

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 619**

51 Int. Cl.:

A61K 38/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2008** **E 12178045 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018** **EP 2591795**

54 Título: **Compuestos que se dirigen a ARN y procedimientos para prepararlos y usarlos**

30 Prioridad:

23.02.2007 US 903212 P
27.11.2007 US 4389 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.05.2018

73 Titular/es:

**THE RESEARCH FOUNDATION OF STATE
UNIVERSITY OF NEW YORK (100.0%)
Office of Science Technology Transfer &
Economic Outreach Intellectual Property Division
UB Technology Incubator, Suite 111 Baird
Research Park 1576 Sweet Home Road
Amherst, NY 14228, US**

72 Inventor/es:

DISNEY, MATTHEW D.

74 Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 668 619 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos que se dirigen a ARN y procedimientos para prepararlos y usarlos

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere a procedimientos y materiales para identificar sistemáticamente interacciones de ARN-ligando, y más particularmente, a procedimientos y materiales que se pueden usar para identificar moléculas pequeñas que se dirigen a motivos de ARN particulares.

10

[0002] La presente solicitud cita una serie de referencias, algunas de las cuales o todas se citan con un número entre corchetes. Las referencias así citadas se listan en una sección titulada "Referencias" inmediatamente antes de las reivindicaciones.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0003] El ARN forma estructuras terciarias complejas que imparten diversas funciones [1, 2]. Por ejemplo, el ARN cataliza reacciones [3], regula la expresión de genes [4, 5], codifica proteínas, y desempeña otras funciones esenciales en biología. Por lo tanto, el ARN es una diana interesante e importante para desarrollar fármacos o sondas de función [6, 7]. Es una diana muy infrautilizada, sin embargo, debido a la información limitada disponible sobre las interacciones de ligandos del ARN que podrían facilitar el diseño racional.

20

[0004] Una ventaja de usar el ARN como diana del fármaco es que la información de la estructura secundaria, que incluye los motivos que comprenden un ARN, se puede obtener fácilmente de la secuencia por minimización de la energía libre [8, 9] o comparación filogénica [10]. Las estructuras terciarias del ARN son compuestos de los motivos estructurales secundarios y los contactos a larga distancia que forman entre ellos. Además, los motivos de ARN pueden tener propiedades similares tanto como sistemas aislados y como partes de ARN mayores. Por ejemplo, los antibióticos aminoglucósidos afectan a la estructura del sitio de rARN A bacteriano de forma similar cuando se unen al ribosoma entero o un oligonucleótido que imita el sitio de rARN A bacteriano [11-16]. Los estudios sobre la unión de dímeros de aminoglucósidos y estreptamina a horquillas de ARN [17-20] han facilitado el desarrollo de compuestos para combatir la resistencia a múltiples fármacos produciendo incompatibilidad de plásmido [19, 20]. Estos resultados muestran que la identificación de los motivos de ARN que se unen a moléculas pequeñas puede ser útil para dirigirse a los ARN mayores que los contienen.

30

[0005] Sin embargo, puesto que el ARN puede adoptar diversas estructuras, por ejemplo, bucles internos y de horquilla, ha sido difícil la comprensión de cómo dirigirse al ARN con moléculas pequeñas y otros ligandos.

35

[0006] Los procedimientos ilustrativos para estudiar e identificar interacciones de ligandos de ARN incluyen la evolución sistemática de ligandos por enriquecimiento exponencial ("SELEX") [21, 22], relaciones de estructura-actividad ("SAR") por espectrometría de masas ("MS") [23-26] y RMN [27], y micromatrices químicas [28-30]. Estos procedimientos hibridan espacio de ARN (SELEX) o espacio químico (SAR por MS y RMN y micromatrices químicas) por separado. Sin embargo, estos procedimientos no permiten un estudio sistemático de las interacciones de ARN-ligando.

40

[0007] Más recientemente, se ha desarrollado un procedimiento para identificar sistemáticamente interacciones de ARN-ligando. El procedimiento se describe, por ejemplo, en, Disney *et al.*, "Using Selection to Identify and Chemical Microarray to Study the RNA Internal Loops Recognized by 6-N-Acylated Kanamycin A," *ChemBioChem*, 8:649-656 (2007); Childs-Disney y col., "A Small Molecule Microarray Platform to Select RNA Internal Loop-Ligand Interactions.," *ACS Chem Biol.*, 2(11):745-754 (2007) (y en la información de apoyo asociada (disponible en internet en <http://pubs.acs.org/subscribe/journals/acbcct/supinfo/cb700174r/cb700174r-File003.pdf>)); Solicitud de patente de EE. UU. Nº US 2008/0188377 A1 y publicación PCT Nº WO 2008/066873 A2.

50

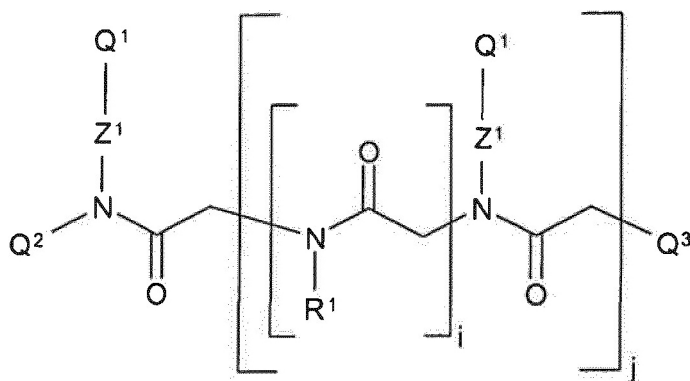
[0008] Aunque los procedimientos mencionados antes identifican las interacciones de ARN-ligando, sigue habiendo la necesidad de compuestos y procedimientos y materiales asociados que exploten dichas interacciones de ARN-ligando, y la presente invención se dirige, en parte, a abordar esta necesidad.

55

RESUMEN DE LA INVENCION

[0009] La presente invención se refiere a las realizaciones como se caracterizan en las reivindicaciones.

[0010] La presente solicitud describe un compuesto que se dirige a ARN que tiene la fórmula:



5 en donde j es un número entero de 1 a 100; cada i es igual o diferente y es cero o un número entero de 1 a 100; cada Z¹ representa el mismo o diferente resto conector; cada R¹ es igual o diferente y representa un grupo alquilo o un grupo arilo; cada Q¹ representa el mismo o diferente ligando de unión a ARN; Q² es un grupo alquilo; Q³ es un halógeno, un grupo alquilo, un grupo arilo o una amina.

10 [0011] La presente invención, como se caracteriza en las reivindicaciones, se refiere a un compuesto que se dirige a ARN, que comprende una cadena principal de polímero y dos o más ligandos de unión a ARN colgantes, en donde dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes están unidos a dicha cadena principal de polímero.

15 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0012] Las figuras 1A-1G son fórmulas estructurales de ligandos de unión a ARN que se pueden usar en los compuestos de la presente invención.

20 Las figuras 2 y 3A son esquemas de reacción para hacer cadenas principales peptoides que se pueden usar en la preparación de diferentes compuestos de la presente invención.

La figura 3A es un esquema de reacción para hacer cadenas principales peptoides que se pueden usar para preparar diferentes compuestos de la presente invención.

25 La figura 3B es un esquema de reacción para hacer un compuesto de la presente invención.

La figura 4 es una gráfica que muestra el efecto de diferentes oligonucleótidos en la fluorescencia de un ligando de unión a ARN marcado con fluorescencia, que se pueden usar en los compuestos de la presente invención.

30 La figura 5 es un esquema que ilustra una estrategia para usar compuestos de la presente invención para inhibir las interacciones de muscleblind-CUG_n.

35 La figura 6A es un esquema de reacción que muestra fórmulas estructurales de ligandos que se unen a ARN que se pueden usar para preparar los compuestos de la presente invención, y una forma de convertir uno en el otro. La figura 6B es un esquema de reacción para hacer cadenas principales peptoides que se pueden usar en la preparación de diferentes compuestos de la presente invención.

La figura 6C es una fórmula estructural de varios compuestos de la presente invención.

40 Las figuras 7A, 7B y 7E son esquemas de reacción que muestran fórmulas estructurales de diferentes ligandos de unión a ARN que se pueden usar en la preparación de compuestos de la presente invención y formas de convertir uno en otro. La figura 7C es un esquema de reacción para hacer cadenas principales peptoides que se pueden usar en la preparación de diferentes compuestos de la presente invención. La figura 7D y 7F son fórmulas estructurales de varios compuestos de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

[0013] Como se usa en la presente memoria, "alquilo" se entiende que incluye alquilos lineales, alquilos ramificados y cicloalquilos, cada uno de los cuales puede estar sustituido o no sustituido. "Alquilo" también se entiende que incluye alquilos lineales inferiores (p. ej., alquilos lineales C1-C6), tales como metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo y n-hexilo; alquilos ramificados inferiores (p. ej., alquilos ramificados C3-C8), tales como isopropilo, t-butilo, 1-metilpropilo, 2-metilpropilo, 1-metilbutilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo, 1,2-dimetilpropilo, 1,1-dimetilpropilo, 2,2-dimetilpropilo, 1-metilpentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 4-metilpentilo, 1,1-dimetilbutilo, 1,2-dimetilbutilo, 1,3-dimetilbutilo, 2,2-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo, 3,3-dimetilbutilo, 1-etilbutilo, 2-etilbutilo, 2-metil-2-etilpropilo, 2-metil-1-etilpropilo, y similares; y cicloalquilos inferiores (p. ej., cicloalquilos C3-C8), tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo, y similares. "Alquilo", como se usa en la presente invención, se entiende que incluye alquilos no sustituidos, tales como los expuestos antes, en los que no están presentes átomos distintos de carbono e hidrógeno. "Alquilo", como se usa en la presente memoria, se entiende que incluye también alquilos sustituidos. Los sustituyentes adecuados incluyen grupos arilo sustituidos o no sustituidos (tal como donde alquilo es un grupo bencilo u otro grupo metilo sustituido con arilo), anillos heterocíclicos (saturados o insaturados y opcionalmente sustituidos), grupos alcoxi (que se entiende que incluyen grupos ariloxi (p. ej., grupos fenoxi)), grupos amina (p. ej., no sustituidos, monosustituidos o disustituidos con, por ejemplo, grupos arilo o alquilo), guanidina y grupos guanidinio (opcionalmente sustituidos con, por ejemplo, uno o más grupos alquilo o arilo), derivados de ácido carboxílico (p. ej., ésteres, amidas de ácidos carboxílicos, etc.), átomos de halógeno (p. ej., Cl, Br y I), y similares. Además, los grupos alquilo que llevan uno o más sustituyentes alqueno o alquino (p. ej., un grupo metilo él mismo sustituido con un grupo prop-1-en-1-ilo para producir un sustituyente but-2-en-1-ilo) se entiende que están incluidos en el significado de "alquilo". Otros sustituyentes adecuados incluyen grupos hidroxilo y grupos hidroxilo protegidos (p. ej., un grupo aciloxi, tal como un grupo acetoxi; un grupo éter de sililo, tal como grupo éter de trimetilsililo ("TMS") y un grupo éter de terc-butildimetilsililo ("TBS")).

[0014] Como se usa en la presente invención, "alquilenos" se refiere a un grupo alquilo bivalente, donde el alquilo tiene el significado dado antes. Los alquilenos lineales, ramificados y cíclicos, así como ejemplos de los mismos, se definen de igual manera con referencia a su correspondiente grupo alquilo. Los ejemplos de alquilenos incluyen et-1,1-diilo (es decir, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$), et-1,2-diilo (es decir, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), prop-1,1-diilo (es decir, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$), prop-1,2-diilo (es decir, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$), prop-1,3-diilo (es decir, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), prop-2,2-diilo (p. ej. $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$), cicloprop-1,1-diilo, cicloprop-1,2-diilo, ciclopent-1,1-diilo, ciclopent-1,2-diilo, ciclopent-1,3-diilo, ciclohex-1,1-diilo, ciclohex-1,2-diilo, ciclohex-1,3-diilo, ciclohex-1,4-diilo, but-2-en-1,1-diilo, ciclohex-1,3-diilo, but-2-en-1,4-diilo, but-2-en-1,2-diilo, but-2-en-1,3-diilo, but-2-en-2,3-diilo. También están incluidos en el significado del término "alquilenos" compuestos que tienen la fórmula $-\text{R}'-\text{R}''-$, donde $-\text{R}'$ representa un grupo alquilo lineal o ramificado y R'' representa un grupo cicloalquilo.

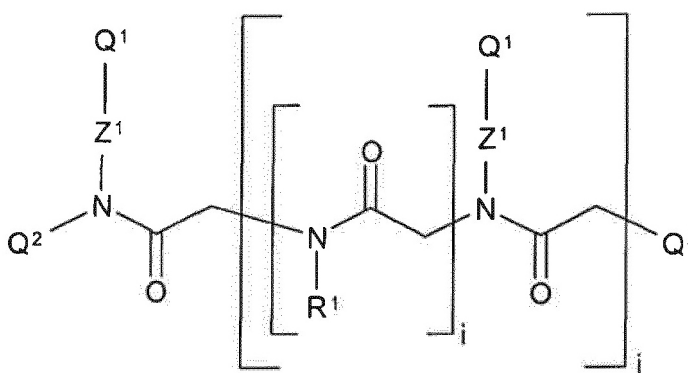
[0015] Como se usa en la presente invención, "alcoxi" se entiende que incluye grupos que tienen la fórmula $-\text{O}-\text{R}$, donde R es un grupo alquilo o arilo. Incluyen metoxi, etoxi, propoxi, fenoxi, 4-metilfenoxi, y similares.

[0016] Como se usa en la presente invención, "arilo" se entiende que incluye anillos aromáticos, por ejemplo, anillos aromáticos que tienen de 4 a 12 miembros, tales como anillos de fenilo. Estos anillos aromáticos pueden contener opcionalmente uno o más heteroátomos (p. ej., uno o más de N, O y S), y, por lo tanto, "arilo", como se usa en la presente invención, se entiende que incluye restos heteroarilo, tales como anillos de piridilo, anillos de pirimidinilo y anillos de furanilo. Los anillos aromáticos pueden estar opcionalmente sustituidos. "Arilo" también se entiende que incluye anillos aromáticos a los que están condensados uno o más de otros anillos de arilo o anillos no arilo. Por ejemplo, los grupos naftilo, grupos isoindol y grupos 5,6,7,8-tetrahidro-2-naftilo (cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido) son grupos arilo para los fines de la presente solicitud. Como se ha indicado antes, los anillos de arilo pueden estar opcionalmente sustituidos. Los sustituyentes adecuados incluyen grupo alquilo (que pueden estar opcionalmente sustituidos), otros grupos arilo (que pueden estar ellos mismos sustituidos), anillos heterocíclicos (saturados o insaturados), grupos alcoxi (que se entiende que incluye grupos ariloxi (p. ej., grupos fenoxi)), grupos amina (p. ej., disustituidos con grupos arilo o alquilo), grupos ácido carboxílico, derivados de ácido carboxílico (p. ej., ésteres, amidas de ácidos carboxílicos, etc.), átomos de halógeno (p. ej., Cl, Br y I), y similares.

[0017] Como se usa en la presente invención, "anillo" se entiende que incluye anillos homocíclicos o heterocíclicos. El anillo homocíclico o heterocíclico puede ser saturado o insaturado, aromático o no aromático. El anillo puede no estar sustituido, o puede estar sustituido con uno o más sustituyentes. Los sustituyentes pueden ser saturados o insaturados, aromáticos o no aromáticos, y los ejemplos de sustituyentes adecuados incluyen los citados antes en la descripción relacionada con los sustituyentes en grupos alquilo y arilo. Además, dos o más

sustituyentes de anillo se pueden combinar para formar otro anillo, de modo que "anillo" como se usa en la presente invención, se entiende que incluye sistemas de anillos condensados, y dichos sistemas de anillos condensados pueden ser saturados o insaturados, aromáticos o no aromáticos. En el caso donde el anillo sea saturado (es decir, en los casos donde cada uno de los átomos que componen el anillo están unidos por enlaces sencillos a otros miembros del anillo), el anillo puede incluir opcionalmente sustituyentes insaturados (aromáticos o no aromáticos) o saturados. De forma ilustrativa, el anillo o sistema de anillos puede contener 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más miembros.

[0018] La presente solicitud describe un compuesto que se dirige a ARN que tiene la siguiente fórmula I:



10

en donde j es un número entero de 1 a 100; cada i es igual o diferente y es cero o un número entero de 1 a 100; cada Z¹ representa el mismo o diferente resto conector; cada R¹ es igual o diferente y representa un grupo alquilo o un grupo arilo; cada Q¹ representa el mismo o diferente ligando de unión a ARN; Q² es un grupo alquilo; Q³ es un halógeno, un grupo alquilo, un grupo arilo o una amina.

[0019] Como se usa en la presente invención, compuesto que se dirige a ARN se entiende que se refiere a un compuesto que se une a ARN. A modo de ilustración, el compuesto que se dirige a ARN se puede unir a uno o más motivos de ARN, tales como motivos de ARN que se repiten y/o motivos estructurales de ARN. "Motivo estructural de ARN", como se usa en la presente invención, se entiende que se refiere a un bucle interno de ARN dirigible, bucle de horquilla, protuberancias u otros motivos estructurales de ARN dirigibles, por ejemplo, como se describe en Batey *et al.*, "Tertiary Motifs in RNA Structure and Folding," *Angew. Chem. Int. Ed.*, 38:2326-2343 (1999).

[0020] Los ejemplos de motivos de ARN incluyen bucles internos simétricos, bucles internos asimétricos, bucles internos 1x1, bucles internos 1x2, bucles internos 1x3, bucles internos 2x2, bucles internos 2x3, bucles internos 2x4, bucles internos 3x3, bucles internos 3x4, bucles internos 4x4, bucles internos 4x5, bucles internos 5x5, protuberancias de 1 base, protuberancias de 2 bases, protuberancias de 3 bases, protuberancias de 4 bases, protuberancias de 5 bases, bucles de horquilla de 4 bases, bucles de horquilla de 5 bases, bucles de horquilla de 6 bases, bucles de horquilla de 7 bases, bucles de horquilla de 8 bases, bucles de horquilla de 9 bases, bucles de horquilla de 10 bases, bucles de múltiples ramas, pseudonudos, etc.

[0021] Como se ha indicado antes, j es un número entero de 1 a 100. Por ejemplo, j puede ser un número entero de 1 a 50, de 1 a 20, de 1 a 10, de 2 a 100, de 2 a 50, de 2 a 20, de 2 a 10. De forma ilustrativa, j puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20.

[0022] Como se ha indicado antes, cada i es igual o diferente y es cero o un número entero de 1 a 100, por ejemplo, cero o un número entero de 1 a 50, cero o un número entero de 1 a 20, cero o un número entero de 1 a 10, un número entero de 2 a 100, un número entero de 2 a 50, un número entero de 2 a 20, un número entero de 2 a 10, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20. Por ejemplo, cuando j es 1, hay un valor de i; cuando j es 2, hay dos valores de i, y estos dos valores de i pueden ser iguales o pueden ser diferentes; cuando j es 3, hay tres valores de i, y estos tres valores de i pueden ser iguales o pueden ser diferentes, o dos pueden ser iguales y el otro ser diferente; etc.

[0023] En algunas realizaciones, j es un número entero de 2 a 10, y cada i es igual o diferente y es cero o un número entero de 1 a 20. En algunas realizaciones, cada i es igual y es cero o un número entero de 1 a 20. En algunas realizaciones, j es un número entero de 2 a 10, y cada i es igual y es cero o un número entero de 1 a 20.

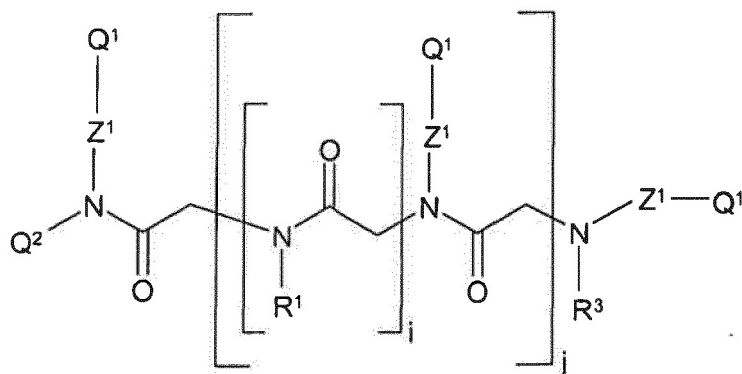
5 **[0024]** Como se ha indicado antes, cada R^1 es igual o diferente y representa un grupo alquilo o un grupo arilo. Por ejemplo, cuando j es 1 e i es 1, hay un R^1 ; cuando j es 1 e i es 2, o cuando j es 2 y cada i es 1, o cuando j es 2 y un i es 2 y el otro es cero, etc., hay dos R^1 , y estos dos R^1 pueden ser iguales o pueden ser diferentes; cuando j es 1 e i es 3, o cuando j es 3 y cada i es 1, o cuando j es 2 y un i es 1 y el otro i es dos, o cuando j es 3 y un i es 3 y los otros dos son cero, etc., hay tres R^1 , y estos tres R^1 pueden ser todos iguales, puede ser todos
10 diferentes, o dos pueden ser iguales y el otro puede ser diferente; etc.

[0025] En algunas realizaciones, cada R^1 es el mismo, como en el caso donde cada R^1 es un grupo metilo, etilo o propilo no sustituido. En algunas realizaciones, al menos un R^1 es diferente, como en el caso donde todos salvo uno de los R^1 son iguales, todos salvo dos de los R^1 son iguales, todos salvo tres de los R^1 son iguales, todos
15 salvo dos de los R^1 son diferentes, todos salvo tres de los R^1 son diferentes, algunos de los R^1 son iguales y otros son diferentes, etc. A modo de ilustración, en algunas realizaciones, al menos un R^1 es un grupo alquilo y al menos un R^1 es un grupo arilo; en algunas realizaciones, cada R^1 es igual o diferente y es un grupo alquilo; en algunas realizaciones, cada R^1 es igual o diferente y es un grupo arilo; en algunas realizaciones, cada R^1 es igual o diferente y es un alquilo no sustituido; en algunas realizaciones, cada R^1 es igual o diferente y es un alquilo C1-C12, tal como un alquilo C1-C12 sustituido o un alquilo C1-C12 no sustituido; en algunas realizaciones, cada R^1 es igual o diferente y es un alquilo C1-C6, tal como un alquilo C1-C6 sustituido o un alquilo C1-C6 no sustituido; en algunas realizaciones, cada R^1 es igual o diferente y es un alquilo lineal, tal como un alquilo lineal sustituido o un alquilo lineal no sustituido, tal como un alquilo lineal no sustituido C1-C12, un alquilo lineal no sustituido C1-C6, un alquilo lineal no sustituido C1-C4 o un alquilo lineal no sustituido C1-C3.
25

[0026] Como se ha indicado antes, Q^3 puede ser un halógeno, un grupo alquilo, un grupo arilo o una amina. En algunas realizaciones, Q^3 es una amina, tal como una amina no sustituida, una amina monosustituida o una amina disustituida.

30 **[0027]** Por ejemplo, Q^3 puede tener la fórmula $-NR^2R^3$, en la que R^2 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo y en la que R^3 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo alquilcarbonilo, por ejemplo, como en el caso donde R^2 es un alquilo sustituido y R^3 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo alquilcarbonilo.

[0028] De forma ilustrativa, Q^3 puede tener la fórmula $-NR^2R^3$, en la que R^3 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo o un grupo alquilcarbonilo, y en la que R^2 es un alquilo sustituido que tiene la fórmula $-Z^1-Q^1$, donde Z^1 y Q^1 son como se han descrito antes y se ilustran más adelante. Por lo tanto, en algunas realizaciones, los compuestos de fórmula I pueden tener la siguiente fórmula II:
35

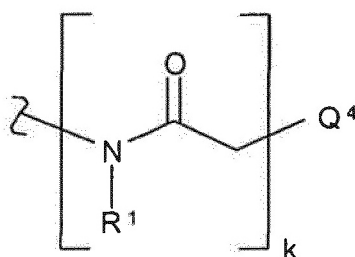


40 **[0029]** Como en otra ilustración más, en algunas realizaciones, Q^3 puede tener la fórmula $-NR^2R^3$, en la que R^2 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, y en la que R^3 es un grupo alquilcarbonilo, tal como un grupo alquilcarbonilo no sustituido o un grupo alquilcarbonilo sustituido (p. ej., un grupo ω -aminoalquilcarbonilo, tal como uno que tiene la fórmula $-C(O)-(CH_2)_n-Q^6$, en la que n es un número entero de 1 a 20 (p. ej., de 1 a 12, de 1 a 6, de 1 a 4, etc.) y en la que Q^6 es un grupo amino no sustituido, monosustituido o disustituido). Por ejemplo, Q^3 puede tener
45

la fórmula $-NR^2R^3$, en la que R^2 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, y en la que R^3 es un grupo alquilcarbonilo sustituido con un colorante, tal como en el caso donde Q^3 puede tener la fórmula $-NR^2R^3$, en la que R^2 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo, en la que R^3 tiene la fórmula $-C(O)-R^6-Z^4-Q^7$, y en la que R^6 representa un resto alquilo bivalente, Z^4 representa un resto conector (p. ej., un conector amida, un conector éster, un conector de anillo de triazol etc.), y Q^7 representa un marcador, tal como un colorante (p. ej., colorante fluoresceína u otro colorante fluorescente), un marcador radiactivo, un marcador enzimático, etc. Como ejemplos adicionales de colorantes que se pueden usar, se pueden mencionar colorantes Alexa, colorantes Bodipy, colorantes de rodamina, colorantes de pireno, colorantes de dansilo, y similares.

10 **[0030]** Como una ilustración adicional más, en algunas realizaciones, Q^3 puede tener la fórmula $-NR^2R^3$, en la que R^3 es un grupo alquilcarbonilo sustituido con un colorante y en la que R^3 tiene la fórmula $-Z^1-Q^1$.

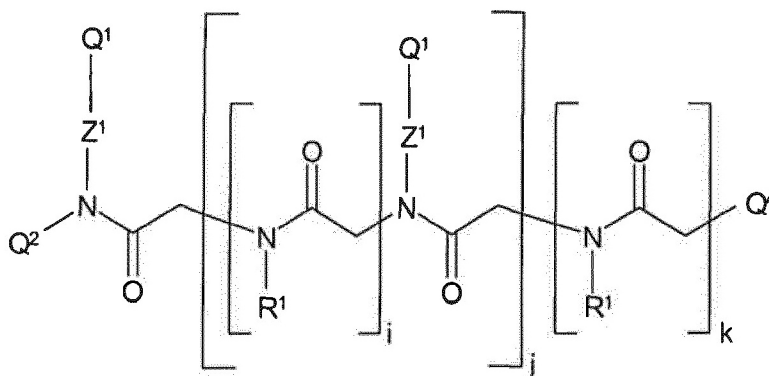
[0031] Como otro ejemplo, Q^3 es una amina que tiene la fórmula:



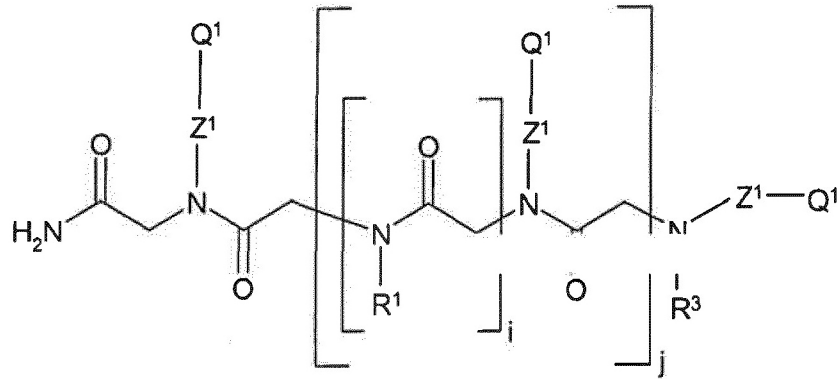
15

en la que k es un número entero de 1 a 100 (p. ej., como en el caso donde k es un número entero de 1 a 50, de 1 a 20, de 1 a 10, de 2 a 100, de 2 a 50, de 2 a 20, de 2 a 10 y/o como en el caso donde k es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20) y en la que Q^4 es un halógeno, un grupo alquilo, un grupo arilo o una amina,

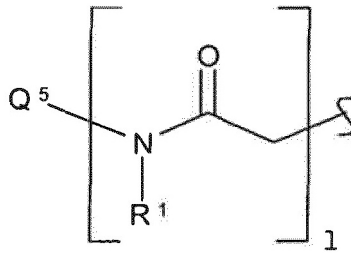
20 los ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con Q^3 . Por lo tanto, en algunas realizaciones, los compuestos de fórmula I pueden tener la siguiente fórmula III:



25 **[0032]** Como se ha indicado antes, Q^2 es un grupo alquilo, tal como un grupo alquilo no sustituido o un grupo alquilo sustituido. En algunas realizaciones, Q^2 tiene la fórmula $-CH_2-C(O)-Q^5$, en la que Q^5 es una amina, tal como una amina no sustituida, una amina monosustituida o una amina disustituida. De forma ilustrativa, Q^2 puede tener la fórmula $-CH_2-C(O)-NR^4R^5$, en la que R^4 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo y en la que R^5 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo. En algunas realizaciones, Q^2 tiene la fórmula $-CH_2-C(O)-NR^4R^5$, en la que R^4 es un grupo alquilo sustituido con un colorante y en la que R^5 es un átomo de hidrógeno. En algunas realizaciones, Q^2 tiene la fórmula $-CH_2-C(O)-NR^4R^5$, en la que R^4 es un átomo de hidrógeno y en la que R^5 es un átomo de hidrógeno, por ejemplo, como en el caso donde un compuesto de fórmula I tiene la siguiente fórmula IV:

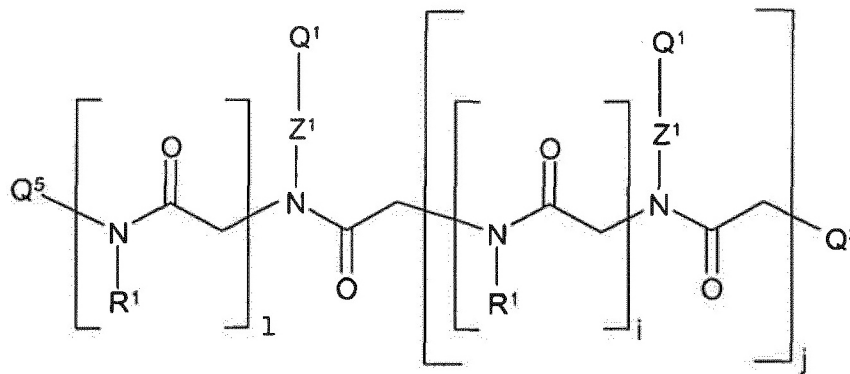


[0033] Como otro ejemplo, Q² puede ser un alquilo sustituido en el que Q² tiene la siguiente fórmula:

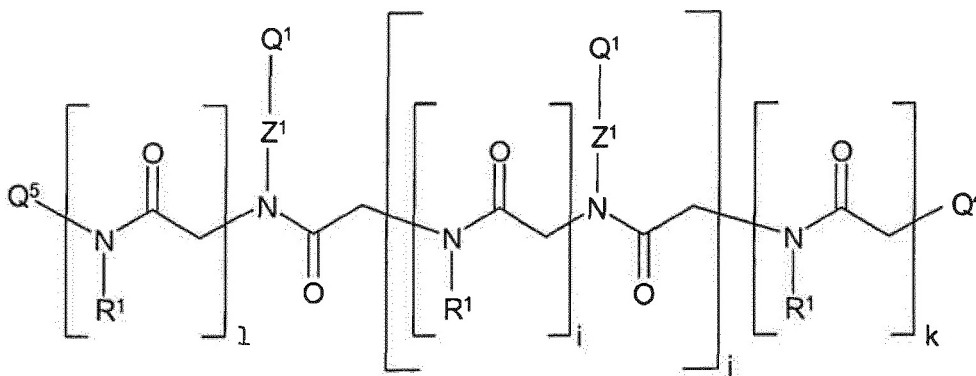


5

en la que 1 es un número entero de 1 a 100 (p. ej., como en el caso donde 1 es un número entero de 1 a 50, de 1 a 20, de 1 a 10, de 2 a 100, de 2 a 50, de 2 a 20, de 2 a 10 y/o como en el caso donde 1 es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20), y en la que Q⁵ es un grupo alquilo, los ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con Q². Por lo tanto, en algunas realizaciones, los compuestos de fórmula I pueden tener la siguiente fórmula V:



15 [0034] A modo de ilustración adicional también, los compuestos de fórmula I pueden tener la siguiente fórmula VI:



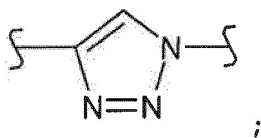
en la que Q⁴, Q⁵, i, j, k y 1 son como se han expuesto antes.

5 **[0035]** En las fórmulas I-VI anteriores, cada Z¹ representa el mismo o diferente resto de unión; y cada Q¹ representa el mismo o diferente ligando de unión a ARN.

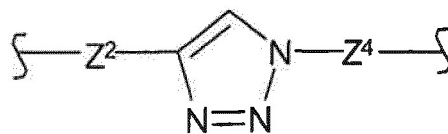
[0036] Por ejemplo, cuando j es 1, hay dos Q¹ y dos Z¹ en la fórmula I, los dos Q¹ pueden ser iguales o pueden ser diferentes, y los dos Z¹ pueden ser iguales o pueden ser diferentes; cuando j es 2, hay tres Q¹ y tres Z¹ en la fórmula I, los tres Q¹ pueden ser todos iguales, pueden ser todos diferentes, o dos pueden ser iguales y el otro puede ser diferente, y los tres Z¹ pueden ser todos iguales, pueden ser todos diferentes, o dos pueden ser iguales y el otro puede ser diferente, etc.

[0037] En algunas realizaciones, cada Q¹ es igual. En algunas realizaciones, al menos un Q¹ es diferente, como en el caso donde todos salvo uno de los Q¹ son iguales, todos salvo dos de los Q¹ son iguales, todos salvo tres de los Q¹ son iguales, todos salvo dos de los Q¹ son diferentes, todos salvo tres de los Q¹ son diferentes, algunos de los Q¹ son iguales y otros son diferentes, etc. En algunas realizaciones, cada Z¹ es igual. En algunas realizaciones, al menos un Z¹ es diferente, como en el caso donde todos salvo uno de los Z¹ son iguales, todos salvo dos de los Z¹ son iguales, todos salvo tres de los Z¹ son iguales, todos salvo dos de los Z¹ son diferentes, todos salvo tres de los Z¹ son diferentes, algunos de los Z¹ son iguales y otros son diferentes, etc. Los Z¹ y Q¹ se pueden seleccionar independientemente unos de otros. Así, por ejemplo, en algunas realizaciones, todos los Q¹ son iguales, y todos los Z¹ son iguales; en algunas realizaciones, todos los Q¹ son iguales, pero no todos los Z¹ son iguales; en algunas realizaciones, todos los Z¹ son iguales, pero no todos los Q¹ son iguales; en algunas realizaciones, no todos los Q¹ son iguales, y no todos los Z¹ son iguales; etc.

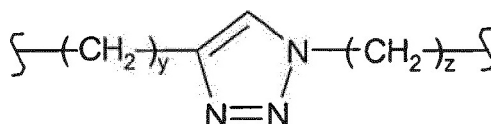
25 **[0038]** Como se ha indicado antes, cada Z¹ representa un resto conector, tal como un resto conector que une covalentemente su correspondiente ligando de unión a ARN (es decir, su correspondiente Q¹) con la cadena principal de polímero peptoide. A modo de ilustración, Z¹ puede tener la fórmula: -Z²-Z³-Z⁴- en la que Z² es un resto alquileo, Z⁴ es un resto alquileo, y Z³ es un conector que sirve para conectar covalentemente los restos alquileo Z² y Z⁴. Los ejemplos de Z³ adecuados incluyen conectores amida; conectores éster; conectores éter; y conectores anillos de triazol; p. ej., conectores anillos de triazol que tienen la fórmula:



35 etc. En algunas realizaciones, Z¹ puede tener fórmula -Z²-C(O)-NH-Z⁴-, p. ej., la fórmula -(CH₂)_y-C(O)-NH-(CH₂)_z-; la fórmula -Z²-NH-C(O)-Z⁴-, p. ej., la fórmula -(CH₂)_y-NH-C(O)-(CH₂)_z-; la fórmula -Z²-C(O)-O-Z⁴-, p. ej., la fórmula -(CH₂)_y-C(O)-O-(CH₂)_z-; la fórmula -Z²-O-C(O)-Z⁴-, p. ej., la fórmula -(CH₂)_y-O-C(O)-(CH₂)_z-; la fórmula -Z²-O-Z⁴-, p. ej., la fórmula (CH₂)_y-O-(CH₂)_z-; la fórmula:



p. ej., la fórmula:



5

la fórmula:



10

p. ej., la fórmula:



15 en la que y es un número entero de 1 a 6 y en la que z es un número entero de 1 a 6. Z¹ también puede representar combinaciones de las fórmulas anteriores, tal como en el caso donde Z¹ tiene la fórmula -Z²-Z⁶-Z⁷-Z⁸-Z⁴-, en la que Z², Z⁴ y Z⁷ son restos alquileo, tales como los descritos antes; y Z⁶ y Z⁸ se seleccionan independientemente de conectores amida; conectores éster; conectores éter; y conectores anillos de triazol.

20 **[0039]** Como se ha indicado antes, cada Q¹ representa el mismo o diferente ligando de unión a ARN. Como se usa en la presente invención, el "ligando de unión a ARN" se entiende que se refiere a compuestos no ácidos nucleicos que pueden ser capaces de unirse o interaccionar de otra forma con uno o más ARN o con uno o más motivos de ARN, tal como los motivos de ARN descritos antes. En relación con esto, "interaccionar" se entiende que se refiere a la unión u otra asociación estabilizada entre el ligando y el ARN o motivo de ARN. La asociación se puede estabilizar termodinámicamente o estabilizar cinéticamente o ambas, y la interacción puede ser el resultado de enlace covalente, enlace de hidrógeno, interacciones de van der Waals, interacciones electrostáticas, o combinaciones de estos y/u otros tipos de interacciones. Los ejemplos de ligandos de unión a ARN incluyen proteínas, polipéptidos, hidratos de carbono y otros biopolímeros de ácido nucleico; peptoides (que se entiende que incluyen polipeptoides); células enteras; y moléculas pequeñas. "Moléculas pequeñas", como se usa en la presente invención, se entiende que se refieren a compuestos no biopolímeros que tienen, por ejemplo, un peso molecular de menos de 10.000 gramos/mol, tal como menos de 9000 gramos/mol, menos de 8000 gramos/mol, menos de 7000 gramos/mol, menos de 6000 gramos/mol, menos de 5000 gramos/mol, menos de 4000 gramos/mol, menos de 3000 gramos/mol, menos de 2000 gramos/mol, menos de 1000 gramos/mol, menos de 900 gramos/mol, menos de 800 gramos/mol, menos de 700 gramos/mol, menos de 600 gramos/mol, menos de 500 gramos/mol, menos de 400 gramos/mol, etc.) que pueden ser capaz de unirse o interaccionar de otra forma con uno o más ácidos nucleicos o motivos de ácido nucleico. Los ejemplos de moléculas pequeñas que se pueden usar en conexión con la presente invención incluyen antibióticos moléculas pequeñas, agentes antivíricos moléculas pequeñas, antifúngicos moléculas pequeñas, compuestos quimioterapéuticos moléculas pequeñas, compuestos heterocíclicos moléculas pequeñas, y

otros fármacos moléculas pequeñas. Las moléculas pequeñas pueden ser compuestos biológicos o mezclas de dichos compuestos (p. ej., derivados de plantas, hongos, bacterias, algas u otros extractos); o pueden ser compuestos orgánicos sintéticos, o pueden ser compuestos inorgánicos (p. ej., cisplatino).

5 **[0040]** Los ligandos de unión a ARN adecuados (p. ej., ligandos de unión a ARN que se unen o interaccionan de otra forma con uno o más ARN diana o con uno o más motivos de ARN diana) se pueden identificar, por ejemplo, usando los procedimientos descritos en Disney y col., "Using Selection to Identify and Chemical Microarray to Study the RNA Internal Loops Recognized by 6- N-Acylated Kanamycin A," *ChemBioChem*, 8:649-656 (2007); Childs-Disney *et al.*, "A Small Molecule Microarray Platform to Select RNA Internal Loop-Ligand Interactions.," *ACS Chem*
10 *Biol.*, 2(11):745-754 (2007) (y en la información de apoyo asociada (disponible en internet en <http://pubs.acs.org/subscribe/journals/acbcct/suppinfocb700174r/cb700174r-File003.pdf>)); publicación de patente de EE. UU. N° US 2008/0188377 A1 ; y/o publicación de patente PCT N° WO 2008/066873 A2.

[0041] A modo de ilustración, dos o más Q¹ se pueden seleccionar de modo que se unan a motivos
15 estructurales de ARN, tales como motivos de bucle interno de ARN, motivos de bucle de horquilla de ARN, motivos de protuberancia de ARN, motivos de bucles ramificados de ARN y/o motivos de pseudonudos de ARN.

[0042] Por ejemplo, algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un primer motivo estructural de ARN y algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un segundo motivo estructural de ARN, en donde el primer motivo estructural de ARN y el segundo motivo estructural de ARN son diferentes. De forma ilustrativa, algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un motivo de bucle interno de ARN y algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se puede seleccionar para que así se unan a un segundo motivo de bucle interno de ARN diferente; o algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un motivo de bucle interno de ARN y
20 algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un motivo de bucle de horquilla de ARN; o algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un motivo de bucle interno de ARN y algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se puede seleccionar para que así se unan a un motivo de protuberancia de ARN; etc.

30 **[0043]** Alternativamente, todos los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan al mismo motivo estructural de ARN, por ejemplo, como donde todos los Q¹ se seleccionan para que así se unan a múltiples copias del mismo motivo estructural de ARN. De forma ilustrativa, todos los Q¹ se seleccionan para que así se unan a múltiples copias del mismo motivo de bucle interno de ARN, o el mismo motivo de bucle de horquilla de ARN, o el mismo motivo de protuberancia de ARN, etc.

35 **[0044]** A modo de ilustración adicional, dos o más Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a motivos de repetición de ARN, tales como motivos de repetición tripletes de ARN (p. ej., motivos de repetición tripletes CUG de ARN, motivos de repetición tripletes CGG de ARN, motivos de repetición tripletes GCC de ARN, motivos de repetición tripletes GAA de ARN, motivos de repetición tripletes CAG de ARN, etc.) o motivos de tetra repetición de
40 ARN (p. ej., motivos de tetra repetición CCUG de ARN).

[0045] Por ejemplo, algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un primer motivo de repetición de ARN y algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un segundo motivo de repetición de ARN, en el que el primer motivo de repetición de ARN y el segundo motivo de repetición de ARN son diferentes. De forma ilustrativa, algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un motivo de repetición triplete CUG de ARN y algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un motivo de repetición triplete de ARN diferente (p. ej., un motivo de repetición triplete CAG de ARN).
45

50 **[0046]** Alternativamente, todos los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan al mismo motivo de repetición de ARN, por ejemplo, como donde todos los Q¹ se seleccionan para que así se unan a un motivo de repetición triplete CUG de ARN, un motivo de repetición triplete CGG de ARN, un motivo de repetición triplete GCC de ARN, un motivo de repetición triplete GAA de ARN, un motivo de repetición triplete CAG de ARN, un motivo de repetición triplete CUG de ARN, o un motivo de tetra repetición CCUG de ARN).
55

[0047] A modo de otra ilustración adicional también, uno o más de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un motivo estructural de ARN, tal como cualquiera de los descritos antes (p. ej., un motivo de bucle interno de ARN); y uno o más de los Q¹ se pueden seleccionar para que así se unan a un motivo de repetición de ARN, tal como cualquiera de los descritos antes (p. ej., un motivo de repetición triplete CUG de ARN).

[0048] Los ligandos de unión a ARN usados en la práctica de la presente invención incluyen azúcares aminoglucósidos, tales como kanamicinas (p. ej., kanamicina A (p. ej., que tiene la estructura mostrada en la figura 1A), kanamicina B (p. ej., que tiene la estructura mostrada en la figura 1B), etc.), tobramicinas (p. ej., que tiene la estructura mostrada en la figura 1C), neaminas (p. ej., que tiene la estructura mostrada en la figura 1E), y similares; y bisbencimidazoles, tales como pibenzimoles (p. ej., que tienen la estructura mostrada en las figuras 1F y 1G, tales como Hoechst 33258). Las kanamicinas, tobramicinas, neaminas, neomicinas y bisbencimidazoles pueden ser particularmente útiles en casos donde los motivos de ARN diana son motivos de repetición tripletes CUG de ARN.

10

[0049] La forma en la que los ligandos de unión a ARN se acoplan a los Z¹ depende de la naturaleza del o los ligandos de unión a ARN que se usen y el o los conectores que se van a usar. De forma ilustrativa, el acoplamiento se puede llevar a cabo por un átomo de carbono del ligando de unión a ARN que lleve un grupo hidroxilo o grupo amina (p. ej., por un átomo de carbono de hidroximetilo del ligando de unión a ARN, por un átomo de carbono de aminometilo del ligando de unión a ARN, por un átomo de carbono de anillo sustituido con hidroxilo del ligando de unión a ARN, por un átomo de carbono de anillo sustituido con amina del ligando de unión a ARN, y similares). En los casos donde el ligando de unión a ARN es un azúcar aminoglucósido, el acoplamiento se puede hacer, por ejemplo, por la posición 6' del azúcar aminoglucósido (p. ej., por la posición 6' de la kanamicina A, kanamicina B, tobramicina, neamina y neomicina); por la posición 6" del azúcar aminoglucósido (p. ej., por la posición 6" de la kanamicina A, kanamicina B y tobramicina); por la posición 5 del azúcar aminoglucósido (p. ej., por la posición 5 de la neamina); en aquellos casos donde el azúcar aminoglucósido incluye un anillo de tetrahidrofurano, por el átomo de carbono del hidroximetilo del anillo de tetrahidrofurano (p. ej., por el átomo de carbono del hidroximetilo del anillo de tetrahidrofurano en la neomicina); etc.

[0050] En algunas realizaciones, cada Q¹ es igual o diferente y se selecciona de azúcares aminoglucósidos y bisbencimidazoles, tal como en el caso donde cada Q¹ es igual o diferente y es un azúcar aminoglucósido. En algunas realizaciones, cada Q¹ es una kanamicina A. En algunas realizaciones, cada Q¹ es una neamina. En algunas realizaciones, cada Q¹ es un bisbencimidazol. En algunas realizaciones, algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ son kanamicina A y algunos de los Q¹ son bisbencimidazoles. En algunas realizaciones, algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ son kanamicina A y algunos de los Q¹ son neaminas. En algunas realizaciones, algunos (es decir, uno o más) de los Q¹ son neaminas y algunos de los Q¹ son bisbencimidazoles.

[0051] Por ejemplo, un Q¹ (o más de un Q¹) se puede seleccionar para que así se una a uno o más motivos de bucle interno de ARN que comprende una pirimidina enfrente de una pirimidina (p. ej., un uracilo enfrente de un uracilo, una citosina enfrente de una citosina, un uracilo enfrente de una citosina, etc.). Los ejemplos de dichos motivos de bucle interno de ARN incluyen bucles internos 1x1, 2x2, 3x3, etc., tales como 5'C/3'C; 5'U/3'U; 5'AU/3'AU; 5'UA/3'UA; 5'UAU/3'UUU; 5'GUC/3'GCU; 5'GCU/3'GUC; 5'CUC/3'CGU; 5'CGU/3'CUC; 5'UGA/3'UGG; 5'UGG/3'UGA; etc. Dichos motivos de bucle interno de ARN pueden ser localizados con un azúcar aminoglucósido, tal como una kanamicina A (p. ej., una kanamicina A acoplada por su posición 6").

40

[0052] Como un ejemplo adicional, un Q¹ (o más de un Q¹) se puede seleccionar para que así se una a uno o más motivos de bucle interno de ARN que comprende una guanina enfrente de una guanina. Los ejemplos de dichos motivos de bucle interno de ARN incluyen bucles internos 1x1, 2x2, 3x3, etc., tales como 5'G/3'G; 5'CG/3'CG; 5'GA/3'GC; 5'GC/3'GA; 5'AG/3'GG; 5'GG/3'AG; 5'AG/3'CG; 5'CG/3'AG; 5'AGA/3'CGA; 5'CGA/3'AGA; etc. Dichos motivos de bucle interno de ARN pueden ser localizados con un azúcar aminoglucósido, tal como una tobramicina (p. ej., una tobramicina acoplada por su posición 6").

45

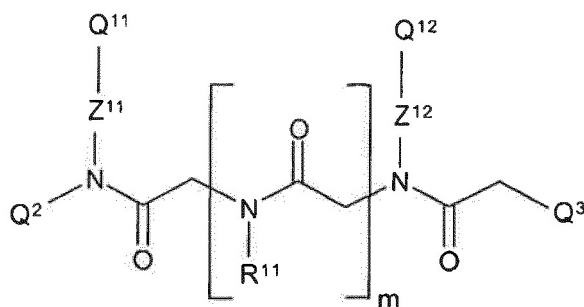
[0053] Como un ejemplo adicional, un Q¹ (o más de un Q¹) se puede seleccionar para que así se una a uno o más motivos de bucle interno de ARN que comprende una adenina enfrente de una guanina. Los ejemplos de dichos motivos de bucle interno de ARN incluyen bucles internos 1x1, 2x2, 3x3, etc., tales como 5'A/3'G; 5'G/3'A; 5'CA/3'CG; 5'CG/3'CA; 5'AG/3'GG; 5'GG/3'AG; 5'UA/3'UG; 5'UG/3'UA; 5'GA/3'AA; 5'AA/3'GA; 5'GGA/3'AUG; 5'AUG/3'GGA; 5'AAC/3'GGU; 5'GGU/3'AAC; 5'AGA/3'CUG; 5'CUG/3'AGA; 5'AAG/3'CUA; 5'CUA/3'AAG; 5'AAC/3'GCU; 5'GCU/3'AAC; 5'AAC/3'GUA; 5'GUA/3'AAC; etc., y dicho motivo de bucle interno de ARN puede ser localizado con un azúcar aminoglucósido, tal como una neamina (p. ej., una neamina acoplada por su posición 5).

50 Otros ejemplos de dichos motivos de bucle interno de ARN también incluyen bucles internos 1x1, 2x2, 3x3, etc., tales como 5'A/3'G; 5'G/3'A; 5'AA/3'GC; 5'GC/3'AA; 5'AA/3'CG; 5'CG/3'AA; 5'AA/3'GA; 5'AA/3'GA; 5'AU/3'GC; 5'GC/3'AU; 5'AA/3'GG; 5'GG/3'AA; 5'CAA/3'AUG; 5'AUG/3'CAA; 5'CAC/3'CGC; 5'CGC/3'CAC; 5'CUA/3'CCG; 5'CCG/3'CUA; 5'AGU/3'GGC; 5'GGC/3'AGU; 5'AAC/3'GGA; 5'GGA/3'AAC; 5'GUA/3'GAG; 5'GAG/3'GUA; 5'AGA/3'ACG; 5'ACG/3'AGA; 5'AGC/3'GCC; 5'GCC/3'AGC; etc., y dichos motivos de bucle interno de ARN pueden

55

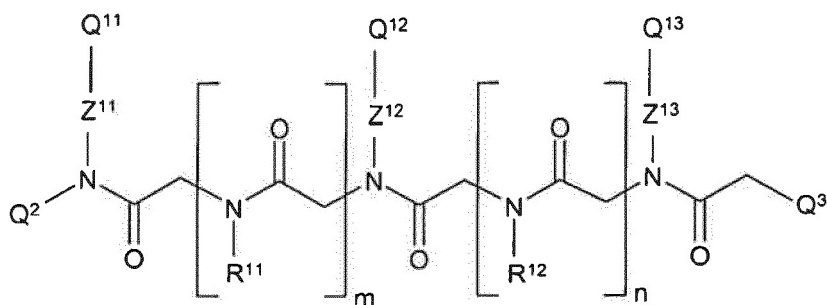
ser localizados con un azúcar aminoglucósido, tal como una neomicina (p. ej., una neomicina acoplada por el átomo de carbono del hidroximetilo del anillo de tetrahidrofurano de la neomicina).

[0054] Los compuestos de fórmula I que se dirigen a ARN descritos antes en los que j es 1 pueden tener la siguiente fórmula VII:



en la que m es cero o un número entero de 1 a 100 (p. ej., cero o un número entero de 1 a 50, cero o un número entero de 1 a 20, cero o un número entero de 1 a 10, un número entero de 2 a 100, un número entero de 2 a 50, un número entero de 2 a 20, un número entero de 2 a 10, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20); Z¹¹ y Z¹² representan iguales o diferentes restos conectores (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con Z¹); R¹¹ es un grupo alquilo o grupo arilo (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con R¹); y Q¹¹ y Q¹² representan iguales o diferentes ligandos de unión a ARN (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con Q¹).

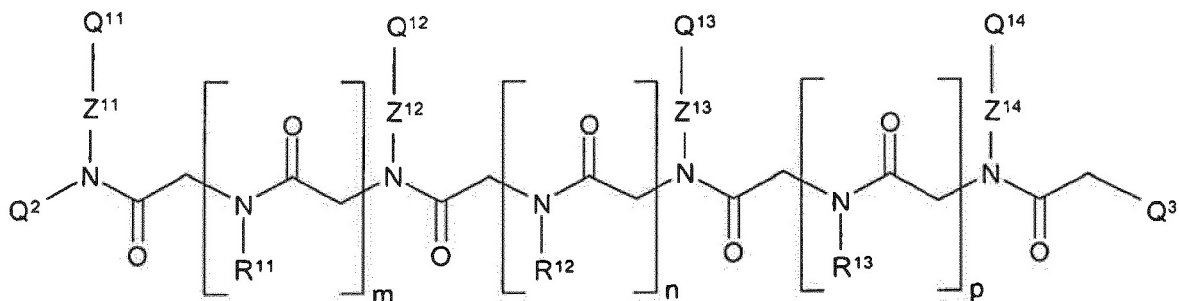
[0055] Los compuestos de fórmula I que se dirigen a ARN descritos antes en los que j es 2 pueden tener la siguiente fórmula VIII:



20

en la que m es cero o un número entero de 1 a 100; n es cero o un número entero de 1 a 100; Z¹¹, Z¹² y Z¹³ representan iguales o diferentes restos conectores (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con Z¹); R¹¹ y R¹² representan iguales o diferentes grupos alquilo o arilo (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con R¹); y Q¹¹, Q¹² y Q¹³ representan iguales o diferentes ligandos de unión a ARN (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con Q¹). De forma ilustrativa, m y n pueden ser iguales, o pueden ser diferentes; y los ejemplos de m y n adecuados incluyen cero o un número entero de 1 a 50, cero o un número entero de 1 a 20, cero o un número entero de 1 a 10, un número entero de 2 a 100, un número entero de 2 a 50, un número entero de 2 a 20, un número entero de 2 a 10, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20).

[0056] Los compuestos de fórmula I que se dirigen a ARN descritos antes en los que j es 3 pueden tener la siguiente fórmula IX:



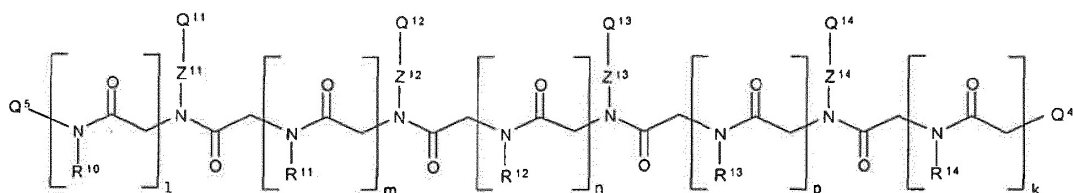
en la que m es cero o un número entero de 1 a 100; n es cero o un número entero de 1 a 100; p es cero o un número entero de 1 a 100; Z¹¹, Z¹², Z¹³ y Z¹⁴ representan iguales o diferentes restos conectores (ejemplos de los
 5 cuales incluyen los descritos antes en relación con Z¹); R¹¹, R¹² y R¹³, representan iguales o diferentes grupos alquilo o arilo (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con R¹); y Q¹¹, Q¹², Q¹³ y Q¹⁴ representan iguales o diferentes ligandos de unión a ARN (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con Q¹). De forma ilustrativa, m, n, y p pueden ser iguales, o pueden ser diferentes; y los ejemplos de m, n y p
 10 adecuados incluyen cero o un número entero de 1 a 50, cero o un número entero de 1 a 20, cero o un número entero de 1 a 10, un número entero de 2 a 100, un número entero de 2 a 50, un número entero de 2 a 20, un número entero de 2 a 10, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20).

[0057] En cada una de las fórmulas VII, VIII y IX, Q² y Q³ tienen los significados descritos antes en relación con la fórmula I. Se apreciará que las fórmulas VII, VIII y IX se pretende que sean ilustrativas de compuestos de
 15 fórmula I que se dirigen a ARN (específicamente compuestos de fórmula I que se dirigen a ARN en los que j es 1, 2, y 3, respectivamente). Los compuestos de fórmula I que se dirigen a ARN en los que j es mayor de 3 (p. ej., 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, etc.) que tienen estructuras que son análogas a las fórmulas VII, VIII y IX se pueden prever fácilmente y se pretende que estén abarcados por la fórmula I.

[0058] Los compuestos de fórmula I que se dirigen a ARN se pueden preparar por cualquier procedimiento adecuado, tal como los descritos más adelante y en los siguientes ejemplos.

[0059] De forma ilustrativa, los compuestos de la presente invención se pueden preparar usando un esquema de síntesis de peptoides, en el que la cadena principal del peptoides se construye por etapas por reacciones
 25 secuenciales con (1) ácido bromoacético y (2) alquilaminas funcionalizadas (es decir, alquilaminas en las que el grupo alquilo lleva un sustituyente al que se puede acoplar un ligando de unión a ARN) o alquilaminas no funcionalizadas (p. ej., alquilaminas en las que el grupo alquilo no está sustituido o está sustituido con un grupo que no está implicado en el acoplamiento del ligando de unión a ARN). La cadena principal de peptoides se puede construir sobre un sustrato adecuado (p. ej., una resina) y el peptoides resultante se puede escindir del sustrato
 30 después de completarse la reacción. El procedimiento por etapas permite la introducción de grupos alquilo funcionalizados en posiciones particulares en la cadena principal de peptoides y, por consiguiente, permite controlar la separación entre ligandos de unión a ARN (una vez que los ligandos de unión a ARN están acoplados con los grupos alquilo funcionalizados).

[0060] Se presenta un esquema sintético por etapas para la preparación de un compuesto de fórmula I en la figura 2. Más en particular, el esquema mostrado en la figura 2 está diseñado para producir compuestos de fórmula I que tienen la siguiente fórmula X:



en la que k, l, m, n, p, R¹¹, R¹², R¹³, Z¹¹, Z¹², Z¹³, Z¹⁴, Q¹¹, Q¹², Q¹³, Q¹⁴, Q⁴ y Q⁵ son como se han descrito antes, y en los que cada R¹⁰ y cada R¹⁴ se seleccionan independientemente de grupos alquilo o arilo.

[0061] Brevemente, una resina que lleva grupos amina primarios (tales como la resina de amida Fmoc-Rink desprotegida **1**) se hace reaccionar con ácido bromoacético **2** en un disolvente adecuado (p. ej., dimetilformamida ("DMF")) y en presencia de un agente de deshidratación, tal como una dialquilcarbodiimida (p. ej., diisopropilcarbodiimida ("DIPC")), durante un periodo de tiempo adecuado (p. ej., durante de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 1 hora, tal como durante aproximadamente 20 minutos) y a una temperatura adecuada (p. ej., de aproximadamente temperatura ambiente a aproximadamente 50 °C, tal como a aproximadamente 37 °C) para producir la bromoacetamida **3**. Después de lavado con un disolvente adecuado (p. ej., diclorometano ("DCM") u otro hidrocarburo clorado adecuado, DMF, o combinaciones de los mismos), la bromoacetamida **3** se hace reaccionar opcionalmente (en los casos donde 1 no es cero) con una amina no funcionalizada **4** en un disolvente adecuado (p. ej., DMF o tetrahidrofurano ("THF")) durante un periodo de tiempo adecuado (p. ej., durante de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 1 hora, tal como durante aproximadamente 20 minutos) y a una temperatura adecuada (p. ej., de aproximadamente temperatura ambiente a aproximadamente 50 °C, tal como a aproximadamente 37 °C) para producir la aminoacetamida **5**; y, después de lavar con, por ejemplo, DCM y DMF, la aminoacetamida **5** se hace reaccionar entonces con ácido bromoacético **2**, como se ha descrito antes, para producir la bromoacetamida **6** (l=1). En aquellos casos donde l>1, el procedimiento (reacción con la amina no funcionalizada **4** seguido de reacción con ácido bromoacético **2**) se repite 1-1 veces adicionales. En cada repetición, R¹⁰ en la amina no funcionalizada **4** puede variar si se desea.

[0062] Después, la bromoacetamida **6** (l≠0) (o, en los casos donde 1 es cero, la bromoacetamida **3**) se hace reaccionar con la amina funcionalizada **7** en un disolvente adecuado (p. ej., DMF o THF) durante un periodo de tiempo adecuado (p. ej., durante de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 1 hora, tal como durante aproximadamente 20 minutos) y a una temperatura adecuada (p. ej., de aproximadamente temperatura ambiente a aproximadamente 50 °C, tal como a aproximadamente 37 °C) para producir la aminoacetamida **8**. Después de lavar con, por ejemplo, DCM y DMF, la aminoacetamida **8** se hace reaccionar entonces con ácido bromoacético **2**, como se ha descrito antes, para producir la bromoacetamida **9**.

[0063] La bromoacetamida **9** se hace reaccionar opcionalmente (en aquellos casos donde m no es cero) con la amina no funcionalizada **10**, como se ha descrito antes, para producir la aminoacetamida **11**; y, después de lavar con, por ejemplo, DCM y DMF, la aminoacetamida **11** se hace reaccionar entonces con ácido bromoacético **2**, como se ha descrito antes, para producir la bromoacetamida **12** (m=1). En aquellos casos donde m>1, el procedimiento (reacción con la amina no funcionalizada **10** seguido de reacción con ácido bromoacético **2**) se repite m-1 veces adicionales. En cada repetición, R¹¹ en la amina no funcionalizada **10** se puede variar si se desea.

[0064] La bromoacetamida **12** (m≠0) (o, en aquellos casos donde m es cero, la bromoacetamida **9**) se hace reaccionar entonces con la amina funcionalizada **13** en un disolvente adecuado (p. ej., DMF o THF), como se ha descrito antes, para producir la aminoacetamida **14**. Después de lavar con, por ejemplo, DCM y DMF, la aminoacetamida **14** se hace reaccionar entonces con ácido bromoacético **2**, como se ha descrito antes, para producir la bromoacetamida **15**.

[0065] La bromoacetamida **15** se hace reaccionar opcionalmente (en aquellos casos donde n no es cero) con la amina no funcionalizada **16**, como se ha descrito antes, para producir la aminoacetamida **17**; y, después de lavar con, por ejemplo, DCM y DMF, la aminoacetamida **17** se hace reaccionar entonces con ácido bromoacético **2**, como se ha descrito antes, para producir la bromoacetamida **18** (n=1). En aquellos casos donde n>1, el procedimiento (reacción con la amina no funcionalizada **16** seguido de reacción con ácido bromoacético **2**) se repite n-1 veces adicionales. En cada repetición, R¹² en la amina no funcionalizada **16** se puede variar si se desea.

[0066] La bromoacetamida **18** (o, en aquellos casos donde n es cero, la bromoacetamida **15**) se hace reaccionar entonces con la amina funcionalizada **19**, como se ha descrito antes, para producir la aminoacetamida **20**. Después de lavar con, por ejemplo, DCM y DMF, la aminoacetamida **20** se hace reaccionar entonces con ácido bromoacético **2**, como se ha descrito antes, para producir la bromoacetamida **21**.

[0067] La bromoacetamida **21** se hace reaccionar opcionalmente (en aquellos casos donde p no es cero) con la amina no funcionalizada **22**, como se ha descrito antes, para producir la aminoacetamida **23**; y, después de lavar con, por ejemplo, DCM y DMF, la aminoacetamida **23** se hace reaccionar entonces con ácido bromoacético **2**, como se ha descrito antes, para producir la bromoacetamida **24** (p=1). En aquellos casos donde p>1, el procedimiento (reacción con la amina no funcionalizada **22** seguido de reacción con ácido bromoacético **2**) se repite p-1 veces

adicionales. En cada repetición, R¹³ en la amina no funcionalizada **22** se puede variar si se desea.

[0068] La bromoacetamida **24** (o, en aquellos casos donde p es cero, la bromoacetamida **21**) se hace reaccionar entonces con la amina funcionalizada **25**, como se ha descrito antes, para producir la aminoacetamida **26**. La aminoacetamida **26** se puede hacer reaccionar entonces con ácido bromoacético **2**, como se ha descrito antes, para producir la bromoacetamida **27**.

[0069] En aquellos casos donde k no es 0, la bromoacetamida **27** se puede hacer reaccionar entonces con la amina no funcionalizada **28**, como se ha descrito antes, para producir la aminoacetamida **29**. En aquellos casos donde k>1, el procedimiento (reacción con la amina no funcionalizada **28** seguido de reacción con ácido bromoacético **2**) se puede repetir k-1 veces más. En cada repetición, R¹⁴ en la amina no funcionalizada **28** se puede variar si se desea. La aminoacetamida **29** (k≠0) resultante se puede hacer reaccionar entonces con ácido bromoacético **2**, como se ha descrito antes, para producir la bromoacetamida **30** (Q⁴=Br en la fórmula X).

[0070] Como apreciará un experto en la materia, el procedimiento descrito antes se puede repetir cualquier número de veces para extender la cadena principal de peptoide e introducir grupos alquilo funcionalizados adicionales.

[0071] El bromo terminal (p. ej., el bromo en el lado derecho de la bromoacetamida **27** (en los casos donde k es cero) o el bromo en el lado derecho de la bromoacetamida **30** (en los casos donde k>0) proporciona un sitio conveniente para llevar a cabo reacciones químicas adicionales. De forma ilustrativa, la bromoacetamida **27** o la bromoacetamida **30** se puede alquilar o arilar para proporcionar compuestos en los que Q⁴ es un grupo alquilo o arilo. Alternativamente, la bromoacetamida **27** o la bromoacetamida **30** se puede hacer reaccionar con una amina funcionalizada (p. ej., HNR²⁵ en la que R²⁵ es un alquilo funcionalizado), por ejemplo, para producir un compuesto en el que Q⁴ tiene la fórmula -NHR²⁵ (p. ej., como forma de producir un compuesto de fórmula X en la que Q⁴ tiene la fórmula -NHZ¹⁵Q¹⁵ en la que Q¹⁵ es un ligando de unión a ARN (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con Q¹) y en la que Z¹⁵ es un resto conector (ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en relación con Z¹)). Todavía alternativamente, la bromoacetamida **27** o la bromoacetamida **30** se puede hacer reaccionar con una amina no funcionalizada, por ejemplo, para producir un compuesto en el que Q⁴ tiene la fórmula -NHR¹⁵ en la que R¹⁵ es un grupo alquilo o un grupo arilo (p. ej., un grupo alquilo no sustituido). En aquellos casos donde la bromoacetamida **27** o la bromoacetamida **30** se hacen reaccionar con una amina funcionalizada o no funcionalizada, el nitrógeno de la amina puede proporcionar un sitio conveniente para reacciones químicas adicionales. Por ejemplo, la reacción de la amina terminal con un ácido, tal como un ácido aminoalcanoico protegido con Fmoc (p. ej., un ácido 6-aminohexanoico protegido con Fmoc) proporciona un espaciador funcionalizado, con el que se puede acoplar un colorante (p. ej., un colorante fluorescente) u otro resto marcador.

[0072] En la figura 2 y en la descripción anterior, R²¹, R²², R²³, R²⁴ y R²⁵ representan grupos alquilo funcionalizados (es decir, grupos alquilo que llevan un sustituyente con el que se puede acoplar un ligando de unión a ARN, por ejemplo, por un conector amida, un conector éster, un conector éter o un conector anillo de triazol. Los grupos funcionales adecuados incluyen, por ejemplo, ácidos carboxílicos y ácidos carboxílicos protegidos, aminas y aminas protegidas, hidroxilos e hidroxilos protegidos, alquinos y azidas. Para producir compuestos de fórmula X, los grupos funcionales en R²¹, R²², R²³, R²⁴ y R²⁵ se acoplan con los ligandos de unión a ARN deseados para producir los restos -Z¹¹-Q¹¹, -Z¹²-Q¹², -Z¹³-Q¹³, -Z¹⁴-Q¹⁴ y -Z¹⁵-Q¹⁵, respectivamente.

[0073] Esto se puede hacer con la cadena principal de peptoide que se está construyendo, por ejemplo, como en el caso donde R²¹ de la aminoacetamida **8** se acopla con el ligando de unión a ARN deseado (para producir el resto -Z¹¹-Q¹¹) antes de hacer reaccionar la aminoacetamida **8** con ácido bromoacético **2** para producir la bromoacetamida **9**; y como en el caso donde R²¹ de la aminoacetamida **8** se acopla con el ligando de unión a ARN deseado (para producir el resto -Z¹¹-Q¹¹) después de hacer reaccionar la aminoacetamida **8** con ácido bromoacético **2** para producir la bromoacetamida **9** pero antes de hacer reaccionar opcionalmente la bromoacetamida **9** con la amina no funcionalizada **10** para producir la aminoacetamida **11** y/o antes de hacer reaccionar la bromoacetamida **12** con la amina funcionalizada **13** para producir la aminoacetamida **14**. Este acoplamiento por etapas es particularmente útil en aquellos casos donde se van a acoplar diferentes ligandos de unión a ARN en diferentes sitios a lo largo de la cadena principal de peptoide.

[0074] En los casos donde algunos de los ligandos de unión a ARN son iguales y adyacentes entre sí (p. ej., como en el caso donde Q¹¹ y Q¹² son iguales pero diferentes de Q¹³), R²¹ y R²² de la aminoacetamida **14** se pueden acoplar con el ligando de unión a ARN deseado (para producir los restos -Z¹¹-Q¹¹ y -Z¹²-Q¹²) en una sola etapa antes de hacer reaccionar la bromoacetamida **18** con la amina funcionalizada **19** para producir la aminoacetamida **20**.

[0075] En los casos donde todos los ligandos de unión a ARN son iguales, R²¹, R²², R²³ y R²⁴ de la aminoacetamida **29** o la bromoacetamida **30** o sus productos de reacción posteriores (y cualesquiera grupos alquilo funcionalizados que puedan estar presentes, tales como R²⁵) se pueden acoplar con el ligando de unión a ARN deseado en una sola etapa. Este acoplamiento en una sola etapa puede tener lugar antes o después de que los peptoides se escindan de la resina u otro sustrato (descrito más adelante).

[0076] Después de preparar la cadena principal de peptoides y después de acoplar los ligandos de unión a ARN (si dicho acoplamiento se va a llevar a cabo antes de la escisión de la resina u otro sustrato) y/o después de llevar a cabo cualquier otra reacción química deseada (p. ej., cualesquiera reacciones que impliquen el bromo terminal y/o la amina terminal) (si dichas reacciones químicas se van a llevar a cabo antes de la escisión de la resina u otro sustrato), los peptoides se escinden de la resina u otro sustrato. Los procedimientos para la escisión de los peptoides del sustrato dependerán de la naturaleza de los sustratos. Cuando se usa la resina de amida Fmoc-Rink (como en la figura 2 y en la descripción anterior), la escisión se puede llevar a cabo usando ácido trifluoroacético: agua 95:5.

[0077] La presente invención como se caracteriza en las reivindicaciones se refiere a un compuesto que se dirige a ARN que incluye una cadena principal de polímero y dos o más ligandos de unión a ARN colgantes, en donde los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes están unidos a la cadena principal de polímero.

[0078] De forma ilustrativa, el compuesto que se dirige a ARN puede incluir 2 ligandos de unión a ARN colgantes, 3 o más ligandos de unión a ARN colgantes, 4 o más ligandos de unión a ARN colgantes, 5 o más ligandos de unión a ARN colgantes, de 2 a 100 ligandos de unión a ARN colgantes, de 2 a 50 ligandos de unión a ARN colgantes, de 2 a 20 ligandos de unión a ARN colgantes, y/o 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 o 20 ligandos de unión a ARN colgantes.

[0079] Los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes se pueden unir a motivos estructurales de ARN, tales como en el caso donde cada uno de los motivos estructurales de ARN se selecciona independientemente de un motivo de bucle interno de ARN, un motivo de bucle de horquilla de ARN, un motivo de protuberancia de ARN, un motivo de bucle multi-ramificado de ARN, y/o un bucle de pseudonudo de ARN. En el compuesto que se dirige a ARN de la presente invención, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes se pueden unir a motivos de repetición del ARN, tales como motivos de repetición tripletes de ARN (p. ej., motivos de repetición tripletes CUG de ARN, motivos de repetición tripletes CUG de ARN, motivos de repetición tripletes CGG de ARN, motivos de repetición tripletes GCC de ARN, motivos de repetición tripletes GAA de ARN, y/o motivos de repetición tripletes CAG de ARN) o motivos de tetra repetición de ARN (p. ej., motivos de tetra repetición CCUG de ARN).

[0080] En algunas realizaciones, cada uno de los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son iguales. En algunas realizaciones, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes no son iguales (p. ej., al menos uno es diferente de los otros, al menos dos son diferentes de los otros; etc.).

[0081] Los ejemplos de ligandos de unión a ARN colgantes adecuados incluyen los descritos antes (p. ej., con respecto a Q¹). En el compuesto que se dirige a ARN de la presente invención, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan de azúcares aminoglucósidos y bisbencimidazoles. En algunas realizaciones, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son azúcares aminoglucósidos, tales como kanamicinas (p. ej., kanamicina A, kanamicina B), tobramicinas, neaminas, neomicinas, y similares. En algunas realizaciones, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son kanamicina A. En algunas realizaciones, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son neaminas. En algunas realizaciones, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son tobramicinas. En algunas realizaciones, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son neomicinas. En algunas realizaciones, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son bisbencimidazoles, tales como en el caso donde los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son pibenzimoles, ejemplos de los cuales incluyen Hoechst 33258.

[0082] Como se usa en este contexto, "cadena principal de polímero" se entiende que se refiere a una colección sustancialmente lineal que se repite de 3 o más (p. ej., 4 o más, 5 o más, etc.) átomos que están unidos covalentemente entre sí. La cadena principal de polímero es un peptoides donde la cadena principal de polímero tiene una estructura -C(O)-N-alquileo que se repite (p. ej., una estructura -C(O)-N-CH₂- que se repite, tal como donde la cadena principal de polímero se puede representar por la fórmula: [-C(O)-N-CH₂]_z- donde z es un número entero mayor que o igual a 2, tal como de 2 a 1000, de 3 a 1000, de 4 a 1000, de 5 a 1000, de 2 a 200, de 3 a 200, de 4 a 200, de 5 a 200, de 2 a 100, de 3 a 100, de 4 a 100, de 5 a 100, y/o 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 30, 40, 50, y

similares.

[0083] Como se ha indicado antes, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes están unidos (p. ej., de forma covalente) a la cadena principal de polímero, por ejemplo, por un resto conector, ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes en el contexto de la fórmula I. De forma ilustrativa, en el caso donde la cadena principal de polímero es una cadena principal de polímero peptoide, los dos o más ligandos de unión a ARN colgantes pueden estar unidos (p. ej., por un conector opcional) a algunos o a todos los átomos de nitrógeno de la cadena principal de polímero peptoide. Estos átomos de nitrógeno en la cadena principal de polímero peptoide que no están unidos a ligandos de unión a ARN colgantes pueden estar sustituidos con sustituyentes iguales o diferentes, tales como grupos alquilo o arilo (algunos o todos los cuales de grupos alquilo o arilo pueden estar sustituidos o no).

[0084] Los procedimientos para hacer los presentes compuestos que se dirigen a ARN que usan una cadena principal de polímero peptoide incluyen los descritos en lo que antecede en relación con la preparación de compuestos que se dirige a ARN de fórmula I.

[0085] Los compuestos de la presente invención se pueden usar en una variedad de formas.

[0086] De forma ilustrativa, los compuestos se pueden usar, por ejemplo, en un ensayo de unión competitivo, para determinar la capacidad de otros compuestos para unirse a ARN particular o motivos de ARN particulares.

[0087] A modo de ilustración adicional, los compuestos de la presente invención que incluyen un colorante (p. ej., un colorante fluorescente), una etiqueta, un marcador u otra sonda, se pueden usar para detectar la presencia de un ARN particular o motivos de ARN particulares en una muestra. Dichos ensayos se pueden llevar a cabo in vivo, ex vivo o in vitro. De forma ilustrativa, los compuestos de la presente invención que incluyen un colorante (p. ej., un colorante fluorescente) u otra sonda, se pueden usar para detectar la presencia, cuantificar la cantidad y/o determinar la localización del ARN particular o motivos de ARN particulares que pueden estar presentes en una muestra, tal como una muestra biológica, una muestra de tejido, una muestra de sangre, una muestra de orina, una muestra de célula o en un organismo.

[0088] A modo de ilustración también, los compuestos de la presente invención se pueden usar para tratar enfermedades o afecciones mediadas por ARN, tales como enfermedades o afecciones que son causadas por repeticiones tripletes, por ejemplo, repeticiones tripletes en regiones no codificantes (ejemplos de las cuales incluyen la distrofia miotónica (repetición CUG), ataxia espinocerebelosa tipo 8 (repetición CUG), síndrome de X frágil (repetición CGG), síndrome de XE frágil (repetición GCC), ataxia de Friedreich (repetición GAA), y ataxia espinocerebelosa tipo 12 (repetición CAG)) y repeticiones triplete en regiones codificantes (los ejemplos de las cuales incluyen la ataxia espinocerebelosa tipo 1 (repetición CAG), ataxia espinocerebelosa tipo 2 (repetición CAG), ataxia espinocerebelosa tipo 3 (repetición CAG), atrofia muscular espinobulbar (enfermedad de Kennedy) (repetición CAG), enfermedad de Huntington (repetición CAG), atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana (repetición CAG), ataxia espinocerebelosa tipo 6 (repetición CAG), y ataxia espinocerebelosa tipo 7 (repetición CAG)); o que son causadas por tetra repeticiones de ARN, tales como la distrofia miotónica tipo 2 (repeticiones CCUG).

[0089] Por ejemplo, la presente invención se refiere al uso del compuesto dirigido de la presente invención en un procedimiento para tratar una enfermedad causada por repeticiones triplete o tetra repeticiones de ARN en un sujeto, en el que al menos algunos de los ligandos de unión a ARN (p. ej., cada uno de los ligandos de unión a ARN) se une a un motivo de repetición triplete o tetra repetición de ARN. En algunas realizaciones, la enfermedad es la distrofia miotónica, y algunos o todos los ligandos de unión a ARN se unen a un motivo de repetición triplete CUG de ARN. En algunas realizaciones, la enfermedad es la distrofia miotónica, y los ligandos de unión a ARN son iguales o diferentes y se seleccionan de azúcares aminoglucósidos y bisbencimidazoles. En algunas realizaciones, la enfermedad es la ataxia espinocerebelosa tipo 8, y algunos o todos los ligandos de unión a ARN se unen a un motivo de repetición triplete CUG de ARN. En algunas realizaciones, la enfermedad es la ataxia espinocerebelosa tipo 8, y los ligandos de unión a ARN son iguales o diferentes y se seleccionan de azúcares aminoglucósidos y bisbencimidazoles. En algunas realizaciones, la enfermedad es el síndrome de X frágil, y algunos o todos los ligandos de unión a ARN se unen a un motivo de repetición triplete CGG de ARN. En algunas realizaciones, la enfermedad es el síndrome de XE frágil, y algunos o todos los ligandos de unión a ARN se unen a un motivo de repetición triplete GCC de ARN. En algunas realizaciones, la enfermedad es la ataxia de Friedreich, y algunos o todos los ligandos de unión a ARN se unen a un motivo de repetición triplete GAA de ARN. En algunas realizaciones, la enfermedad se selecciona de ataxia espinocerebelosa tipo 1, tipo 2, tipo 3, tipo 6, tipo 7 o tipo 12, atrofia muscular espinobulbar, enfermedad de Huntington, y atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana; y algunos o todos los ligandos de unión a ARN se unen a un motivo de repetición triplete CAG de ARN. En algunas realizaciones, la

enfermedad es la distrofia miotónica tipo 2, y algunos o todos los ligandos de unión a ARN se unen a un motivo de tetra repeticiones CCUG de ARN.

[0090] El compuesto que se dirige a ARN mencionado antes de la presente invención se puede administrar a un sujeto por cualquier vía convencional. Las composiciones de la presente memoria se pueden hacer de cualquier forma adecuada apropiada para el uso deseado. Los ejemplos de formas farmacéuticas adecuadas incluyen formas farmacéuticas orales, parenterales o tópicas.

[0091] De forma ilustrativa, las formas farmacéuticas orales incluyen comprimidos, polvos dispersables, gránulos, cápsulas, suspensiones, jarabes y elixires. Los diluyentes y vehículos inertes para comprimidos incluyen, por ejemplo, carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa y talco. Los comprimidos también pueden contener agentes de granulación y disgregación, tales como ácido alginico; agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina y goma arábica; y agentes lubricantes, tales como estearato magnésico, ácido esteárico y talco. Los comprimidos pueden no estar recubiertos o estar recubiertos por técnicas conocidas para retrasar la disgregación y absorción. Los diluyentes y vehículos inertes que se pueden usar en cápsulas incluyen, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio y caolín. Las suspensiones, jarabes y elixires pueden contener excipientes convencionales, por ejemplo, metilcelulosa, tragacanto, alginato sódico; agentes humectantes, tales como lecitina y estearato polioxitileno; y conservantes, tales como p-hidroxibenzoato de etilo.

[0092] Las formas farmacéuticas adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones, suspensiones, dispersiones, emulsiones y similares. También se pueden fabricar en forma de composiciones sólidas que se pueden disolver o suspender en medio estéril inyectable inmediatamente antes de usar. Pueden contener agentes de suspensión o dispersantes conocidos en la materia. Los ejemplos de administración parenteral son la administración intraventricular, intracerebral, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, rectal y subcutánea.

[0093] Además de los anteriores, en general componentes no activos de las formulaciones descritas antes, estas formulaciones pueden incluir otros materiales activos, por ejemplo, agentes activos que se han identificado como útiles en el tratamiento de enfermedades o afecciones autoinmunitarias o en el alivio de síntomas asociados con las mismas. Estos agentes activos pueden ser agentes activos de base amplia, tales como los que son útiles en el tratamiento de una variedad de enfermedades o afecciones autoinmunitarias o en el alivio de síntomas asociados con una variedad de enfermedades o afecciones autoinmunitarias; o pueden ser más específicos, como en el caso donde el otro agente activo es específico para el tratamiento de la enfermedad o afección autoinmunitaria particular que padece el sujeto, o en el alivio de los síntomas asociados con la enfermedad o afección autoinmunitaria particular. Como ilustración adicional de los agentes activos que se pueden incluir adicionalmente en las formulaciones descritas antes (es decir, además de los compuestos que se dirigen a ARN y además de los componentes no activos), se pueden mencionar compuestos activos que se usan de forma convencional para tratar o aliviar de otra forma los síntomas de la distrofia miotónica y/o complicaciones relacionadas.

[0094] Se apreciará que la cantidad de compuesto que se dirige a ARN preferida real para administrar de acuerdo con la presente invención variará de acuerdo con el compuesto que se dirige a ARN particular que se está usando, la composición particular formulada y el modo de administración. Los expertos en la materia pueden tener en cuenta muchos factores que pueden modificar la acción del compuesto que se dirige a ARN (p. ej., peso corporal, sexo, dieta, tiempo de administración, vía de administración, tasa de excreción, afección del sujeto, combinaciones de fármacos y reacciones de sensibilidad y gravedad). La administración se puede llevar a cabo de forma continua o periódica dentro de la dosis máxima tolerada. Las tasas de administración óptimas para un conjunto de condiciones dado las puede determinar el experto en la materia usando ensayos de administración de dosis convencionales.

[0095] A modo de ilustración adicional también, los compuestos que se dirigen a ARN de la presente invención se pueden usar para interferir en la interacción de la proteína muscleblind con moléculas de ARN que comprenden repeticiones CUG. El procedimiento incluye poner en contacto las moléculas de ARN con un compuesto que se dirige a ARN de la presente invención, en el que algunos o todos los ligandos de unión a ARN se unen a un motivo de repetición triplete CUG de ARN. De forma ilustrativa, los ligandos de unión a ARN pueden ser iguales o diferentes y se pueden seleccionar de azúcares aminoglucósidos y bisbencimidazoles, ejemplos de los cuales incluyen los descritos antes. El contacto se puede llevar a cabo in vivo, ex vivo o in vitro. En los casos donde el contacto se lleva a cabo in vivo, por ejemplo, en un sujeto que padece distrofia miotónica y/u otras enfermedades o afecciones que implican la interacción de la proteína muscleblind con moléculas de ARN que comprenden repeticiones CUG, el compuesto que se dirige a ARN se puede administrar por cualquiera de las rutas y en cualquiera de las composiciones descritas antes.

[0096] La presente invención se ilustrará más mediante los siguientes ejemplos no limitantes.

EJEMPLOS

5 Ejemplo 1 - Preparación de compuestos que se dirigen a ARN multivalentes que presentan ligandos de unión a ARN kanamicina A

[0097] Este ejemplo 1 y los siguientes ejemplos 2-4 describen procedimientos para preparar oligómeros multivalentes que se dirigen a ARN. Estos oligómeros están decorados con múltiples copias de un solo ligando o de varios ligandos diferentes que se unen a un motivo de ARN. Los ligandos se presentan de forma multivalente en polímeros peptoides [31] que están funcionalizados con azidas adecuadas para la conjugación con ligandos que presentan un alquino por una reacción de cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen [32-34]. También se describen el diseño y la síntesis de peptoides en los que varía la separación entre los ligandos por acoplamiento de metilamina en una cadena de peptoide en crecimiento.

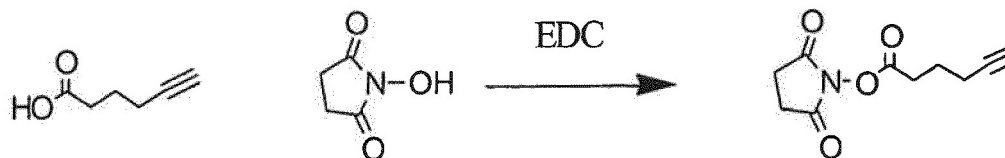
15

[0098] Para ilustrar la presente invención, estos ejemplos describen la síntesis de peptoides que presentan 6'-N-5-hexinoato-kanamicina A con diferente separación. Los autores de la invención han identificado este derivado de kanamicina como un compuesto candidato para la unión al motivo 5'CUG/3'GUC que está presente en múltiples copias en un ARN que produce una forma de distrofia muscular llamada distrofia miotónica ("DM") [35-41]. La presencia de una repetición 5'CUG/3'GUC expandida (CUG_n) se une a una proteína muscleblind, previniendo la función muscular normal y causando la DM. La alteración de muscleblind-CUG_n mediante la kanamicina A presentada de forma multivalente podría ser el primer tratamiento de la causa de la DM.

20 Ejemplos 2 - Preparación de ligandos de unión a ARN

25

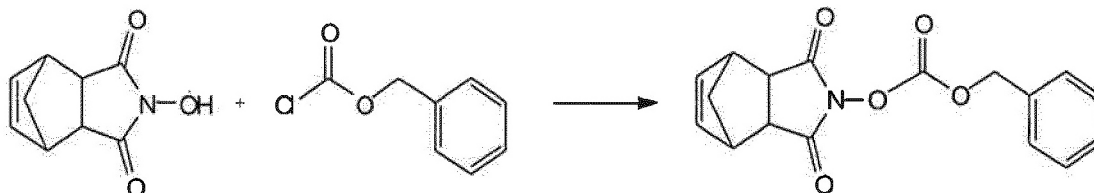
[0099] El 5-hexinoato de N-succinimidilo se preparó usando el procedimiento descrito a continuación:



30 se disolvió ácido 5-hexinoico (1 g, 8,3 mmol) en 4 ml de una mezcla de cloroformo y DMF (9:1) y se agitó. A esta solución se añadió N-hidroxil-succinimida (0,95 g, 8,3 mmol) y N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida ("EDC") (1,58 g, 8,3 mmol), y la reacción se agitó durante la noche. Después la reacción se diluyó a 100 ml con cloruro de metileno y se extrajo con HCl 0,1 N (3x50 ml) y NaHCO₃ al 5 % (3x50 ml), se secó sobre MgSO₄, y se concentró. La mezcla de reacción bruta se usó para todos los experimentos posteriores (1,1 g, rendimiento de 60 %). El análisis por TLC (EtOAc:CH₂Cl₂ 3:7) mostró un solo producto (R_f 0,70).

35

[0100] La N-benciloxicarboniloxi-5-noreborneno-endo-2,3-dicarboximida se preparó usando el procedimiento descrito a continuación:

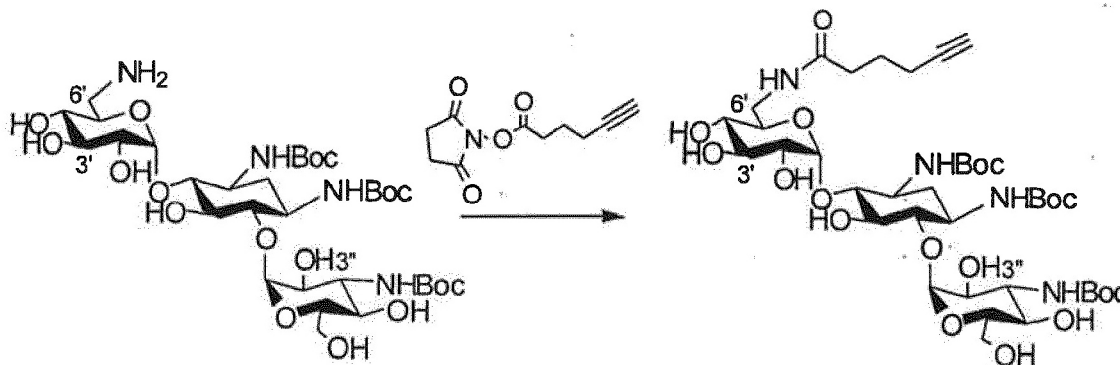


40

Se ha descrito una síntesis de este compuesto usando fosgeno [42]. Para eliminar el uso de fosgeno, se desarrolló una síntesis nueva y más segura. Este compuesto se usó en la síntesis de la 1,3,3"-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-kanamicina A y 1,3,3"-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-neamina, como se ha descrito [43]. La endo-N-hidroxi-5-norborneno-

2,3-dicarboximida (10 g, 56 mmol) se disolvió en 100 ml de CH_2Cl_2 y 5 ml de piridina y se agitó en un baño de hielo. Se añadió cloroformato de bencilo, y la solución se agitó durante una noche y se calentó a temperatura ambiente. A la mañana siguiente, la solución se calentó a 48 °C durante 3 h. El disolvente se eliminó mediante rotavapor y el sólido se recrystalizó en MeOH acuoso al 90 % para dar agujas transparentes (10,1 g, 31 mmol, 57 % de rendimiento). El espectro de RMN ^1H era idéntico al descrito en [42].

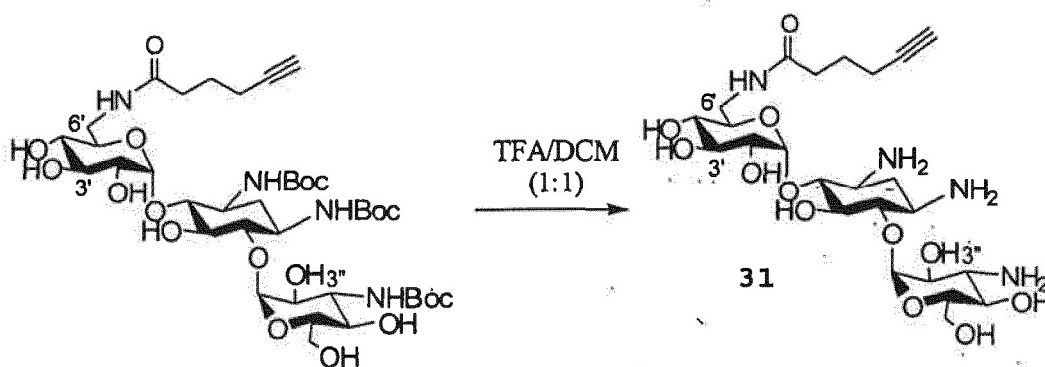
[0101] La 1,3,3"-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-6'-N-5-hexinoato-kanamicina A se preparó usando el procedimiento descrito a continuación:



10

A una solución de 1,3,3"-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-kanamicina A [43] (200 mg, 255 μmol) en 6,0 ml de DMSO se añadió 5-hexinoato de N-succinimidilo (140 mg, 714 μmol , 2,8 eq), y la reacción se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó en un SpeedVac y se purificó por cromatografía en gel de sílice (CHCl_3 : MeOH: NH_4OH , 4:1:0,1) para dar el producto deseado (155 mg, 166 μmol , 65 %, $R_f = 0,2$).

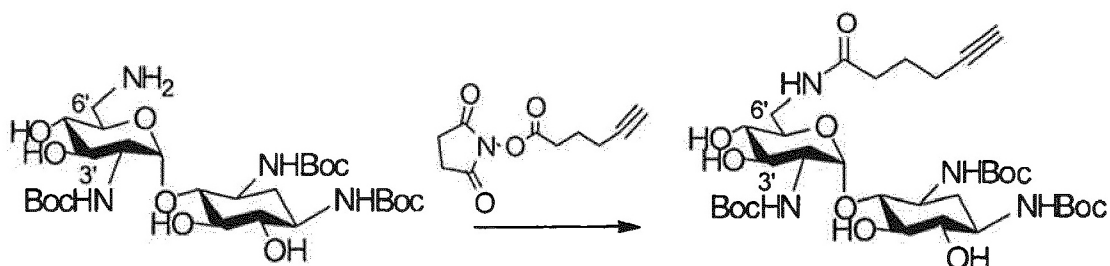
[0102] La sal del ácido trifluoroacético de la 6'-N-5-hexinoato-kanamicina A (31) se preparó usando el procedimiento descrito a continuación:



20

la 1,3,3"-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-6'-N-5-hexinoato-kanamicina A (95 mg, 105 μmol) se disolvió en 10 ml de una mezcla de CH_2Cl_2 y ácido trifluoroacético ("TFA") (1:1) y se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. La reacción se diluyó con 10 ml de tolueno y se concentró. Después se añadió una porción adicional de tolueno, y la reacción se concentró de nuevo. Se obtuvo un aceite amarillo que se disolvió en 10 ml de agua nanopura y se liofilizó. Se aisló un sólido marrón, y el sólido se puso en tubos Eppendorf en los que se añadieron 4 ml de éter dietílico. Los tubos se voltearon durante 2 h. Los tubos se centrifugaron para sedimentar el sólido y se decantó el éter. El disolvente residual se separó por concentración a vacío, y se obtuvo un sólido blanco (45 mg, 80 μmol , 76 %).

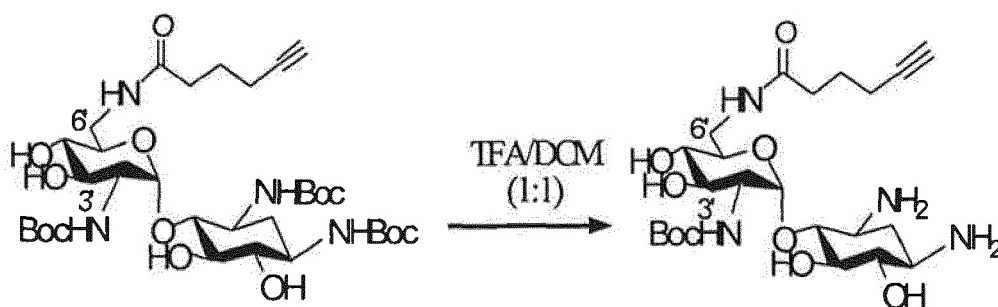
[0103] La 1,3,2'-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-6'-N-5-hexinoatoneamina se preparó usando el procedimiento descrito a continuación:



A una solución de 1,3,3'-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-neamina [43] (480 mg, 770 μmol) en 25,0 ml de MeOH con 200 μl de trietilamina se añadió 5-hexinoato de N-succinimidilo (150 mg, 730 μmol), y la reacción se agitó durante la noche. La reacción se evaporó a vacío y se purificó por cromatografía en columna (CHCl_3 : MeOH: NH_4OH , 4:1:0,1) para dar el producto deseado (408 mg, 560 μmol , 74 %, $R_f = 0,2$).

[0104] La sal de ácido trifluoroacético de la 6'-N-5-hexinoatoneamina se preparó usando el procedimiento descrito a continuación:

10



Se añadió 1,3,2'-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-6'-N-5-hexinoatoneamina (320 mg, 447 μmol) a 10 ml de TFA:DCM 1:1, y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió una parte alícuota de 10 ml de tolueno a la solución, y se concentró a vacío. Se añadieron 10 ml adicionales de tolueno y se evaporaron. La muestra después se disolvió en 4 ml de agua y se evaporó en un concentrador a vacío para obtener un sólido marrón. A los sólidos se añadieron 10 ml de éter dietílico, y la solución se agitó durante una hora. Los sólidos se filtraron, y el éter que quedaba se separó por concentración a vacío para dar un sólido blanco (180 mg, 432 μmol , 97 %).

Ejemplo 3 - Síntesis de oligómeros peptoides que presentan azidas para la presentación multivalente de ligandos que se dirigen a ARN

[0105] La figura 3A muestra un esquema de la síntesis de oligómeros peptoides multivalentes para presentar múltiples copias de 6'-N-5-hexinoato-kanamicina A. El uso de metilamina como reaccionante en la síntesis permitía la variación en la separación del ligando que se dirige al ARN de la 6'-N-5-hexinoato-kanamicina A a lo largo de la cadena principal peptoide, como puede verse en los peptoides que presentan azidas **32**, **33** y **34** (figura 3A). Los peptoides que presentan azidas después se conjugan con la 6'-N-5-hexinoato-kanamicina A usando condiciones de catalizador de Cu(I) para producir el compuesto que se dirige a ARN **35**, como se muestra en la figura 3B. En la figura 3B, el grupo identificado con "AG" tiene la estructura **36**.

30

[0106] Se expone a continuación una descripción del procedimiento de síntesis del peptoide (ilustrado en la figura 3A).

[0107] Se preparó una porción de 100 mg de la resina de amida Fmoc-Rink (0,67 mmol/g de carga) para la primera etapa de acoplamiento en un matraz de reacción de fase sólida de 10 ml (Chem Glass) por hinchamiento durante 20 min en DMF seguido de lavado con metanol y después diclorometano. Se añadieron 2 ml de solución de piperidina al 20 % en DMF a la resina, y la resina se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. El disolvente se separó y se repitió la etapa. Después la solución se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Se separó el

35

disolvente y se repitió la etapa. Después la solución se lavó con DMF y DCM (2 x 4 ml cada uno) y después con DMF anhidra (3 x 4 ml).

[0108] El primer acoplamiento de ácido bromoacético se llevó a cabo por adición de 2 ml de ácido bromoacético 1 M en DMF a la resina junto con 400 ml de diisopropilcarbodiimida ("DIPC"). Después la solución se puso en un horno de microondas convencional y se calentó 3 x 10 s en el ajuste de descongelación. El matraz se retiró y se agitó manualmente para mezclar la resina entre cada incubación de microondas. Después el matraz se agitó a 37 °C durante 20 min. Los reactivos se drenaron y se repitieron las etapas de acoplamiento. Después del segundo acoplamiento, la resina se lavó con DMF y DCM (2 x 4 ml cada uno) y finalmente con DMF anhidra (3 x 4 ml).

[0109] Después la resina se acopló con 3-azidopropilamina (200 µl, 3 mmol) en 2 ml de DMF y el matraz de reacción se calentó en un microondas, se incubó a 37 °C y se lavó como se ha descrito antes. Para el peptido **32**, todos los acoplamientos posteriores usaron 3-azidopropilamina. Para los peptoides **33** y **34**, se usó metilamina en diferentes etapas para variar la separación de la azida en la cadena de peptido. La metilamina se acopló por incubación de la resina con 2 ml de una solución de metilamina 2 M en tetrahidrofurano ("THF"), como se ha descrito para el acoplamiento del ácido bromoacético; y cada acoplamiento con metilamina se repitió 3 veces. Cada una de estas etapas se alternó hasta que se obtuvo un peptido de la composición deseada (**33** y **34**).

[0110] Después de todas las etapas de acoplamiento, la resina se lavó con metanol y DCM (4 x 3 ml cada uno), y los peptoides se escindieron de la resina por adición de 2 ml de un cóctel de desprotección compuesto de ácido trifluoroacético ("TFA"):H₂O 95:5. El matraz de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente que contenía el peptido bruto se separó de la resina, y la resina se desprotegió de nuevo con 3 x 2 ml de cóctel de desprotección. Las soluciones que contenía peptido bruto se combinaron y se secaron en un concentrador SpeedVac. Se obtuvo un aceite viscoso amarillo/marrón. Los peptoides se purificaron después usando un HPLC Waters equipado con una columna C8 de 3 µm 19x150 mm a 10 ml/min y detección UV a 218 nm. Se aplicó al sistema un gradiente de 95 % de agua/5 % de acetonitrilo (MeCN) con 0,1 % de TFA a 30 % de agua/70 % de acetonitrilo con 0,1 % de TFA a lo largo de 30 min. Los tiempos de retención para los peptoides eran: 14,5 min para **32**; 16,0 min para **33**, y 24 min para **34**. Las muestras después se sometieron a análisis por espectrometría de masas ("MS") para confirmar la identidad de los productos. ESI-MS: **32**, observado 438 (M + H⁺); **33**, observado 602 (M + Na⁺); **34**, observado 722 (M + H⁺).

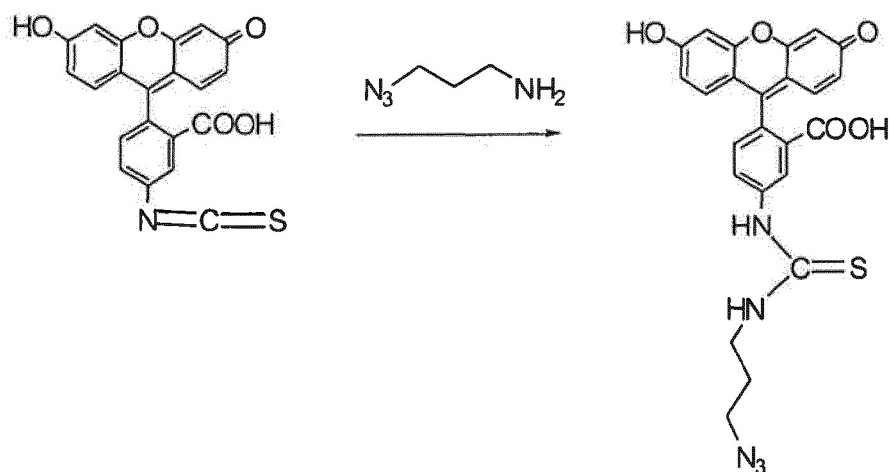
[0111] A continuación, se expone una descripción del procedimiento usado para el acoplamiento de peptoides a **31** por procedimientos de química clic (ilustrado en la figura 3B).

[0112] Los peptoides **32-34** se hicieron reaccionar con **31** usando 2 equivalentes de **31** con respecto a la carga de la azida en los peptoides. Las reacciones típicas se completaron con 5,7 µmol de peptido puro y 34,2 µmol de **31**. Estas reacciones se completaron en dimetilsulfóxido ("DMSO"):H₂O 4:1 con ácido ascórbico 2 mM, TBTA 200 µM [32] (un ligando de Cu⁺ que acelera las reacciones de cicloadición 1,3-dipolares de Huisgen 1,3), y CuSO₄ 1 mM. Después de añadir todos los reaccionantes, el recipiente de reacción (un tubo Eppendorf de 2 ml) se trató con ultrasonidos para disolver todos los reaccionantes. Después el tubo se volteó a temperatura ambiente durante la noche. Después las reacciones brutas se purificaron por HPLC usando las mismas condiciones descritas para la purificación de peptido anteriormente. Los compuestos tenían un tiempo de retención típico de 18 min para cada compuesto. Se usó MALDI MS para confirmar la identidad de los productos. El producto del procedimiento clic de **32** + **31**: observado 2172 (M + H⁺); producto del procedimiento clic (**35**) de **33** + **31**: observado 2337 (M + Na⁺); producto del procedimiento clic de **34** + **31**: observado 2457 (M + H⁺).

Ejemplo 4 - Unión de **31** a un oligonucleótido que presenta una sola copia del motivo 5'CUG/3'CUG que, cuando está presente en múltiples copias del gen DMPK, causa distrofia miotónica

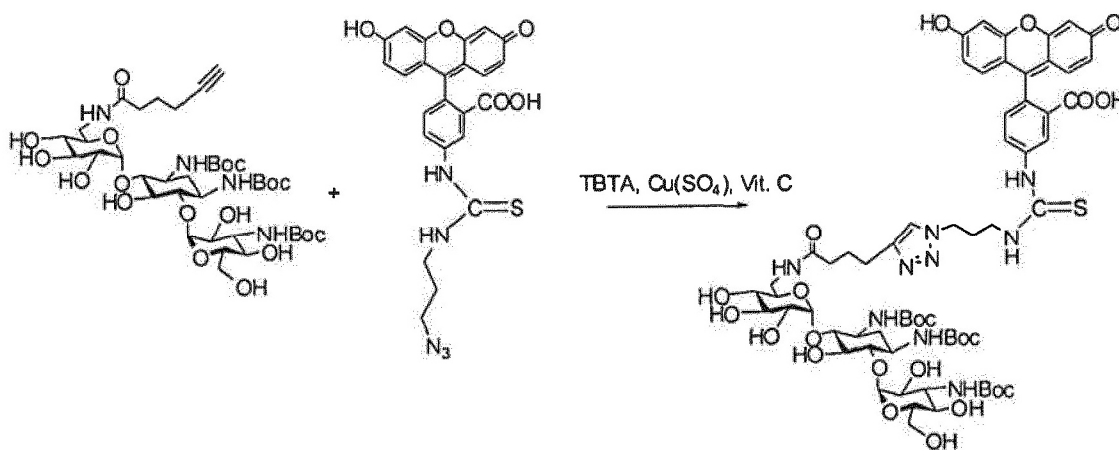
[0113] Se usó un ensayo basado en fluorescencia para estudiar la unión de **31** a varios ARN y ADN. Con el fin de completar estos estudios, los autores de la invención conjugaron un marcador de fluoresceína en **31** haciendo reaccionar el isotiocianato de fluoresceína con la 3-azidopropilamina. La fluoresceína marcada con azida se conjugó con **31**.

[0114] La síntesis del ácido 5-(3-(3-azidopropil)tioureido)-2-(3-hidroxi-6-oxo-6H-xanten-9-il)benzoico se llevó a cabo usando el siguiente procedimiento:



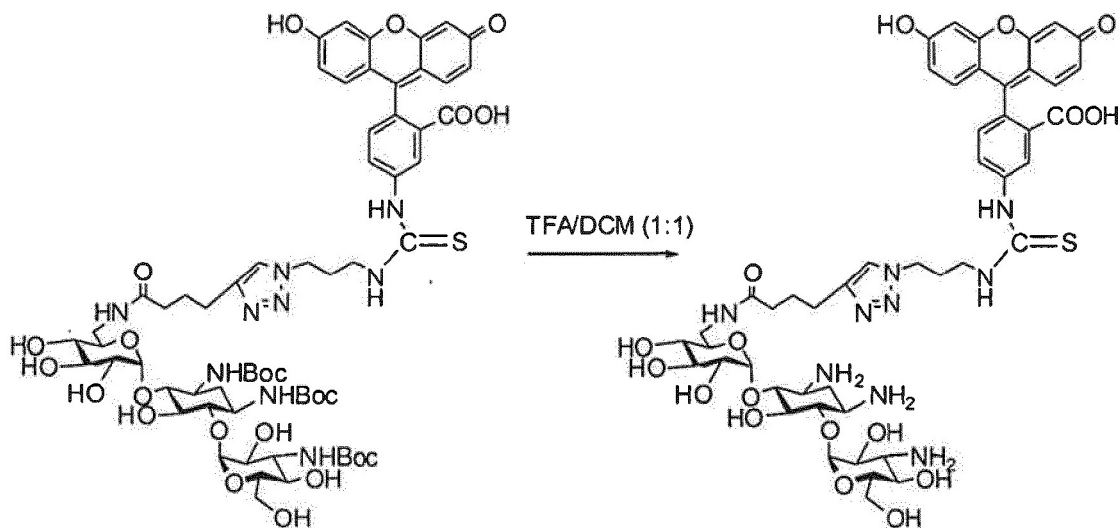
Se disolvió isotiocianato de fluoresceína (34 mg, 87 μmol) en 500 μl de DMF con 15 ml de base de Hünig. Después se añadió 3-azidopropilamina (1,3 eq, 10,5 mg, 12 μl). La reacción se trató con ultrasonidos para disolver todos los reaccionantes y se volteó a temperatura ambiente durante la noche. Después una parte alícuota de la reacción se sometió a espectrometría de masas para confirmar la formación del producto y el consumo del material de partida. (ESI+) encontrado: 490,1 1 ($M + H^+$). Después la reacción se puso en un SpeedVac durante la noche para separar el disolvente y la 3-azidopropilaminano acoplada. Se obtuvo un rendimiento cuantitativo.

10 **[0115]** La 6'-N-5-hexinoato-kanamicina A marcada con fluoresceína y protegida con Boc se preparó usando el procedimiento descrito a continuación:



15 A una solución que contenía 1,3,3"-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-6'-N-5-hexinoato-kanamicina A (21,6 mg, 24 μmol) en una mezcla de DMSO:H₂O 7:3 se añadieron ácido 5-(3-(3-azidopropil)-tioureido)-2-(3-hidroxi-6-oxo-6H-xanten-9-il)benzoico (15 mg, 30 μmol), CuSO₄ 1 mM, Vitamina C 1 mM, y TBTA 100 mM [32], y la reacción se volteó durante la noche en un tubo Eppendorf a 37 °C. La reacción se analizó por espectrometría de masas para confirmar la formación del producto y consumo del material de partida 6'-N-5-hexinoato-kanamicina A. (ESI+) encontrado: 1368 ($M+H^+$). Después el producto se purificó por HPLC equipado con una columna preparativa Waters Symmetry C8 (7 μm , 19X150 mm). Se aplicó un caudal de 10 ml/min y un gradiente de metanol de 0 a 100 % a lo largo de 30 min (t_r producto, 24,4 min). Rendimiento aislado: 12 mg, 40 %.

25 **[0116]** La 6'-N-5-hexinoato-kanamicina A marcada con fluoresceína se preparó usando el procedimiento descrito a continuación:



A una solución de 500 μ l que contenía 12 mg de 6'-N-5-hexinoato-kanamicina A marcada con fluoresceína y protegida con Boc, se añadieron 500 μ l de ácido trifluoroacético, y la reacción se agitó durante 30 min. Después la reacción se diluyó a 10 ml con tolueno y se evaporó hasta sequedad. Después el producto se disolvió en agua y se concentró en un SpeedVac durante la noche. El residuo se volteó dos veces en 1 ml de éter dietílico separándose el éter entre lavados. El producto se obtuvo en forma de un sólido amarillo/verde fluorescente MS (ESI⁺): 1068 (100 %, M+H⁺) y 1090 (45 %, M+Na⁺). Se obtuvo un rendimiento cuantitativo.

10

[0117] Se usó un ensayo basado en fluorescencia para determinar las constantes de disociación y el número de sitios de interacción de interacciones de molécula pequeña-bucle interno. Más en particular, para los ensayos de afinidad en solución, concentraciones diluidas en serie de ARN se reasociaron en 1X HB + BSA 40 μ g/ml a 60 °C durante 5 min y se dejaron enfriar lentamente en el laboratorio. Se añadió 31 marcado con FITC en 1X HB + BSA 40 μ g/ml a la solución de ARN en una concentración final de 10 mM. Después las muestras se pusieron en un pocillo de una placa de 96 pocillos negra. Las muestras se dejaron incubaron durante al menos 30 min antes de leer la fluorescencia en un lector de placas de fluorescencia Bio-Tek Synergy HT ajustado para filtros de FITC y una sensibilidad entre 38-40. Se tomaron varias muestras en diferentes tiempos para asegurar que la intensidad de la fluorescencia se tomaba después de que esas interacciones alcanzaran el equilibrio. Los experimentos de control incluían la incubación de un bucle interno seleccionado (concentración de 3 μ M) con FITC 10 nM. No se observaron cambios en la fluorescencia. Los datos se ajustaron a una curva de saturación de un sitio de gráfica Sigma. Cuando los datos se ajustaron a una ecuación de saturación de dos sitios, el ajuste de la curva no convergía con los datos. Los datos de unión se muestran en la figura 4, junto con las estructuras de los ARN en los que se llevaron a cabo los ensayos. Los datos muestran que 31 se une específicamente a los ARN que tienen una sola copia del motivo 5'CUG/3'GUC que causa distrofia miotónica.

25

[0118] La figura 5 es un esquema que indica una estrategia para usar peptoides multivalentes que presentan 31 para inhibir las interacciones muscleblind-CUG_n. Como se muestra, la repetición de triplete expandida se pliega en una estructura de horquilla que secuestra muscleblind y causa distrofia miotónica. Se han llevado a cabo experimentos que muestran que los peptoides multivalentes que presentan 31, preparados como se describe en la presente memoria, se unen inesperadamente a ARN que contienen oligómeros con múltiples CUG (p. ej., r(CUG)₁₁₀), y se cree que esta unión alterará las interacciones muscleblind-CUG_n y se puede usar para tratar la distrofia mioclonica.

30

Ejemplo 5 - Preparación de compuestos que se dirigen a ARN multivalentes que presentan ligandos de unión a ARN de bisimidazol

35

[0119] Este ejemplo 5 describe la síntesis de un compuesto que se dirige a ARN multivalente que presenta un ligando de unión a ARN de bisimidazol, la azida Hoechst 33258 para dirigirse a CUG₁₄₀.

40

[0120] El derivado de azida Hoechst **42** se sintetizó por un procedimiento modificado [44] a partir del derivado de Hoechst **41** y 3-azidopropilamina como se muestra en la figura 6A.

[0121] Las cadenas principales de peptoides se sintetizaron sobre un soporte sólido de resina de amida Rink por un protocolo estándar, como se muestra en la figura 6B, usando los procedimientos análogos a los descritos en el ejemplo 3.

[0122] La conjugación de la azida Hoechst **42** con la cadena principal de peptoide se logró por el protocolo de química clic post-oligomerización modificado [45] seguido de escisión. Siguiendo ese procedimiento, se aislaron cinco compuestos que se dirigen a ARN bivalentes (**43a**, **43b**, **43c**, **43d**, y **44**) después de purificación por HPLC. Los productos tienen la estructura mostrada en la figura 6C. En los compuestos **43a**, **43b**, **43c**, y **43d**, R es n-propilo, y n es 4, 8, 12, y 16, respectivamente. En el compuesto **44**, R es metilo, y n es 16.

[0123] Se usó el siguiente procedimiento para preparar meta-(4-ácido hidroxibutírico)-Hoechst (41). Una mezcla de 4-(3-formilfenoxi)butanoato de etilo [46] (0,37 g, 2,1 mmol) y 4-(5-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)benzeno-1,2-diamina [44], sal de acetato (0,8 g, 2,1 mmol) en 45 ml de nitrobenzeno se agitó a 140 °C durante 36 h en atmósfera de argón. Después la solución se concentró hasta sequedad a vacío, y el residuo se trituró con éter etílico (50 ml), se filtró y se lavó sobre el filtro con éter dietílico (4 x 20 ml). El producto bruto se secó y se disolvió en etanol (15 ml) y después se añadió a la solución hidróxido potásico (0,47 g, 8 mmol), y la mezcla se calentó a reflujo durante 4 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua (15 ml) y se saturó con CO₂. En aproximadamente 1 h empezaron a precipitar cristales del producto. El producto se filtró, se lavó sobre el filtro con éter dietílico (4 x 20 ml) y se secó. Rendimiento 0,9 g (84 %). MS-ESI (+) 511 (M+H⁺).

[0124] El siguiente procedimiento se usó para preparar meta-(N-(3-azidopropil)-4-hidroxibutanamida)-Hoechst, sal de monohexafluorofosfato (42). Una mezcla de meta-(4-ácido hidroxibutírico)-Hoechst (41) (0,9 g, 1,76 mmol), PyBOP™ (1,4 g, 2,64 mmol), y diisopropiletilamina (0,68 g, 5,28 mmol) en DMF (15 ml) se agitó en atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 30 min, y después se añadió 3-azidopropilamina (0,27 g, 2,64 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 40 h mientras se vigilaba el avance de la reacción por TLC (acetato de etilo/ metanol/trietilamina, 16:8:1). Después la solución se concentró a vacío hasta un residuo gomoso espeso (3 x 20 ml) y se cristalizó en etanol (10 ml), proporcionando cristales blanquecinos del producto. Rendimiento 0,7 g (54 %). MS-ESI(+) 593 (M+H⁺), MS-ESI (-) 145 (60 %, PF₆⁻), 591 (30 %, M⁻), 637 (100 %, M+HCO₂⁻).

Ejemplo 6 - Preparación de kanamicina-6'-N-hexinoato y su uso en la preparación de compuestos que se dirigen a ARN

[0125] La kanamicina-6'-N-hexinoato (**45**) se sintetizó de forma análoga al procedimiento de 6'-N-derivatización regio y quimioselectivo [46] seguido de protección con Boc en un matraz, para dar el derivado de kanamicina-alquilo **46**. El esquema sintético se expone en la figura 7A.

[0126] La modificación del procedimiento de química clic del derivado de kanamicina-alquilo **46** con 1-amino-3-azidopropano seguido de tratamiento con FITC y desprotección, condujo a un ligando marcado con fluorescencia monovalente **48**.

[0127] La preparación de las cadenas principales de peptoides se llevó a cabo usando el esquema expuesto en la figura 7C. Brevemente, las cadenas principales de peptoides se sintetizaron de forma similar al esquema usado para los ligandos basados en Hoechst excepto que aquí las cadenas principales de peptoides tienen una presentación de azida en lugar de una de alquino.

[0128] La conjugación del derivado de kanamicina-alquilo **46** con la cadena principal de peptoide se llevó a cabo de forma similar al protocolo de clic de Hoechst seguido de escisión con eliminación simultánea del grupo protector Boc. Después de este procedimiento, se aislaron tres compuestos que se dirigen a ARN bivalentes (**49a**, **49b** y **49c**) después de purificación por HPLC. Los productos tienen la estructura mostrada en la figura 7D. En los compuestos **49a**, **49b** y **49c**, n es 4, 8, 12, y 16, respectivamente.

[0129] Para facilitar los ensayos de cuantificación y unión, los peptoides con marcador de fluoresceína terminal unida por un conector 6-aminohexanoico (un 6-aminopentilcarbonilo) [47] se sintetizaron usando el esquema preparativo expuesto en la figura 7E.

[0130] Después de conjugación con el derivado de kanamicina-alquilo **46** y posterior escisión de la resina y

purificación por HPLC, se aislaron cinco ligandos bivalentes y dos trivalentes. Los productos tienen la estructura mostrada en la figura 7F. En los compuestos **10a**, **10b**, **10c**, **10d**, **10e**, m es 0, y n es 3, 4, 6, 8, y 19, respectivamente. En el compuesto **11a**, m es 3, y n es 3; y en el compuesto **11a**, m es 9, y n es 8.

5 Ejemplo 7 - Procedimientos y detalles experimentales usados en la preparación de compuestos que se dirigen a ARN multivalentes que presentan ligandos de unión a ARN de bisimidazol y kanamicina

[0131] Este ejemplo 7 describe además procedimientos y detalles experimentales usados en los ejemplos 5 y 6.

10

[0132] Se usaron los siguientes procedimientos de HPLC.

[0133] La pureza sintética se evaluó por HPLC analítica en una columna Waters SYMMETRY™ C8 5 µm 4,6x150 mm a temperatura ambiente en una bomba binaria de HPLC Waters 1525, equipada con un sistema detector de absorbancia de doble λ Waters 2487, con caudal de 1 ml/min y longitud de onda de 218/254 nm. Gradiente lineal de 5 % a 95 % de B en A a lo largo de 35 min (A: agua+0,1 % de TFA, B: metanol+0,1 % de TFA, v/v).

[0134] La purificación de los ligandos del peptido se llevó a cabo por HPLC preparativa en una columna SYMMETRYPREP™ C8 7 µm 19x150 mm a temperatura ambiente en una bomba binaria de HPLC Waters 1525 equipada con un detector de absorbancia de doble λ Waters 2487, con caudal de 10 ml/min y longitud de onda de 218/254 nm.

[0135] Se usó el siguiente procedimiento para preparar el meta-(4-ácido hidroxibutírico)-Hoechst (**41**). Una mezcla de 4-(3-formilfenoxi)butanoato de etilo [48] (0,37 g, 2,1 mmol) y 4-(5-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-benzo[d]imidazol-2-il)benzeno-1,2-diamina [44], sal de acetato (0,8 g, 2,1 mmol) en 45 ml de nitrobenzeno se agitó a 140 °C durante 36 h en atmósfera de argón. Después la solución se concentró hasta sequedad a vacío, y el residuo se trituró con éter dietílico (50 ml), se filtró y se lavó sobre el filtro con éter dietílico (4 x 20 ml). El producto bruto se secó y se disolvió en etanol (15 ml) y después se añadió a la solución hidróxido potásico (0,47 g, 8 mmol), y la mezcla se calentó a reflujo durante 4 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua (15 ml) y se saturó con CO₂. En aproximadamente 1 h empezaron a precipitar cristales del producto. El producto se filtró, se lavó sobre el filtro con éter dietílico (4 x 20 ml) y se secó. Rendimiento 0,9 g (84 %). MS-ESI (+) 511 (M+H⁺).

[0136] Se usó el siguiente procedimiento para preparar el meta-(N-(3-azidopropil)-4-hidroxibutanamida)-Hoechst, sal de monohexafluorofosfato (**42**). Una mezcla de meta-(4-ácido hidroxibutírico)-Hoechst (**41**) (0,9 g, 1,76 mmol), PyBOP™ (1,4 g, 2,64 mmol), y diisopropiletilamina (0,68 g, 5,28 mmol) en DMF (15 ml) se agitó en atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 30 min, y después se añadió 3-azidopropilamina (0,27 g, 2,64 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 40 h mientras se vigilaba el avance de la reacción por TLC (acetato de etilo/ metanol/trietilamina, 16:8:1). Después la solución se concentró a vacío hasta un residuo gomoso, espeso. El residuo se lavó con agua (3 x 20 ml) y se cristalizó en etanol (10 ml), proporcionando cristales blanquecinos del producto. Rendimiento 0,7 g (54 %). MS-ESI(+) 593 (M+H⁺), MS-ESI(-) 145 (60 %, PF₆⁻), 591 (30 %, M⁻), 637 (100 %, M+HCO₂⁻).

[0137] Se usó el siguiente procedimiento para preparar 1,3,3"-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-kanamicina-6'-N-hexinoato (**46**). A una solución de la base libre de kanamicina A (0,2 g, 0,4 mmol) en una mezcla de acetona-agua (1:1, 10 ml), se añadió N-(6-hexinoiloxi)-5-norborneno-2,3-dicarboximida (0,1 g, 0,36 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Después, se añadió a la mezcla anhídrido de Boc (0,53 g, 2,4 mmol), y la reacción se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. El precipitado blanco se filtró, se lavó con éter etílico (6x5 ml), y se secó proporcionando el producto puro idéntico a la muestra de referencia obtenida por un esquema sintético diferente. Rendimiento 0,17 g (47 %). MS-ESI(+) 879 (M+H⁺).

[0138] Se usó el siguiente procedimiento para preparar la kanamicina marcada con 6'-N-fluoresceína (**48**). A una solución de 1,3,3"-tri-N-(terc-butoxicarbonil)-kanamicina-6'-N-hexinoato (**46**) (9 mg, 10 µmol) en DMSO (81 µl), se añadieron 3-azidopropilamina (6 µl, 50 µmol) y soluciones de TRIS•HCl (1 µl, 1 M en agua), CuSO₄ (10 µl, 0,01 M en agua), ácido ascórbico (1 ml, 0,1 M en agua), y TBTA (1 ml, 0,01 M en DMSO/terc-butanol, 1:4). La mezcla se incubó a 60 °C durante la noche y se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en DMSO (0,2 ml), y se añadieron a la solución isotiocianato de fluoresceína ("FITC") (8 mg, 20 µmol) y trietilamina (7 µl, 50 µmol). La reacción se incubó a 40 °C durante 1 h y después se concentró hasta sequedad. El residuo se disolvió en metanol y se purificó por HPLC preparativa. Las fracciones combinadas se concentraron hasta sequedad, y al residuo se

añadió una mezcla de TFA/DCM/agua (60:40:2, 0,5 ml). La solución se agitó suavemente a temperatura ambiente durante 1 h y se concentró hasta sequedad. Después de liofilización del agua, se obtuvieron 7,3 mg (5,2 mmol) del producto (sal de tris-trifluoroacetato). MS-ESI (+) 1068 (100 %, M+H⁺), 535 (50 %, M+2H⁺).

5 **[0139]** El protocolo general para la síntesis de peptoides se describe a continuación. Los oligómeros peptoides se sintetizaron a temperatura ambiente (22 °C) en columnas de cromatografía BioRad POLY-PREP™ (0,8x4 cm) ortogonalmente instaladas en una placa del agitador Thermolyne MAXI-MIX IIITM. La resina de poliestireno-amida Rink protegida con Fmoc (AnaSpec) con un nivel de sustitución de 0,45 mmol/g (23 mg, 10 mmol) se hinchó en DCM (1 ml) durante 20 min, se drenó y se desprotegió con 1 ml de piperidina al 20 % en DMF durante 40 min con
10 agitación a 800 rpm, seguido de drenaje y después lavado con DMF (6x3/6x3 ml).

[0140] La etapa de acoplamiento se llevó a cabo como sigue. A la amina unida a la resina se añadieron ácido bromoacético (0,2 ml, 1 M en DMF) y diisopropilcarbodiimida ("DIC") (0,2 ml, 1 M en DMF). La resina se agitó durante 20 min a 1000 rpm, se drenó y después se lavó con DMF (5x2/5x2 ml).

15

[0141] La etapa de desplazamiento implicaba un procedimiento en dos etapas. En una etapa, se introdujo por adición secuencial en la columna, un homólogo del procedimiento clic, DMF (0,2 ml) y la amina correspondiente (20 ml de 3-azidopropilamina o propargilamina). La resina se agitó durante 3 h a 1000 rpm, se drenó y después se lavó con DMF (5x2/5x2 ml). En la otra etapa, la cadena se extendió con un espaciador por adición secuencial en la
20 columna, de DMF (0,2 ml) y propilamina (50 ml). La resina se agitó durante 20 min a 1000 rpm, se drenó y después se lavó con DMF (5x2/5x2 ml).

[0142] Se siguió el siguiente protocolo general para la introducción de ligando post-oligomerización del peptoides, procedimiento de química clic. El oligómero unido a la resina se lavó con metanol (3x2 ml) y diclorometano (3x2 ml) y se secó bajo una corriente de aire, y una pequeña parte de la resina se escindió y se analizó por HPLC y MS-ESI antes de una etapa de conjugación. Después, en una columna que contenía el oligómero unido a resina, se añadió un homólogo del procedimiento clic (4 equivalentes por sitio de conjugación). La columna se cerró con un septum de caucho y se purgó con argón durante 20 min. Después la columna se tapó de otro lado, y se cargaron 2 ml de solución de catalizador previamente preparada (acetato de cobre 0,1 M, diisopropiletilamina 1 M, ácido
25 ascórbico 0,1 M, y TBTA 0,01M en piridina/DMF, 3:7) en la columna en atmósfera de argón. La reacción se trató con ultrasonidos (Branson BRANSONIC™ 5210, 140 vatios, 47 kHz) en la oscuridad a 40 °C con mezcla con vórtice periódica durante 36 h. La solución del procedimiento clic se drenó; y la resina se lavó con DMF (5x2 ml), ácido ascórbico al 2 % en piridina (5x2 ml), y DMF (5x2/5x2 ml) y se lavó con metanol (3x2 ml) y diclorometano (3x2 ml). El producto se escindió de la resina en una mezcla de TFA/DCM/agua (60:40:2, 2x1 ml) con agitación (600 rpm) a
30 temperatura ambiente durante 1 h. El filtrado se concentró bajo una corriente de aire, el residuo se disolvió en agua y el producto se aisló por HPLC preparativa. Se analizaron las fracciones por MS-ESI. Las fracciones combinadas del producto se concentraron hasta sequedad y el producto se liofilizó del agua.

[0143] Se siguió el siguiente protocolo general para el marcaje con fluoresceína post-oligomerización del peptoides. El oligómero unido a la resina se lavó con metanol (3x2 ml) y DCM (3x2 ml) y se secó bajo una corriente de aire; y se añadieron ácido Fmoc-6-aminoheptanoico ("Fmoc-e-Ahx-OH") (18 mg, 50 mmol) y DIC (0,2 ml, 1 M en DMF). La resina se agitó a temperatura ambiente durante 2 h a 800 rpm, se drenó, se aclaró con DMF (5x2/5x2 ml), y se desprotegió con 1 ml de piperidina al 20 % en DMF durante 50 min con agitación a 800 rpm, seguido de drenaje y después aclarado con DMF (6x3/6x3 ml). Después, se añadieron en una columna 4(5)-carboxi-fluoresceína (19
35 mg, 50 µmol), N-hidroxibenzotriazol (11 mg, 80 µmol), DMF (0,1 ml), y DIC (0,2 ml, 1 M en DMF). La resina se agitó a temperatura ambiente durante 2 h a 800 rpm, se drenó y se lavó con DMF (6x3 ml), y se aclaró con DMF (5x2/5x2 ml). El oligómero unido a resina con marcador de fluoresceína resultante después se conjugó con el correspondiente ligando.

50 REFERENCIAS

[0144]

1. Doudna, J. A. (2000) Structural genomics of RNA, Nat. Struct. Biol. 7 Suppl., 954-956.
2. Batey, R. T., y col. (1999) Tertiary motifs in RNA structure and folding, Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 38, 2326-
55 2343.
3. Zaug, A. J., *et al.* (1986) The intervening sequence RNA of tetrahymena is an enzyme, Science 231, 470-475.
4. Lagos-Quintana, M., y col. (2001) Identification of novel genes coding for small expressed RNAs, Science 294, 853-858.
5. Winkler, W., *et al.* (2002) Thiamine derivatives bind messenger RNAs directly to regulate bacterial gene expression,

- Nature 419, 952-956.
6. Gallego, J., *et al.* (2001) Targeting RNA with small molecule drugs: therapeutic promise and chemical challenges, *Acc. Chem. Res.* 34, 836-843.
 7. Hamy, F., *et al.* (1997) An inhibitor of the Tat/TAR RNA interaction that effectively suppresses HIV-1 replication, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 3548-3553.
 8. Mathews, D. H., *et al.* (2004) Incorporating chemical modification constraints into a dynamic programming algorithm for prediction of RNA secondary structure, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 7287- 7292.
 9. Mathews, D. H., *et al.* (1999) Expanded sequence dependence of thermodynamic parameters improves prediction of RNA secondary structure, *J. Mol. Biol.* 288, 911-940.
 10. Woese, C. R., *et al.* (1980) Secondary structure model for bacterial 16S ribosomal RNA: phylogenetic, enzymatic and chemical evidence, *Nucleic Acids Res.* 8, 2275-2293.
 11. Fourmy, D., *et al.* (1996) Structure of the A site of *Escherichia coli* 16S ribosomal RNA complexed with an aminoglycoside antibiotic, *Science* 274, 1367- 1371.
 12. Lynch, S. R., *et al.* (2003) Comparison of X-ray crystal structure of the 30S subunit-antibiotic complex with NMR structure of decoding site oligonucleotide-paromomycin complex, *Structure (Cambridge, MA, US)* 11, 43-53.
 13. Carter, A. P., *et al.* (2000) Functional insights from the structure of the 30S ribosomal subunit and its interactions with antibiotics, *Nature* 407, 340-348.
 14. Kaul, M., *et al.* (2006) Aminoglycoside-induced reduction in nucleotide mobility at the ribosomal RNA a-site as a potentially key determinant of antibacterial activity, *J. Am. Chem. Soc.* 128, 1261-1271.
 15. Kaul, M., *et al.* (2004) Fluorescence-based approach for detecting and characterizing antibiotic-induced conformational changes in ribosomal RNA: comparing aminoglycoside binding to prokaryotic and eukaryotic ribosomal RNA sequences, *J. Am. Chem. Soc.* 126, 3447-3453.
 16. Shandrick, S., *et al.* (2004) Monitoring molecular recognition of the ribosomal decoding site, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 43, 3177-3182.
 17. Thomas, J. R., *et al.* (2006) Biochemical and thermodynamic characterization of compounds that bind to RNA hairpin loops: toward an understanding of selectivity, *Biochemistry* 45, 10928-10938.
 18. Thomas, J. R., *et al.* (2005) Size-specific ligands for RNA hairpin loops, *J. Am. Chem. Soc.* 127, 12434- 12435.
 19. Thomas, J. R., *et al.* (2005) The relationship between aminoglycosides' RNA binding proclivity and their antiplasmid effect on an IncB plasmid combating drug-resistant bacteria: small molecule mimics of plasmid incompatibility as antiplasmid compounds, *Biochemistry* 44, 6800- 6808.
 20. Denap, J. C., *et al.* (2004) Combating drug-resistant bacteria: small molecule mimics of plasmid incompatibility as antiplasmid compounds, *J. Am. Chem. Soc.* 126, 15402-15404.
 21. Klug, S. J., *et al.* (1994) All you wanted to know about SELEX, *Mol. Biol. Rep.* 20, 97-107.
 22. Joyce, G. F. (1994) In vitro evolution of nucleic acids, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 4, 331-336.
 23. Griffey, R. H., *et al.* (1999) Determinants of aminoglycoside-binding specificity for rRNA by using mass spectrometry, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96, 10129-10133.
 24. Swayze, E. E., *et al.* (2002) SAR by MS: a ligand based technique for drug lead discovery against structured RNA targets, *J. Med. Chem.* 45, 3816-3819.
 25. He, Y., *et al.* (2004) Synthesis and evaluation of novel bacterial rRNA-binding benzimidazoles by mass spectrometry, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14, 695-699.
 26. Seth, P. P., *et al.* (2005) SAR by MS: discovery of a new class of RNA-binding small molecules for the hepatitis C virus: internal ribosome entry site IIA subdomain, *J. Med. Chem.* 48, 7099-7102.
 27. Johnson, E. C., *et al.* (2003) Application of NMR SHAPES screening to an RNA target, *J. Am. Chem. Soc.* 125, 15724-15725.
 28. MacBeath, G., *et al.* (1999) Printing small molecules as microarrays and detecting protein-ligand interactions en masse, *J. Am. Chem. Soc.* 121, 7967-7968.
 29. Disney, M. D., *et al.* (2004) Aminoglycoside microarrays to explore interactions of antibiotics with RNAs and proteins, *Chemistry* 10, 3308-3314.
 30. Ratner, D. M., *et al.* (2004) Tools for glycomics: mapping interactions of carbohydrates in biological systems, *ChemBioChem* 5, 1375-1383.
 31. R. N. Zuckermann, J. M. Kerr, S. B. H. Kent, W. H. Moos, *J Am Chem Soc* 1992, 114, 10646.
 32. T. R. Chan, R. Hilgraf, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Org Lett* 2004, 6, 2853.
 33. H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discov Today* 2003, 8, 1128.
 34. H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew Chem Int Ed Engl* 2001, 40, 2004.
 35. B. Tian, R. J. White, T. Xia, S. Welle, D. H. Turner, M. B. Mathews, C. A. Thornton, *RNA* 2000, 6, 79.
 36. R. N. Kanadia, K. A. Johnstone, A. Mankodi, C. Lungu, C. A. Thornton, D. Esson, A. M. Timmers, W. W. Hauswirth, M. S. Swanson, *Science* 2003, 302, 1978.
 37. A. Mankodi, E. Logigian, L. Callahan, C. McClain, R. White, D. Henderson, M. Krym, C. A. Thornton, *Science* 2000, 289, 1769.

38. A. Mankodi, C. A. Thornton, *Curr Opin Neurol* 2002, 15, 545.
39. X. Lin, J. W. Miller, A. Mankodi, R. N. Kanadia, Y. Yuan, R. T. Moxley, M. S. Swanson, C. A. Thornton, *Hum Mol Genet* 2006, 15, 2087.
40. A. Mankodi, C. R. Urbinati, Q. P. Yuan, R. T. Moxley, V. Sansone, M. Krym, D. Henderson, M. Schalling, M. S. Swanson, C. A. Thornton, *Hum Mol Genet* 2001, 10, 2165.
- 5 41. J. W. Miller, C. R. Urbinati, P. Teng-Umuay, M. G. Stenberg, B. J. Byrne, C. A. Thornton, M. S. Swanson, *Embo J* 2000, 19, 4439.
42. P. Henklein, H. U. Heyne, W. R. Halatsch, H. Niedrich, *Synthesis-Stuttgart* 1987, 166.
43. J. Roestamadji, I. Grapsas, S. Mobashery, *J Am Chem Soc* 1995, 117, 11060.
- 10 44. Satz, A. L.; Bruice, T. C. *Bioorg. Med. Chem.* 2000, 8, 1871-1880.
45. Jang, H.; Fafarman, A.; Holub, J. M.; Kirshenbaum, K. *Org. Lett.* 2005, 7, 1951-1954.
46. Gao, F.; Yan, X.; Baetting, O. M.; Berghuis, A. M.; Auclair, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 6859-6862.
47. Weber, P. J. A.; Bader, J. E.; Folkers, G.; Beck-Sickinger, A. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998, 8, 597-600.

LISTA DE SECUENCIAS

[0145]

<110> Disney, Matthew D.

5 <120> COMPUESTOS QUE SE DIRIGEN A ARN Y PROCEDIMIENTOS PARA HACERLOS Y USARLOS

<130> 007.00172 (R-6170A/B)

<140> US 12/072.291

10 <141> 2008-02-25

<150> US 60/903,212

<151> 2007-02-23

15 <150> US 61/004,389

<151> 2007-11-27

<160> 6

20 <170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 46

<212> ARN

25 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de ARN que presenta motivo de bucle interno

30 <400> 1

gggagagggg uaaaucugua cgaaaguacu gauuggaucc gcaagg 46

<210> 2

35 <211> 40

<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>

40 <223> secuencia de casete

<400> 2

gggagagggg uaaauuacga aaguaauugg auccgcaagg 40

45

<210> 3

<211> 18

<212> ARN

<213> Secuencia artificial

50

<220>

<223> Secuencia de tallo

<400> 3

55

gggagagggg uaaauuac 18

<210> 4

<211> 18

ES 2 668 619 T3

<212> ARN
<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Secuencia de tallo

<400> 4

gaaauuggau ccgcaagg 18

10

<210> 5

<211> 10

<212> ARN

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> Secuencia de bucle de horquilla

<400> 5

20

CgCGaaagcg 10

<210> 6

<211> 87

25

<212> ARN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Repetición CUG

30

<400> 6

cugcugcugc ugcugcugcu gcugcugcug cugcugcugc ugcugcugcu gcugcugcug 60

cugcugcugc ugcugcugcu gcugcug 87

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que se dirige a ARN capaz de unirse a un motivo de repetición de ARN, comprendiendo dicho compuesto una cadena principal de polímero peptoide que tiene una estructura que se repite $-C(O)-N-CH_2-$ representada por la fórmula $[-C(O)-N-CH_2-]_z$ donde z es un número entero mayor o igual a 2, y dos o más ligandos de unión a ARN colgantes, en donde dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes están unidos a algunos o todos de dichos átomos de nitrógeno de la cadena principal de polímero peptoide y esos átomos de nitrógeno en la cadena principal de polímero peptoide que no están unidos a ligandos de unión a ARN colgantes están sustituidos con grupos alquilo o arilo que pueden estar sustituidos o no, y en el que dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son iguales o diferentes y se seleccionan de azúcares aminoglucósidos y bisbencimidazoles, en el que cada uno de dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes se unen a un motivo de repetición triplete de ARN o motivo de tetra repetición de ARN.
2. Un compuesto que se dirige a ARN de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes se unen a motivos estructurales de ARN.
3. El compuesto que se dirige a ARN de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes se unen a un motivo de bucle interno de ARN.
4. El compuesto que se dirige a ARN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que cada uno de dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes se unen a un motivo de repetición triplete de ARN.
5. El compuesto que se dirige a ARN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que cada uno de dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes se unen a un motivo de repetición triplete CUG de ARN.
6. El compuesto que se dirige a ARN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que cada uno de dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son iguales.
7. El compuesto que se dirige a ARN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes son azúcares aminoglucósidos.
8. El compuesto que se dirige a ARN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dichos dos o más ligandos de unión a ARN colgantes se seleccionan de kanamicina A, tobramicinas, neaminas y neomicinas.
9. Una composición que comprende el compuesto que se dirige a ARN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
10. Un compuesto que se dirige a ARN de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o la composición de la reivindicación 9 para usar en el tratamiento de una enfermedad causada por repeticiones triplete o tetra repeticiones de ARN en un sujeto.
11. El compuesto que se dirige a ARN para usar de acuerdo con la reivindicación 10, en el que la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en distrofia miotónica, ataxia espinocerebelosa tipo 1, tipo 2, tipo 3, tipo 7, tipo 7 o tipo 12, síndrome del X frágil, ataxia de Friedreich, atrofia muscular espinobulbar, enfermedad de Huntington, atrofia dentato-rubro-pálido-luisiana o distrofia miotónica tipo 2.

Fig. 1A

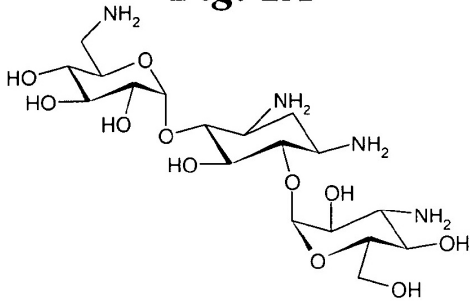


Fig. 1B

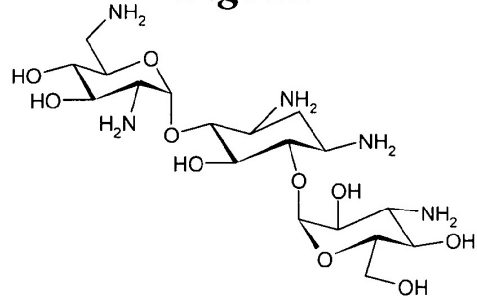


Fig. 1C

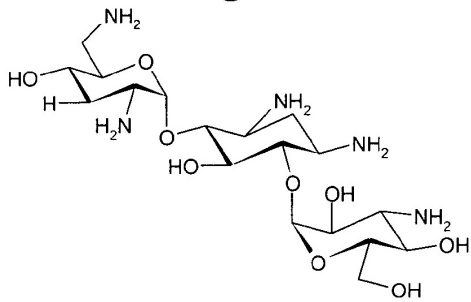


Fig. 1D

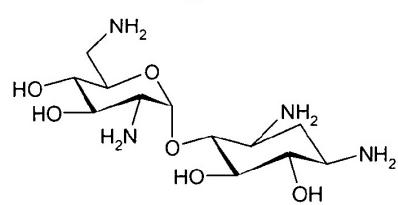


Fig. 1E

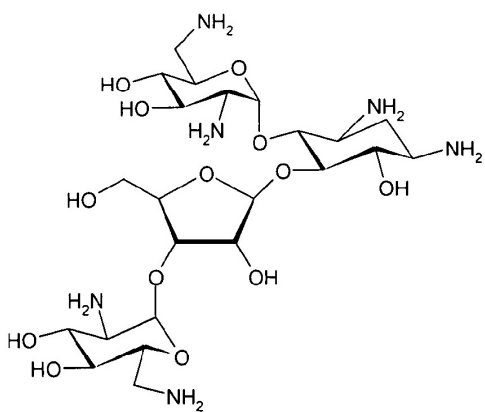


Fig. 1F

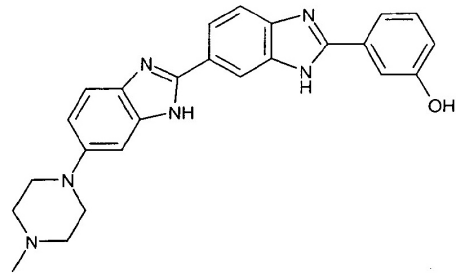


Fig. 1G

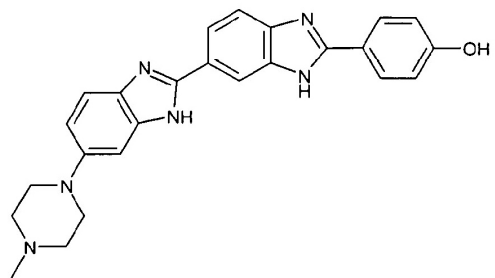


Fig. 2

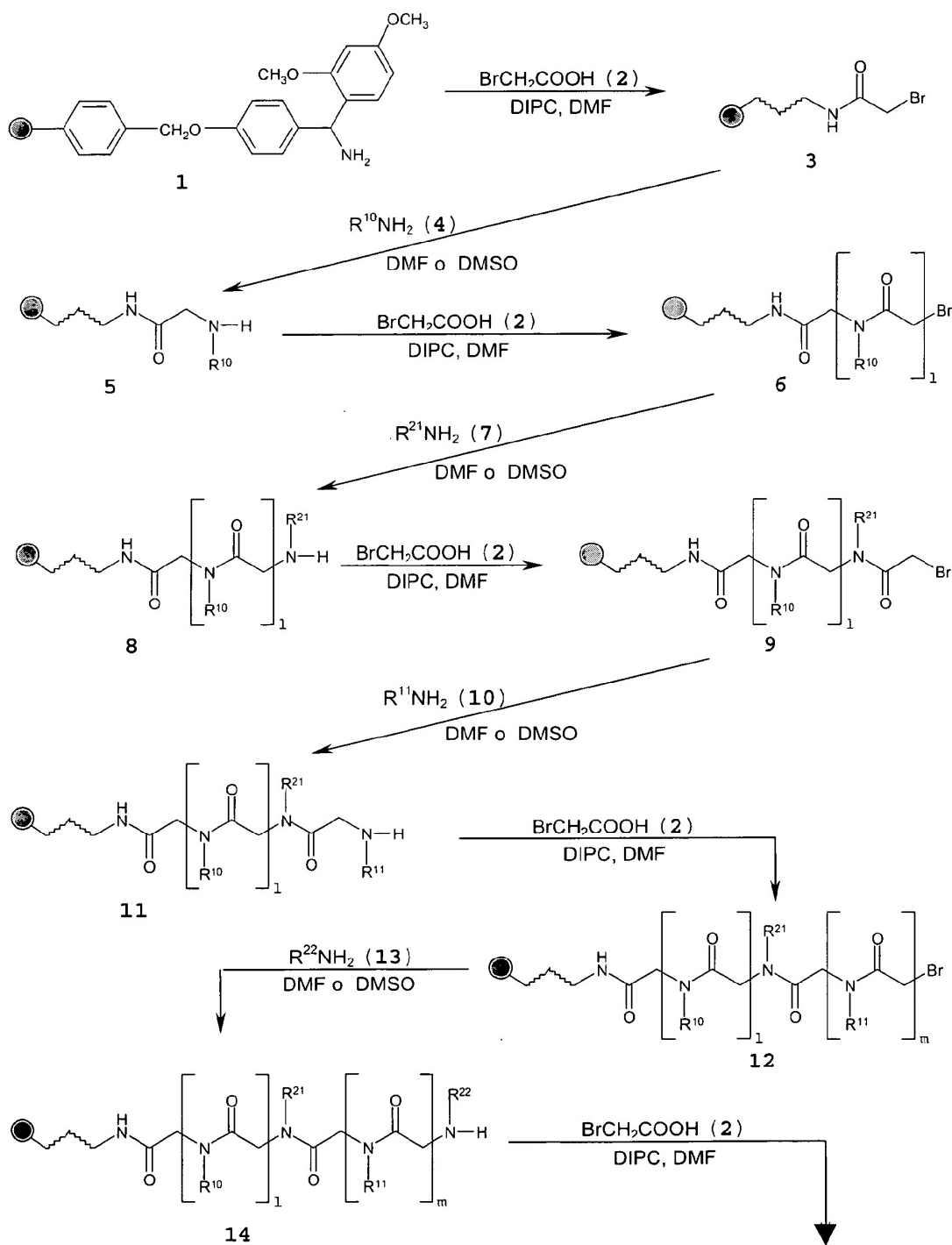


Fig. 2 (continuación)

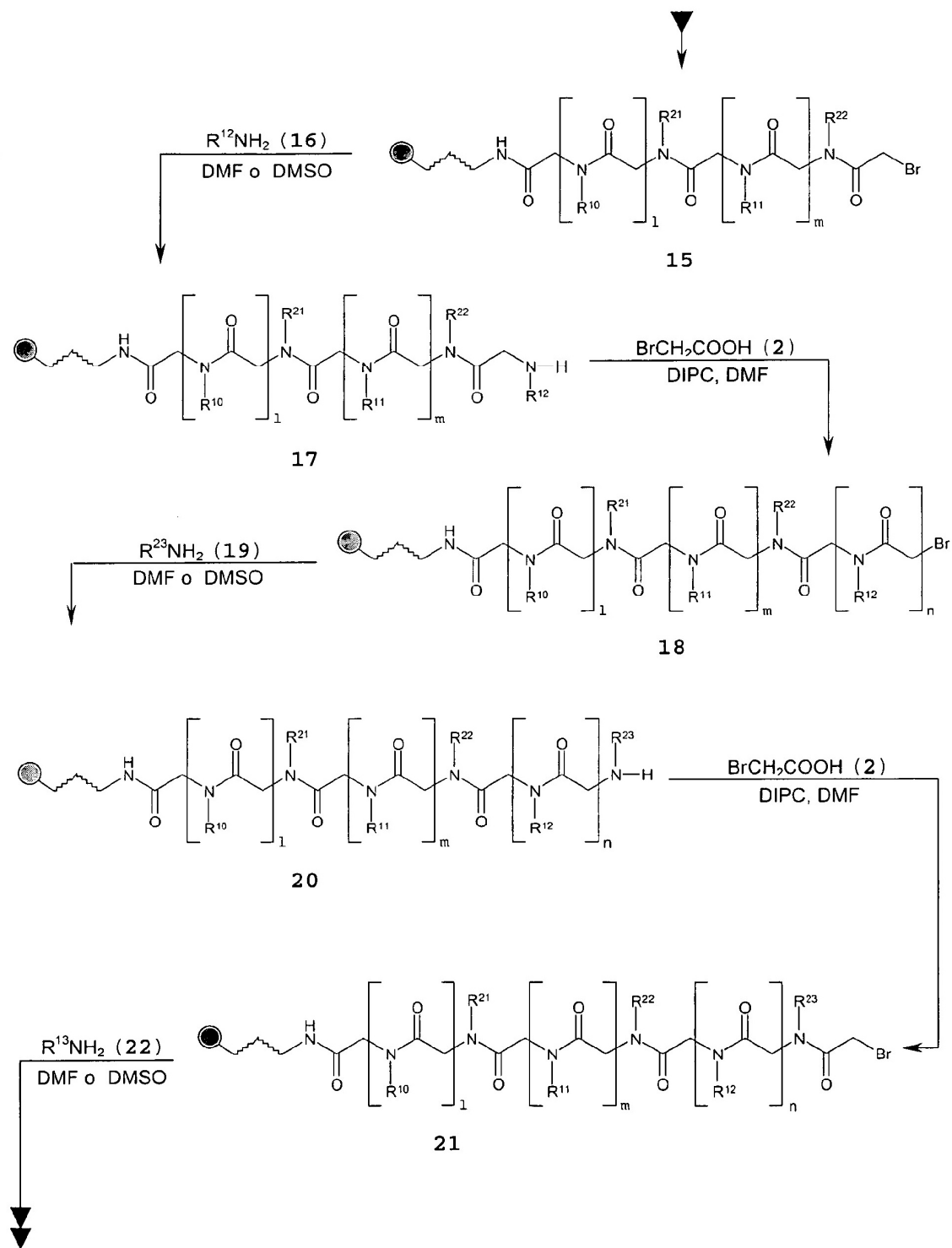


Fig. 2 (continuación)

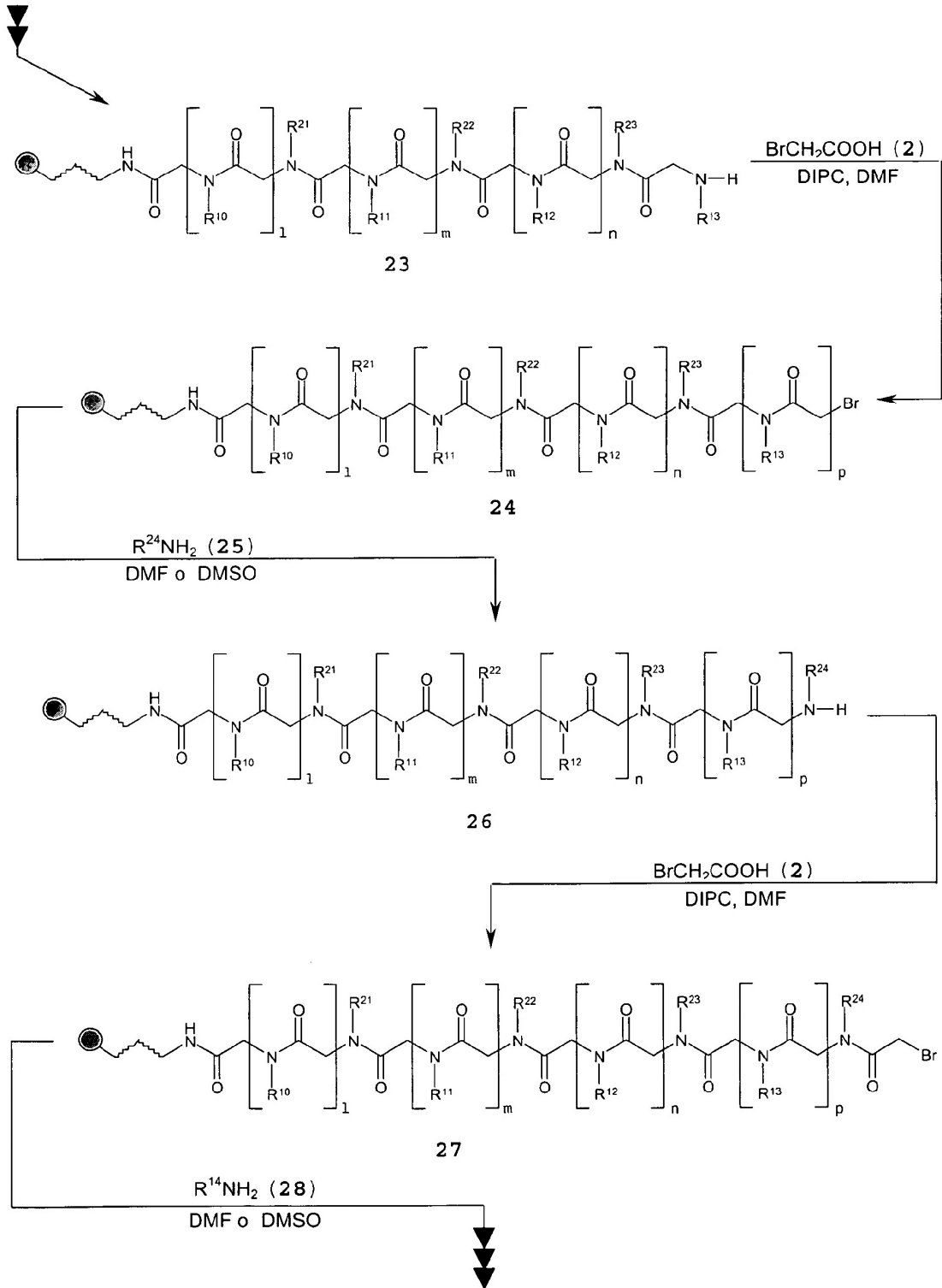


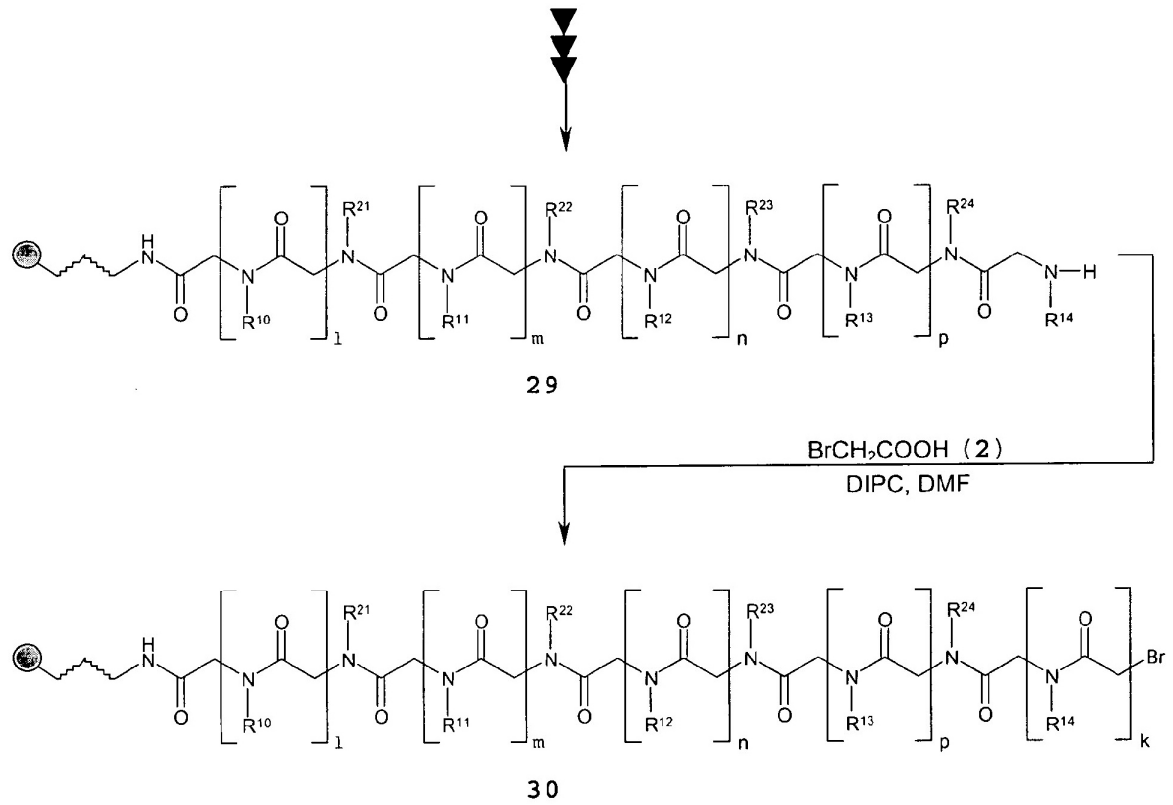
Fig. 2 (continuación)

Fig. 3A

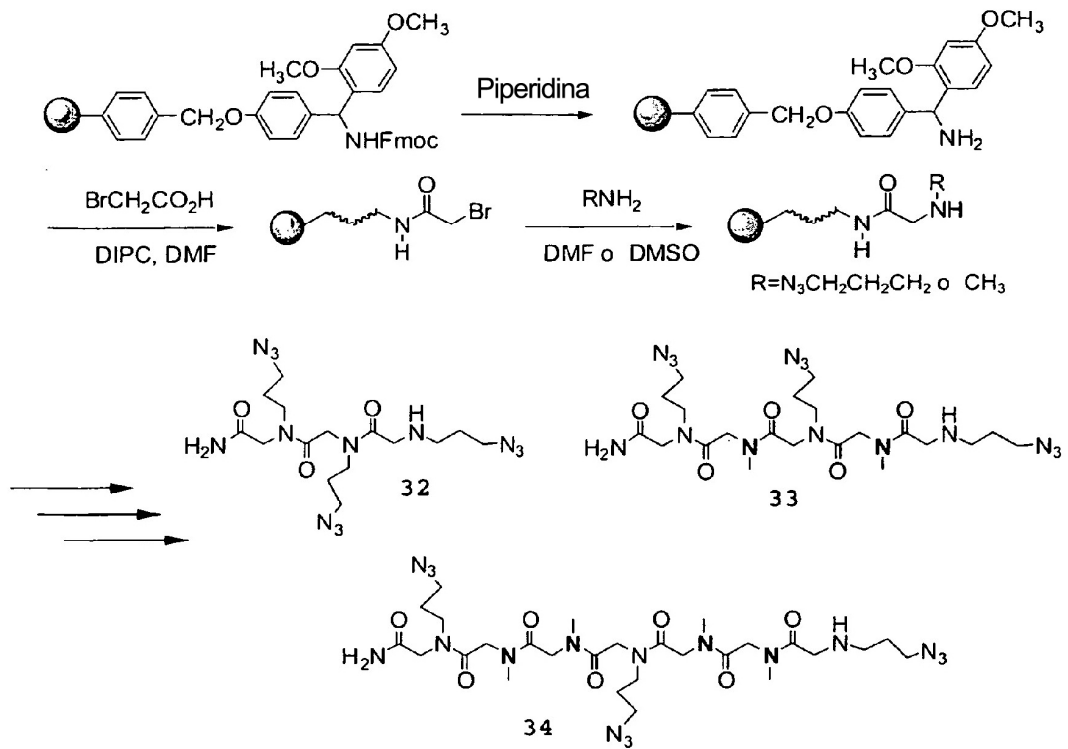


Fig. 3B

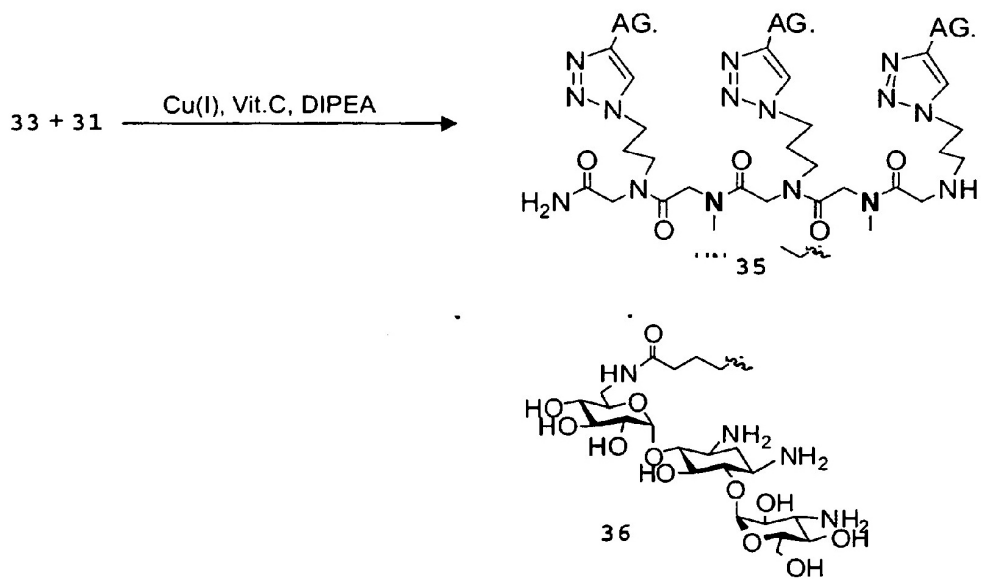


Fig. 4A

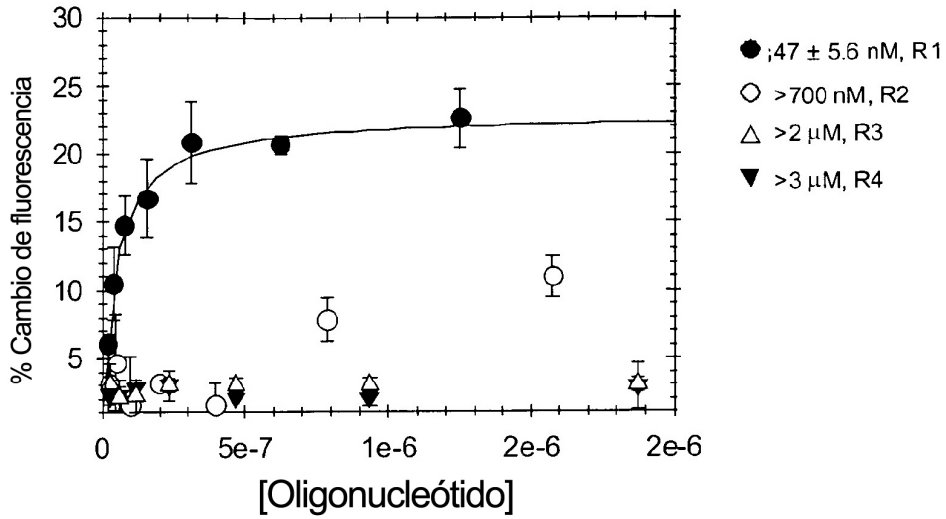


Fig. 4B

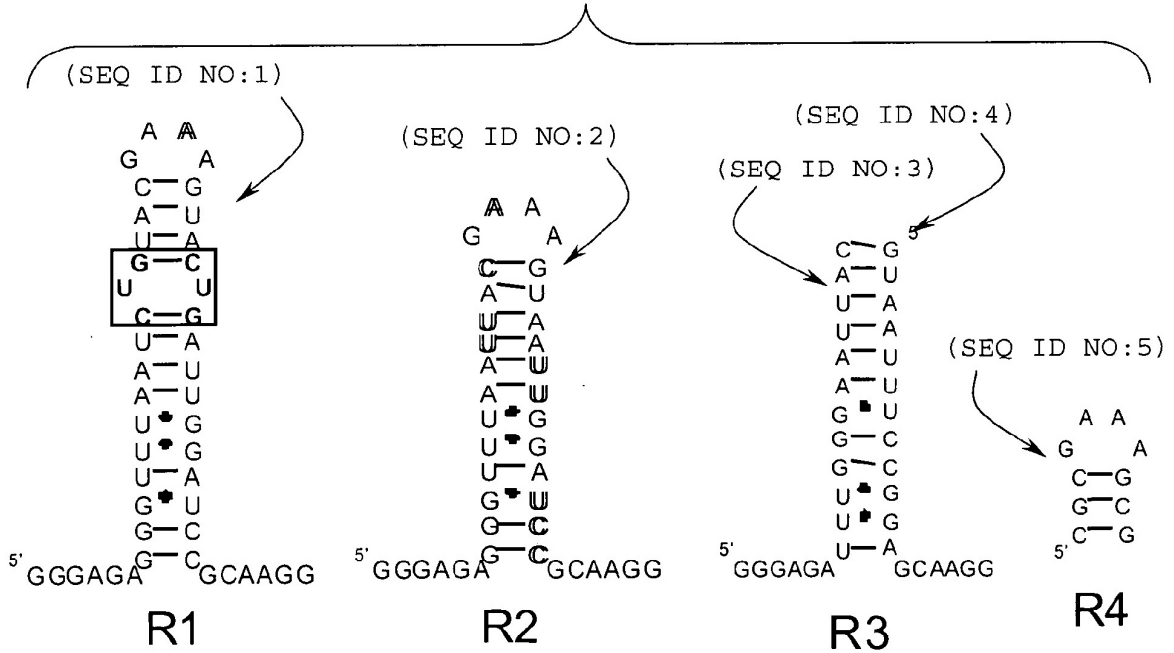


Fig. 5

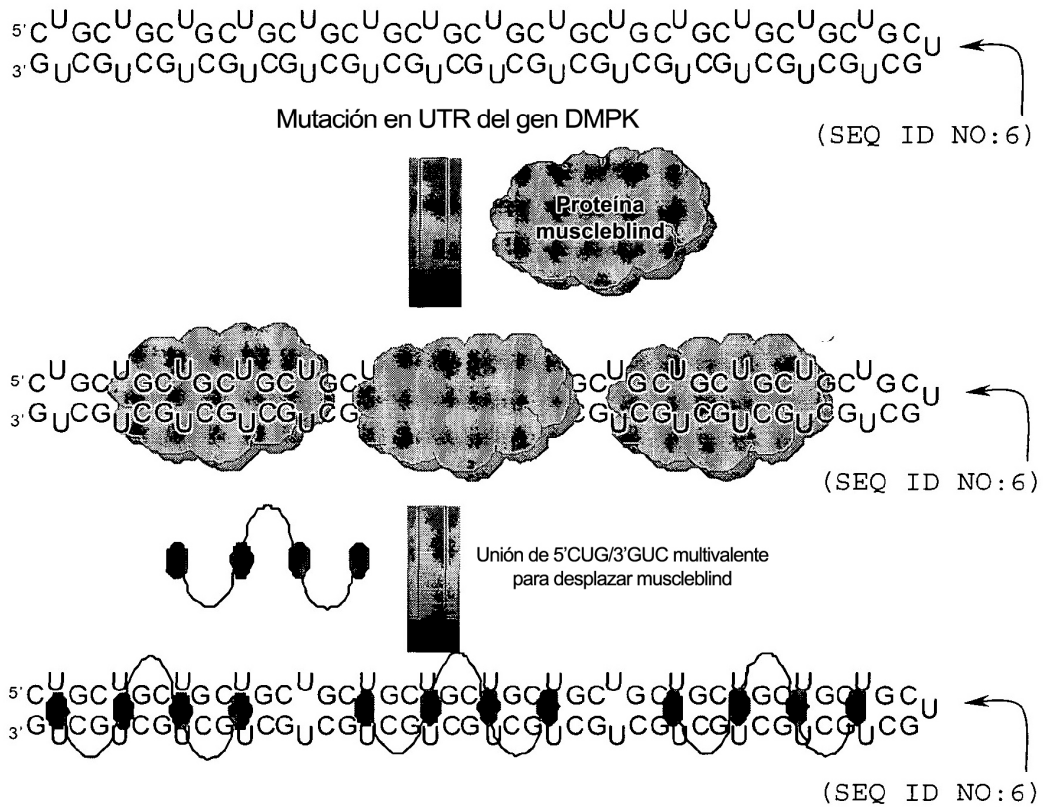


Fig. 6A

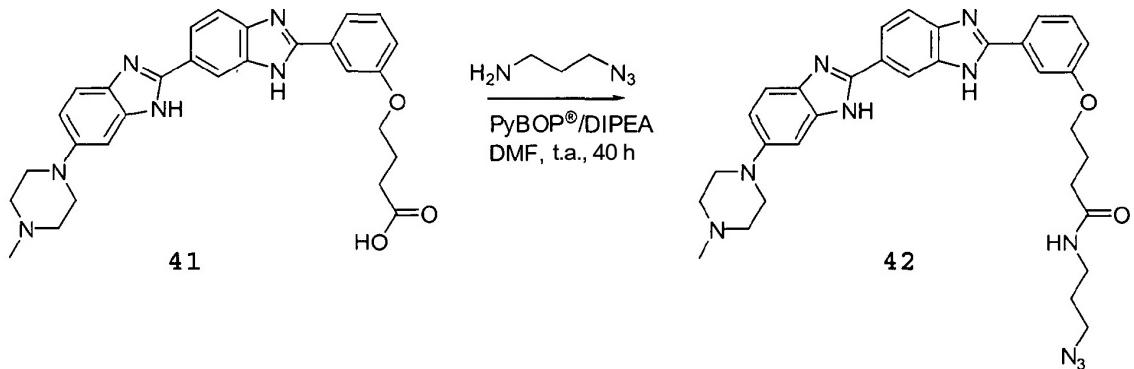


Fig. 6B

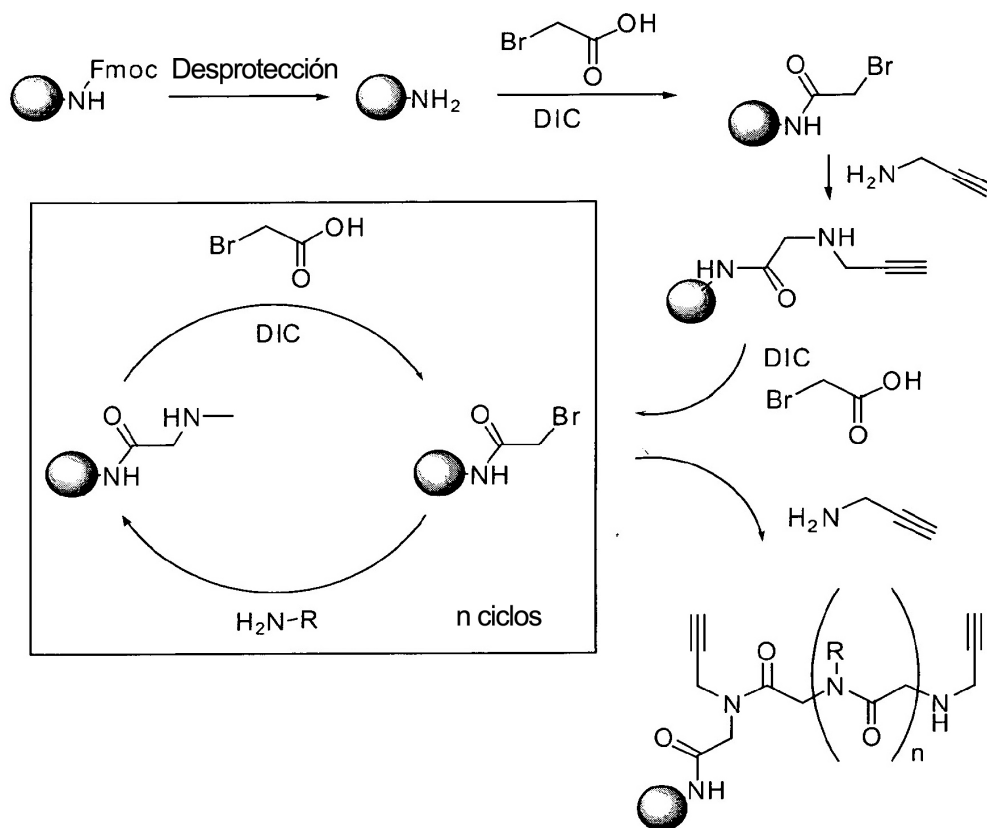


Fig. 6C

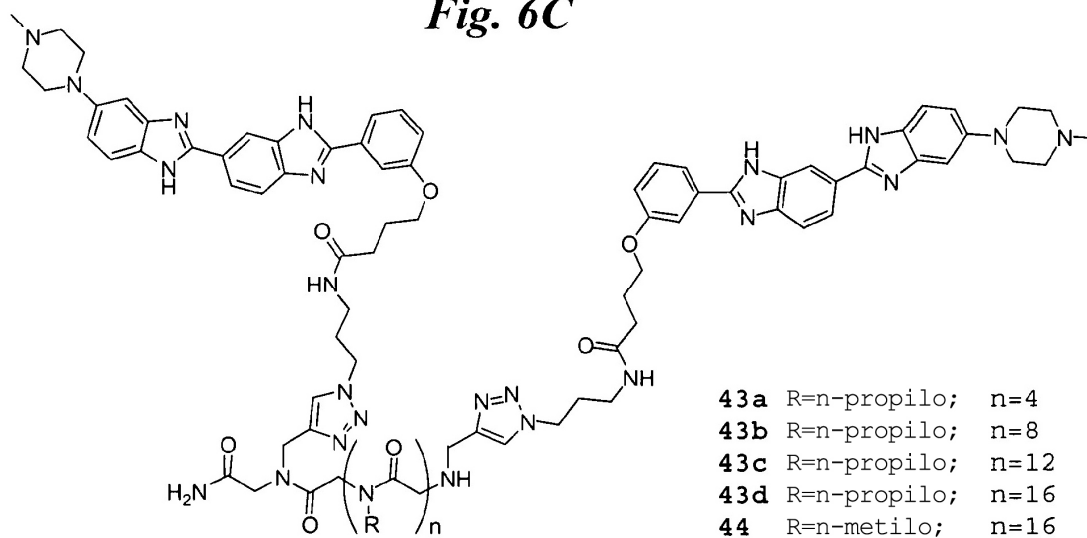


Fig. 7A

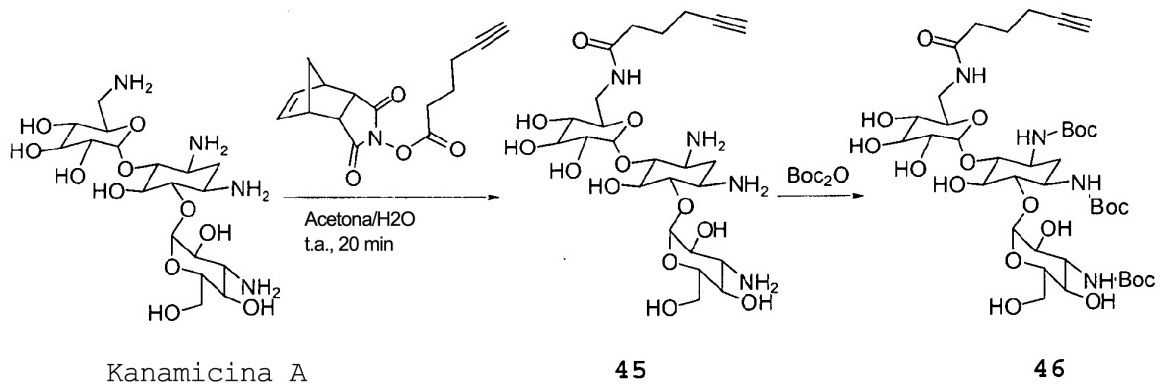


Fig. 7B

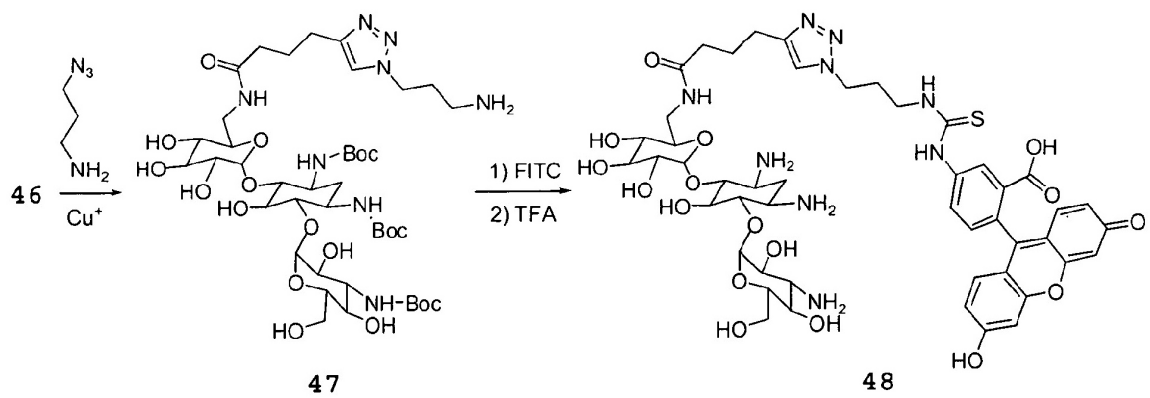


Fig. 7C

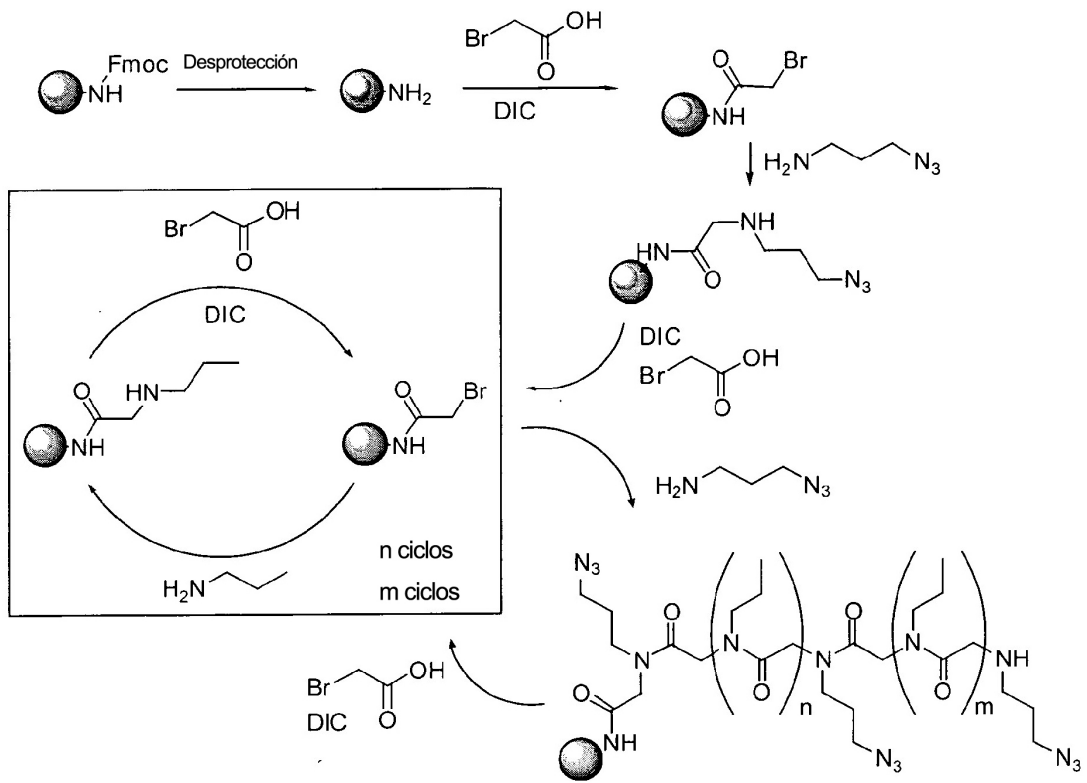


Fig. 7D

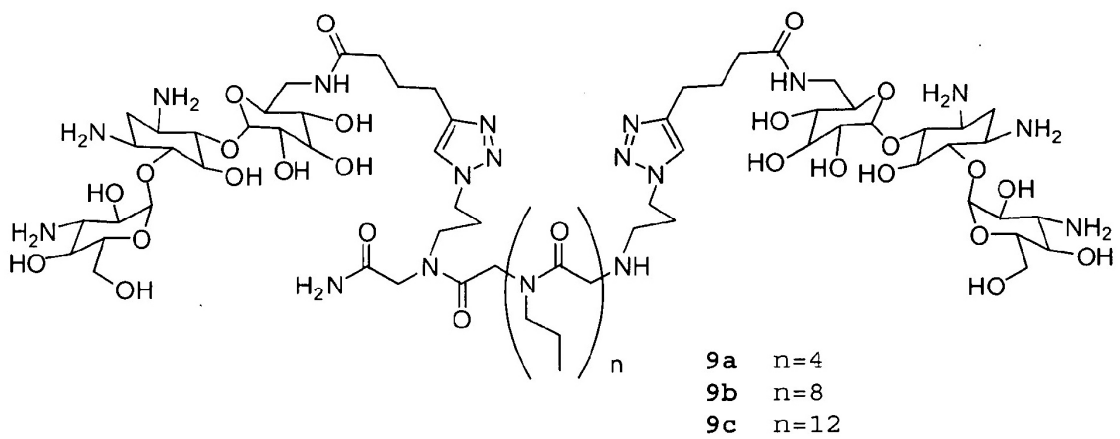


Fig. 7E

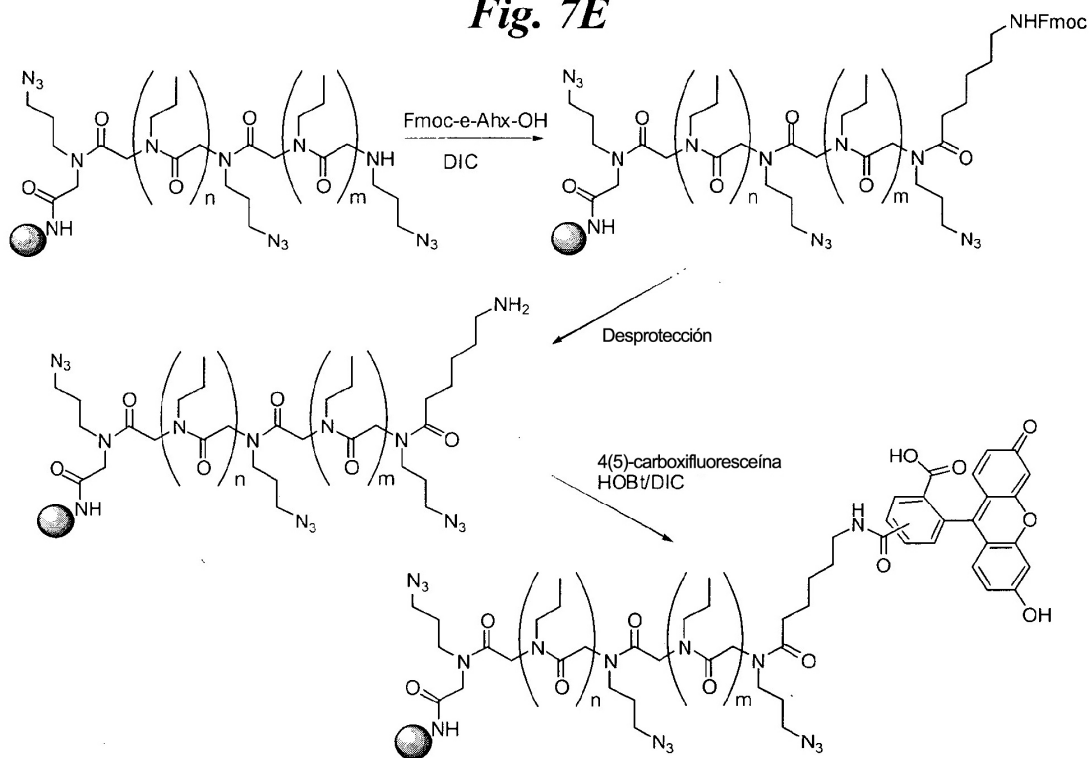


Fig. 7F

