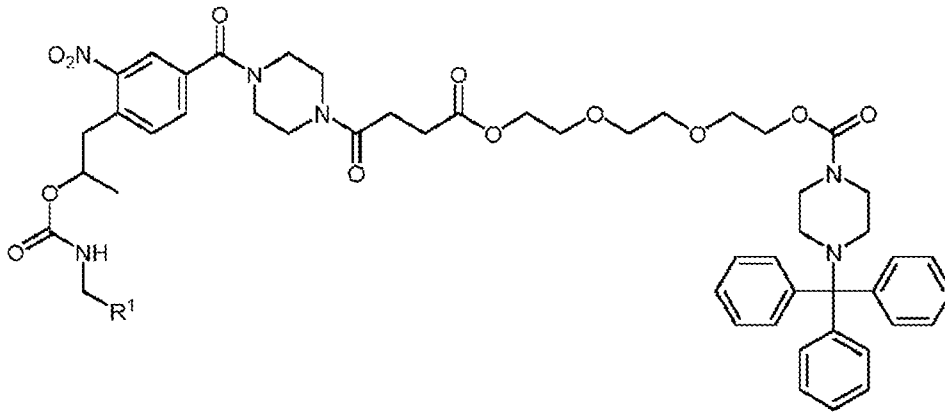


10

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

15

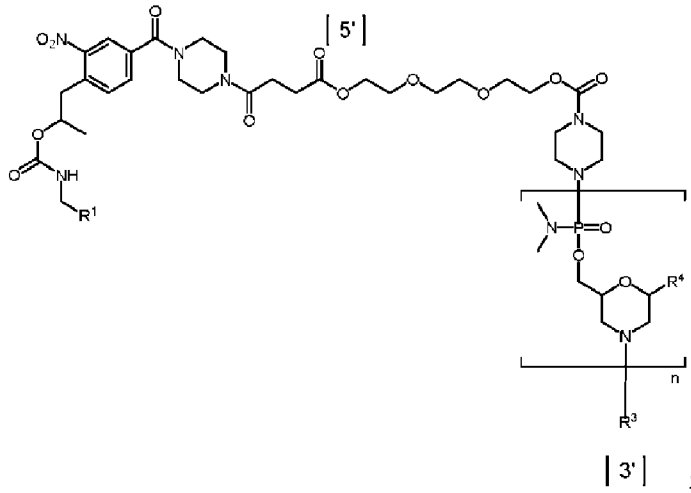
12. El compuesto de la reivindicación 11, en donde el compuesto de Fórmula (B3) es de Fórmula (III):



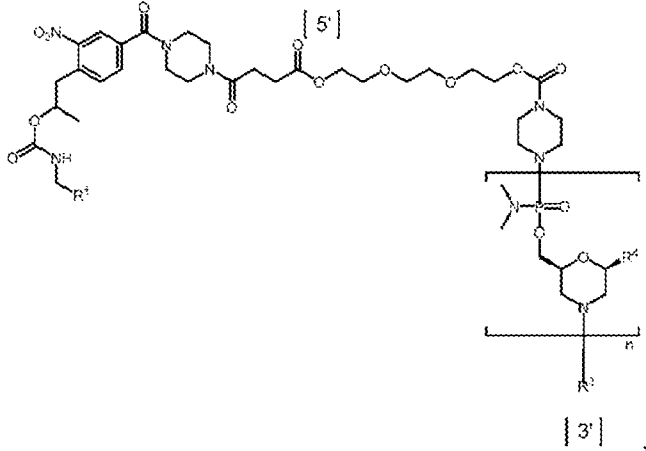
(III);

en donde R¹ es un medio de soporte,

5 13. Un compuesto seleccionado de:



10 y



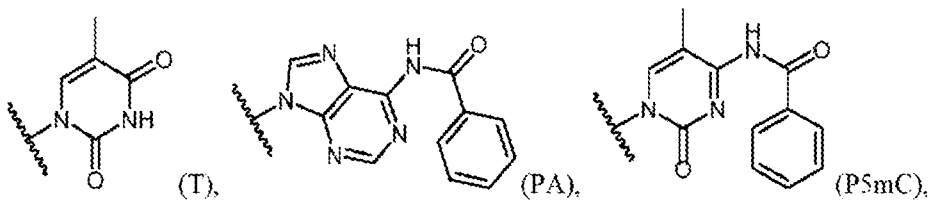
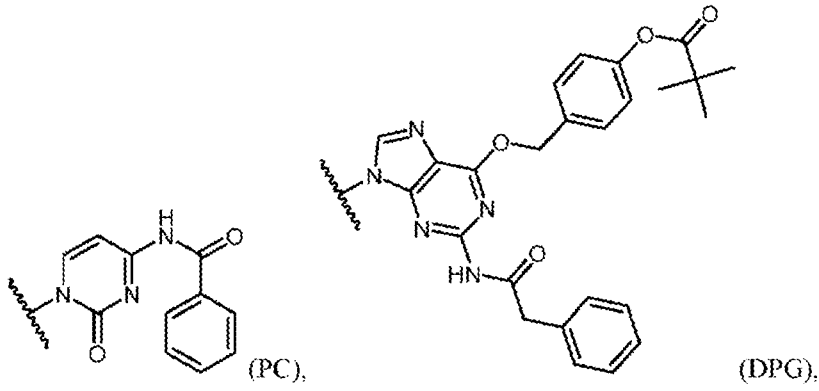
en donde:

n es un número entero de 10 a 40;

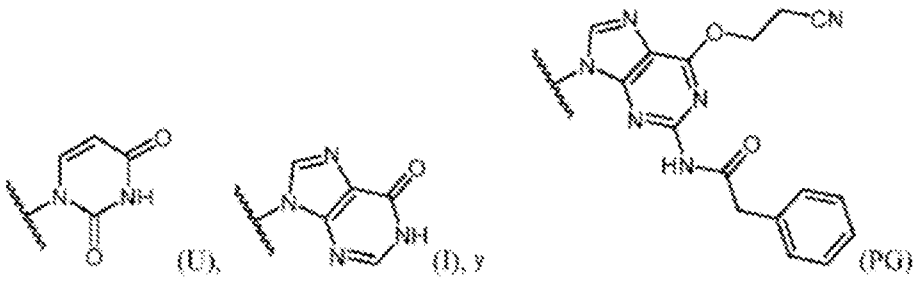
15 R¹ es un medio de soporte;

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo; y

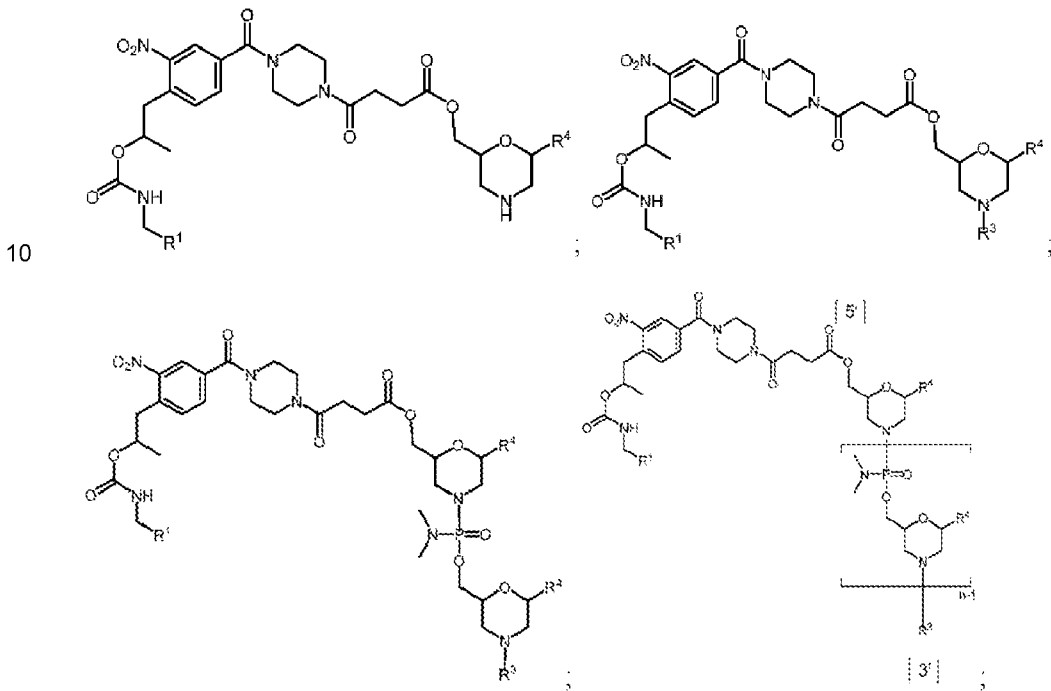
R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:

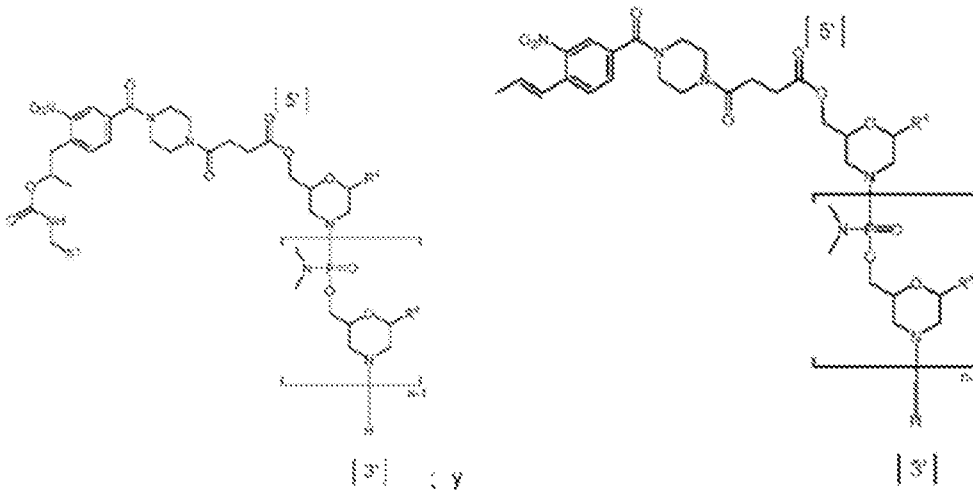


5



14. Un compuesto seleccionado de:





en donde:

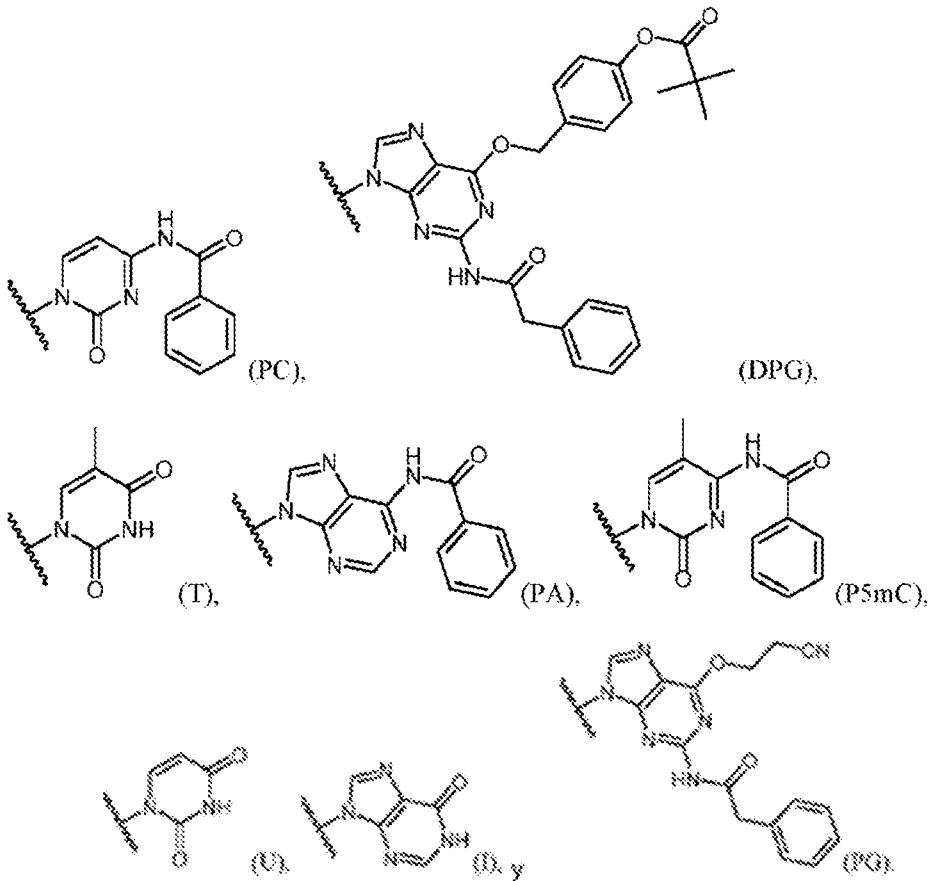
n es un número entero de 10 a 40;

5 R¹ es un medio de soporte;

R³ se selecciona del grupo que consta de tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo y trimetoxitritilo; y

R⁴ se selecciona, independientemente en cada presentación, del grupo que consta de:

10



DIBUJOS

Figura 1

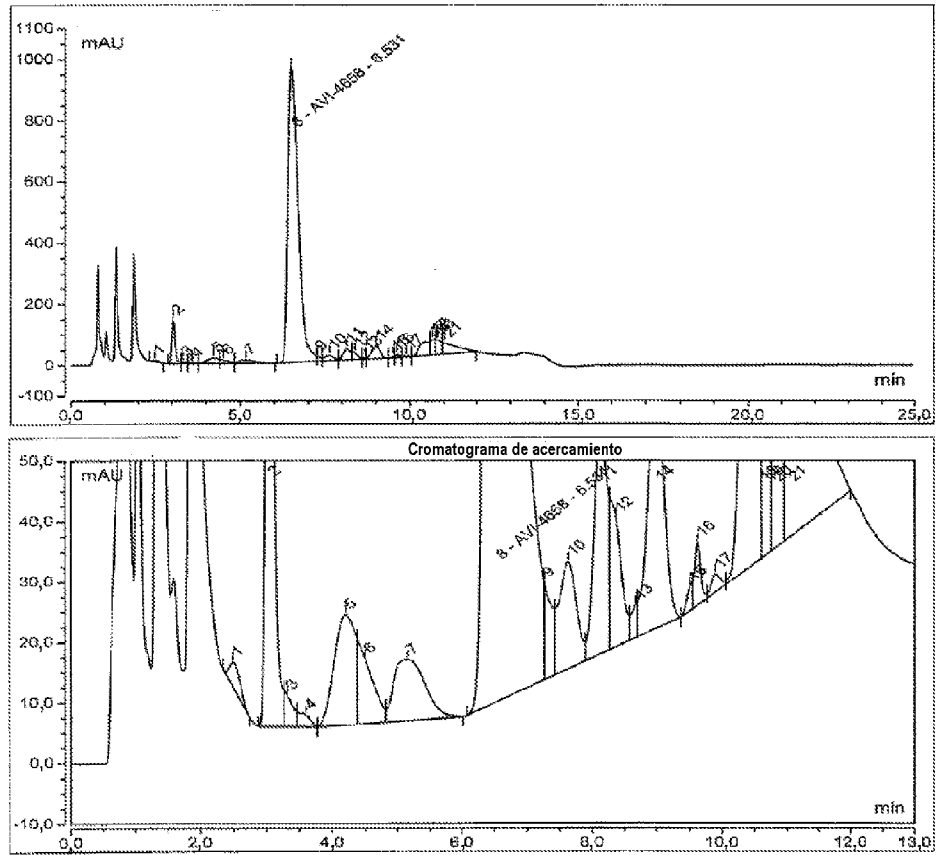


Figura 2

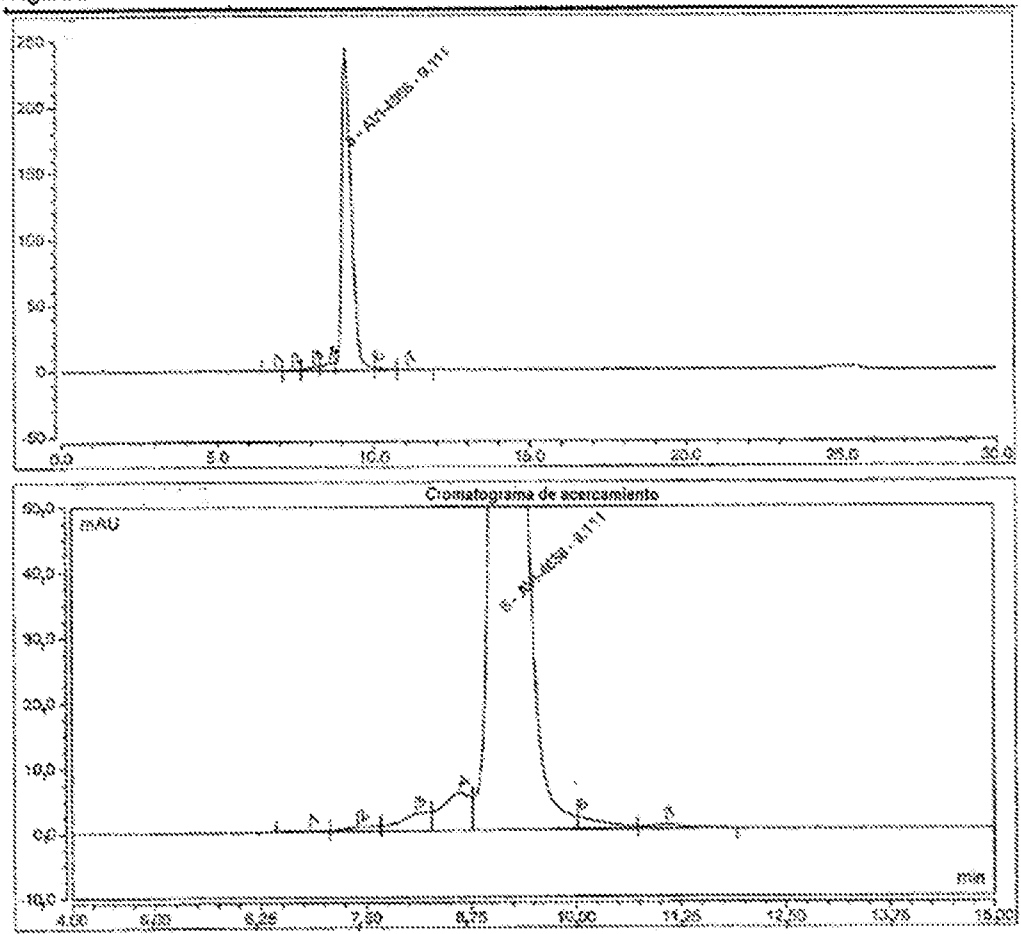


Figura 3

