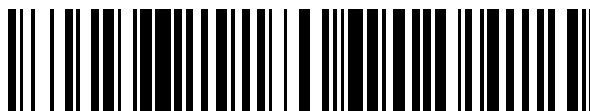


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 439 591**

51 Int. Cl.:

C07H 19/10 (2006.01)

C07H 19/20 (2006.01)

C07H 21/00 (2006.01)

C12N 15/11 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.08.2008 E 08798023 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2013 EP 2188298**

54 Título: **Análogos de ácido nucleico de tetrahidropirano**

30 Prioridad:

15.08.2007 US 956100 P

15.01.2008 US 21236

25.02.2008 US 31226

09.05.2008 US 52030

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

23.01.2014

73 Titular/es:

ISIS PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)

2855 Gazelle Court

Carlsbad, CA 92010, US

72 Inventor/es:

ALLERSON, CHARLES;

BHAT, BALKRISHEN;

PRAKASH, THAZHA P.;

SWAYZE, ERIC E.;

SIWKOWSKI, ANDREW M. y

SETH, PUNIT P.

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO FACES, José

ES 2 439 591 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).

ANÁLOGOS DE ÁCIDO NUCLEICO DE TETRAHIDROPIRANO

Descripción

5 CAMPO DE LA INVENCION

En el presente documento se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, compuestos oligoméricos preparados a partir de los mismos y métodos de uso de los compuestos oligoméricos. Más concretamente, cada uno de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano tiene un anillo de tetrahidropirano sustituido que reemplaza al anillo de pentofuranosa natural. En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos hibridan con una porción de un ARN diana que da como resultado la pérdida de la función normal del ARN diana.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La tecnología antisentido es un medio eficaz para reducir la expresión de uno o más productos génicos específicos y por lo tanto puede resultar excepcionalmente útil en varias aplicaciones terapéuticas, de diagnóstico y de investigación. Se utilizan de manera rutinaria nucleósidos químicamente modificados para su incorporación en secuencias antisentido para mejorar una o más propiedades, tales como, por ejemplo, afinidad y resistencia a nucleasas. Uno de tales grupos de nucleósidos modificados químicamente incluye análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en los que el anillo de furanosa está reemplazado con un anillo de tetrahidropirano.

Se ha notificado en la literatura la síntesis de diversos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, véase por ejemplo: Verheggen *et al.*, J. Med. Chem., 1995, 38, 826-835; Altmann *et al.*, Chimia, 1996, 50, 168-176; Herdewijn *et al.*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1996, 6 (13), 1457-1460; Verheggen *et al.*, Nucleosides & Nucleotides, 1996, 15 (1-3), 325-335; Ostrowski *et al.*, J. Med. Chem., 1998, 41, 4343-4353; Allart *et al.*, Tetrahedron, 1999, 55, 6527-6546; Wouters *et al.*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1999, 9, 1563-1566; Brown, *et al.*, Drug Development Res., 2000, 49, 253-259, solicitud PCT publicada: WO 93/25565, WO 02/18406 y WO 05/049582; patentes de EE.UU. 5.314.893, 5.607.922 y 6.455.507.

Se han descrito diversos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano como monómeros y también se han incorporado a compuestos oligoméricos (véase, por ejemplo: solicitud PCT publicada, documento WO 93/25565, publicado el 23 de diciembre de 1993; Augustyns *et al.*, Nucleic Acids Res., 1993., 21 (20), 4670-4676; Verheggen *et al.*, J. Med. Chem., 1993, 36, 2033-2040; Van Aerschol *et al.*, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1995, 34 (12), 1338-1339; Anderson *et al.*, Tetrahedron Letters, 1996, 37 (45), 8147-8150; Herdewijn *et al.*, Liebigs Ann., 1996, 1337-1348; De Bouvere *et al.*, Liebigs Ann./Recueil, 1997, 1453-1461; 1513-1520; Hendrix *et al.*, Chem. Eur. J., 1997, 3 (1), 110-120; Hendrix *et al.*, Chem. Eur. J., 1997, 3 (9), 1513-1520; Hossain *et al.*, J. Org Chem., 1998, 63, 1574-1582; Allart *et al.*, Chem. Eur. J., 1999, 5 (8), 2424-2431; Boudou *et al.*, Nucleic Acids Res., 1999, 27 (6), 1450-1456; Kozlov *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 1999, 121, 1108-1109; Kozlov *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 1999, 121, 2653-2656; Kozlov *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 1999, 121, 5856-5859; Pochet *et al.*, Nucleosides & Nucleotides, 1999, 18 (4 y 5), 1015-1017; Vastmans *et al.*, Collection Symposium Series, 1999, 2, 156-160; Froeyen *et al.*, Helvetica Chimica Acta, 2000, 83, 2153-2182; Kozlov *et al.*, Chem. Eur. J., 2000, 6 (1), 151-155; Atkins *et al.*, Parmazie, 2000, 55 (8), 615-617; Lescrinier *et al.*, Chemistry & Biology, 2000, 7, 719-731; Lescrinier *et al.*, Helvetica Chimica Acta, 2000, 83, 1291-1310; Wang *et al.*, J. Am. Chem., 2000, 122, 8595-8602; solicitud de patente de EE.UU. N° 2004/0033967; solicitud de patente de EE.UU. publicada N° 2008/0038745; patente de EE.UU. publicada y expedida N° 7.276.592). También se han revisado análogos de ADN en un artículo (véase: Leumann, J.C., Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2002, 10, 841-854) que incluía un análisis general de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano (con el nombre: familia de ácidos nucleicos de hexitol).

Se han preparado compuestos oligoméricos que tienen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-H unidos a fosfodiéster (también denominados en la técnica HNA - ácidos nucleicos de hexitol o ácidos nucleicos de 1,5-anhidrohexitol) para su evaluación en ensayos celulares. Los diferentes motivos que se han evaluado están completamente modificados, en los que cada monómero es un análogo nucleosídico de tetrahidropirano 3'-H unido a fosfodiéster e interrumpido en el que cada uno de los monómeros en las regiones externas 3' y 5' del compuesto oligomérico es un análogo nucleosídico de tetrahidropirano 3'-H unido a fosfodiéster y cada monómero en la región interna es un desoxirribonucleósido unido a fosforotioato (véase: Kang *et al.*, Nucleic Acids Research, 2004, 32(14), 4411-4419; Vandermeeren *et al.*, 2000, 55, 655-663; Flores *et al.*, Parasitol Res., 1999, 85, 864-866; y Hendrix *et al.*, Chem. Eur. J. 1997, 3(9), 1513-1520).

A. Van Aerschot *et al.* "Increased RNA affinity of HNA analogues by introducing alkoxy substituents at the C-1 or C-3 position" Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, vol. 20, 2001, páginas 781-784, describen congéneres de nucleósidos de 1,5-anhidrohexitol con sustituyentes alcoxi.

Se han preparado y evaluado tanto estructuralmente como *in vitro* compuestos oligoméricos que tienen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-OH unido a fosfodiéster (también denominados en la técnica ANA o ácidos nucleicos D-altritol) (Allart *et al.*, Chem. Eur. J., 1999, 5 (8), 2424-2431).

Se han preparado y ensayado ARNip químicamente modificados que tienen nucleótidos de hexitol incorporados (también conocidos en la técnica como ácidos nucleicos HNA) para determinar la capacidad de silenciamiento (véase: solicitud PCT publicada, WO 06/047842, publicada el 11 de mayo de 2006).

5 En consecuencia, sigue existiendo la necesidad, detectada hace tiempo, de agentes que regulen específicamente la expresión génica por medio de mecanismos antisentido. En el presente documento se describen análogos nucleosídicos de 5-hidroxi-6-hidroximetil-tetrahidropirano sustituidos en la posición 4 que son útiles en la preparación de compuestos antisentido para modular las vías de expresión génica, incluidas aquellas que dependen de mecanismos de acción tales como enzimas ARNasaH, de ARNi y de ARNbc, así como otros mecanismos antisentido basados en la degradación de la diana o la ocupación de la diana. Un experto en la materia, una vez provisto de la presente descripción, será capaz, sin excesiva experimentación, de identificar, preparar y aprovechar compuestos antisentido para estos usos.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCIÓN

15 En el presente documento se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, compuestos oligoméricos que comprenden los análogos tetrahidropirano y métodos para utilizar los compuestos oligoméricos. Los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano proporcionan propiedades mejoradas a los compuestos oligoméricos a los que se incorporan.

20 En el presente documento las variables se definen individualmente con mayor detalle. Debe entenderse que los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, los compuestos oligoméricos y los métodos de uso de los mismos proporcionados en el presente documento incluyen todas las combinaciones de las formas de realización descritas y las variables definidas en el presente documento.

25 En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula XVI:



45 en la que:

45 Bx es un resto de base heterocíclica;
 T₅ es un grupo protector de hidroxilo;
 L₁ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;
 Z₁ es O⁻ u OE₁;
 50 Z₂ es OH, OE₁ o N(E₁)(E₂);
 cada uno de E₁ y E₂ es, independientemente, alquilo o alquilo sustituido;
 q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;
 55 en la que cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

60 En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula XVI en la que q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es distinto de H. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es metilo.

65 En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula XVI, en la que Bx es uracilo, 5-metiluracilo, 5-tiazolo-uracilo, 2-tio-uracilo, 5-propinil-uracilo, timina, 2'-tio-timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-tiazolo-citosina, 5-propinil-citosina, adenina, guanina, 2,6-diaminopurina, 1H-

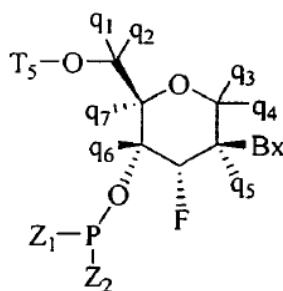
pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzotiacin-2(3H)-ona, 9-(2-aminoetoxi)-H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 2H-pirimido[4,5-b]indol-2-ona o H-pirido[3',2':4,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-ona. En determinadas formas de realización, Bx es uracilo, 5-metiluracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, adenina o guanina.

En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula XVI en la que T₅ es acetilo, t-butilo, t-butoximetilo, metoximetilo, tetrahidropirano, 1-etoxietilo, 1-(2-cloroetoxi)etilo, 2-trimetilsililetilo, p-clorofenilo, 2,4-dinitrofenilo, bencilo, benzoilo, p-fenilbenzoilo, 2,6-diclorobencilo, difenilmetilo, p-nitrobencilo, trifenilmetilo (tritilo), 4-metoxitritilo, 4,4'-dimetoxitritilo, trimetilsililo, trietilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, trifenilsililo, triisopropilsililo, benzoilformiato, cloroacetilo, tricloroacetilo, trifluoroacetilo, pivaloilo, carbonato de 9-fluorenilmetilo, mesilato, tosilato, triflato, tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo, trimetoxitritilo o pixilo sustituido. En determinadas formas de realización, T₅ es acetilo, bencilo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo o dimetoxitritilo.

En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula XVI en la que L₁ es F. En determinadas formas de realización, L₁ es H.

En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula XVI en la que Z₁ es O⁻ y Z₂ es OH. En determinadas formas de realización, Z₁ es O(CH₂)₂CN, Z₂ es N[CH₂(CH₃)₂]₂ y T₅ es 4,4'-dimetoxitritilo. En determinadas formas de realización, Z₁ es O⁻ y Z₂ es OH que proporciona un grupo fosfonato H en la posición 4' del análogo nucleosídico de tetrahidropirano que también puede escribirse como 3'-O-P(=O)(H) (OH u O⁻amina⁺). En determinadas formas de realización, Z₁ es O(CH₂)₂CN, Z₂ es N[CH₂(CH₃)₂]₂ y T₅ es 4,4'-dimetoxitritilo que proporciona una fosforamidita en la posición 3'.

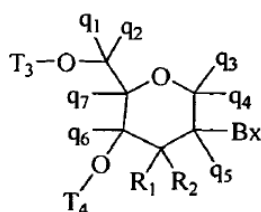
En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula XVI y que tienen la configuración que se ilustra en la Fórmula XVII:



XVII.

En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula XVII en la que q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H; Bx es uracilo, 5-metiluracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, adenina o guanina; T₅ es 4,4'-dimetoxitritilo; Z₁ es O(CH₂)₂CN y Z₂ es N[CH₂(CH₃)₂]₂.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X:



X

en la que independientemente para cada uno de dicho al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';
 q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;
 uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;
 cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que X es O, S o NJ₁ y cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆; y en la que dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas unidas por grupos de unión internucleosídicos y al menos un grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula X. En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X que están unidos por un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos comprenden al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X y al menos un β-D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos comprenden al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X que está unido a un β-D-2'-desoxirribonucleósido mediante un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

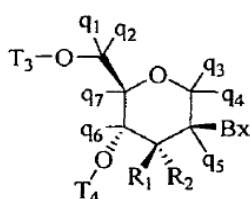
En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos comprenden al menos una región de 2 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X. En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos comprenden al menos una región de 2 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X y al menos una región adicional de 1 a aproximadamente 5 subunidades monoméricas contiguas distintas de β-D-ribonucleósidos y β-D-2'-desoxirribonucleósidos en los que la región adicional está separada de la al menos una región mediante al menos un β-D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos regiones, teniendo cada región de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X y en los que las dos regiones están separadas por al menos una subunidad monomérica en las que cada subunidad monomérica es, independientemente, un nucleósido o un nucleósido modificado.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden un compuesto oligomérico interrumpido que comprende al menos dos regiones, teniendo cada región de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X en los que una de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X está situada en el extremo 5' y la otra de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X está situada en el extremo 3' y en los que las dos regiones están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 18 subunidades monoméricas en las que cada subunidad monomérica es, independientemente, un nucleósido o un nucleósido modificado.

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos comprenden al menos un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

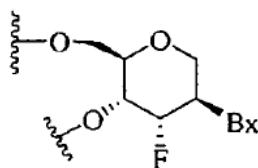
En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es H. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ o q₇ es distinto de H. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ o q₇ es metilo.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la configuración de Fórmula XI:



XI.

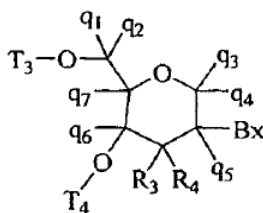
En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula XII:



XII.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 21 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 16 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, la expresión que comprende se incluye únicamente para proporcionar grupos sustituyentes adicionales añadidos de manera rutinaria a los compuestos oligoméricos tales como, pero no limitados a, grupos protectores de hidroxilo, grupos conjugados unidos opcionalmente, grupos terminales 5' y/o 3' y/u otros grupos sustituyentes.

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula XIII:



XIII

en la que independientemente para cada uno de dichos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula XIII:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que X es O, S o NJ₁ y cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆;

en la que dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas; y

al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula XIII están unidos por un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que uno de R₃ y R₄ es H y el otro de R₃ y R₄ es H, OCH₃ o F para al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula XIII.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos un β-D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos un β-D-2'-desoxirribonucleósido en los que al menos un β-D-2'-desoxirribonucleósido está unido a un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula XIII mediante un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

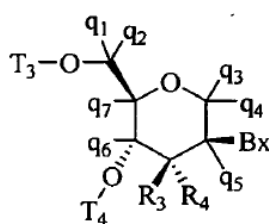
En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos una región de 2 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula XIII. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos una región de 2 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula XIII y al menos una región adicional de 1 a aproximadamente 5 subunidades monoméricas contiguas distintas de β -D-ribonucleósidos o β -D-2'-desoxirribonucleósidos en los que la región adicional está separada de la al menos una región por al menos un β -D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos una región de 2 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula XIII y al menos una región adicional de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula XIII en los que la al menos una región de 2 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula XIII está separada de la región adicional de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula XIII por al menos un nucleósido o nucleósido modificado.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos regiones de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula XIII que comprenden un compuesto oligomérico interrumpido en el que una de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula XIII está situada en el extremo 5' y la otra de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula XIII está situada en el extremo 3' y en la que las dos regiones están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas en las que cada subunidad monomérica es, independientemente, un nucleósido o un nucleósido modificado.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

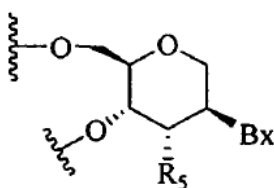
En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 es H. En determinadas formas de realización, en las que al menos uno de q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 o q_7 es distinto de H. En determinadas formas de realización, en las que al menos uno de q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 o q_7 es metilo.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula XIII tiene la configuración de Fórmula XIV:



XIV.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula XV:



XV

en la que:

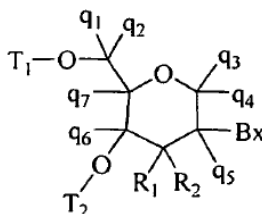
Bx es un resto de base heterocíclica; y
R₅ es H, OCH₃ o F.

5 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula XV. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula XV y cada R₅ es H. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula XV y cada R₅ es OCH₃. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula XV y cada R₅ es F.

10 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 21 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 16 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, la expresión que comprende se incluye únicamente para proporcionar grupos sustituyentes adicionales añadidos de manera rutinaria a los compuestos oligoméricos tales como, pero no limitados a, grupos protectores tales como grupos protectores de hidroxilo, grupos conjugados unidos opcionalmente, grupos terminales 5' y/o 3' y/u otros grupos sustituyentes.

15 En determinadas formas de realización, en el presente documento se proporcionan compuestos oligoméricos para su uso en un tratamiento. En determinadas formas de realización, el tratamiento es tratar una enfermedad caracterizada por una expresión génica no deseada. En determinadas formas de realización, el tratamiento es tratar una enfermedad inhibiendo la expresión génica. En determinadas formas de realización, se pone en contacto una célula en un animal con el compuesto oligomérico. En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento se utilizan en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad caracterizada por una expresión génica no deseada. En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento se utilizan en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad inhibiendo la expresión génica. En determinadas formas de realización, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento y vehículos farmacéuticamente aceptables.

20 También se describen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula I:



I

25 en la que:

30 Bx es un resto de base heterocíclica;
uno de T₁ y T₂ es H o un grupo protector de hidroxilo y el otro de T₁ y T₂ es H, un grupo protector de hidroxilo o un grupo fósforo reactivo;
cada q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;
35 uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido; y
en la que cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

40 En determinadas formas de realización, el otro de R₁ y R₂ es H. En determinadas formas de realización, R₁ y R₂ son cada uno fluoro. En determinadas formas de realización, el otro de R₁ y R₂ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido. En determinadas formas de realización, el otro de R₁ y R₂ es metilo, etilo, metilo sustituido o etilo sustituido. El otro de R₁ y R₂ es metilo.

45

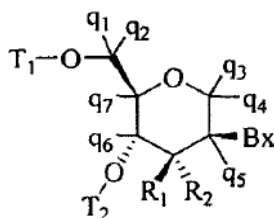
En determinadas formas de realización, q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H. En determinadas formas de realización, al menos uno de q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 es alquilo C_1 - C_6 o alquilo C_1 - C_6 sustituido. En determinadas formas de realización, al menos uno de q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q_1 y q_2 es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q_3 y q_4 es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q_5 , q_6 y q_7 es metilo.

En determinadas formas de realización, T_1 y T_2 son cada uno H. En determinadas formas de realización, al menos uno de T_1 y T_2 es un grupo protector de hidroxilo. En determinadas formas de realización, cada grupo protector de hidroxilo es, independientemente, acetilo, t-butilo, t-butoximetilo, metoximetilo, tetrahidropirano, 1-etoxietilo, 1-(2-cloroetoxi)etilo, 2-trimetilsililetilo, p-clorofenilo, 2,4-dinitrofenilo, bencilo, benzoilo, p-fenilbenzoilo, 2,6-diclorobencilo, difenilmetilo, p-nitrobencilo, trifenilmetilo(tritilo), 4-metoxitritilo, 4,4'-dimetoxitritilo, trimetilsililo, trietilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, trifenilsililo, triisopropilsililo, benzoilformiato, cloroacetilo, tricloroacetilo, trifluoroacetilo, pivaloilo, carbonato de 9-fluorenilmetilo, mesilato, tosilato, triflato, tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo, trimetoxitritilo o pixilo sustituido.

En determinadas formas de realización, T_1 es acetilo, bencilo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, 4-metoxitritilo o 4,4'-dimetoxitritilo. En determinadas formas de realización, uno de T_1 y T_2 es un grupo protector de hidroxilo y el otro de T_1 y T_2 es diisopropilcianoetoxi fosforamidita o H-fosfonato. En determinadas formas de realización, T_1 es 4,4'-dimetoxitritilo y T_2 es diisopropilcianoetoxi fosforamidita.

En determinadas formas de realización, Bx es uracilo, timina, citosina, adenina o guanina. En determinadas formas de realización, Bx es una pirimidina, pirimidina sustituida, purina o purina sustituida en el que dicha sustitución es distinta de un intercalador o un grupo unido que no interacciona con una diana de ácido nucleico cuando el análogo nucleosídico de tetrahidropirano se encuentra en un compuesto oligomérico. En determinadas formas de realización, Bx es uracilo, 5-metiluracilo, 5-tiazolo-uracilo, 2-tio-uracilo, 5-propinil-uracilo, timina, 2'-tio-timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-tiazolo-citosina, 5-propinil-citosina, adenina, guanina, 2,6-diaminopurina, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzotiacin-2(3H)-ona, 9-(2-aminoetoxi)-H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 2H-pirimido[4,5-b]indol-2-ona o H-pirido[3',2':4,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-ona. Bx es uracilo, 5-metiluracilo, 5-propiniluracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-propinil-citosina, adenina o guanina.

También se describen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la configuración mostrada en la Fórmula Ia:



Ia

en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica;

uno de T_1 y T_2 es H o un grupo protector de hidroxilo y el otro de T_1 y T_2 es H, un grupo protector de hidroxilo o un grupo fósforo reactivo;

q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno, independientemente, H, alquilo C_1 - C_6 , alquilo C_1 - C_6 sustituido, alqueno C_2 - C_6 , alqueno C_2 - C_6 sustituido, alquino C_2 - C_6 o alquino C_2 - C_6 sustituido;

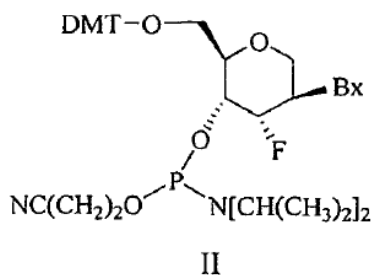
uno de R_1 y R_2 es fluoro y el otro de R_1 y R_2 es H, halógeno, alquilo C_1 - C_6 o alquilo C_1 - C_6 sustituido; y

en la que cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $OC(=X)J_1$, $OC(=X)NJ_1J_2$, $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ y CN , en los que cada uno de J_1 , J_2 y J_3 es, independientemente, H o alquilo C_1 - C_6 , y X es O, S o NJ_1 .

En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la configuración mostrada en la Fórmula Ia en la que R_2 es fluoro. En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la configuración mostrada en la Fórmula Ia en la que R_1 es H y R_2 es fluoro. En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la configuración mostrada en la Fórmula Ia en la que R_1 es H, R_2 es fluoro y q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H.

En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la configuración mostrada en la Fórmula la en la que R₁ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido. En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la configuración mostrada en la Fórmula la en la que R₁ es metilo, etilo, metilo sustituido o etilo sustituido. En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la configuración mostrada en la Fórmula la en la que R₁ y R₂ son cada uno fluoro.

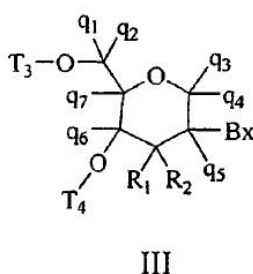
En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula II:



en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica.

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula III:



en la que independientemente para cada uno de dicho al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula III:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁; y

en la que dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas.

En determinadas formas de realización, el otro de R₁ y R₂ es H. En determinadas formas de realización, R₁ y R₂ son cada uno fluoro. En determinadas formas de realización, el otro de R₁ y R₂ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido. En determinadas formas de realización, el otro de R₁ y R₂ es metilo, etilo, metilo sustituido o etilo sustituido. En determinadas formas de realización, el otro de R₁ y R₂ es metilo.

En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es metilo. En determinadas formas de realización, al

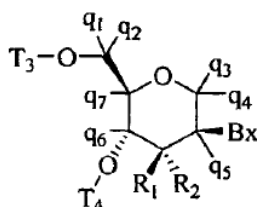
menos uno de q_1 y q_2 es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q_3 y q_4 es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q_5 , q_6 y q_7 es metilo.

En determinadas formas de realización, al menos uno de T_3 y T_4 es un grupo conjugado unido.

En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es, independientemente, un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato o de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

En determinadas formas de realización, cada Bx es, independientemente, uracilo, timina, citosina, adenina o guanina. En determinadas formas de realización, cada Bx es, independientemente, una pirimidina, pirimidina sustituida, purina o purina sustituida en el que dicha sustitución es distinta de un intercalador o un grupo unido que no interacciona con una diana de ácido nucleico. En determinadas formas de realización, Bx es, independientemente, uracilo, 5-metiluracilo, 5-tiazolo-uracilo, 2-tio-uracilo, 2-tio-timina, 5-propinil-uracilo, timina, 2'-tio-timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-tiazolo-citosina, 5-propinil-citosina, adenina, guanina, 2,6-diaminopurina, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzotiacin-2(3H)-ona, 9-(2-aminoetoxi)-H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 2H-pirimido[4,5-b]indol-2-ona o H-pirido[3',2':4,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-ona. En determinadas formas de realización, cada Bx es, independientemente, uracilo, 5-metiluracilo, 5-propinil-uracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-propinil-citosina, adenina o guanina.

También se describen compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula III tiene la configuración mostrada en la Fórmula IIIa:



IIIa

en la que

Bx es un resto de base heterocíclica;

T_3 y T_4 son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T_3 y T_4 es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T_3 y T_4 es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno, independientemente, H, alquilo C_1 - C_6 , alquilo C_1 - C_6 sustituido, alqueno C_2 - C_6 , alqueno C_2 - C_6 sustituido, alquino C_2 - C_6 o alquino C_2 - C_6 sustituido;

uno de R_1 y R_2 es fluoro y el otro de R_1 y R_2 es H, halógeno, alquilo C_1 - C_6 o alquilo C_1 - C_6 sustituido;

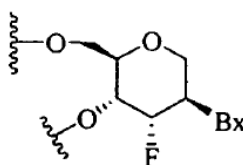
cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $OC(=X)J_1$, $OC(=X)NJ_1J_2$, $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ y CN,

en los que cada uno de J_1 , J_2 y J_3 es, independientemente, H o alquilo C_1 - C_6 , y X es O, S o NJ_1 ; y

en la que el compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 nucleósidos, nucleósidos modificados y o análogos nucleosídicos de tetrahidropirano.

En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula IIIa en la que R_2 es fluoro. En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula IIIa en la que R_2 es fluoro y R_1 es H. En determinadas formas de realización, se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula IIIa en la que R_2 es fluoro, R_1 es H y q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula IV:



IV

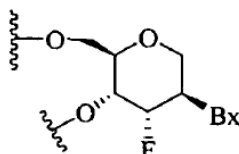
en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica.

5 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que tienen al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula IIIa. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que tienen al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula IIIa y el compuesto oligomérico comprende un blocámero. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que tienen al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula IIIa y el compuesto oligomérico comprende un hemímero 3' o 5'.

15 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que tienen al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula IV:

20



25

IV

30 en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica.

35 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que tienen al menos dos regiones de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos que tienen la Fórmula IIIa que están separadas por al menos un nucleósido o nucleósido modificado. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que tienen al menos dos regiones de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos que tienen la Fórmula IIIa que comprenden un compuesto oligomérico interrumpido en los que una de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y la otra región de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3' y en los que las dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas seleccionadas independientemente de entre nucleósidos, nucleósidos modificados y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, básicamente cada subunidad monomérica en la región interna es un β -D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 12 β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 β -D-2'-desoxirribonucleósidos.

50

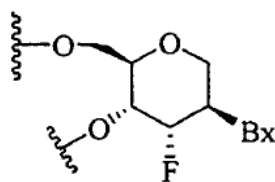
55 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que tienen al menos dos regiones de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos que tienen la Fórmula IIIa que comprenden un compuesto oligomérico interrumpido en los que una de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y la otra región de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3' y en los que las dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas seleccionadas independientemente de entre nucleósidos, nucleósidos modificados y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y la región interna comprende 10 β -D-2'-desoxirribonucleósidos.

60

65 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos interrumpidos, en los que cada región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano comprende independientemente 2 análogos

nucleosídicos de tetrahidropirano y la región interna comprende 10 β -D-2'-desoxirribonucleósidos y cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula IV:

5



10

IV

15

en la que:

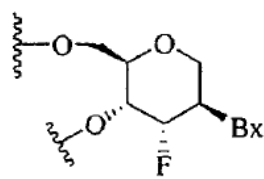
Bx es un resto de base heterocíclica.

20

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que tienen al menos dos regiones de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos que tienen la Fórmula IIIa que comprenden un compuesto oligomérico interrumpido en los que una de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y la otra región de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3' y en los que las dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están separadas por una región interna que comprende 14 β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, cada región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula IV:

25

30



35

IV

40

en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica.

45

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos interrumpidos que comprenden adicionalmente un grupo terminal 3'. En determinadas formas de realización, el grupo terminal 3' comprende de 1 a aproximadamente 4 nucleósidos modificados o sin modificar.

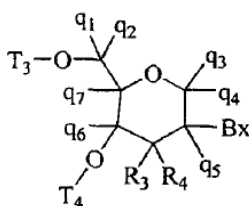
50

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 21 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 16 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas.

55

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V:

60



65

V

en la que independientemente para cada uno de dichos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula V:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁;

dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas; y

en la que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster.

En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ y q₂ es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₃ y q₄ es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₅, q₆ y q₇ es metilo.

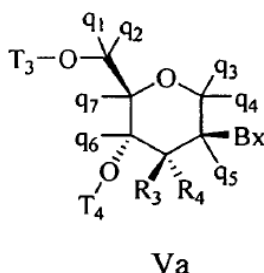
En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H y R₃ es H. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es H. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es OCH₃. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es fluoro. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es hidroxilo. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y cada R₄ es H, OCH₃, fluoro o hidroxilo.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V en los que al menos uno de T₃ y T₄ es un grupo conjugado unido y en los que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato. En determinadas formas de realización, al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que contiene fósforo. En determinadas formas de realización, al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que no contiene fósforo. En determinadas formas de realización, al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico neutro. En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es independientemente un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato o de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V en los que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en los que cada Bx es, independientemente, uracilo, timina, citosina, adenina o guanina. En determinadas formas de realización, cada Bx es, independientemente, una pirimidina, pirimidina sustituida, purina o purina sustituida en el que dicha sustitución es distinta de un intercalador o un grupo unido que no interacciona con una diana de ácido nucleico. En determinadas formas de realización, cada Bx es, independientemente, uracilo, 5-metiluracilo, 5-tiazolo-uracilo, 2-tio-uracilo, 5-propinil-uracilo, timina, 2'-tio-timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-tiazolocitosina, 5-propinil-citosina, adenina, guanina, 2,6-diaminopurina, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzotiacin-2(3H)-ona, 9-(2-aminoetoxi)-H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 2H-pirimido[4,5-b]indol-2-ona o H-pirido[3',2':4,5]-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-ona. En determinadas formas de realización, cada Bx es, independientemente, uracilo, 5-metiluracilo, 5-propinil-uracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-propinil-citosina, adenina o guanina.

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V en los que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión

internucleosídico de fosfodiéster y en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V tiene la configuración mostrada en la Fórmula Va:



Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

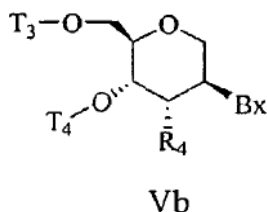
R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido; y

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula Va en los que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en los que el compuesto oligomérico comprende al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un blocámero. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un hemímero 3' o 5'.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula Va en los que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en los que el compuesto oligomérico comprende al menos dos regiones de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos que están separadas por al menos un nucleósido o nucleósido modificado. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un compuesto oligomérico interrumpido en el que una región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y una segunda región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3' en el que las dos regiones externas están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas seleccionadas independientemente de entre nucleósidos, nucleósidos modificados y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, básicamente cada subunidad monomérica en la región interna es un β-D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 12 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente de 2 a aproximadamente 3 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y la región interna comprende 10 β-D-2'-desoxirribonucleósidos.

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V en los que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la fórmula y la configuración mostradas en la Fórmula Vb:



en la que:

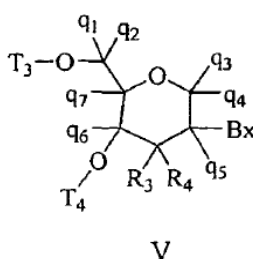
Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3'; y R₄ es H, hidroxilo, fluoro u OCH₃.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V en los que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula Vb y R₄ es H. En determinadas formas de realización, R₄ es hidroxilo. En determinadas formas de realización, R₄ es OCH₃. En determinadas formas de realización, R₄ es fluoro.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V en los que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en los que cada compuesto oligomérico comprende una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 21 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, cada compuesto oligomérico comprende una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 16 subunidades monoméricas. En determinadas formas de realización, cada compuesto oligomérico comprende una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas.

También se describen métodos que comprenden poner en contacto una célula en un animal con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V:



en la que independientemente para cada uno de dicho al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alquenilo C₂-C₆, alquenilo C₂-C₆ sustituido, alquinilo C₂-C₆ o alquinilo C₂-C₆ sustituido;

R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂ NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁; y

en la que dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas y es complementario de un ARN diana.

5 En determinadas formas de realización, la célula se encuentra en un ser humano. En determinadas formas de realización, el ARN diana está seleccionado de entre ARNm, pre-ARNm y micro ARN. En determinadas formas de realización, el ARN diana es ARNm. En determinadas formas de realización, el ARN diana es ARNm humano. En determinadas formas de realización, el ARN diana se escinde inhibiendo de este modo su función.

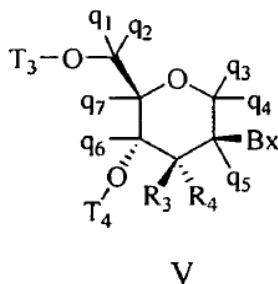
10 En determinadas formas de realización, el método comprende adicionalmente evaluar la actividad antisentido del compuesto oligomérico en dicha célula. En determinadas formas de realización, la evaluación comprende detectar los niveles de ARN diana. En determinadas formas de realización, la evaluación comprende detectar los niveles de una proteína. En determinadas formas de realización, la evaluación comprende detectar uno o más efectos fenotípicos.

15 En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una célula en un animal con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V en la que q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H. En determinadas formas de realización, q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H y R_3 es H. En determinadas formas de realización, q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H, R_3 es H y R_4 es OCH_3 . En determinadas formas de realización, q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H, R_3 es H y R_4 es fluoro. En determinadas formas de realización, q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H, R_3 es H y R_4 es hidroxilo. En determinadas formas de realización, q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H, R_3 es H y cada R_4 es H, OCH_3 , fluoro o hidroxilo.

25 En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una célula en un animal con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V en el que cada grupo de unión internucleosídico es independientemente un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato o de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

30 También se describen métodos que comprenden poner en contacto una célula en un animal con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V en el que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V tiene la configuración mostrada en la Fórmula Vb:

35



45

en la que:

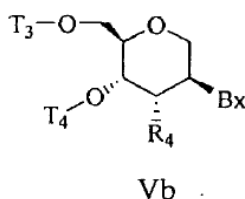
50 Bx es un resto de base heterocíclica;
 T_3 y T_4 son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T_3 y T_4 es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T_3 y T_4 es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';
 55 q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno, independientemente, H, alquilo C_1 - C_6 , alquilo C_1 - C_6 sustituido, alqueno C_2 - C_6 , alqueno C_2 - C_6 sustituido, alquino C_2 - C_6 o alquino C_2 - C_6 sustituido;
 R_3 y R_4 son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C_1 - C_6 , alquilo C_1 - C_6 sustituido, alcoxi C_1 - C_6 o alcoxi C_1 - C_6 sustituido; y
 60 cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $OC(=X)J_1$, $OC(=X)NJ_1J_2$, $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ y CN , en los que cada uno de J_1 , J_2 y J_3 es, independientemente, H o alquilo C_1 - C_6 , y X es O, S o NJ_1 .

65 En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una célula en un animal con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano en el que el compuesto oligomérico comprende al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropiranos que tienen la Fórmula Va. En

determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico es un blocámero. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico es un hemímero 3' o 5'.

5 En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una célula en un animal con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos dos regiones de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos que están separadas por al menos un nucleósido o nucleósido modificado. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un compuesto oligomérico interrumpido en el que una región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y una segunda región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3' en el que las dos regiones externas están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas seleccionadas independientemente de entre nucleósidos, nucleósidos modificados y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada subunidad monomérica en la región interna es un β -D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 12 β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente de 2 a aproximadamente 3 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y la región interna comprende 10 β -D-2'-desoxirribonucleósidos.

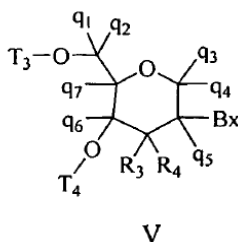
25 También se describen métodos que comprenden poner en contacto una célula en un animal con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V en el que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la fórmula y la configuración mostradas en la Figura Vb:



en la que:

40 Bx es un resto de base heterocíclica;
 T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3'; y
 45 R₄ es H, hidroxilo, fluoro u OCH₃. En determinadas formas de realización, R₄ es H. En determinadas formas de realización, R₄ es hidroxilo. En determinadas formas de realización, R₄ es OCH₃. En determinadas formas de realización, R₄ es fluoro.

50 También se describen métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V:



en la que independientemente para cada uno de dichos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula V:

65 Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁;

dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas y es complementario de un ARN diana; y

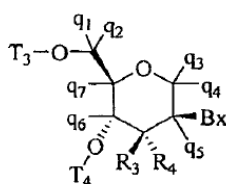
en la que al menos dos de dichos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, la célula se encuentra en un animal. En determinadas formas de realización, la célula se encuentra en un ser humano. En determinadas formas de realización, el ARN diana está seleccionado de entre ARNm, pre-ARNm y micro ARN. En determinadas formas de realización, el ARN diana es ARNm. En determinadas formas de realización, el ARN diana es ARNm humano. En determinadas formas de realización, el ARN diana se escinde inhibiendo de este modo su función.

En determinadas formas de realización, el método comprende adicionalmente evaluar la actividad antisentido de dicho compuesto oligomérico en dicha célula. En determinadas formas de realización, la evaluación comprende detectar los niveles de ARN diana. En determinadas formas de realización, la evaluación comprende detectar los niveles de una proteína. En determinadas formas de realización, la evaluación comprende detectar uno o más efectos fenotípicos.

En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto oligomérico que comprende al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V en los que al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en los que q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H. En determinadas formas de realización, R₃ es H. En determinadas formas de realización, R₄ es OCH₃. En determinadas formas de realización, R₄ es fluoro. En determinadas formas de realización, R₄ es hidroxilo. En determinadas formas de realización, cada R₄ es OCH₃, fluoro o hidroxilo.

En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto oligomérico que comprende al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V en los que al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en los que al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están unidos por un enlace internucleosídico de fosforioato. En determinadas formas de realización, al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un enlace internucleosídico que contiene fósforo que es distinto de un enlace internucleosídico de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un enlace internucleosídico que no contiene fósforo. En determinadas formas de realización, al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un enlace internucleosídico neutro. En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es independientemente un grupo de unión internucleosídico de fosforioato o de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforioato.

También se describen métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto oligomérico que comprende al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos en los que al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V tiene la configuración mostrada en la Fórmula Vb:



Vb

en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alquenilo C₂-C₆, alquenilo C₂-C₆ sustituido, alquinilo C₂-C₆ o alquinilo C₂-C₆ sustituido;

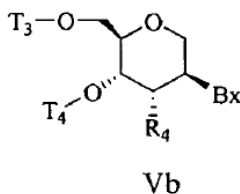
R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido; y

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto oligomérico que comprende al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos en el que al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en el que el compuesto oligomérico según la reivindicación comprende al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula Vb. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un blocámero. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un hemímero 3' o 5'.

En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto oligomérico que comprende al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos en el que al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en el que el compuesto oligomérico según la reivindicación comprende al menos dos regiones contiguas de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula Vb en el que las regiones están separadas por al menos un nucleósido o nucleósido modificado. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un compuesto oligomérico interrumpido en el que una región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y una segunda región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3' en el que las dos regiones externas están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas seleccionadas independientemente de entre nucleósidos, nucleósidos modificados y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada subunidad monomérica en la región interna es un β-D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 12 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente de 2 a aproximadamente 3 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y la región interna comprende 10 β-D-2'-desoxirribonucleósidos.

También se describen métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto oligomérico que comprende al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos en el que al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster y en el que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula V y la configuración mostrada en la Fórmula Vb que se presenta a continuación:

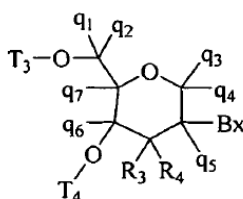


en la que

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3'; y R₄ es H, hidroxilo, fluoro u OCH₃. En determinadas formas de realización, R₄ es H. En determinadas formas de realización, R₄ es hidroxilo. En determinadas formas de realización, R₄ es OCH₃. En determinadas formas de realización, R₄ es fluoro.

También se describen métodos para reducir el ARN mensajero diana que comprenden poner en contacto una o más células, un tejido o un animal con un compuesto oligomérico que comprende al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V:



V

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

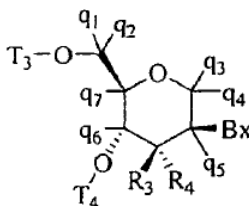
R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁; y

en la que el compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 nucleósidos, nucleósidos modificados y o análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H. En determinadas formas de realización, q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H y R₃ es H. En determinadas formas de realización, q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es OCH₃. En determinadas formas de realización, q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es fluoro. En determinadas formas de realización, q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es hidroxilo. En determinadas formas de realización, q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y cada R₄ es H, OCH₃, fluoro o hidroxilo.

En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos para reducir el ARN mensajero diana que comprenden poner en contacto una o más células, un tejido o un animal con un compuesto oligomérico que comprende al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V en el que cada grupo de unión internucleosídico es, independientemente, un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato o de fosfodiéster. En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

También se describen métodos para reducir el ARN mensajero diana que comprenden poner en contacto una o más células, un tejido o un animal con un compuesto oligomérico que comprende al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano en el que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula Vb:



Vb

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

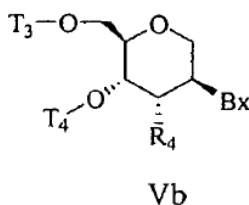
R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido; y

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos para reducir el ARN mensajero diana que comprenden poner en contacto una o más células, un tejido o un animal con un compuesto oligomérico que comprende al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que comprende al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y en el que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula Vb. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un blocámero. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un hemímero 3' o 5'.

En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos para reducir el ARN mensajero diana que comprenden poner en contacto una o más células, un tejido o un animal con un compuesto oligomérico que comprende al menos dos regiones de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos que están separadas por al menos un nucleósido o nucleósido modificado y en el que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula Vb. En determinadas formas de realización, el compuesto oligomérico comprende un compuesto oligomérico interrumpido en el que una región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y una segunda región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3' en el que las dos regiones externas están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas seleccionadas independientemente de entre nucleósidos, nucleósidos modificados y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, básicamente cada subunidad monomérica en la región interna es un β-D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 12 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región externa comprende independientemente de 2 a aproximadamente 3 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y la región interna comprende 10 β-D-2'-desoxirribonucleósidos.

También se describen métodos para reducir el ARN mensajero diana que comprenden poner en contacto una o más células, un tejido o un animal con un compuesto oligomérico que comprende al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano en el que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula Vb:



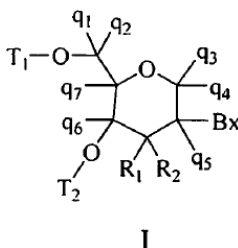
en la que

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3'; y

R₄ es hidroxilo, fluoro u OCH₃. En determinadas formas de realización, R₄ es hidroxilo. En determinadas formas de realización, R₄ es OCH₃. En determinadas formas de realización, R₄ es fluoro.

También se describen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula I:



en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica;

uno de T₁ y T₂ es H o un grupo protector de hidroxilo y el otro de T₁ y T₂ es H, un grupo protector de hidroxilo o un grupo fósforo reactivo;

cada q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido; y

en la que cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

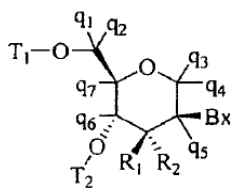
En determinadas formas de realización, uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H. En determinadas formas de realización, R₁ y R₂ son cada uno fluoro. En determinadas formas de realización, uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido. En determinadas formas de realización, uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es metilo, etilo, metilo sustituido o etilo sustituido. En determinadas formas de realización, uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es metilo.

En determinadas formas de realización, q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ y q₂ es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₃ y q₄ es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₅, q₆ y q₇ es metilo.

En determinadas formas de realización, T₁ y T₂ son cada uno H. En determinadas formas de realización, al menos uno de T₁ y T₂ es un grupo protector de hidroxilo. En determinadas formas de realización, cada grupo protector de hidroxilo es, independientemente, acetilo, t-butilo, t-butoximetilo, metoximetilo, tetrahidropirano, 1-etoxietilo, 1-(2-cloroetoxi)etilo, 2-trimetilsililetilo, p-clorofenilo, 2,4-dinitrofenilo, bencilo, benzoilo, p-fenilbenzoilo, 2,6-diclorobencilo, difenilmetilo, p-nitrobencilo, trifenilmetilo(tritilo), 4-metoxitritilo, 4,4'-dimetoxitritilo, trimetilsililo, trietilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, trifenilsililo, triisopropilsililo, benzoilformiato, cloroacetilo, tricloroacetilo, trifluoroacetilo, pivaloilo, carbonato de 9-fluorenilmetilo, mesilato, tosilato, triflato, tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo, trimetoxitritilo o pivaloilo sustituido. En determinadas formas de realización, T₁ es acetilo, bencilo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, 4-metoxitritilo o 4,4'-dimetoxitritilo. En determinadas formas de realización, uno de T₁ y T₂ es un grupo protector de hidroxilo y el otro de T₁ y T₂ es diisopropilcianoetoxi fosforamidita o H-fosfonato. En determinadas formas de realización, T₁ es 4,4'-dimetoxitritilo y T₂ es diisopropilcianoetoxi fosforamidita.

En determinadas formas de realización, Bx es uracilo, timina, citosina, adenina o guanina. En determinadas formas de realización, Bx es una pirimidina, pirimidina sustituida, purina o purina sustituida en el que dicha sustitución es distinta de un intercalador o un grupo unido que no interacciona con una diana de ácido nucleico cuando el análogo nucleosídico de tetrahidropirano se encuentra en un compuesto oligomérico. En determinadas formas de realización, Bx es uracilo, 5-metiluracilo, 5-tiazolo-uracilo, 2-tio-uracilo, 5-propinil-uracilo, timina, 2'-tio-timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-tiazolo-citosina, 5-propinil-citosina, adenina, guanina, 2,6-diaminopurina, 1H-pirido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 1H-pirido[5,4-b][1,4]benzotiacycin-2(3H)-ona, 9-(2-aminoetoxi)-H-pirido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 2H-pirido[4,5-b]indol-2-ona o H-pirido[3',2':4,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-ona. En determinadas formas de realización, Bx es uracilo, 5-metiluracilo, 5-propinil-uracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-propinil-citosina, adenina o guanina.

También se describen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la configuración mostrada en la Fórmula Ia:



Ia

en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica;

uno de T₁ y T₂ es H o un grupo protector de hidroxilo y el otro de T₁ y T₂ es H, un grupo protector de hidroxilo o un grupo fósforo reactivo;

cada q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido; y

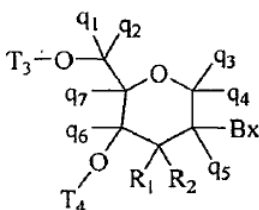
en la que cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

En determinadas formas de realización, se proporciona un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula Ia en la que R₂ es fluoro. En determinadas formas de realización, se proporciona un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula Ia en la que R₁ es H y R₂ es fluoro. En determinadas formas de realización, se proporciona un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula Ia en la que R₁ es H, R₂ es fluoro y q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H.

En determinadas formas de realización, se proporciona un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula Ia en la que R₁ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido y R₂ es fluoro. En determinadas formas de realización, se proporciona un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula Ia en la que R₁ es metilo, etilo, metilo sustituido o etilo sustituido y R₂ es fluoro.

En determinadas formas de realización, se proporciona un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula Ia en la que R₁ y R₂ son cada uno fluoro.

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden cada uno al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula II:



II

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

cada q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

5 cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁; y en la que el compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 nucleósidos, nucleósidos modificados y o análogos nucleosídicos de tetrahidropirano.

10 En determinadas formas de realización, uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H. En determinadas formas de realización, R₁ y R₂ son cada uno fluoro. En determinadas formas de realización, uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido. En determinadas formas de realización, uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es metilo, etilo, metilo sustituido o etilo sustituido. En determinadas formas de realización, uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es metilo.

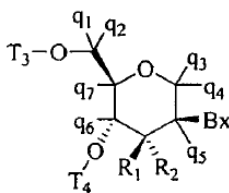
15 En determinadas formas de realización, q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₁ y q₂ es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₃ y q₄ es metilo. En determinadas formas de realización, al menos uno de q₅, q₆ y q₇ es metilo.

20 En determinadas formas de realización, al menos uno de T₃ y T₄ es un grupo conjugado unido.

En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es, independientemente, un fosfodiéster o un fosforotioato. En determinadas formas de realización, cada grupo de unión internucleosídico es un fosforotioato.

25 En determinadas formas de realización, Bx es uracilo, timina, citosina, adenina o guanina. En determinadas formas de realización, Bx es una pirimidina, pirimidina sustituida, purina o purina sustituida en el que dicha sustitución es distinta de un intercalador o un grupo unido que no interacciona con una diana de ácido nucleico cuando el análogo nucleosídico de tetrahidropirano se encuentra en un compuesto oligomérico. En determinadas formas de realización, Bx es uracilo, 5-metiluracilo, 5-tiazolo-uracilo, 2-tio-uracilo, 5-propinil-uracilo, timina, 2'-tio-
30 timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-tiazolo-citosina, 5-propinil-citosina, adenina, guanina, 2,6-diaminopurina, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzotiain-2(3H)-ona, 9-(2-aminoetoxi)-H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 2H-pirimido[4,5-b]indol-2-ona o H-pirido[3',2':4,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-ona. En determinadas formas de realización, Bx es uracilo, 5-metiluracilo, 5-propinil-uracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-propinil-citosina, adenina o guanina.

35 También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula IIa:



en la que

50 Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

55 cada q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

60 cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁; y

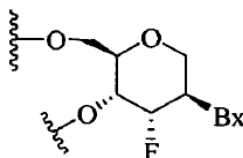
en la que el compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 nucleósidos, nucleósidos modificados y o análogos nucleosídicos de tetrahidropirano.

65 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula IIa en la que R₂ es fluoro. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al

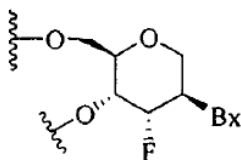
menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula IIa en la que R_1 es H y R_2 es fluoro. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la configuración mostrada en la Fórmula IIa en la que R_1 es H, R_2 es fluoro y $q_1, q_2, q_3, q_4, q_5, q_6$ y q_7 son cada uno H.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, teniendo cada uno la configuración mostrada en la Fórmula IIa. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden un motivo blocámero que tiene al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, teniendo cada uno la configuración mostrada en la Fórmula IIa. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden un motivo hemímero 3' o 5' que tiene al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, teniendo cada uno la configuración mostrada en la Fórmula IIa.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos una región contigua de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, teniendo cada uno la Fórmula y la configuración:



En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos regiones de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos, teniendo cada uno la Fórmula II, que están separadas por al menos un nucleósido o nucleósido modificado. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden un motivo interrumpido que tiene al menos dos regiones de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos, teniendo cada uno la Fórmula II, en los que una región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y la otra región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3' y en los que las dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas seleccionadas independientemente de entre nucleósidos, nucleósidos modificados y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada subunidad monomérica en la región interna es un β -D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 12 β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, cada región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano comprende independientemente de 2 a aproximadamente 3 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, la región interna comprende 10 β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende 10 β -D-2'-desoxirribonucleósidos y cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula y la configuración:

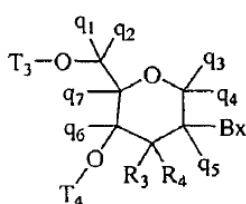


En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden un motivo interrumpido que tiene al menos dos regiones de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos, teniendo cada uno la Fórmula II, en los que una región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y la otra región de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3', las dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas seleccionadas independientemente de entre nucleósidos, nucleósidos modificados y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y los compuestos oligoméricos comprenden adicionalmente un grupo terminal 3'. En determinadas formas de realización, el grupo terminal 3' comprende de 1 a aproximadamente 4 nucleósidos modificados o sin modificar.

En determinadas formas de realización se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada compuesto oligomérico incluye al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula II que comprende una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 21 nucleósidos y/o análogos nucleosídicos. En determinadas formas de realización, cada compuesto oligomérico que incluye al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula II comprende una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 16 nucleósidos y/o análogos nucleosídicos. En determinadas formas de realización, cada compuesto oligomérico que incluye al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula II comprende una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 nucleósidos y/o análogos nucleosídicos.

En determinadas formas de realización, se proporcionan métodos para reducir el ARN mensajero diana que comprenden poner en contacto una o más células, un tejido o un animal con un compuesto oligomérico que incluye al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula II.

También se describen métodos para reducir el ARN mensajero diana que comprenden poner en contacto una o más células, un tejido o un animal con un compuesto oligomérico que comprende al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula III:



III

en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

cada q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

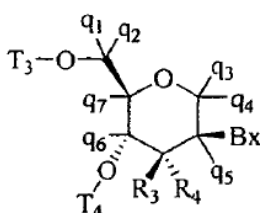
cada R₃ y R₄ es, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alcoxi C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁; y

en la que el compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 nucleósidos, nucleósidos modificados y o análogos nucleosídicos de tetrahidropirano.

En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H y R₃ es H. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es OCH₃. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es fluoro. En determinadas formas de realización, q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H, R₃ es H y R₄ es hidroxilo.

También se describen compuestos en los que cada análogo nucleosídico tetrahidropirano en cada uno de los compuestos oligoméricos utilizados en los métodos tiene la Fórmula y la configuración:



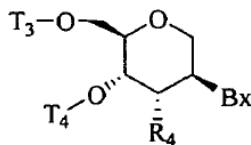
en la que:

- 5 Bx es un resto de base heterocíclica;
 T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';
 10 cada q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;
 cada R₃ y R₄ es, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alcoxi C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido; y
 15 cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

20 En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos utilizados en los métodos comprenden un motivo interrumpido en el que una región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 5' y una segunda región externa de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano está situada en el extremo 3' en el que los dos regiones externas están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 subunidades monoméricas seleccionadas independientemente de entre nucleósidos, nucleósidos modificados y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano.

25 En determinadas formas de realización, básicamente cada subunidad monomérica en la región interna es un β-D-2'-desoxirribonucleósido. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 14 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 12 β-D-2'-desoxirribonucleósidos. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente de 2 a aproximadamente 3 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, cada región externa comprende independientemente 2 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, la región interna comprende 10 β-D-2'-desoxirribonucleósidos.

35 En determinadas formas de realización, cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano utilizado en los presentes métodos tiene la Fórmula y la configuración:



45 en la que:

- Bx es un resto de base heterocíclica;
 T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3'; y
 50 R₄ es hidroxilo, fluoro u OCH₃.

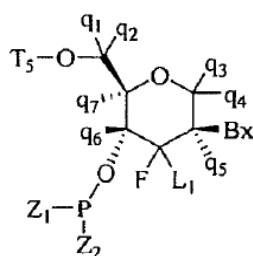
55 En determinadas formas de realización, R₄ es hidroxilo. En determinadas formas de realización, R₄ es OCH₃. En determinadas formas de realización, R₄ es fluoro.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

60 La invención se define en las reivindicaciones adjuntas. En el presente documento se proporcionan análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, compuestos oligoméricos que incluyen tales análogos y métodos para utilizar los compuestos oligoméricos. También se incluyen productos intermedios y métodos para preparar los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y los compuestos oligoméricos. Cada uno de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano tiene una estructura central que comprende un anillo de tetrahidropirano. Fijado a uno de los dos átomos de carbono que flanquean el átomo de oxígeno, hay un primer grupo capaz de formar un enlace internucleosídico y fijado al átomo de carbono al lado del otro átomo de carbono flanqueador (un carbono eliminado del átomo de oxígeno), hay un resto de base heterocíclica. El resto de base heterocíclica puede estar opcionalmente sustituido con grupos para potenciar la afinidad por una base complementaria en una segunda cadena tal como una
 65

diana de ácido nucleico. En determinadas formas de realización, los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano comprenden adicionalmente al menos un átomo de flúor adyacente a la base heterocíclica en el carbono más alejado del átomo de oxígeno del anillo. El átomo de carbono con el átomo de flúor puede estar sustituido adicionalmente o no estarlo.

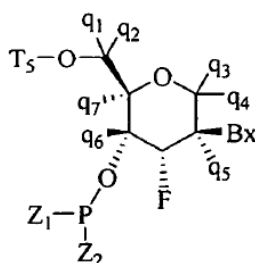
5 En determinadas formas de realización, los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano tienen la Fórmula XVI:



XVI

25 en la que: Bx es un resto de base heterocíclica; T₅ es un grupo protector de hidroxilo; L₁ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido; Z₁ es O⁻ u OE₁; Z₂ es OH, OE₁ o N(E₁)(E₂); cada uno de E₁ y E₂ es, independientemente, alquilo o alquilo sustituido; q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido; en la que cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

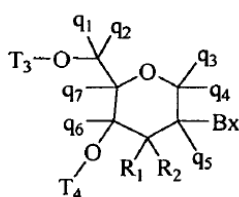
30 En determinadas formas de realización, los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano tienen la configuración de Fórmula XVII:



XVII.

50 En determinadas formas de realización, se define adicionalmente el análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula XVII en la que: q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H; Bx es uracilo, 5-metiluracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, adenina o guanina; T₅ es 4,4'-dimetoxitritilo; Z₁ es O(CH₂)₂CN, y Z₂ es N[CH₂(CH₃)₂]₂.

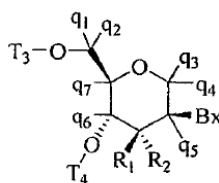
55 En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento comprenden al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X:



X

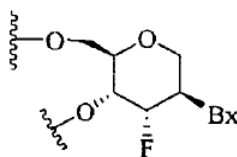
en la que independientemente para cada uno de dicho al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X: Bx es un resto de base heterocíclica; T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3'; q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido; uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido; cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en la que x es O, S o NJ₁ y cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆; y en la que dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas unidas por grupos de unión internucleosídicos y al menos un grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

En determinadas formas de realización, cada uno de los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento comprende al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula XI:



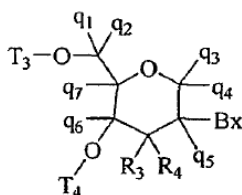
XI.

En determinadas formas de realización, cada uno de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en cada uno de los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento tiene la Fórmula XII:



XII.

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula XIII:

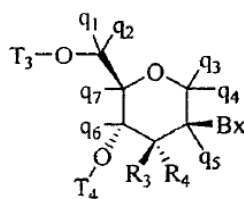


XIII

en la que independientemente para cada uno de dichos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula XIII: Bx es un resto de base heterocíclica; T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3'; q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido; R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido; cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente

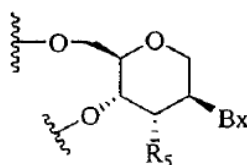
de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que X es O, S o NJ₁ y cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆; en la que dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas; y al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula XIII están unidos por un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula XIII, en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano también tiene la configuración de Fórmula XIV:



XIV.

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula XIII en los que al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula XV:

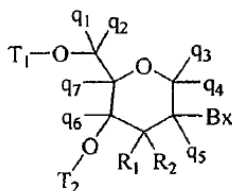


XV

en la que: Bx es un resto de base heterocíclica; y R₅ es H, OCH₃ o F.

También se describen métodos que comprenden poner en contacto una célula en un animal con uno o más de los compuestos oligoméricos descritos en el presente documento. En determinadas formas de realización, la célula se encuentra en un ser humano.

También se describen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula I:



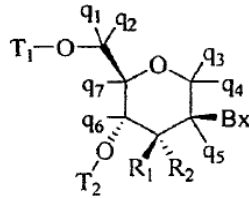
I

en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica;
 uno de T₁ y T₂ es H o un grupo protector de hidroxilo y el otro de T₁ y T₂ es H, un grupo protector de hidroxilo o un grupo fósforo reactivo;
 cada q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;
 uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido; y
 en la que cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂,

$NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ y CN , en los que cada uno de J_1 , J_2 y J_3 es, independientemente, H o alquilo C_1-C_6 , y X es O, S o NJ_1 .

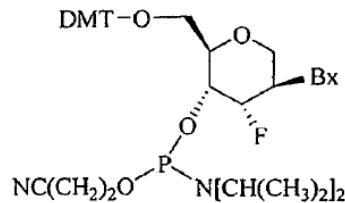
También se describen nucleósidos tetrahidropirano que tienen la configuración mostrada en la Fórmula Ia:



Ia.

En la que se ha definido la configuración, pero las variables se definen igual que para la Fórmula I anteriormente indicada.

En determinadas formas de realización, se proporcionan nucleósidos tetrahidropirano que tiene la Fórmula II:

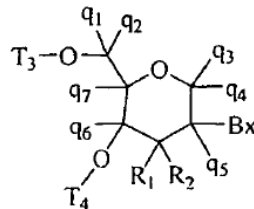


II

en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica.

También se describen compuestos oligoméricos que comprenden al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula III:



III

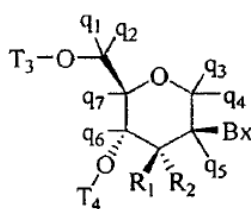
en la que independientemente para cada uno de dicho al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula III:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T_3 y T_4 son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T_3 y T_4 es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T_3 y T_4 es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

$q_1, q_2, q_3, q_4, q_5, q_6$ y q_7 son cada uno, independientemente, H, alquilo C_1-C_6 , alquilo C_1-C_6 sustituido, alqueno C_2-C_6 , alqueno C_2-C_6 sustituido, alquino C_2-C_6 o alquino C_2-C_6 sustituido;
 uno de R_1 y R_2 es fluoro y el otro de R_1 y R_2 es H, halógeno, alquilo C_1-C_6 o alquilo C_1-C_6 sustituido;
 cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $OC(=X)J_1$, $OC(=X)NJ_1J_2$, $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ y CN ,
 en los que cada uno de J_1, J_2 y J_3 es, independientemente, H o alquilo C_1-C_6 , y X es O, S o NJ_1 ; y
 en la que dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas.

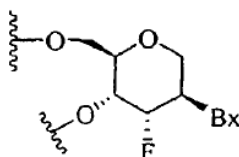
También se describen compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula III tiene la configuración mostrada a continuación en la Fórmula IIIa:



IIIa.

En la que se ha definido la configuración, pero las variables se definen igual que para la Fórmula III anteriormente indicada.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos en los que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula IV:

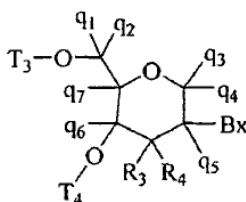


IV

en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica.

También se describen compuestos oligoméricos que tienen al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V:



V

en la que independientemente para cada uno de dichos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula V:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T_3 y T_4 son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T_3 y T_4 es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T_3 y T_4 es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

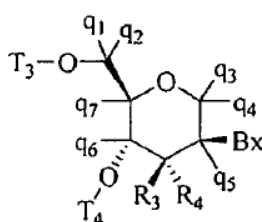
q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

R_3 y R_4 son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido;

5 cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁;

10 dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas; y en la que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster.

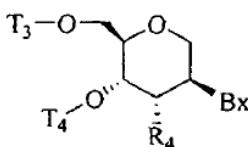
15 También se describen compuestos oligoméricos que tienen al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula Va:



Va

30 En la que se ha definido la configuración, pero las variables se definen igual que para la Fórmula V anteriormente indicada y en la que cada compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas; y en la que para cada compuesto oligomérico al menos dos de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster.

35 También se describen compuestos oligoméricos que tienen al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula Vb:



en la que:

50 Bx es un resto de base heterocíclica;

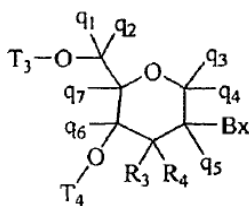
T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3'; y

55 R₄ es H, hidroxilo, fluoro u OCH₃.

También se describen métodos de uso de los compuestos oligoméricos que comprenden poner en contacto una célula en un animal con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V:

60

65



V

en la que independientemente para cada uno de dicho al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

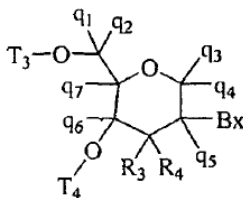
q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁; y

en la que dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas y es complementario de un ARN diana.

Se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto oligomérico, comprendiendo dicho compuesto oligomérico al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula V:



V

en la que independientemente para cada uno de dichos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula V:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

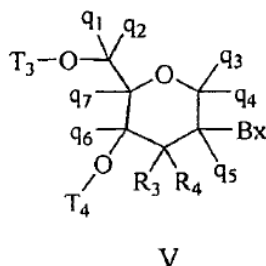
R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁;

dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas y es complementario de un ARN diana; y

en la que al menos dos de dichos al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos están unidos por un grupo de unión internucleosídico que es distinto de un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster.

Se proporcionan métodos que comprenden poner en contacto una o más células, un tejido o un animal con un compuesto oligomérico que comprende al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula V:



en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁ q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

R₃ y R₄ son cada uno, independientemente, H, hidroxilo, fluoro, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alcoxi C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆ sustituido;

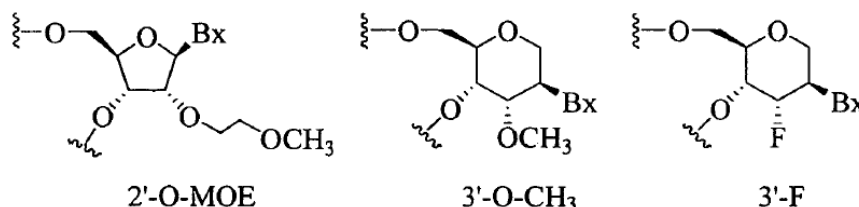
cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁; y

en la que el compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 nucleósidos, nucleósidos modificados y o análogos nucleosídicos de tetrahidropirano.

En determinadas formas de realización, los métodos se llevan a cabo cuando la célula se encuentra en un ser humano y el ARN diana es un ARNm.

Los grupos capaces de formar enlaces internucleosídicos pueden ser variables. En determinadas formas de realización, los grupos capaces de formar enlaces internucleosídicos incluyen grupos fósforo reactivos y alcoholes primarios y secundarios opcionalmente protegidos. En determinadas formas de realización, uno de los grupos capaces de formar un enlace internucleosídico es un hidroximetileno opcionalmente protegido y el otro grupo es un grupo fósforo reactivo o hidroxilo opcionalmente protegido.

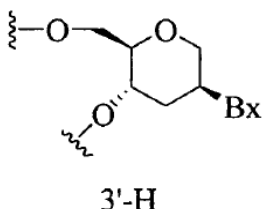
Se incorporaron dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano diferentes en las alas (wings) de compuestos oligoméricos interrumpidos 2/10/2 y se compararon con un compuesto oligomérico interrumpido 2/10/2 que tenía nucleósidos modificados 2'-O-MOE en las alas. En cada uno de los compuestos oligoméricos, cada uno de los 10 nucleósidos en la interrupción es un D-2'-desoxirribonucleósido, las alas están modificadas de manera uniforme y cada enlace internucleosídico es un fosforotioato. Se evaluaron los compuestos oligoméricos interrumpidos para determinar su capacidad para inhibir PTEN tanto *in vitro* como *in vivo*. A continuación se muestra la Fórmula y la configuración de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y del nucleósido modificado 2'-O-MOE:



Los compuestos oligoméricos que tienen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-F y 3'-O-CH₃ demostraron una potenciación de la actividad *in vitro* e *in vivo* en comparación con los nucleósidos modificados 2'-O-MOE, demostrando el 3'-F el mayor nivel de reducción en comparación con el control no tratado (véanse los ejemplos 31 y 33). La potenciación de la actividad *in vitro* de los compuestos oligoméricos que incorporan los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-F o 3'-O-CH₃ no fue predicha por las afinidades de unión de las modificaciones (Tm: 2'-O-MOE > 3'-F > 3'-O-CH₃). Cada uno de los compuestos oligoméricos que tiene los análogos

nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-F o 3'-O-CH₃ tiene una T_m más baja que la del compuesto oligomérico que tiene nucleósidos modificados 2'-O-MOE.

Este nivel de actividad también es inesperado en base a los datos *in vitro* anteriormente publicados. Según la solicitud de patente de EE.UU. N° 2004/0033967, se determinó la T_m de un compuesto oligomérico que tenía análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-H uniformes frente al ARN. Cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano 3'-O-CH₃ incorporado en el compuesto oligomérico 3'-H uniforme aumentaba la T_m para el ARN sólo 0,4°C por modificación.



Se ha notificado anteriormente (Kang *et al.*, Nucleic Acids Research, 2004, 32 (14), 4411-4419) que se comparó la actividad de un compuesto oligomérico interrumpido que tiene análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-H unidos a fosfodiéster en las alas y β-D-2'-desoxirribonucleósidos unidos a fosforotioato en la interrupción con la de un compuesto oligomérico interrumpido similar que tenía enlaces internucleosídicos fosforotioato completos y nucleósidos modificados 2'-O-MOE en las alas. Se notificó que el gapmero (gapmer) que tenía análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-H presentaba actividad *in vitro* similar a la del gapmero MOE. Se notificó adicionalmente que el gapmero que tenía análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-H presentaba toxicidad a concentraciones más altas (Kang, *ibid*). Kang *et al.*, sugirieron que la eliminación de los enlaces internucleosídicos fosforotioato del segmento de interrupción de desoxirribonucleótidos podría reducir la citotoxicidad observada mientras se mantiene la unión a la diana y la resistencia a nucleasas requerida.

Los datos *in vitro* notificados en el presente documento para los compuestos oligoméricos interrumpidos (gapmeros unidos a fosforotioato completos) que tienen β-D-2'-desoxirribonucleósidos en la interrupción y análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, 3'-F o 3'-OCH₃ en las alas, demostraron un aumento moderado de la actividad con respecto a los gapmeros que tenían nucleósidos 2'-O-MOE en las alas. El gapmero 2'-O-MOE tenía una Cl₅₀ de 37 en comparación con los valores de Cl₅₀ de 23 y 16 para los gapmeros que tenían análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-O-CH y 3'-F, respectivamente. La Cl₅₀ más baja para cada uno de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en comparación con el oligómero 2'-O-MOE es inesperada porque las estructuras y los datos de T_m para cada uno de estos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano son similares al análogo nucleosídico 3'-H notificado en Kang.

Además de poseer una mayor actividad *in vitro* en comparación con el gapmero 2'-O-MOE, los gapmeros que tienen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-F o 3'-OCH₃ en las alas y β-D-2'-desoxirribonucleósidos en la interrupción presentaron una potencia *in vivo* que, para la dosis más alta en el estudio, no fue predicha por la T_m o la actividad *in vitro* de los compuestos. En comparación con el gapmero 2'-O-MOE el gapmero 3'-O-CH₃ mostró una potencia dos veces superior y el gapmero 3'-F mostró una potencia ocho veces superior.

También fue inesperado el nivel de actividad *in vitro* e *in vivo* de los compuestos oligoméricos interrumpidos que tenían análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-F en comparación con los compuestos oligoméricos interrumpidos con nucleósidos bloqueados que tenían azúcares con puentes 4'-CH₂-O-2'. Los compuestos oligoméricos interrumpidos que tienen estos motivos (ejemplos 32 y 35) presentan niveles muy altos de actividad *in vitro* e *in vivo* y en cada estudio los niveles entre las dos químicas es básicamente igual. La T_m para el ARN complementario, como se muestra en el presente documento, es de 60,51°C para el compuesto oligomérico interrumpido que tiene los nucleósidos bloqueados y 52,6 (50,7 con/sin grupos 5'-CH₃ en los monómeros en el motivo 2/10/2 de las alas) para el compuesto oligomérico interrumpido que tiene los análogos nucleosídicos modificados tetrahidropirano 3'-F. Esta es una diferencia de 8°C-10°C para el compuesto oligomérico con los nucleósidos bloqueados que tienen azúcares con puentes 4'-CH₂-O-2'. El nivel de actividad *in vitro* e *in vivo* de los compuestos oligoméricos que tienen análogos nucleosídicos de tetrahidropirano 3'-F y nucleósidos bloqueados que tienen azúcares con puentes 4'-CH₂-O-2' en las alas es inesperado en base a la diferencia de 8°C-10°C en la T_m.

Además de la actividad potenciada, los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano también presentan una menor toxicidad cuando se comparan con un nucleósido bloqueado como queda demostrado en los ejemplos *in vivo*. Los niveles de ALT y AST son extremadamente elevados en el grupo de dosis alta para los nucleósidos bloqueados que tienen el puente 4'-CH₂-O-2' (Ejemplo 35). La ALT y las AST para los diferentes compuestos oligoméricos interrumpidos (motivos 2/10/2 y 2/14/2) que tienen el análogo nucleosídico de tetrahidropirano seleccionado no muestran un aumento significativo.

Además de tener actividad potenciada, también se espera que los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano sean útiles para mejorar las propiedades deseadas de los compuestos oligoméricos en los que se incorporan, tal como la resistencia a nucleasas. También se espera que los compuestos oligoméricos que comprenden tales análogos nucleosídicos de tetrahidropirano sean útiles como cebadores y sondas en diversas aplicaciones de diagnóstico.

En determinadas formas de realización, los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano son útiles para modificar compuestos oligoméricos en una o más posiciones. Tales compuestos oligoméricos modificados pueden ser descritos como poseedores de un motivo concreto. En determinadas formas de realización, los motivos incluyen, sin limitación, un motivo interrumpido, un motivo hemímero, un motivo blocámero, un motivo completamente modificado, un motivo modificado posicionalmente y un motivo alterno. Junto con estos motivos también puede utilizarse una amplia variedad de enlaces, incluidos pero no limitados a, enlaces fosfodiéster y fosforotioato utilizados de manera uniforme o en combinaciones. Pueden optimizarse fácilmente el posicionamiento de los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano y el uso de estrategias de enlace para potenciar la actividad de una diana seleccionada. Pueden modificarse adicionalmente tales motivos incluyendo un grupo terminal 5' o 3', tal como un grupo conjugado.

El término "motivo" se refiere al patrón de nucleósidos en un compuesto oligomérico. El patrón viene determinado por el posicionamiento de los nucleósidos que tienen β -D-2'-desoxirribonucleósidos y/o β -D-ribonucleósidos sin modificar, y/o grupos de azúcares modificados dentro de un compuesto oligomérico. El tipo de base heterocíclica y de enlaces internucleosídicos utilizados en cada posición es variable y no es un factor que determine el motivo de un compuesto oligomérico. La presencia de uno o más de otros grupos, incluidos pero no limitado a, grupos de protección terminal y grupos conjugados tampoco es un factor que determine el motivo.

Las patentes de Estados Unidos representativas que instruyen sobre la preparación de motivos representativos incluyen, pero no se limitan a, las N^o 5.013.830, 5.149.797, 5.220.007, 5.256.775, 5.366.878, 5.403.711, 5.491.133, 5.565.350, 5.623.065, 5.652.355, 5.652.356 y 5.700.922, algunas de las cuales son del mismo solicitante que la presente solicitud. Los motivos también se describen en las solicitudes internacionales PCT/US2005/019219, presentada el 2 de junio de 2005 y publicada como WO 2005/121371, el 22 de diciembre de 2005 y la PCT/US2005/019220, presentada el 2 de junio de 2005 y publicada como WO 2005/121372 el 22 de diciembre de 2005.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "motivo alterno" incluye una secuencia contigua de nucleósidos que comprende dos subunidades monoméricas diferentes que se alternan básicamente por toda la secuencia del compuesto oligomérico. El patrón de alternancia puede describirse mediante la fórmula: 5'-A(-L-B-L-A)_n(-L-B)_m-3' en la que uno de cada A o cada B es un análogo nucleosídico de tetrahidropirano y el otro de cada A o B es una subunidad monomérica que es distinta de un nucleósido tetrahidropirano, cada L es un grupo de unión internucleosídico, nn es 0 ó 1 y n es de aproximadamente 4 a aproximadamente 12. Esto permite alternar compuestos oligoméricos de aproximadamente 9 a aproximadamente 26 subunidades monoméricas de longitud. Este intervalo de longitudes no pretende ser limitativo, ya que también son abordables por la presente invención compuestos oligoméricos más largos y más cortos. Esta fórmula también permite longitudes pares e impares para alternar compuestos oligoméricos.

En determinadas formas de realización, el otro de cada A o B está seleccionado de entre β -D-ribonucleósidos, nucleósidos modificados en 2', nucleósidos 4'-tio-modificados, nucleósidos 4'-tio-2'-modificados, nucleósidos modificados con azúcares bicíclicos y otros nucleósidos modificados. El motivo alterno no está definido por la secuencia de bases nitrogenadas o las enlaces internucleosídicos.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "motivo completamente modificado" incluye una secuencia contigua de subunidades monoméricas que tienen el mismo grupo de azúcar o grupo sustituto de azúcar. En determinadas formas de realización, el motivo completamente modificado incluye una secuencia contigua de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, los extremos terminales 3' y 5' comprenden nucleósidos sin modificar.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "motivo hemímero" incluye un compuesto oligomérico que tiene una secuencia contigua de subunidades monoméricas de un tipo con una secuencia contigua de subunidades monoméricas de un segundo tipo situada en uno de los extremos terminales. Los dos tipos de subunidades monoméricas se diferencian por el tipo de grupo de azúcar o grupo sustituto de azúcar que comprende los nucleósidos y es independiente del tipo de base y enlace utilizados. Los grupos sustitutos de azúcares incluyen azúcares diferentes de los de tipo ribosa, tales como los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que se describen más adelante en los que se utiliza un anillo de tetrahidropirano en lugar del anillo de ribosa. En determinadas formas de realización, el grupo sustituto de azúcar es un resto tetrahidropirano que comprende un análogo nucleosídico de tetrahidropirano. En determinadas formas de realización, el motivo hemímero comprende una secuencia contigua de aproximadamente 10 a aproximadamente 28 subunidades monoméricas de un tipo que tiene de 1 a 5 o de 2 a 5 subunidades monoméricas de un segundo tipo situadas en uno de los extremos terminales. En determinadas formas de realización, el hemímero es una secuencia contigua de aproximadamente 8 a

aproximadamente 20 β -D-2'-desoxirribonucleósidos que tienen de 1-12 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos situados en uno de los extremos terminales. En determinadas formas de realización, el hemímero es una secuencia contigua de aproximadamente 8 a aproximadamente 20 β -D-2'-desoxirribonucleósidos que tienen de 1 a 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos situados en uno de los extremos terminales. En determinadas formas de realización, el hemímero es una secuencia contigua de aproximadamente 12 a aproximadamente 18 β -D-2'-desoxirribonucleósidos que tienen de 1 a 3 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos situados en uno de los extremos terminales.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "motivo blocámero" incluye un compuesto oligomérico que tiene una secuencia contigua de subunidades monoméricas de un tipo con una secuencia contigua de subunidades monoméricas de un segundo tipo situada en el interior. Los dos tipos de subunidades monoméricas se diferencian por el tipo de grupo de azúcar o grupo sustituto de azúcar que comprende los nucleósidos y es independiente del tipo de base y enlace utilizados. La definición de blocámero se solapa un poco con la de gapmero, pero por lo general en un blocámero sólo las subunidades monoméricas en el bloque están modificadas y en un gapmero sólo las subunidades monoméricas en las regiones externas están modificadas. En determinadas formas de realización, los blocámeros pueden tener otros tipos de subunidades monoméricas modificadas por todo el compuesto oligomérico en las posiciones no ocupadas por el bloque.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "motivo modificado posicionalmente" incluye una secuencia de subunidades monoméricas de un tipo que está interrumpida con dos o más regiones de 1 a aproximadamente 5 subunidades monoméricas modificadas de un tipo. En determinadas formas de realización, un compuesto oligomérico modificado posicionalmente es una secuencia de 8 a 20 β -D-2'-desoxirribonucleósidos que incluye adicionalmente dos o tres regiones de 2 a aproximadamente 5 nucleósido tetrahidropirano contiguos de cada uno. Los compuestos oligoméricos modificados posicionalmente se distinguen de los motivos interrumpidos, los motivos hemímeros, los motivos blocámeros y los motivos alternos porque el patrón de la sustitución regional definido por cualquier motivo posicional no está definido por estos otros motivos. Los motivos modificados posicionalmente no están determinados por la secuencia de bases nitrogenadas o la situación o los tipos de enlaces internucleosídicos. La expresión "compuesto oligomérico modificado posicionalmente" incluye muchos patrones de sustitución específicos diferentes.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "gapmero" o la expresión "compuesto oligomérico interrumpido" incluye una secuencia contigua de nucleósidos que se divide en 3 regiones, una región interna que tiene una región externa en cada uno de los extremos terminales 5' y 3'. Las regiones se diferencian unas de otras al menos por tener diferentes grupos de azúcares o grupos sustitutos de azúcares que comprenden los nucleósidos. En determinadas formas de realización, cada una de las regiones exteriores tiene, independientemente, de 1 a aproximadamente 5 nucleósidos modificados y la región interna tiene de 6 a 18 nucleósidos. Los tipos de nucleósidos que se utilizan generalmente para diferenciar las regiones de un compuesto oligomérico interrumpido incluyen, pero no se limitan a, β -D-ribonucleósidos, β -D-2'-desoxirribonucleósidos, nucleósidos modificados en 2', nucleósidos 4'-tio-modificados, nucleósidos 4'-tio-2'-modificados, nucleósidos modificados con azúcares bicíclicos y sustitutos de azúcares que contiene nucleósidos tales como análogos nucleosídicos de tetrahidropirano. Cada una de las regiones de un compuesto oligomérico interrumpido está modificada de manera básicamente uniforme por ejemplo, los grupos de azúcares o grupos sustitutos de azúcares son idénticos, teniendo al menos la región interna grupos de azúcares diferentes a los de cada una de las regiones externas. La región interna o la interrupción comprende generalmente β -D-2'-desoxirribonucleósidos, pero puede ser una secuencia de nucleósidos modificados en el azúcar.

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos interrumpidos comprenden una región interna de β -D-2'-desoxirribonucleósidos, comprendiendo una de las regiones externas análogos nucleosídicos de tetrahidropirano como se describe en el presente documento. En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos interrumpidos comprenden una región interna de β -D-2'-desoxirribonucleósidos, comprendiendo ambas regiones externas análogos nucleosídicos de tetrahidropirano como se describe en el presente documento. En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos interrumpidos comprenden una región interna de β -D-2'-desoxirribonucleósidos, comprendiendo ambas regiones externas análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula II. En los Ejemplos 32 y 35 se muestra un ejemplo adicional de motivo interrumpido, en el que un compuesto oligomérico que comprende 14 nucleósidos tiene 2 nucleósidos bicíclicos situados en cada uno de los extremos 3' y 5' e incluye adicionalmente 10 β -D-2'-desoxirribonucleósidos sin modificar en la región interna. Este compuesto oligomérico tiene un motivo interrumpido en el que las regiones externas terminales de los nucleósidos bicíclicos se consideran las alas y la región interna de β -D-2'-desoxirribonucleósido se considera la interrupción.

En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos interrumpidos que comprenden uno o dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en el extremo 5', dos o tres análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en el extremo 3' y una región interna de 10 a 16 nucleósidos. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos interrumpidos que comprenden un análogo nucleosídico de tetrahidropirano en el extremo 5', dos análogos nucleosídicos tetrahidropirano en el extremo 3' y una región interna de 10 a 16 nucleósidos. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos

oligoméricos interrumpidos que comprenden un análogo nucleosídico de tetrahidropirano en el extremo 5', dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en el extremo 3' y una región interna de 10 a 14 nucleósidos. En determinadas formas de realización, la región interna es básicamente una secuencia contigua de β -D-2'-desoxirribonucleósidos. En otra forma de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que incluyen adicionalmente, pero no se limitan a, uno o más grupos terminales 5' o 3' tales como nucleósidos modificados o sin modificar, grupos conjugados con enlaces y otros grupos adicionales conocidos para el experto en la materia.

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos interrumpidos que se proporcionan tienen una longitud de aproximadamente 10 a aproximadamente 21 nucleósidos. En otra forma de realización, los compuestos oligoméricos interrumpidos que se proporcionan tienen una longitud de aproximadamente 12 a aproximadamente 16 nucleósidos. En una forma de realización adicional, los compuestos oligoméricos interrumpidos que se proporcionan tienen una longitud de aproximadamente 12 a aproximadamente 14 nucleósidos.

En un aspecto, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula III. En otro aspecto, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula IIIa. En otro aspecto, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la fórmula IV. En otro aspecto, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula V. En otro aspecto, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula Va. En otro aspecto, se proporcionan compuestos oligoméricos que comprenden análogos nucleosídicos de tetrahidropirano que tienen la Fórmula Vb.

El término "sustituyente" y la expresión "grupo sustituyente", tal como se utilizan en el presente documento, incluyen grupos que se añaden por lo general a otros grupos o compuestos precursores para mejorar las propiedades deseadas o proporcionar efectos deseados. Los grupos sustituyentes pueden estar protegidos o sin proteger y pueden añadirse a un sitio disponible o a muchos sitios disponibles en un compuesto precursor. Los grupos sustituyentes pueden también estar sustituidos adicionalmente con otros grupos sustituyentes y pueden estar unidos directamente o por medio de un grupo de unión tal como un grupo hidrocarbilo o alquilo a un compuesto precursor. Tales grupos incluyen, sin limitación, halógeno, hidroxilo, alquilo, alqueno, alquino, acilo (-C(O)R_{aa}), carboxilo (-C(O)O-R_{aa}), grupos alifáticos, grupos alicíclicos, alcoxi, oxi sustituido (-o-R_{aa}), arilo, aralquilo, heterocíclicos, heteroarilo, heteroarilalquilo, amino (-NR_{bb}R_{cc}), imino (=NR_{bb}), amido (-C(O)NR_{bb}R_{cc} o -N(R_{bb})C(O)R_{aa}), azido (-N₃), nitro (-NO₂), ciano (-CN), carbamido (-OC(O)NR_{bb}R_{cc} o -N(R_{bb})C(O)OR_{aa}), ureido (-N(R_{bb})C(O)NR_{bb}R_{cc}), tioureido (-N(R_{bb})C(S)NR_{bb}R_{cc}), guanidinilo (-N(R_{bb})C(=NR_{bb})NR_{bb}R_{cc}), amidinilo (-C(=NR_{bb})NR_{bb}R_{cc} o -N(R_{bb})C(NR_{bb})R_{aa}), tiol (-SR_{bb}), sulfínilo (-S(O)R_{bb}), sulfonil (-S(O)₂R_{bb}), sulfonamidilo (-S(O)₂NR_{bb}R_{cc} o -N(R_{bb})S(O)₂R_{bb}) y grupos conjugados. En los que cada R_{aa}, R_{bb} y R_{cc} es, independientemente, H, un grupo funcional químico opcionalmente unido o un grupo sustituyente adicional, incluyendo una lista preferente sin limitación H, alquilo, alqueno, alquino, alifático, alcoxi, acilo, arilo, aralquilo, heteroarilo, alicíclico, heterocíclico y heteroarilalquilo. Los sustituyentes seleccionados dentro de los compuestos descritos en el presente documento están presentes en un grado recursivo.

En este contexto, "sustituyente recursivo" significa que un sustituyente puede relatar otro ejemplo de sí mismo. Debido a la naturaleza recursiva de tales sustituyentes, teóricamente puede haber un gran número en cualquier reivindicación determinada. Un experto en la técnica de la química médica y la química orgánica entiende que el número total de tales sustituyentes está razonablemente limitado por las propiedades deseadas del compuesto previsto. Tales propiedades incluyen, a modo de ejemplo y no de limitación, propiedades físicas tales como el peso molecular, la solubilidad o el log P, propiedades de aplicación tales como la actividad frente a la diana prevista, y propiedades prácticas tales como la facilidad de síntesis.

Los sustituyentes recursivos son un aspecto pretendido de la invención. Un experto en la técnica de la química médica y orgánica entiende la versatilidad de tales sustituyentes. En la medida en que haya sustituyentes recursivos en una reivindicación de la invención, el número total se determinará como se ha expuesto anteriormente.

El término "alquilo", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un radical de hidrocarburo lineal o ramificado, saturado, que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, butilo, isopropilo, n-hexilo, octilo, decilo, dodecilo y similares. Los grupos alquilo incluyen por lo general de 1 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más habitualmente de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono (alquilo C₁-C₁₂) siendo más preferente que tengan de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono. La expresión "alquilo inferior", tal como se utiliza en el presente documento, incluye de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Grupos alquilo tal como se utiliza en el presente documento pueden incluir opcionalmente uno o más grupos sustituyentes adicionales.

El término "alqueno", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono y que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alqueno incluyen, pero no se limitan a, etenilo, propenilo, butenilo, 1-metil-2-buten-1-ilo, dienos tales como 1,3-butadieno y similares. Los grupos alqueno incluyen por lo general de 2 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más habitualmente de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono,

siendo más preferente que tengan de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Los grupos alqueno tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente uno o más grupos sustituyentes adicionales.

5 El término "alquino", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un radical de hidrocarburo lineal o ramificado que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono y que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono. Los ejemplos de grupos alquino incluyen, pero no se limitan a, etino, 1-propino, 1-butino, y similares. Los grupos alquino incluyen por lo general de 2 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más habitualmente de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono, siendo más preferente que tengan de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Los grupos alquino tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente uno o más grupos sustituyentes adicionales.

15 El término "acilo", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un radical formado por la eliminación de un grupo hidroxilo de un ácido orgánico y tiene la fórmula general C-(O)-X en la que X es por lo general alifático, alicíclico o aromático. Los ejemplos incluyen carbonilos alifáticos, carbonilos aromáticos, sulfonilos alifáticos, sulfonilos aromáticos, sulfonilos alifáticos, fosfatos aromáticos, fosfatos alifáticos y similares. Los grupos acilo tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

20 El término "alícíclico" o "alíciclico" se refiere a un sistema de anillo cíclico en el que el anillo es alifático. El sistema de anillo puede comprender uno o más anillos en el que al menos un anillo es alifático. Los alícíclicos preferentes incluyen anillos que tienen de aproximadamente 5 a aproximadamente 9 átomos de carbono en el anillo. Alícíclico tal como se utiliza en el presente documento puede incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

25 El término "alifático", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un radical de hidrocarburo lineal o ramificado que contiene hasta veinticuatro átomos de carbono en el que la saturación entre dos átomos de carbono cualesquiera es un enlace sencillo, doble o triple. Un grupo alifático contiene preferentemente de 1 a aproximadamente 24 átomos de carbono, más habitualmente de 1 a aproximadamente 12 átomos de carbono, siendo más preferente que tengan de 1 a aproximadamente 6 átomos de carbono. La cadena lineal o ramificada de un grupo alifático puede estar interrumpida con uno o más heteroátomos que incluyen nitrógeno, oxígeno, azufre y fósforo. Tales grupos alifáticos interrumpidos por heteroátomos incluyen, sin limitación polialcoxis, tales como polialquilenglicoles, poliaminas y poliiminas. Los grupos alifáticos tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

35 El término "alcoxi", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un radical formado entre un grupo alquilo y un átomo de oxígeno en el que el átomo de oxígeno se utiliza para fijar el grupo alcoxi a una molécula precursora. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, *n*-butoxi, *sec*-butoxi, *terc*-butoxi, *n*-pentoxi, neopentoxi, *n*-hexoxi y similares. Los grupos alcoxi tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

40 El término "aminoalquilo", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un radical alquilo aminosustituido. Este término incluye grupos alquilo C₁-C₁₂ que tienen un sustituyente amino en cualquier posición y en los que el grupo alquilo fija el grupo aminoalquilo a la molécula precursora. Las porciones alquilo y/o amino del grupo aminoalquilo pueden estar sustituidas adicionalmente con grupos sustituyentes.

45 Los términos "aralquilo" y "arilalquilo", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a un radical formado entre un grupo alquilo y un grupo arilo en el que el grupo alquilo se utiliza para fijar el grupo aralquilo a una molécula precursora. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, bencilo, fenilo y similares. Los grupos aralquilo tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales fijados al alquilo, al arilo o a ambos grupos que forman el grupo radical.

50 Los términos "arilo" y "aromático", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a radicales del sistema de anillo carbocíclico mono o policíclico que tienen uno o más anillos aromáticos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, indenilo y similares. Los sistemas de anillo de arilo preferentes tienen de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 átomos de carbono en uno o más anillos. Los grupos arilo tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

55 Los términos "halo" y "halógeno", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a un átomo seleccionado de entre flúor, cloro, bromo y yodo.

60 Los términos "heteroarilo" y "heteroaromático", tal como se utilizan en el presente documento, se refieren a un radical que comprende un sistema de anillo condensado, sistema de anillo o anillo aromático mono o policíclico, en el que al menos uno de los anillos es aromático e incluye uno o más heteroátomos. Heteroarilo también incluye sistemas de anillo condensado, incluidos sistemas en los que uno o más de los anillos condensados no contienen heteroátomos. Los grupos heteroarilo incluyen por lo general un átomo en el anillo seleccionado de entre azufre, nitrógeno u oxígeno. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, pero no se limitan a, piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, oxadiazolilo, tiofenilo, furanilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, quinoxalinilo, y similares. Los radicales heteroarilo pueden

65

fijarse a una molécula precursora directamente o a través de un resto de unión tal como un grupo alifático o heteroátomo. Los grupos heteroarilo tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

5 El término "heteroarilalquilo", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo heteroarilo como se ha definido anteriormente que tiene un radical alquilo que puede fijar el grupo heteroarilalquilo a una molécula precursora. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, piridinilmetilo, pirimidiniletilo, naftiridinilpropilo y similares. Los grupos heteroarilalquilo tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales en una o ambas de las porciones heteroarilo o alquilo.

10 La expresión "radical heterocíclico", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un radical de sistema de anillo mono o policíclico que incluye al menos un heteroátomo y está insaturado, parcialmente saturado o completamente saturado, por lo que incluye grupos heteroarilo. Heterocíclico también incluye sistemas de anillo condensado en los que uno o más de los anillos condensados contiene al menos un heteroátomo y los demás anillos pueden contener uno o más heteroátomos o pueden, opcionalmente, no contener heteroátomos. Un grupo heterocíclico incluye por lo general al menos un átomo seleccionado de entre azufre, nitrógeno u oxígeno. Los ejemplos de grupos heterocíclicos incluyen, [1,3]dioxolano, pirrolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo, quinoxalinilo, piridazinonilo, tetrahidrofurilo y similares. Los grupos heterocíclicos tal como se utilizan en el presente documento pueden incluir opcionalmente grupos sustituyentes adicionales.

15 El término "hidrocarbilo" incluye grupos que contienen C, O y H. Quedan incluidos los grupos lineales, ramificados y cíclicos con cualquier grado de saturación. Tales grupos hidrocarbilo pueden incluir uno o más heteroátomos seleccionados de entre N, O y S y pueden estar adicionalmente mono o polisustituidos con uno o más grupos sustituyentes.

20 La expresión "estructura mono o policíclica", tal como se utiliza en el presente documento, incluye todos los sistemas de anillo que son sencillos o policíclicos que tienen anillos que están fusionados o unidos e incluye sistemas de anillo sencillos y mixtos seleccionados individualmente de entre alifático, alicíclico, arilo, heteroarilo, aralquilo, arilalquilo, heterocíclico, heteroarilo, heteroaromático, heteroarilalquilo. Tales estructuras mono y policíclicas pueden contener anillos que son uniformes o que tienen diferentes grados de saturación, incluidos completamente saturados, parcialmente saturados o completamente insaturados. Cada anillo puede comprender átomos de anillo seleccionados de entre C, N, O y S para dar lugar a anillos heterocíclicos, así como anillos que comprenden solamente átomos de C en el anillo que pueden estar presentes en un motivo mixto tal como, por ejemplo bencimidazol, en el que un anillo tiene solamente átomos de C en el anillo y el anillo condensado tiene dos átomos de nitrógeno. Las estructuras mono o policíclicas pueden estar sustituidas adicionalmente con grupos sustituyentes tales como, por ejemplo, ftalimida, que tiene dos grupos =O fijados a uno de los anillos. En otro aspecto, las estructuras mono o policíclicas pueden estar fijadas a una molécula precursora directamente a través de un átomo en el anillo, a través de un grupo sustituyente o un resto de unión bifuncional.

30 El término "oxo" se refiere al grupo (=O).

35 Las expresiones "ácido nucleico bicíclico (BNA)" y "nucleósido bicíclico" se refieren a un nucleósido en el que la porción furanosa del nucleósido incluye un puente que conecta dos átomos de carbono en el anillo de furanosa, formando así un sistema de anillo bicíclico.

40 La expresión "análogo nucleosídico bicíclico" se refiere a nucleósidos similares a BNA en los que el azúcar ribosa se ha reemplazado o modificado. Tal como se utiliza en la presente solicitud, análogos nucleosídicos de tetrahidropirano se refiere a análogos nucleosídicos de tetrahidropirano en los que la porción ribosa del nucleósido se reemplaza con un anillo de tetrahidropirano.

45 Las expresiones "compuesto estable" y "estructura estable" indican un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento hasta un grado útil de pureza a partir de una mezcla de reacción, y la formulación en un agente terapéutico eficaz. En el presente documento sólo se contemplan los compuestos estables.

50 Los grupos de unión o restos de unión bifuncionales, tales como los conocidos en la técnica, son útiles para fijar grupos químicos funcionales, grupos conjugados, grupos indicadores y otros grupos a sitios selectivos en un compuesto precursor, tal como por ejemplo un compuesto oligomérico. En general, un resto de unión bifuncional comprende un resto hidrocarbilo que tiene dos grupos funcionales. Uno de los grupos funcionales se selecciona para que se una a una molécula precursora o compuesto de interés y el otro se selecciona para que se una básicamente a cualquier grupo seleccionado, tal como un grupo funcional químico o un grupo conjugado. En algunas formas de realización, el conector comprende una estructura de cadena o un oligómero de unidades de repetición, tales como unidades de aminoácidos o etilenglicoles. Los ejemplos de grupos funcionales que se utilizan de manera rutinaria en los restos de unión bifuncionales incluyen, pero no se limitan a, electrófilos para que reaccionen con grupos nucleófilos y nucleófilos para que reaccionen con grupos electrófilos. En algunas formas de realización, los restos de

unión bifuncionales incluyen amino, hidroxilo, ácido carboxílico, tiol, insaturaciones (por ejemplo, dobles o triples enlaces), y similares. Algunos ejemplos no limitativos de restos de unión bifuncionales incluyen ácido 8-amino-3,6-dioxaoctanoico (ADO), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC) y ácido 6-aminohexanoico (AHEX o AHA). Otros grupos de unión incluyen, pero no se limitan a, alquilo C₁-C₁₀ sustituido, alquenilo C₂-C₁₀ sustituido o no sustituido o alquinilo C₂-C₁₀ sustituido o no sustituido, en los que una lista no limitativa de grupos sustituyentes preferentes incluye hidroxilo, amino, alcoxi, carboxi, bencilo, fenilo, nitro, tiol, tioalcoxi, halógeno, alquilo, arilo, alquenilo y alquinilo.

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos se modifican mediante la fijación covalente de uno o más grupos terminales 5' o 3'. La expresión "grupo terminal", tal como se utiliza en el presente documento, incluye grupos útiles conocidos para el experto en la materia que pueden colocarse en uno o ambos de los extremos 3' y 5' de un compuesto oligomérico para diversos fines, tales como posibilitar el rastreo del compuesto oligomérico (un marcador fluorescente u otro grupo indicador), mejorar la farmacocinética o la farmacodinámica del compuesto oligomérico (un grupo para potenciar la absorción y el transporte) o mejorar una o más de otras propiedades deseables del compuesto oligomérico (grupo para mejorar la afinidad de unión o la estabilidad frente a nucleasas). En determinadas formas de realización, los grupos terminales 3' y 5' incluyen, sin limitación, uno o más grupos conjugados, grupos de protección terminal, restos fosfato, grupos protectores y nucleósidos modificados o sin modificar.

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos se modifican mediante la fijación covalente de uno o más grupos conjugados. En general, los grupos conjugados modifican una o más propiedades del compuesto oligomérico fijado, incluidas pero no limitadas a farmacodinámica, farmacocinética, unión, absorción, distribución celular, captación celular, carga y eliminación. Los grupos conjugados se utilizan de manera rutinaria en las técnicas químicas y se unen directamente o por medio de un grupo de unión o resto de unión opcional a un compuesto precursor tal como un compuesto oligomérico. Una lista preferente de grupos conjugados incluye, sin limitación, intercaladores, moléculas indicadoras, poliaminas, poliamidas, polietilenglicoles, tioéteres, poliéteres, colesterolos, tiocolesterolos, restos de ácido cólico, folato, lípidos, fosfolípidos, biotina, fenazina, fenantridina, antraquinona, adamantano, acridina, fluoresceínas, rodaminas, cumarinas y colorantes.

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos se modifican mediante la fijación covalente de uno o más grupos terminales 5' o 3', incluidos pero no limitados a, nucleósidos modificados o sin modificar adicionales. Tales grupos terminales pueden ser útiles para mejorar las propiedades de los compuestos oligoméricos, tales como por ejemplo la absorción, el transporte y la estabilidad frente a nucleasas.

La expresión "grupo protector", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un resto químico lábil conocido en la técnica por proteger los grupos reactivos, incluidos sin limitación, grupos hidroxilo, amino y tiol, frente a reacciones no deseadas durante los procedimientos de síntesis. Los grupos protectores se utilizan por lo general selectiva y/u ortogonalmente para proteger los sitios durante las reacciones en otros sitios reactivos y a continuación pueden eliminarse para dejar el grupo sin protección tal cual o disponible para las reacciones adicionales. Los grupos protectores como se conocen en la técnica se describen en general en Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1999).

Los grupos pueden incorporarse selectivamente en los compuestos oligoméricos de la invención como precursores. Por ejemplo, puede colocarse un grupo amino en un compuesto de la invención como grupo azido que puede convertirse químicamente en el grupo amino en un punto de la síntesis deseado. En general, los grupos se protegen o se presentan como precursores que serán inertes a las reacciones que modifican otras zonas de la molécula precursora para la conversión en sus grupos finales en un momento apropiado. Se analizan grupos precursores o protectores representativos adicionales en: Agrawal, *et al.*, *Protocols for Oligonucleotide Conjugates*, eds., Humana Press; Nueva Jersey, 1994; vol. 26 págs. 1-72.

Los ejemplos de grupos protectores de hidroxilo incluyen, pero no se limitan a, acetilo, t-butilo, t-butoximetilo, metoximetilo, tetrahidropirano, 1-etoxietilo, 1-(2-cloroetoxi)etilo, p-clorofenilo, 2,4-dinitrofenilo, bencilo, 2,6-diclorobencilo, difenilmetilo, p-nitrobencilo, bis(2-acetoxietoxi)metilo (ACE), 2-trimetilsililetilo, trimetilsililo, trietilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, trifenilsililo, [(trisisopropilsililo)oxi]metilo (TOM), benzoilformiato, cloroacetilo, tricloroacetilo, trifluoroacetilo, pivaloilo, benzoilo, p-fenilbenzoilo, carbonato de 9-fluorenilmetilo, mesilato, tosilo, trifenilmetilo(tritilo), monometoxitritilo, dimetoxitritilo (DMT), trimetoxitritilo, 1(2-fluorofenil)-4-metoxipiperidin-4-ilo (FPMP), 9-fenilxantina-9-ilo (pixilo) y 9-(p-metoxifenil)xantina-9-ilo (MOX). En los que los grupos protectores de hidroxilo más preferentes incluyen, pero no se limitan a, bencilo, 2,6-diclorobencilo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, benzoilo, mesilato, tosilo, dimetoxitritilo (DMT), 9-fenilxantina-9-ilo (pixilo) y 9-(p-metoxifenil)xantina-9-ilo (MOX).

Los ejemplos de grupos protectores de amino incluyen, pero no se limitan a, grupos protectores carbamato, tales como 2-trimetilsililetoxicarbonilo (Teoc), 1-metil-1-(4-bifenilil)etoxicarbonilo (Bpoc), t-butoxicarbonilo (BOC), aliloxicarbonilo (Alloc), 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc) y benciloxicarbonilo (Cbz); grupos protectores amida, tales como formilo, acetilo, trihaloacetilo, benzoilo y nitrofenilacetilo; grupos protectores sulfonamida, tales como

2-nitrobenzenosulfonilo; y grupos protectores imina e imida cíclica, tales como ftalimido y ditiassuccinilo. Los ejemplos de grupos protectores de tiol incluyen, pero no se limitan a, trifenilmetilo(tritilo), bencilo (Bn), y similares.

5 En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos se preparan mediante la conexión de nucleósidos con enlaces internucleosídicos que contienen fósforo opcionalmente protegido. Los grupos protectores representativos para los enlaces internucleosídicos que contienen fósforo tales como los enlaces fosfodiéster y fosforotioato incluyen grupos β-cianoetilo, difenilsililetilo, δ-cianobutenilo, ciano p-xililo (CPX), N-metil-N-trifluoroacetil etilo (META), acetoxi fenoxi etilo (APE) y buteno-4-ilo. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. Nº 4.725.677 y el documento Re. 34.069 (β-cianoetilo); Beaucage, S.L. e Iyer, R.P., Tetrahedron, 49 Nº 10, págs. 1925-1963 (1993);
10 Beaucage, S.L. e Iyer, R.P., Tetrahedron, 49 Nº 46, págs. 10441-10488 (1993); Beaucage, S.L. e Iyer, R.P., Tetrahedron, 48 Nº 12, págs. 2223-2311 (1992).

15 La expresión "protegido ortogonalmente" se refiere a grupos funcionales que están protegidos con diferentes clases de grupos protectores, en los que cada clase de grupo protector puede eliminarse en cualquier orden y en presencia de todas las demás clases (véase, Barany, G. y Merrifield, R.B., J. Am. Chem. Soc., 1977, 99, 7363; *idem*, 1980, 102, 3084). La protección ortogonal es de uso extendido, por ejemplo, en la síntesis automatizada de oligonucleótidos. Se desbloquea un grupo funcional en presencia de uno o más de otros grupos funcionales protegidos que no se ven influidos por el procedimiento de desbloqueo. Este grupo funcional desbloqueado se hace reaccionar de alguna manera y en algún punto se elimina un grupo protector ortogonal adicional bajo un conjunto
20 diferente de condiciones de reacción. Esto permite que la química llegue a un compuesto o compuesto oligomérico deseado.

25 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos que tienen grupos fósforo reactivos que son útiles para formar enlaces internucleosídicos, incluidos por ejemplo, enlaces internucleosídicos fosfodiéster y fosforotioato. Tales grupos fósforo reactivos son conocidos en la técnica y contienen átomos de fósforo en estado de valencia P^{III} o P^V, incluidos pero no limitados a, fosforamidita, H-fosfonato, triésteres de fosfato y auxiliares quirales que contienen fósforo. Una síntesis en fase sólida sintética preferente utiliza fosforamiditas (química del P^{III}) como fosfitos reactivos. Los compuestos intermedios de fosfito se oxidan posteriormente al estado P^V utilizando métodos conocidos para producir enlaces internucleotídicos fosfodiéster o fosforotioato. Se describen fosfatos y fosfitos reactivos adicionales en Tetrahedron Report Número 309 (Beaucage e Iyer, Tetrahedron, 1992, 48, 2223-2311).

35 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "enlace internucleosídico" incluye todo tipo de grupos de enlace internucleosídicos conocidos en la técnica, incluidos pero no limitados a, grupos de enlace internucleosídicos que contienen fósforo tales como fosfodiéster y fosforotioato, grupos de enlace internucleosídicos que no contienen fósforo tales como formacetilo y metilenimino, y grupos de enlace internucleosídicos no iónicos neutros tales como amida-3-(3'-CH₂-C(=O)-N(H)-5'), amida-4-(3'-CH₂-N(H)-C(=O)-5').

40 Los ejemplos específicos de compuestos oligoméricos útiles en la presente invención incluyen oligonucleótidos que contienen enlaces internucleosídicos no naturales, por ejemplo, modificados. Dos clases principales de enlaces internucleosídicos se definen por la presencia o ausencia de un átomo de fósforo. Los enlaces internucleosídicos modificados que tienen un átomo de fósforo incluyen, pero no se limitan a, fosforotioatos, fosforotioatos quirales, fosforoditioatos, fosfotriésteres, aminoalquilo-fosfotriésteres, metilo y otros fosfonatos de alquilo incluidos fosfonatos de 3'-alquileo, fosfonatos de 5'-alquileo y fosfonatos quirales, fosfinatos,
45 fosforamidatos incluidos 3'-amino fosforamidato y aminoalquifosforamidatos, tionofosforamidatos, tionalquifosfonatos, tionalquifosfotriésteres, selenofosfatos y boranofosfatos que tienen enlaces 3'-5' normales, análogos unidos en 2'-5' de éstos, y los que tienen polaridad invertida en los que uno o más enlaces internucleotídicos es un enlace 3' a 3', 5' a 5' o 2' a 2'. Los oligonucleótidos con polaridad invertida pueden comprender un enlace 3' a 3' sencillo en el enlace internucleotídico más cercano al extremo 3', es decir, un solo
50 resto de nucleósido invertido que puede ser abásico (falta la base nitrogenada o tiene un grupo hidroxilo en su lugar). También se incluyen diversas sales, sales mixtas y formas de ácido libre.

55 Las patentes de Estados Unidos representativas que instruyen sobre la preparación de los enlaces que contienen fósforo anteriormente indicados incluyen, pero no se limitan a, EE.UU.: 3.687.808, 4.469.863, 4.476.301, 5.023.243, 5.177.196, 5.188.897, 5.264.423, 5.276.019, 5.278.302, 5.286.717, 5.321.131 5.399.676, 5.405.939, 5.453.496, 5.455.233, 5.466.677, 5.476.925, 5.519.126, 5.536.821, 5.541.306, 5.550.111, 5.563.253, 5.571.799, 5.587.361, 5.194.599, 5.565.555, 5.527.899, 5.721.218, 5.672.697 y 5.625.050, algunas de las cuales son del mismo solicitante que la presente solicitud.

60 Los enlaces internucleosídicos modificados que no tienen un átomo de fósforo incluyen, pero no se limitan a, los que se forman mediante enlaces internucleosídicos alquilo o cicloalquilo de cadena corta, enlaces internucleosídicos alquilo o cicloalquilo y heteroátomo mixto, o uno o más enlaces internucleosídicos heteroatómicos o heterocíclicos de cadena corta. Estos incluyen los que tienen esqueletos de siloxano; esqueletos de sulfuro, sulfóxido y sulfona; esqueletos de formacetilo y tioformacetilo; esqueletos de metilenformacetilo y tioformacetilo;
65 esqueletos de riboacetilo; esqueletos que contienen alqueno; esqueletos de sulfamato; esqueletos de metilenimino y metilendiazino; esqueletos de sulfonato y sulfonamida; esqueletos de amida, y otros que tienen partes

componentes de N, O, S y CH₂ mixtas. En el contexto de la presente invención, el término "oligonucleósido" se refiere a una secuencia de dos o más nucleósidos que están unidos por enlaces internucleosídicos que no tienen átomos de fósforo.

5 Las patentes de Estados Unidos representativas que instruyen sobre la preparación de los oligonucleósidos anteriormente indicados incluyen, pero no se limitan a, EE.UU.: 5.034.506, 5.166.315, 5.185.444, 5.214.134, 5.216.141, 5.235.033, 5.264.562, 5.264.564, 5.405.938, 5.434.257, 5.466.677, 5.470.967, 5.489.677, 5.541.307, 5.561.225, 5.596.086, 5.602.240, 5.610.289, 5.602.240, 5.608.046, 5.610.289, 5.618.704, 5.623.070, 5.663.312, 5.633.360, 5.677.437, 5.792.608, 5.646.269 y 5.677.439, algunas de las cuales son del mismo solicitante que la
10 presente solicitud.

Tal como se utiliza en el presente documento la expresión "enlace internucleosídico neutro" pretende incluir enlaces internucleosídicos que son no iónicos. Los enlaces internucleosídicos neutros incluyen, pero no se limitan a fosfotriésteres, metilfosfonatos, MMI(3'-CH₂-N(CH₃)-O-5'), amida-3(3'-CH₂-C(=O)-N(H)-5'), amida-4(3'-CH₂-N(H)-C(=O)-5'), formacetal (3'-O-CH₂-O-5') y tioformacetal (3'-S-CH₂-O-5'). Otros enlaces internucleosídicos neutros incluyen enlaces no iónicos que comprenden siloxano (dialquilsiloxano), éster carboxilato, carboxamida, sulfuro, éster sulfonato y amidas (véase, por ejemplo: Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y.S. Sanghvi y P.D. Cook Eds. ACS Symposium Series 580; capítulos 3 y 4, (págs. 40-65)). Otros enlaces internucleosídicos neutros incluyen enlaces no iónicos que comprenden partes componentes de N, O, S y CH₂ mixtas.
15
20

Los compuestos descritos en el presente documento pueden prepararse mediante cualquiera de las técnicas aplicables de la síntesis orgánica, por ejemplo como se ilustra en los ejemplos que se presentan más adelante. Muchas de tales técnicas son bien conocidas en la técnica. Sin embargo, muchas de las técnicas conocidas se desarrollan en el Compendium of Organic Synthetic Methods (John Wiley & Sons, Nueva York), vol. 1, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison (1971); vol. 2, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison (1974); vol. 3, Louis S. Hegedus y Leroy Wade (1977); vol. 4, Leroy G. Wade, Jr., (1980); vol. 5, Leroy G. Wade, Jr. (1984), y vol. 6, Michael B. Smith; así como March, J., Advanced Organic Chemistry, 3^a edición, John Wiley & Sons, Nueva York (1985); Comprehensive Organic Synthesis. Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry, en 9 volúmenes, Barry M. Trost, jefe de redacción, Pergamon Press, Nueva York (1993), Advanced Organic Chemistry, Parte B: Reactions and Synthesis, 4^a Ed., Carey y Sundberg; Kluwer Academic/Plenum Publishers: Nueva York (2001), Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure, 2^a edición, March, McGraw Hill (1977); Protecting Groups in Organic Synthesis, 2^a edición, Greene, T.W., y Wutz, P.G.M., John Wiley & Sons, Nueva York (1991), y Comprehensive Organic Transformations, 2^a edición, Larock, R.C., John Wiley & Sons, Nueva York (1999).
25
30

Los compuestos descritos en el presente documento contienen uno o más centros asimétricos y por lo tanto dan lugar a enantiómeros, diastereoisómeros y otras formas estereoisoméricas que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (R) o (S), α o β , o como (D) o (L) tal como para los aminoácidos. En el presente documento se incluyen todos estos isómeros posibles, así como sus formas racémicas y ópticamente puras. Pueden prepararse isómeros ópticos a partir de sus respectivos precursores ópticamente activos mediante los procedimientos descritos anteriormente, o resolviendo las mezclas racémicas. La resolución puede llevarse a cabo en presencia de un agente de resolución, mediante cromatografía o mediante cristalización repetida o mediante alguna combinación de estas técnicas que son conocidas para los expertos en la materia. Pueden encontrarse detalles adicionales referentes a las resoluciones en Jacques, *et al.*, Enantiomers, Racemates, and Resolutions (John Wiley & Sons, 1981). Cuando los compuestos descritos en el presente documento contienen dobles enlaces olefínicos, otra insaturación u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique lo contrario, se entiende que los compuestos incluyen isómeros geométricos E y Z o isómeros cis y trans. Asimismo, se entiende que también quedan incluidas todas las formas tautómeras. La configuración de cualquier doble enlace carbono-carbono que aparece en el presente documento está seleccionado por razones prácticas solamente y no se pretende indicar una configuración concreta a menos que el texto así lo exprese; por lo tanto, un doble enlace carbono-carbono o un doble enlace carbono-heteroátomo representado de manera arbitraria en el presente documento como trans puede ser cis, trans o una mezcla de los dos en cualquier proporción.
35
40
45
50

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "compuesto oligomérico" incluye un polímero que tiene al menos una región que es capaz de hibridar con una molécula de ácido nucleico. La expresión "compuesto oligomérico" incluye oligonucleótidos, análogos de oligonucleótidos y oligonucleósidos así como miméticos de nucleótidos y/o polímeros mixtos que comprenden ácidos nucleicos y componentes distintos de ácidos nucleicos y compuestos oligoméricos híbridos que comprenden mezclas de nucleósidos de cualquiera de estas categorías. Los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano pueden clasificarse como miméticos, ya que la porción de azúcar ribosa ha sido reemplazada con un grupo tetrahidropirano. Los compuestos oligoméricos se preparan de manera rutinaria linealmente, pero pueden unirse o prepararse de otro modo para que sean circulares y también pueden incluir ramificaciones. Los compuestos oligoméricos pueden formar constructos bicatenarios, tales como por ejemplo dos cadenas hibridadas para formar composiciones bicatenarias. Las composiciones bicatenarias pueden unirse o separarse y pueden incluir protuberancias en los extremos. En general, un compuesto oligomérico comprende un esqueleto de subunidades monoméricas unidas en el que cada subunidad monomérica unida está fijada directa o indirectamente a un resto de base heterocíclica. Los compuestos oligoméricos también pueden incluir subunidades monoméricas que no están unidas a un resto de base heterocíclica, lo que proporciona sitios abásicos.
55
60
65

Los enlaces que unen las subunidades monoméricas, los sustitutos o restos de azúcar y los restos de bases heterocíclicas pueden modificarse de manera independiente. La unidad enlace-azúcar, que puede incluir o no una base heterocíclica, puede estar sustituida con un mimético tal como los monómeros en los ácidos nucleicos peptídicos. La capacidad para modificar o sustituir porciones o monómeros completos en cada posición de un compuesto oligomérico da lugar a un gran número de motivos posibles.

Como se conoce en la técnica, un nucleósido es una combinación de base-azúcar. La porción de base del nucleósido es normalmente un resto de base heterocíclica. Las dos clases más comunes de tales bases heterocíclicas son las purinas y las pirimidinas. Los nucleótidos son nucleósidos que incluyen adicionalmente un grupo fosfato unido covalentemente a la porción de azúcar del nucleósido. Para aquellos nucleósidos que incluyen un azúcar pentofuranosilo, el grupo fosfato puede estar unido a cualquiera de los resto hidroxilo 2', 3' o 5' del azúcar. Al formarse los oligonucleótidos, los grupos fosfato unen covalentemente los nucleósidos adyacentes entre sí para formar un compuesto polimérico lineal. Pueden unirse los respectivos extremos de esta estructura polimérica lineal para formar una estructura circular mediante hibridación o mediante la formación de un enlace covalente. Sin embargo, generalmente se desean estructuras lineales abiertas. Dentro de la estructura del oligonucleótido, los grupos fosfato son comúnmente conocidos como formadores de los enlaces internucleosídicos de los oligonucleótidos. El enlace internucleosídico normal del ARN y del ADN es un enlace fosfodiéster 3' a 5'.

En el contexto de la presente invención, el término "oligonucleótido" se refiere a un oligómero o polímero de ácido ribonucleico (ARN) o ácido desoxirribonucleico (ADN). Este término incluye oligonucleótidos compuestos por bases nitrogenadas, azúcares y enlaces internucleosídicos covalentes naturales. La expresión "análogo de oligonucleótido" se refiere a oligonucleótidos que tienen una o más porciones no naturales. A menudo se desean tales oligonucleótidos no naturales más que las formas naturales debido a propiedades deseables tales como, por ejemplo, mejor captación celular, mayor afinidad por el ácido nucleico diana y mayor estabilidad en presencia de nucleasas.

En el contexto de la presente invención, el término "oligonucleósido" se refiere a una secuencia de nucleósidos que están unidos por enlaces internucleosídicos que no tienen átomos de fósforo. Los enlaces internucleosídicos de este tipo incluyen cicloalquilo, alquil heteroátomo mixto, cicloalquil heteroátomo mixto, alquilo de cadena corta, uno o más heteroátomos de cadena corta y uno o más heterociclos de cadena corta. Estos enlaces internucleosídicos incluyen, pero no se limitan a, siloxano, sulfuro, sulfóxido, sulfona, acetilo, formacetilo, tioformacetilo, metilformacetilo, tioformacetilo, alqueno, sulfamato, metilenoimino, metilenoimidazino, sulfonato, sulfonamida, amida y otros que tienen partes componentes de N, O, S y CH₂ mixtas.

Las patentes de Estados Unidos representativas que instruyen sobre la preparación de los oligonucleósidos anteriormente indicados incluyen, pero no se limitan a, EE.UU.: 5.034.506, 5.166.315, 5.185.444, 5.214.134, 5.216.141, 5.235.033, 5.264.562, 5.264.564, 5.405.938, 5.434.257, 5.466.677, 5.470.967, 5.489.677, 5.541.307, 5.561.225, 5.596.086, 5.602.240, 5.610.289, 5.602.240, 5.608.046, 5.610.289, 5.618.704, 5.623.070, 5.663.312, 5.633.360, 5.677.437, 5.792.608, 5.646.269 y 5.677.439, algunas de las cuales son del mismo solicitante que la presente solicitud. La expresión "base nitrogenada" o "resto de base heterocíclica" tal como se utiliza en el presente documento, pretende ser sinónimo de "base de ácido nucleico o mimético de la misma". En general, una base nitrogenada o un resto de base heterocíclica es cualquier subestructura que contiene uno o más átomos o grupos de átomos capaces de formar enlaces de hidrógeno con una base de un ácido nucleico.

Tal como se utilizan en el presente documento, las bases nitrogenadas "sin modificar" o "naturales" incluyen las bases de purina adenina (A) y guanina (G), y las bases de pirimidina timina (T), citosina (C) y uracilo (U). Las bases nitrogenadas modificadas incluyen otras bases nitrogenadas sintéticas y naturales tales como 5-metilcitosina (5-me-C), 5-hidroximetilcitosina, xantina, hipoxantina, 2-aminoadenina, 6-metilo y otros derivados alquílicos de adenina y guanina, 2-propilo y otros derivados alquílicos de adenina y guanina, 2-tiouracilo, 2-tiotimina y 2-tiocitosina, 5-halouracilo y citosina, 5-propinil(-C≡CCH₃) uracilo y citosina y otros derivados alquílicos de bases de pirimidina, 6-azo uracilo, citosina y timina, 5-uracilo (pseudouracilo), 4-tiouracilo, 8-halo, 8-amino, 8-tiol, 8-tioalquilo, 8-hidroxilo y otras adeninas y guaninas sustituidas en posición 8, 5-halo especialmente 5-bromo, 5-trifluorometilo y otros uracilos y citosinas sustituidos en posición 5, 7-metilguanina y 7-metiladenina, 2-F-adenina, 2-amino-adenina, 8-azaguanina y 8-azaadenina, 7-desazaguanina y 7-desazaadenina, 3-desazaguanina y 3-desazaadenina, bases universales, bases hidrófobas, bases promiscuas, bases de tamaño ampliado y bases fluoradas tal como se define en el presente documento. Las bases nitrogenadas modificadas adicionales incluyen pirimidinas tricíclicas tales como fenoxazina citidina (1H-pirimidino[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona), fenotiazina citidina (1H-pirimidino[5,4-b][1,4]benzotiazin-2(3H)-ona), abrazaderas G, tales como una fenoxazina citidina sustituida (por ejemplo, 9-(2-aminoetoxi)-H-pirimidino[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona), carbazol citidina (2H-pirimidino[4,5-b]indol-2-ona), piridoindol citidina (H-pirido[3',2':4,5]pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-ona). Las bases nitrogenadas modificadas también pueden incluir aquellas en las que la base de purina o pirimidina se reemplaza con otros heterociclos, por ejemplo 7-desaza-adenina, 7-desazaguanosina, 2-aminopiridina y 2-piridona. Otras bases nitrogenadas incluyen las descritas en la patente de EE.UU. N° 3.687.808, las descritas en The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, páginas 858-859, Kroschwitz, J.I., ed. John Wiley & Sons, 1990, las descritas por Englisch *et al.*, *Angewandte Chemie*, International Edition, 1991, 30, 613, y las descritas por

Sanghvi, Y.S., capítulo 15, Antisense Research and Applications, páginas 289-302, Crooke, S.T. y Lebleu, B., ed., CRC Press, 1993.

5 Las bases nitrogenadas modificadas incluyen, pero no se limitan a, bases universales, bases hidrófobas, bases promiscuas, bases de tamaño ampliado y bases fluoradas tal como se define en el presente documento. Algunas de estas bases nitrogenadas son especialmente útiles para aumentar la afinidad de unión de los compuestos oligoméricos de la invención. Estos incluyen pirimidinas sustituidas en posición 5, 6-azapirimidinas y purinas N-2, N-6 y O-6 sustituidas, incluidas 2-aminopropiladenina, 5-propiniluracilo y 5-propinilcitosina. Las sustituciones 5-metilcitosina han demostrado aumentar la estabilidad del dúplex de ácido nucleico en 0,6°C-1,2°C (Sanghvi, Y.S., Crooke, S.T. y Lebleu, B., eds., Antisense Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, págs. 276-278).

15 Las patentes de Estados Unidos representativas que instruyen sobre la preparación de algunos de las bases nitrogenadas modificadas anteriormente indicadas así como otras bases nitrogenadas modificadas incluyen, pero no se limitan al documento anteriormente indicado EE.UU. 3.687.808, así como a EE.UU.: 4.845.205, 5.130.302, 5.134.066, 5.175.273, 5.367.066, 5.432.272, 5.457.187, 5.459.255, 5.484.908, 5.502.177, 5.525.711, 5.552.540, 5.587.469, 5.594.121, 5.596.091, 5.614.617, 5.645.985, 5.830.653, 5.763.588, 6.005.096 y 5.681.941, algunas de los cuales son del mismo solicitante que la presente solicitud y la patente de Estados Unidos 5.750.692, que es del mismo solicitante que la presente solicitud.

20 En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos también pueden contener uno o más nucleósidos que tienen restos de azúcar modificados. El anillo de azúcar furanosilo puede modificarse de diversas maneras, incluidas la sustitución con un grupo sustituyente (2', 3', 4' o 5'), la formación de puentes para formar un BNA y la sustitución del 4'-O con un heteroátomo tal como S o N (R). Algunas patentes de Estados Unidos representativas que instruyen sobre la preparación de tales azúcares modificados incluyen, pero no se limitan a, EE.UU.: 4.981.957, 5.118.800, 5.319.080, 5.359.044, 5.393.878, 5.446.137, 5.466.786, 5.514.785, 5.519.134, 5.567.811, 5.576.427, 5.591.722, 5.597.909, 5.610.300, 5.627.053, 5.639.873, 5.646.265, 5.658.873, 5.670.633, 5.792.747, 5.700.920, 6.600.032 y la solicitud Internacional PCT/US2005/019219, presentada el 2 de junio de 2005 y publicada como WO 2005/121371 el 22 de diciembre de 2005, algunas de las cuales son del mismo solicitante que la presente solicitud, y cada una de las cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. Una lista representativa de azúcares modificados preferentes incluye, pero no se limita a, azúcares sustituidos que tienen un grupo sustituyente 2'-F, 2'-OCH₂ o 2'-O(CH₂)₂-OCH₃ (2'-MOE o simplemente MOE); azúcares 4'-tio modificados, azúcares 4'-tio-2' sustituidos y azúcares modificados bicíclicos.

35 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "mimético de nucleósido" pretende incluir aquellas estructuras utilizadas para reemplazar el azúcar o el azúcar y la base, no el enlace, en una o más posiciones de un compuesto oligomérico tal como por ejemplo miméticos de nucleósidos que tienen miméticos de azúcar morfolino o biciclo[3.1.0]hexilo, por ejemplo unidades de azúcar distintas de la furanosa con un enlace fosfodiéster. La expresión "sustituto de azúcar" se solapa con la expresión algo más amplia "mimético de nucleósido", pero pretende indicar el reemplazo de la unidad de azúcar (anillo de furanosa) solamente. La expresión "mimético de nucleótido" pretende incluir aquellas estructuras utilizadas para reemplazar el nucleósido y el enlace en una o más posiciones de un compuesto oligomérico tal como por ejemplo ácidos nucleicos peptídicos o morfolinos (morfolinos unidos mediante -N(H)-C(=O)-O- u otro enlace no fosfodiéster).

45 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "nucleósido modificado" incluye toda clase de nucleósidos modificados que pueden incorporarse en un compuesto oligomérico utilizando la síntesis de oligómeros. La expresión incluye nucleósidos que tienen un azúcar ribofuranosa y pueden incluir una base heterocíclica pero también se contemplan los nucleósidos modificados abásicos. Un grupo de nucleósidos modificados representativos incluyen, sin limitación, nucleósidos bicíclicos, nucleósidos modificados en 2', nucleósidos 4'-tio-modificados y nucleósidos 4'-tio-2'-modificados y nucleósidos con base modificada.

50 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "subunidad monomérica" incluye todo tipo de monómeros que pueden incorporarse en un compuesto oligomérico utilizando la síntesis de oligómeros. La expresión incluye nucleósidos que tienen un azúcar ribofuranosa y una base heterocíclica, pero también incluye monómeros de azúcares modificados o azúcares sustituidos, por ejemplo, miméticos. Como tal, la expresión incluye nucleósidos, nucleósidos modificados (tales como nucleósidos bicíclicos), miméticos de nucleósidos (tales como los análogos nucleosídicos de tetrahidropirano proporcionados en el presente documento).

60 Los expertos en la materia que tengan la presente descripción serán capaces de preparar los compuestos oligoméricos de básicamente cualquier longitud viable para poner en práctica los métodos descritos en el presente documento. Tales compuestos oligoméricos incluirán al menos uno y preferentemente una pluralidad de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano proporcionados en el presente documento y también pueden incluir otras subunidades monoméricas, incluidas pero no limitadas a, nucleósidos, nucleósidos modificados y miméticos de nucleósidos. Como tal, la expresión "subunidad monomérica" abarca todo tipo de unidades monoméricas que son abordables mediante la síntesis de oligómeros, incluyendo una lista preferente subunidades monoméricas tales

65

como análogos nucleosídicos de tetrahidropirano, nucleósidos bicíclicos, nucleósidos, nucleósidos modificados y miméticos de nucleósidos.

5 En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos comprenden una longitud de aproximadamente 8 a aproximadamente 80 subunidades monoméricas. Un experto en la materia entenderá que la invención incorpora compuestos oligoméricos de una longitud de 8, 9, 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, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79 u 80 subunidades monoméricas, o cualquiera de sus intervalos.

10 En otra forma de realización, los compuestos oligoméricos de la invención tienen una longitud de 8 a 40 subunidades monoméricas. Un experto en la materia entenderá que esto incorpora compuestos oligoméricos de una longitud de 8, 9, 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 ó 40 subunidades monoméricas, o cualquiera de sus intervalos.

15 En otra forma de realización, los compuestos oligoméricos de la invención tienen una longitud de 8 a 20 subunidades monoméricas. Un experto en la materia entenderá que esto incorpora compuestos oligoméricos de una longitud de 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ó 20 subunidades monoméricas, o cualquiera de sus intervalos.

20 En otra forma de realización, los compuestos oligoméricos de la invención tienen una longitud de 10 a 16 subunidades monoméricas. Un experto en la materia entenderá que esto incorpora compuestos oligoméricos de una longitud de 10, 11, 12, 13, 14, 15 ó 16 subunidades monoméricas, o cualquiera de sus intervalos.

25 En otra forma de realización, los compuestos oligoméricos de la invención tienen una longitud de 12 a 16 subunidades monoméricas. Un experto en la materia entenderá que esto incorpora compuestos oligoméricos de una longitud de 12, 13, 14, 15 ó 16 subunidades monoméricas, o cualquiera de sus intervalos.

30 En otra forma de realización, los compuestos oligoméricos de la invención tienen una longitud de 10 a 14 subunidades monoméricas. Un experto en la materia entenderá que esto incorpora compuestos oligoméricos de una longitud de 10, 11, 12, 13 ó 14 subunidades monoméricas, o cualquiera de sus intervalos.

35 En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos de cualquiera de diversos intervalos de longitudes de subunidades monoméricas unidas. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos que consiste en subunidades monoméricas unidas X-Y, en las que X e Y están seleccionados cada uno independientemente de entre 8, 9, 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, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 y 50, siempre que $X < Y$. Por ejemplo, en determinadas formas de realización, la invención proporciona compuestos oligoméricos que comprenden: 8-9, 8-10, 8-11, 8-12, 8-13, 8-14, 8-15, 8-16, 8-17, 8-18, 8-19, 8-20, 8-21, 8-22, 8-23, 8-24, 8-25, 8-26, 8-27, 8-28, 8-29, 8-30, 9-10, 9-11, 9-12, 9-13, 9-14, 9-15, 9-16, 9-17, 9-18, 9-19, 9-20, 9-21, 9-22, 9-23, 9-24, 9-25, 9-26, 9-27, 9-28, 9-29, 9-30, 10-11, 10-12, 10-13, 10-14, 10-15, 10-16, 10-17, 10-18, 10-19, 10-20, 10-21, 10-22, 10-23, 10-24, 10-25, 10-26, 10-27, 10-28, 10-29, 10-30, 11-12, 11-13, 11-14, 11-15, 11-16, 11-17, 11-18, 11-19, 11-20, 11-21, 11-22, 11-23, 11-24, 11-25, 11-26, 11-27, 11-28, 11-29, 11-30, 12-13, 12-14, 12-15, 12-16, 12-17, 12-18, 12-19, 12-20, 12-21, 12-22, 12-23, 12-24, 12-25, 12-26, 12-27, 12-28, 12-29, 12-30, 13-14, 13-15, 13-16, 13-17, 13-18, 13-19, 13-20, 13-21, 13-22, 13-23, 13-24, 13-25, 13-26, 13-27, 13-28, 13-29, 13-30, 14-15, 14-16, 14-17, 14-18, 14-19, 14-20, 14-21, 14-22, 14-23, 14-24, 14-25, 14-26, 14-27, 14-28, 14-29, 14-30, 15-16, 15-17, 15-18, 15-19, 15-20, 15-21, 15-22, 15-23, 15-24, 15-25, 15-26, 15-27, 15-28, 15-29, 15-30, 16-17, 16-18, 16-19, 16-20, 16-21, 16-22, 16-23, 16-24, 16-25, 16-26, 16-27, 16-28, 16-29, 16-30, 17-18, 17-19, 17-20, 17-21, 17-22, 17-23, 17-24, 17-25, 17-26, 17-27, 17-28, 17-29, 17-30, 18-19, 18-20, 18-21, 18-22, 18-23, 18-24, 18-25, 18-26, 18-27, 18-28, 18-29, 18-30, 19-20, 19-21, 19-22, 19-23, 19-24, 19-25, 19-26, 19-27, 19-28, 19-29, 19-30, 20-21, 20-22, 20-23, 20-24, 20-25, 20-26, 20-27, 20-28, 20-29, 20-30, 21-22, 21-23, 21-24, 21-25, 21-26, 21-27, 21-28, 21-29, 21-30, 22-23, 22-24, 22-25, 22-26, 22-27, 22-28, 22-29, 22-30, 23-24, 23-25, 23-26, 23-27, 23-28, 23-29, 23-30, 24-25, 24-26, 24-27, 24-28, 24-29, 24-30, 25-26, 25-27, 25-28, 25-29, 25-30, 26-27, 26-28, 26-29, 26-30, 27-28, 27-29, 27-30, 28-29, 28-30, 29-30 subunidades monoméricas unidas.

55 En determinadas formas de realización, los intervalos de la longitud de los compuestos oligoméricos son 8-16, 8-40, 10-12, 10-14, 10-16, 10-18, 10-20, 10-21, 12-14, 12-16, 12-18, 12-20 y 12-24 subunidades monoméricas unidas.

60 En determinadas formas de realización, los intervalos para los compuestos oligoméricos enumerados en el presente documento limitan el número de subunidades monoméricas en los compuestos oligoméricos; sin embargo, tales compuestos oligoméricos pueden incluir adicionalmente grupos protectores tales como grupos protectores de hidroxilo, grupos conjugados unidos opcionalmente, grupos terminales 5' y/o 3' y/u otros sustituyentes.

65 Los compuestos oligoméricos híbridos tienen nucleósidos modificados de manera diferencial en dos o más posiciones y se definen por lo general por tener un motivo. Los compuestos oligoméricos híbridos de la invención

pueden formarse como estructuras compuestas de dos o más oligonucleótidos, análogos de oligonucleótidos, miméticos de oligonucleótidos y/u oligonucleósidos como se ha descrito anteriormente. Las patentes de Estados Unidos representativas que instruyen sobre la preparación de tales estructuras híbridas incluyen, pero no se limitan a, EE.UU.: 5.013.830, 5.149.797, 5.220.007, 5.256.775, 5.366.878, 5.403.711, 5.491.133, 5.565.350, 5.623.065, 5.652.355, 5.652.356 y 5.700.922, algunas de los cuales son del mismo solicitante que la presente solicitud.

En determinadas formas de realización, la oligomerización de nucleósidos modificados y sin modificar y miméticos de los mismos, se realiza según procedimientos de la literatura para la síntesis de ADN (Protocols for Oligonucleotides and Analogs, ed. Agrawal (1993), Humana Press) y/o ARN (Scaringe, Methods (2001), 23, 206-217; Gait *et al.*, Applications of Chemically synthesized RNA in RNA: Protein Interactions, Ed. Smith (1998), 1-36; Gallo *et al.*, Tetrahedron (2001), 57, 5707-5713), según resulte apropiado. Pueden encontrarse métodos adicionales para la síntesis en fase sólida en las patentes de EE.UU. de Caruthers N° 4.415.732, 4.458.066, 4.500.707, 4.668.777, 4.973.679 y 5.132.418, y en las patentes de EE.UU. de Koster N° 4.725.677 y Re. 34.069.

Los equipos disponibles en el mercado utilizados de manera rutinaria para la síntesis basada en medios de soporte de compuestos oligoméricos y de los compuestos relacionados son comercializados por varios vendedores incluido, por ejemplo, Applied Biosystems (Foster City, CA). Además, o como alternativa, puede emplearse cualquier otro medio conocido en la técnica para tal síntesis. Se describen técnicas de fase sólida adecuadas, incluidas técnicas de síntesis automatizada, en F. Eckstein (ed.), Oligonucleotides and Analogues, a Practical Approach, Oxford University Press, Nueva York (1991).

La síntesis de ARN y de los análogos relacionados relativa a la síntesis de ADN y de los análogos relacionados ha ido aumentando, así como las tentativas de aumento del ARNi. Las estrategias de síntesis de ARN primario que se están utilizando comercialmente en la actualidad incluyen 5'-O-DMT-2'-O-t-butildimetilsililo (TBDMS), 5'-O-DMT-2'-O-[1(2-fluorofenil)-4-metoxipiperidin-4-il] (FPMP), 2'-O-[(trisisopropilsilil)oxi]metilo (2'-O-CH₂-O-Si(iPr)₃) (TOM) y el 5'-O-sililéter-2'-ACE (5'-O-bis(trimetilsiloxi)ciclododeciloxisililéter (DOD)-2'-O-bis(2-acetoxietoxi)metilo (ACE). La lista actual de algunas de las principales compañías que actualmente ofrecen productos de ARN incluye Pierce Nucleic Acid Technologies, Dharmacon Research Inc., Ameri Biotechnologies Inc., e Integrated DNA Technologies, Inc. Una compañía, Princeton Separations, está comercializando un activador de la síntesis de ARN que se dice reduce los tiempos de acoplamiento especialmente con las químicas Tom y TBDMS.

Los grupos primarios que se utilizan para la síntesis comercial de ARN son:

TBDMS = 5'-O-DMT-2'-O-t-butildimetilsililo;

TOM = 2'-O-[(trisisopropilsilil)oxi]metilo;

DOD/ACE = (5'-O-bis(trimetilsiloxi)ciclododeciloxisililéter-2'-O-bis(2-acetoxietoxi)metilo

FPMP = 5'-O-DMT-2'-O-[1(2-fluorofenil)-4-metoxipiperidin-4-ilo].

En determinadas formas de realización, puede utilizarse cada una de las estrategias de síntesis de ARN anteriormente mencionadas en el presente documento. También son aplicables en el presente documento estrategias que serían un híbrido de las anteriormente indicadas, por ejemplo, utilizando un grupo protector 5' de una estrategia con un grupo protector 2'-O de otra estrategia.

En el contexto de la presente invención, "hibridación" se refiere al apareamiento de cadenas complementarias de compuestos oligoméricos. En determinadas formas de realización, un mecanismo de apareamiento implica enlaces de hidrógeno, que pueden ser enlaces de hidrógeno de Watson-Crick, Hoogsteen o Hoogsteen inversos, entre las bases nucleosídicas o nucleotídicas complementarias (bases nitrogenadas) de las cadenas de los compuestos oligoméricos. Por ejemplo, la adenina y la timina son bases nitrogenadas complementarias que se aparean a través de la formación de enlaces de hidrógeno. La hibridación puede darse en diversas circunstancias.

Un compuesto oligomérico es específicamente hibridable cuando la unión del compuesto al ácido nucleico diana interfiere con la función normal del ácido nucleico diana para provocar una pérdida de actividad, y existe un grado suficiente de complementariedad para evitar la unión no específica del compuesto oligomérico a secuencias de ácidos nucleicos no diana en condiciones en las que se desea la unión específica, es decir, en condiciones fisiológicas en el caso de un tratamiento terapéutico o ensayos *in vivo*, y en condiciones en las que se realizan los ensayos, en el caso de ensayos *in vitro*.

"Complementario/a", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a la capacidad para el apareamiento preciso de dos bases nitrogenadas, independientemente de donde se encuentren las dos. Por ejemplo, si una base nitrogenada en una determinada posición de un compuesto oligomérico es capaz de formar enlaces de hidrógeno con una base nitrogenada en una determinada posición de un ácido nucleico diana, sea el ácido nucleico diana un ADN, un ARN o una molécula de oligonucleótido, entonces la posición del enlace de hidrógeno entre el oligonucleótido y el ácido nucleico diana se considera una posición complementaria. El compuesto oligomérico y el ADN, el ARN o la molécula de oligonucleótido adicionales son complementarios entre sí cuando un número suficiente de posiciones complementarias en cada molécula está ocupado por bases

nitrogenadas que pueden formar enlaces de hidrógeno entre sí. Por lo tanto, "específicamente hibridable" y "complementario/a" son términos que se utilizan para indicar un grado suficiente de apareamiento preciso o complementariedad a lo largo de un número suficiente de bases nitrogenadas de manera que se produzca una unión estable y específica entre el oligonucleótido y un ácido nucleico diana.

5 Se entiende en la técnica que la secuencia de un compuesto oligomérico no necesita ser complementaria al 100% a la de su ácido nucleico diana para ser específicamente hibridable. Por otra parte, un oligonucleótido puede hibridar a lo largo de uno o más segmentos de manera que los segmentos intermedios o adyacentes no estén implicados en el evento de hibridación (por ejemplo, una estructura de bucle o estructura en horquilla). En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos pueden comprender al menos aproximadamente un 70%, al menos aproximadamente un 80%, al menos aproximadamente un 90%, al menos aproximadamente un 95% o al menos aproximadamente un 99% de complementariedad de secuencia con una región diana dentro de la secuencia de ácido nucleico diana a la que van dirigidos. Por ejemplo, un compuesto oligomérico en el que 18 de las 20 bases nitrogenadas del compuesto oligomérico son complementarias de una región diana, y por lo tanto hibridarán específicamente, representaría un 90 por ciento de complementariedad. En este ejemplo, las bases nitrogenadas no complementarias restantes pueden agruparse o intercalarse con bases nitrogenadas complementarias y no necesitan ser contiguas entre sí o a las bases nitrogenadas complementarias. Como tal, un compuesto oligomérico con una longitud de 18 bases nitrogenadas que tiene 4 (cuatro) bases nitrogenadas no complementarias que están flanqueadas por dos regiones de complementariedad completa con el ácido nucleico diana tendrá un 77,8% de complementariedad global con el ácido nucleico diana y por lo tanto pertenecerían al presente alcance. El porcentaje de complementariedad de un compuesto oligomérico con una región de un ácido nucleico diana puede determinarse de manera rutinaria utilizando los programas BLAST (herramientas de búsqueda de alineamientos locales básicos) y los programas PowerBLAST conocidos en la técnica (Altschul *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 1990, 215, 403-410; Zhang y Madden, *Genome Res.*, 1997, 7, 649-656).

25 En el presente documento se incluyen adicionalmente compuestos oligoméricos tales como compuestos oligoméricos antisentido, oligonucleótidos antisentido, ribozimas, oligonucleótidos de secuencias guía externas (EGS), factores de ajuste alternativo, cebadores, sondas y otros compuestos oligoméricos que hibridan con al menos una porción del ácido nucleico diana. Como tales, estos compuestos oligoméricos pueden introducirse en forma de compuestos oligoméricos monocatenarios, bicatenarios, circulares o en horquilla y pueden contener elementos estructurales tales como bucles o protuberancias internas o terminales. Una vez introducidos en un sistema, los compuestos oligoméricos de la invención pueden inducir la acción de una o más enzimas o proteínas estructurales para lograr la modificación del ácido nucleico diana.

35 Un ejemplo no limitativo de una enzima de este tipo es la ARNasa H, una endonucleasa celular que escinde la cadena de ARN de un dúplex ARN:ADN. Se sabe en la técnica que los compuestos oligoméricos monocatenarios que son "similares a ADN" producen ARNasa H. Por lo tanto, la activación de la ARNasa H da como resultado la escisión de la diana de ARN, lo que mejora enormemente la eficacia de la inhibición mediada por oligonucleótidos de la expresión génica. Se han postulado funciones similares para otras ribonucleasas tales como la de la familia de enzimas ARNasa III y ribonucleasa L.

40 Aunque una forma de compuesto oligomérico es un oligonucleótido antisentido monocatenario, se ha demostrado que, en muchas especies, la introducción de estructuras bicatenarias tales como moléculas de ARN bicatenario (ARNbc), induce una reducción mediada por antisentido potente y específica de la función de un gen o de sus productos génicos asociados. Este fenómeno se produce tanto en plantas como en animales, y se cree que tiene una conexión evolutiva con la defensa frente a virus y el silenciamiento de transposones.

45 En algunas formas de realización, pueden emplearse "segmentos diana adecuados" en un cribado de compuestos oligoméricos adicionales que modulen la expresión de una proteína seleccionada. "Moduladores" son aquellos compuestos oligoméricos que aumentan o disminuyen la expresión de una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína y que comprenden al menos una porción de 8 bases nitrogenadas que es complementaria de un segmento diana adecuado. El método de cribado comprende las etapas de poner en contacto un segmento diana adecuado de una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína con uno o más moduladores candidatos, y seleccionar uno o más moduladores candidatos que aumentan o disminuyen la expresión de una molécula de ácido nucleico que codifica una proteína. Una vez que se demuestra que el modulador o moduladores candidatos son capaces de modular (por ejemplo, aumentar o disminuir) la expresión de una molécula de ácido nucleico que codifica un péptido, entonces puede emplearse el modulador en el presente documento en estudios de investigación adicionales de la función del péptido, o utilizarse como agente de búsqueda, de diagnóstico o terapéutico.

60 Los segmentos diana adecuados también pueden combinarse con sus respectivos compuestos oligoméricos antisentido complementarios proporcionados en el presente documento para formar oligonucleótidos bicatenarios (dúplex) estabilizados. Se ha demostrado en la técnica que tales restos de oligonucleótidos bicatenarios modulan la expresión de la diana y regulan la traducción, así como el procesamiento del ARN por medio de un mecanismo antisentido. Por otra parte, pueden someterse los restos bicatenarios a modificaciones químicas (Fire *et al.*, *Nature*, 1998, 391, 806-811; Timmons y Fire, *Nature* 1998, 395, 854; Timmons *et al.*, *Gene*, 2001, 263, 103-112; Tabara *et al.*, *Science*, 1998, 282, 430-431; Montgomery *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.*, 1998, 95,

15502-15507; Tuschl *et al.*, Genes Dev., 1999, 13, 3191-3197; Elbashir *et al.*, Nature, 2001, 411, 494-498; Elbashir *et al.*, Genes Dev. 2001, 15, 188-200). Por ejemplo, se ha demostrado que tales restos bicatenarios inhiben la diana mediante la hibridación clásica de la cadena antisentido del dúplex a la diana, desencadenando así la degradación enzimática de la diana (Tijsterman *et al.*, Science, 2002, 295, 694-697).

Los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento también pueden aplicarse en las áreas del descubrimiento de fármacos y la validación de dianas. En determinadas formas de realización, se proporciona en el presente documento el uso de los compuestos oligoméricos y las dianas identificadas en el presente documento en las tentativas para el descubrimiento de fármacos para esclarecer las relaciones existentes entre las proteínas y una patología, fenotipo o afección. Estos métodos incluyen detectar o modular un péptido diana que comprende poner en contacto una muestra, tejido, célula u organismo con uno o más compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento, medir el nivel de ácido nucleico o proteína de la diana y/o un criterio de valoración fenotípico o químico relacionado en algún momento después del tratamiento, y opcionalmente comparar el valor medido con una muestra no tratada o una muestra tratada con un compuesto oligomérico adicional de la invención. Estos métodos también pueden realizarse en paralelo o en combinación con otros experimentos para determinar la función de genes desconocidos para el proceso de validación de dianas o para determinar la validez de un producto génico concreto como diana para el tratamiento o la prevención de una enfermedad, afección o fenotipo concreto. En determinadas formas de realización, se proporcionan compuestos oligoméricos de la invención para su uso en un tratamiento. En determinadas formas de realización, el tratamiento es reducir el ARN mensajero diana.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "dosis" se refiere a una cantidad especificada de un agente farmacéutico proporcionada en una única administración. En determinadas formas de realización, una dosis puede administrarse en dos o más bolos, comprimidos o inyecciones. Por ejemplo, en determinadas formas de realización, en las que se desea la administración subcutánea, la dosis deseada requiere un volumen que no se adapta fácilmente a una única inyección. En tales formas de realización, pueden utilizarse dos o más inyecciones para conseguir la dosis deseada. En determinadas formas de realización, una dosis puede administrarse en dos o más inyecciones para minimizar la reacción en el lugar de la inyección en un individuo.

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos químicamente modificados de la invención pueden tener una mayor afinidad por los ARN diana que los ADN no modificados. En algunas de tales formas de realización, una mayor afinidad proporciona a su vez una mayor potencia, lo que permite la administración de dosis más bajas de tales compuestos, un potencial de toxicidad reducido, la mejora del índice terapéutico y la disminución del coste global del tratamiento.

El efecto de las modificaciones de nucleósidos sobre la actividad de ARNi se evalúa según la literatura existente (Elbashir *et al.*, Nature (2001), 411, 494-498; Nishikura *et al.*, Cell (2001), 107, 415-416; y Bass *et al.*, Cell, (2000), 101, 235-238.)

En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento pueden utilizarse para el diagnóstico, tratamiento, profilaxis y como kits y reactivos de búsqueda. Además, los oligonucleótidos antisentido, que son capaces de inhibir la expresión génica con exquisita especificidad, son utilizados a menudo por los expertos para esclarecer la función de genes concretos o para distinguir entre funciones de diversos miembros de una ruta biológica. En determinadas formas de realización, los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento pueden utilizarse en solitario o en combinación con otros compuestos oligoméricos o agentes terapéuticos, pueden utilizarse como herramientas para análisis diferenciales y/o combinatorios para esclarecer los patrones de expresión de una porción o de todo el complemento de genes expresados dentro de células y tejidos. Los compuestos oligoméricos también pueden utilizarse eficazmente como cebadores y sondas en condiciones que favorezcan la amplificación o la detección de genes, respectivamente. Estos cebadores y sondas son útiles en los métodos que requieren la detección específica de moléculas de ácido nucleico que codifican proteínas y en la amplificación de moléculas de ácido nucleico para la detección o para su uso en estudios adicionales. La hibridación de los oligonucleótidos antisentido, en concreto los cebadores y sondas, de la invención con un ácido nucleico puede detectarse por medios conocidos en la técnica. Tales medios pueden incluir la conjugación de una enzima al oligonucleótido, el marcaje radiactivo del oligonucleótido o cualquier otro medio de detección adecuado. También pueden prepararse kits que utilicen tales medios de detección para detectar el nivel de proteínas seleccionadas en una muestra.

Como un ejemplo no limitativo, los patrones de expresión dentro de las células o tejidos tratados con uno o más compuestos oligoméricos se comparan con los tejidos o las células testigo no tratados con compuestos oligoméricos y se analizan los patrones producidos en busca de niveles diferenciales de expresión génica, ya que están relacionados, por ejemplo, con una asociación de enfermedades, ruta de señalización, localización celular, nivel de expresión, tamaño, estructura o función de los genes examinados. Estos análisis pueden realizarse en células estimuladas o no estimuladas y en presencia o ausencia de otros compuestos y u compuestos oligoméricos que influyen en los patrones de expresión.

Los ejemplos de métodos de análisis de expresión génica conocidos en la técnica incluyen las matrices o micromatrices de ADN (Brazma y Vilo, FEBS Lett., 2000, 480, 17-24; Celis, *et al.*, FEBS Lett., 2000, 480, 2-16), SAGE (análisis en serie de la expresión génica) (Madden, *et al.*, Drug Discov. Today, 2000, 5, 415-425), READS (amplificación de ADNc digeridos con enzimas de restricción) (Prashar y Weissman, Methods Enzymol., 1999, 303, 258-72), TOGA (análisis de la expresión génica total) (Sutcliffe, *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 2000, 97, 1976-81), matrices de proteínas y proteómica (Celis, *et al.*, FEBS Lett., 2000, 480, 2-16; Jungblut, *et al.*, Electrophoresis, 1999, 20, 2100-10), secuenciación de marcador de secuencia expresada (EST) (Celis, *et al.*, FEBS Lett., 2000, 480, 2-16; Larsson, *et al.*, J. Biotechnol., 2000, 80, 143-57), huella genética de ARN sustractiva (SuRF) (Fuchs, *et al.*, Anal Biochem, 2000, 286, 91-98; Larson, *et al.*, Cytometry, 2000, 41, 203-208), clonación sustractiva, presentación diferencial (DD) (Jurecic y Belmont, Curr. Opin. Microbiol., 2000, 3, 316-21), hibridación genómica comparativa (Carulli, *et al.*, J. Cell Biochem. Suppl., 1998, 31, 286-96), técnicas FISH (hibridación fluorescente *in situ*) (Going y Gusterson, Eur. J. Cancer, 1999, 35, 1895-904) y métodos de espectrometría de masas (To, Comb. Chem. High Throughput Screen, 2000, 3, 235-41).

Aunque en determinadas formas de realización los compuestos oligoméricos proporcionados en el presente documento pueden utilizarse como se ha descrito, los siguientes ejemplos sirven solamente para ilustrar y no pretenden ser limitativos.

Ejemplos (General)

Se registraron los espectros RMN ^1H y ^{13}C en un espectrómetro Bruker 300 MHz y 75 MHz, respectivamente.

Ejemplo 1

Síntesis de fosforamiditas de nucleósidos

La preparación de fosforamiditas de nucleósido se lleva a cabo siguiendo los procedimientos que se ilustran en el presente documento y en la técnica, tal como pero sin limitarse a, la patente de EE.UU. 6.426.220 y la PCT publicada WO 02/36743.

Ejemplo 2

Síntesis oligonucleósidos

Los compuestos oligoméricos utilizados según la presente invención pueden prepararse de manera práctica y rutinaria a través de la técnica bien conocida de la síntesis en fase sólida. El equipo para tal síntesis lo comercializa varios vendedores incluido, por ejemplo, Applied Biosystems (Foster City, CA). Además o como alternativa, puede emplearse cualquier otro medio para tal síntesis, conocido en la técnica. Es bien conocido el uso de técnicas similares para preparar oligonucleótidos tales como los derivados alquilados y los que tienen enlaces fosforotioato.

Oligonucleótidos: pueden sintetizarse oligonucleótidos fosfodiéster (P=O) sustituidos y no sustituidos en un sintetizador de ADN automatizado (Applied Biosystems modelo 394) utilizando la química convencional de fosforamiditas con oxidación mediante yodo.

Los fosforotioatos (P=S) se sintetizan de manera similar a los oligonucleótidos fosfodiéster con las siguientes excepciones: la tiación se efectúa en determinadas formas de realización utilizando una solución al 10% p/v de 3, H-1, 2-benzoditiol-3-ona-1, 1-dióxido en acetonitrilo para la oxidación de los enlaces fosfito. El tiempo de la etapa de reacción de tiación se aumenta a 180 segundos y va precedida de la etapa normal de protección terminal. Después de la escisión de la columna CPG y el desbloqueo en hidróxido de amonio concentrado a 55°C (12-16 horas), se recuperan los oligonucleótidos por precipitación con más de 3 volúmenes de etanol a partir de una solución de NH_4OAc 1 M. Los oligonucleótidos fosfinato pueden prepararse como se describe en la patente de EE.UU. 5.508.270.

Pueden prepararse oligonucleótidos alquifosfonato como se describe en la patente de EE.UU. 4.469.863.

Pueden prepararse oligonucleótidos de 3'-desoxi-3'-metilen fosfonato como se describe en las patentes de EE.UU. 5.610.289 ó 5.625.050.

Pueden prepararse oligonucleótidos fosforamidita como se describe en la patente de EE.UU., 5.256.775 o en la patente de EE.UU. 5.366.878.

Pueden prepararse oligonucleótidos alquifosfonotioato como se describe en las solicitudes PCT publicadas PCT/US94/00902 y PCT/US93/06976 (publicadas como WO 94/17093 y WO 94/02499, respectivamente).

Pueden prepararse oligonucleótidos 3'-desoxi-3'-amino fosforamidato como se describe en la patente de EE.UU. 5.476.925.

5 Pueden prepararse oligonucleótidos fosfotriéster como se describe en la patente de EE.UU. 5.023.243.

Pueden prepararse oligonucleótidos boranofosfato como se describe en las patentes de EE.UU. 5.130.302 y 5.177.198.

10 Oligonucleósidos: Pueden prepararse oligonucleósidos unidos a metilenmetilimino, identificados también como oligonucleósidos unidos a MMI, oligonucleósidos unidos a metilendimetilhidrazo, identificados también como oligonucleósidos unidos a MDH y oligonucleósidos unidos a metilencarbonilamino, identificados también como oligonucleósidos unidos a amida-3 y oligonucleósidos unidos a metilaminocarbonil, identificados también como oligonucleósidos unidos a amida-4, así como compuestos oligoméricos de esqueleto mixto que tienen, por ejemplo, enlaces MMI y P=O o P=S alternos, como se describe en las patentes de EE.UU. 5.378.825, 5.386.023, 5.489.677, 15 5.602.240 y 5.610.289.

Pueden prepararse oligonucleósidos unidos a formacetal y tioformacetal como se describe en las patentes de EE.UU. 5.264.562 y 5.264.564.

20 Pueden prepararse oligonucleósidos unidos a óxido de etileno como se describe en la patente de EE.UU. 5.223.618.

Ejemplo 3

25 Aislamiento de oligonucleótidos

Después de la escisión del soporte sólido de vidrio de poro controlado o de otro medio de soporte y el desbloqueo en hidróxido de amonio concentrado a 55°C durante 12-16 horas, se recuperan los oligonucleótidos u oligonucleósidos por precipitación de NH₄OAc 1 M con más de 3 volúmenes de etanol. Se analizan los oligonucleótidos sintetizados mediante electronebulización-espectroscopia de masas (determinación del peso molecular) y mediante electroforesis en gel capilar. Las cantidades relativas de enlaces fosforotioato y fosfodiéster obtenidas en la síntesis se determina mediante la relación entre el peso molecular correcto y el producto -16 uma (+/-32 +/-48). Para algunos estudios los oligonucleótidos se purifican mediante HPLC, como describen Chiang *et al.*, J. Biol. Chem. 1991, 266, 18162-18171. Los resultados obtenidos con el material purificado mediante HPLC son generalmente similares a los obtenidos con el material no purificado mediante HPLC.

Ejemplo 4

40 Síntesis de oligonucleótidos en formato de placa de 96 pocillos

Los oligonucleótidos pueden sintetizarse mediante química de fosforamidita P (III) en fase sólida en un sintetizador automático capaz de ensamblar 96 secuencias simultáneamente en un formato de 96 pocillos. Los enlaces internucleotídicos fosfodiéster se producen por oxidación con yodo acuoso. Los enlaces internucleotídicos fosforotioato son generados por sulfuración utilizando 1,1-dióxido de 3,4-dihidro-2H-1,2-benzoditiol-3-ona (reactivo de Beaucage) en acetonitrilo anhidro. Las beta-cianoetildiisopropil fosforamiditas con base protegida convencionales se adquieren de proveedores comerciales (por ejemplo, PE-Applied Biosystems, Foster City, CA, o Pharmacia, Piscataway, NJ). Los nucleósidos no convencionales se sintetizan de acuerdo con métodos convencionales o patentados. Éstos se utilizan como beta-cianoetildiisopropil fosforamiditas con base protegida.

50 Los oligonucleótidos se escinden del soporte y se desprotegen con NH₄OH concentrado a una temperatura elevada (55°C-60°C) durante 12-16 horas y a continuación se seca el producto liberado a vacío. A continuación se vuelve a suspender el producto seco en agua estéril para producir una placa maestra a partir de la cual se diluyen a continuación todas las muestras de placas analíticas y de ensayo utilizando pipeteadores robotizados.

55 Ejemplo 5

Análisis de oligonucleótidos utilizando un formato de placa de 96 pocillos

60 Se evalúa la concentración de oligonucleótido en cada pocillo mediante dilución de las muestras y espectroscopia de absorción UV. Se evalúa la integridad de la longitud completa de los productos individuales mediante electroforesis capilar (CE), en el formato de 96 pocillos (Beckman P/ACE™ MDQ) o, para muestras preparadas individualmente, en un aparato de CE comercial (por ejemplo, Beckman P/ACE™ 5000, ABI 270). La composición del esqueleto y las bases se confirma mediante análisis de masas de los compuestos oligoméricos utilizando electronebulización-espectroscopia de masas. Todas las placas de ensayo evaluadas se diluyen a partir de la placa maestra utilizando pipeteadores robotizados de uno o varios canales. Las placas se consideran

aceptables si al menos el 85% de los compuestos oligoméricos sobre la placa tienen al menos una longitud completa de un 85%.

Ejemplo 6

5

Cultivo de células y tratamiento de oligonucleótidos

El efecto de los compuestos oligoméricos sobre la expresión del ácido nucleico diana se ensaya en cualquiera de una diversidad de tipos celulares siempre que el ácido nucleico diana esté presente en niveles apreciables. Esto puede determinarse de manera rutinaria utilizando, por ejemplo, PCR o transferencia Northern. Las líneas celulares derivadas de múltiples tejidos y especies pueden obtenerse de la Colección Americana de Cultivos Tipo (American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA).

El siguiente tipo de célula se proporciona con fines ilustrativos, pero pueden utilizarse otros tipos de células de manera rutinaria, siempre que la diana se exprese en el tipo de célula elegido. Esto puede determinarse fácilmente mediante procedimientos rutinarios en la técnica, por ejemplo transferencia Northern, ensayos de protección frente a ribonucleasas o RT-PCR.

Células b.END: La línea celular endotelial de cerebro de ratón b.END se obtuvo del Dr. Werner Risau en el Instituto Max Plank (Bad Nauheim, Alemania). Las células b.END se cultivaron de manera rutinaria en DMEM, alta concentración de glucosa (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) complementado con suero de ternera fetal al 10% (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA). Cuando las células alcanzaron aproximadamente una confluencia del 90%, se sometieron a pases de manera rutinaria mediante tripsinización y dilución. Se sembraron las células en placas de 96 pocillos (Falcon-Primaria #353872, BD Biosciences, Bedford, MA) a una densidad de aproximadamente 3.000 células/pocillo para su uso, incluido pero no limitado a, experimentos de transfección de compuestos oligoméricos.

Experimentos que implican el tratamiento de células con compuestos oligoméricos:

Cuando las células alcanzan la confluencia apropiada, se tratan con compuestos oligoméricos utilizando un método de transfección como se describe.

LIPOFECTIN™

Cuando las células alcanzan una confluencia del 65%-75%, se tratan con el oligonucleótido. El oligonucleótido se mezcla con LIPOFECTIN™ (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) en medio con suero reducido Opti-MEM™-1 (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA) para alcanzar la concentración deseada de oligonucleótido y una concentración de LIPOFECTIN™ de 2,5 µg/ml ó 3 µg/ml por 100 nM de oligonucleótido. Esta mezcla de transfección se incuba a temperatura ambiente durante aproximadamente 0,5 horas. Para las células cultivadas en placas de 96 pocillos, se lavan una vez los pocillos con 100 µl de OPTI-MEM™-1 y a continuación se tratan con 130 µl de la mezcla de transfección. Las células cultivadas en placas de 24 pocillos u otras placas convencionales de cultivo de tejidos se tratan de manera similar, utilizando volúmenes apropiados de medio y oligonucleótido. Se tratan las células y se obtienen los datos por duplicado o triplicado. Después de aproximadamente 4-7 horas de tratamiento a 37°C, se reemplaza el medio que contiene la mezcla de transfección con medio de cultivo de nueva aportación. Las células se recogen 16-24 horas después del tratamiento con oligonucleótido.

Otros reactivos de transfección adecuados conocidos en la técnica incluyen, pero no se limitan a, CYTOFECTIN™, LIPOFECTAMINE™, OLIGOFECTAMINE™ y FUGENE™. Otros métodos de transfección adecuados conocidos en la técnica incluyen, pero no se limitan a, electroporación.

Ejemplo 7

55

Análisis mediante PCR cuantitativa en tiempo real de los niveles de ARNm diana

La cuantificación de los niveles de ARNm diana se logró mediante PCR cuantitativa en tiempo real utilizando el sistema de detección de secuencias ABI PRISM™ 7600, 7700 ó 7900 (PE-Applied Biosystems, Foster City, CA) según las instrucciones del fabricante. Este es un sistema de detección de fluorescencia no basado en gel, en tubo cerrado, que permite la cuantificación de alto rendimiento de los productos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. A diferencia de la PCR convencional en la que los productos de amplificación se cuantifican después de finalizada la PCR, los productos en la PCR cuantitativa en tiempo real se cuantifican a medida que se acumulan. Esto se logra incluyendo en la reacción de PCR una sonda oligonucleotídica que hibrida específicamente entre los cebadores de PCR directo e inverso, y contiene dos colorantes fluorescentes. Se fija un colorante indicador (por ejemplo, FAM o JOE, obtenido de PE-Applied Biosystems, Foster City, CA, Operon Technologies Inc., Alameda, CA o Integrated ADN Technologies Inc., Coralville, IA) al extremo 5' de la sonda y se fija un colorante interruptor (por ejemplo, TAMRA, obtenido a partir de ya sea Biosystems PE-Applied, Foster City,

CA, Operon Technologies Inc., Alameda, CA o Integrated ADN Technologies Inc., Coralville, IA) al extremo 3' de la sonda. Cuando la sonda y los colorantes están intactos, la emisión del colorante indicador se extingue por la proximidad del colorante interruptor en 3'. Durante la amplificación, la hibridación de la sonda con la secuencia diana crea un sustrato que puede ser escindido por la actividad 5'-exonucleasa de la polimerasa Taq. Durante la fase de extensión del ciclo de amplificación por PCR, la escisión de la sonda por la polimerasa Taq libera el colorante indicador del resto de la sonda (y por lo tanto, del resto interruptor) y se genera una señal fluorescente específica de la secuencia. Con cada ciclo, se escinden moléculas adicionales de colorante indicador de sus respectivas sondas y se monitoriza la intensidad de fluorescencia a intervalos regulares mediante óptica láser incorporada en el sistema de detección de secuencias ABI PRISM™. En cada ensayo, una serie de reacciones paralelas que contienen diluciones en serie de ARNm procedente de muestras testigo no tratadas genera una curva patrón que se utiliza para cuantificar el porcentaje de inhibición después del tratamiento con oligonucleótidos antisentido de las muestras de ensayo.

Antes del análisis mediante PCR cuantitativa, se evalúan los conjuntos cebador-sonda específicos para el gen diana que se está midiendo para determinar su capacidad para "multiplexarse" con una reacción de amplificación de GAPDH. En la multiplexación, tanto el gen diana como el gen patrón interno de GAPDH se amplifican al mismo tiempo en una única muestra. En este análisis, el ARNm aislado procedente de células no tratadas se diluye en serie. Se amplifica cada dilución en presencia de los conjuntos cebador-sonda específicos sólo para GAPDH, sólo para el gen diana ("uniplexación"), o ambos (multiplexación). Después de la amplificación por PCR, se generan las curvas patrón de GAPDH y la señal de ARNm diana como una función de la dilución a partir de la muestra uniplexada y la multiplexada. Si la pendiente y el coeficiente de correlación de la GAPDH y las señales diana generadas a partir de las muestras multiplexadas se encuentran dentro del 10% de sus valores correspondientes generados a partir de las muestras uniplexadas, el conjunto cebador-sonda específico para esa diana se considera multiplexable. En la técnica también se conocen otros métodos de PCR.

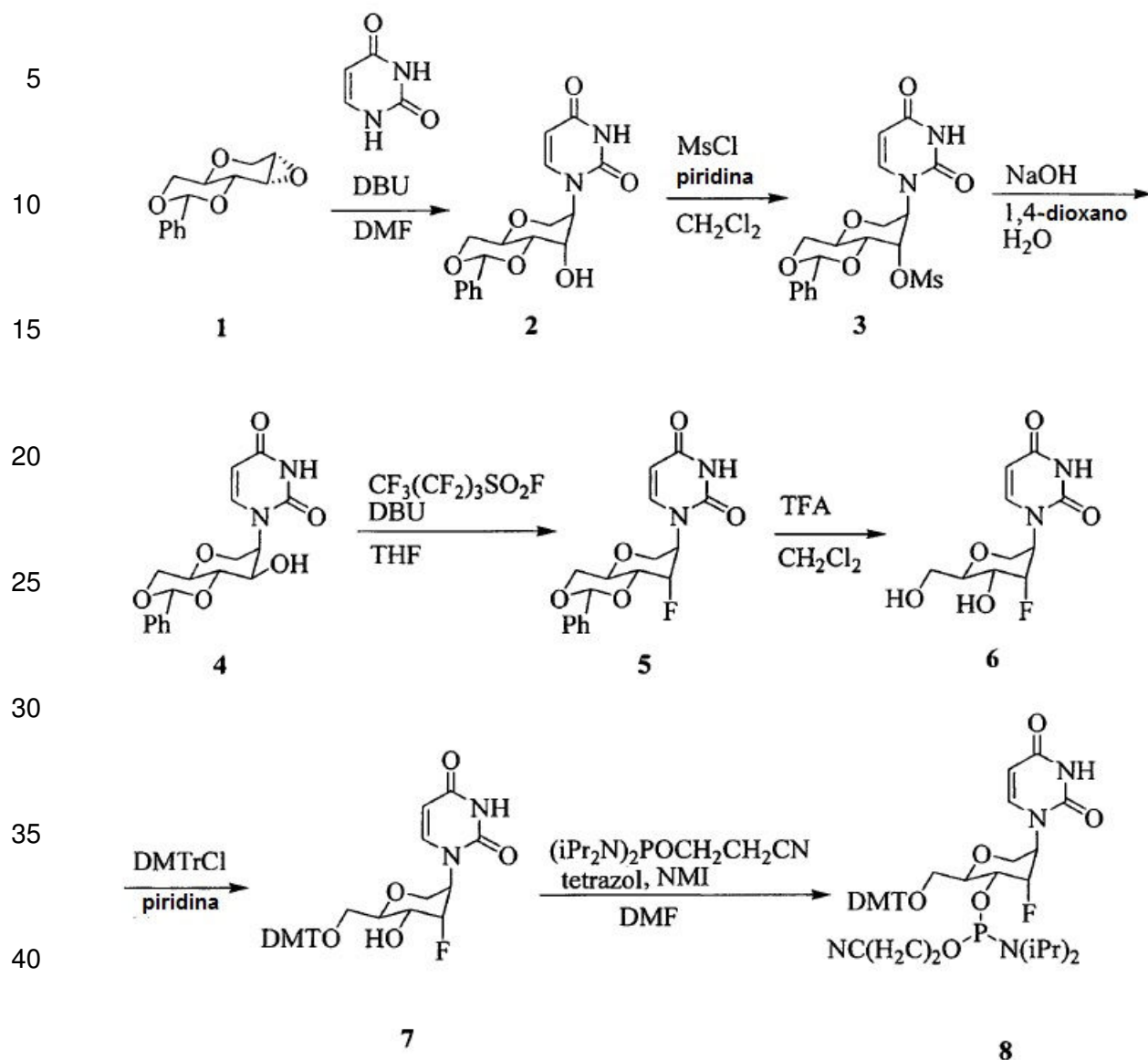
Los reactivos de RT-PCR se obtuvieron de Invitrogen Life Technologies (Carlsbad, CA). La RT-PCR en tiempo real se llevó a cabo añadiendo 20 µl de cóctel PCR (tampón PCR 2,5x sin MgCl₂, MgCl₂ 6,6 mM, 375 µM de cada uno de dATP, dCTP, dGTP, 375 nM de cada cebador directo y cebador inverso, 125 nM de sonda, 4 unidades de inhibidor ARNasa, 1,25 unidades de PLATINUM® Taq, 5 unidades de transcriptasa inversa MuLV y colorante ROX 2,5x) a placas de 96 pocillos que contenían 30 µl de solución de ARN total (20 ng-200 ng). La reacción RT se llevó a cabo mediante incubación durante 30 minutos a 48 °C. Tras una incubación de 10 minutos a 95 °C para activar la PLATINUM® Taq, se llevaron a cabo 40 ciclos de un protocolo de PCR en dos etapas: 95 °C durante 15 segundos (desnaturalización) seguido de 60 °C durante 1,5 minutos (hibridación/extensión).

Las cantidades diana de gen obtenidas por RT-PCR en tiempo real se normalizan utilizando el nivel de expresión de GAPDH, un gen cuya expresión es constante, o cuantificando el ARN total utilizando RIBOGREEN™ (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR). La expresión de GAPDH se cuantifica mediante RT-PCR en tiempo real, procesándose simultáneamente con la diana, mediante multiplexación, o por separado. El ARN total se cuantifica utilizando reactivo de cuantificación de ARN RiboGreen™ (Molecular Probes, Inc., Eugene, OR). En Jones, L.J., *et al.*, (Analytical Biochemistry, 1998, 265, 368-374) se instruye sobre los métodos de cuantificación de ARN mediante RIBOGREEN™.

En este ensayo, se pipetea 170 µl de reactivo de trabajo RIBOGREEN™ (reactivo RIBOGREEN™ diluido 1:350 en Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 7,5) en una placa de 96 pocillos que contiene 30 µl de ARN celular purificado. La placa se lee en un CytoFluor 4000 (PE Applied Biosystems) con excitación a 485 nm y emisión a 530 nm.

Ejemplo 8

Preparación del Compuesto 8, Esquema 1



a) Preparación del Compuesto 2

Se disolvió Compuesto 1 (13,1 g, 55,9 mmoles, 1,5:2,3-dianhidro-4,6-O-benciliden-D-alitol, adquirido de Carbosynth, Reino Unido) en N,N-dimetilformamida anhidra, (210 ml). A esta solución se añadió uracilo (7,52 g, 67,1 mmoles) y 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (10,0 ml, 67,1 mmoles). Se calentó esta mezcla a 85°C durante 7 horas. A continuación, se enfrió la mezcla a temperatura ambiente, se vertió en acetato de etilo (1 l), y se lavó con una solución acuosa semisaturada de NaHCO₃ (4 x 1 l). Se secó la porción acuosa sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar una espuma de color pálido, que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (metanol en CH₂Cl₂ al 2%), proporcionando 12,5 g (rendimiento del 64,5%) del Compuesto 2 en forma de espuma blanca. ESI-MS [M+H]⁺: calc. 347 Da; obs. 347 Da. La ¹H RMN fue coherente con la estructura. La referencia para este procedimiento: Abramov, M.; Marchand, A.; Calleja-Marchand, A.; Herdewijn, P. Synthesis of D- Altritol Nucleosides with a 3'- O- tert- butyldimethylsilyl protecting group. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* (2004) **23**, 439.

b) Preparación del Compuesto 3

Se disolvió Compuesto 2 (12,1 g, 35,0 mmoles) en una mezcla de CH₂Cl₂ anhidro (50 ml) y piridina anhidra (50 ml). Se enfrió esta mezcla a 0°C, a continuación se trató con cloruro de metanosulfonylo (6,77 ml, 87,4 mmoles). Después de mantener a 0°C durante 15 minutos, se calentó la mezcla a temperatura ambiente y se agitó 5 horas más. La concentración a vacío proporcionó una pasta dorada, que se resuspendió en CH₂Cl₂ (500 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso semisaturado, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar un aceite dorado. La posterior purificación mediante cromatografía en gel de sílice (metanol en CH₂Cl₂ al 2%) proporcionó 11,7 g

(rendimiento del 78,6%) de Compuesto 3 en forma de espuma de color amarillo pálido. ESI-MS $[M+H]^+$: calc. 425 Da; obs. 425 Da. La 1H RMN fue coherente con la estructura.

c) Preparación del Compuesto 4

5 Se suspendió compuesto 3 (11,2 g, 26,5 mmoles) en 1,4-dioxano (100 ml). A esta suspensión se añadieron 100 ml de NaOH acuoso 2M. Se calentó la mezcla resultante a 60 °C y se agitó durante 3,5 horas. Se enfrió la mezcla a temperatura ambiente, a continuación se neutralizó con ácido acético (11,4 ml). Se concentró la mezcla a vacío hasta un volumen de aproximadamente 100 ml y a continuación se vertió en CH_2Cl_2 (500 ml). Se lavó la mezcla resultante con $NaHCO_3$ acuoso saturado (500 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó, proporcionando 8,23 g (rendimiento del 89,7%) de Compuesto 4 en forma de sólido blanquecino. ESI-MS $[M+H]^+$: calc. 347 Da; obs. 347 Da. La 1H RMN fue coherente con la estructura.

d) Preparación del Compuesto 5

15 Se disolvió Compuesto 4 (7,96 g, 23,0 mmoles) en THF anhidro (100 ml). A esta solución se añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (5,1 ml, 34 mmoles), seguido de fluoruro de nonafluorobutanossulfonilo (11,6 ml, 34 mmoles), que se añadió gota a gota con agitación. Se incubó esta mezcla a 30 °C durante 84 horas. Se vertió la mezcla en acetato de etilo (400 ml), se lavó con $NaHCO_3$ acuoso semisaturado (2 x 500 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar una espuma de color pálido. La cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 1:1) proporcionó 7,92 g de Compuesto 5 como una mezcla impura. Esta mezcla se utilizó para las reacciones posteriores sin purificación adicional. Se purificó más cuidadosamente una pequeña porción mediante cromatografía en gel de sílice para la caracterización analítica. ESI-MS $[M+H]^+$: calc. 349 Da; obs. 349 Da (impureza principal $[M+H]^+ = 329$, coherente con la eliminación de HF). Las RMN 1H y ^{19}F fueron coherentes con la estructura para el Compuesto 5.

e) Preparación del Compuesto 6

30 Se disolvió Compuesto 5 impuro (6,87 g, 19,7 mmoles) en CH_2Cl_2 anhidro (100 ml). A esta solución se añadió ácido trifluoroacético (35 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se concentró la mezcla a vacío hasta dar un aceite de color naranja pálido. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente progresivo de metanol en CH_2Cl_2 del 1% al 10%) proporcionó 3,58 g (rendimiento del 69%) de Compuesto 6 en forma de espuma blanca. ESI-MS $[M+H]^+$: calc. 261 Da; obs. 261 Da.

f) Preparación del Compuesto 7

35 Se disolvió Compuesto 6 (3,37 g, 12,9 mmoles) en piridina anhidra (40 ml). Después de enfriar a 0 °C, se trató la solución con cloruro de 4,4'-dimetoxitritilo (6,59 g, 19,5 mmoles). Después de agitar a 0 °C durante 20 minutos, se calentó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 horas más. Se concentró a vacío la mezcla resultante hasta dar un aceite de color marrón, se resuspendió en CH_2Cl_2 (400 ml), se lavó con $NaHCO_3$ acuoso semisaturado (2 x 400 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó. La cromatografía en gel de sílice (metanol en CH_2Cl_2 al 2% v/v, proporcionó 5,68 g (rendimiento del 77,9%) de Compuesto 7 en forma de espuma de color beige. Las RMN 1H y ^{19}F fueron coherentes con la estructura.

g) Preparación del Compuesto 8

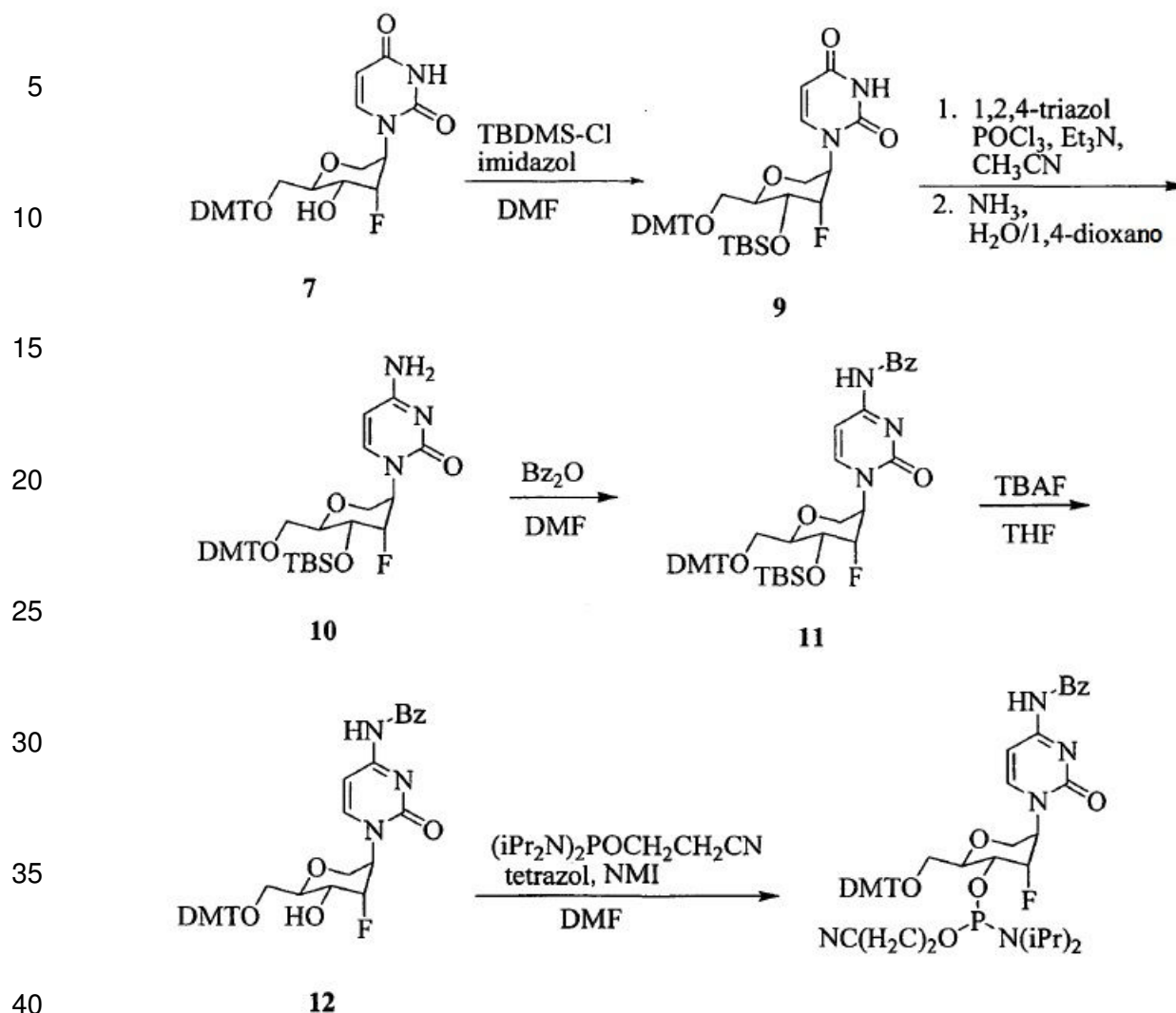
45 Se disolvió Compuesto 7 (2,50 g, 4,45 mmoles) en N,N-dimetilformamida anhidra (11,2 ml). A esta solución se añadió 2-cianoetil-N',N',N',N'-tetraisopropilfosforodiamidita (1,98 ml, 6,23 mmoles), tetrazol (156 mg, 2,22 mmoles), y N-metilimidazol (89 μ l, 1,11 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, se trató la mezcla con trietilamina (2,48 ml, 17,8 mmoles), se agitó durante 5 minutos, a continuación se vertió en acetato de etilo (250 ml). Se lavó la solución resultante con $NaHCO_3$ acuoso saturado:NaCl acuoso saturado 1:1 (1 x 200 ml), seguido de NaCl acuoso saturado (1 x 200 ml). Se secó la porción orgánica sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó. La cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 1:1) proporcionó 2,61 g (rendimiento del 76,8%) de Compuesto 8 en forma de espuma de color amarillo pálido. Las RMN 1H , ^{19}F y ^{31}P fueron coherentes con la estructura del Compuesto 8 como una mezcla de diastereoisómeros de fósforo.

Ejemplo 9

Preparación del Compuesto 13, Esquema 2

60

65



a) Preparación del Compuesto 9

45 Se disolvió Compuesto 7 (2,50 g, 4,44 mmoles, preparado en el ejemplo anterior) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (10 ml). A esta solución se añadió imidazol (1,82 g, 26,7 mmoles) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (1,34 g, 8,88 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 horas, se vertió la mezcla en acetato de etilo (250 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso semisaturado (2 x 200 ml) y NaCl acuoso saturado (2 x 200 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó. La cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 1:1) proporcionó 2,52 g (rendimiento del 83,8%) de Compuesto 9 en forma de espuma blanca. Las RMN ¹H y ¹⁹F fueron coherentes con la estructura indicada.

b) Preparación del Compuesto 10

55 A una suspensión enriada (0°C) de 1,2,4-triazol (3,40 g, 49,2 mmoles) en acetonitrilo anhidro (44 ml) se añadió oxiclorigo de fósforo (1,31 ml, 14,1 mmoles). Después de agitar a 0°C durante 20 minutos, se añadió a la mezcla trietilamina (9,8 ml, 70 mmoles). Se añadió a la suspensión resultante una solución de Compuesto 9 (2,38 g, 3,52 mmoles) en acetonitrilo anhidro (20 ml). Se mantuvo la mezcla a 0°C durante 1 hora, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 2 horas. Posteriormente se concentró la mezcla hasta aproximadamente la mitad de su volumen original, se vertió en acetato de etilo (250 ml), se lavó con NaCl acuoso semisaturado (2 x 200 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar una espuma amarilla. Se volvió a disolver este residuo en 1,4-dioxano (20 ml) y se trató con NH₄OH acuoso concentrado (20 ml). Se selló el recipiente de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas, momento en el que se concentró la mezcla a presión reducida, se vertió en CH₂Cl₂ (200 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso semisaturado (1 x 200 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó. La cromatografía en gel de sílice (metanol en CH₂Cl₂ al 1,5% v/v) proporcionó 1,98 g (83,4%) de

Compuesto 10 en forma de espuma amarilla. ESI-MS [M-H +]: calc. 674,8 Da; obs. 674,3 Da. Las RMN ^1H y ^{19}F fueron coherentes con la estructura.

c) Preparación del Compuesto 11

5 Se disolvió Compuesto 10 (1,86 g, 2,76 mmoles) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (10 ml). Se añadió a la solución resultante anhídrido benzoico (938 mg, 4,14 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 14 horas, se vertió la mezcla en acetato de etilo (250 ml), se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado (1 x 200 ml) y NaCl semisaturado acuoso (2 x 200 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó. La cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 1:1) proporcionó 2,12 g (98,4%) de Compuesto 11 en forma de espuma blanca. ESI-MS [M-H +]: calc. 778 Da; obs. 778 Da. Las RMN ^1H y ^{19}F fueron coherentes con la estructura.

d) Preparación del Compuesto 12

15 Se disolvió Compuesto 11 (1,98 g, 2,54 mmoles) en THF anhidro (3 ml). A esta solución se añadieron 3,3 ml de fluoruro de tetrabutilamonio 1 M en THF. Después de 13 horas, se evaporó la mezcla, se disolvió de nuevo en CH_2Cl_2 y se sometió a cromatografía en gel de sílice. La elución con metanol en CH_2Cl_2 al 1,5% (v/v) proporcionó 1,58 g (93,9%) de Compuesto 12 en forma de espuma blanquecina. ESI-MS [M-H +]: calc. 664,7 Da; obs. 664,2 Da. Las RMN ^1H y ^{19}F fueron coherentes con la estructura.

e) Preparación del Compuesto 13

25 Se disolvió Compuesto 12 (1,52 g, 2,28 mmoles) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (5,8 ml). A esta solución se añadió 2-cianoetil-*N',N',N',N'*-tetraisopropilfosforodiamidita (1,00 ml, 3,19 mmoles), tetrazol (80 mg, 1,14 mmoles), y *N*-metilimidazol (45 μl , 0,57 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, se trató la mezcla con trietilamina (1,27 ml, 9,13 mmoles), se agitó durante 5 minutos, y a continuación se vertió en acetato de etilo (200 ml). Se lavó la solución resultante con NaHCO_3 acuoso saturado: NaCl acuoso saturado 1:1 (1 x 200 ml), seguido de NaCl acuoso saturado (2 x 200 ml). Se secó la porción orgánica sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó. La cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 1:1) proporcionó 1,58 g (rendimiento del 80,1%) de Compuesto 13 en forma de espuma de color amarillo pálido. Las RMN ^1H , ^{19}F y ^{31}P fueron coherentes con la estructura del Compuesto 13 como una mezcla de diastereoisómeros de fósforo.

Ejemplo 10

35 Preparación del Compuesto 20, Esquema 3

40

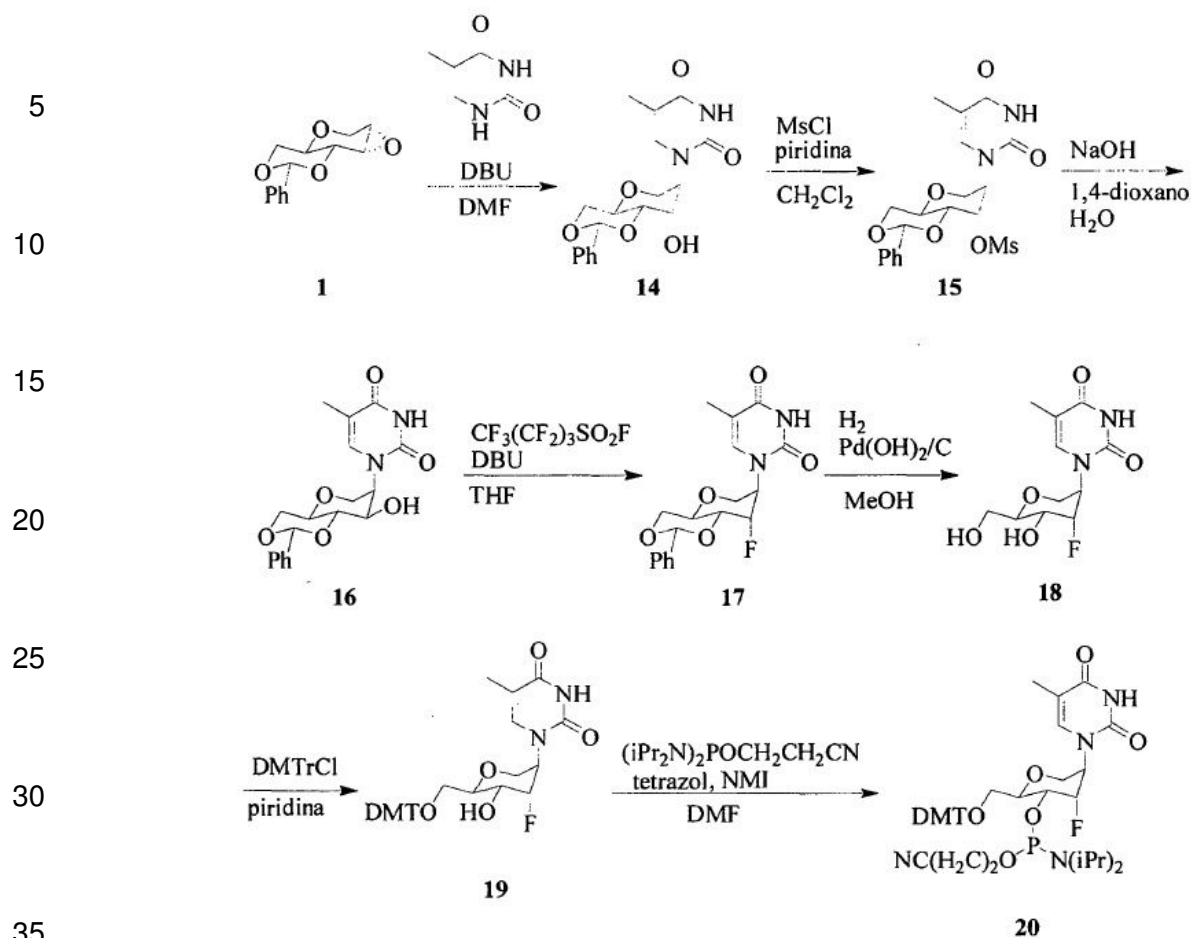
45

50

55

60

65



a) Preparación del Compuesto 14

Se disolvió Compuesto 1 (30,0 g, 128 mmoles), en acetonitrilo anhidro (600 ml). A esta solución se añadió timina (48,4 g, 384 mmoles) y 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (57,4 ml, 384 mmoles). Se calentó esta mezcla a 85 °C durante 12 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, se retiró por filtración la timina sin reaccionar. Se concentró a vacío la solución filtrada hasta dar un aceite de color amarillo, se volvió a disolver en CH₂Cl₂ (500 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (2 x 500 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró hasta dar un aceite de color amarillo. La cromatografía en gel de sílice (metanol en CH₂Cl₂ al 2%) del residuo seco proporcionó 30,3 g (65,6%) de Compuesto 14 en forma de espuma de color blanco. La ¹H RMN fue coherente con la estructura. ESI-MS [M+H⁺]: calc. 361,4 Da; obs. 361,1 Da.

b) Preparación del Compuesto 15

Se disolvió Compuesto 14 (30,1 g, 83,6 mmoles) en una mezcla de CH₂Cl₂ anhidro (100 ml) y piridina anhidra (100 ml). Se enfrió esta mezcla a 0 °C, a continuación se trató con cloruro de metanosulfonilo (8,4 ml, 109 mmoles). Se mantuvo la mezcla a 0 °C durante 30 minutos, a continuación se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 24 horas más. Se concentró la mezcla a vacío hasta dar un aceite de color naranja, que se redisolvió en CH₂Cl₂ (500 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso semisaturado (2 x 500 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar una espuma de color naranja pálido. La ¹H RMN fue coherente con la estructura. ESI-MS [M+H⁺]: calc. 439,4 Da; obs. 439,1 Da. El material resultante se utilizó para la siguiente reacción sin purificación adicional alguna.

c) Preparación del Compuesto 16

Se suspendió Compuesto 15 (aproximadamente 34 g brutos, 78 mmoles) en 1,4-dioxano (125 ml). A esta suspensión se añadieron 125 ml de NaOH acuoso 2M. Se calentó la mezcla resultante a 60 °C y se agitó durante 3 horas. Se enfrió la mezcla a temperatura ambiente, a continuación se neutralizó con ácido acético (14 ml). Se concentró la mezcla a vacío hasta un volumen de aproximadamente 75 ml, a continuación se vertió en CH₂Cl₂

(1,75 l). Se lavó la mezcla con NaHCO_3 acuoso saturado (2 x 1,5 l), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó, proporcionando un sólido amarillo, que se utilizó para la reacción posterior sin purificación adicional alguna. ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$: calc. 361,4 Da; obs. 361,1 Da. La ^1H RMN fue coherente con la estructura.

5 d) Preparación del Compuesto 17

10 Se disolvió Compuesto 16 (26,6 g bruto, 73,8 mmoles) en THF anhidro (450 ml). A esta solución se añadió 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (16,5 ml, 111 mmoles), seguido de fluoruro de nonafluorobutanosulfonilo (34 ml, 111 mmoles), que se añadió gota a gota con agitación. Se incubó esta mezcla a 30°C durante 42 horas. Se concentró la mezcla resultante hasta un volumen de aproximadamente 75 ml, a continuación se vertió en EtOAc (500 ml), se lavó con NaHCO_3 acuoso semisaturado (2 x 500 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó, proporcionando un aceite marrón. La cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 3:2) proporcionó 18,1 g (67,8%) de Compuesto 17 como una mezcla impura (pureza de aproximadamente el 82% mediante LCMS y ^1H RMN). Esta mezcla se utilizó para las reacciones posteriores sin purificación adicional. ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$: calc. 363 Da; obs. 363 Da (impureza principal $[\text{M}+\text{H}^+] = 343$, coherente con la eliminación de HF).

20 e) Preparación del Compuesto 18

25 Se disolvió Compuesto 17 impuro (4,57 g, 12,6 mmoles) en metanol (300 ml). A esta solución se añadió $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (9 g). Se lavó abundantemente el matraz con gas H_2 , se selló y se mantuvo en atmósfera de H_2 mientras se agitaba a temperatura ambiente. Después de 12 horas se purgó el gas H_2 , se retiró el $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ por filtración a través de un tapón de Celite, que se lavó minuciosamente con metanol adicional. Se concentró a vacío hasta dar una espuma blanca. La cromatografía en gel de sílice (metanol en CH_2Cl_2 al 5%), proporcionó 10,7 g (95%) de Compuesto 18 en forma de espuma blanca. ESI-MS $[\text{M}+\text{H}^+]$: calc. 275,2 Da; obs. 275,1 Da. Las RMN ^1H y ^{19}F fueron coherentes con la estructura.

30 f) Preparación del Compuesto 19

35 Se disolvió compuesto 18 (10,6 g, 38,6 mmoles) en piridina anhidra (120 ml), se enfrió a 0°C y se trató con cloruro de 4,4'-dimetoxitritilo (26,1 g, 77,2 mmoles). Se calentó lentamente la solución resultante a temperatura ambiente y se agitó durante 14 horas. Se inactivó la mezcla de reacción con metanol (10 ml) y se concentró a vacío hasta dar una pasta marrón. Se disolvió de nuevo la mezcla en CH_2Cl_2 (500 ml), se lavó con NaHCO_3 acuoso semisaturado (2 x 500 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar una espuma marrón pegajosa. La cromatografía en gel de sílice (metanol en CH_2Cl_2 al 1%) proporcionó 20,3 g (91%) de Compuesto 19 en forma de espuma amarilla. La ^1H RMN fue coherente con la estructura.

40 g) Preparación del Compuesto 20

45 Se disolvió Compuesto 19 (9,00 g, 15,6 mmoles) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (37 ml) y se añadieron 2-cianoetil-*N,N,N',N'*-tetraisopropilfosforodiamidita (7,43 ml, 23,4 mmoles), tetrazol (656 mg, 9,37 mmoles) y *N*-metilimidazol (311 μl , 3,9 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, se trató la mezcla con trietilamina (8,7 ml, 62,4 mmoles), se agitó durante 5 minutos, a continuación se vertió en acetato de etilo (500 ml). Se lavó la solución resultante con NaHCO_3 acuoso semisaturado (3 x 500 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar una espuma amarilla pegajosa. La cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 2:3), seguida de precipitación a partir de hexanos/acetato de etilo, proporcionó 10,5 g (rendimiento del 87%) de Compuesto 20 en forma de espuma de color amarillo pálido. Las RMN ^1H , ^{19}F y ^{31}P fueron coherentes con la estructura como una mezcla de diastereoisómeros.

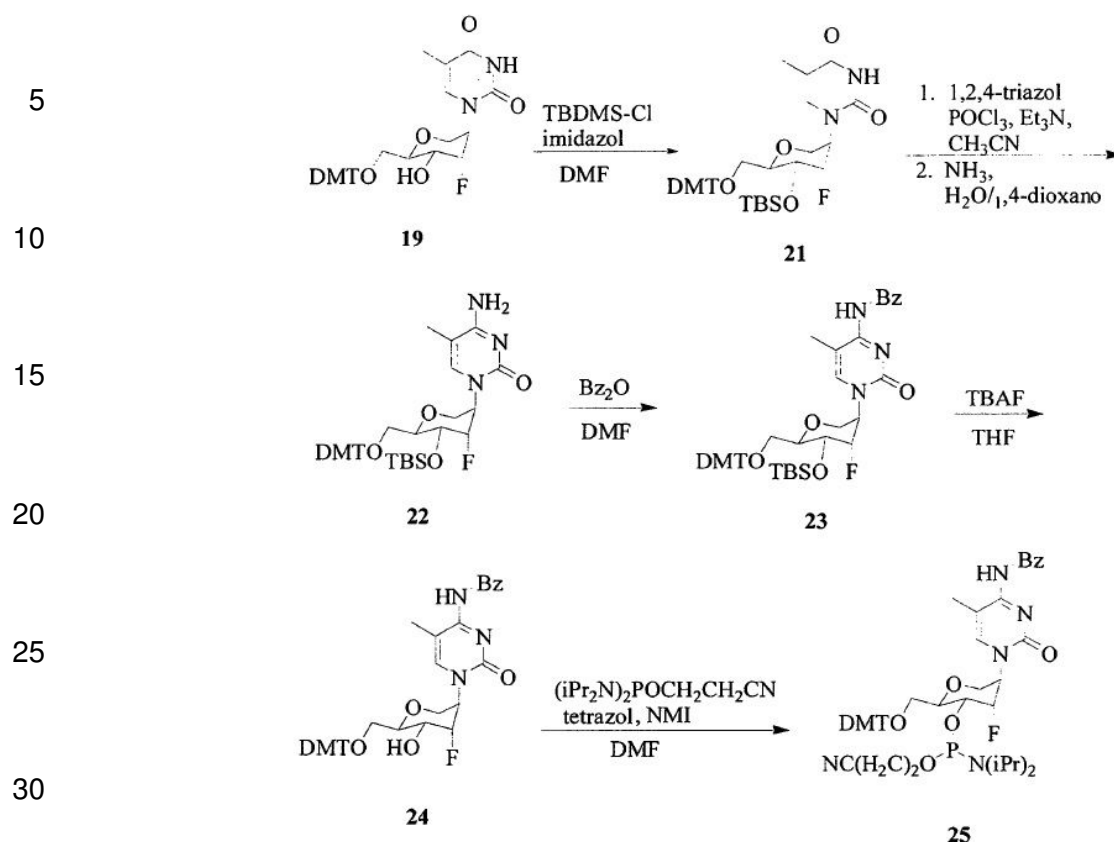
50 Ejemplo 11

Preparación del Compuesto 25, Esquema 4

55

60

65



35 a) Preparación del Compuesto 21

Se disolvió Compuesto 19 (11,2 g, 19,4 mmoles, preparado en el ejemplo anterior) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (44 ml). A esta solución se añadió imidazol (7,9 g, 116 mmoles) y cloruro de terc-butildimetilsililo (5,85 g, 38,8 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 14 horas, se inactivó con la adición de metanol (10 ml), se vertió en acetato de etilo (500 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso semisaturado (3 x 500 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar 13,2 g (98%) de Compuesto 21 en forma de espuma de color amarillo pálido. La ¹H RMN fue coherente con la estructura indicada. El material se utilizó para la reacción posterior sin purificación adicional.

45 b) Preparación del Compuesto 22

A una suspensión enfriada (0°C) de 1,2,4-triazol (18,4 g, 267 mmoles) en acetonitrilo anhidro (350 ml) se añadió oxiclorigenato de fósforo (7,1 ml, 76 mmoles). Después de agitar a 0°C durante 30 minutos, se añadió a la mezcla trietilamina (53 ml, 382 mmoles). Se añadió a la suspensión resultante una solución de Compuesto 21 (13,2 g, 19,1 mmoles) en acetonitrilo anhidro (100 ml). Se mantuvo la mezcla a 0°C durante 1 hora, a continuación se calentó a temperatura ambiente durante 3,5 horas. Posteriormente se concentró la mezcla hasta aproximadamente la mitad de su volumen original, se vertió en acetato de etilo (500 ml), se lavó con NaCl acuoso semisaturado (2 x 500 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar una espuma amarilla. Se volvió a disolver este residuo en 1,4-dioxano (175 ml) y se trató con NH₄OH acuoso concentrado (175 ml). Se selló el recipiente de reacción y se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas, momento en el que se concentró la mezcla a presión reducida, se vertió en CH₂Cl₂ (500 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso semisaturado (2 x 500 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta dar 12,4 g (94%) de Compuesto 22 en forma de espuma de color amarillo, que cristalizó tras el secado durante toda la noche. La ¹H RMN fue coherente con la estructura. El material se utilizó para la reacción posterior sin purificación adicional.

60 c) Preparación del Compuesto 23

Se disolvió Compuesto 22 (12,3 g, 17,8 mmoles) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (60 ml). Se añadió a la solución resultante anhídrido benzoico (6,05 g, 26,7 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 12 horas, se vertió la mezcla en acetato de etilo (500 ml), se lavó con NaHCO₃ acuoso semisaturado (3 x 500 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó. La cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 3:1)

proporcionó 13,4 g (95,1%) de Compuesto 23 en forma de espuma blanca. La ^1H RMN fue coherente con la estructura.

d) Preparación del Compuesto 24

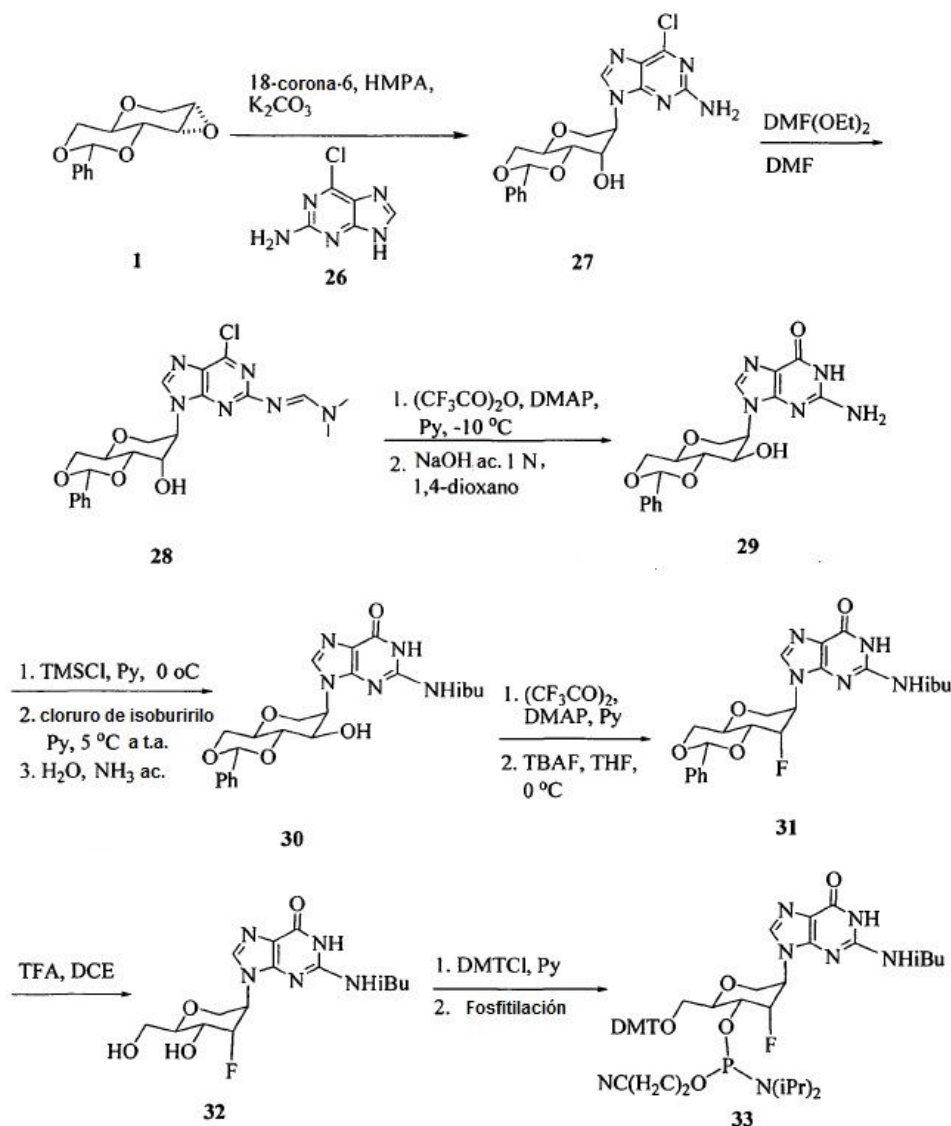
Se disolvió Compuesto 23 (13,4 g, 16,9 mmoles) en THF anhidro (14 ml). A esta solución se añadieron 22 ml de fluoruro de tetrabutilamonio 1 M en THF. Después de 5 horas, se evaporó la mezcla, a continuación se sometió a cromatografía en gel de sílice. La elución con hexanos:acetato de etilo 2:1 proporcionó 9,57 g (83,2%) de Compuesto 24 en forma de espuma blanca. La ^1H RMN fue coherente con la estructura.

e) Preparación del Compuesto 25

Se disolvió Compuesto 24 (9,5 g, 14,0 mmoles) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (33 ml). A esta solución se añadió 2-cianoetil-*N,N,N',N'*-tetraisopropilfosfordiamidita (6,7 ml, 21,0 mmoles), tetrazol (589 mg, 8,41 mmoles), y *N*-metilimidazol (279 μl , 3,50 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, se trató la mezcla con trietilamina (7,8 ml, 56 mmoles), se agitó durante 5 minutos, a continuación se vertió en acetato de etilo (500 ml). Se lavó la solución resultante con NaCl acuoso saturado (3 x 500 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó. La cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 3:1) proporcionó 11,8 g (rendimiento del 95%) de Compuesto 25 en forma de espuma blanca. Las RMN ^1H y ^{31}P fueron coherentes con la estructura del Compuesto 25 como una mezcla de diastereoisómeros de fósforo.

Ejemplo 12

Preparación del Compuesto 33, Esquema 4

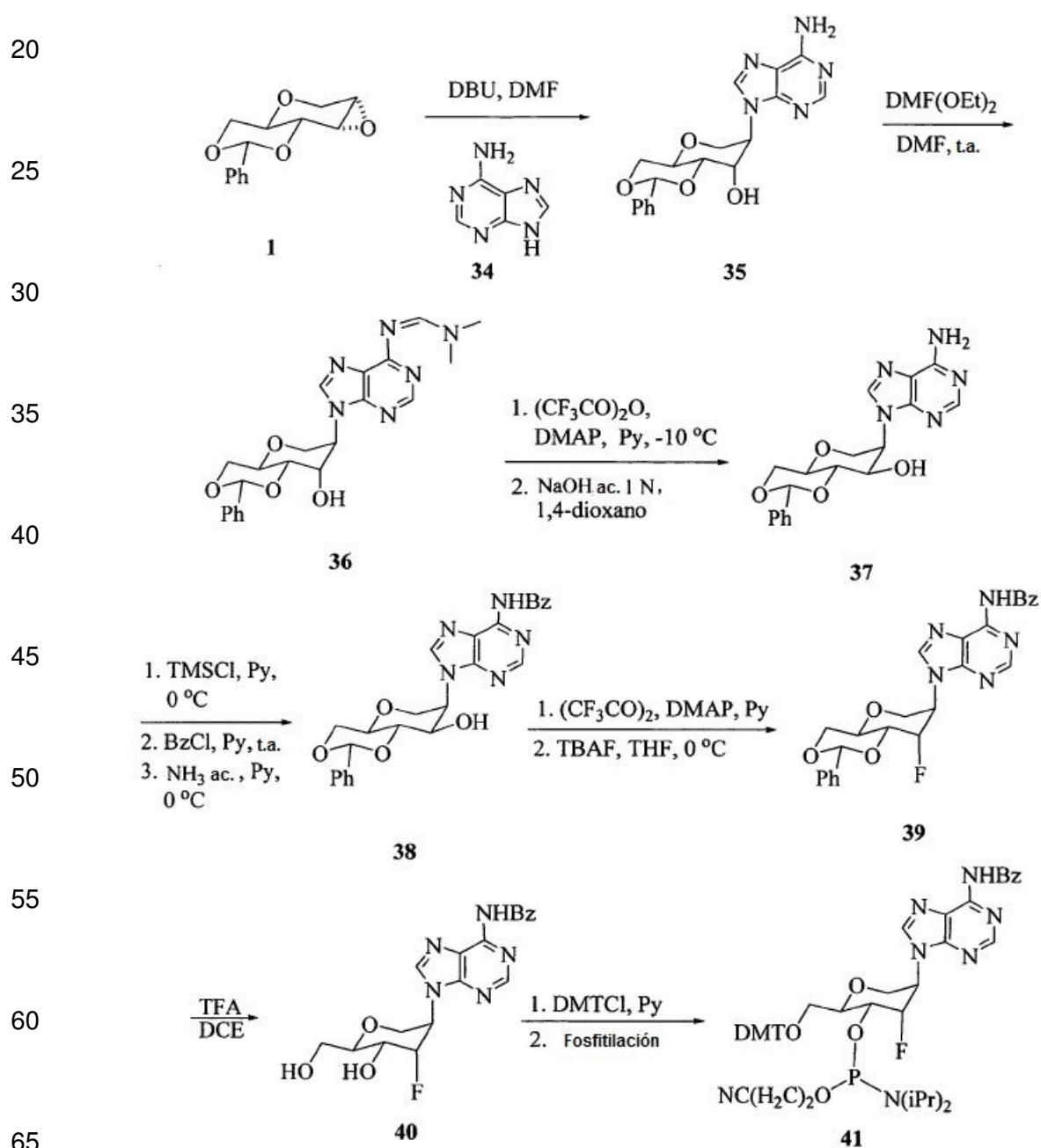


a) Preparación del Compuesto 27

Se mezcló Compuesto 1 (5,40 g, 4,56 mmoles, 1,5:2,3-dianhidro-4,6-*O*-benciliden-D-alitol, adquirido de Carboxynth, Reino Unido) con 2-amino-6-cloropurina Compuesto 26 (5,89 g, 34,69 mmoles) y se secó sobre P_2O_5 a presión reducida durante toda la noche. Se suspendió la mezcla en hexametil fosforamida anhidra (86 ml) y 18-corona-6 (2,86 g, 10,82 mmoles) y se añadió K_2CO_3 (3,46 g, 25,04 mmoles). Se agitó la mezcla de reacción a 90 °C durante 3 horas y se dejó equilibrar a temperatura ambiente. Se añadió hielo picado con agitación posterior durante 1 hora. Se filtró el precipitado formado y se lavó con agua fría seguido de éter dietílico. Se purificó el material bruto mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con MeOH en CH_2Cl_2 al 5%, proporcionando el Compuesto 27 (7,01 g, 75%). La 1H RMN (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ 3,61 (m, 1H), 3,78 (t, $J = 10,1$ Hz, 1 H), 3,92 (m, 1 H), 4,18-4,28 (m, 4H), 5,63 (1, 1H), 5,83 (d, $J = 4,2$ Hz, 1 H), 5,40 (d, $J = 6,3$ Hz, 1 H), 5,85 (d, $J = 3,8$ Hz, 1 H), 6,99 (s, 2H), 7,31-7,42 (m, 5H), 8,21 (s, 1H), MS (ES) m/z 404,0 [M + H].

Ejemplo 13

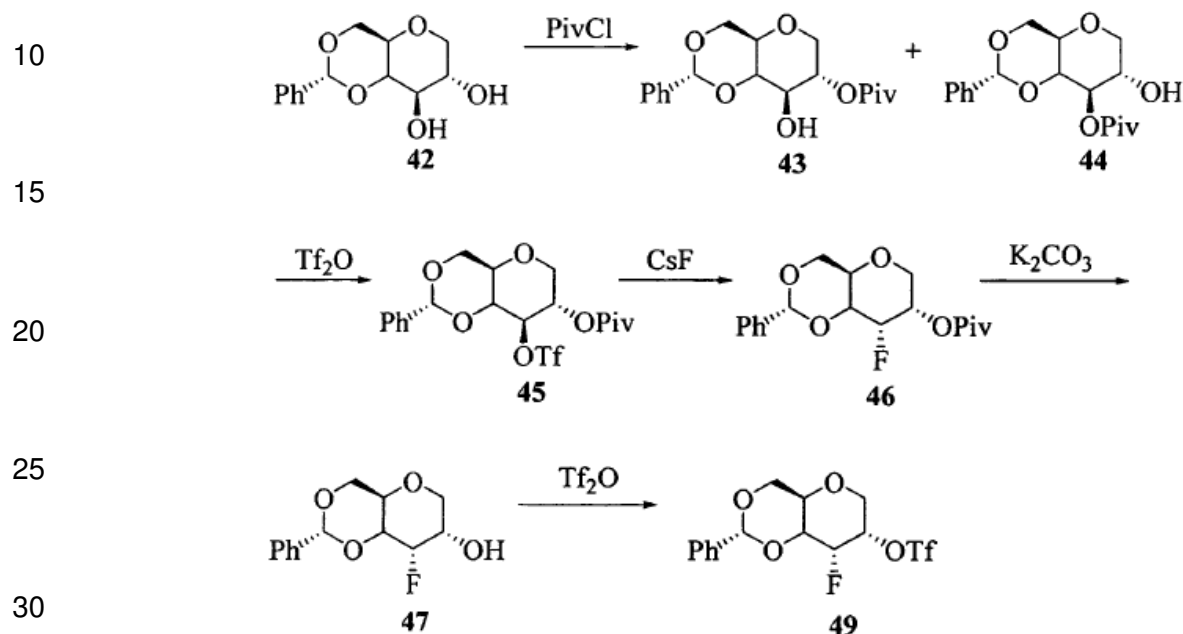
Preparación del Compuesto 41, Esquema 5



El Compuesto 1, 1,5:2,3-dianhidro-4,6-O-benciliden-D-alitol, se adquiere de Carbosynth, Reino Unido.

Ejemplo 14

5 Preparación del Compuesto 49



a) Preparación del Compuesto 43

Se añadió cloruro de pivaloilo (5,5 mmoles, 0,67 ml) a una solución disponible en el mercado de 1,5-anhidro-4,6-O-benciliden-D-glucitol (Carbosynth Limited, Reino Unido) Compuesto 42 (5 mmoles, 1,25 g), trietilamina (5,5 mmoles, 0,77 ml) y dimetilaminopiridina (20 mg) en diclorometano (25 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 24 horas, se diluyó la reacción con diclorometano y se lavó con HCl al 5%, bicarbonato sódico saturado y salmuera. A continuación se secó (Na₂SO₄) y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna (gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo en hexanos del 10% al 30%) proporcionó el Compuesto 43 (1,06 g) y el Compuesto 44 (0,64 g) en forma de sólidos blancos. Compuesto 43: ¹H RMN (300 MHz, cloroformo-d) δ = 7,56-7,44 (m, 2 H), 7,36 (m, 3 H), 5,49 (s, 1 H), 4,98-4,81 (m, 1 H), 4,40-4,22 (m, 1 H), 4,16-3,99 (m, 1 H), 3,82 (s, 1 H), 3,65 (s, 1 H), 3,46 (s, 1 H), 3,41-3,27 (m, 1 H), 3,27-3,15 (m, 1 H), 3,04-2,80 (m, 1 H), 1,29-1,16 (m, 9 H). Compuesto 44: ¹H RMN (300 MHz, cloroformo-d) δ = 7,49-7,40 (m, 2 H), 7,39-7,32 (m, 3 H), 5,53 (s, 1 H), 5,08-4,91 (m, 1 H), 4,42-4,29 (m, 1 H), 4,19-4,04 (m, 1 H), 3,92-3,76 (m, 1 H), 3,76-3,55 (m, 2 H), 3,50-3,30 (m, 2 H), 1,24 (s, 9 H).

b) Preparación del Compuesto 46

Se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (4,8 mmoles, 0,8 ml) a una solución fría (0°C) de Compuesto 43 (3,2 mmoles, 1,07 g) y piridina (0,5 ml). Después de agitar durante una hora se interrumpió la reacción añadiendo agua y se lavó la capa orgánica con agua y salmuera, a continuación se secó (Na₂SO₄) y se concentró, proporcionando el Compuesto 45 bruto que se utilizó sin purificación adicional alguna. La ¹H RMN (300 MHz, cloroformo-d) δ = 7,53-7,42 (m, 2 H), 7,42-7,32 (m, 3 H), 5,59 (s, 1 H), 5,10 (s, 2H), 4,48-4,33 (m, 1 H), 4,32-4,15 (m, 1 H), 3,90-3,69 (m, 2 H), 3,57-3,42 (m, 1 H), 3,40-3,22 (m, 1 H), 1,24 (s, 9 H).

Se calentó a 70°C, durante 2 horas, una solución del Compuesto 45 y fluoruro de cesio (10 mmoles, 1,5 g) en t-BuOH (10 ml). A continuación, se enfrió la reacción a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo y se lavó la capa orgánica con agua y salmuera, a continuación se secó (Na₂SO₄) y se concentró. La purificación mediante cromatografía en columna (gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo en hexanos del 10% al 20%) proporcionó el Compuesto 46 (0,94 g, 90% a partir del Compuesto 43). La ¹H RMN (300 MHz, cloroformo-d) δ = 7,49 (m, 2 H), 7,37 (m, 3 H), 5,56 (s, 1 H), 5,29-5,02 (m, 1 H), 5,02-4,81 (m, 1 H), 4,49-4,32 (m, 1 H), 4,22-4,04 (m, 1 H), 3,99-3,54 (m, 7 H), 1,23 (s, 9 H).

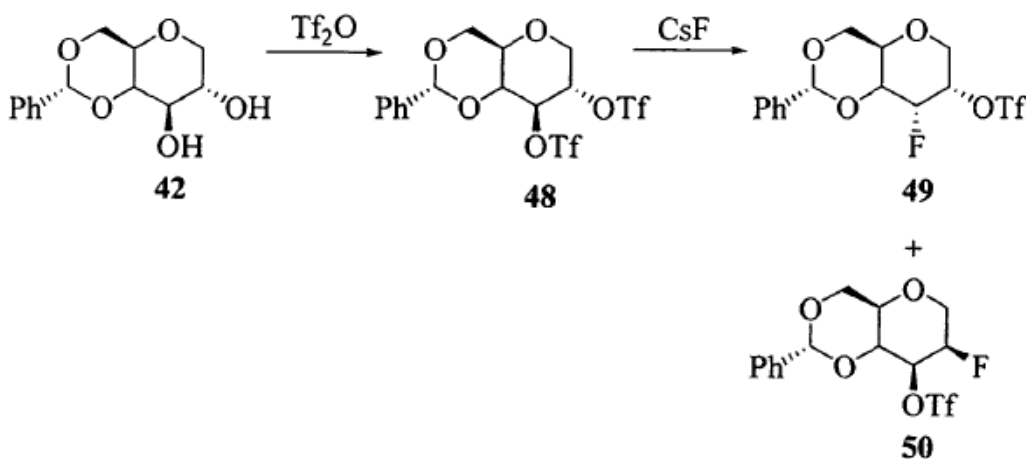
65 c) Preparación del Compuesto 49

Se añadió carbonato potásico (3,2 mmoles, 0,44 g) a una solución del Compuesto 46 (1,18 mmoles, 0,4 g) en metanol (10 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, se evaporó el disolvente a presión reducida y se repartió el residuo entre acetato de etilo y agua. Se secó la capa orgánica (Na_2SO_4) y se concentró, proporcionando el Compuesto 47 que se utilizó sin purificación adicional alguna. La ^1H RMN (300 MHz, cloroformo-d) $\delta = 7,58-7,30$ (m, 5 H), 5,54 (s, 1 H), 5,23-4,94 (m, 1 H), 4,39 (dd, $J = 4,7, 10,0$ Hz, 1 H), 4,02-3,43 (m, 6 H), 2,25-2,08 (m, 1 H).

Se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (0,45 mmoles, 0,08 ml) a una solución fría (0°C) de Compuesto 47 (0,3 mmoles, 0,08 g) y piridina (0,05 ml). Después de agitar durante una hora, se interrumpió la reacción añadiendo agua y se lavó la capa orgánica con agua y salmuera, a continuación se secó (Na_2SO_4) y se concentró, proporcionando el Compuesto 49 bruto que se utilizó sin purificación adicional alguna. La ^1H RMN (300 MHz, cloroformo-d) $\delta = 7,58-7,32$ (m, 5 H), 5,55 (s, 1 H), 5,28 (1H, d, $J = 55$ Hz), 5,02-4,85 (m, 1H), 4,42 (dd, $J = 4,9, 10,4$ Hz, 1 H), 4,09 (dd, $J = 5,7, 10,8$ Hz, 1 H), 4,01-3,80 (m, 2 H), 3,78-3,50 (m, 2 H); MS (e/z), 387 (m + 1).

Ejemplo 15

Preparación del Compuesto 49 (ruta alternativa)



a) Preparación del Compuesto 48

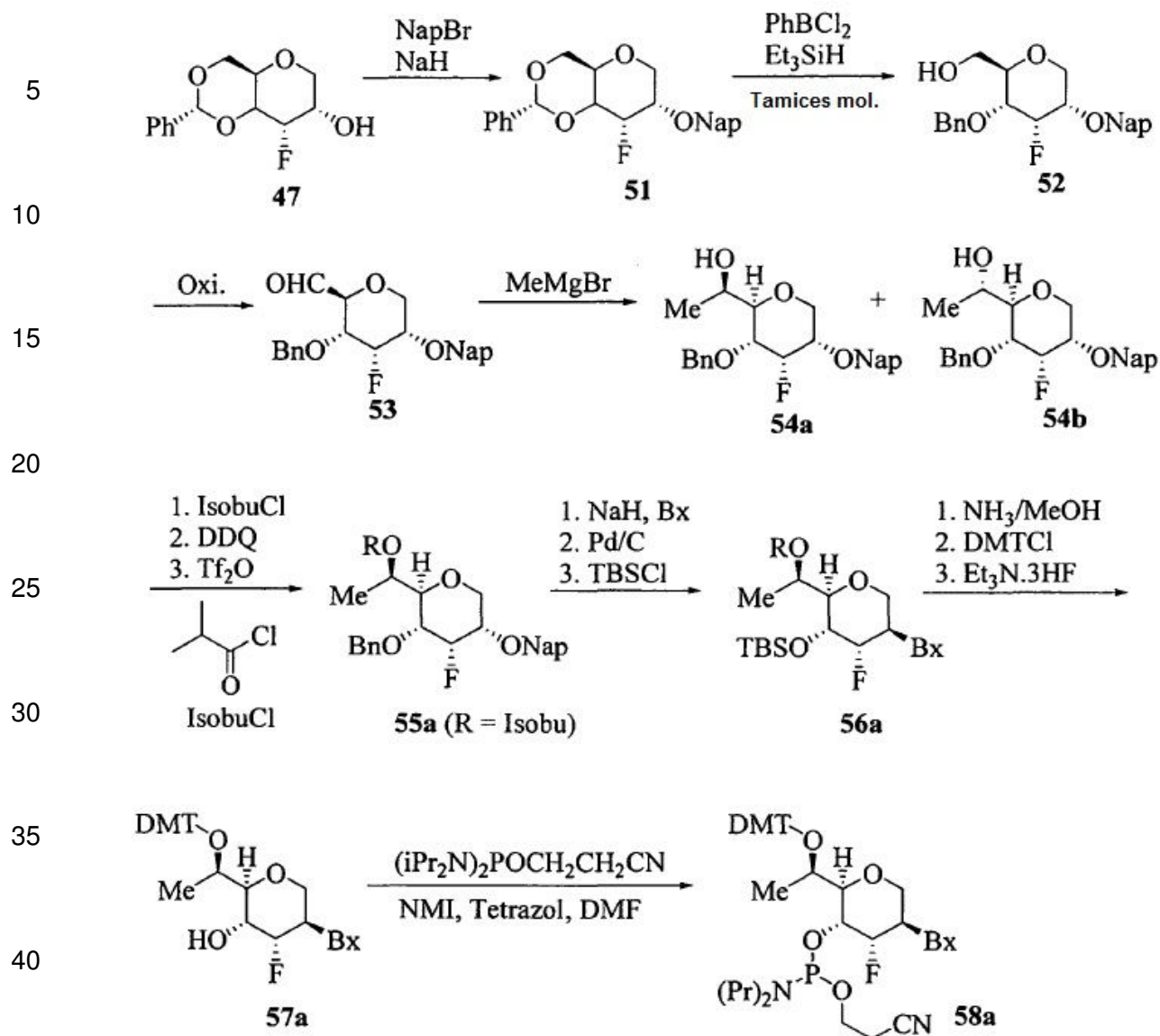
Se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (12,0 mmoles, 2,0 ml) a una solución fría (0°C) en diclorometano (40 ml) de Compuesto 42 (4,0 mmoles, 1,0 g) y piridina (16 mmoles, 1,3 ml). Después de agitar durante una hora, se interrumpió la reacción añadiendo agua y se lavó la capa orgánica con agua y salmuera, a continuación se secó y se concentró, proporcionando el Compuesto 48 bruto (2,24 g, cuantitativo) que se utilizó sin purificación adicional alguna. La ^1H RMN (CDCl_3): δ 7,52-7,45 (m, 2H), 7,41-7,35 (m, 3H), 5,58 (s, 1H), 5,08 (1H, t, $J = 9$ Hz), 5,06-4,91 (m, 1H), 4,50-4,25 (m, 2H), 3,83-3,69 (m, 2H), 3,65-3,43 (m, 2H). MS (e/z), 517 (m+1).

b) Preparación de los Compuestos 49 y 50

Se mezclaron en seco el Compuesto 48 (2,05 mmoles, 1,1 g) y CsF (6,2 mmoles, 0,94 g) con t-butanol (15 ml) y se agitó la mezcla a 90°C durante 25 minutos. Se enfrió la reacción a temperatura ambiente y se extrajo con acetato de etilo. Se concentró a sequedad la solución de acetato de etilo y se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con acetato de etilo en hexanos al 5%. Se obtuvo el Compuesto 49 en forma de aceite transparente (0,47 g, rendimiento del 59%) La ^1H RMN (300 MHz, cloroformo-d) $\delta = 7,58-7,32$ (m, 5 H), 5,55 (s, 1 H), 5,28 (1H, d, $J = 55$ Hz), 5,02-4,85 (m, 1H), 4,42 (dd, $J = 4,9, 10,4$ Hz, 1 H), 4,09 (dd, $J = 5,7, 10,8$ Hz, 1 H), 4,01-3,80 (m, 2 H), 3,78-3,50 (m, 2 H); MS (e/z), 387 (m + 1). Se obtuvo el Compuesto 50 en forma de sólido blanco (0,14 g, rendimiento del 18%). La ^1H RMN (CDCl_3): δ 7,50-7,43 (m, 2H), 7,40-7,34 (m, 3H), 5,64 (s, 1H), 5,15-4,90 (m, 2H), 4,45-4,15 (m, 3H), 3,80-3,52 (m, 2H), 3,55-3,40 (m, 1H). MS (e/z), 387 (m+1).

Ejemplo 16

Preparación del Compuesto 58a



45 a) Preparación del Compuesto 51

50 Se añadió NaH (1,3 mmoles, 52 mg) a una solución fría (0°C) de Compuesto 47 (1,0 mmoles, 0,27 g) y 2-(bromometil)naftaleno (1,3 mmoles, 0,28 g) en dimetilformamida (5 ml). Después de agitar durante una hora, se interrumpió la reacción añadiendo agua y se extrajo la mezcla con acetato de etilo. Se lavó la solución de acetato de etilo con agua y salmuera, a continuación se secó y se concentró, proporcionando el Compuesto 51 bruto que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con acetato de etilo en hexanos al 5%. Se obtuvo el Compuesto 51 en forma de sólido blanco (0,4 g, cuantitativo). La ^1H RMN (CDCl_3): δ 8,0-7,25 (m, 12H), 5,47 (s, 1H), 5,17 (1H, d, $J = 54$ Hz), 4,87-4,76 (m, 2H), 4,40-4,30 (m, 1H), 3,95-3,78 (m, 2H), 3,75-3,56 (m, 2H), 3,51-3,39 (m, 2H). MS (e/z), 395, 417 ($m+1$, $m+23$).

60 b) Preparación del Compuesto 52

65 Se colocaron tamices moleculares 4A (polvo, 4,45 g) en un matraz de 100 ml con calentamiento a 140°C durante cuatro horas, con evacuación. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron Compuesto 51 y diclorometano (15 ml). Después de agitar durante una hora a temperatura ambiente, se enfrió la mezcla a -78°C, y se añadieron sucesivamente, con agitación constante, Et_3SiH (4,11 mmoles, 0,66 ml) y PhBCl_3 (3,63 mmoles, 0,48 ml). Se agitó la mezcla durante 10 minutos más a -78°C y se añadió H_2O_2 al 30% (12,6 mmoles, 1,6 ml). Después de la filtración, se extrajo la mezcla de reacción con diclorometano. Se lavó la solución orgánica con agua y salmuera, a continuación se secó y se concentró, proporcionando el Compuesto 52 bruto que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con acetona en diclorometano al 1%. Se obtuvo el Compuesto 52 en forma de sólido blanco (0,31 g, 62%). ^1H RMN (CDCl_3): δ 7,87-7,77 (m, 4H), 7,52-7,46 (m, 3H), 7,40-7,30 (m,

5H), 5,14 (1H, d, $J = 54$ Hz), 4,83-4,52(m, 4H), 3,90-3,83 (m, 2H), 3,73-3,66 (m, 3H), 3,56-3,34 (m, 2H), 1,68 (1H, t, $J = 6$ Hz). MS (e/z), 419 (m+23).

c) Preparación del Compuesto 53

5

Se disolvió Compuesto 52 (0,025 mmoles, 0,01 g) en diclorometano (0,3 ml), se añadió reactivo de Dess-Martin (0,025 mmoles, 0,01 g). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 10 minutos y se concentró, proporcionando el Compuesto 53. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 9,70 (s, 1H), 8,1-7,3 (m, 12H), 5,17 (1H, d, $J = 54$ Hz), 4,80 (s, 2H), 4,45-4,75 (m, 2H), 4,25-4,20 (m, 1H), 4,0-3,90 (m, 1H), 3,85-3,35 (m, 3H).

10

d) Preparación del Compuesto 58a

Se prepararon los compuestos 54a y 54b a partir del Compuesto 53 añadiendo MeMgBr en presencia de cloruro de cerio. Como alternativa, los compuestos 54a y 54b pueden interconvertirse entre sí por medio de una reacción de Mitsunobu. El grupo hidroxilo secundario en 54a está protegido como un éster, preferentemente como un isobutil éster y el grupo 2'-O-naftilo se elimina utilizando DDQ seguido de reacción con anhídrido triflico, proporcionando el Compuesto 55a. La reacción con una base nitrogenada convenientemente protegida y una base fuerte tal como hidruro sódico en un disolvente tal como DMSO, a temperaturas entre 50°C y 100°C , seguida de eliminación del grupo bencilo mediante hidrogenación catalítica y protección como sili-éter proporciona el Compuesto 56a. La eliminación del grupo isobutililo mediante amoníaco metanólico o carbonato potásico en metanol seguida de reacción con DMTCl y lutidina y piridina como disolvente a temperaturas entre 25 y 50 grados Celsius seguida de eliminación del grupo protector sililo mediante trihidrofluoruro de trietilamina, proporciona el Compuesto 57a. Una reacción de fosfitilación proporciona la fosforamidita, el Compuesto 58a.

15

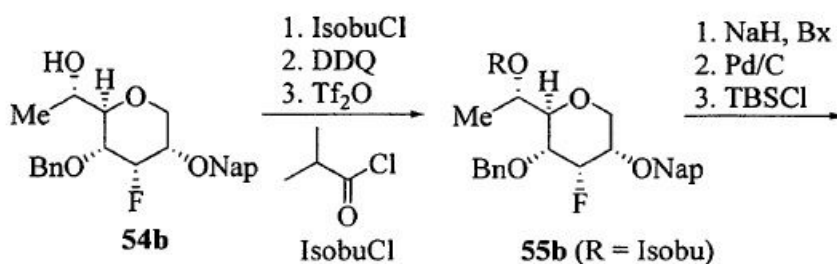
20

25

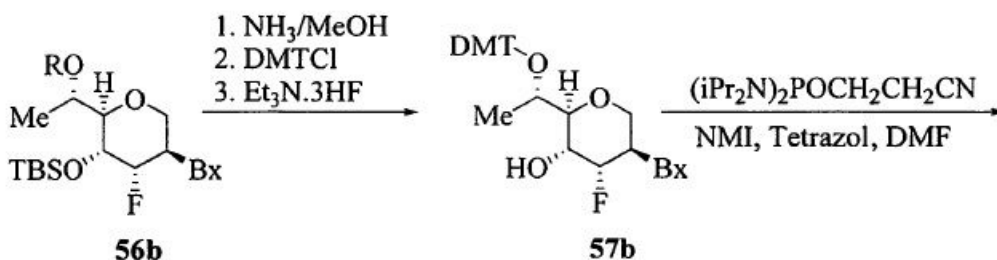
Ejemplo 17

Preparación del Compuesto 58b

30

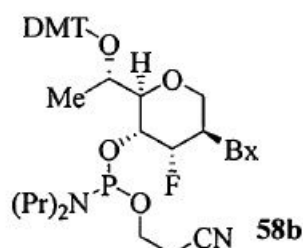


40



50

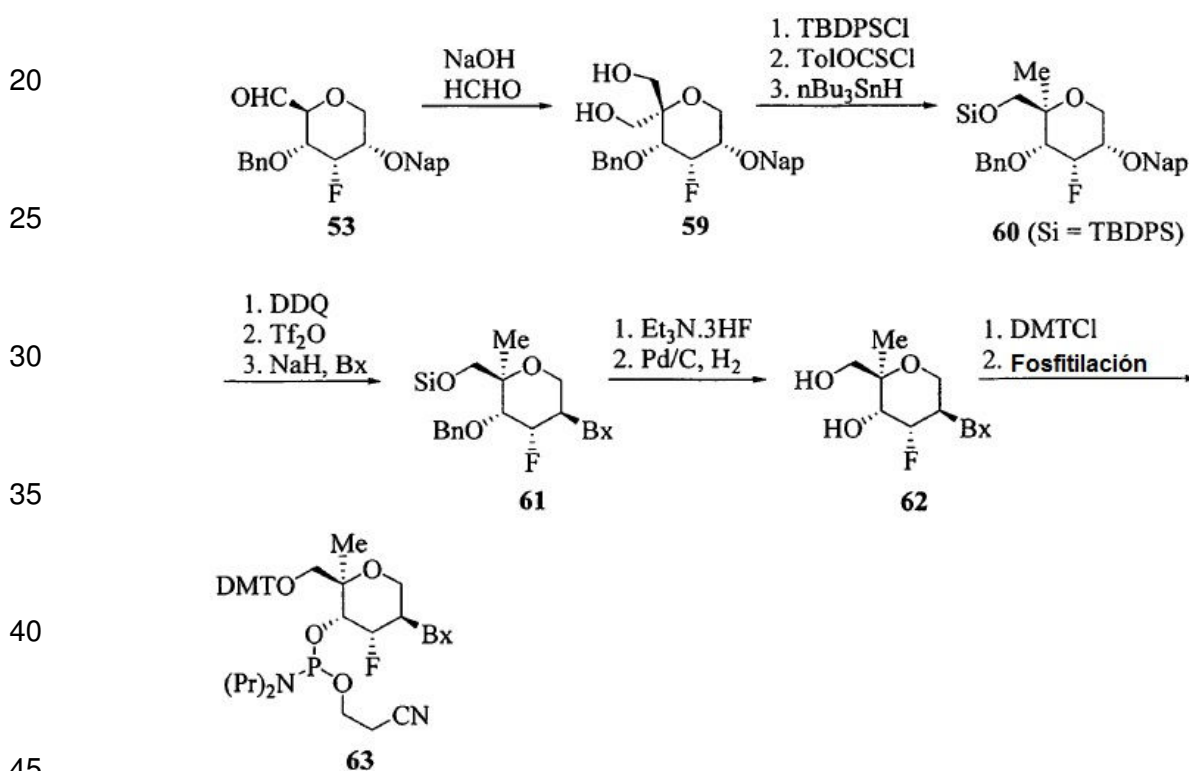
55



Los compuestos 54a y 54b se preparan a partir del aldehído 53 añadiendo MeMgBr en presencia de cloruro de cerio. Como alternativa, los compuestos 54a y 54b pueden interconvertirse entre sí por medio de una reacción de Mitsunobu. El grupo hidroxilo secundario en 54b está protegido como un éster, preferentemente como un isobutilil éster y el grupo 2'-O-naftilo se elimina utilizando DDQ seguido de reacción con anhídrido triflico, proporcionando el Compuesto 55b. La reacción con una base nitrogenada convenientemente protegida y una base fuerte tal como hidruro sódico en un disolvente tal como DMSO, a temperaturas entre 50 °C y 100 °C, seguida de eliminación del grupo bencilo mediante hidrogenación catalítica y reprotección como siliil-éter proporciona el Compuesto 56b. La eliminación del grupo isobutilirilo mediante amoníaco metanólico o carbonato potásico en metanol seguida de reacción con DMTCl y lutidina y piridina como disolvente a temperaturas entre 25 y 50 grados Celsius seguida de eliminación del grupo protector sililo mediante trihidrofluoruro de trietilamina proporciona el Compuesto 57b. Una reacción de fosfitilación proporciona la fosforamidita 58b.

Ejemplo 18

15 Preparación del Compuesto 63



a) Preparación del Compuesto 59

Se disolvió Compuesto 53 (0,7 mmoles, 0,27 g) en THF (2 ml), agua (0,7 ml), HCHO (0,7 ml) y se añadió NaOH 4 N (acuoso, 0,7 ml). Se agitó la reacción a temperatura ambiente durante tres días. Se extrajo la reacción con acetato de etilo y se lavó con agua y salmuera, a continuación se secó y se concentró, proporcionando 59 bruto que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con acetona en diclorometano al 10%. Se obtuvo el Compuesto 59 en forma de sólido blanco (0,19 g, 64%). ¹H RMN (CDCl₃): 7,94-7,80 (m, 4H), 7,61-7,45 (m, 3 H), 7,42-7,21 (m, 5 H), 5,20 (1H, d, J=54 Hz), 4,49-4,40 (m, 4 H), 4,20-3,35 (m, 1 H), 2,10-1,95 (m, 1 H), 1,90-1,75 (m, 1 H).

b) Preparación del Compuesto 63

La reacción del Compuesto 59 con TBDPSCI proporciona una mezcla de productos monosililados que se separan y el grupo hidroxilo se desoxigena por medio de una reacción de desoxigenación de Barton, proporcionando el Compuesto 60. La eliminación del grupo 2'-O-naftilo con DDQ seguida de triflación y reacción con una base nitrogenada convenientemente protegida y una base fuerte tal como hidruro sódico en un disolvente tal como DMSO, a temperaturas entre 50 °C y 100 °C, proporciona el Compuesto 61. La eliminación del grupo protector sililo mediante trihidrofluoruro de trietilamina seguida de eliminación del grupo bencilo mediante hidrogenación catalítica proporciona el Compuesto 62. La protección del grupo hidroxilo primario como éter de DMT seguida de una reacción de fosfitilación proporciona la fosforamidita, el Compuesto 63.

Ejemplo 19

Preparación del Compuesto 68

5

10

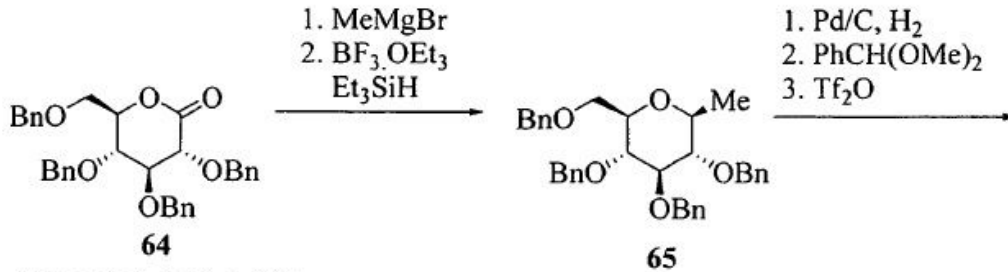
15

20

25

30

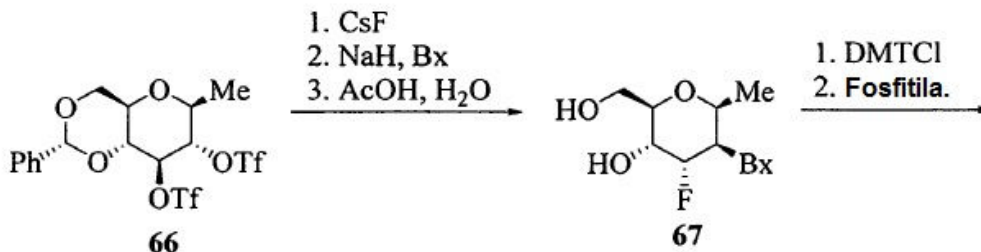
35



Yang et al, *J. Org. Chem.*
2002, 67, 3773

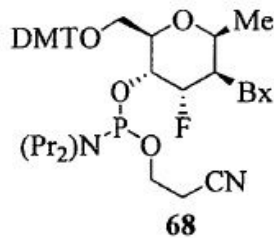
20

25



30

35



40

45

50

El compuesto 65 se prepara a partir del Compuesto 64 conocido según el método descrito por Bihovsky (*J. Org. Chem.*, 1988, 53, 4026-4031). Se eliminan los grupos protectores bencilo mediante hidrogenación catalítica seguida de protección del 4'-OH y del 6'-OH como acetal bencilideno. La reacción con anhídrido triflico proporciona el bis-triflato 66. El desplazamiento selectivo del grupo 3'-triflato mediante CsF como se describe en el Ejemplo 15, seguido de calentamiento con una base nitrogenada convenientemente protegida en presencia de una base fuerte como hidruro de sodio y un disolvente polar como dimetilsulfóxido, a temperaturas entre 50 y 100 grados Celsius, y la eliminación del grupo protector bencilideno mediante ácido acético acuoso, a temperaturas entre 50 y 100 grados Celsius, proporciona el nucleósido 67. La reacción del alcohol primario con DMTCl seguida de una reacción de fosfitilación proporciona la fosforamidita, el Compuesto 68.

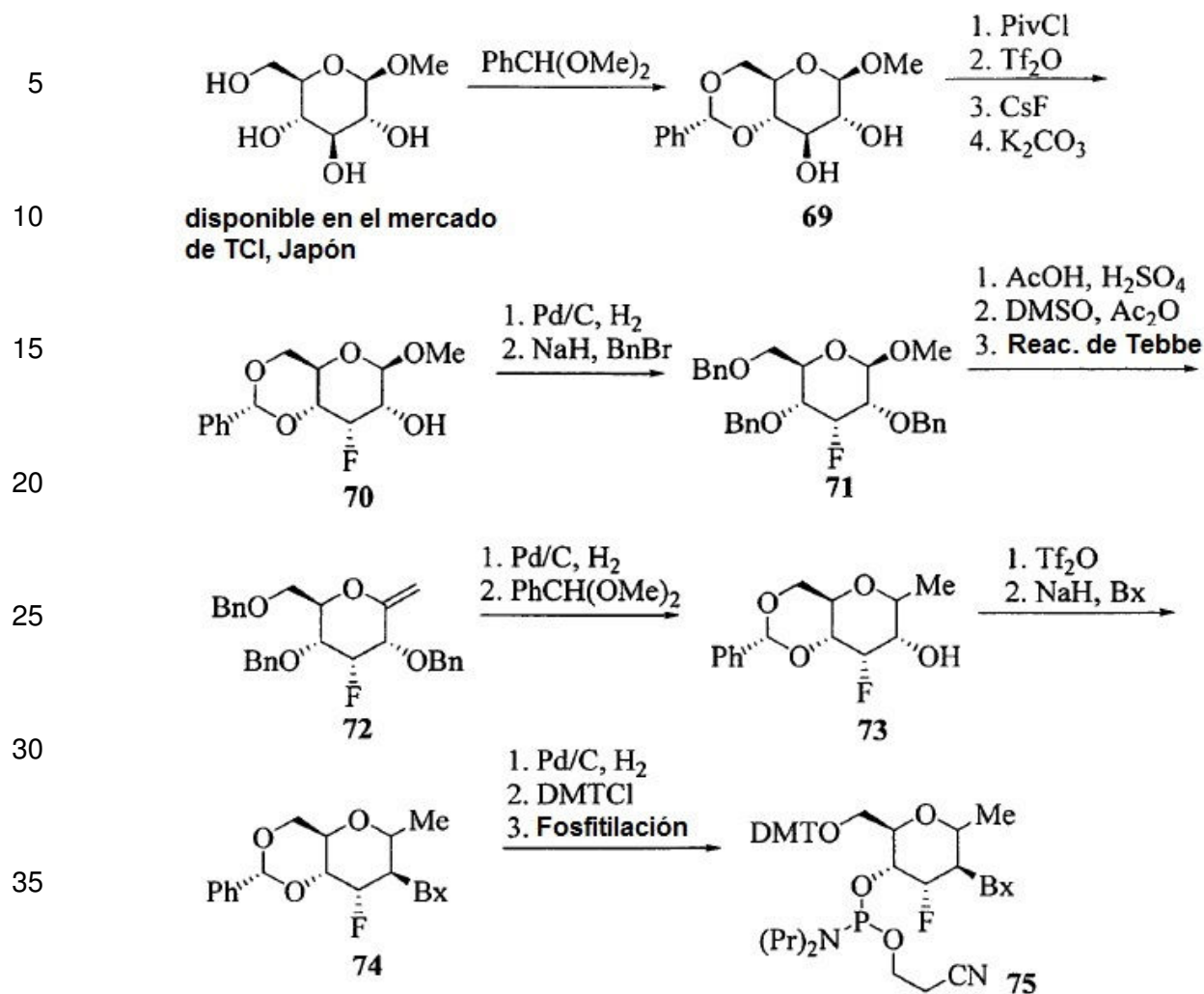
Ejemplo 20

Preparación del Compuesto 75

55

60

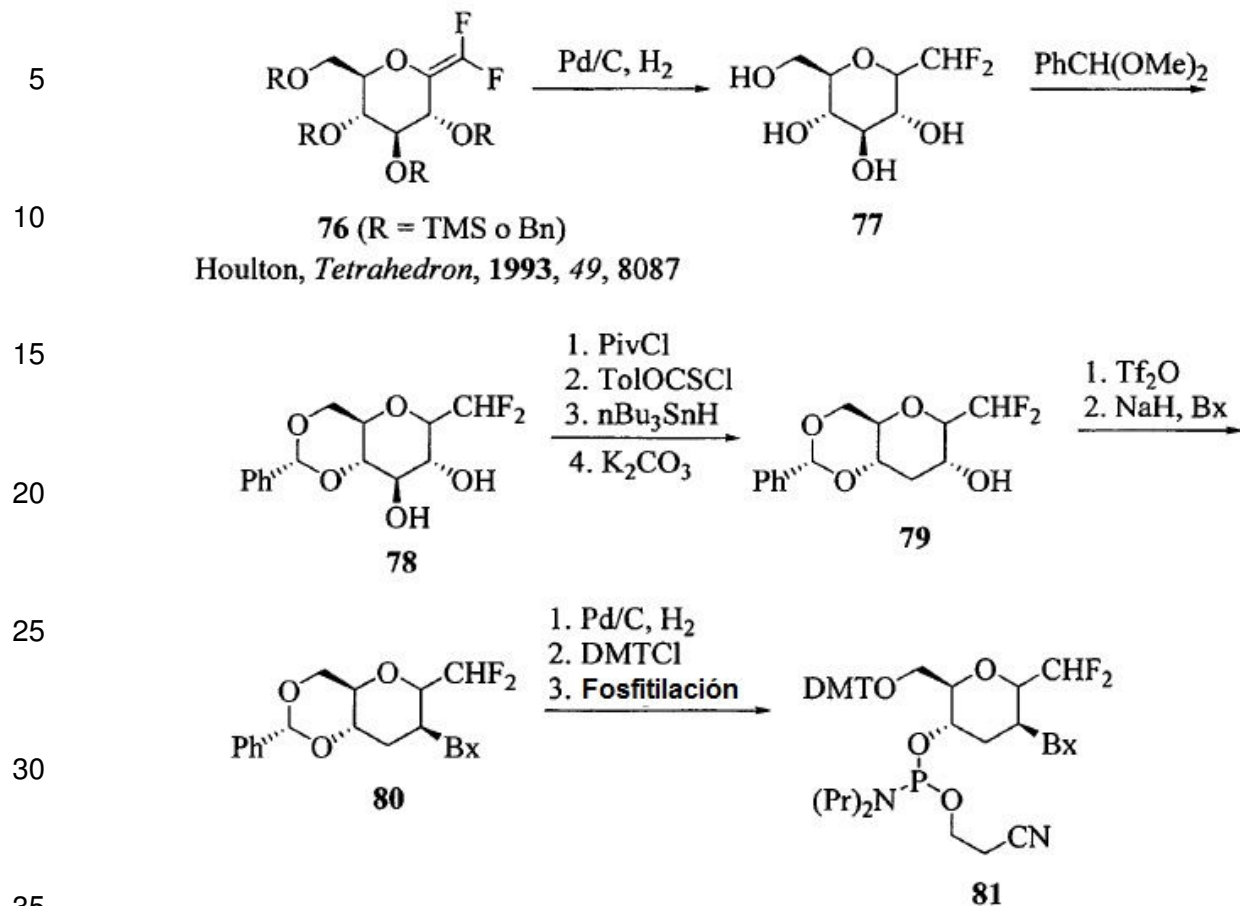
65



El compuesto 69 se prepara haciendo reaccionar metil-β-D-glucopiranosida disponible en el mercado con dimetilbencilideno acetal en presencia de ácido p-toluensulfónico, a temperaturas entre 60 y 80 grados Celsius. La protección selectiva del Compuesto 69 con cloruro de pivaloilo, la triflación, el desplazamiento con CsF y la hidrólisis del éster de pivaloilo con carbonato potásico en metanol, como se describe en el Ejemplo 14, proporcionan el compuesto 70. La eliminación del grupo protector bencilideno seguida de re-protección de los grupos hidroxilo como éter de bencilo proporciona el Compuesto 71. La hidrólisis del acetal OMe por calentamiento con ácido acético y ácido sulfúrico acuoso seguida de la oxidación del lactol con anhídrido acético en DMSO y una reacción de olefinación con reactivo de Tebbe o Petassis proporciona la olefina 72. La reducción del grupo vinilo y eliminación de los grupos protectores bencilo mediante hidrogenación catalítica seguida de re-protección del 4'-OH y del 6'-OH como acetal bencilideno proporciona el Compuesto 73. La triflación con anhídrido triflico seguida de reacción con una base nitrogenada convenientemente protegida y una base fuerte tal como hidruro sódico en un disolvente tal como DMSO, a temperaturas entre 50°C y 100°C, proporciona el Compuesto 74. La eliminación del grupo protector bencilideno mediante hidrogenación catalítica, la protección del alcohol primario como éter de DMT y una reacción de fosfitilación, proporciona la fosforamidita Compuesto 75.

Ejemplo 21

Preparación del Compuesto 81



El compuesto 76 se prepara según el procedimiento descrito por Houlton (*Tetrahedron*, 1993, 49, 8087) y se reduce a Compuesto 77 por medio de una reacción de hidrogenación catalítica. La protección del 4'-OH y del 6'-OH como acetal bencilideno proporciona el Compuesto 78. El tratamiento del 2'-OH con cloruro de pivaloilo según el método descrito en el Ejemplo 14 seguido de desoxygenación de Barton del grupo 3'-OH e hidrólisis del éster de pivaloilo proporciona el Compuesto 79. La trifilación con anhídrido trifílico seguida de reacción con una base nitrogenada convenientemente protegida y una base fuerte tal como hidruro sódico en un disolvente tal como DMSO, a temperaturas entre 50°C y 100°C, proporciona el Compuesto 80. La eliminación del grupo protector bencilideno mediante hidrogenación catalítica, la protección del alcohol primario como éter de DMT y una reacción de fosfitilación proporcionan la fosforamidita, el Compuesto 81.

Ejemplo 22

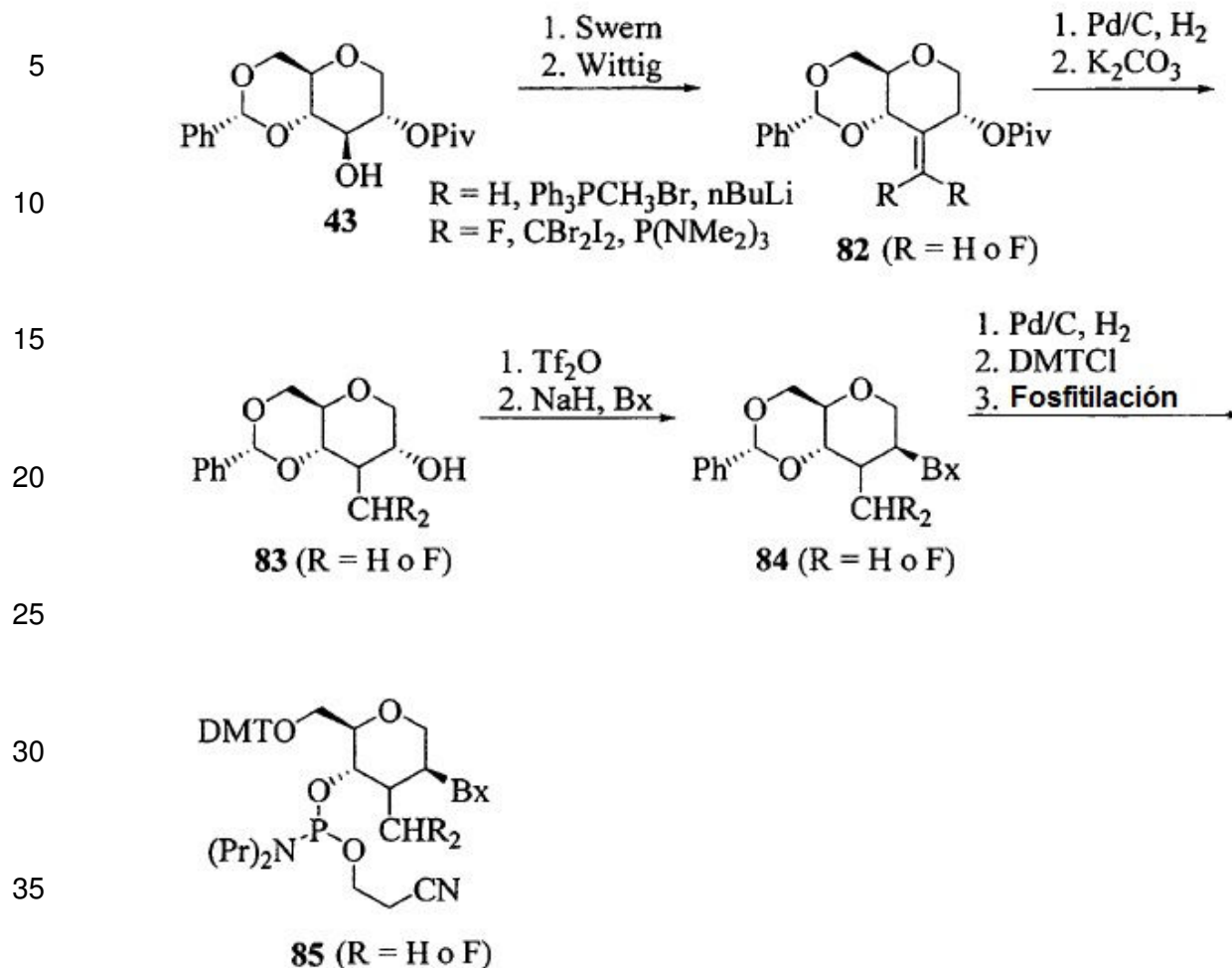
Preparación del Compuesto 85

50

55

60

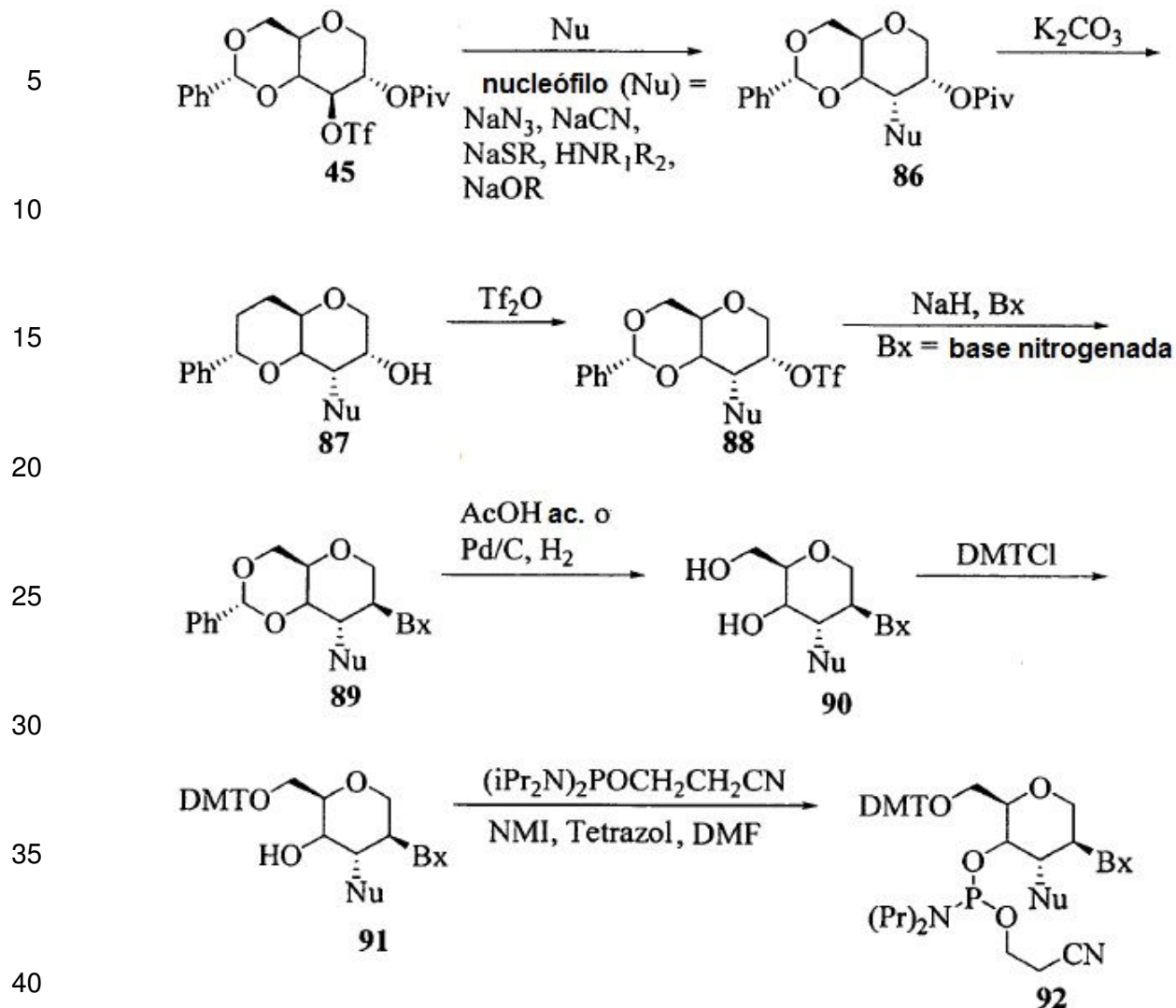
65



La oxidación del Compuesto 43 (preparado según los procedimientos ilustrados en el Ejemplo 14) seguida de una reacción de Wittig proporciona el Compuesto 82. La reducción de la olefina por medio de una reacción de hidrogenación catalítica seguida de la eliminación del grupo pivaloilo con carbonato potásico en metanol proporciona el Compuesto 83. La trifilación con anhídrido trifílico seguida de reacción con una base nitrogenada convenientemente protegida y una base fuerte tal como hidruro sódico en un disolvente tal como DMSO, a temperaturas entre 50°C y 100°C, proporciona el Compuesto 84. La eliminación del grupo protector bencilideno mediante hidrogenación catalítica, la protección del alcohol primario como éter de DMT y una reacción de fosfitilación proporcionan la fosforamidita, el Compuesto 85.

Ejemplo 23

Preparación del Compuesto 92



45 Se hace reaccionar el Compuesto 45 (preparado según los procedimientos ilustrados en el Ejemplo 14) con un nucleófilo adecuado, tal como azida de sodio, cianuro de sodio, sulfuro de sodio, un derivado de amina primaria o secundaria o metóxido de sodio, proporcionando el Compuesto 86, en el que puede seleccionarse el nucleófilo (Nu) de entre cualquier nucleófilo deseado, que puede incluir nucleófilos tales como azida, cianuro, tiol, tioéter, amina o alcóxido. La hidrólisis del grupo pivaloilo mediante carbonato potásico proporciona el Compuesto 87. La triflación del grupo hidroxilo mediante anhídrido triflico proporciona el Compuesto 88. La reacción con una base nitrogenada convenientemente protegida y una base fuerte tal como hidruro sódico en un disolvente tal como DMSO, a temperaturas entre 50°C y 100°C, proporciona el Compuesto 89. La eliminación del grupo protector bencilideno mediante hidrogenación catalítica o por calentamiento con ácido acético acuoso proporciona el Compuesto 90. La protección del alcohol primario como éter de DMT proporciona el Compuesto 91, seguida de una reacción de fosfitilación que proporciona la fosforamida, el Compuesto 92.

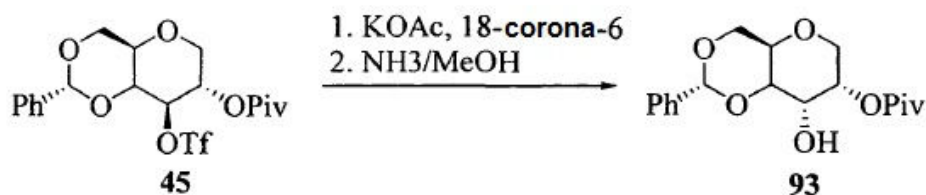
55 Ejemplo 24

Preparación del Compuesto 99

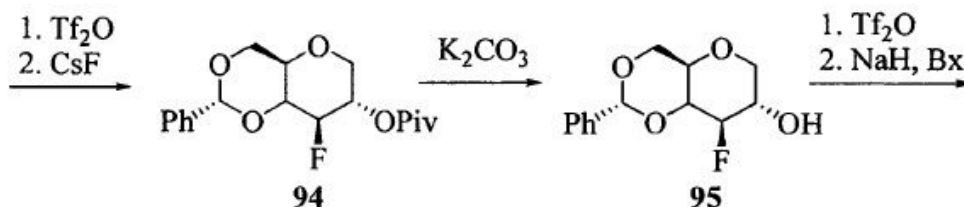
60

65

5

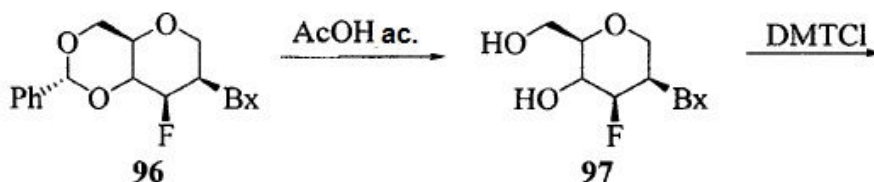


10



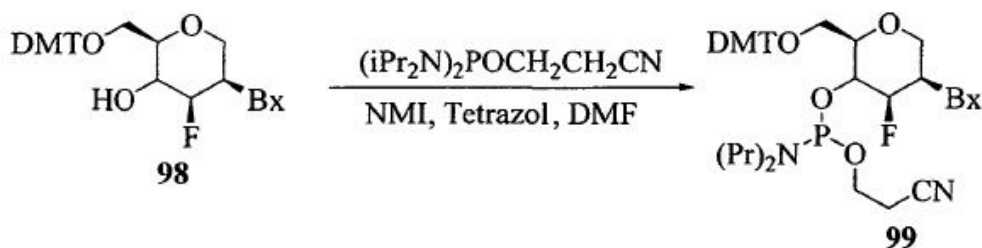
15

20



25

30



35

40

45

50

Se trata el compuesto 45 con acetato potásico y 18-crown-6 en un disolvente apropiado para producir la sustitución S_N2 del triflato. Se trata el producto resultante con amoníaco metanólico a temperatura reducida para producir el Compuesto 93. Como alternativa, puede someterse el Compuesto 45 a condiciones de Mitsunobu (R₃P, DIAD, pO₂NBzOH), seguido de aminólisis, produciendo el mismo Compuesto 93. El tratamiento secuencial de 93 con anhídrido triflico, aislamiento del triflato y tratamiento con fluoruro de cesio en alcohol t-butílico dan 94, análogo a la preparación del Compuesto 46 a partir del Compuesto 45 descrita anteriormente. El tratamiento de 94 con carbonato potásico en metanol genera el fluoroalcohol 95, que se convierte en el triflato tras el tratamiento con anhídrido triflico en piridina. El aislamiento, seguido de tratamiento con una base nitrogenada en presencia de una base fuerte tal como hidruro de sodio da el Compuesto 96. La eliminación del grupo protector bencilideno con ácido acético acuoso al 90% da el compuesto 97. La reacción con cloruro de 4,4'-dimetoxitritilo en piridina da el Compuesto 98, que, después del aislamiento, se convierte en la cianoetil fosforamidita, el Compuesto 99.

Ejemplo 25

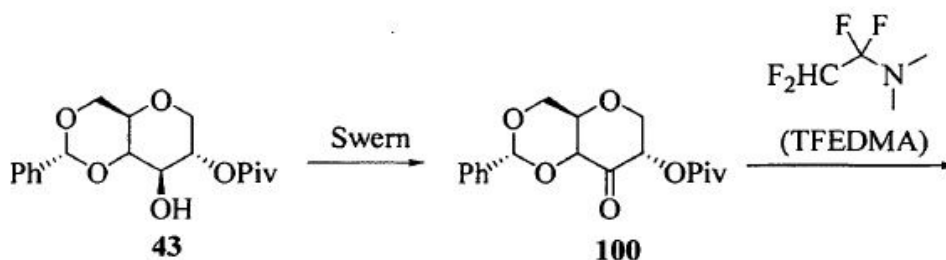
55

Preparación del Compuesto 106

60

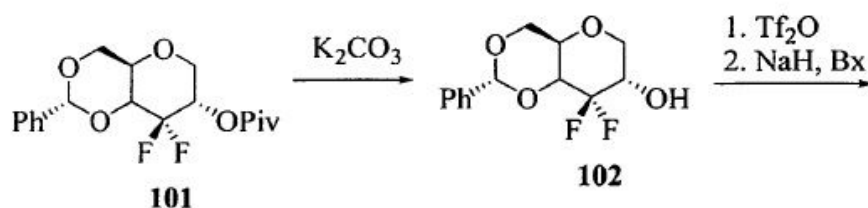
65

5



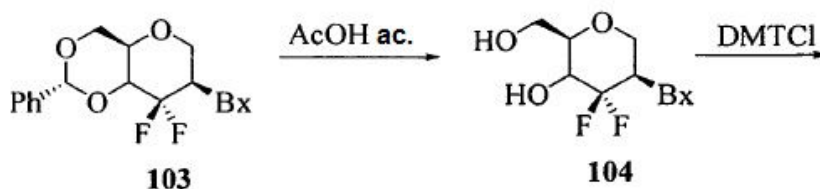
10

15



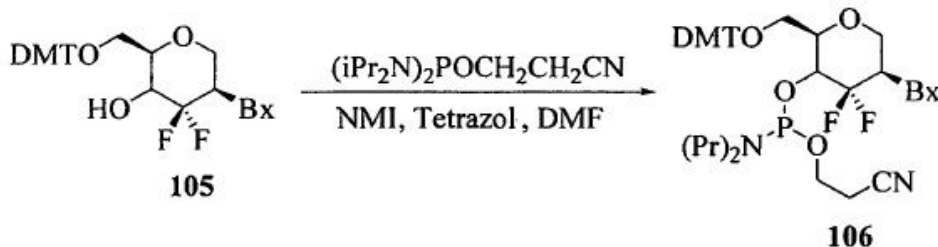
20

25



30

35



40

45

50

La oxidación del Compuesto 43 (preparado según los procedimientos ilustrados en el Ejemplo 14) en condiciones de Swern (cloruro de oxalilo, DMSO, trietilamina, diclorometano) da la cetona 100. El tratamiento con un reactivo de fluoración tal como 1,1,2,2-tetrafluoroetil-N,N-dimetilamina (como alternativa, deoxofluor o DAST) da el Compuesto 101. La eliminación del grupo pivaloilo en condiciones de carbonato de potasio/metanol da el Compuesto 102. El tratamiento secuencial con anhídrido triflico en piridina, aislamiento y tratamiento con una base nitrogenada en presencia de una base da el análogo nucleosídico, el Compuesto 103. La eliminación del benzilideno con ácido acético acuoso al 90% da el Compuesto 104, que se convierte en el Compuesto 105 tras tratamiento con cloruro de 4,4-dimetoxitritilo en piridina. Una reacción de fosfitilación proporciona la fosforamidita, el Compuesto 106.

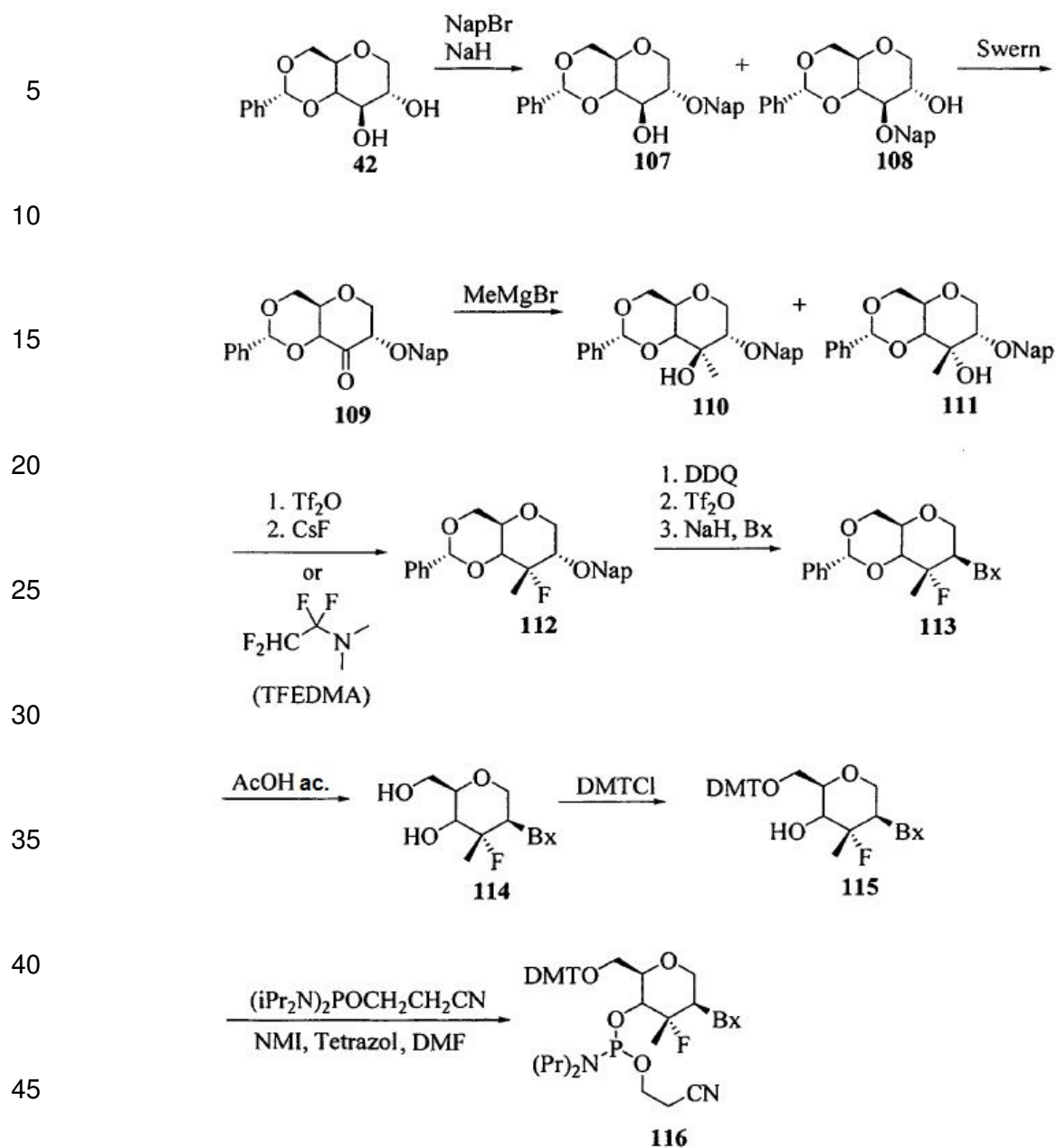
Ejemplo 26

Preparación del Compuesto 116

55

60

65

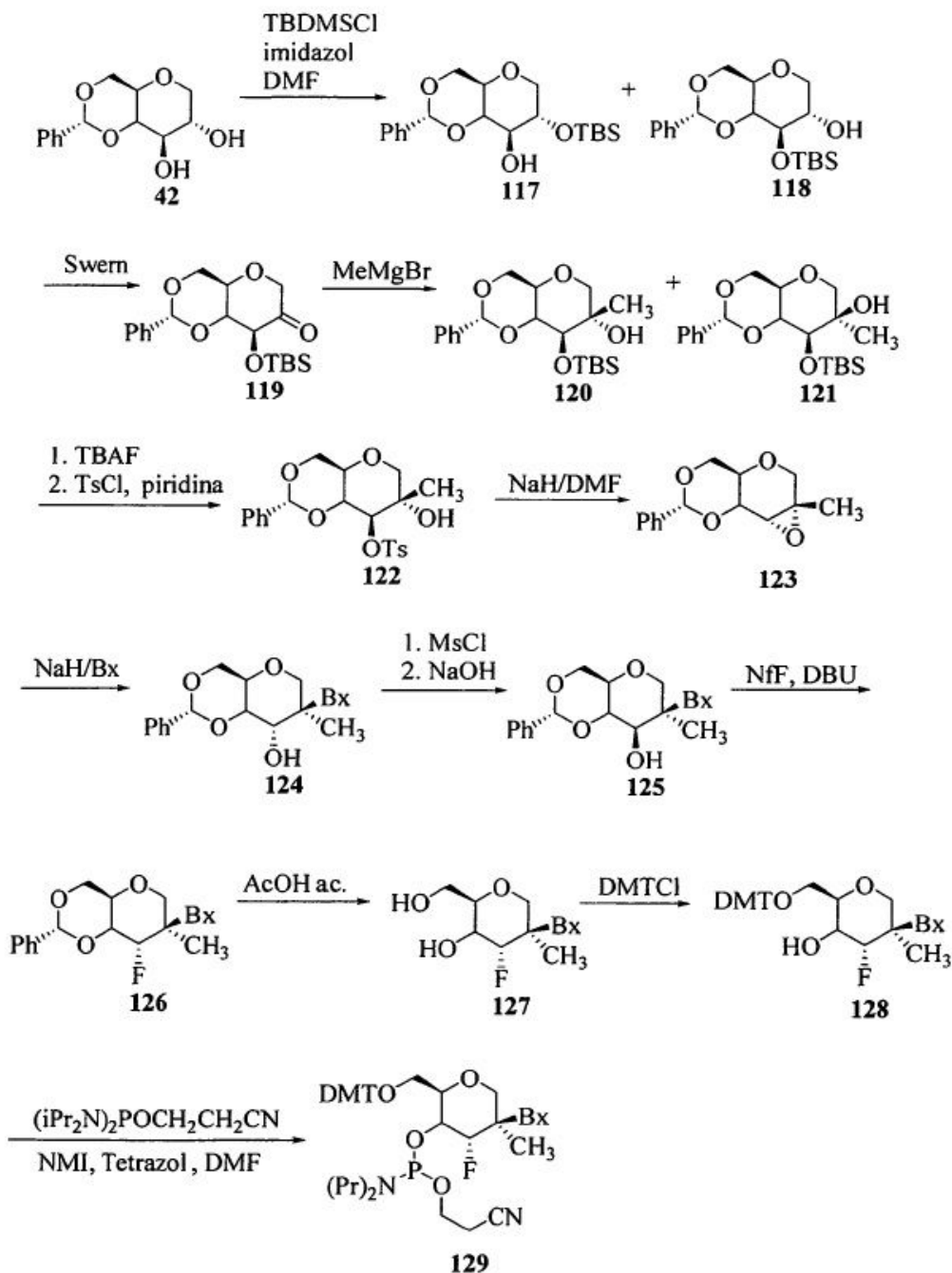


50 El tratamiento del Compuesto 42 (preparado según los procedimientos ilustrados en el Ejemplo 14) con 2-(bromometil)-naftaleno (bromuro de Nap) en presencia de hidruro de sodio da una mezcla de regioisómeros protegidos con Nap (107 y 108). La separación mediante cromatografía en gel de sílice proporciona el isómero, el Compuesto 107. La oxidación del Compuesto 107 en condiciones de Swern (cloruro de oxalilo, DMSO, trietilamina, diclorometano) da la cetona, el Compuesto 109, que posteriormente se trata con bromuro de metilmagnesio (Grignard de metilo) para dar una mezcla de los alcoholes de metilo, los compuestos 110 y 111. El aislamiento del estereoisómero deseado 110 mediante cromatografía en gel de sílice, seguido de formación del triflato en condiciones de anhídrido trifílico/piridina y tratamiento con fluoruro de cesio da el compuesto fluorado 112. Como alternativa, el tratamiento de 110 con TFEDMA da el Compuesto 112 en un solo proceso. La eliminación del grupo protector Nap con DDQ, seguida de triflación, aislamiento y tratamiento con una base nitrogenada en presencia de una base da el Compuesto 113. La eliminación del bencilideno con ácido acético acuoso al 90% produce el Compuesto 114, que se convierte en el Compuesto 115 tras tratamiento con cloruro de 4,4-dimetoxitritilo en piridina. Una reacción de fosfitilación proporciona la fosforamidita, el Compuesto 116.

65 Ejemplo 27

Preparación del Compuesto 129

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50



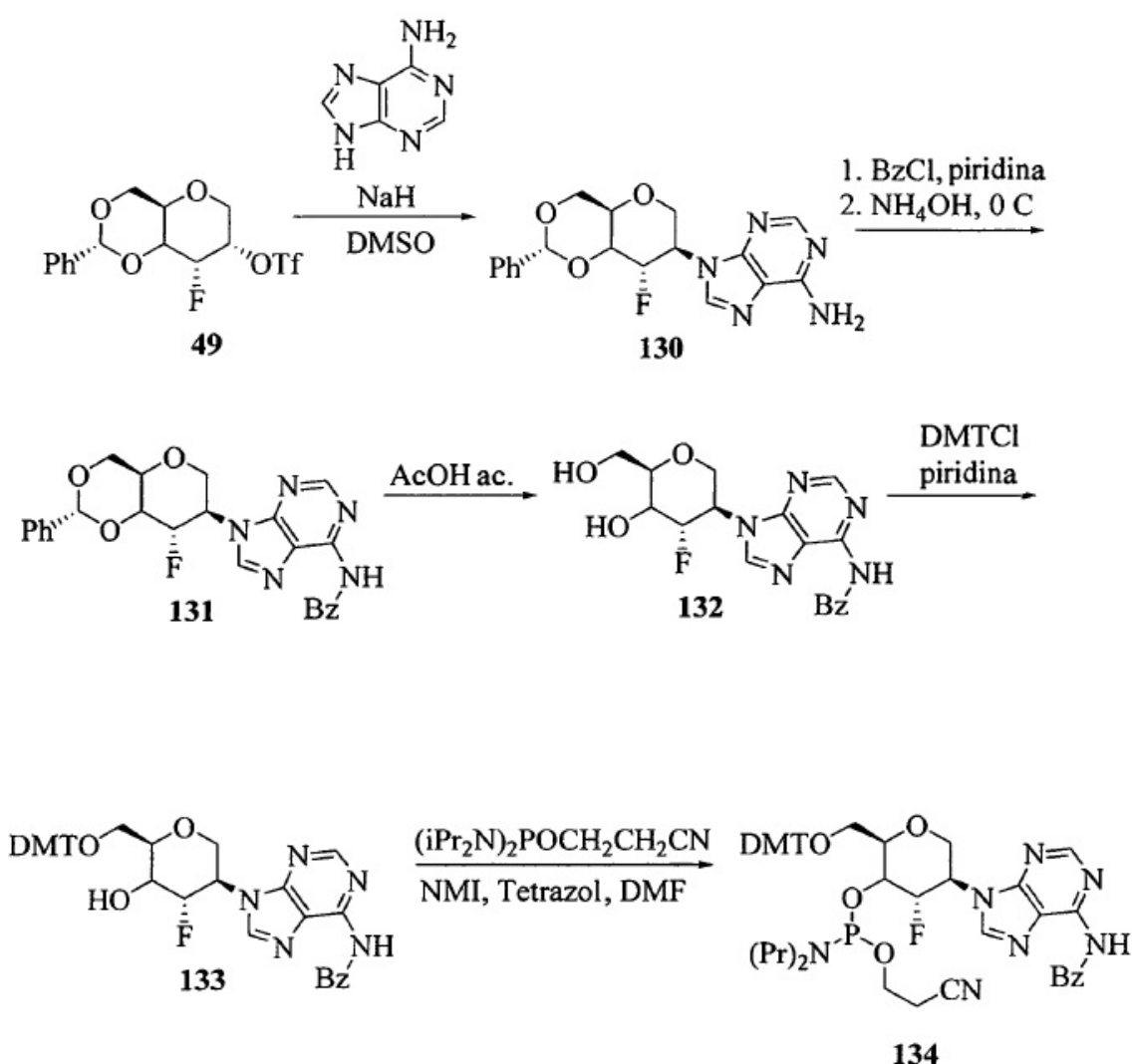
55
60
65

El tratamiento del Compuesto 42 (preparado según los procedimientos ilustrados en el Ejemplo 14) con cloruro de terc-butildimetilsilo en presencia de imidazol y DMF proporciona una mezcla de los compuestos siliados 117 y 118 como se ha descrito anteriormente en *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids* (2004), 23(1&2), 439-455. Después de la cromatografía en gel de sílice, se oxida el isómero, el Compuesto 117, en condiciones de Swern (cloruro de oxalilo, DMSO, trietilamina, diclorometano) para generar la cetona, el Compuesto 119. El tratamiento con bromuro de metilmagnesio da una mezcla de alcoholes, los compuestos 120 y 121. La separación mediante cromatografía en gel de sílice, el tratamiento del Compuesto 120 aislado con fluoruro de tetrabutilamonio, seguido de conversión en el tosilato en condiciones de cloruro de tosilo y piridina, da el Compuesto 122. El tratamiento con la base convierte el tosilato 122 en el epóxido correspondiente, el Compuesto 123, tal como se ha documentado con compuestos similares (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1996, 6, 1457). La reacción del Compuesto 123 con un heterociclo de pirimidina (base heterocíclica) seleccionado en presencia de una base da como resultado la formación del Compuesto 124. La inversión de la estereoquímica del grupo hidroxilo se consigue mediante tratamiento con cloruro de mesilo, seguido de hidrólisis del mesilato resultante, que transcurre a través de un producto intermedio cíclico anhidro. La fluoración con fluoruro de sulfonilo nonafluorobutano en condiciones

DBU/THF da el compuesto fluorado 126. La eliminación del grupo bencilideno con ácido acético acuoso al 90% proporciona el Compuesto 127, que se convierte en el Compuesto 128 tras tratamiento con cloruro de 4,4-dimetoxitritilo en piridina. Una reacción de fosfitilación proporciona la fosforamidita, el Compuesto 129.

5 Ejemplo 28

Preparación del Compuesto 134



a) Preparación del Compuesto 130

Se suspendieron Compuesto 49 (preparado según los procedimientos ilustrados en el Ejemplo 14, 10,8 mmoles, 4,20 g) y adenina (54,5 mmoles, 7,35 g) en DMSO anhidro (80 ml). Se añadió a esta suspensión hidruro de sodio (54,4 mmoles, 2,18 g de una suspensión en aceite mineral al 60%). Se calentó la mezcla resultante a 55°C durante 12 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en agua (400 ml). Se extrajo la mezcla con acetato de etilo (3 x 400 ml) y se lavaron los extractos orgánicos combinados con NaCl acuoso semisaturado (3 x 500 ml). Se secó la capa orgánica sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó, proporcionando 3,93 g (rendimiento del 97%) de un sólido marrón. La RMN (^1H y ^{19}F) y el análisis de masas mediante LCMS fueron coherentes con la estructura. Este material se utilizó sin purificación adicional.

b) Preparación del Compuesto 131

Se disolvió compuesto 130 (10,5 mmoles, 3,93 g) en piridina anhidra (50 ml). Después de enfriar a 0°C, se trató la solución con cloruro de benzilo (16,9 mmoles, 1,97 ml). Se siguió agitando a 0°C durante 15 minutos, momento en el que se calentó la mezcla a temperatura ambiente durante 2,5 horas. Se enfrió la mezcla a 0°C, se

5 inactivó con 20 ml de H₂O y se agitó durante 15 minutos. Se añadió a la mezcla NH₄OH acuoso concentrado (20 ml) con agitación durante 30 minutos. Se concentró la mezcla a vacío hasta aproximadamente 40 ml y se vertió en acetato de etilo (500 ml). Se lavó la mezcla con NaCl acuoso semisaturado (3 x 500 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta una espuma de color marrón claro. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (metanol en diclorometano al 1,5%) proporcionó 2,33 g de Compuesto 131 en forma de espuma de color marrón claro. Los análisis mediante RMN (¹H y ¹⁹F) y LCMS fueron coherentes con la estructura.

c) Preparación del Compuesto 132

10 Se disolvió Compuesto 131 (4,84 mmoles, 2,30 g) en 70 ml de ácido acético acuoso al 90% (v/v). Se calentó la solución a 80 °C durante 4 horas y a continuación se concentró a vacío hasta un aceite amarillo viscoso. Se añadió trietilamina (10 gotas) seguida de 5 ml de metanol y 100 ml de acetato de etilo. Se formó un precipitado blanco, que se recogió por filtración, se lavó con acetato de etilo y se secó a vacío durante toda la noche. La masa final de sólido blanco, el Compuesto 132, fue de 1,28 g (69%). Los análisis mediante RMN (¹H y ¹⁹F) y LCMS fueron coherentes con la estructura del Compuesto 132.

d) Preparación del Compuesto 133

20 Se suspendió Compuesto 132 (3,24 mmoles, 1,25 g) en piridina anhidra (12 ml). Se enfrió la suspensión resultante a 0 °C y se trató con cloruro de 4,4'-dimetoxitritilo (5,19 mmoles, 1,76 g) con agitación. Se siguió agitando a 0 °C durante 15 minutos y a temperatura ambiente durante 5 horas, momento en el que se inactivó la mezcla con metanol (2 ml) y se concentró a vacío hasta dar un aceite amarillo espeso. Se disolvió el aceite en diclorometano (150 ml) y se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml) seguido de NaCl acuoso saturado (2 x 100 ml). Se secó la capa orgánica sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta una espuma amarilla. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice proporcionó 2,05 g (rendimiento del 92%) del Compuesto 133 en forma de espuma de color amarillo. El análisis mediante RMN (¹H y ¹⁹F) fue coherente con la estructura.

e) Preparación del Compuesto 134

30 Se disolvió Compuesto 133 (2,59 mmoles, 1,79 g) en DMF anhidro (6 ml). Se añadieron tetrazol (1,56 mmoles, 109 mg), 1-metilimidazol (0,65 mmoles, 52 µl) y tetraisopropilamino-2-cianoetilfosfordiamidita (3,90 mmoles, 1,24 ml). Después de agitar durante 4,5 horas, se interrumpió la reacción con la adición de trietilamina (10,4 mmoles, 1,45 ml). Se vertió la mezcla en acetato de etilo (150 ml), se lavó con NaCl acuoso saturado (4 x 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó hasta una espuma de color amarillo pálido. Se disolvió de nuevo el sólido en acetato de etilo (7 ml) y se precipitó mediante adición, gota a gota, en 70 ml de hexanos. La purificación en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 1:1) del precipitado resultante proporcionó 1,92 g (83%) de Compuesto 134 en forma de espuma blanca. Las RMN (¹H, ¹⁹F y ³¹P) son coherentes con la estructura. ³¹P RMN (CDCl₃): δ ppm 151,64; 151,58; 150,37; 150,33.

40 Ejemplo 29

Preparación del Compuesto 140

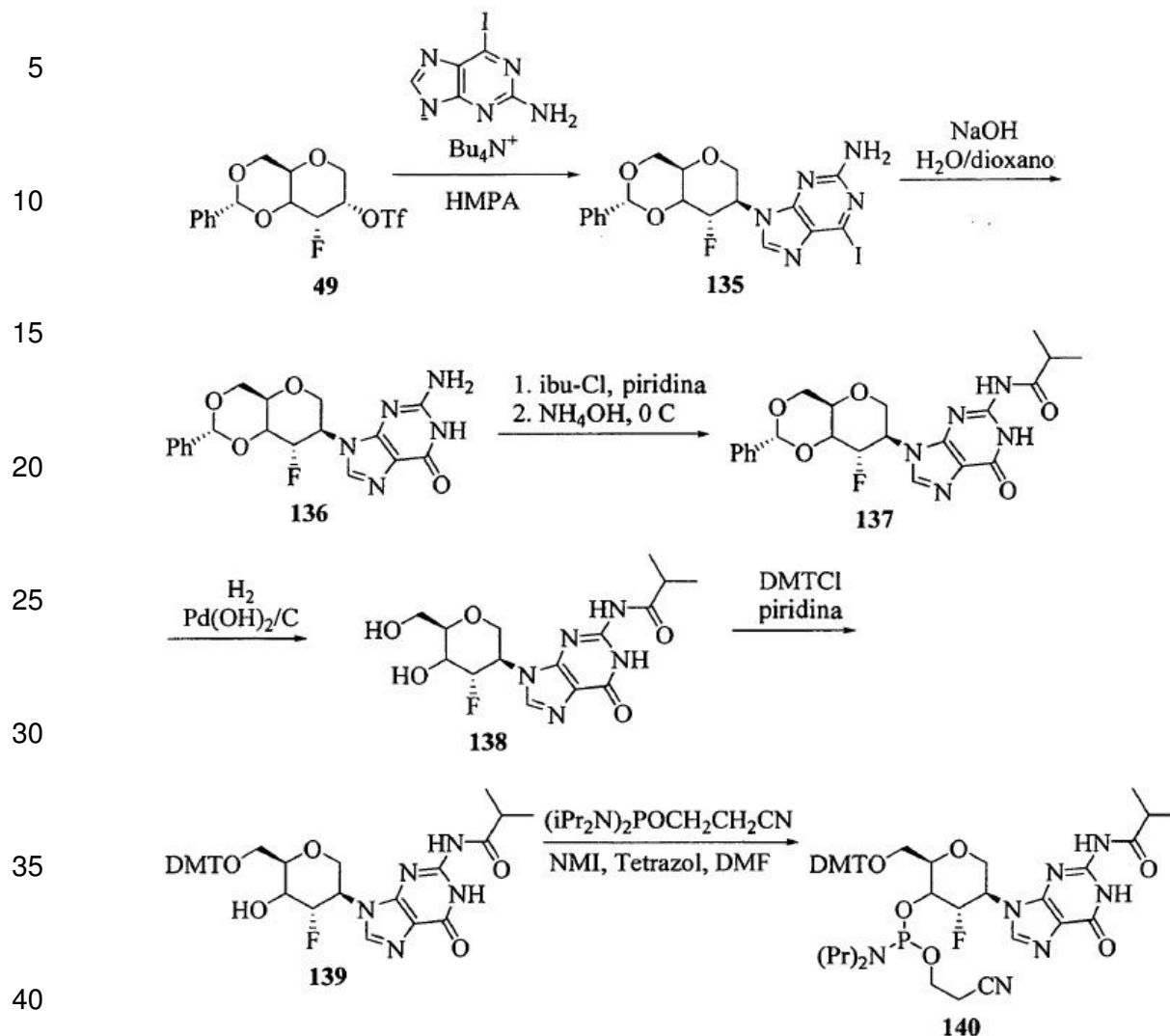
45

50

55

60

65



a) Preparación del Compuesto 135

45 Se disolvieron Compuesto 49 (preparado según los procedimientos ilustrados en el Ejemplo 14, 7,51 mmoles, 2,9 g) y sal tetrabutilamónica de 6-yodo-2-aminopurina (17,6 mmoles, 8,5 g, preparada como se describe en J. Org. Chem. 1995, 60, 2902-2905) en HMPA anhidro (26 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 18 horas, se vertió en acetato de etilo, se lavó con agua y NaCl saturado, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó. La purificación mediante cromatografía en gel de sílice (hexanos:acetato de etilo 1:1) proporcionó 2,78 g (rendimiento del 75%) del Compuesto 135. Los análisis mediante RMN (¹H y ¹⁹F) y LCMS fueron coherentes con la estructura.

b) Preparación del Compuesto 136

55 Se disolvió Compuesto 135 (0,64 mmoles, 0,32 g) en 1,4-dioxano (9 ml) y se añadió 9 ml de NaOH acuoso 1 M con calentamiento a 55°C durante 18 horas. Se enfrió la mezcla, a continuación se neutralizó con HCl 1N. Se concentró la mezcla a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en gel de sílice (metanol en diclorometano al 5%), proporcionando 0,22 g (rendimiento del 88%) de 136. Los análisis mediante RMN (¹H y ¹⁹F) y LCMS fueron coherentes con la estructura.

c) Preparación del Compuesto 137

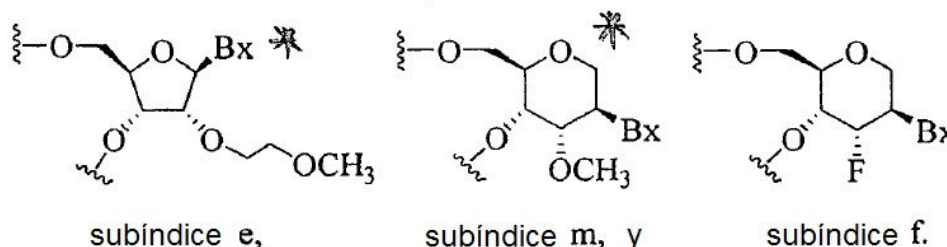
65 Se disolvió Compuesto 136 (3,23 mmoles, 1,25 g) en piridina anhidra (13,6 ml), se enfrió a 0°C, a continuación se trató con cloruro de isobutirilo (4,85 mmoles, 0,51 ml). Se calentó la mezcla a temperatura ambiente y se agitó durante 6 horas. Se enfrió la mezcla a 0°C y se trató con NH₄OH acuoso concentrado (3,2 ml) con agitación durante 30 minutos. Se vertió la mezcla en acetato de etilo (100 ml), se lavó con agua (200 ml) y salmuera

Se sintetizaron y ensayaron los compuestos oligoméricos interrumpidos para determinar su capacidad para reducir la expresión de PTEN en un intervalo de dosis. Se transfectaron células b.END con los compuestos oligoméricos interrumpidos a dosis de 0,3125 nM, 0,625 nM, 1,25 nM, 2,5 nM, 5 nM, 10 nM, 20 nM ó 40 nM utilizando 3 µg/ml de lipofectina en OptiMEM durante 4 horas, después de lo cual se reemplazaron las mezclas de transfección con medio de crecimiento normal (DMEM, alta concentración de glucosa, FBS al 10%, pen-strep). El ARN se recogió al día siguiente (aproximadamente 24 horas desde el comienzo de la transfección) y se analizó para determinar los niveles de ARN de ciclofilina A y PTEN mediante RT-PCR en tiempo real. Los valores representan los promedios y las desviaciones estándar (n = 3) de los niveles de ARN de PTEN normalizados con respecto a los de la ciclofilina A.

Se utilizaron las curvas de dosis-respuesta resultantes para determinar los valores de las CI_{50} que se enumeran más adelante. Se determinaron las T_m en tampón fosfato 100 mM, EDTA 0,1 mM, pH 7, a 260 nm utilizando 4 µM de los oligómeros modificados que se enumeran más adelante y 4 µM del ARN complementario AGGCCAGTGCTAAG (SEC ID N°: 7).

SEQ ID NO. /ISIS NO	Composición (5' a 3')	T_m (°C)	CI_{50} (nM)
01/392753	$C_eU_eTAGCACTGGCC_eU_e$	51,3	37
01/410312	$C_mU_mTAGCACTGGCC_mU_m$	49,2	23
01/410131	$C_fU_fTAGCACTGGCC_fU_f$	50,0	16

Cada grupo de unión internucleosídico es un fosforotioato. Los nucleósidos con subíndice se definen a continuación, en los que Bx es una base heterocíclica:



* = nucleósido utilizado para fines comparativos

Ejemplo 32

Compuestos oligoméricos interrumpidos 2-10-2 dirigidos a PTEN: estudio *in vitro*

Se sintetizaron y ensayaron los compuestos oligoméricos interrumpidos para determinar su capacidad para reducir la expresión de PTEN en un intervalo de dosis. Se transfectaron células b.END con los compuestos oligoméricos interrumpidos a dosis de 0,3125 nM, 0,625 nM, 1,25 nM, 2,5 nM, 5 nM, 10 nM, 20 nM ó 40 nM utilizando 3 µg/ml de lipofectina en OptiMEM durante 4 horas, después de lo cual se reemplazaron las mezclas de transfección con medio de crecimiento normal (DMEM, alta concentración de glucosa, FBS al 10%, pen-strep). El ARN se recogió al día siguiente (aproximadamente 24 horas desde el comienzo de la transfección) y se analizó para determinar los niveles de ARN de ciclofilina A y PTEN mediante RT-PCR en tiempo real. Los valores representan los promedios y las desviaciones estándar (n = 3) de los niveles de ARN de PTEN se normalizaron con respecto a los de la ciclofilina A.

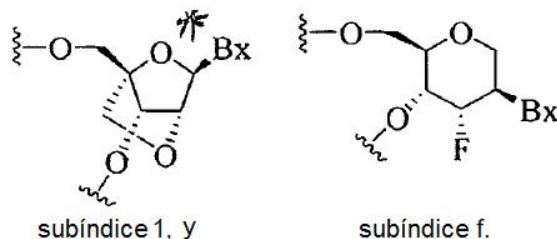
SEQ ID NO. /ISIS NO	Composición (5' a 3')
02/392063	$^{Me}C_fT_fT_fAGCACTGGC^{Me}C_fT_f$
01/410131	$C_fU_fTAGCACTGGCC_fU_f$
02/417999	$^{Me}C_fT_fTAGCACTGGC^{Me}C_fT_f$

SEQ ID NO. /ISIS NO	%UTC a Dosificación							
	0,3125	0,625	1,25	2,5	5	10	20	40
02/392063	86	83	66	40	36	24	32	17
01/410131	78	70	71	50	52	35	29	17
02/417999	98	108	77	72	68	43	33	20

Cada grupo de unión internucleosídico es un fosforotioato y el superíndice Me indica que el siguiente C es un 5-metil C. Los nucleósidos con subíndice se definen a continuación, en los que Bx es una base heterocíclica:

5

10



15

Ejemplo 33

Compuestos oligoméricos interrumpidos 2-10-2 dirigidos a PTEN: estudio *in vivo*

20

Se inyectaron compuestos oligoméricos interrumpidos dirigidos a PTEN, a una dosis de 20 mg/kg ó 60 mg/kg, a ratones Balb/c de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME), una vez. Los ratones fueron sacrificados 72 horas después de la administración. Se homogeneizaron los tejidos del hígado y se cuantificaron los niveles de ARNm mediante PCR en tiempo real como se describe en el presente documento para compararlos con los niveles testigo no tratados (% UTC). Se terminó el análisis de la química del plasma.

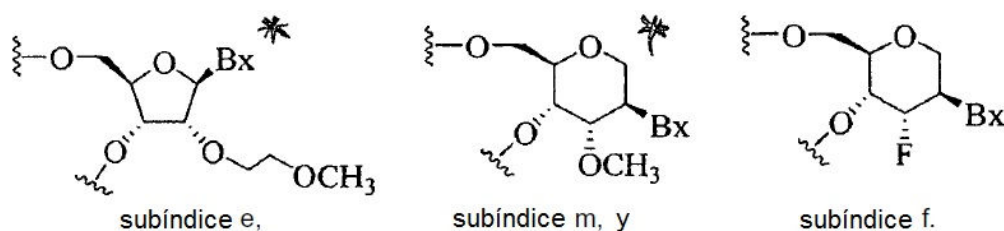
25

SEQ ID Nº /ISIS Nº	Composición (5' a 3')	dosis (mg/kg)	%UTC
Solución salina		N/A	100
01/392753	C _e U _e TAGCACTGGCC _e U _e	20	84
01/392753	C _e U _e TAGCACTGGCC _e U _e	60	68
01/410312	C _m U _m TAGCACTGGCC _m U _m	20	83
01/410312	C _m U _m TAGCACTGGCC _m U _m	60	27
01/410131	C _f U _f TAGCACTGGCC _f U _f	20	26
01/410131	C _f U _f TAGCACTGGCC _f U _f	60	8

35

Cada grupo de unión internucleosídico es un fosforotioato. Los nucleósidos con subíndice se definen a continuación:

40



50

No se observó aumento de ALT ni efectos significativos sobre el peso corporal o de los órganos después del tratamiento con estos compuestos oligoméricos interrumpidos.

55

Ejemplo 34

Compuestos oligoméricos Interrumpidos dirigidos a PTEN: estudio *in vivo*

60

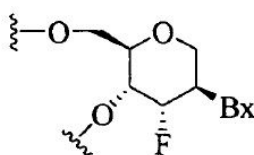
Se inyectaron compuestos oligoméricos interrumpidos dirigidos a PTEN, a una dosis de 0,47 mg/kg, 1,5 mg/kg, 4,7 mg/kg ó 15 mg/kg, a ratones Balb/c de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME), dos veces por semana durante tres semanas. Los ratones fueron sacrificados 48 horas después de la última administración. Se homogeneizaron los tejidos del hígado y se cuantificaron los niveles de ARNm mediante PCR en tiempo real como se describe en el presente documento para compararlos con los niveles testigo no tratados (% UTC). Se terminó el análisis de la química del plasma. Se determinaron las Tm en tampón fosfato 100 mM, EDTA

65

0,1 mM, pH 7, a 260 nm utilizando 4 μM de los oligómeros modificados que se enumeran a continuación y 4 μM del ARN complementario AGGCCAGTGCTAAG (SEC ID N°: 7).

SEQ ID N° /ISIS N°	Composición (5' a 3')	Tm (°C)
01/410131	C _f U _f TAGCACTGGCC _f U _f	50,7
02/417999	^{Me} C _f T _f TAGCACTGGC ^{Me} C _f T _f	52,6

Cada grupo de unión internucleosídico es un fosforotioato, el superíndice Me indica que el siguiente C es un 5-metil-C y los nucleósidos seguidos de un subíndice f se define en la fórmula siguiente, en la que Bx es una base heterocíclica:



subíndice f.

SEQ ID N° /ISIS N°	%UTC a 0,47 mg/kg	%UTC a 1,5 mg/kg	%UTC a 4,7 mg/kg	%UTC a 15 mg/kg
01/410131	-	-	-	12
02/417999	77	64	31	10
Solución salina	%UTC = 100 (dosificación N/A)			

También se midieron los niveles de transaminasas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) en suero con respecto a los ratones a los que se inyectó solución salina. Los niveles aproximados de transaminasas hepáticas se enumeran en la siguiente tabla.

SEQ ID N° /ISIS N°	AST a 0,47 mg/kg	AST a 1,5 mg/kg	AST a 4,7 mg/kg	AST a 15 mg/kg
01/410131	-	-	-	106
02/417999	51	90	86	37
Solución salina	82 (dosificación N/A)			

SEQ ID N° /ISIS N°	ALT a 0,47 mg/kg	ALT a 1,5 mg/kg	ALT a 4,7 mg/kg	ALT a 15 mg/kg
01/410131	-	-	-	27
02/417999	28	31	42	21
Solución salina	34 (dosificación N/A)			

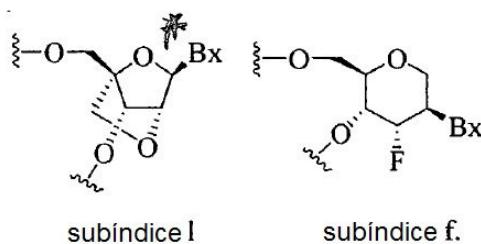
Ejemplo 35

Compuestos oligoméricos Interrumpidos dirigidos a PTEN: estudio *in vivo*

Se inyectaron compuestos oligoméricos interrumpidos dirigidos a PTEN, a una dosis de 3,2 mg/kg, 10 mg/kg, 32 mg/kg ó 100 mg/kg, a ratones Balb/c de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME), una vez. Los ratones fueron sacrificados 72 horas después de la administración. Se homogeneizaron los tejidos del hígado y se cuantificaron los niveles de ARNm mediante PCR en tiempo real como se describe en el presente documento para compararlos con los niveles testigo no tratados (% UTC). Se terminó el análisis de la química del plasma. Se determinaron las Tm en tampón fosfato 100 mM, EDTA 0,1 mM, pH 7, a 260 nm utilizando 4 μM de los oligómeros modificados que se enumeran a continuación y 4 μM del ARN complementario TCAAGGCCAGTGCTAAGAGT (SEC ID N°: 8) para los oligómeros con motivo 2/14/2 y AGGCCAGTGCTAAG (SEC ID N°: 7) para los oligómeros 2/10/2.

SEQ ID Nº /ISIS Nº	Composición (5' a 3')	Tm (°C)	Motivo
03/411026	C _f U _f GCTAGCCTCTGGATU _f U _f	57,1	2/14/2
04/418000	^{Me} C _f T _f GCTAGCCTCTGGATT _f T _f	58,5	2/14/2 5-CH ₃ alas
01/410131	C _f U _f TAGCACTGGCC _f U _f	50,7	2/10/2
02/417999	^{Me} C _f T _f TAGCACTGGC ^{Me} C _f T _f	52,6	2/10/2 5-CH ₃ alas
02/392063	^{Me} C _f T _f TAGCACTGGC ^{Me} C _f T _f	60,5	2/10/2 5-CH ₃ alas

Cada grupo de unión internucleosídico es un fosforotioato y el superíndice Me indica que el siguiente C es un 5-metil C. Los nucleósidos con subíndice se definen a continuación, en los que Bx es una base heterocíclica:



SEQ ID Nº /ISIS Nº	%UTC a 3,2 mg/kg	%UTC a 10 mg/kg	%UTC a 32 mg/kg	%UTC a 100 mg/kg
02/392063	92	29	7	7
03/411026	92	52	12	7
04/418000	100	38	12	5
01/410131	100	59	9	3
02/417999	94	31	10	5
Solución salina	%UTC = 100			

También se midieron los niveles de transaminasas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) en suero con respecto a los ratones a los que se inyectó solución salina. Los niveles aproximados de transaminasas hepáticas se enumeran en la siguiente tabla.

SEQ ID Nº /ISIS Nº	AST a 3,2 mg/kg	AST a 10 mg/kg	AST a 32 mg/kg	AST a 100 mg/kg
02/392063	57	86	81	27399
03/411026	166	78	69	130
04/418000	90	94	80	345
01/410131	48	87	187	51
02/417999	72	126	99	55

SEQ ID Nº /ISIS Nº	ALT a 3,2 mg/kg	ALT a 10 mg/kg	ALT a 32 mg/kg	ALT a 100 mg/kg
02/392063	9	13	10	18670
03/411026	25	20	26	115
04/418000	17	33	44	321
01/410131	14	15	22	11
02/417999	13	22	15	11

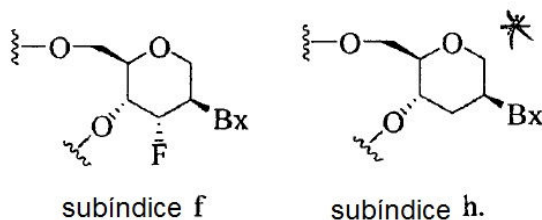
Ejemplo 36

65 Compuestos oligoméricos Interrumpidos dirigidos a PTEN: estudio *in vivo*

Se inyectaron los compuestos oligoméricos interrumpidos dirigidos a PTEN, a una dosis de 3,2 mg/kg, 10 mg/kg, 32 mg/kg ó 100 mg/kg, a ratones Balb/c de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME), una vez. Los ratones fueron sacrificados 72 horas después de la última administración. Se homogeneizaron los tejidos del hígado y se cuantificaron los niveles de ARNm mediante PCR en tiempo real como se describe en el presente documento para compararlos con los niveles testigo no tratados (% UTC). Las concentraciones DE₅₀ estimadas para cada compuesto oligomérico se calcularon utilizando Graphpad Prism como se muestra a continuación.

SEQ ID Nº /ISIS Nº	Composición (5' a 3')	DE ₅₀ (mg/kg)
02/417999	^{Me} C _f T _f TAGCACTGGC ^{Me} C _f T _f	7,5
02/425857	^{Me} C _h T _h TAGCACTGGC ^{Me} C _h T _h	14,5

Cada grupo de unión internucleosídico es un fosforotioato y el superíndice Me indica que el siguiente C es un 5-metil C. Los nucleósidos con subíndice se definen a continuación, en los que Bx es una base heterocíclica:



SEQ ID Nº /ISIS Nº	% UTC a dosificación			
	3,2 mg/kg	10 mg/kg	32 mg/kg	100 mg/kg
02/417999	77	41	9	5
02/425857	76	72	20	6
Solución salina	100			

También se midieron los niveles de transaminasas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) en suero con respecto a los ratones a los que se inyectó solución salina. Los niveles aproximados de transaminasas hepáticas se enumeran en la siguiente tabla.

SEQ ID Nº /ISIS Nº	AST (IU/l) a dosificación			
	3,2 mg/kg	10 mg/kg	32 mg/kg	100 mg/kg
02/417999	72	126	99	55
02/425857	88	64	77	46
Solución salina	77 (dosificación: n/a)			

SEQ ID Nº /ISIS Nº	ALT (IU/l) a dosificación			
	3,2 mg/kg	10 mg/kg	32 mg/kg	100 mg/kg
02/417999	26	24	19	31
02/425857	28	26	29	51
Solución salina	31 (dosificación: n/a)			

Ejemplo 37

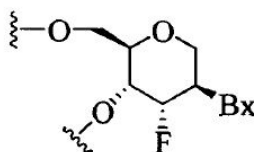
Compuestos oligoméricos interrumpidos

Se prepararon compuestos oligoméricos que tenían un motivo interrumpido con varias interrupciones y tamaños de ala. Se determinaron las T_m en tampón fosfato 100 mM, EDTA 0,1 mM, pH 7, a 260 nm utilizando 4 µM

de los oligómeros modificados que se enumeran a continuación y 4 μM del ARN complementario TCAAGGCCAGTGCTAAGAGT (SEQ ID N°: 8) para Tm¹ o AGGCCAGTGCTAAG (SEC ID N°: 7) para Tm².

	SEQ ID N° /ISIS N°	Composición (5' a 3')	Tm ¹ (°C)	Diseño del gapmero
5	02/417999	^{Me} C _f T _f TAGCACTGGC ^{Me} C _f T _f	59,4	2-10-2
	02/425858	^{Me} C _f T _f T _f TAGCACTGG ^{Me} C _f ^{Me} C _f T _f	67,4	3-8-3
	05/425859	T _f ^{Me} C _f T _f TAGCACTGGC ^{Me} C _f T _f T _f	65,0	3-10-3
	05/425860	T _f ^{Me} C _f T _f T _f TAGCACTGG ^{Me} C _f ^{Me} C _f T _f T _f	70,4	4-8-4
10	06/425861	^{Me} C _f T _f ^{Me} C _f T _f T _f TAGCACTGG ^{Me} C _f ^{Me} C _f T _f T _f	74,3	5-8-4

Cada grupo de unión internucleosídico es un fosforotioato y el superíndice Me indica que el siguiente C es un 5-metil C. El nucleósido con subíndice se define a continuación, en el que Bx es una base heterocíclica:



subíndice f.

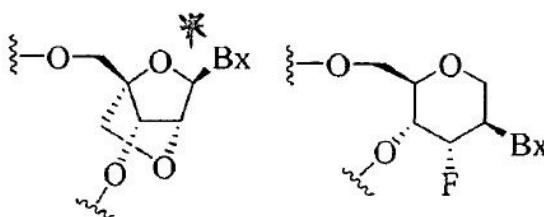
Ejemplo 38

Hemímeros dirigidos a PTEN: estudio *in vivo*

Se inyectaron compuestos oligoméricos interrumpidos dirigidos a PTEN, a una dosis de 1,6 mg/kg, 5 mg/kg, 16 mg/kg ó 50 mg/kg, a ratones Balb/c de seis semanas de edad (Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME), una vez. Los ratones fueron sacrificados 72 horas después de la última administración. Se homogeneizaron los tejidos del hígado y se cuantificaron los niveles de ARNm mediante PCR en tiempo real como se describe en el presente documento para compararlos con los niveles testigo no tratados (% UTC). Las concentraciones DE₅₀ estimadas para cada compuesto oligomérico se calcularon utilizando Graphpad Prism como se muestra a continuación. Se determinaron las Tm en tampón fosfato 100 mM, EDTA 0,1 mM, pH 7, a 260 nm utilizando 4 μM de los oligómeros modificados que se enumeran a continuación y 4 μM del ARN complementario TCAAGGCCAGTGCTAAGAGT (SEQ ID N°: 8) para Tm¹ o AGGCCAGTGCTAAG (SEC ID N°: 7) para Tm².

SEQ ID N° /ISIS N°	Composición (5' a 3')	Tm ¹	Tm ²
02/412471	^{Me} C _f T _f T _f TAGCACTGGC ^{Me} CT	65,5	62,5
02/429495	^{Me} C _f T _f T _f TAGCACTGGC ^{Me} CT	63,8	59,6

Cada grupo de unión internucleosídico es un fosforotioato y el superíndice Me indica que el siguiente C es un 5-metil C. Los nucleósidos con subíndice se definen a continuación, en los que Bx es una base heterocíclica:



subíndice l, y

subíndice f.

	SEQ ID Nº /ISIS Nº	% UTC a dosificación			
		1,6 mg/kg	5 mg/kg	16 mg/kg	50 mg/kg
5	02/412471	85	51	20	23
	02/429495	90	79	40	17
	Solución salina	%UTC = 100			

10 También se midieron los niveles de transaminasas hepáticas, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) en suero con respecto a los ratones a los que se inyectó solución salina. Los niveles aproximados de transaminasas hepáticas se enumeran en la siguiente tabla.

	SEQ ID Nº /ISIS Nº	AST (IU/l) a dosificación			
		1.6 mg/kg	5 mg/kg	16 mg/kg	50 mg/kg
15	02/412471	67	67	69	4572
	02/429495	95	54	77	58
	Solución salina	68 (dosificación: n/a)			

20

	SEQ ID Nº /ISIS Nº	ALT (IU/l) a dosificación			
		1.6 mg/kg	5 mg/kg	16 mg/kg	50 mg/kg
25	02/412471	29	31	33	3419
	02/429495	33	31	38	23
	Solución salina	35 (dosificación: n/a)			

30 LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Isis Pharmaceuticals, Inc.
Allerson, Charles
Bhat, Balkrishen
35 Prakash, Thazha P.
Swayze, Eric E.

<120> ANALOGOS DE ACIDOS NUCLEICOS TETRAHIDROPIRANO

40 <130> CHEM0041WO

<150> 61/052,030
<151> 09-05-2008

45 <150> 61/031,226
<151> 25-02-2008

50 <150> 61/021,236
<151> 15-01-2008

<150> 60/956,100
<151> 15-08-2007

55 <160> 8

<170> FastSEQ para Windows Versión 4.0

60 <210> 1
<211> 14
<212> ADN
<213> Secuencia Artificial

<220>
65 <223> Oligonucleótido Sintético

<221> misc_feature

ES 2 439 591 T3

<222> 1, 2, 13, 14

<223> Las bases en estas porciones son ARN

5

<400> 1

cutagcactg gccu 14

<210> 2

<211> 14

<212> ADN

10

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Oligonucleótido Sintético

15

<400> 2

cttagcactg gcct 14

<210> 3

<211> 18

<212> ADN

20

<213> Secuencia Artificial

<220>

25

<400> 8

tcaaggccag tgctaagagt 20

30

35

40

45

50

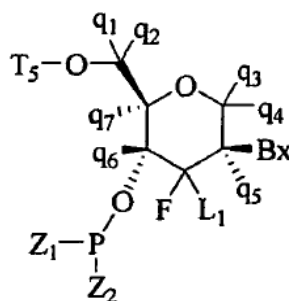
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano que tiene la Fórmula XVI:



XVI

en la que:

Bx es un resto de base heterocíclica;

T₅ es un grupo protector de hidroxilo;

L₁ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

Z₁ es O⁻ u OE₁;

Z₂ es OH, OE₁ o N(E₁)(E₂);

cada uno de E₁ y E₂ es, independientemente, alquilo o alquilo sustituido;

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

en la que cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que cada uno de J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆, y X es O, S o NJ₁.

2. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según la reivindicación 1, en el que q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno H.

3. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según la reivindicación 1, en el que al menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es distinto de H.

4. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3, en el que al menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es metilo.

5. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que Bx es uracilo, 5-metiluracilo, 5-tiazolo-uracilo, 2-tio-uracilo, 5-propinil-uracilo, timina, 2'-tio-timina, citosina, 5-metilcitosina, 5-tiazolo-citosina, 5-propinil-citosina, adenina, guanina, 2,6-diaminopurina, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 1H-pirimido[5,4-b][1,4]benzotiacin-2(3H)-ona, 9-(2-aminoetoxi)-H-pirimido[5,4-b][1,4]benzoxacin-2(3H)-ona, 2H-pirimido[4,5-b]indol-2-ona o H-pirido[3',2':4,5]-pirrolo[2,3-d]pirimidin-2-ona.

6. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que Bx es uracilo, 5-metiluracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, adenina o guanina.

7. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que T₅ es acetilo, t-butilo, t-butoximetilo, metoximetilo, tetrahidropiranilo, 1-etoxietilo, 1-(2-cloroetoxi)etilo, 2-trimetilsililetilo, p-clorofenilo, 2,4-dinitrofenilo, bencilo, benzoilo, p-fenilbenzoilo, 2,6-diclorobencilo, difenilmetilo, p-nitrobencilo, trifenilmetilo (tritilo), 4-metoxitritilo, 4,4'-dimetoxitritilo, trimetilsililo, trietilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, trifenilsililo, triisopropilsililo, benzoilformiato, cloroacetilo, tricloroacetilo, trifluoroacetilo, pivaloilo, carbonato de 9-fluorenilmetilo, mesilato, tosilato, triflato, tritilo, monometoxitritilo, dimetoxitritilo, trimetoxitritilo o pixilo sustituido.

8. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que T₅ es acetilo, bencilo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo o dimetoxitritilo.

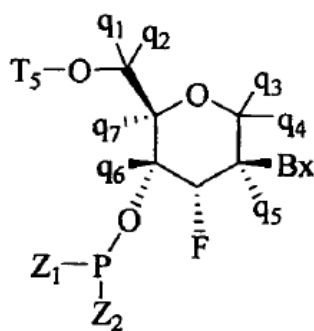
9. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que L₁ es F.

10. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que L_1 es H.

11. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que Z_1 es O^- y Z_2 es OH.

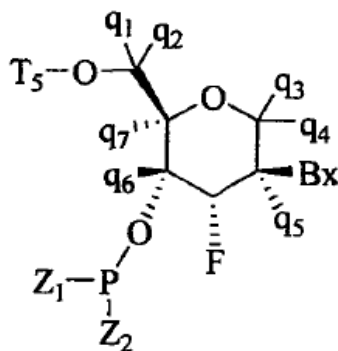
12. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que Z_1 es $O(CH_2)_2CN$, Z_2 es $N[CH(CH_3)_2]_2$ y T_5 es 4,4'-dimetoxitritilo.

13. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 ó 10-12 que tienen la Fórmula XVII:



XVII.

14. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según la reivindicación 1 que tiene la Fórmula XVII:

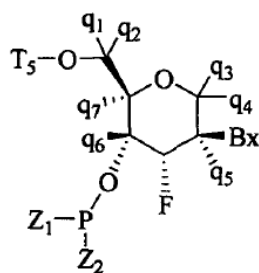


XVII

en la que:

- q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 son cada uno H;
- Bx es uracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, adenina o guanina;
- T_5 es 4,4'-dimetoxitritilo;
- Z_1 es $O(CH_2)_2CN$; y
- Z_2 es $N[CH(CH_3)_2]_2$.

15. Análogo nucleosídico de tetrahidropirano según la reivindicación 1 que tiene la Fórmula XVII:



XVII

5

10

15 en la que:

al menos uno de q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ es metilo;

Bx es uracilo, timina, citosina, 5-metilcitosina, 2,6-diaminopurina, adenina o guanina;

T₅ es 4,4'-dimetoxitritilo;

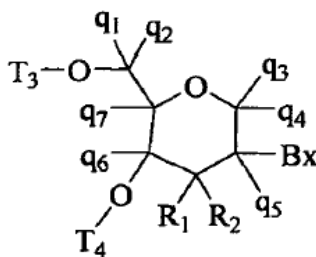
20

Z₁ es O(CH₂)₂CN; y

Z₂ es N[CH(CH₃)₂]₂.

16. Compuesto oligomérico que comprende al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X:

25



X

30

35

40 en la que independientemente para cada uno de dicho al menos un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X:

Bx es un resto de base heterocíclica;

45

T₃ y T₄ son cada uno, independientemente, un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico o uno de T₃ y T₄ es un grupo de unión internucleosídico que une el análogo nucleosídico de tetrahidropirano al compuesto oligomérico y el otro de T₃ y T₄ es H, un grupo protector de hidroxilo, un grupo conjugado unido o un grupo terminal 5' o 3';

q₁, q₂, q₃, q₄, q₅, q₆ y q₇ son cada uno, independientemente, H, alquilo C₁-C₆, alquilo C₁-C₆ sustituido, alqueno C₂-C₆, alqueno C₂-C₆ sustituido, alquino C₂-C₆ o alquino C₂-C₆ sustituido;

50

uno de R₁ y R₂ es fluoro y el otro de R₁ y R₂ es H, halógeno, alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido;

cada grupo sustituido comprende uno o más grupos sustituyentes opcionalmente protegidos seleccionados independientemente de entre halógeno, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, OC(=X)J₁, OC(=X)NJ₁J₂, NJ₃C(=X)NJ₁J₂ y CN, en los que X es O, S o NJ₁ y cada J₁, J₂ y J₃ es, independientemente, H o alquilo C₁-C₆; y

55

en la que dicho compuesto oligomérico comprende de aproximadamente 8 a aproximadamente 40 subunidades monoméricas unidas por grupos de unión internucleosídicos y al menos un grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

17. Compuesto oligomérico según la reivindicación 16 que comprende al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano de Fórmula X.

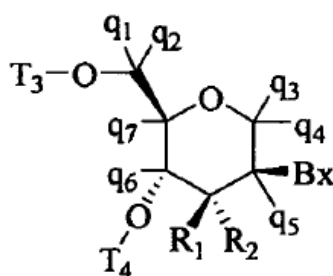
60

18. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16 ó 17 que comprende al menos dos análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X unidos mediante un grupo de unión internucleosídico de fosforotioato.

65

19. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-18 que comprende al menos un D-2'-desoxirribonucleósido.

- 5 20. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-19 que comprende al menos un β -D-2'-desoxirribonucleósido que está unido a un análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X mediante un grupo de unión internucleosídico de fosfortioato.
- 10 21. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-20 que comprende al menos una región de 2 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X.
- 15 22. Compuesto oligomérico según la reivindicación 21 que comprende adicionalmente al menos una región adicional de 1 a aproximadamente 5 subunidades monoméricas contiguas distintas de β -D-ribonucleósidos y β -D-2'-desoxirribonucleósidos en el que la región adicional está separada de la al menos una región por al menos un β -D-2'-desoxirribonucleósido.
- 20 23. Compuesto oligomérico según la reivindicación 16 que comprende al menos dos regiones, teniendo cada región de 1 a aproximadamente 5 análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X y en el que las dos regiones están separadas por al menos una subunidad monomérica en el que cada subunidad monomérica es, independientemente, un nucleósido o un nucleósido modificado.
- 25 24. Compuesto oligomérico según la reivindicación 23 que comprende un compuesto oligomérico interrumpido en el que una de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X está situada en el extremo 5' y la otra de dichas al menos dos regiones de análogos nucleosídicos de tetrahidropirano contiguos de Fórmula X está situada en el extremo 3' y en el que las dos regiones están separadas por una región interna que comprende de aproximadamente 6 a aproximadamente 18 subunidades monoméricas, en el que cada subunidad monomérica es, independientemente, un nucleósido o un nucleósido modificado.
- 30 25. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-24 en el que al menos un grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosfodiéster.
- 35 26. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-24, en el que cada grupo de unión internucleosídico es un grupo de unión internucleosídico de fosfortioato.
- 40 27. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-26, en el que cada q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 y q_7 es H.
- 45 28. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-26, en el que al menos uno de q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 o q_7 es distinto de H.
- 50 29. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-26, en el que al menos uno de q_1 , q_2 , q_3 , q_4 , q_5 , q_6 o q_7 es metilo.
- 55 30. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-29, en el que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano de Fórmula X tiene la configuración de Fórmula XI:

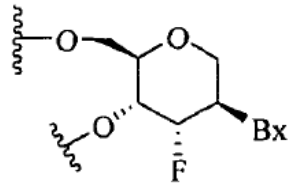


XI.

- 60 31. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-27, en el que cada análogo nucleosídico de tetrahidropirano tiene la Fórmula XII:

65

5



10

XII.

15

32. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-31, que comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 21 subunidades monoméricas.

33. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-31, que comprende de aproximadamente 12 a aproximadamente 17 subunidades monoméricas.

20

34. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-31, que comprende de aproximadamente 13 a aproximadamente 16 subunidades monoméricas.

25

35. Compuesto oligomérico según la reivindicación 23 ó 24, en el que cada subunidad monomérica es un β -D-2'-desoxirribonucleósido.

36. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-35 para su uso en un tratamiento.

30

37. Método *in vitro* de inhibición de la expresión génica que comprende poner en contacto una o más células o un tejido con un compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-35.

38. Compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-35 para su uso terapéutico en un método de inhibición de la expresión génica, comprendiendo dicho método poner en contacto un animal con un compuesto oligomérico según cualquiera de las reivindicaciones 16-35.

35

40

45

50

55

60

65