



MD/EP 3464305 T2 2025.01.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3464305 (13) T2

(51) Int. Cl:C07F 9/6558 (2006.01.01)
C07F 9/6561 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2019 0423 (22) Data de depozit: 2017.05.24 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 17731336.8, 2017.05.24 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european:3464305, 2019.04.10 (31) Numărul cererii prioritare: 201662341049 P; 201662357153 P; 201662357166 P; 201662357072 P; 201662356923 P; 201762508256 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2016.05.24; 2016.06.30; 2016.06.30; 2016.06.30; 2016.06.30; 2017.05.18 (33) Țara cererii prioritare: US; US; US; US; US; US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 01/2025, 2025.01.31 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 34/2024, 2024.08.21 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 05/2019, 2019.05.31
(71) Solicitant: SAREPTA THERAPEUTICS, INC., US (72) Inventatori: CAI Bao, US; MARTINI Mitchell, US; SHIMABUKU Ross, US; THOMAS Katie, US; FRANK Diane Elizabeth, US; BESTWICK Richard K., US (73) Titular: SAREPTA THERAPEUTICS, INC., US (74) Mandatar autorizat: CORCODEL Angela	

(54) Procedee de preparare de oligomeri

(57) Rezumat:

Sunt furnizate procedee pentru prepararea unui oligomer (de exemplu, un oligomer morfolino). Procedeele de sinteză descrise aici pot fi avantajoase pentru extinderea sintezei oligomerului, menținând în același timp randamentul general și puritatea unui oligomer sintetizat.

Revendicări: 14
Figuri: 3

MD/EP 3464305 T2 2025.01.31

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de titular)****CERERI ÎNRUDITE**

Această cerere revendică beneficiul cererii provizorii de brevet US nr. 62/508.256, depusă în 18 mai, 2017; cererea provizorie de brevet US nr. 62/341.049 depusă în 24 mai, 2016; cererea provizorie de brevet US nr. 62/356.923, depusă în 30 iunie, 2016; cererea provizorie de brevet US nr. 62/357.072, depusă în 30 iunie, 2016; cererea provizorie de brevet US nr. 62/357.153, depusă în 30 iunie, 2016; și cererea provizorie de brevet US nr. 62/357.166, depusă în 30 iunie, 2016.

FONDUL INVENȚIEI

Tehnologia antisens oferă un mijloc pentru modularea expresiei unuia sau mai multor produse genetice specifice, inclusiv produse alternative de îmbinare, și este utilă în mod unic într-un număr de aplicații terapeutice, de diagnostic și de cercetare. Principiul din spatele tehnologiei antisens este că un compus antisens, de ex., o oligonucleotidă, care hibridizează la un acid nucleic țintă, modulează activitățile de expresie a genelor, cum ar fi transcripția, splicarea sau translația prin oricare dintre mecanismele antisens. Specificitatea secvenței compușilor antisens îi face atractivi ca instrumente pentru validarea țintei și funcționalizarea genei, precum și ca agenți terapeutici pentru a modula selectiv expresia genelor implicate în boală.

Distrofia musculară Duchenne (DMD) este cauzată de un defect în exprimarea proteinei distrofina. Gena care codifică proteina conține 79 de exoni răspândiți pe peste 2 milioane de nucleotide de ADN. Orice mutație exonică care schimbă cadrul de citire al exonului sau introduce un codon de stopare sau este caracterizată prin îndepărtarea unui întreg exon sau exoni în afara cadrului, sau dublări ale unuia sau mai multor exoni, are potențialul de a perturba producția de distrofina funcțională, rezultând DMD.

Studiile clinice recente care testează siguranța și eficacitatea oligonucleotidelor de comutare (SSO) pentru tratamentul DMD se bazează pe tehnologia SSO pentru a induce splicarea alternativă a pre-ARNm prin blocarea sterică a spliceozomului (Cirak et al., 2011; Goemans et al., 2011; Kinali et al., 2009; van Deutekom et al., 2007). Cu toate acestea, în ciuda acestor succese, opțiunile farmacologice disponibile pentru tratarea DMD sunt limitate.

Eteplirsen este un morfolino oligomer de fosforodiamidat (PMO) conceput pentru a omite exonul 51 al genei distrofinei umane la pacienții cu DMD care pot fi modificați la exonul 51 pentru a restabili cadrul de citire și a produce o formă funcțională mai scurtă a proteinei distrofina. Sarepta Therapeutics, Inc., a depus o cerere de medicamente noi (NDA) la Administrația pentru Alimente și Medicamente din Statele Unite (FDA) pentru a solicita aprobarea pentru tratamentul DMD la pacienții la care pot fi modificări la omiterea exonului 51. NDA Sarepta este în prezent în curs de revizuire de către FDA.

WO2013/082551 A1 descrie utilizarea unui compus antisens pentru inducerea incluziunii exonilor ca tratament pentru atrofia musculară spinală (SMA). Mai particular, se referă la inducerea includerii exonului 7 pentru a restabili nivelurile proteinei neuronului motor de supraviețuire (SMN) codificată de gena neuronului motor de supraviețuire (SMN). Acest document prezintă în continuare procedeele pentru producerea de oligonucleotide morfolino antisens.

WO 2014/153240 A2 descrie molecule antisens capabile să se lege la un situs țintă selectat din gena distrofinei umane pentru a induce omiterea exonului 53. Acest document prezintă în continuare procedeele pentru producerea de oligonucleotide morfolino antisens.

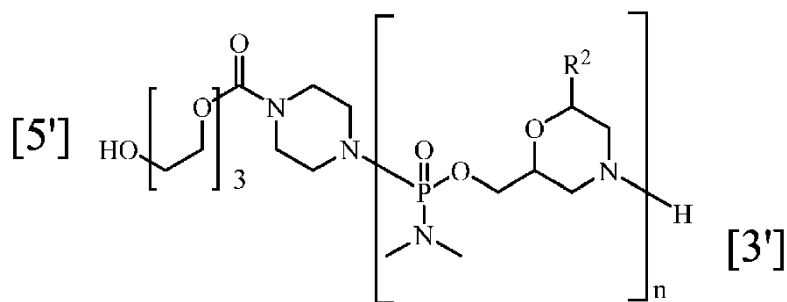
WO 2011/150408 A2 dezvăluie oligonucleotide antisens utile pentru tratamentul bolilor în care inhibarea exprimării proteinei sau corectarea produselor de îmbinare a ARNm aberante produce efecte terapeutice benefice. Acest document prezintă în continuare procedeele pentru producerea de oligonucleotide morfolino antisens.

Deși s-au făcut progrese semnificative în domeniul tehnologiei antisens, în domeniu rămâne nevoie de metode de preparare a oligomerilor morfolino fosforodiamidat cu performanță antisens sau antigenă îmbunătățită.

REZUMAT

Aici sunt furnizate procedee pentru prepararea de oligomeri morfolino fosforodiamidați (PMO). Procedeele de sinteză descrise aici permit o sinteză extinsă de PMO, menținând în același timp randamentul general și puritatea unui PMO sintetizat.

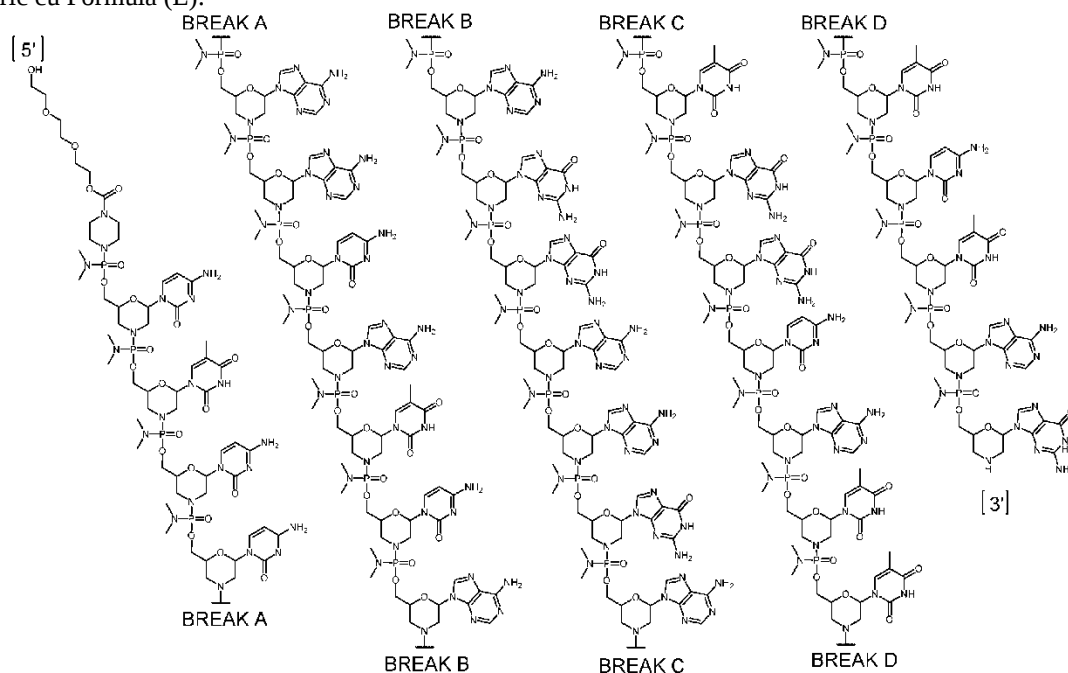
Prezenta invenție furnizează un procedeu pentru prepararea unui compus oligomeric cu Formula (A):



(A),

sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, în care R^2 și n sunt așa cum sunt definite aici.

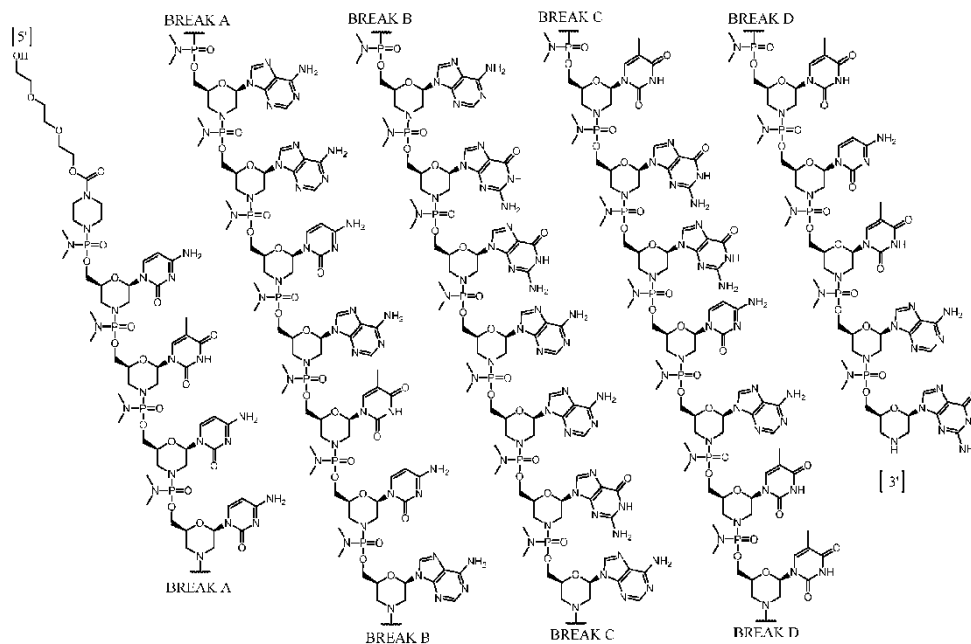
În anumite variante de realizare, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus oligomeric cu Formula (E):



(E),

sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia.

Într-un alt exemplu de realizare, compusul oligomeric din dezvăluire care include, de exemplu, unele exemple de realizare ale unui compus oligomeric cu Formula (E), este un compus oligomeric cu Formula (XII):



(XII),

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Pentru claritate, formulele structurale care includ, de exemplu, compusul oligomeric cu Formula (E) și Eteplirsen descrise prin Formula (XII), sunt o formulă structurală continuă de la 5' până la 3' și, pentru comoditatea descrierii întregii formule într-o formă compactă în formulele structurale de mai sus, Solicitanții au inclus diverse pauze ilustrative etichetate „BREAK A”, „BREAK B”, „BREAK C” și „BREAK D”. Așa cum ar fi înțeles de către specialistul în domeniu, de exemplu, fiecare indicație a „BREAK A” arată o continuare a ilustrării formulei structurale în aceste puncte. Specialistul în domeniu înțelege că același lucru este valabil pentru fiecare exemplu de „BREAK B”, „BREAK C” și „BREAK D” în formulele structurale de mai sus, inclusiv Eteplirsen. Niciuna dintre rupturile ilustrației, totuși, nu este destinată să indice și nici un specialist în domeniu nu le-ar înțelege ca să însemne, o întrerupere reală a formulelor structurale de mai sus, inclusiv Eteplirsen.

SCURTĂ DESCRIERE A FIGURILOR

Figura 1 prezintă o cromatogramă de cromatografie lichidă analitică de înaltă performanță (HPLC) reprezentativă a unei substanțe medicamentoase brute Eteplirsen (AVI-4658) sintetizată și deprotejtă (vezi Exemplul 4).

Figura 2 prezintă o cromatogramă HPLC analitică reprezentativă a unei soluții purificate de substanță medicamentoasă Eteplirsen (vezi Exemplul 5).

Figura 3 prezintă o cromatogramă HPLC analitică reprezentativă a unei substanțe medicamentoase Eteplirsen desarate și liofilizate (vezi Exemplul 5).

DESCRIERE DETALIATĂ

Aici sunt furnizate procedee pentru prepararea unui oligomer morfolino. Oligomerul morfolino descris aici prezintă o afinitate mai puternică pentru ADN și ARN fără a compromite selectivitatea secvenței, în raport cu oligonucleotidele native sau nemodificate. În unele variante de realizare, oligomerul morfolino din dezvăluire minimizează sau previne scindarea de către RNaza H. În unele realizări, oligomerul morfolino din dezvăluire nu activează RNaza H.

Procedeele descrise aici sunt avantajoase într-un procedeu la scară industrială și pot fi aplicate la prepararea cantităților de oligomer morfolino cu randament și la scară mare (de ex., aproximativ 1 kg, aproximativ 1-10 kg, aproximativ 2-10 kg, aproximativ 5-20 kg, aproximativ 10-20 kg sau aproximativ 10-50 kg).

Definiții

Mai jos sunt enumerate definițiile diferiților termeni folosiți pentru a descrie această dezvăluire. Aceste definiții se aplică termenilor așa cum sunt utilizați în această specificație și revendicări, cu excepția cazului în care sunt limitate altfel în cazuri specifice, fie individual, fie ca parte a unui grup mai mare.

„Bază protejtă” sau „protecție de bază” se referă la protecția grupărilor de împerechere de baze, de ex., baze purinice sau pirimidinice, pe subunitățile morfolino cu grupări de protecție adecvate pentru a preveni reacția sau interferența grupărilor de împerechere de baze în timpul sintezei oligomerului în etape.

Un exemplu de subunitate morfolino cu bază protejată este compusul (C) subunității C activate având o grupare de protecție CBZ pe gruparea amino citozină descrisă mai jos.

O „grupare fosforamidat activată” este în mod tipic o grupare clorofosforamidat, având substituție la azot care este dorită în eventuala legătură fosforodiamidat în oligomer. Un exemplu este

Termenul „legat la suport” se referă la o entitate chimică care este legată covalent la un mediu suport.

Termenul "mediu suport" se referă la orice material incluzând, de exemplu, orice particulă, granulă sau suprafață, pe care un oligomer poate fi atașat sau sintetizat sau poate fi modificat pentru atașarea sau sinteza unui oligomer. Substraturile reprezentative includ, dar nu se limitează la, suporturi anorganice și suporturi organice, cum ar fi sticla și sticla modificată sau funcționalizată, materiale plastice (inclusiv acrilice, polistiren și copolimeri de stiren și alte materiale, polipropilenă, polietilenă, polibutilenă, poliuretan, TEFLON etc.), polizaharide, nailon sau nitroceluloză, ceramică, rășini, silice sau materiale pe bază de silice, inclusiv siliciu și siliciu modificat, carbon, metale, sticlă anorganică, materiale plastice, fascicule de fibre optice și o varietate de alți polimeri. Suprafețele suport deosebit de utile și solide pentru unele exemple de realizare sunt amplasate în interiorul unui aparat cu celule de flux. În unele realizări ale procedeele descrise aici, mediul suport cuprinde polistiren cu divinilbenzen 1% reticulat.

În unele variante de realizare, mediul suport reprezentativ cuprinde cel puțin un situs reactiv pentru atașarea sau sinteza unui oligomer. De exemplu, în unele variante de realizare, un mediu suport al dezvăluirii cuprinde una sau mai multe grupări amino sau hidroxil terminale capabile să formeze o legătură chimică cu o subunitate de intrare sau altă grupare activată pentru atașarea sau sintetizarea unui oligomer.

Unele medii de suport reprezentative care sunt adaptabile la procesele descrise aici includ, dar nu sunt limitate la, următoarele: sticla cu pori controlați (CPG); sticla cu pori controlați de oxalil (vezi, de ex., Alul și colab., Nucleic Acids Research 1991, 19, 1527); particule care conțin silice, cum ar fi mărgelile poroase de sticlă și silicagel, cum ar fi cele formate prin reacția triclor-[3-(4-clormetil)fenil]propilsilanului și sticlă poroasă (vezi Parr și Grohmann, Angew. Chem. Internatl. Ed. 1972, 11, 314, vândut sub marca comercială „PORASIL E” de către Waters Associates, Framingham, Mass., SUA); un monoester al 1,4-dihidroximetilbenzenului și silicei (vezi Baier și Jung, Tetrahedron Lett. 1970, 51, 4503, vândut sub marca comercială „BIOPAK” de către Waters Associates); TENTAGEL (vezi, de ex., Wright et al., Tetrahedron Lett. 1993, 34, 3373); matrice cu perle de copolimer stiren/divinilbenzen reticulat sau POROS, un copolimer de polistiren/divinilbenzen (disponibil de la PerSeptive Biosystems); mediu suport solubil, cum ar fi PEG-uri de polietilenglicol (vezi Bonora et al., Organic Process Research & Development 2000, 4, 225-231); suport PEPS, care este o peliculă de polietilenă (PE) cu grefe de polistiren cu lanț lung (PS). (vezi Berg et al., J. Am. Chem. Soc. 1989, 111, 8024 și cererea internațională de brevet WO 1990/02749); copolimeri de dimetilacrilamidă reticulată cu N,N'-bisacriloletilendiamină, inclusiv o cantitate cunoscută de N-terțbutoxicarbonil-beta-alanil-N'-acriloletilendiamină (vezi Atherton et al., J. Am. Chem. Soc. 1975, 97, 6584, Atherton et al., Bioorg. Chem. 1979, 8, 351, și Atherton et al., J. Chem. Soc. Perkin 11981, 538); particule de sticlă acoperite cu un polimer de stiren reticulat hidrofob (vezi Scott et al., J. Chrom. Sci. 1971, 9, 577); polimer de etilenă fluorurat pe care a fost grefat polistiren (vezi Kent and Merrifield, Israel J. Chem. 1978, 17, 243 și van Rietschoten in Peptides 1974, i. Wolman, Ed., Wiley and Sons, New iork, 1975, pp. 113-116); membrane de polipropilenă acoperite de hidroxipropilacrilat (Daniels et al., Tetrahedron Lett. 1989, 4345); tije de polietilenă grefată cu acid acrilic (Geisen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1984, 81, 3998); un "sac de ceai" conținând perle de polimer utilizate tradițional (Houghten, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1985, 82, 5131); și combinații ale acestora.

Termenul "aparat cu celulă în curgere" se referă la o cameră care cuprinde o suprafață (de ex., suprafață solidă) prin care pot fi trecute unul sau mai mulți reactivi fluizi (de ex., lichid sau gaz).

Termenul "agent de deblocare" se referă la o compoziție (de exemplu, o soluție) care cuprinde un acid chimic sau o combinație de acizi chimici pentru îndepărtarea grupărilor protectoare. Exemple de acizi chimici utilizați în agenții de deblocare includ acizi halogenați, de ex., acid cloracetic, acid dicloracetic, acid tricloroacetic, acid fluoroacetic, acid difluoroacetic și acid trifluoroacetic. În unele variante de realizare, un agent de deblocare îndepărtează una sau mai multe grupări tritol, de exemplu, un oligomer, un oligomer legat de suport, o subunitate legată de suport sau alt fragment protejat de azot sau oxigen.

Termenii "halogen" și "halo" se referă la un atom selectat din grupul constând din fluor, clor, brom și iod.

Termenul "agent de acoperire" se referă la o compoziție (de ex., o soluție) care cuprinde o anhidridă acidă (de ex., anhidridă benzoică, anhidridă acetică, anhidridă fenoxiacetică și altele asemenea) utilă pentru blocarea uneia citite reactive de, de exemplu, un suport - mediu care formează o legătură chimică cu o subunitate de intrare sau alt grup activat.

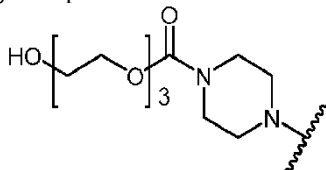
Termenul "agent de scindare" se referă la o compoziție (de ex., o soluție lichidă sau un amestec gazos) care cuprinde o bază chimică (de ex., amoniac sau 1,8-diazabicycloundec-7-enă) sau o combinație de baze chimice utile pentru scindare, de exemplu, un oligomer legat de suport dintr-un mediu suport.

Termenul „agent de deprotecție” se referă la o compoziție (de ex., o soluție lichidă sau un amestec gazos) care cuprinde o bază chimică (de ex., amoniac, 1,8-diazabicycloundec-7-enă sau carbonat de potasiu) sau o combinație de baze chimice utile pentru eliminarea grupărilor protectoare. De exemplu, un agent de deprotecție, în unele exemple de realizare, poate îndepărta protecția de bază de la, de exemplu, o subunitate morfolino, subunități morfolino ale unui oligomer morfolino sau versiuni ale acestora legate de suport.

Termenul „solvent” se referă la o componentă a unei soluții sau a unui amestec în care este solubil un dizolvat. Solvenții pot fi anorganici sau organici (de ex., acid acetic, acetonă, acetonitril, acetyl acetona, 2-aminoetanol, anilină, anisol, benzen, benzonitril, alcool benzilic, 1-butanol, 2-butanol, i-butanol, 2-butanonă, alcool t-butilic, disulfură de carbon, tetraclorură de carbon, clorbenzen, cloroform, ciclohexan, ciclohexanol, ciclohexanonă, di-n-butylftalat, 1,1-diclorețan, 1,2-diclorețan, dietilamină, dietilen glicol, diglimă, dimetoximetan (glimă), N,N-dimetilanilină, dimetilformamidă, dimetilftalat, dimetilsulfoxid, dioxan, etanol, eter, acetat de etil, acetoacetat de etil, benzoat de etil, etilen glicol, glicerină, heptan, 1-heptanol, hexan, acetat de etil, metil-1-hexan metil t-butil eter, clorură de metilen, 1-octanol, pentan, 1-pentanol, 2-pentanol, 3-pentanol, 2-pentanonă, 3-pentanonă, 1-propanol, 2-propanol, piridină, tetrahidrofuran, toluen, apă, p-xilen).

Expresiile „oligomer morfolino” și „oligomer morfolino fosforodiamidat” sau „PMO” se referă la un oligomer având subunități morfolino legate între ele prin legături fosforodiamidat, unind azotul morfolino al unei subunități la carbonul 5'-exociclic al unei subunități adiacente. Fiecare subunitate morfolino cuprinde o porțiune de împerechere nucleobază eficientă pentru a se lega, prin legături de hidrogen specifice nucleobazei, la o nucleobază dintr-o țintă.

Termenul „coadă EG3” se referă la fragmente de trietilenglicol conjugate la oligomer, de ex., la capătul său 3' sau 5'. De exemplu, în unele exemple de realizare, „coada EG3” conjugată la capătul 3' al unui oligomer poate avea structura:



În anumite exemple de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele descrise poate avea o lungime de la 10 până la 40 de nucleotide, 10 până la 30 de nucleotide, 10 până la 25 de nucleotide, 10 până la 24 de nucleotide, 10 până la 23 de nucleotide, 10 până la 22 de nucleotide, 10 până la 21 de nucleotide, 10 până la 20 de nucleotide, 15 până la 30 de nucleotide, 15 până la 25 de nucleotide, 15 până la 24 de nucleotide, 15 până la 23 de nucleotide, 15 până la 22 de nucleotide, 15 până la 21 de nucleotide, 15 până la 20 de nucleotide, 20 până la 30 de nucleotide, 20 până la 25 de nucleotide, 20 până la 24 de nucleotide, 20 până la 23 de nucleotide sau 20 până la 22 de nucleotide în lungime, inclusiv toate numerele întregi cuprinse între aceste intervale. De preferință, un compus oligomeric preparat prin metodele descrise este de 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, sau 40 nucleotide în lungime. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 20 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 21 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 22 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 23 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 24 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 25 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 26 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 27 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 28 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 29 de nucleotide. În unele variante de realizare, un compus oligomeric preparat prin metodele din dezvoltare are o lungime de 30 de nucleotide.

În consecință, în unele variante de realizare ale compuşilor oligomerici preparați prin metodele dezvoltării, incluzând, de exemplu, realizări ale compuşilor oligomerici cu Formula (A), n este un număr întreg cuprins între 10 până la 40, 10 până la 30, 10 până la 25, 10 până la 24, 10 până la 23, 10 până la 22, 10 până la 21, 10 până la 20, 15 până la 30, 15 până la 25, 15 până la 24, 15 până la 23, 15 până la 22, 15

până la 21, 15 până la 20, 20 până la 30, 20 până la 25, 20 până la 24, 20 până la 23, sau 20 până la 22. În anumite variante de realizare, n este 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, sau 40. În unele variante de realizare, n este 10. În unele variante de realizare, n este 11. În unele variante de realizare, n este 12. În unele variante de realizare, n este 15. În unele variante de realizare, n este 18. În unele variante de realizare, n este 20. În unele variante de realizare, n este 21. În unele variante de realizare, n este 22. În unele variante de realizare, n este 23. În unele variante de realizare, n este 24. În unele variante de realizare, n este 25. În unele variante de realizare, n este 26. În unele variante de realizare, n este 27. În unele variante de realizare, n este 28. În unele variante de realizare, n este 29. În unele variante de realizare, n este 30.

Termenii „aproximat” sau „aproximativ” sunt în general înțeleși de către persoanele cu cunoștințe în domeniul relevant, dar în anumite circumstanțe pot însemna în $\pm 10\%$, sau în $\pm 5\%$, dintr-o anumită valoare sau interval.

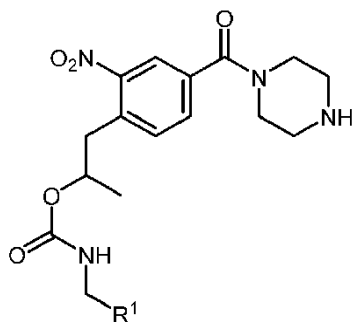
Procedee de preparare a oligomerilor morfolino

Sinteza este în general preparată, așa cum este descris aici, pe un mediu suport. În general, un prim sinton (de ex., un monomer, cum ar fi o subunitate morfolino) este mai întâi atașat la un mediu suport, și oligomerul este apoi sintetizat prin cuplarea secvențială a subunităților la sintonul legat de suport. Această alungire iterativă are ca rezultat în cele din urmă un compus oligomeric final. Mediile suport adecvate pot fi solubile sau insolubile sau pot avea solubilitate variabilă în diferiți solvenți pentru a permite polimerului în creștere legat de suport să fie fie în soluție, fie în afara acesteia, după cum se dorește. Mediile suport tradiționale sunt în cea mai mare parte insolubile și sunt plasate în mod obișnuit în vase de reacție, în timp ce reactivii și solvenții reacționează cu și/sau spală lanțul de creștere până când oligomerul atinge lungimea țintă, după care oligomerul este scindat din suport și, dacă este necesar, prelucrat în continuare pentru a produce compusul polimeric final. Abordări mai recente au introdus suporturi solubile, inclusiv suporturi polimerice solubile, pentru a permite precipitarea și dizolvarea produsului sintetizat iterativ în punctele dorite ale sintezei (Gravert și colab., Chem. Rev. 1997, 97,489-510).

Aici sunt furnizate procedee pentru prepararea oligomerilor morfolino.

Astfel, într-un aspect, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus cu Formula

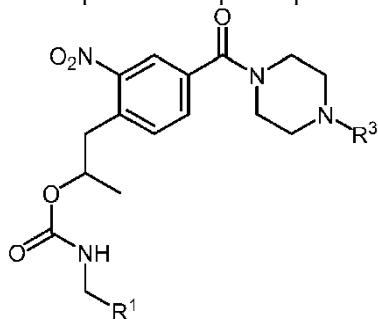
(II):



(II);

în care R^1 este un suport-mediu;

în care procedeul cuprinde punerea în contact a unui compus cu Formula (A1):

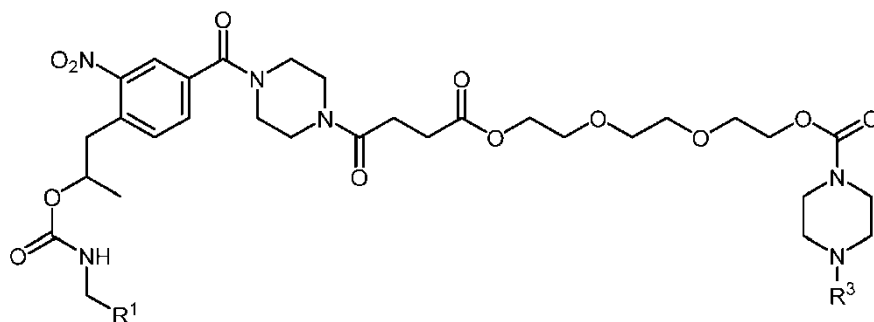


(A1);

în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritol, dimetoxitritol și trimetoxitritol;

cu un agent de deblocare pentru a forma compusul cu Formula (II).

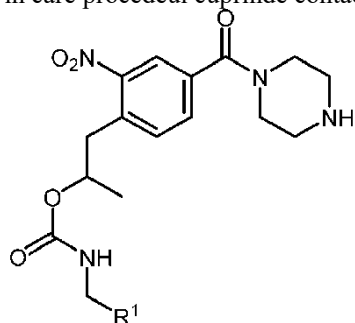
Într-un alt aspect, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus cu Formula (A3):



(A3);

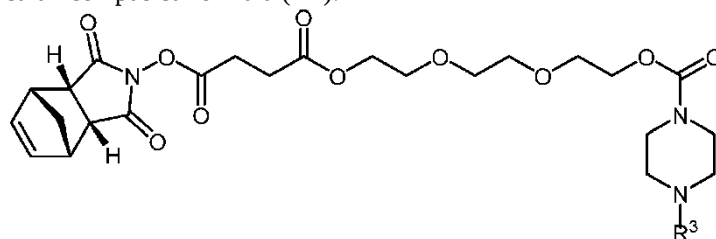
în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;

în care procedeul cuprinde contactarea unui compus cu Formula (II):



(II);

în care R^1 este un suport-mediu;
cu un compus cu formula (A2):

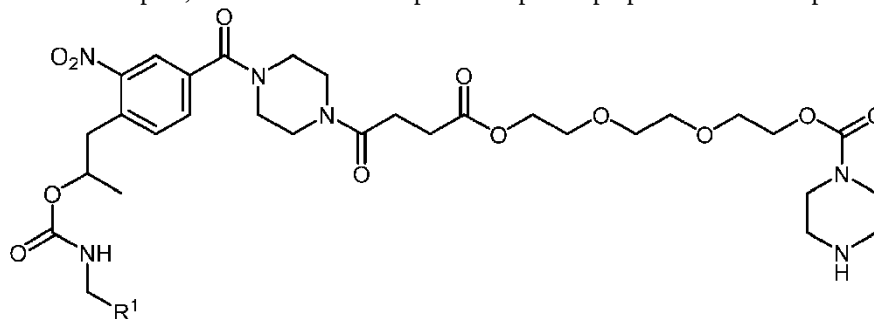


(A2);

în care R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;

pentru a forma compusul cu Formula (A3).

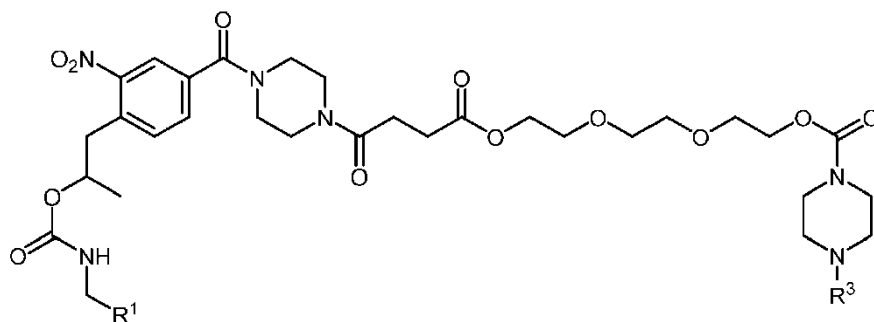
Într-un alt aspect, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus cu Formula (IV):



(IV);

în care R^1 este un suport-mediu;

în care procedeul cuprinde punerea în contact a unui compus cu Formula (A3):

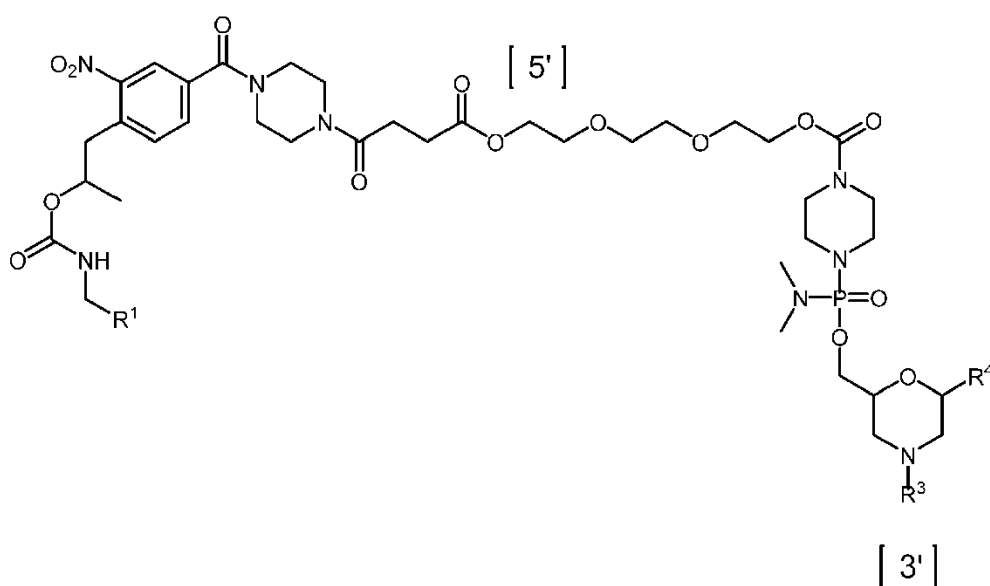


(A3);

în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;

cu un agent de deblocare pentru a forma compusul cu Formula (VI).

5 Încă într-un alt aspect, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus cu Formula (A5):

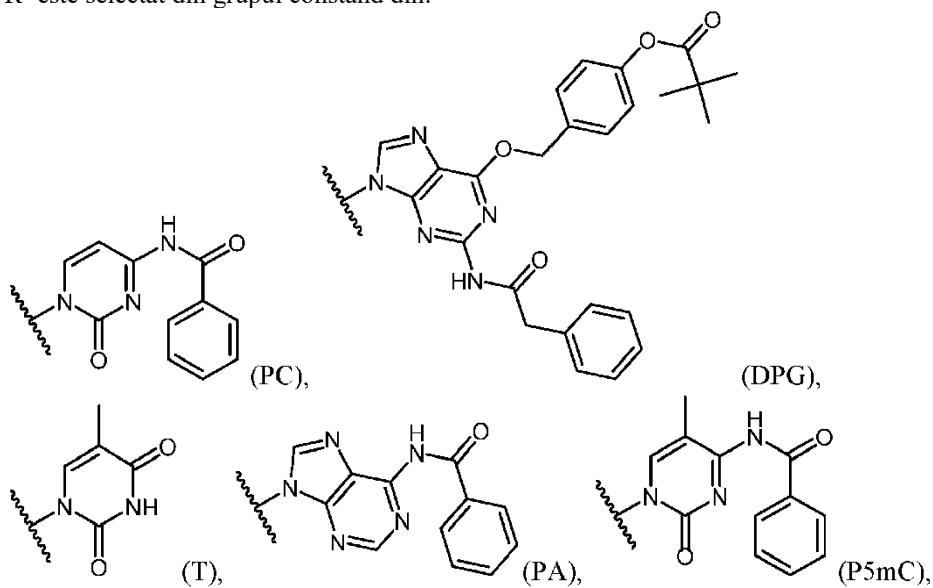


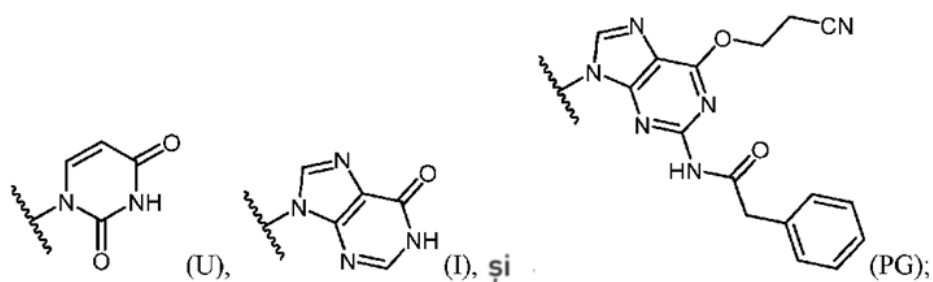
(A5);

în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

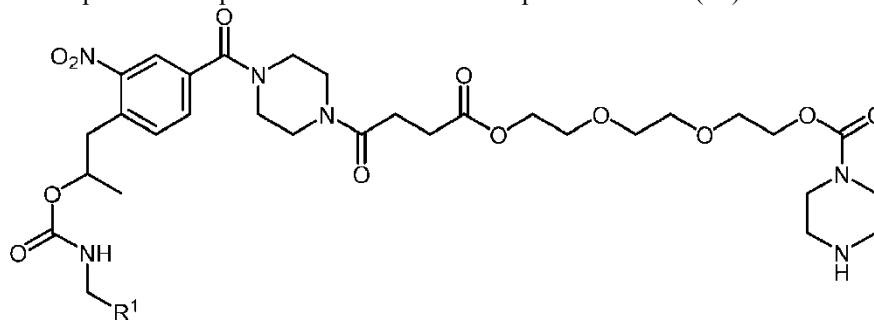
R^4 este selectat din grupul constând din:

10





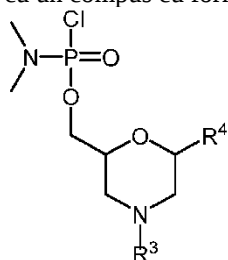
în care procedeul cuprinde contactarea unui compus cu Formula (IV):



(IV);

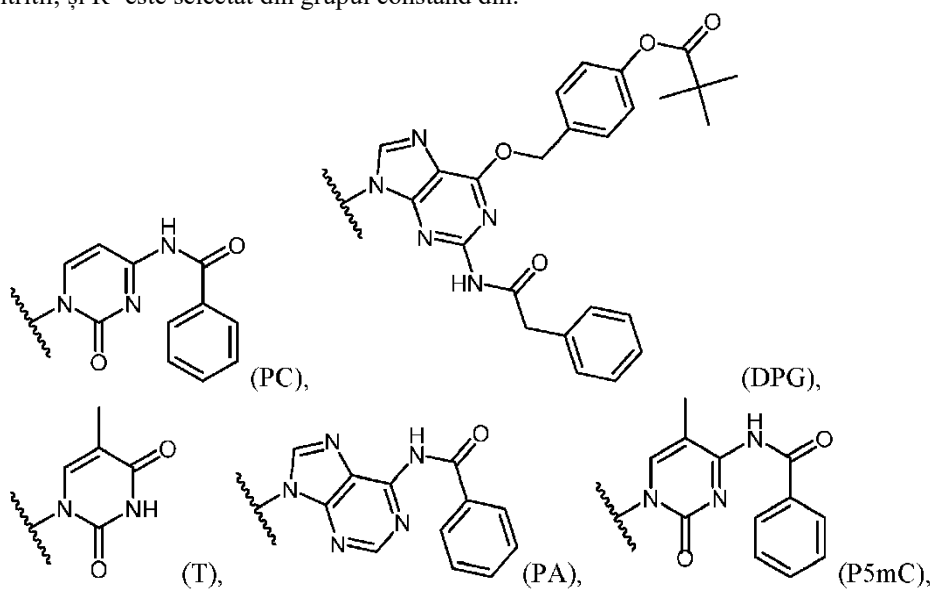
5

în care R^1 este un suport-mediu;
cu un compus cu formula (A4):

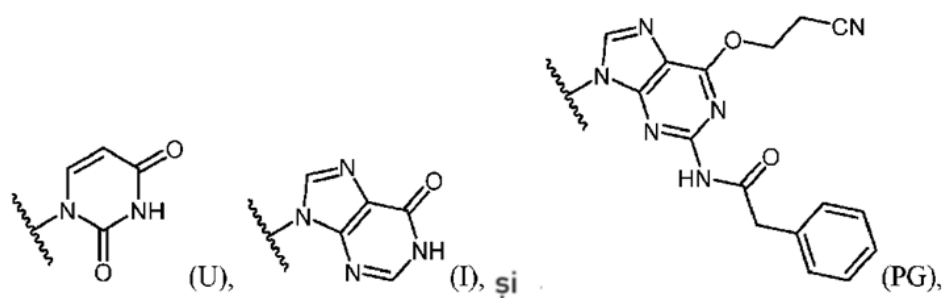


(A4);

în care R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și R^4 este selectat din grupul constând din:

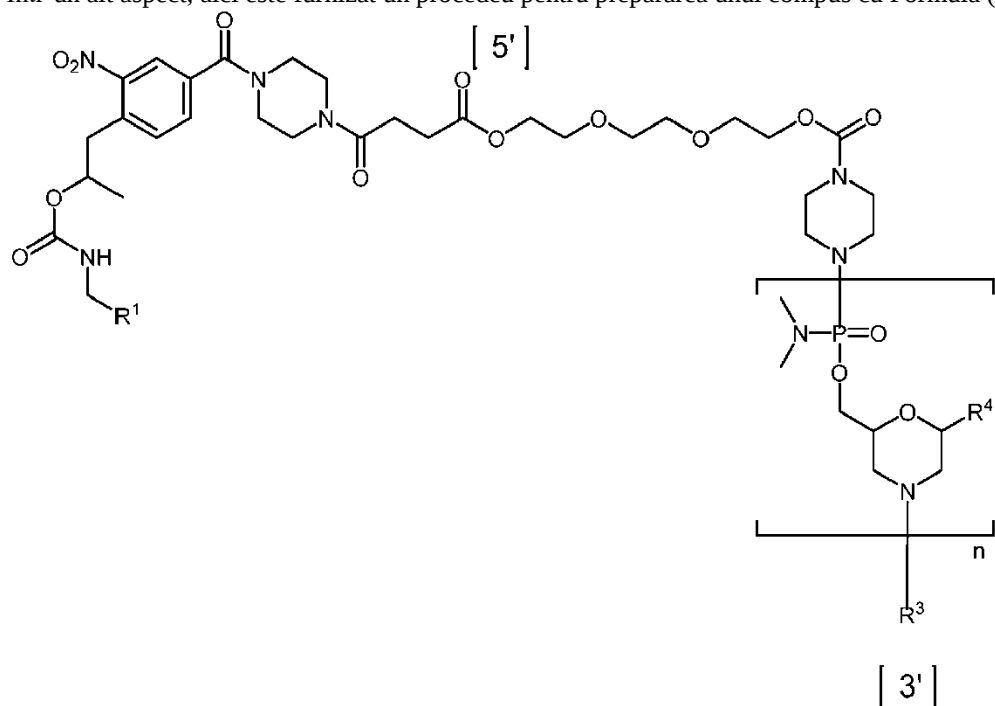


10



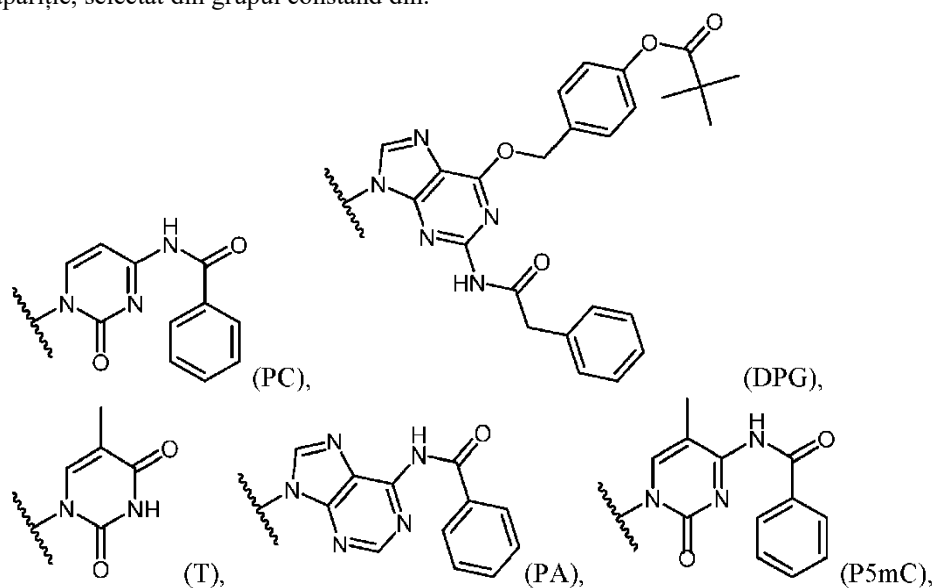
pentru a forma un compus cu Formula (A5).

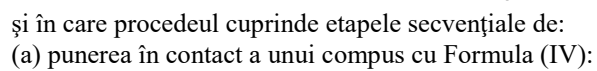
Într-un alt aspect, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus cu Formula (A9):



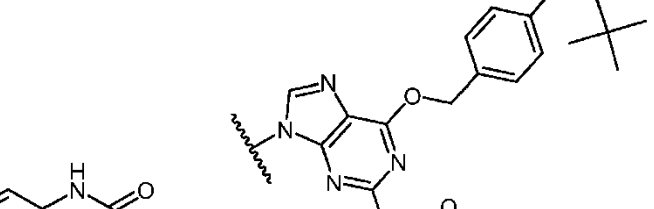
(A9);

- 5 în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, R¹ este un mediu suport, R³ este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil și R⁴ este, independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

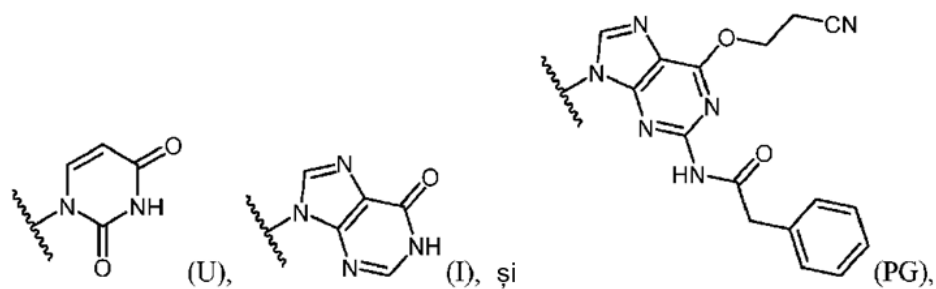


ClP(=O)(N(C)(C)C)OCC1CCN(R3)CC1R4

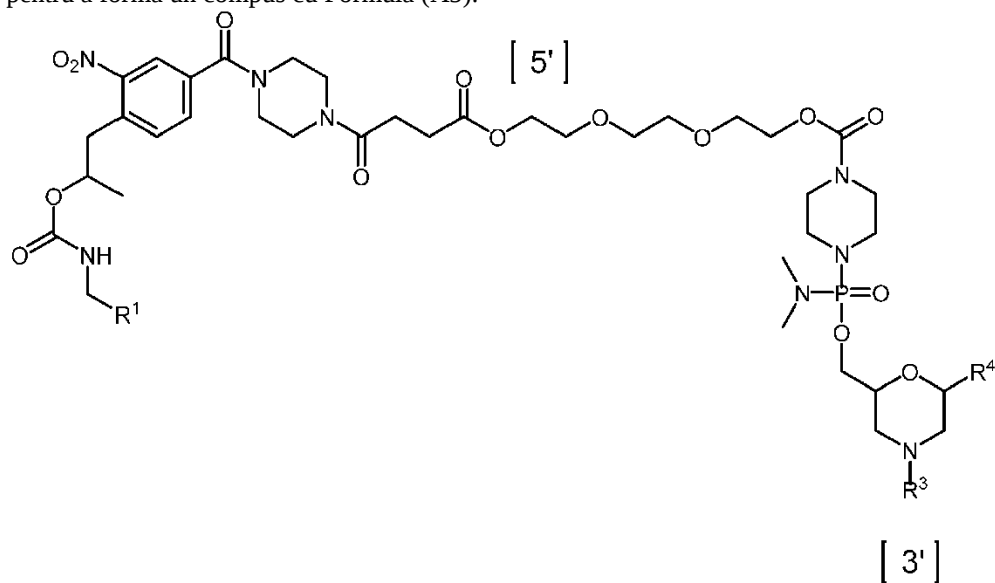
(A4);



 (PC), (PA), (T), (DPG), (P5mC),

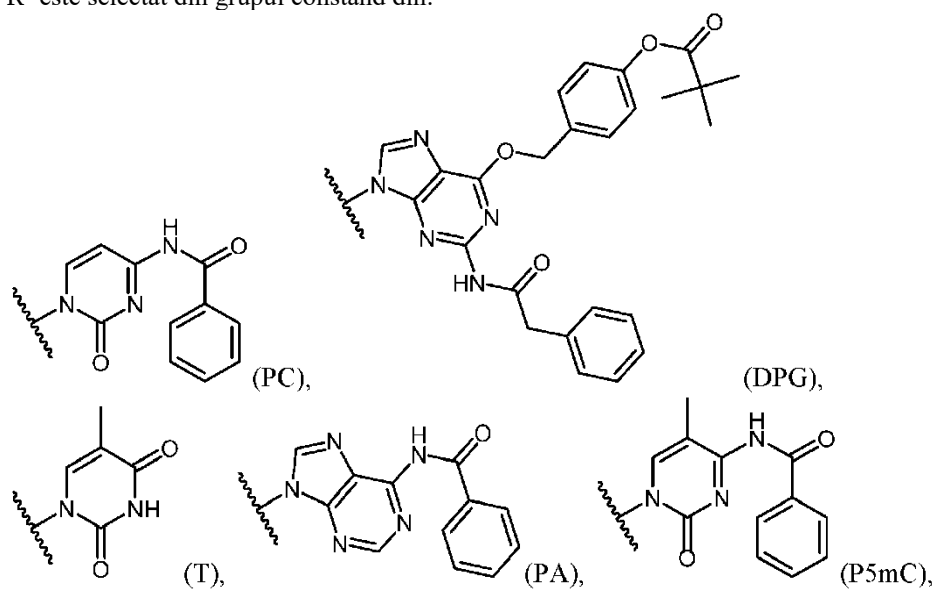


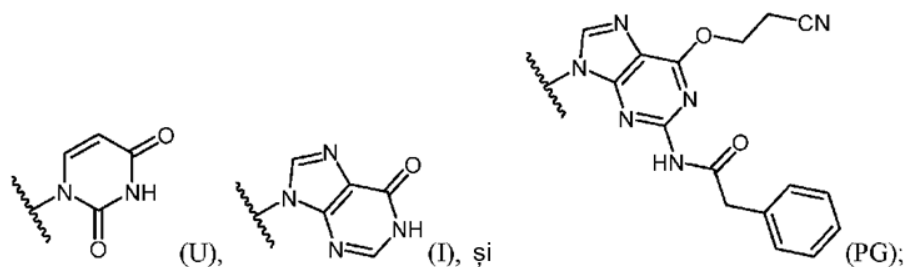
pentru a forma un compus cu Formula (A5):



(A5);

- 5 în care R¹ este un mediu suport și R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și
R⁴ este selectat din grupul constând din:





și

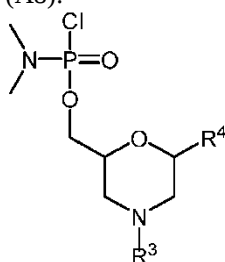
(b) efectuarea de n-1 iterații ale etapelor secvențiale ale:

(b 1) punerea în contact a produsului format prin etapa imediat anterioară cu un agent de deblocare;

5 și

(b2) punerea în contact a compusului format prin etapa imediat anterioară cu un compus cu

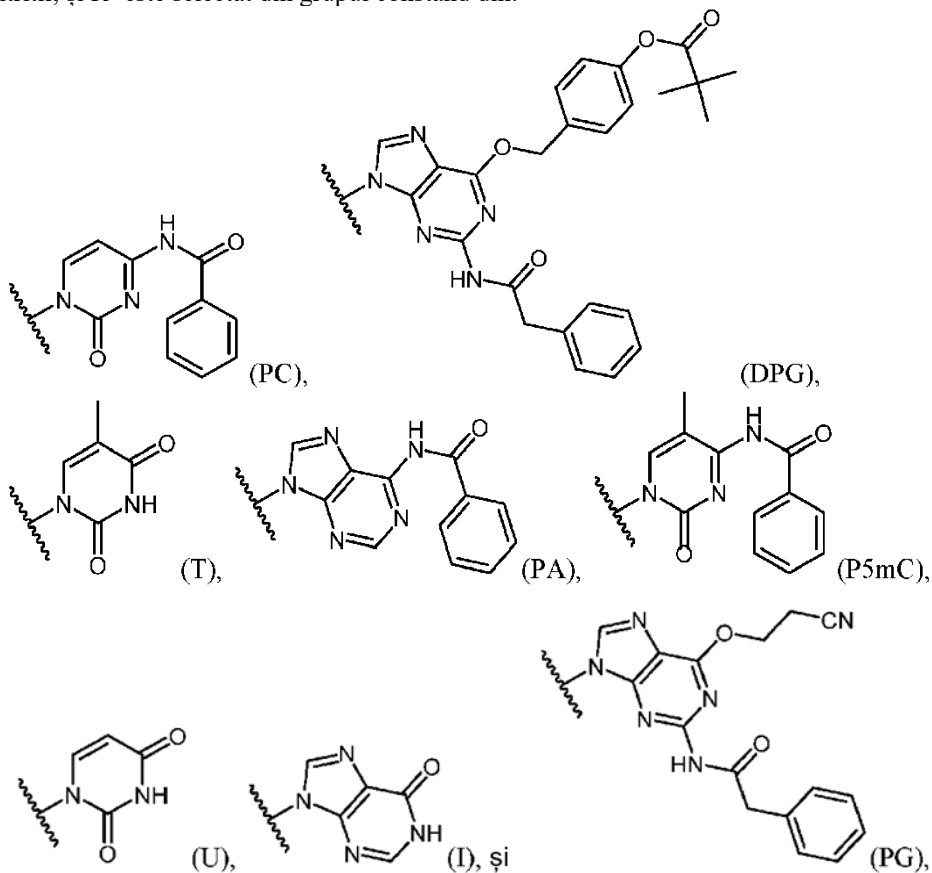
Formula (A8):



(A8);

în care R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și R^4 este selectat din grupul constând din:

10

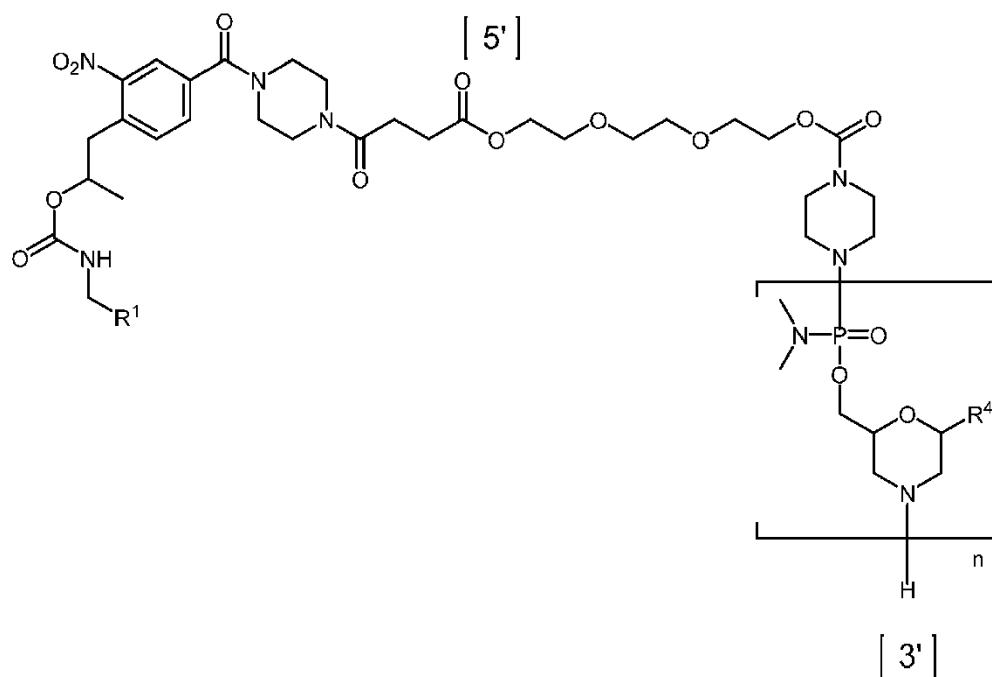


pentru a forma un compus cu Formula (A9).

Încă într-un alt aspect, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus cu Formula

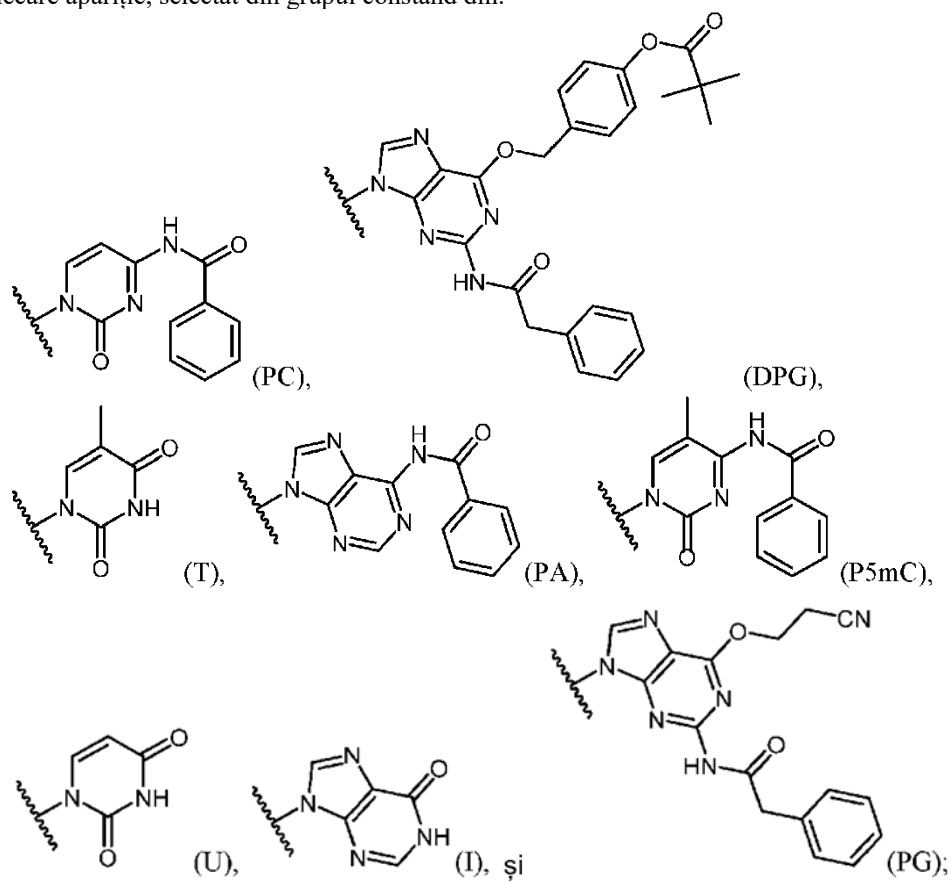
15

(A10):

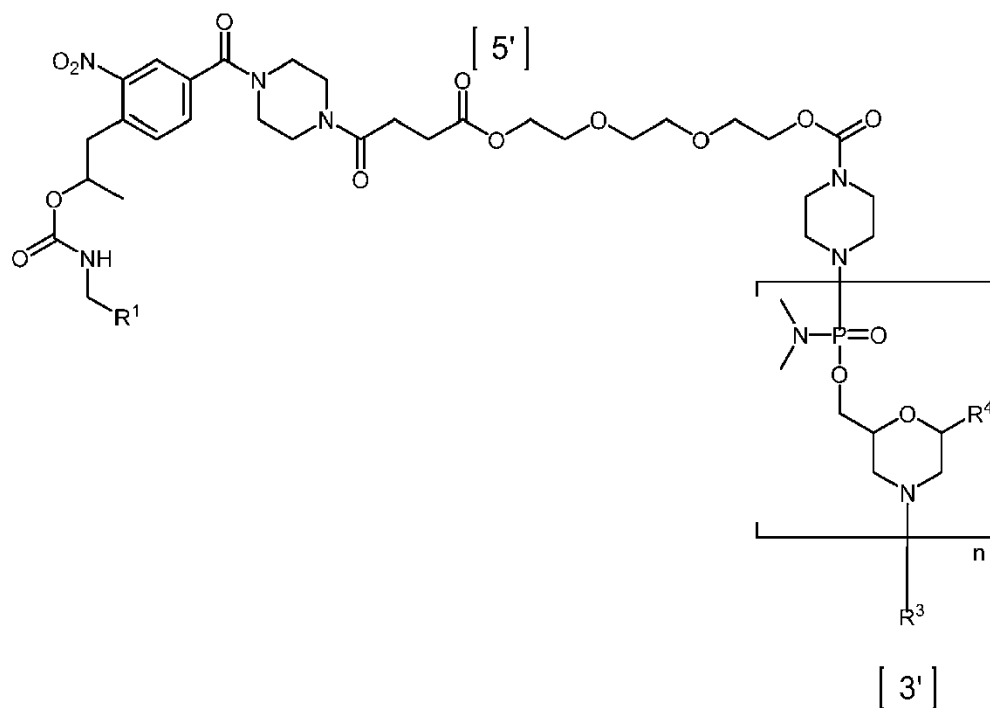


(A10);

în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, R^1 este un mediu suport, și R^4 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

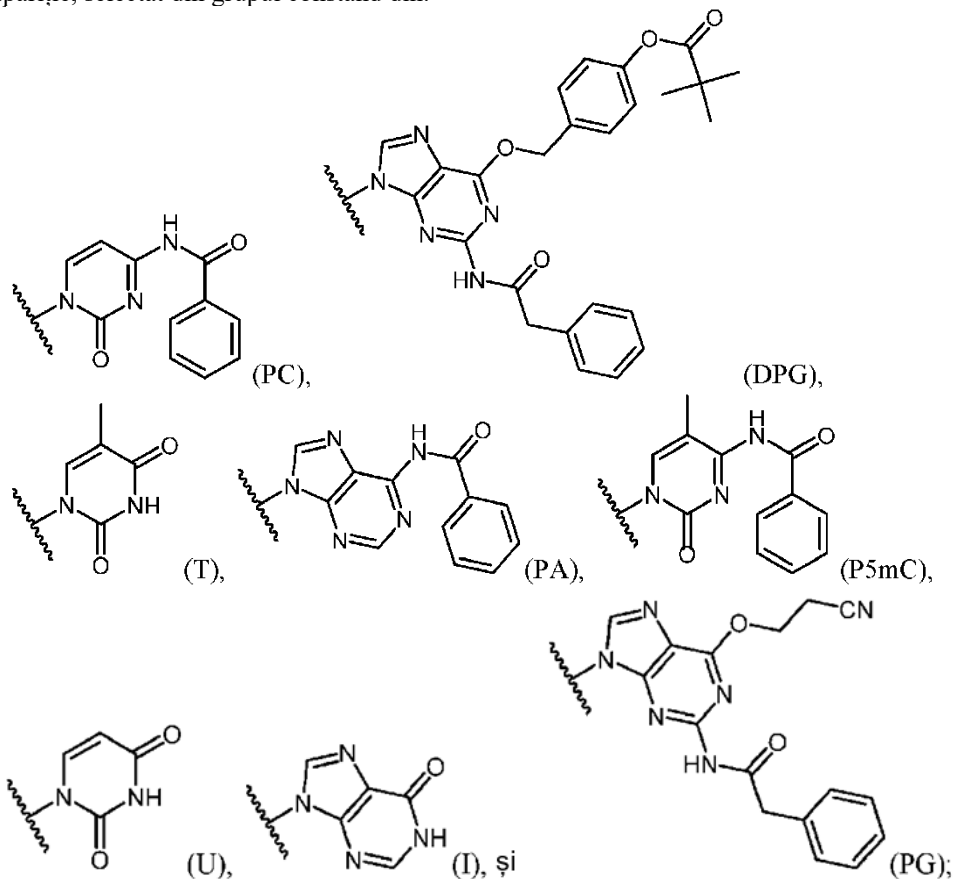


în care procedeul cuprinde punerea în contact a unui compus cu Formula (A9):



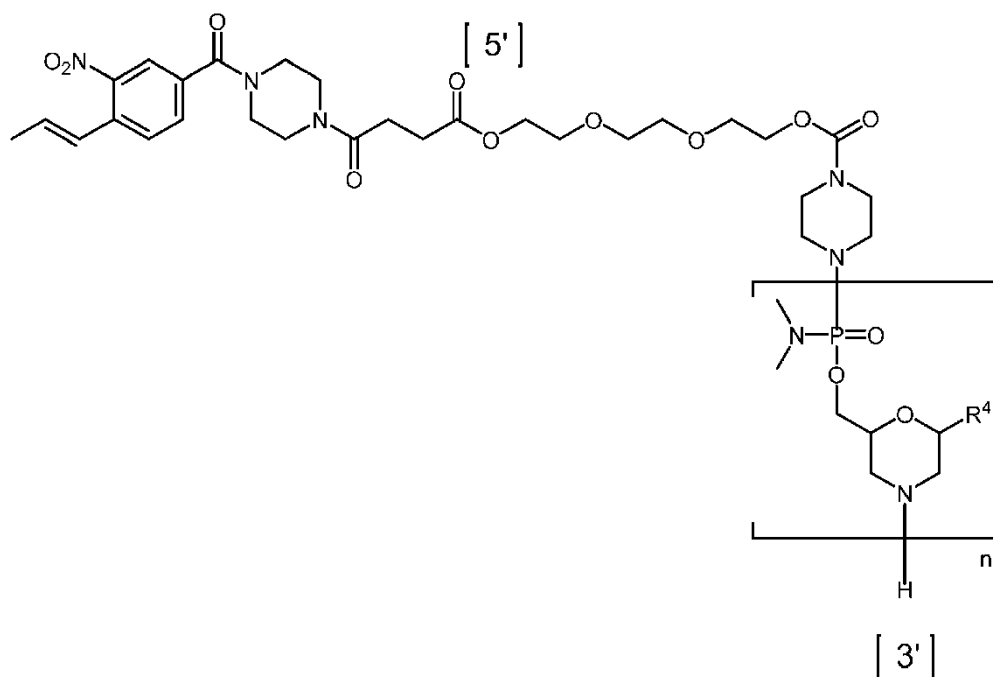
(A9);

în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, R^1 este un mediu suport, R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil și R^4 este, independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



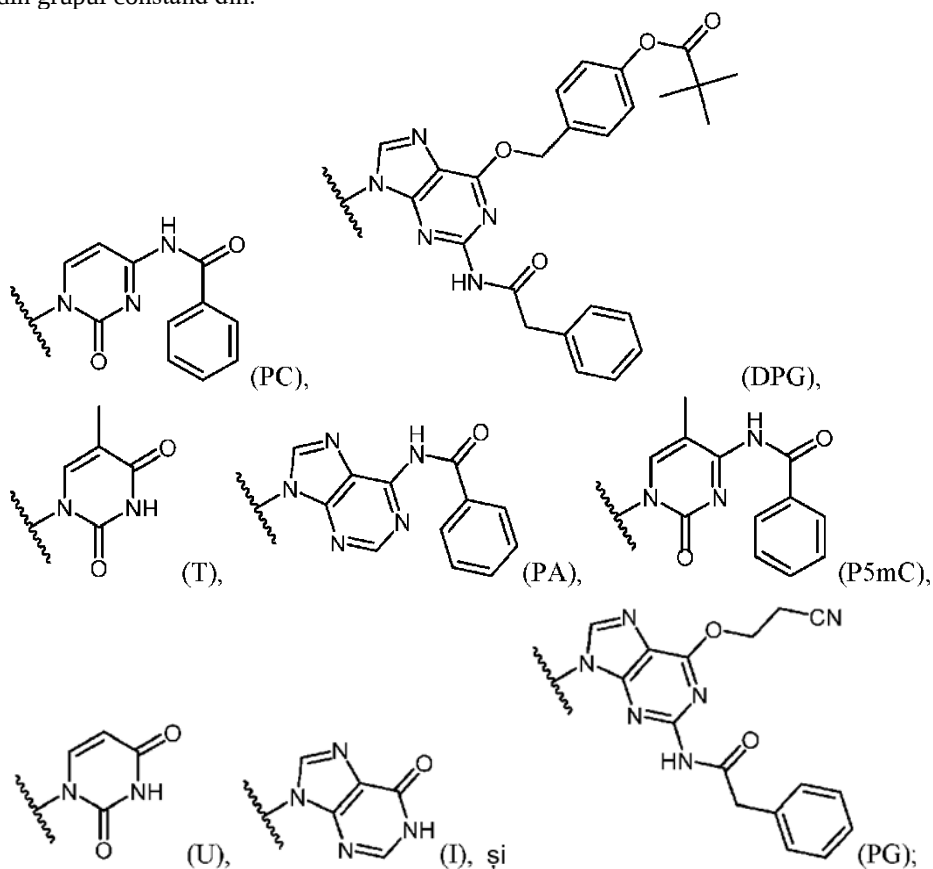
cu un agent de deblocare pentru a forma compusul cu Formula (A10).

Într-un alt aspect, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus cu Formula (A11):

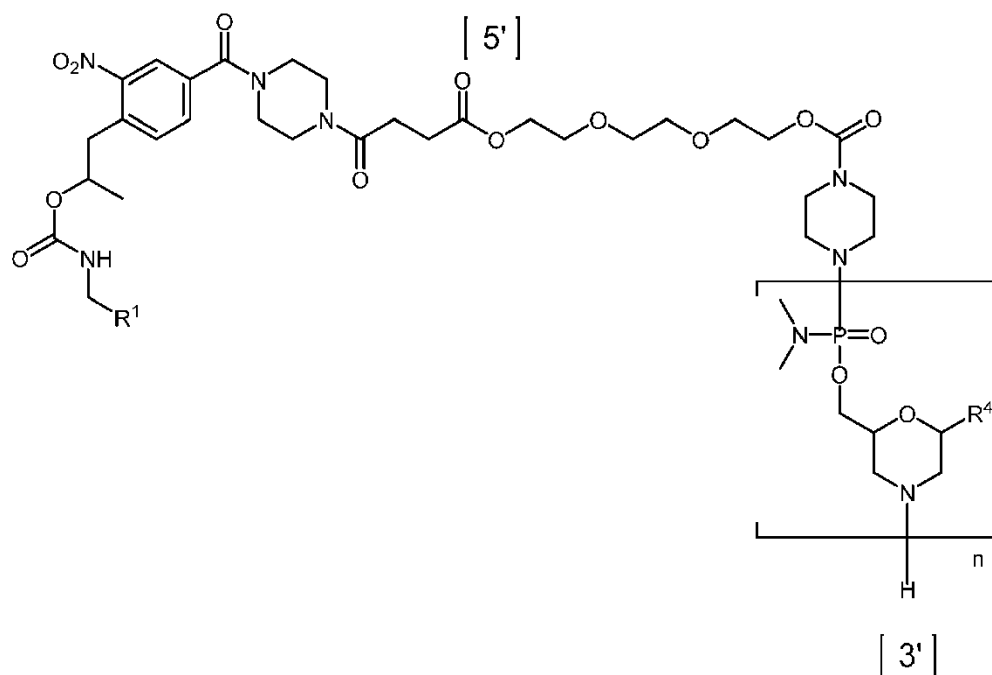


(A11);

în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, R^4 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

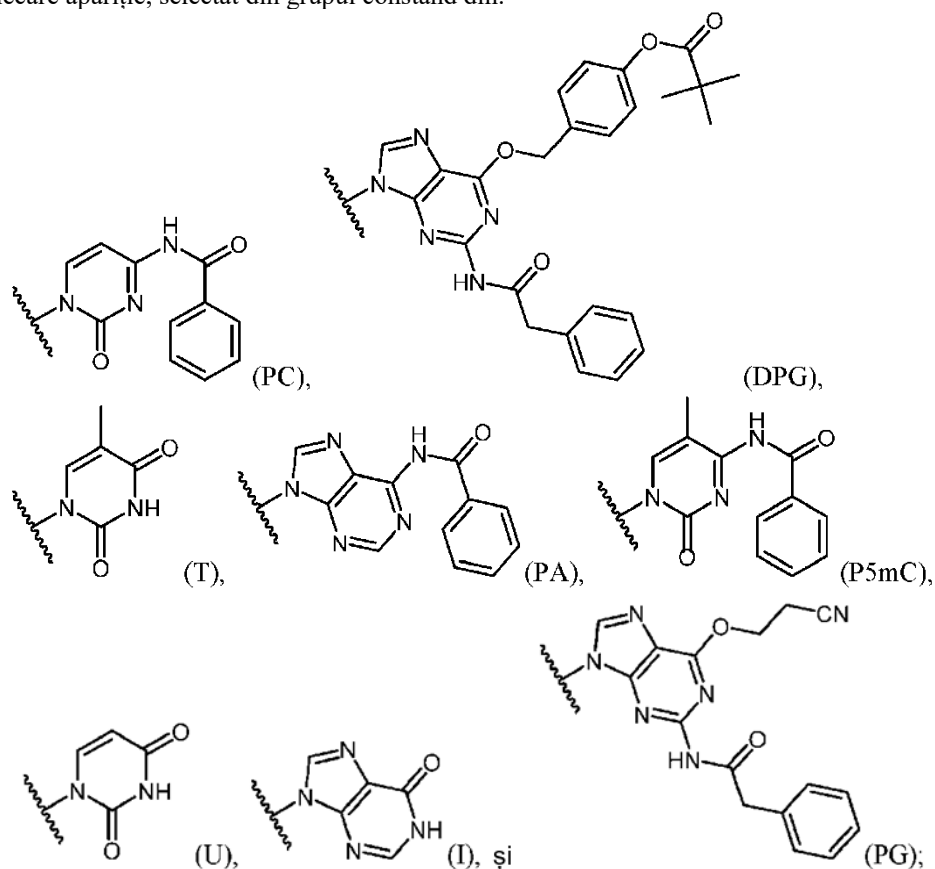


și
în care procedeul cuprinde punerea în contact a unui compus cu Formula (A10):



(A10);

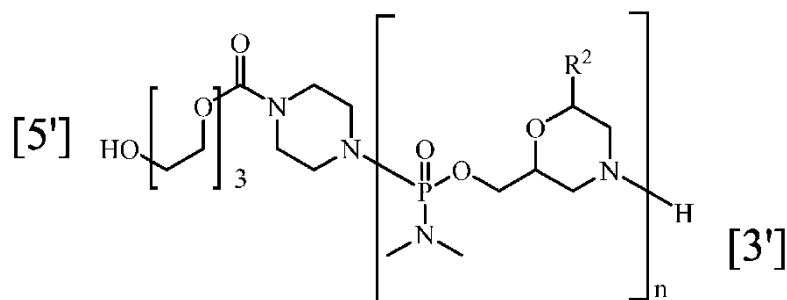
în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, R^1 este un mediu suport, și R^4 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



cu un agent de scindare pentru a forma compusul cu Formula (A11).

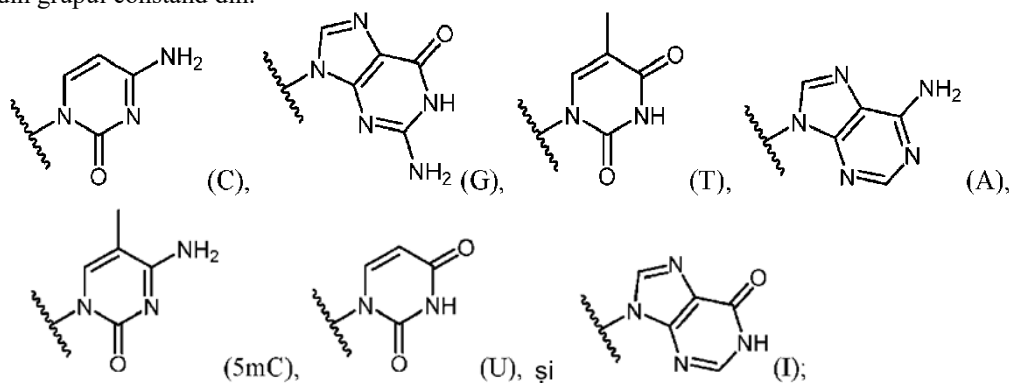
Prezenta invenție se referă la un procedeu pentru prepararea unui compus oligomeric cu Formula

(A):

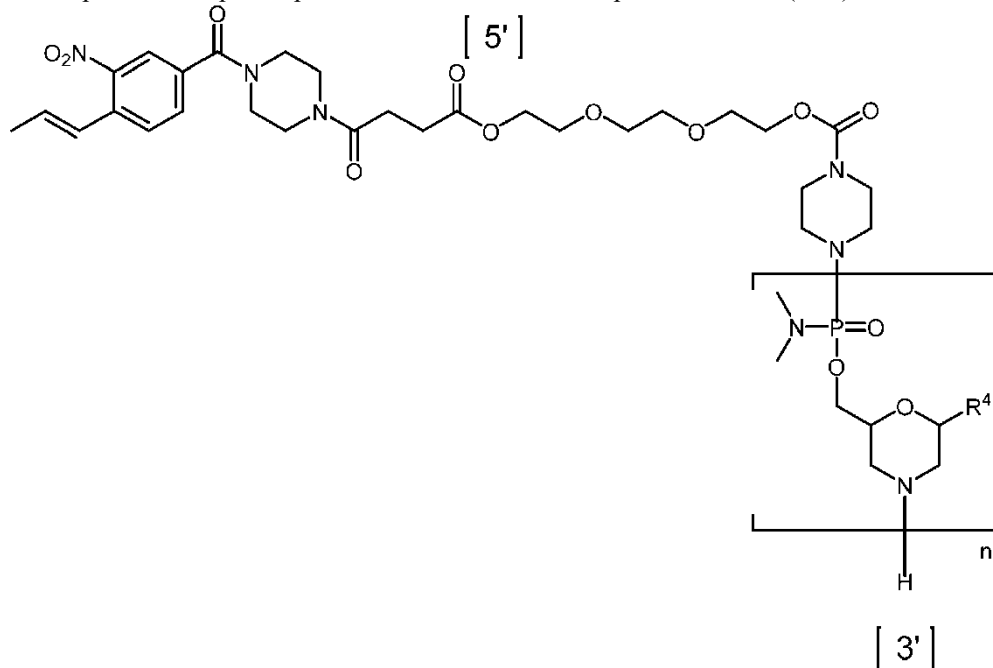


(A);

în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, și fiecare R^2 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

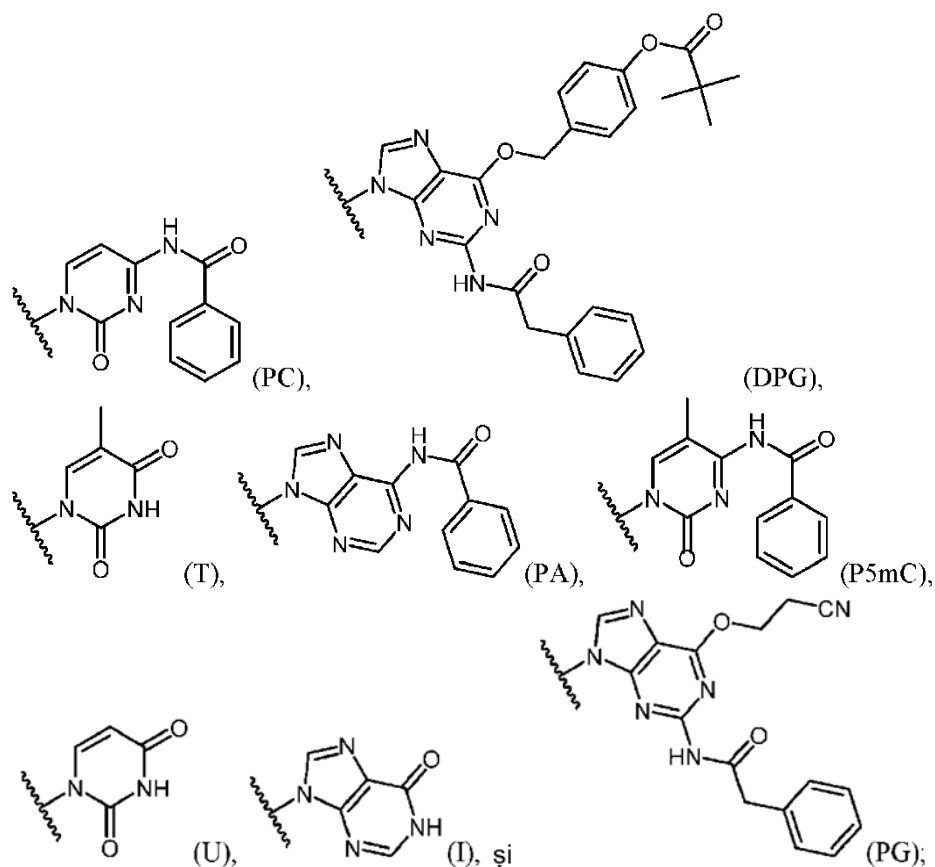


în care procedeul cuprinde punerea în contact a unui compus cu Formula (A11):



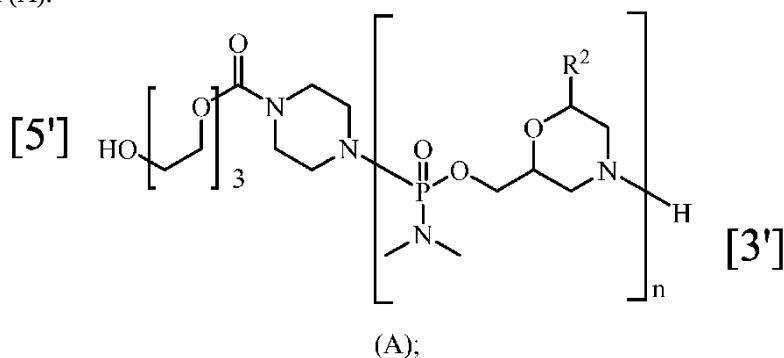
(A11);

în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, și R^4 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

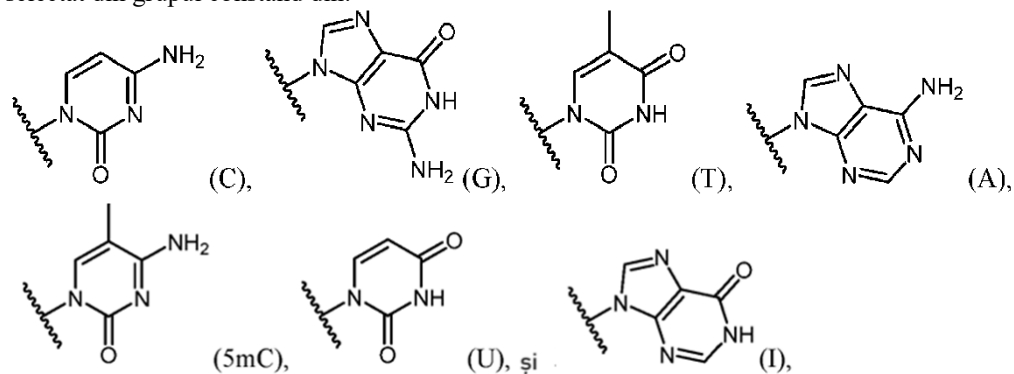


cu un agent de deprotejare pentru a forma compusul cu Formula (A).

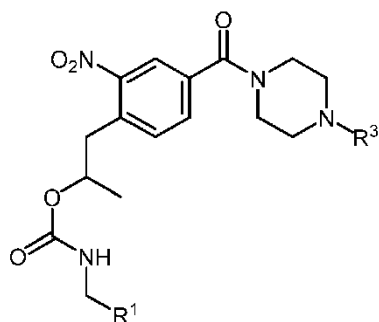
- 5 Într-un alt aspect, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus oligomeric cu Formula (A):



în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, și fiecare R^2 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

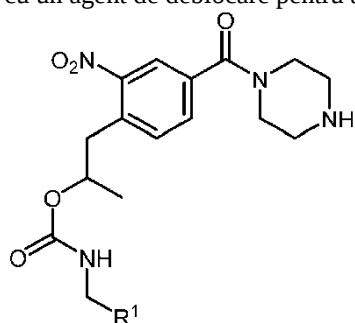


în care procedeul cuprinde etapele secvențiale de:
(a) punerea în contact a unui compus cu Formula (A1):



(A1);

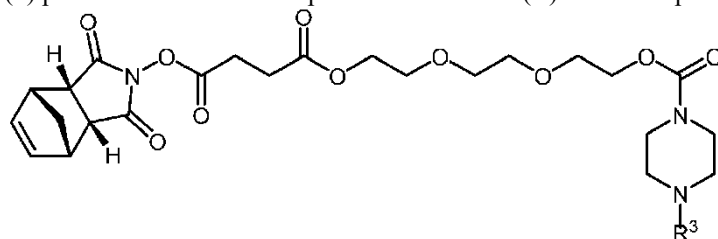
în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;
cu un agent de deblocare pentru a forma compusul cu Formula (II):



(II);

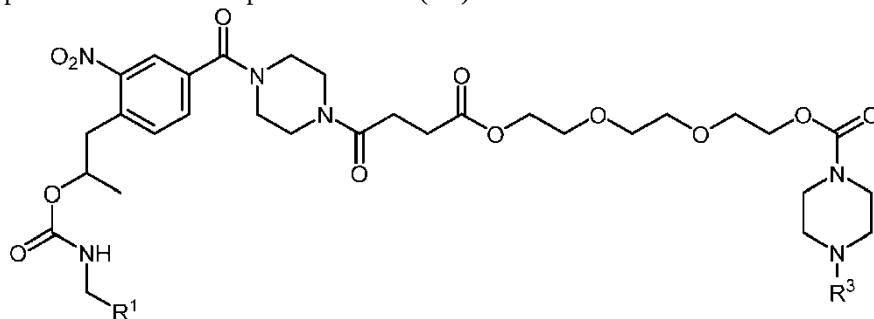
în care R^1 este un suport-mediu;

(b) punerea în contact a compusului cu Formula (II) cu un compus cu formula (A2):



(A2);

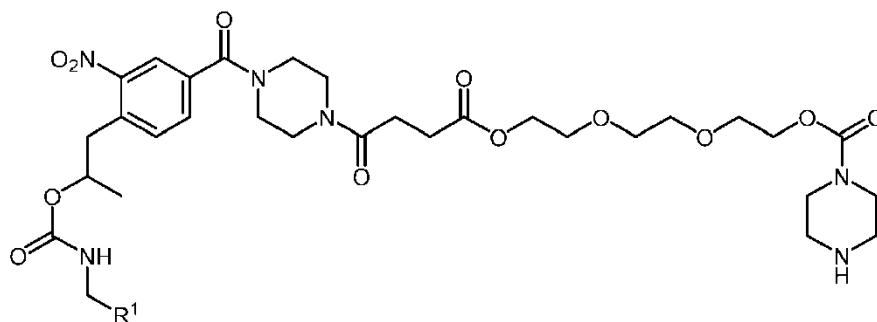
în care R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;
pentru a forma un compus cu Formula (A3):



(A3);

în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;

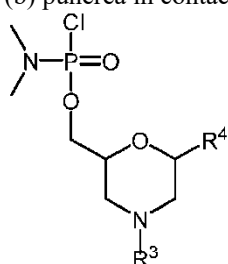
(c) punerea în contact a compusului cu Formula (A3) cu un agent de deblocare pentru a forma un compus cu Formula (IV):



(IV);

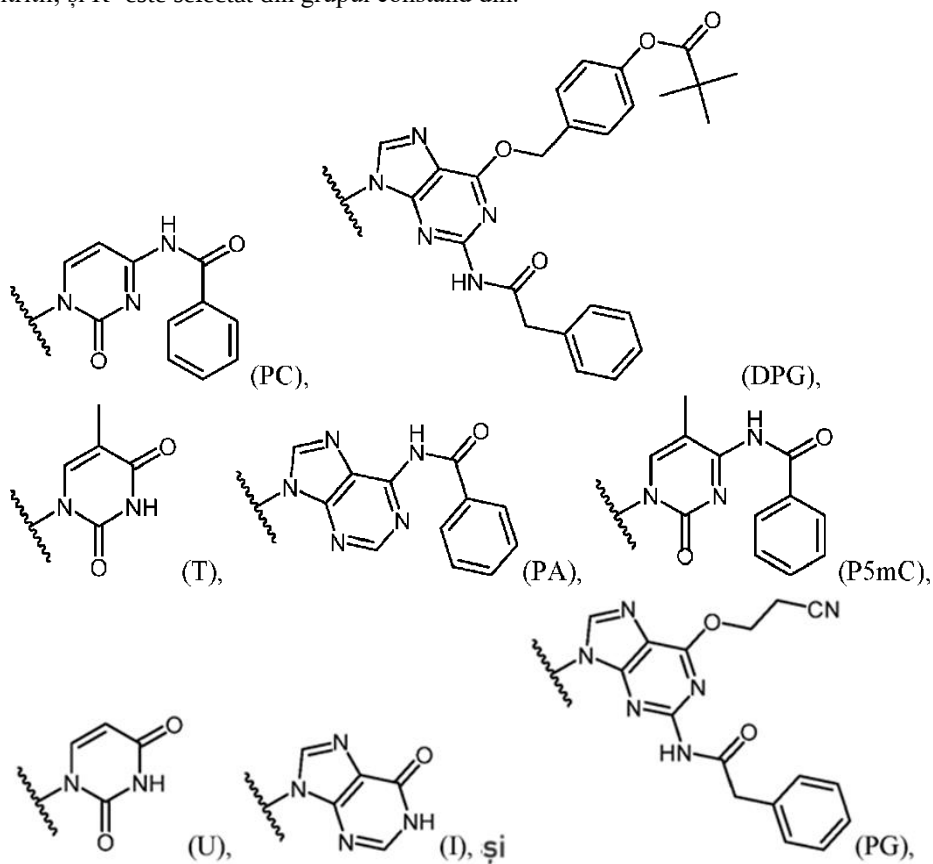
în care R^1 este un suport-mediu;

(b) punerea în contact a compusului cu Formula (IV) cu un compus cu formula (A4):



(A4);

- 5 în care R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și R^4 este selectat din grupul constând din:



pentru a forma un compus cu Formula (A5):



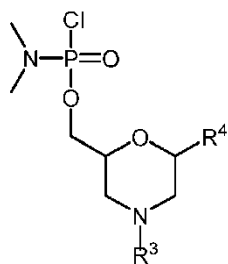
R^4 este selectat din grupul constând din:



(e1) punerea în contact a produsului format prin etapa imediat anterioară cu un agent de deblocare;

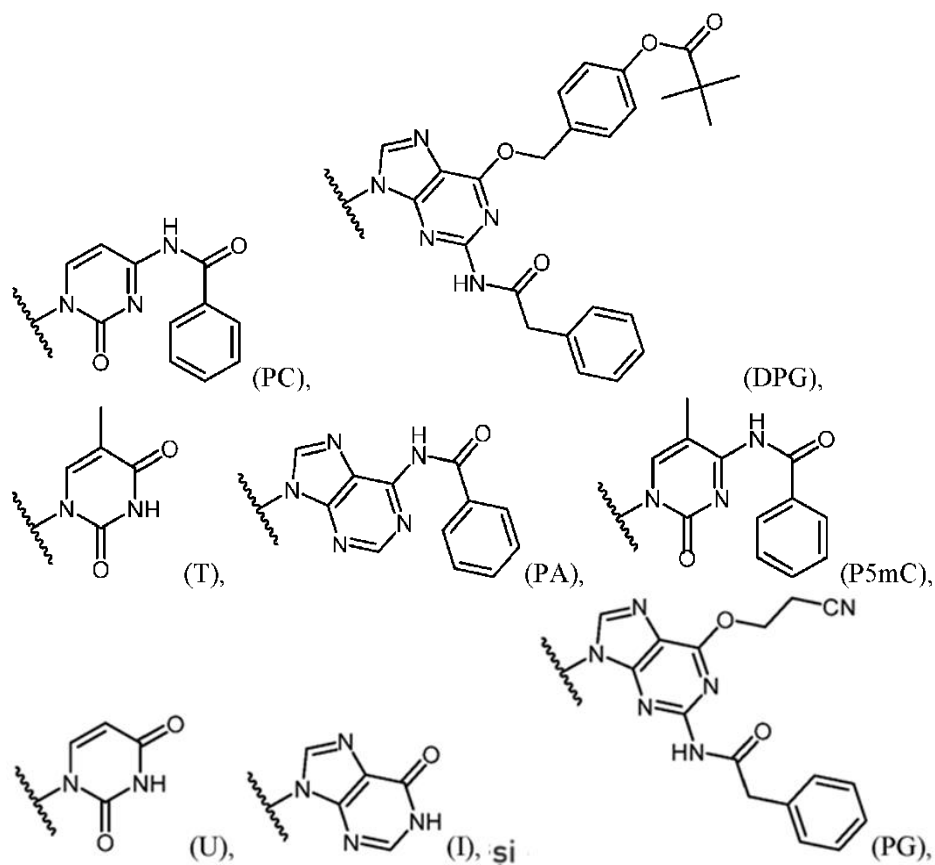
10 Şi

(e2) punerea în contact a compusului format prin etapa imediat anterioară cu un compus cu Formula (A8):



(A8);

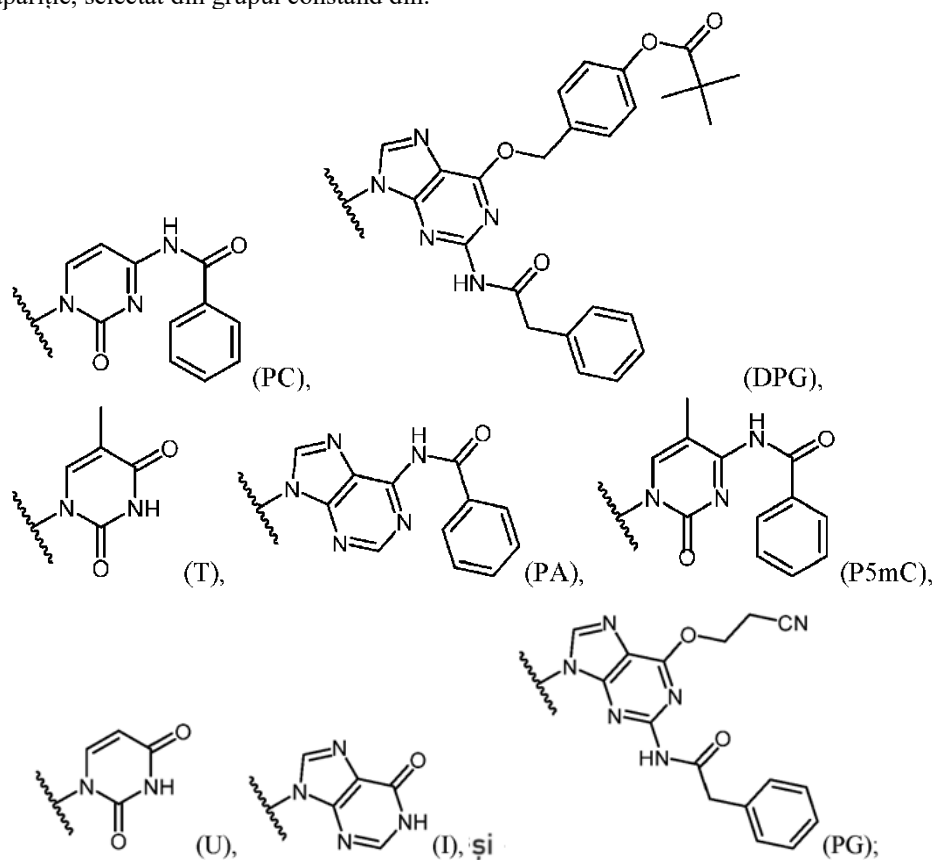
în care R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și R^4 este independent pentru fiecare compus cu Formula (A8), selectat din grupul constând din:



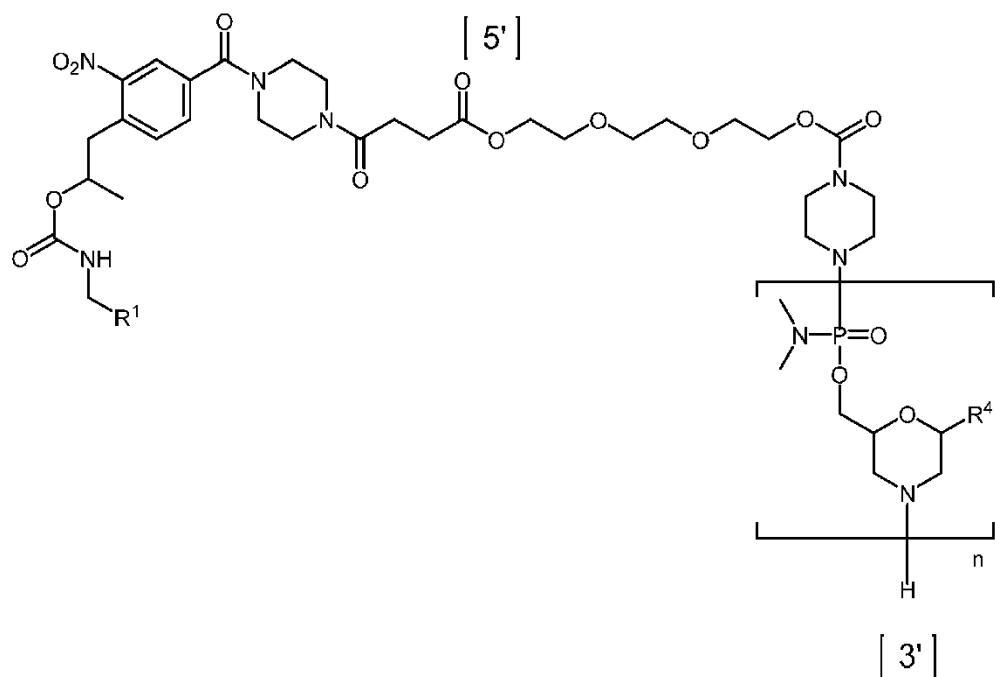
pentru a forma un compus cu Formula (A9):



5

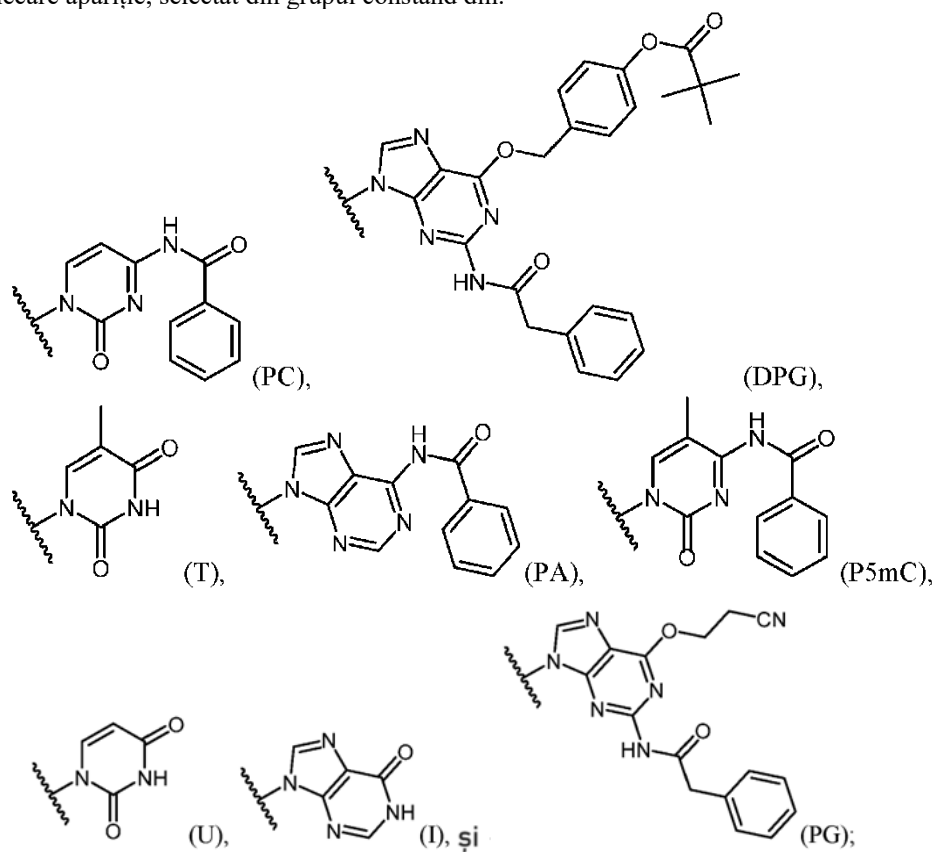


(f) punerea în contact a compusului cu Formula (A9) cu un agent de deblocare pentru a forma un compus cu Formula (A10):

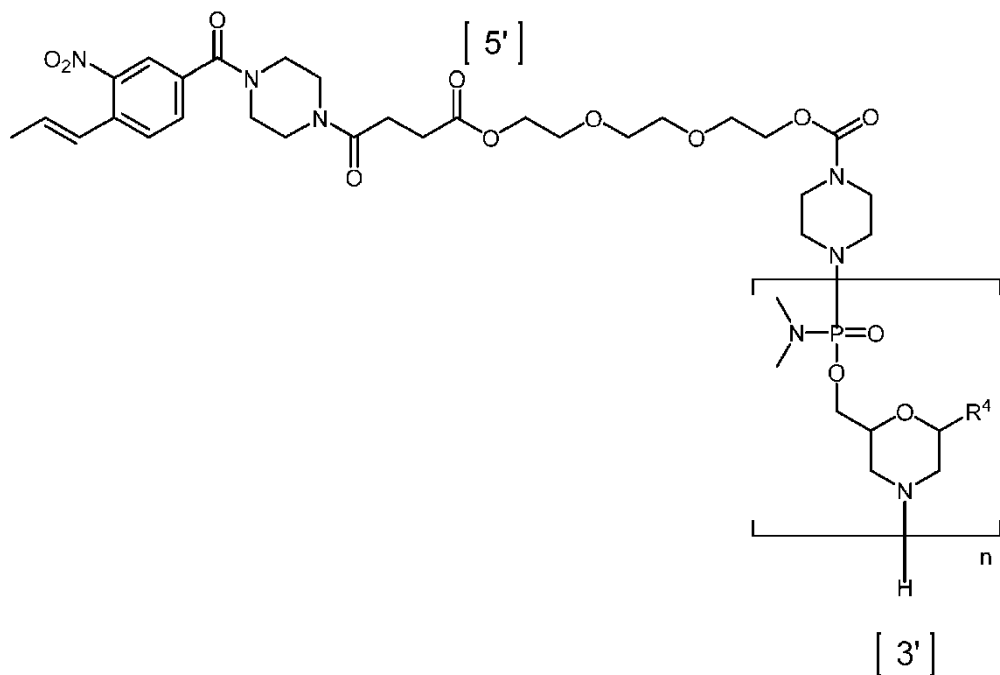


(A10);

în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, R^1 este un mediu suport, și R^4 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

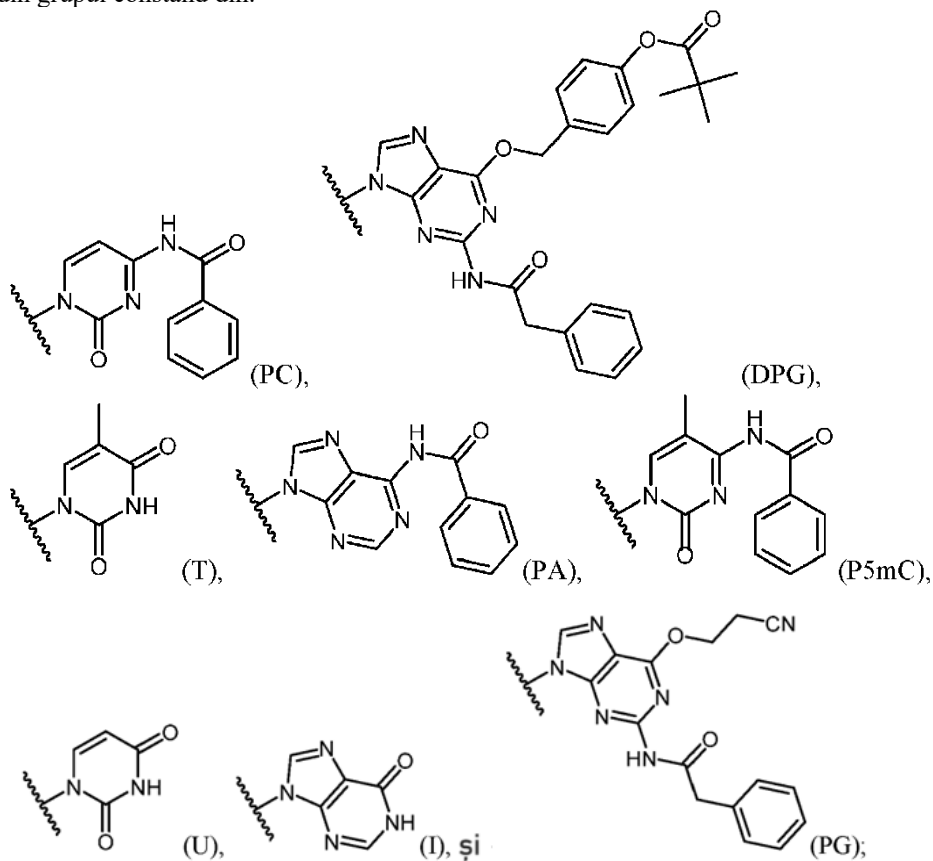


(g) punerea în contact a compusului cu Formula (A10) cu un agent de clivare pentru a forma un compus cu Formula (A11):



(A11);

în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, și R^4 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



și
(h) punerea în contact a compusului cu Formula (A11) cu un agent de deprotejare pentru a forma un compus oligomeric cu Formula (A).

Într-o variantă de realizare, etapa (d) sau etapa (e2) mai cuprinde punerea în contact a compusului cu Formula (IV) sau a compusului format prin etapa imediat anterioară, respectiv, cu un agent de acoperire.

Într-o altă variantă de realizare, fiecare etapă este realizată în prezența a cel puțin unui solvent.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de deblocare utilizat în fiecare etapă este o soluție care cuprinde un acid halogenat.

5 Într-o altă variantă de realizare, agentul de deblocare utilizat în fiecare etapă este acidul cianoacetic.

Într-o altă variantă de realizare, acidul halogenat este selectat din grupul constând din acid cloracetic, acid dicloracetic, acid tricloroacetic, acid fluoracetic, acid difluoracetic și acid trifluoracetic.

Într-o altă variantă de realizare, acidul halogenat este acidul trifluoracetic.

10 Într-o altă variantă de realizare, cel puțin una dintre etapele (a), (c), (e1) și (f) mai cuprinde etapa de punere în contact a compusului deblocat din fiecare etapă cu un agent de neutralizare.

Într-o altă variantă de realizare, fiecare dintre etapele (a), (c), (e1) și (f) mai cuprinde etapa de punere în contact a compusului deblocat din fiecare etapă cu un agent de neutralizare.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de neutralizare este într-o soluție care cuprinde diclormetan și alcool izopropilic.

15 Într-o altă variantă de realizare, agentul de neutralizare este un monoalchil, dialchil sau trialchilamină.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de neutralizare este N,N-diizopropiletilamină.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de deblocare utilizat în fiecare etapă este o soluție care cuprinde 4-cianopiridină, diclormetan, acid trifluoracetic, trifluoretanol și apă.

20 Într-o altă variantă de realizare, agentul de acoperire este într-o soluție care cuprinde etilmorfolină și metilpirolidinonă.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de acoperire este o anhidridă acidă.

Într-o altă variantă de realizare, anhidrida acidă este anhidrida benzoică.

25 Într-o altă variantă de realizare, compușii cu Formula (A4) și Formula (A8) sunt fiecare, în mod independent, într-o soluție care cuprinde etilmorfolină și dimetilimidazolidinonă.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de scindare cuprinde ditiotreitol și 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-enă.

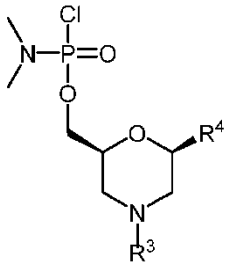
Într-o altă variantă de realizare, agentul de scindare este într-o soluție care cuprinde N-metil-2-pirolidonă.

30 Într-o altă variantă de realizare, agentul de deprotejare cuprinde NH_3 .

Într-o altă variantă de realizare, agentul de deprotejare este într-o soluție apoasă.

Într-o altă variantă de realizare, mediul suport cuprinde polistiren cu 1% divinilbenzen reticulat.

Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (A4) are Formula (A4a):

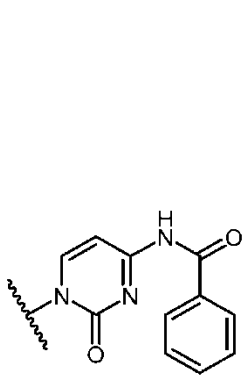


35 (A4a);

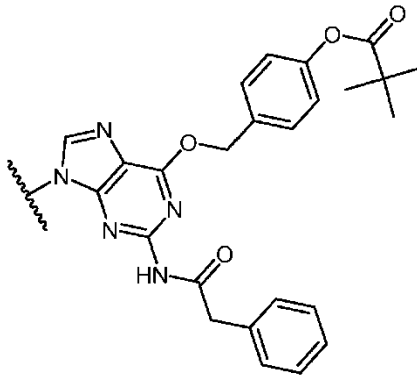
în care:

R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

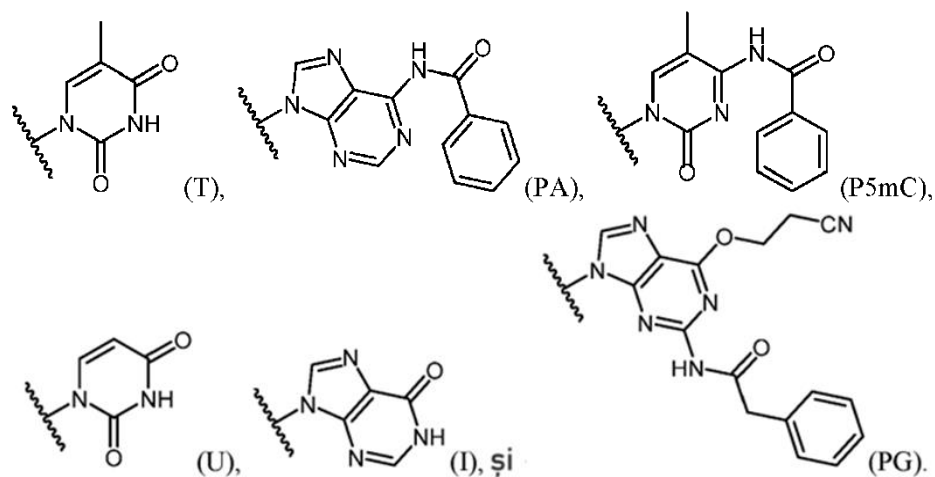
R^4 este selectat dintre:



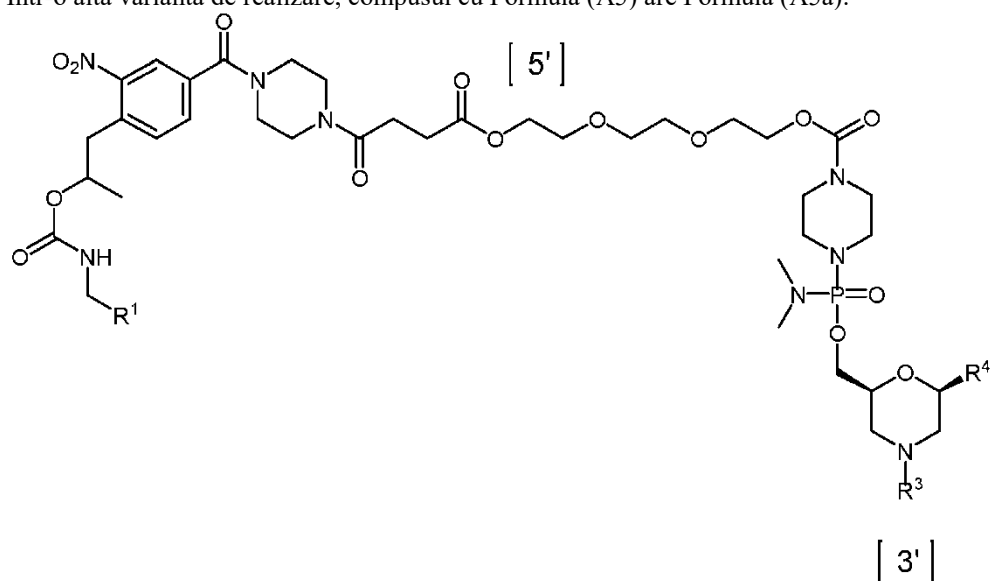
(PC),



(DPG),



Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (A5) are Formula (A5a):



(A5a);

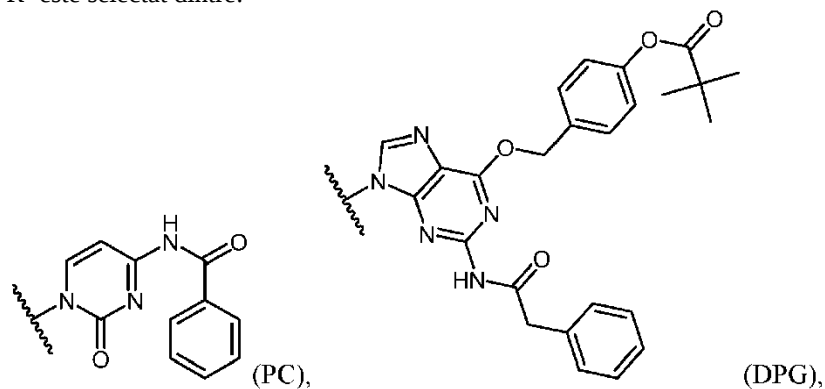
5

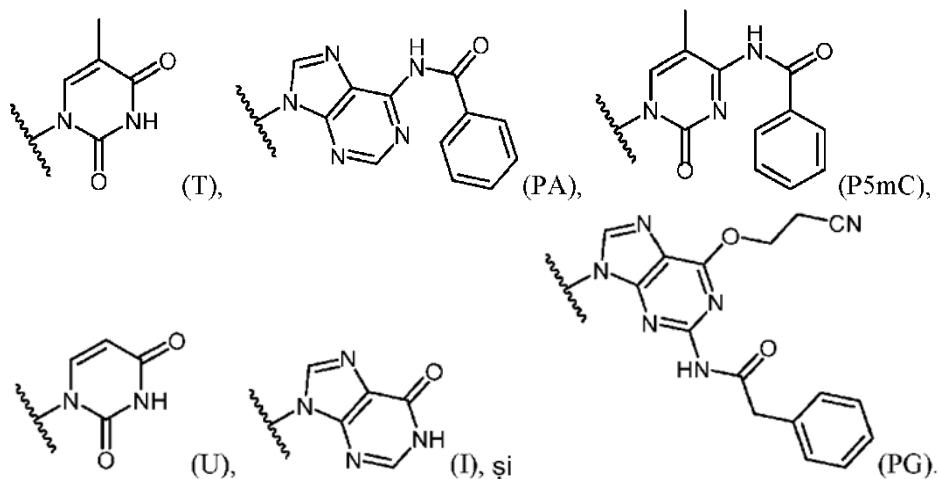
în care:

R¹ este un suport-mediu

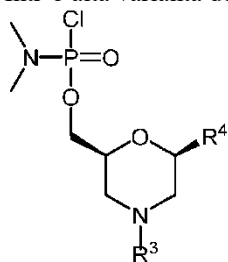
R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

R⁴ este selectat dintre:





Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (A8) are Formula (A8a):



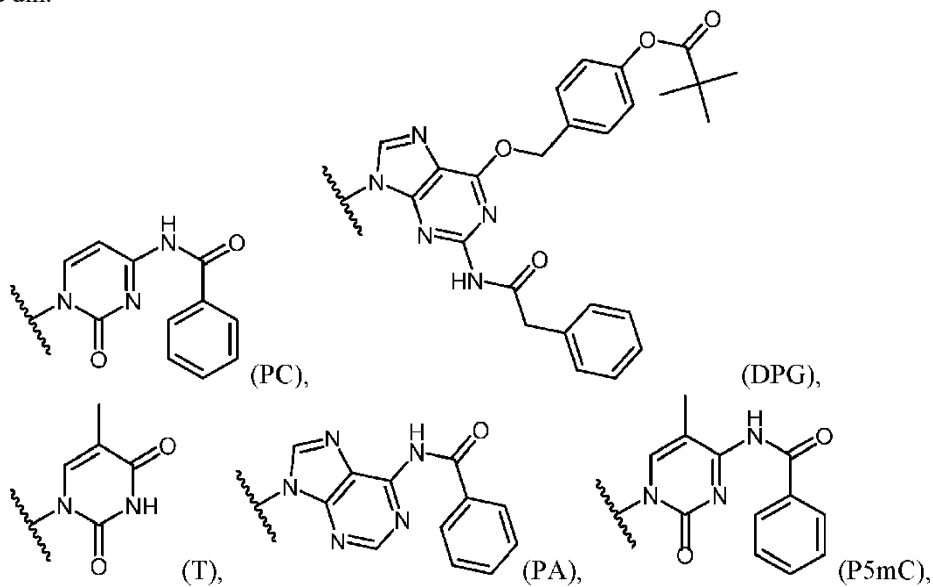
(A8a);

5

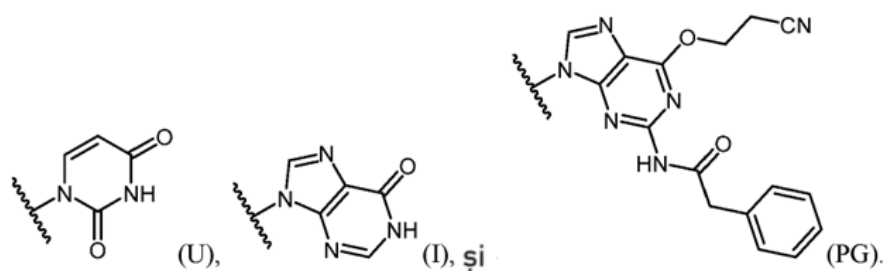
în care:

R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

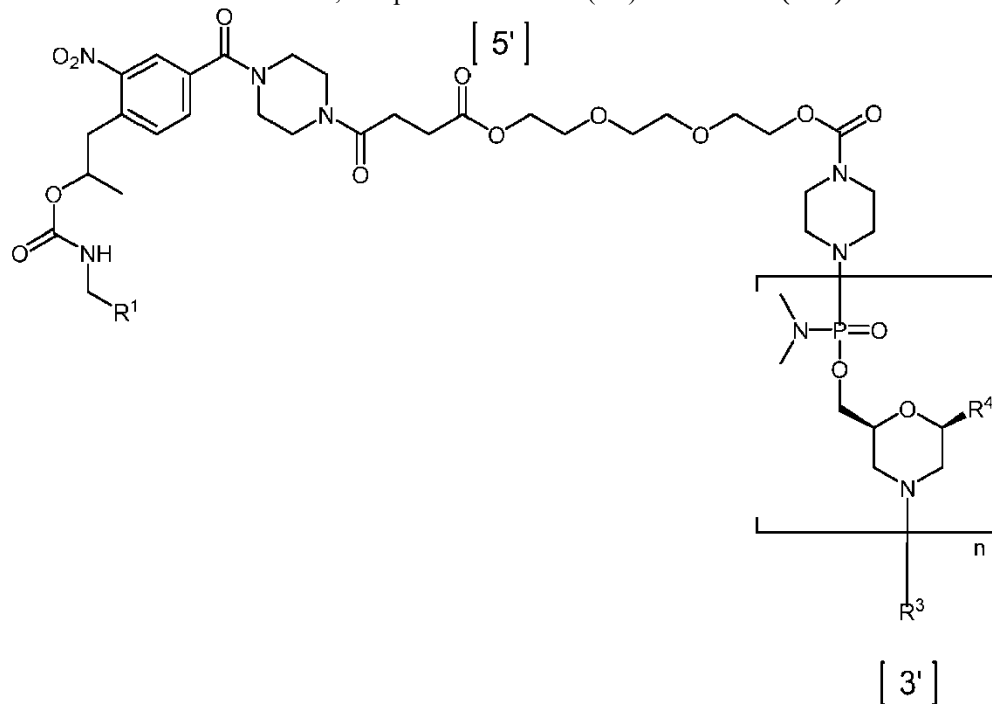
R⁴ este, independent la fiecare apariție a compusului cu formula (A8a), selectat din grupul constând din:



10



Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (A9) are Formula (A9a):



în care:

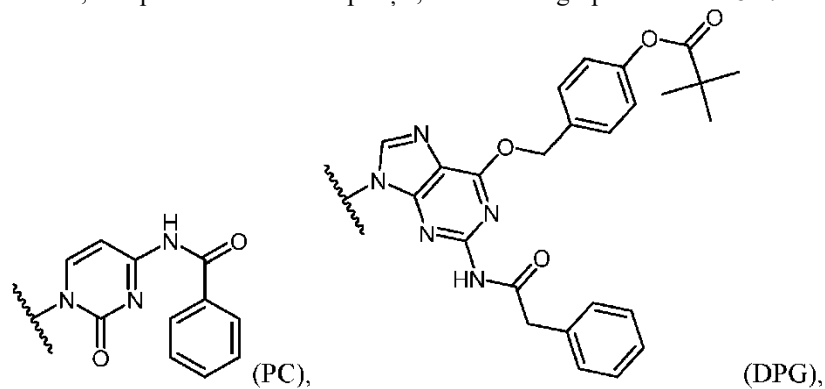
5

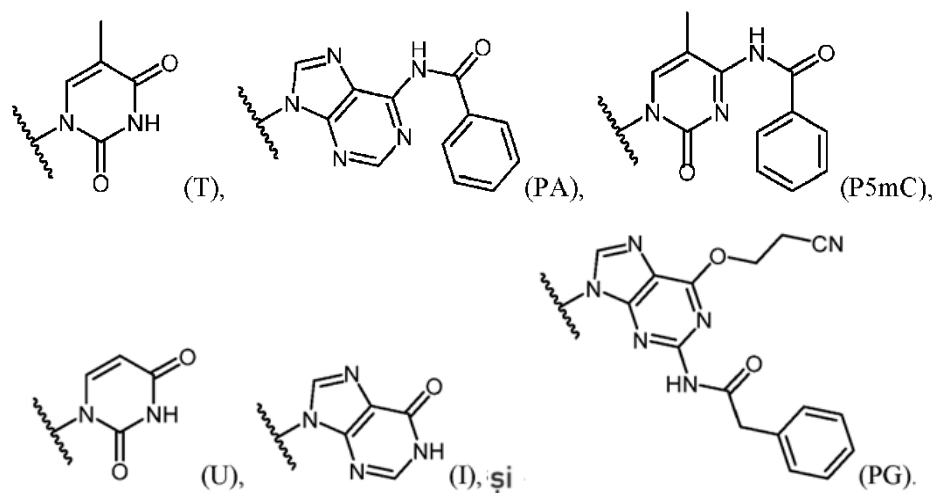
n este un întreg de la 10 până la 40,

R¹ este un mediu suport,

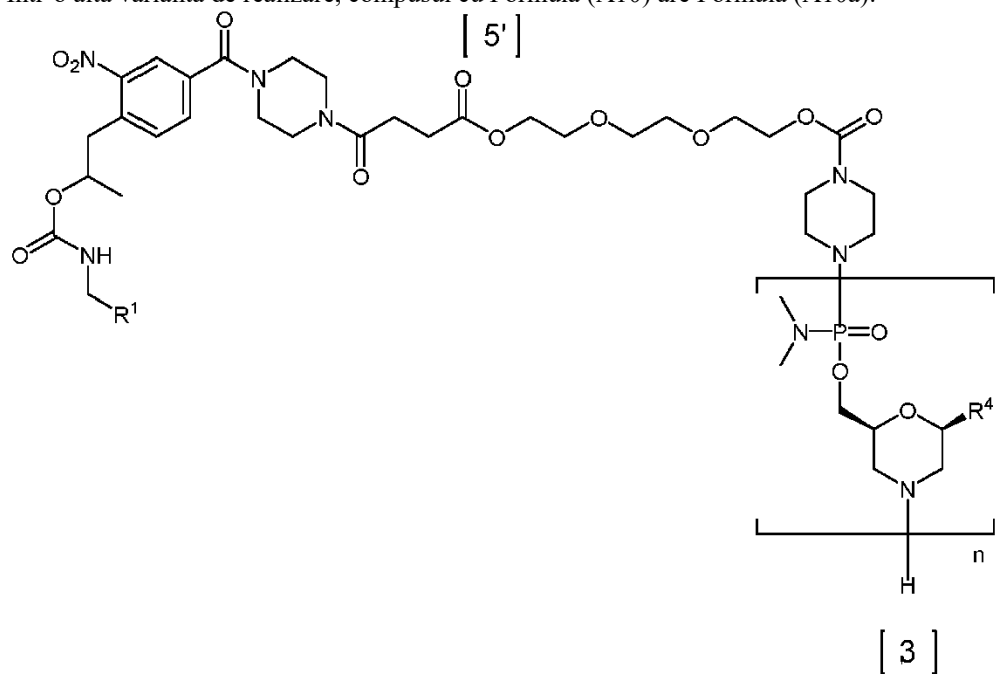
R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (A10) are Formula (A10a):



(A10a);

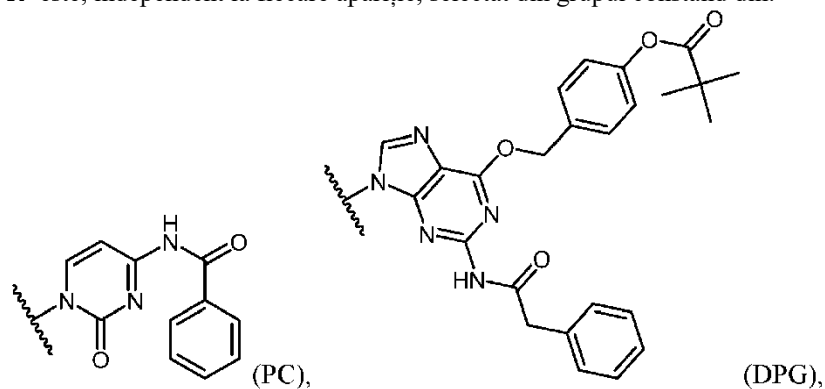
5

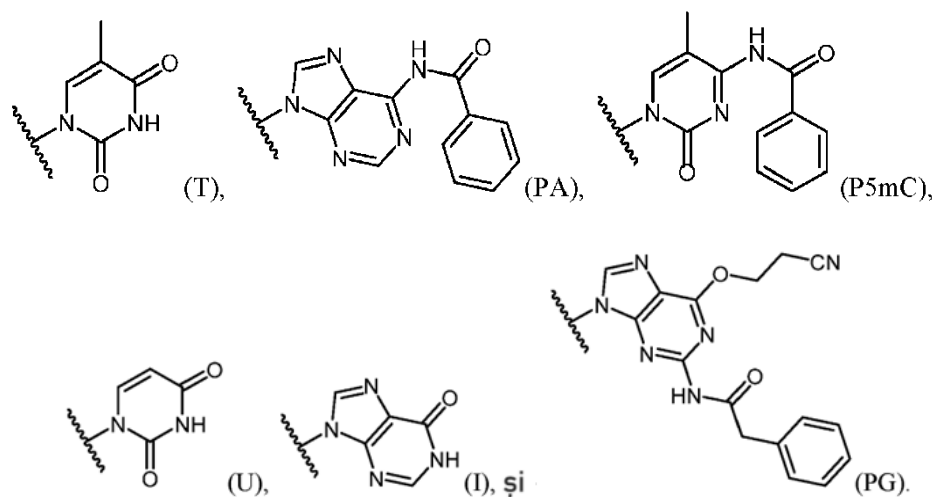
în care:

n este un întreg de la 10 până la 40,

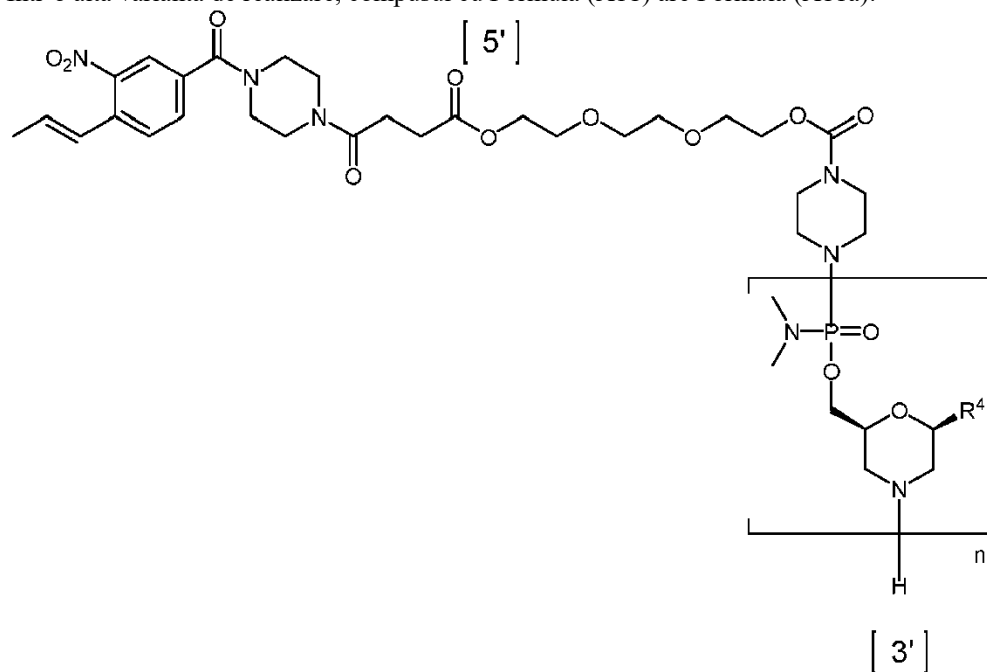
R¹ este un mediu suport, și

R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (A11) are Formula (A11a):



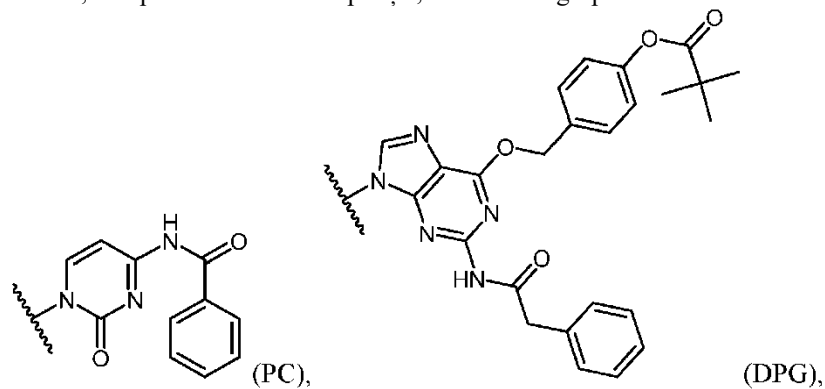
(A11a);

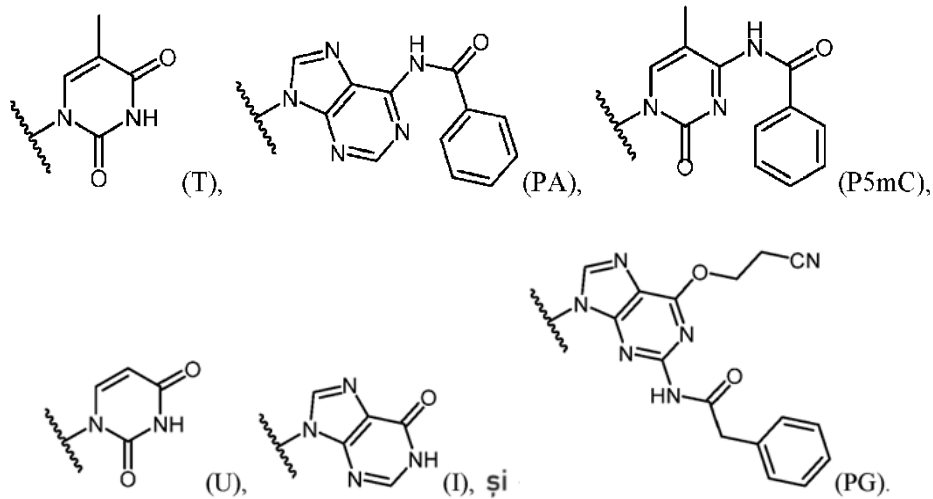
5

în care:

n este un întreg de la 10 până la 40, și

R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





Într-o variantă de realizare a compusului oligomeric cu Formula (A), n este 30, și R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

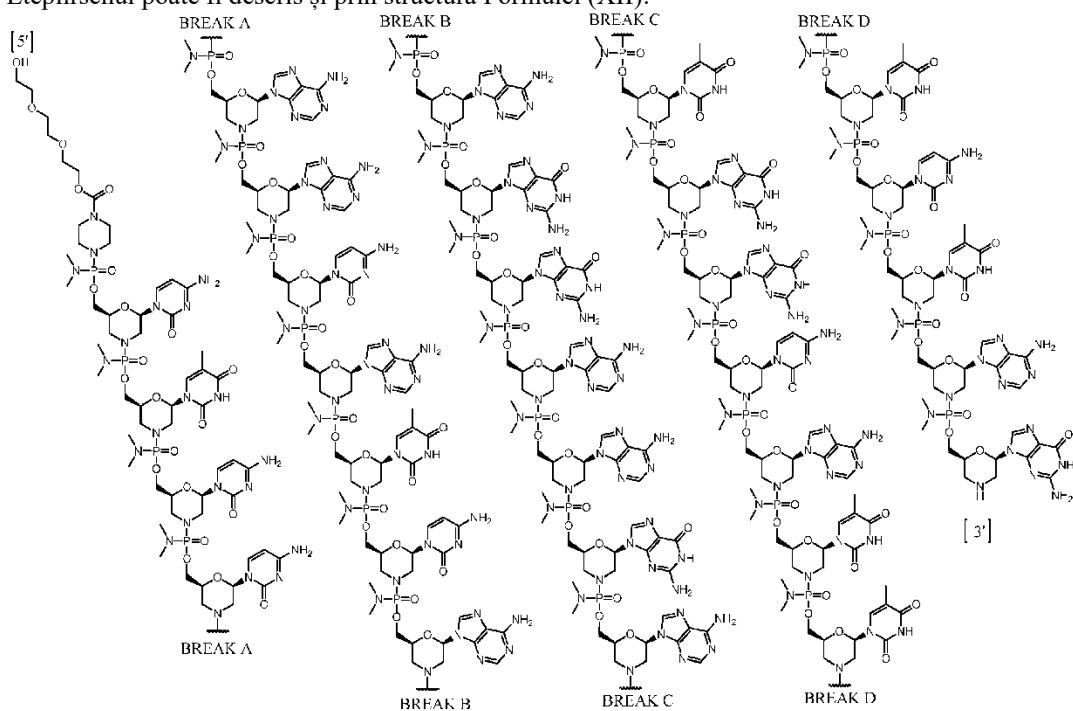
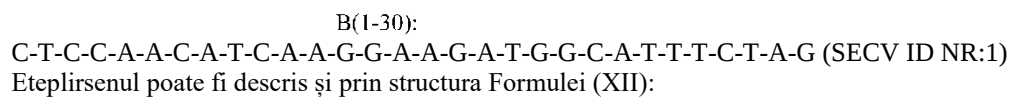
Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
1	C	11	A	21	G
2	T	12	A	22	C
3	C	13	G	23	A
4	C	14	G	24	T
5	A	15	A	25	T
6	A	16	A	26	T
7	C	17	G	27	C
8	A	18	A	28	T
9	T	19	T	29	A
10	C	20	G	30	G

5

în care compusul oligomeric cu Formula (A) este un compus cu Formula (E):

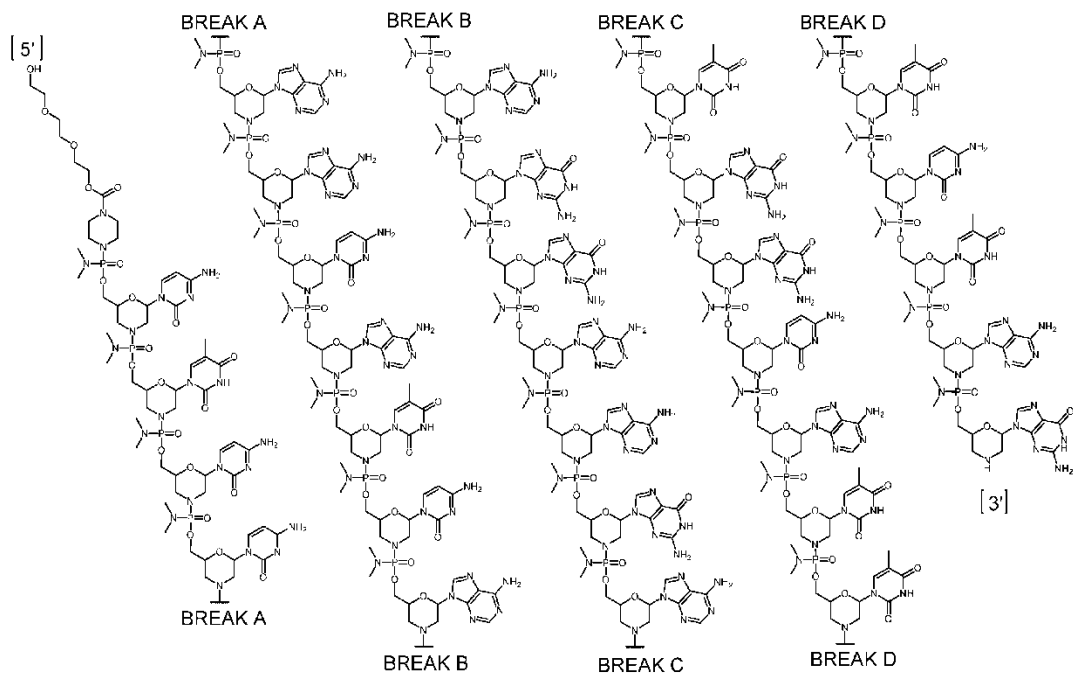
[illegible]

Eteplirsen are următoarea structură:



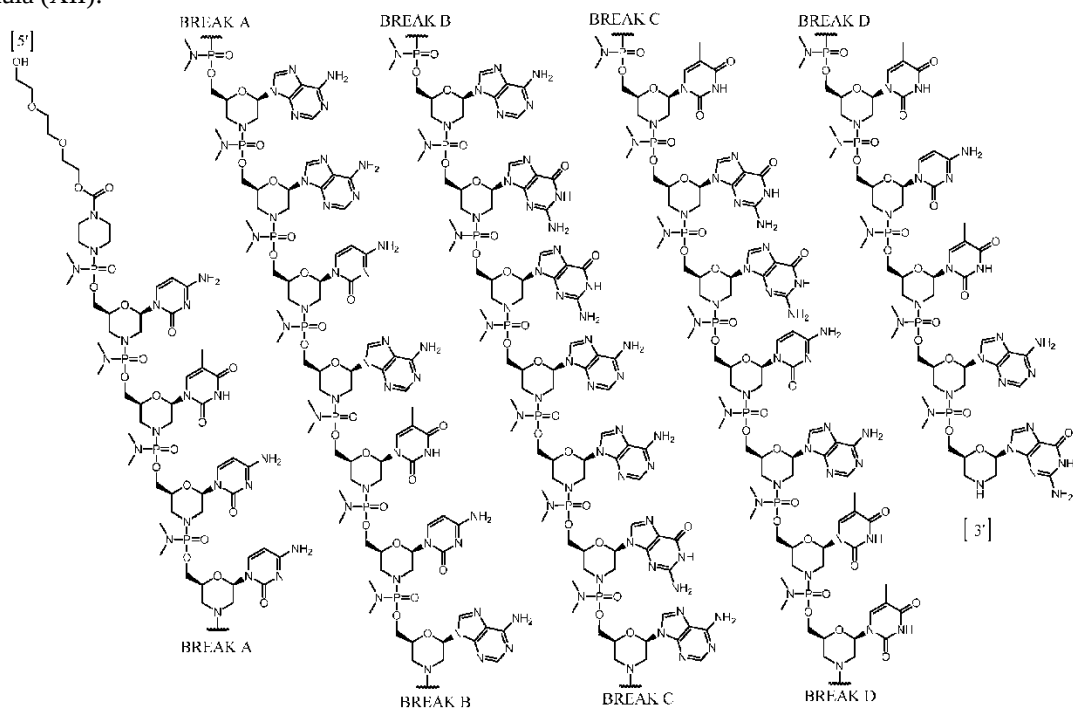
(XII).

5 Astfel, într-o variantă de realizare a procedurii descris mai sus, compusul oligomeric cu Formula (A) este un compus cu Formula (E):



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

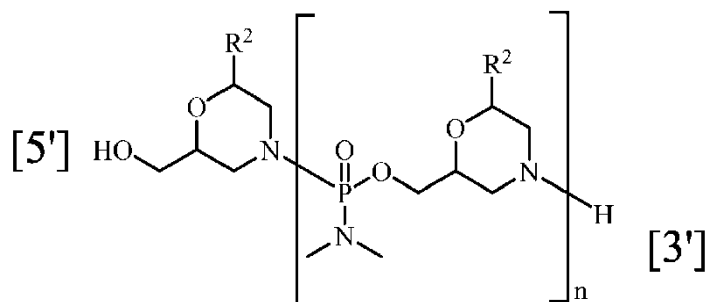
Într-o altă variantă de realizare, compusul oligomeric cu Formula (E) este un compus oligomeric cu Formula (XII):



sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

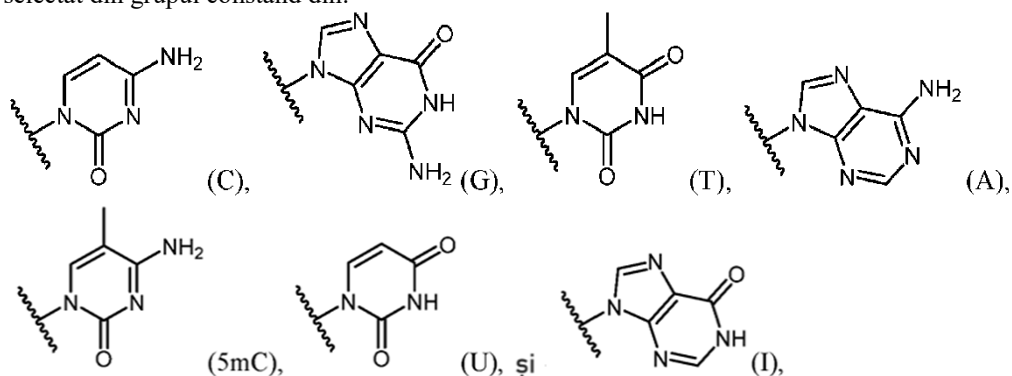
Într-o altă variantă de realizare, R³ este, la fiecare apariție, tritol.

Într-un alt aspect descris aici, dar care nu face parte din prezenta invenție, este un procedeu pentru prepararea unui compus oligomeric cu Formula (S):



(S);

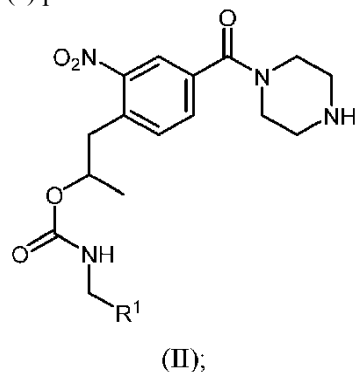
în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, și fiecare R^2 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



5

în care procedeul cuprinde etapele secvențiale de:

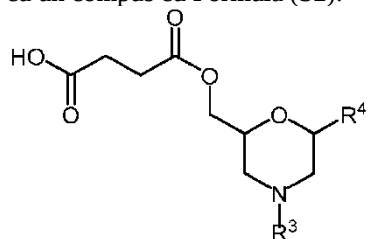
(a) punerea în contact a unui compus cu Formula (II):



(II);

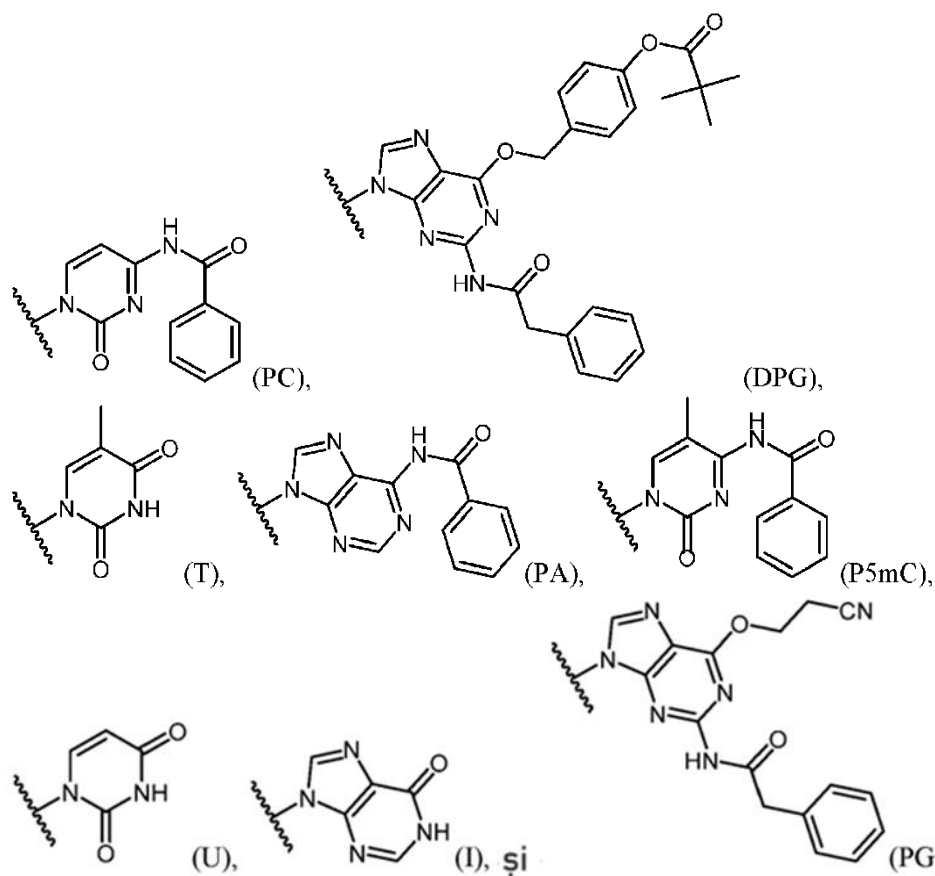
în care R^1 este un mediu suport;
cu un compus cu Formula (S2):

10

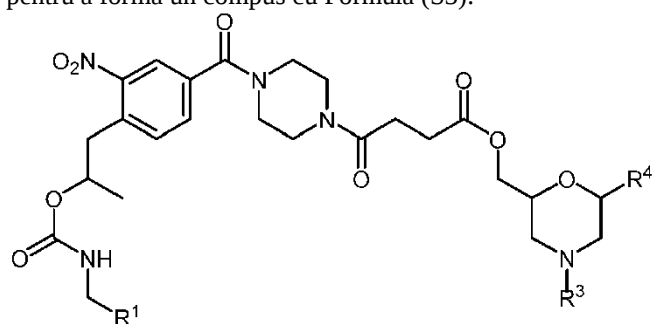


(S2);

în care R^4 este selectat din grupul constând din:

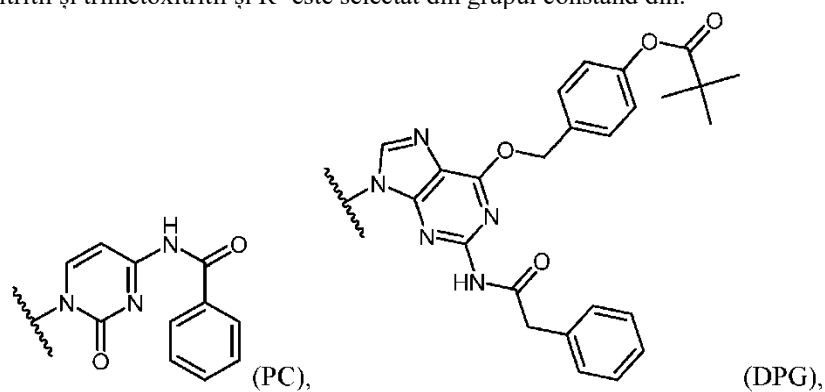


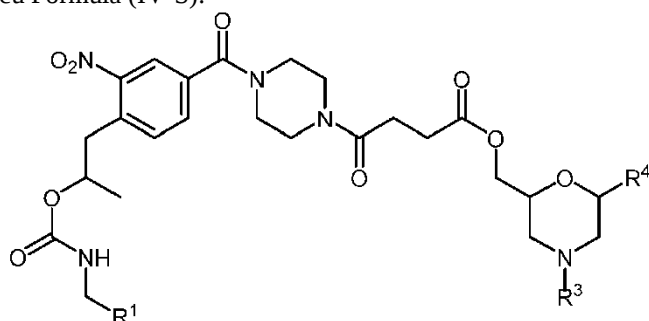
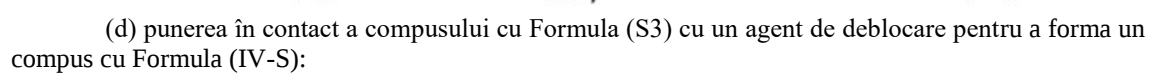
5 în care R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;
 pentru a forma un compus cu Formula (S3):



(S3);

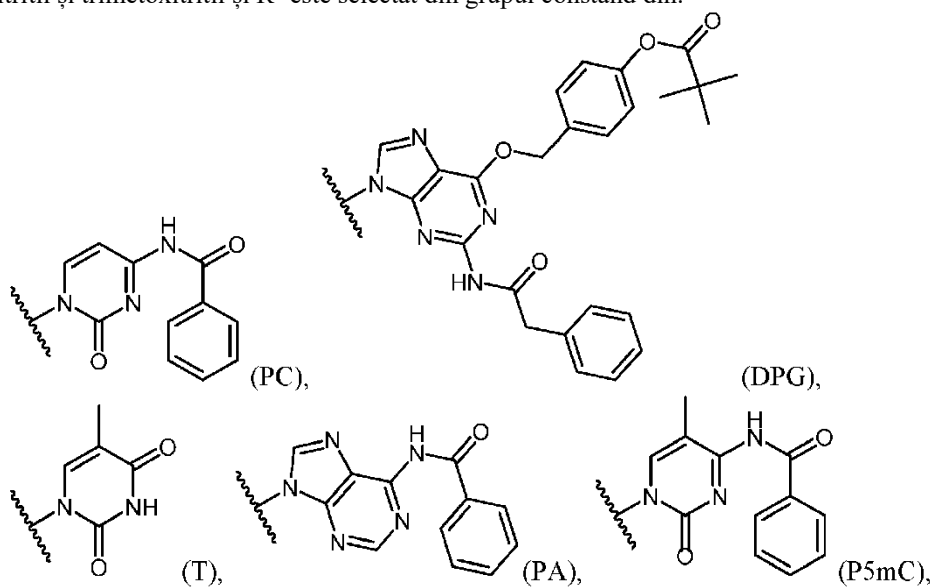
în care R^1 este un mediu suport, R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil și R^4 este selectat din grupul constând din:

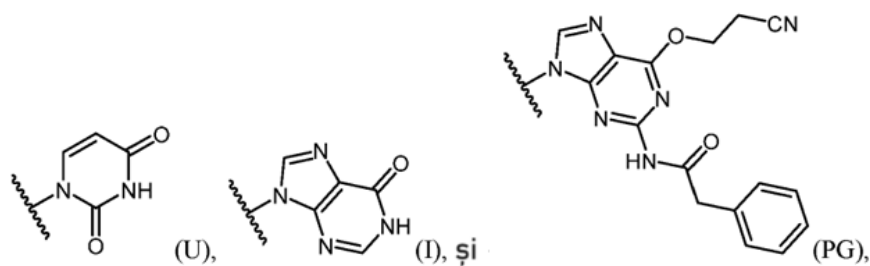




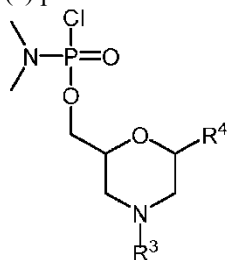
5

în care R^1 este un mediu suport, R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil și R^4 este selectat din grupul constând din:



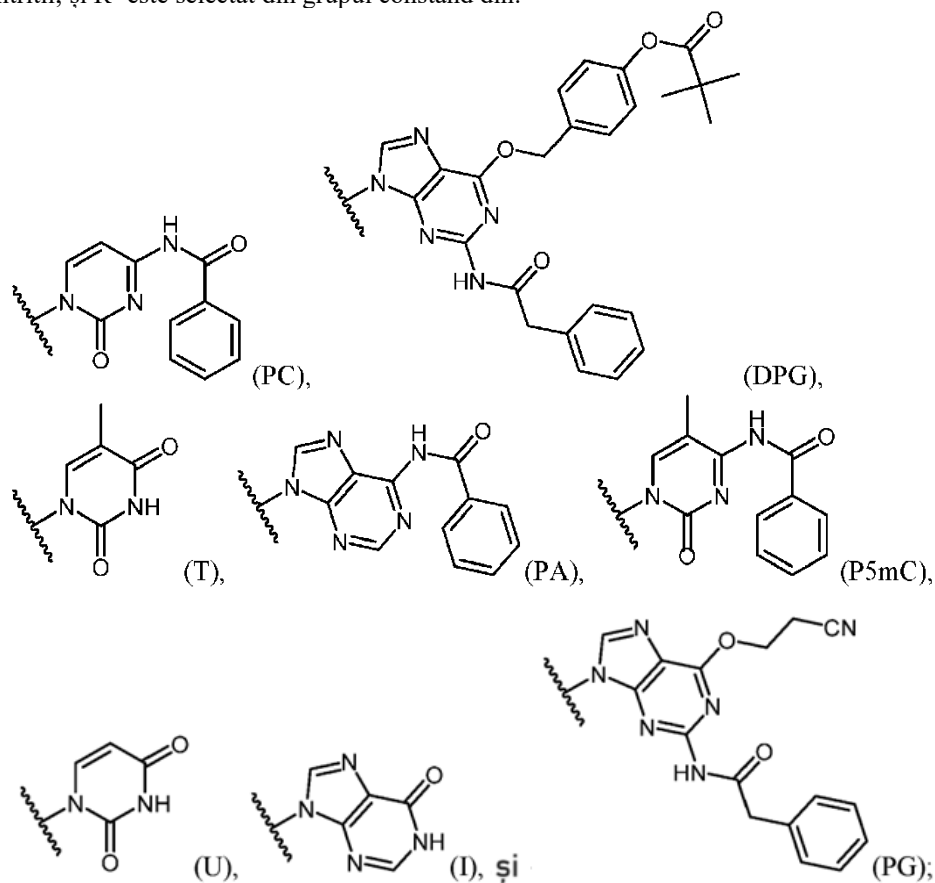


(c) punerea în contact a compusului cu Formula (IV-S) cu un compus cu formula (A4):

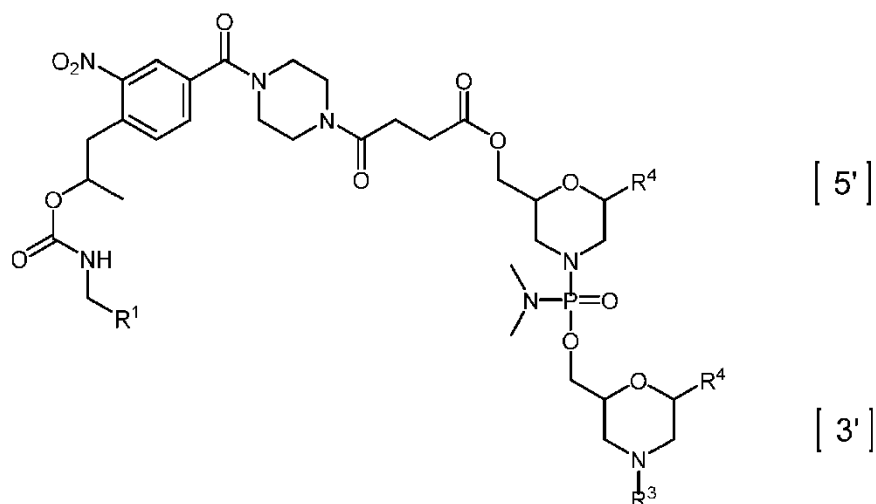


(A4);

în care R³ este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și R⁴ este selectat din grupul constând din:



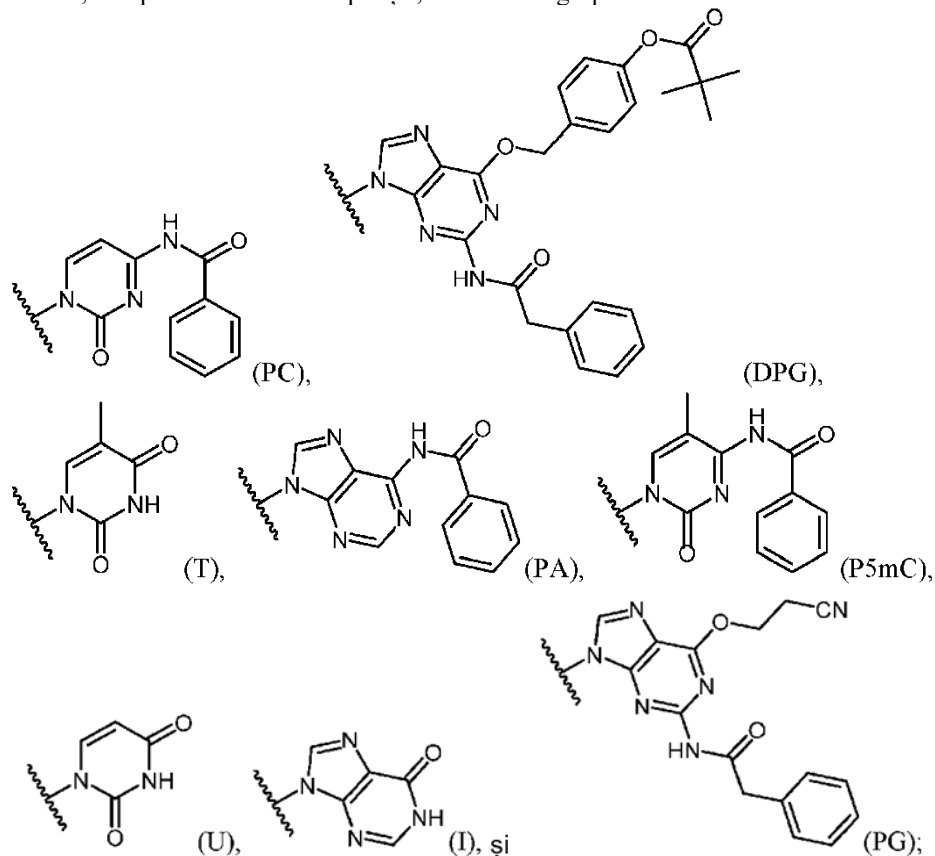
pentru a forma un compus cu Formula (S5):



(S5);

în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

R^4 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

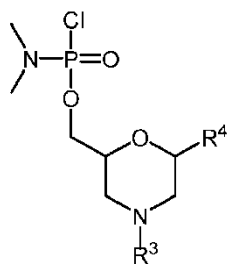


(d) efectuarea de n-2 iterații ale etapelor secvențiale de:

(d1) punerea în contact a produsului format prin etapa imediat anterioară cu un agent de deblocare;

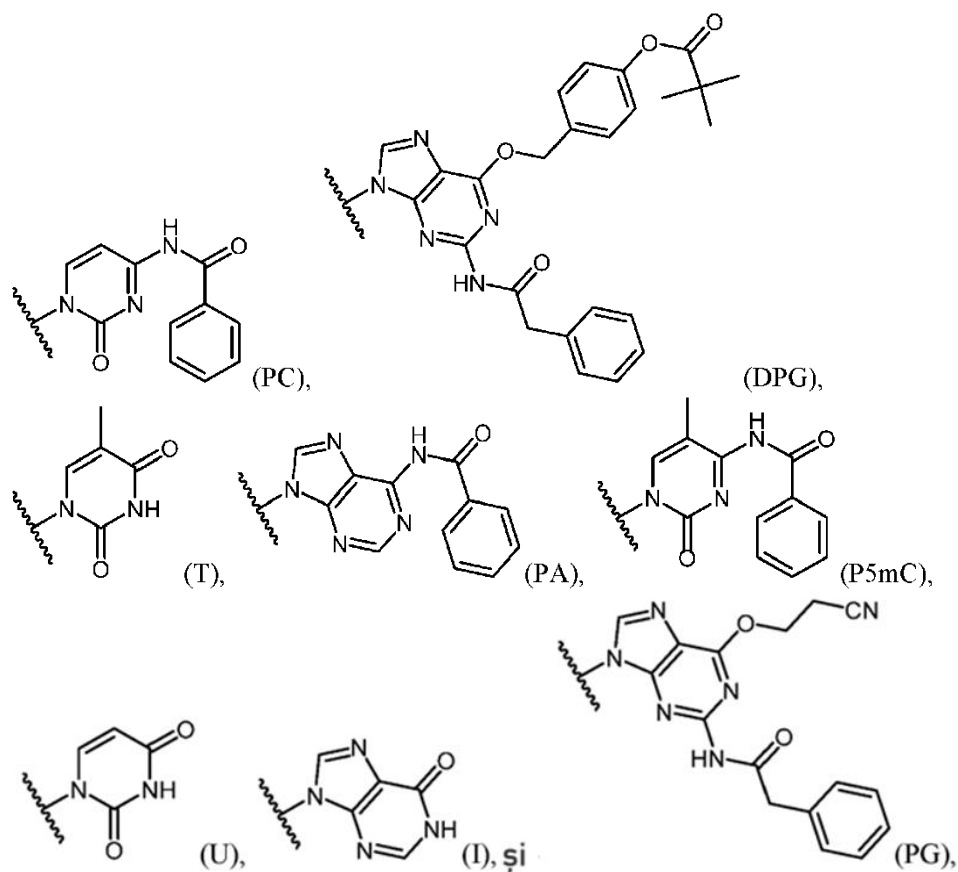
și

(d2) punerea în contact a compusului format prin etapa imediat anterioară cu un compus cu Formula (A8):

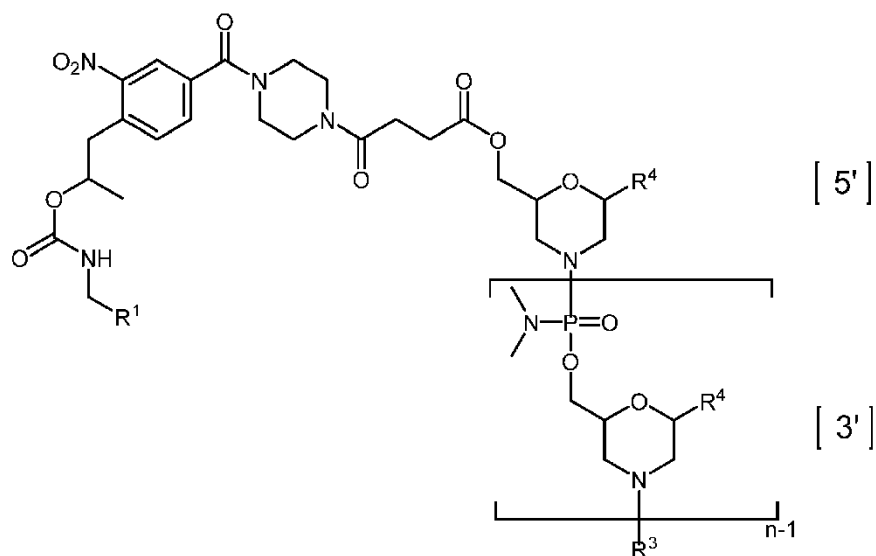


(A8);

în care R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și R^4 este independent pentru fiecare compus cu Formula (A8), selectat din grupul constând din:

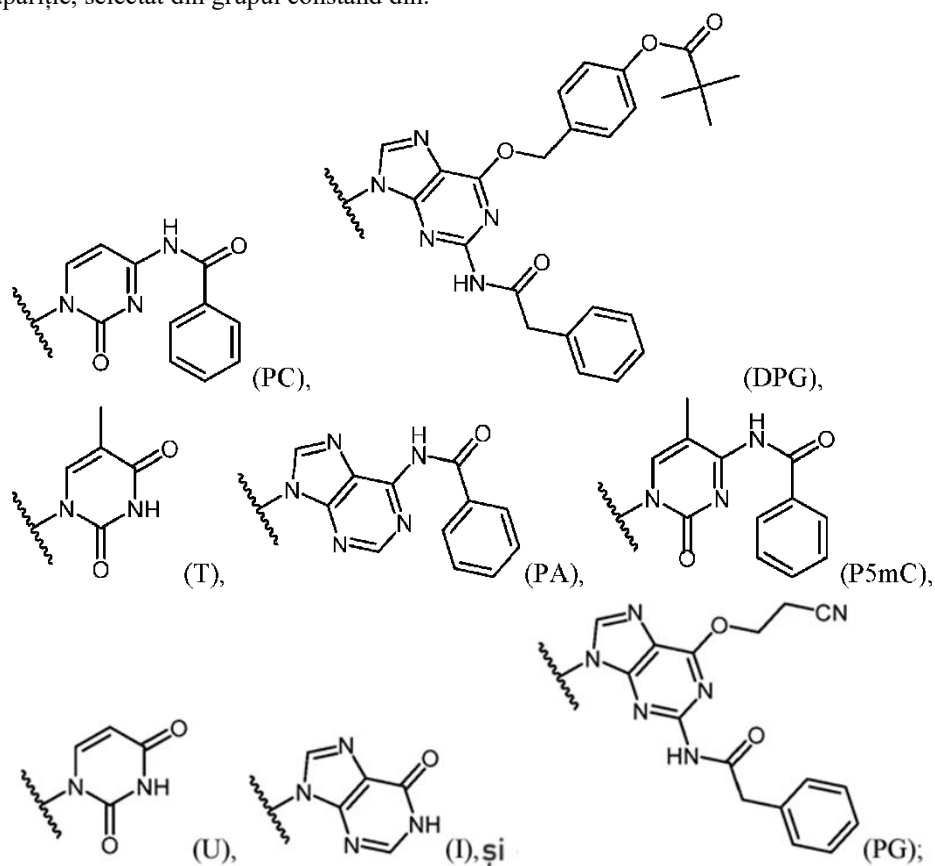


pentru a forma un compus cu Formula (S9):



(S9);

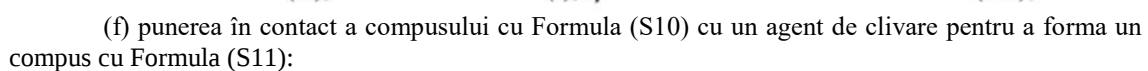
în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, R^1 este un mediu suport, R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritol, dimetoxitritol și trimetoxitritol și R^4 este, independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

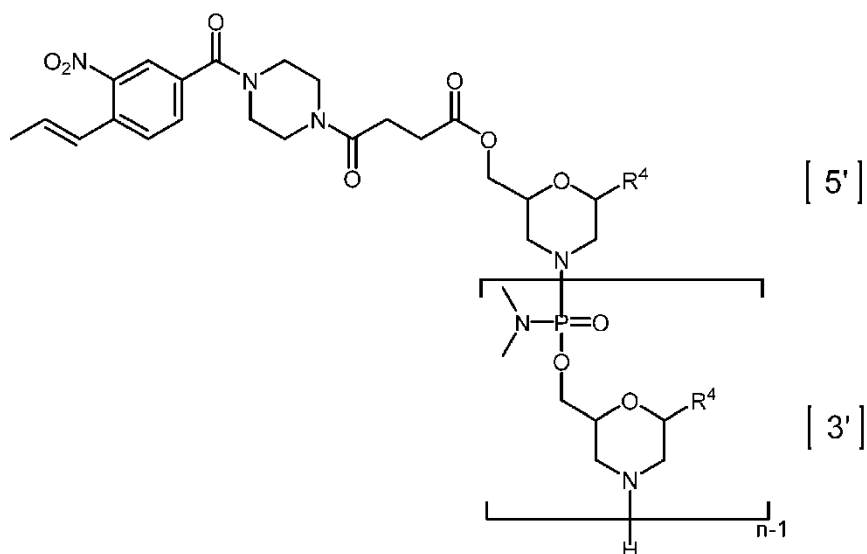


(e) punerea în contact a compusului cu Formula (S9) cu un agent de deblocare pentru a forma un compus cu Formula (S10):



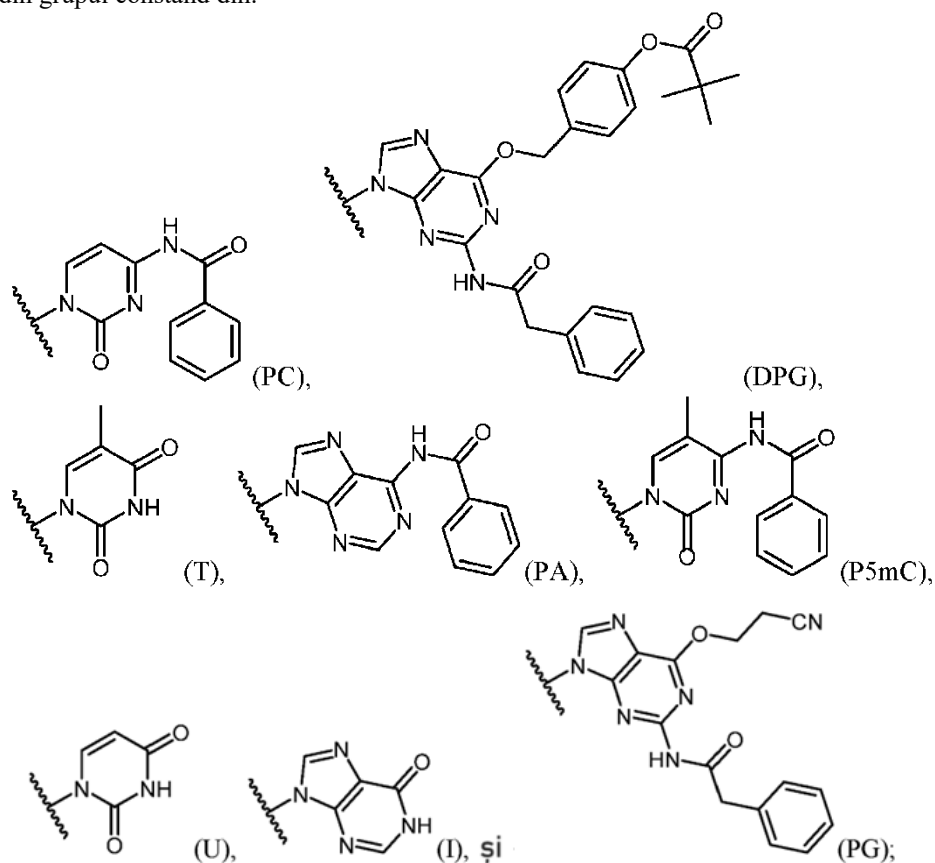
5





(S11);

în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, și R^4 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

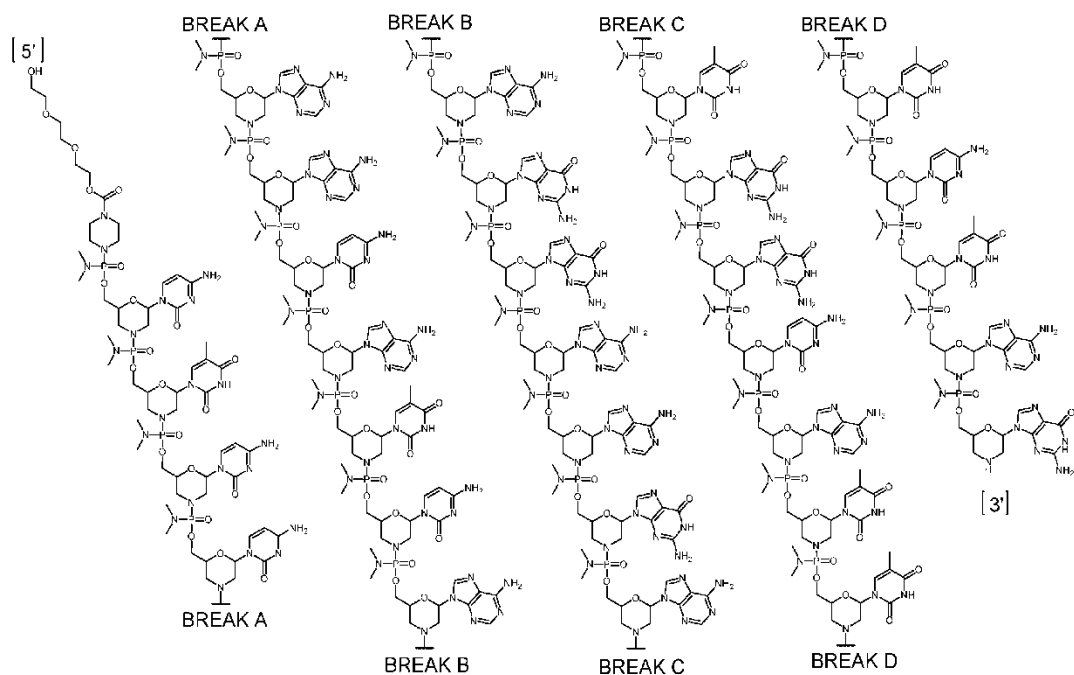


și
(g) punerea în contact a compusului cu Formula (S 11) cu un agent de deprotejare pentru a forma un compus oligomeric cu Formula (S).

Procedee de preparare de Eteplirsen

Aici sunt furnizate procedee pentru prepararea de Eteplirsen.

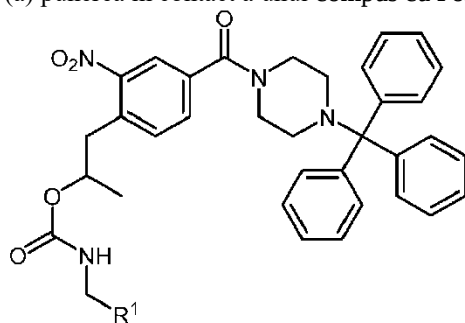
Într-un alt aspect, aici este furnizat un procedeu pentru prepararea unui compus oligomeric cu Formula (E):



(E);

în care procedeul cuprinde etapele secvențiale de:

(a) punerea în contact a unui compus cu Formula (I):

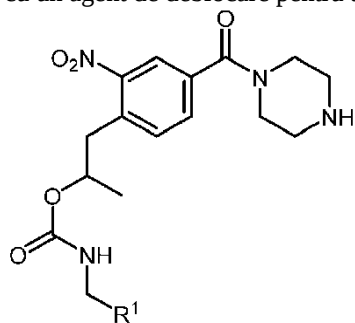


(I);

5

în care R^1 este un mediu suport,

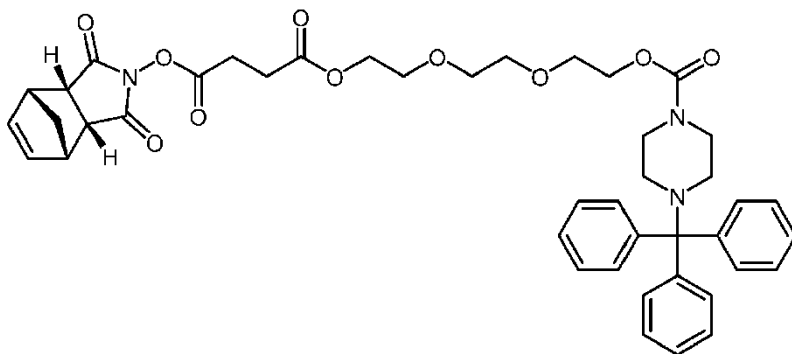
cu un agent de deblocare pentru a forma compusul cu Formula (II):



(II);

în care R^1 este un mediu suport;

(b) punerea în contact a compusului cu Formula (II) cu un compus (B):

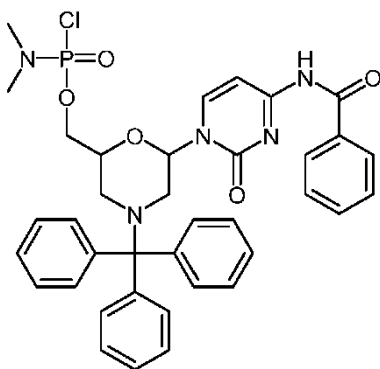
CC(C)OC(=O)NCR1=CC=C(C=C1)C2=CC=C(C=C2)C(=O)N3CCN(CC3)C(=O)CCC(=O)OCCOCCOCCOCC(=O)N4CCN(CC4)C5=CC=CC=C5C6=CC=CC=C6C7=CC=CC=C67

în care R^1 este un mediu suport;

CC(C)OC(=O)NCR1CCCCC1C(=O)N1CCN(CC1)C(=O)CC(=O)OCCOCCOCCOCCOC(=O)CCN2CCNCC2C(=O)c3ccc([N+](=O)[O-])cc3

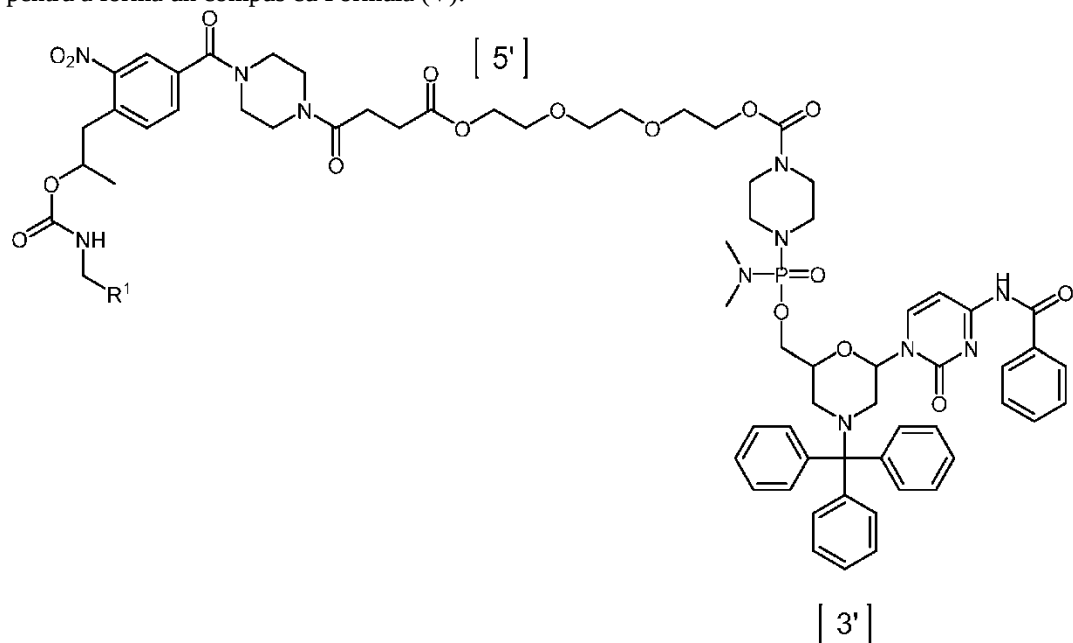
în care R^1 este un mediu suport;

(d) punerea în contact a compusului cu Formula (IV) cu un compus cu formula (C):



(C);

pentru a forma un compus cu Formula (V):

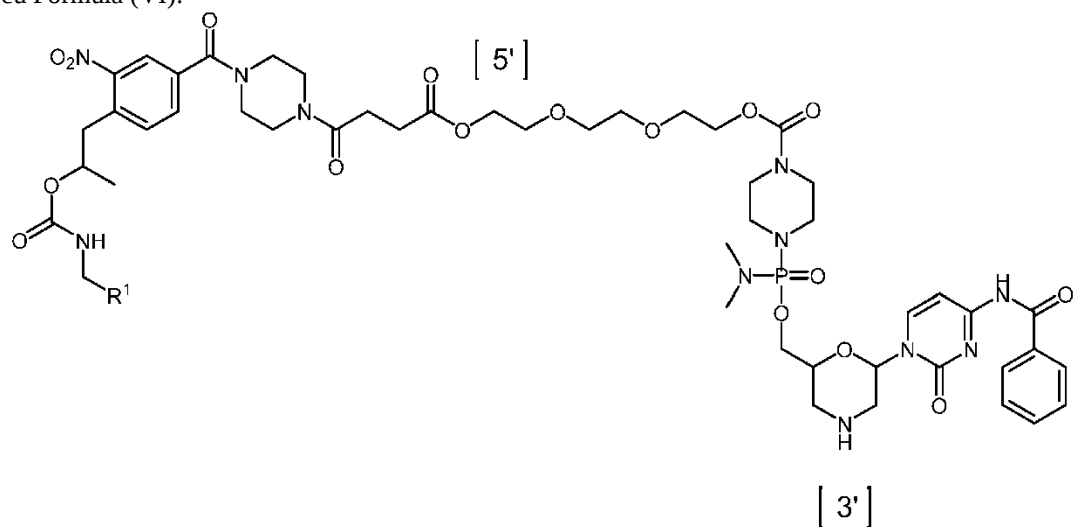


(V);

în care R^1 este un mediu suport;

5

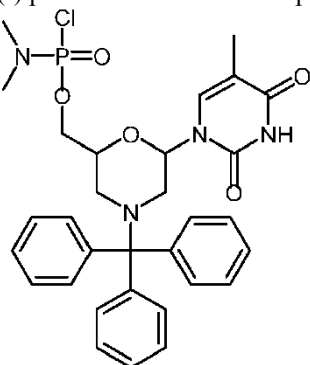
(e) punerea în contact a compusului cu Formula (V) cu un agent de deblocare pentru a forma un compus cu Formula (VI):



(VI);

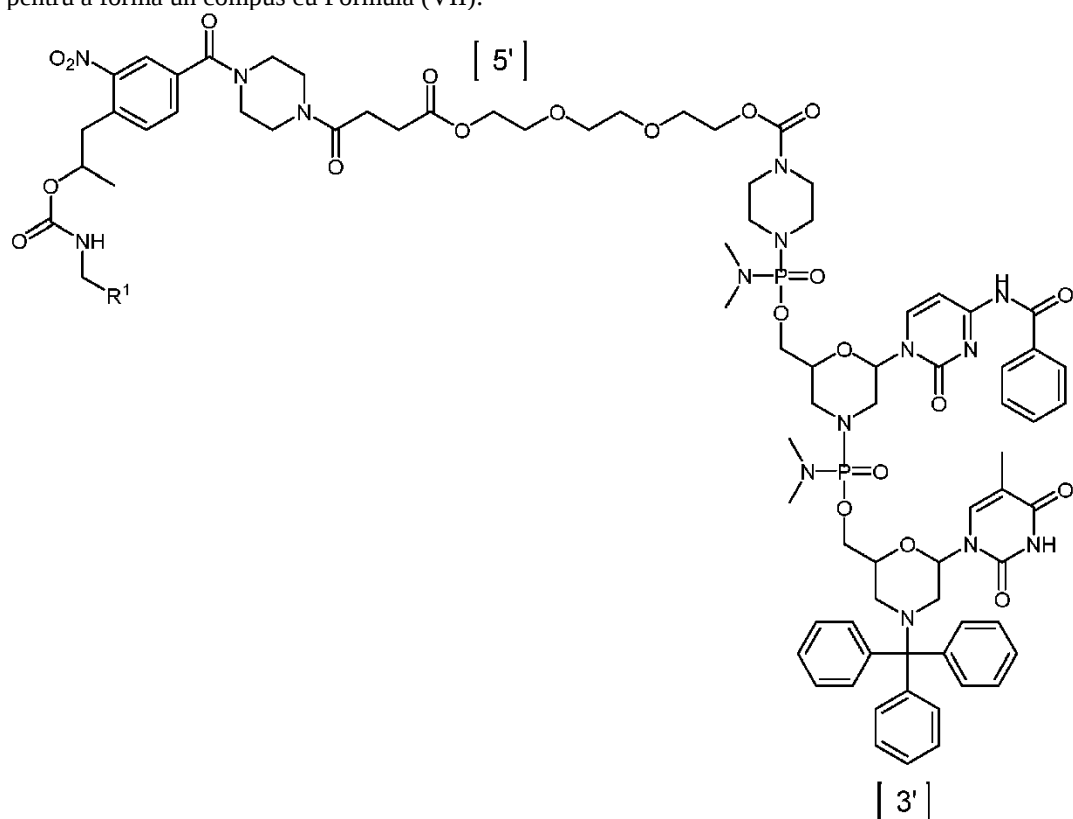
în care R^1 este un mediu suport;

(f) punerea în contact a compusului cu Formula (VI) cu un compus cu formula (F):



(F);

pentru a forma un compus cu Formula (VII):



(VII);

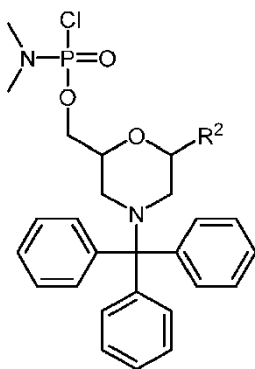
în care R^1 este un mediu suport;

(g) efectuarea de 28 iterații ale etapelor secvențiale de:

(g1) punerea în contact a produsului format prin etapa imediat anterioară cu un agent de deblocare;

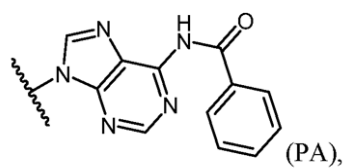
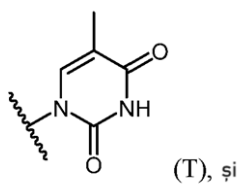
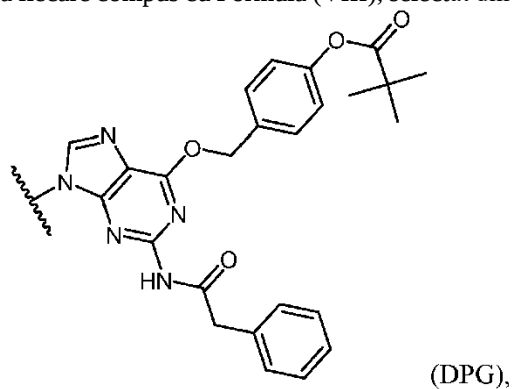
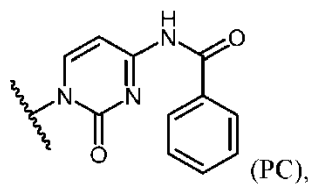
și

(g2) punerea în contact a compusului format prin etapa imediat anterioară cu un compus cu Formula (VIII):



(VIII);

în care R^2 este, independent la fiecare compus cu Formula (VIII), selectat din grupul constând din:

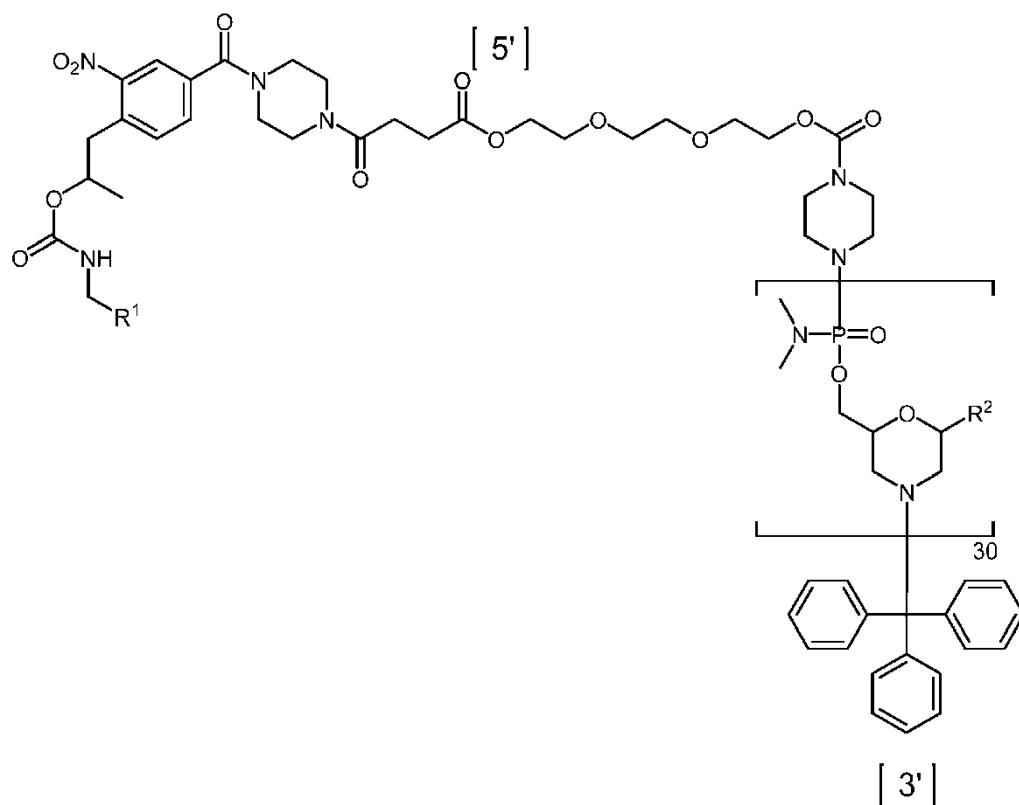


5

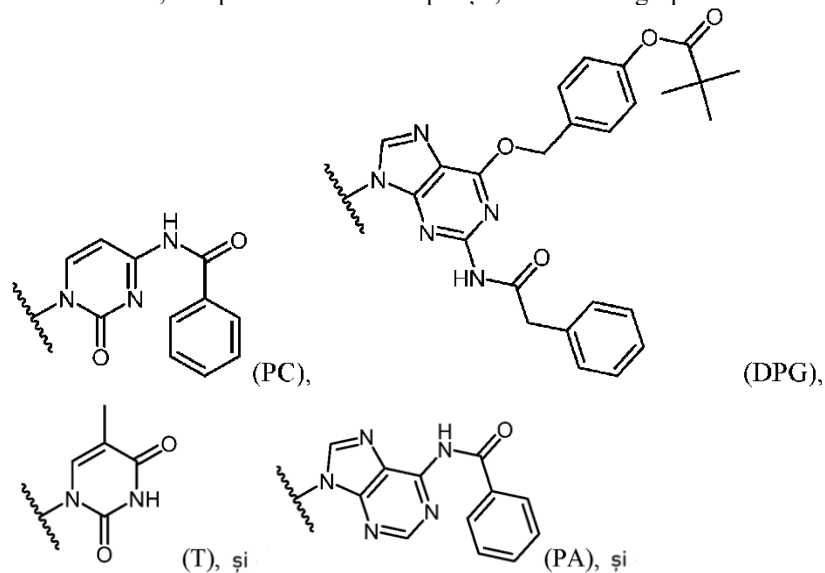
în care, pentru fiecare iterație de la 1 până la 28, R^2 este:

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

pentru a forma un compus cu Formula (IX):



(IX);

în care R^1 este un mediu suport,în care R^2 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

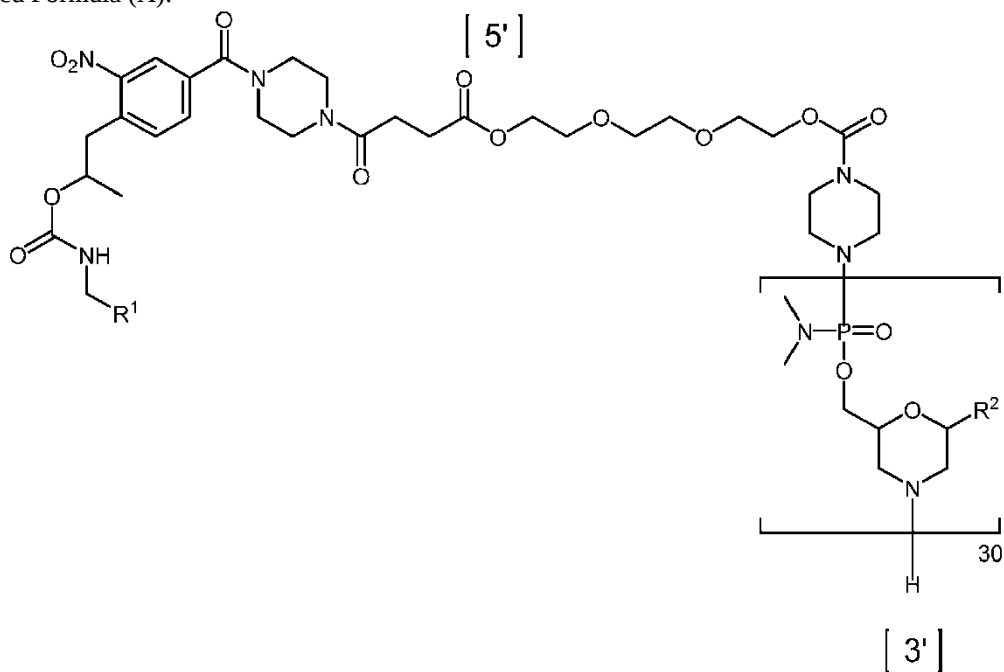
5

în care R^2 este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

Poziția Nr. 5' până la 3'	R^2	Poziția Nr. 5' până la 3'	R^2	Poziția Nr. 5' până la 3'	R^2
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T

Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

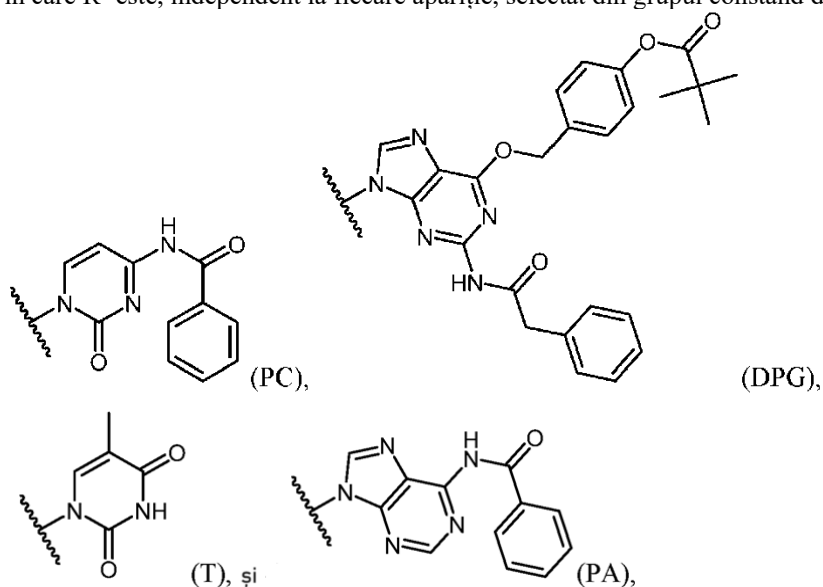
(h) punerea în contact a compusului cu Formula (IX) cu un agent de deblocare pentru a forma un compus cu Formula (X):



(X);

5

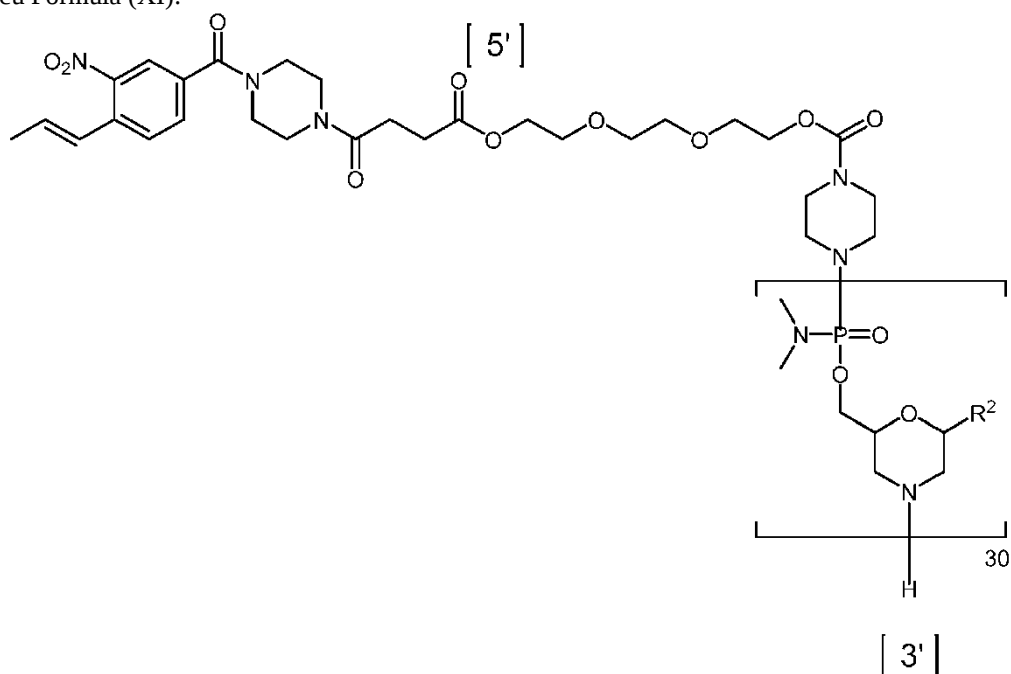
în care R¹ este un mediu suport,
 în care R² este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



și în care R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

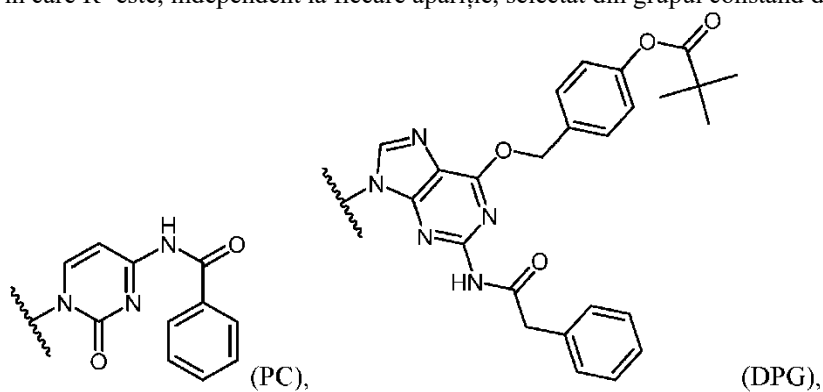
Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

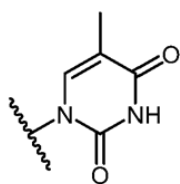
(i) punerea în contact a compusului cu Formula (X) cu un agent de clivare pentru a forma un compus cu Formula (XI):



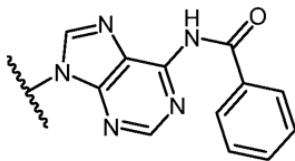
(XI),

5 în care R² este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





(T), și



(PA), și

în care R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

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

și

(i) punerea în contact a compusului cu Formula (XI) cu un agent de deprotejare pentru a forma un compus oligomeric cu Formula (E).

Într-o variantă de realizare, etapa (d), etapa (f), etapa g(2) sau o combinație a acestora cuprinde punerea în contact a compusului cu Formula (IV), Formula (VI), sau a compusului format prin etapa imediat anterioară, respectiv, cu un agent de acoperire.

Într-o variantă de realizare, etapa (d), etapa (f), etapa g(2) mai cuprinde punerea în contact a compusului cu Formula (IV), Formula (VI) sau a compusului format prin etapa imediat anterioară, respectiv, cu un agent de acoperire.

Într-o altă variantă de realizare, fiecare etapă este realizată în prezența a cel puțin unui solvent.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de deblocare utilizat în fiecare etapă este o soluție care cuprinde un acid halogenat.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de deblocare utilizat în fiecare etapă este acidul cianoacetic.

Într-o altă variantă de realizare, acidul halogenat este selectat din grupul constând din acid cloracetic, acid dicloracetic, acid tricloroacetic, acid fluoracetic, acid difluoracetic și acid trifluoracetic.

Într-o altă variantă de realizare, acidul halogenat este acidul trifluoracetic.

Într-o altă variantă de realizare, cel puțin una dintre etapele (c), (e1), și (f) mai cuprinde etapa de punere în contact a compusului deblocat din fiecare etapă cu un agent de neutralizare.

Într-o altă variantă de realizare, fiecare dintre etapele (c), (e1) și (f) mai cuprinde etapa de punere în contact a compusului deblocat din fiecare etapă cu un agent de neutralizare.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de neutralizare este într-o soluție care cuprinde diclormetan și alcool izopropilic.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de neutralizare este un monoalchil, dialchil sau trialchilamină.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de neutralizare este N,N-diizopropiletilamină.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de deblocare utilizat în fiecare etapă este o soluție care cuprinde 4-cianopiridină, diclormetan, acid trifluoracetic, trifluoretanol și apă.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de acoperire este într-o soluție care cuprinde etilmorfolină și metilpirolidinonă.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de acoperire este o anhidridă acidă.

Într-o altă variantă de realizare, anhidrida acidă este anhidrida benzoică.

Într-o altă variantă de realizare, compușii cu Formula (VIII), compusul (C) și compusul (F) sunt fiecare, în mod independent, într-o soluție care cuprinde etilmorfolină și dimetilimidazolidinonă.

Într-o altă variantă de realizare, agentul de scindare cuprinde ditiotritol și 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-enă.

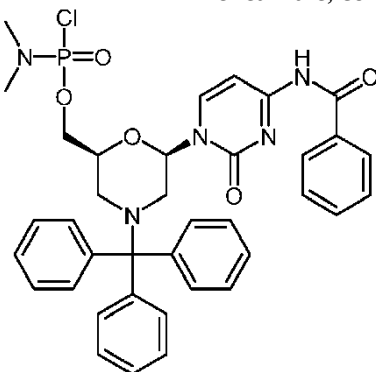
Într-o altă variantă de realizare, agentul de scindare este într-o soluție care cuprinde N-metil-2-pirolidonă.

5 Într-o altă variantă de realizare, agentul de deprotejare cuprinde NH_3 .

Într-o altă variantă de realizare, agentul de deprotejare este într-o soluție apoasă.

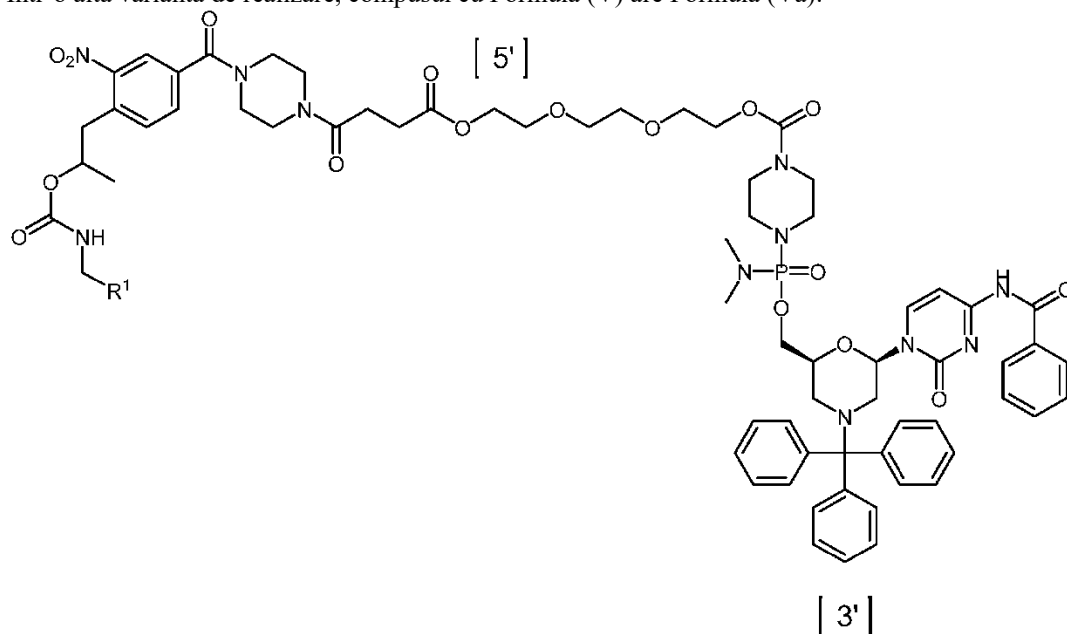
Într-o altă variantă de realizare, mediul suport cuprinde polistiren cu 1% divinilbenzen reticulat.

Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (C) are Formula (C1):



(C1).

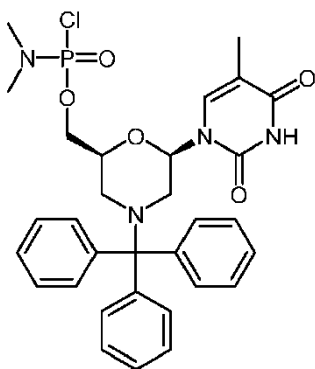
10 Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (V) are Formula (Va):



(Va),

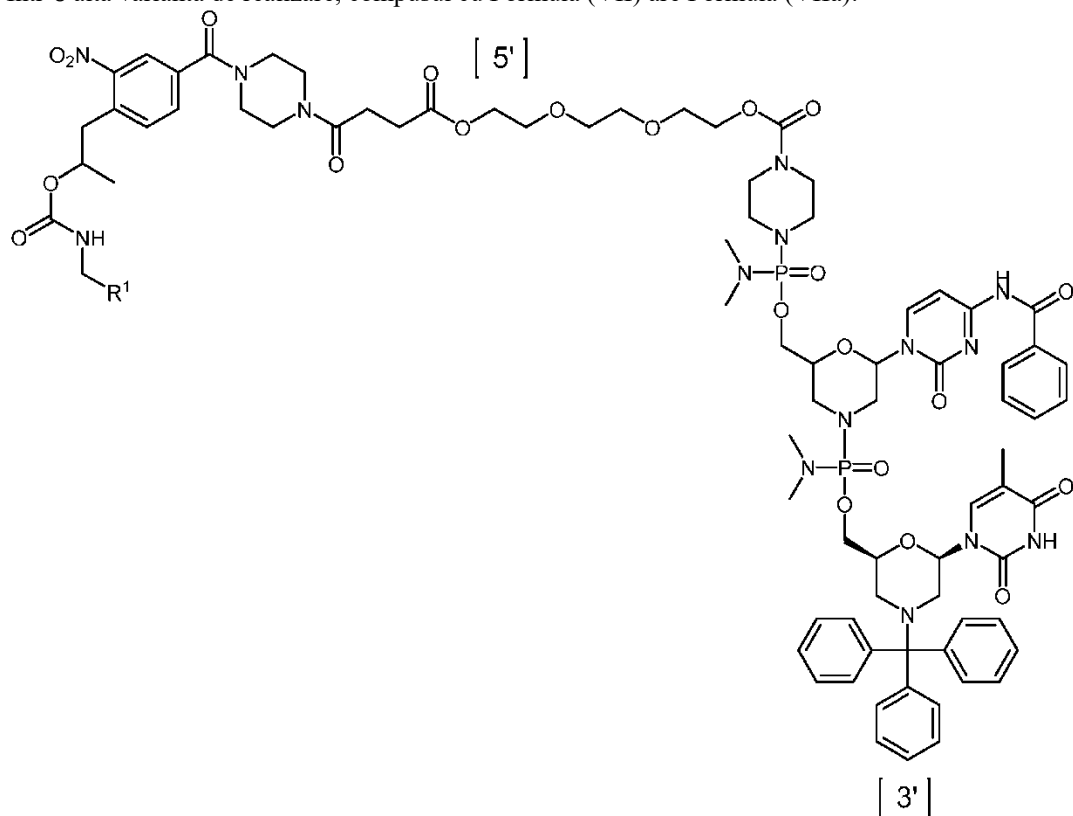
în care R^1 este un mediu suport.

Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (F) are Formula (F1):



(F1).

Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (VII) are Formula (VIIa):

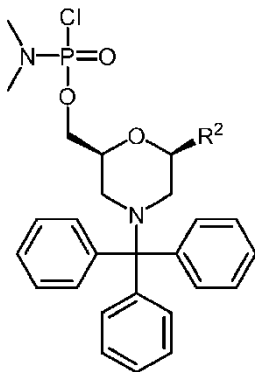


(VIIa),

în care R^1 este un mediu suport.

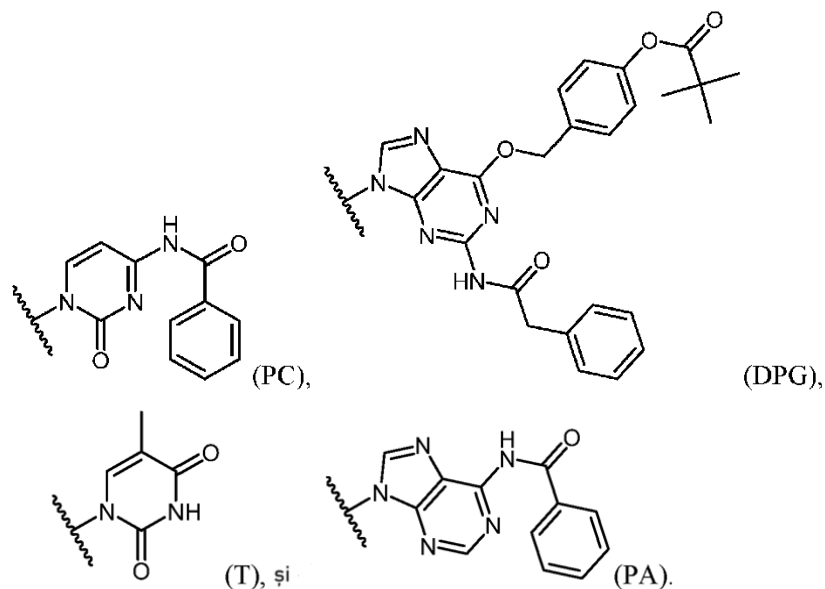
5

Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (VIII) are Formula (VIIIa):

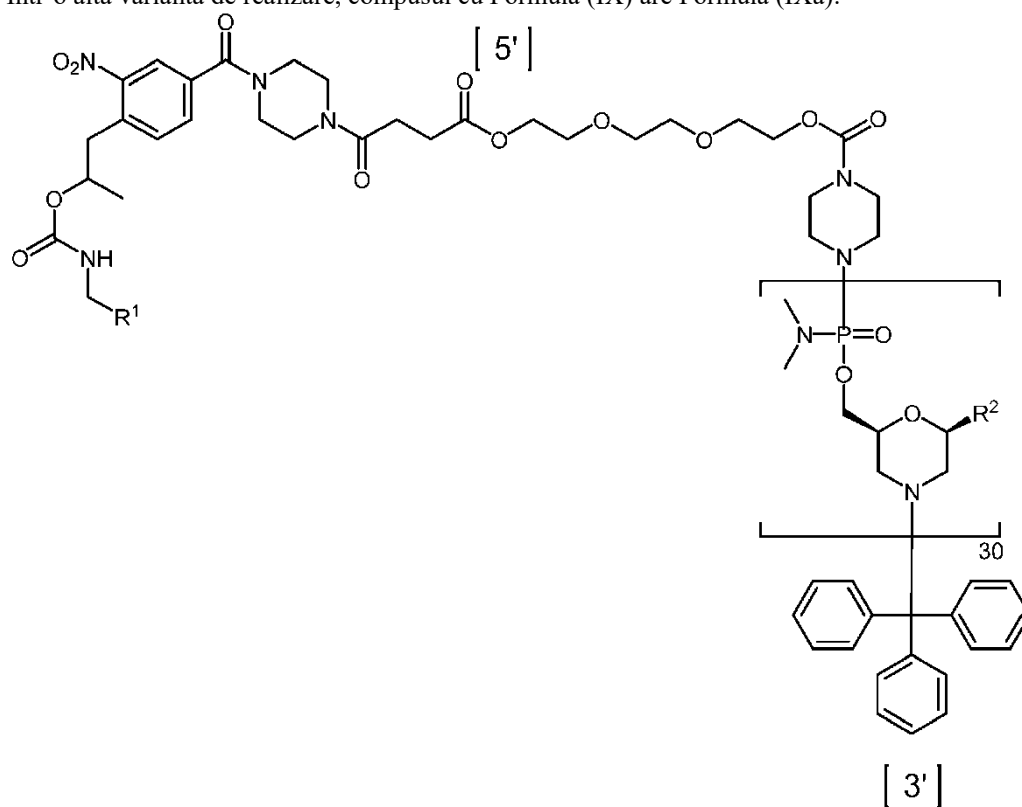


(VIIIa);

din: în care R^2 este, independent la fiecare compus cu Formula (VIIIa), selectat din grupul constând



5 Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (IX) are Formula (IXa):

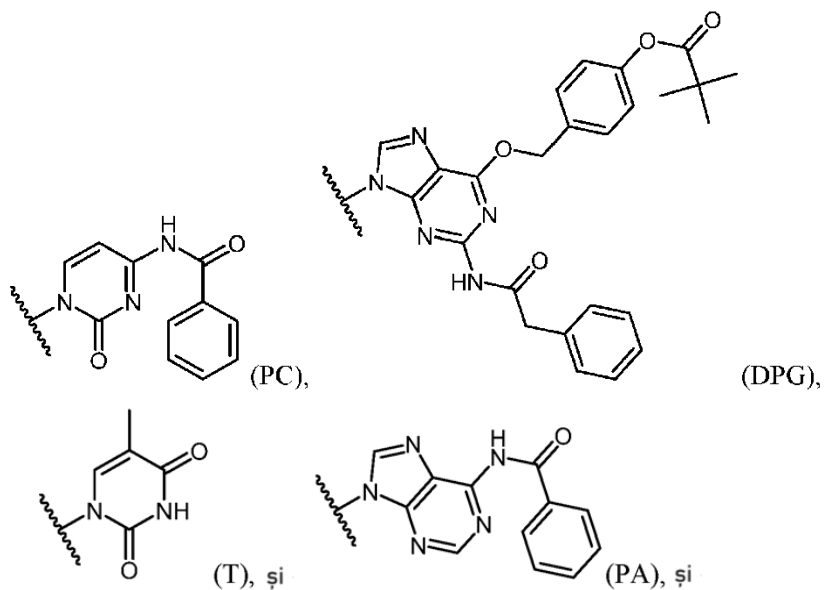


(IXa),

sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, în care

R^1 este un mediu suport, și

R^2 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

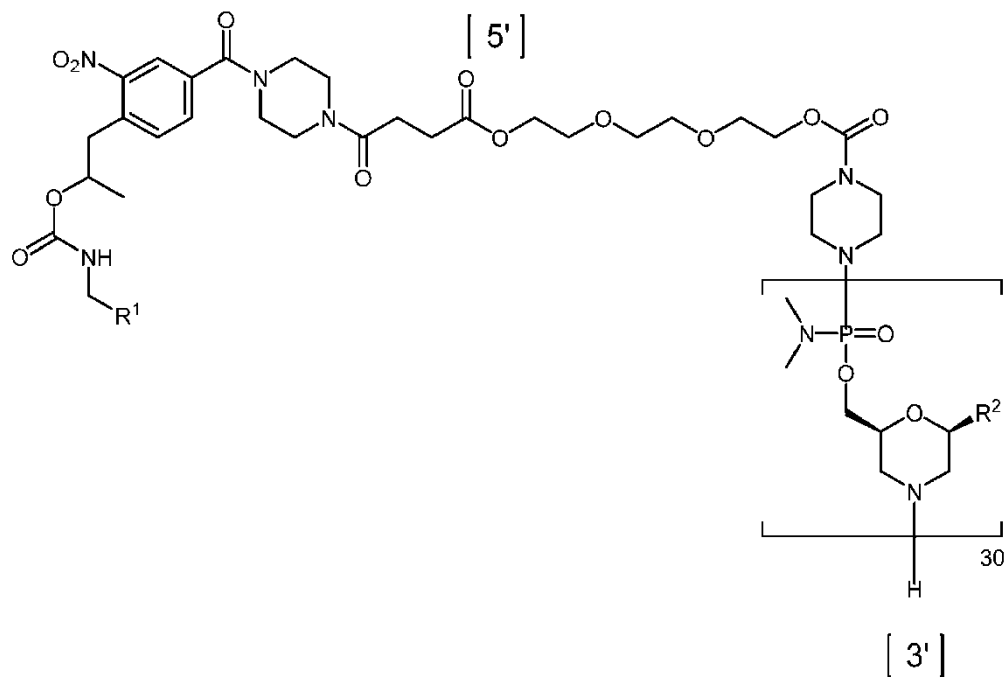


în care R^2 este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

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

- 5 Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (X) are Formula (Xa):

60

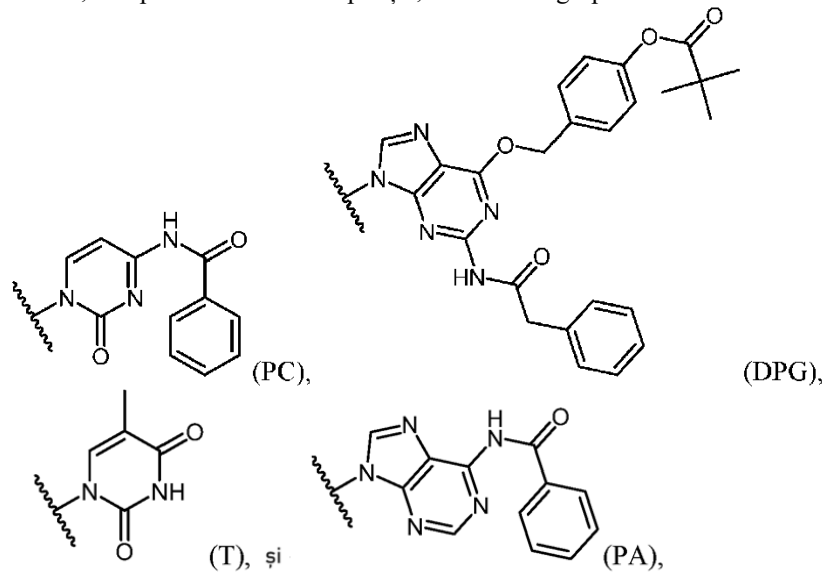


(Xa),

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care

R¹ este un mediu suport, și

R² este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



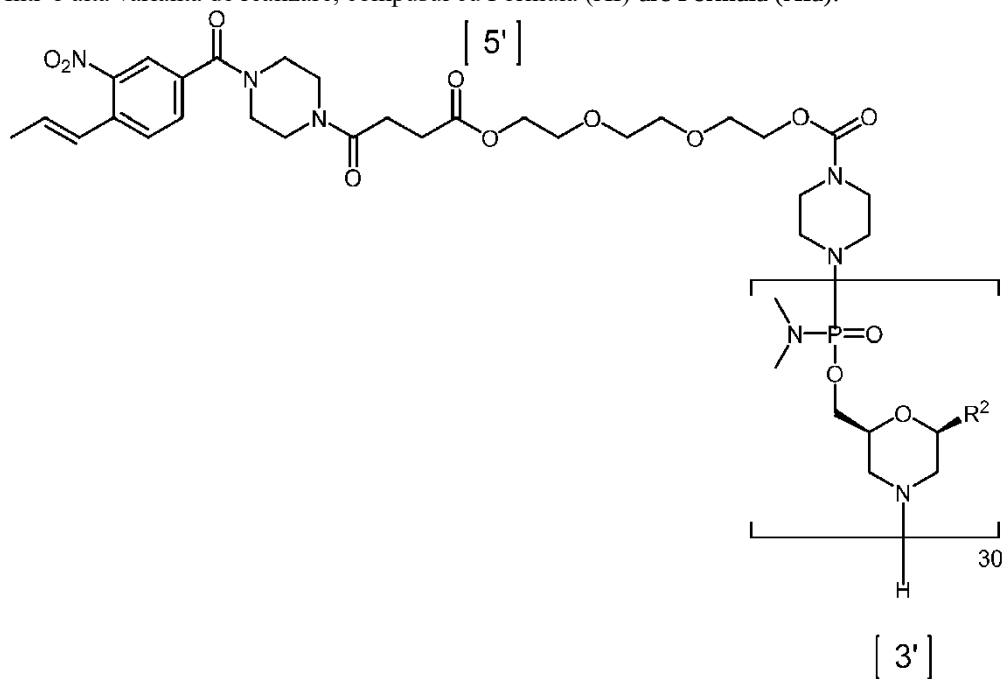
și

în care R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC

Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

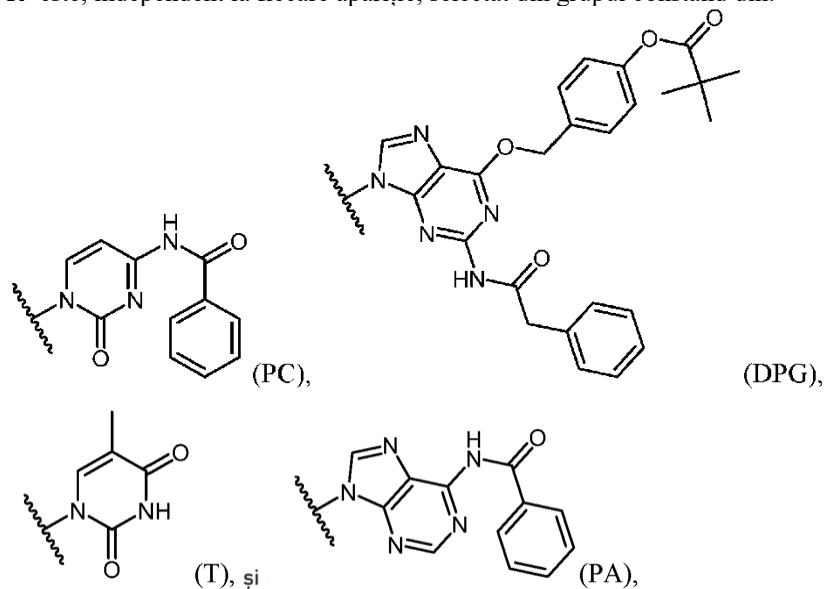
Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (XI) are Formula (XIa):



(XIa),

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

R² este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



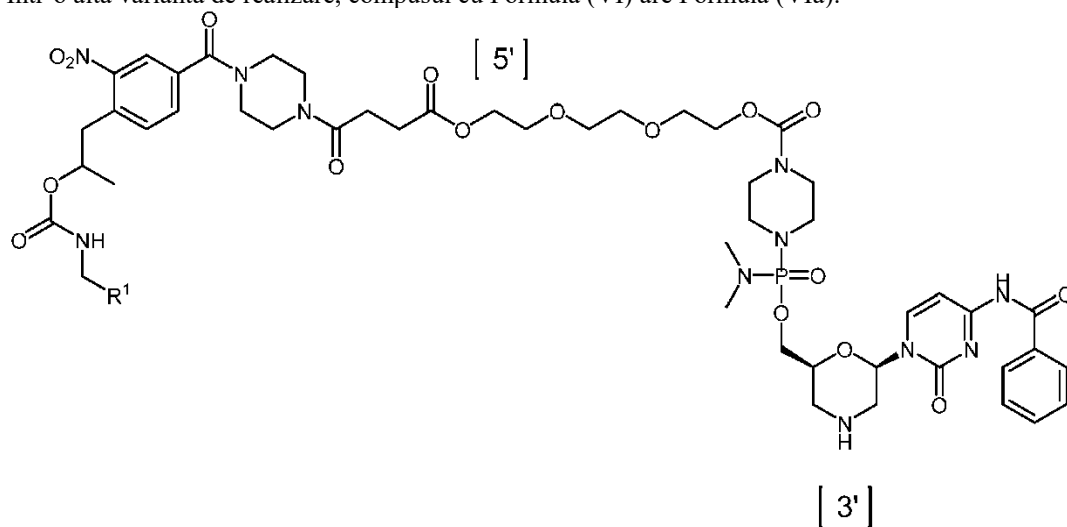
și

în care R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC

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

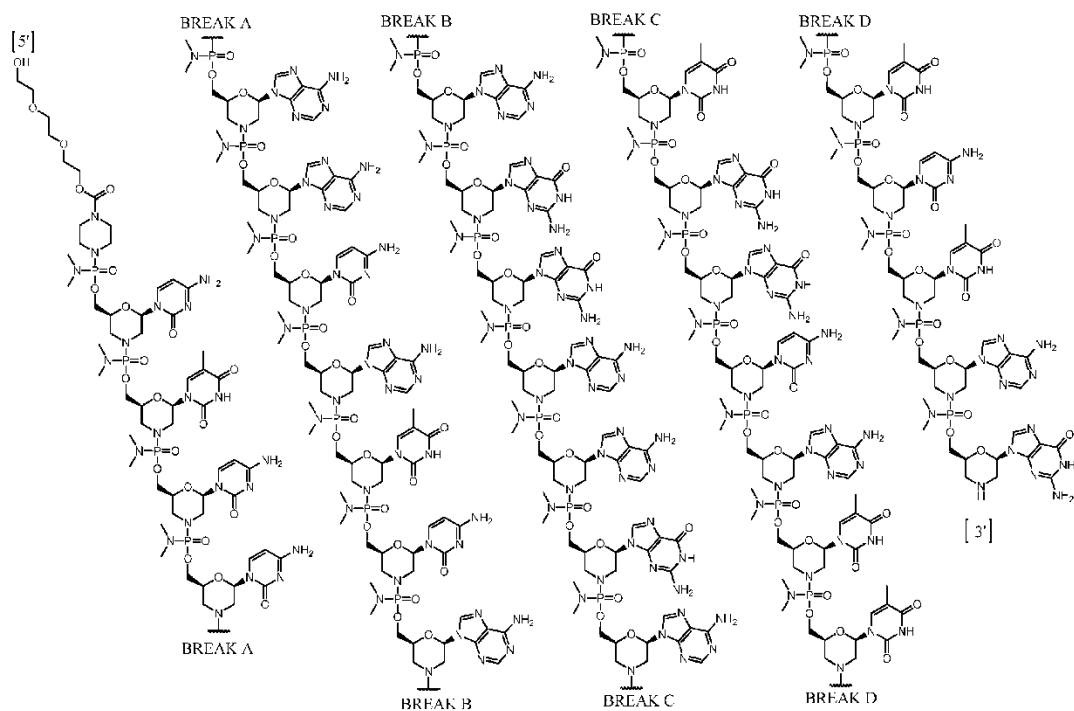
Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (VI) are Formula (VIa):



(VIa);

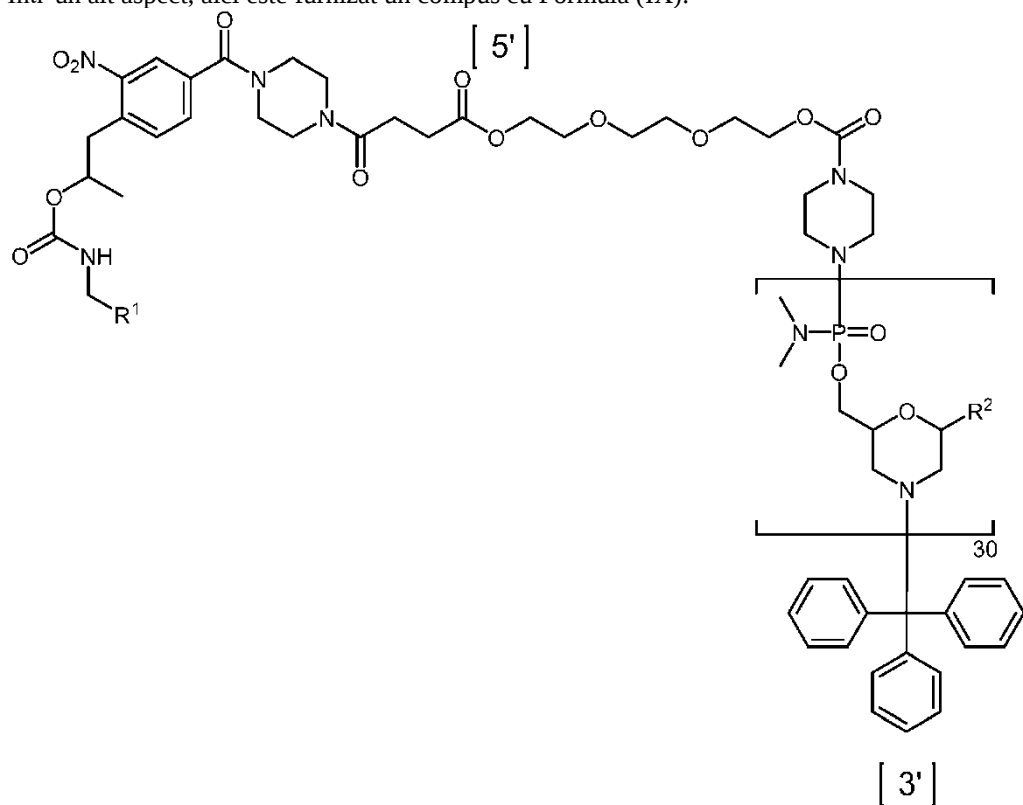
în care R¹ este un mediu suport.

- 5 Într-o altă variantă de realizare, compusul oligomeric cu Formula (E) este un compus oligomeric cu Formula (XII):



(XII).

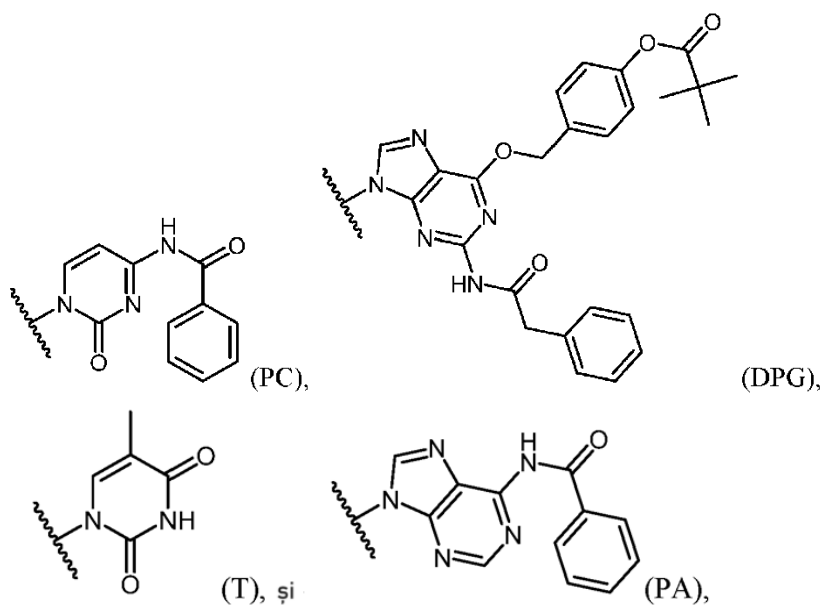
Într-un alt aspect, aici este furnizat un compus cu Formula (IX):



(IX),

sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, în care:

R¹ este un mediu suport, șiR² este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

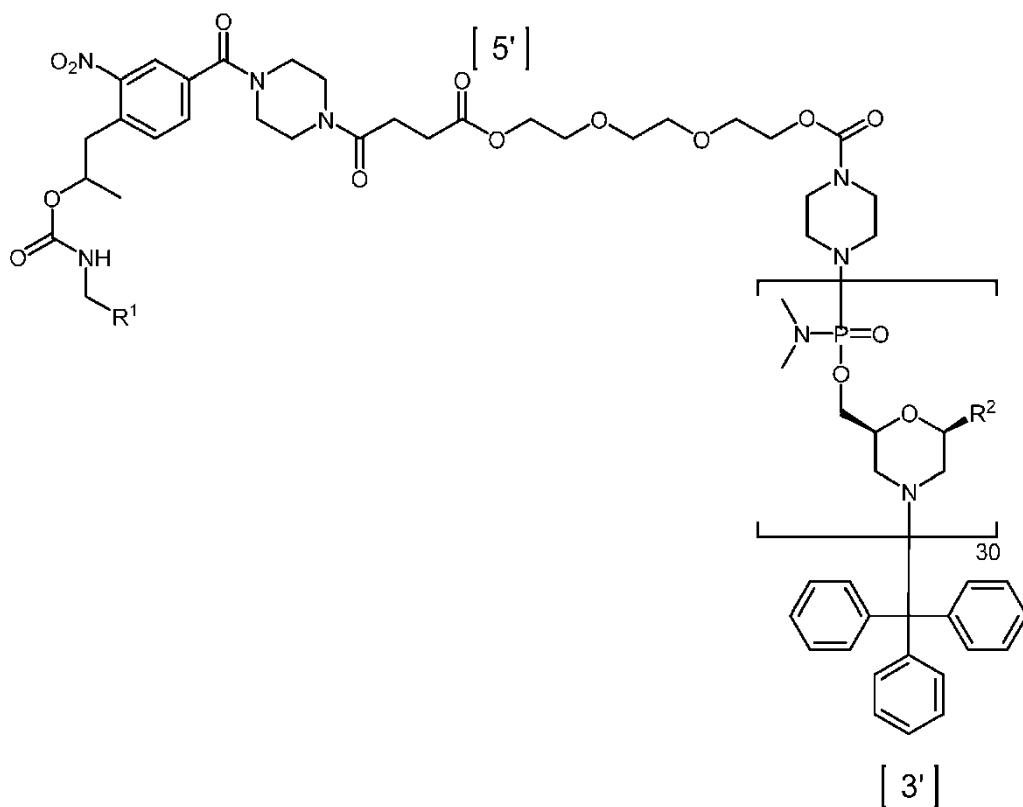


și
în care R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

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

5

Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (IX) are Formula (IXa):

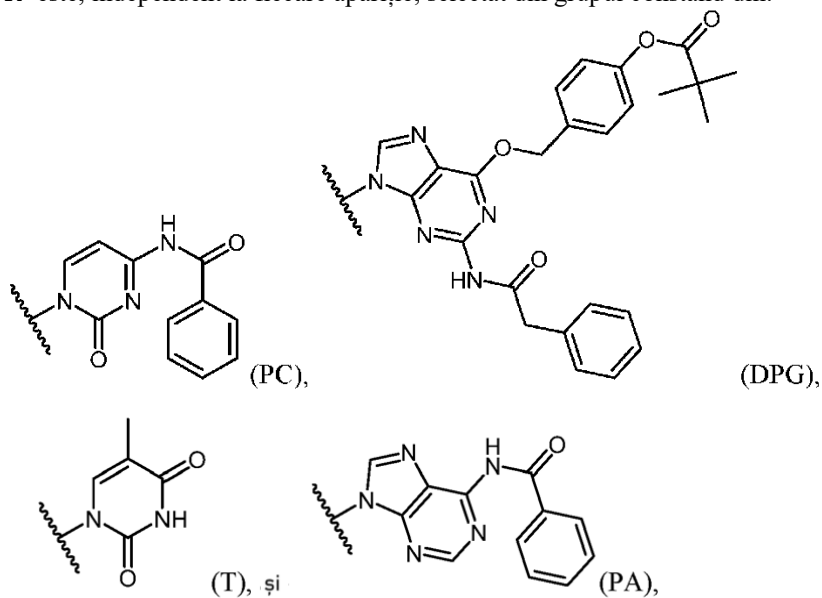


(IXa),

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care

R¹ este un mediu suport, și

- 5 R² este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



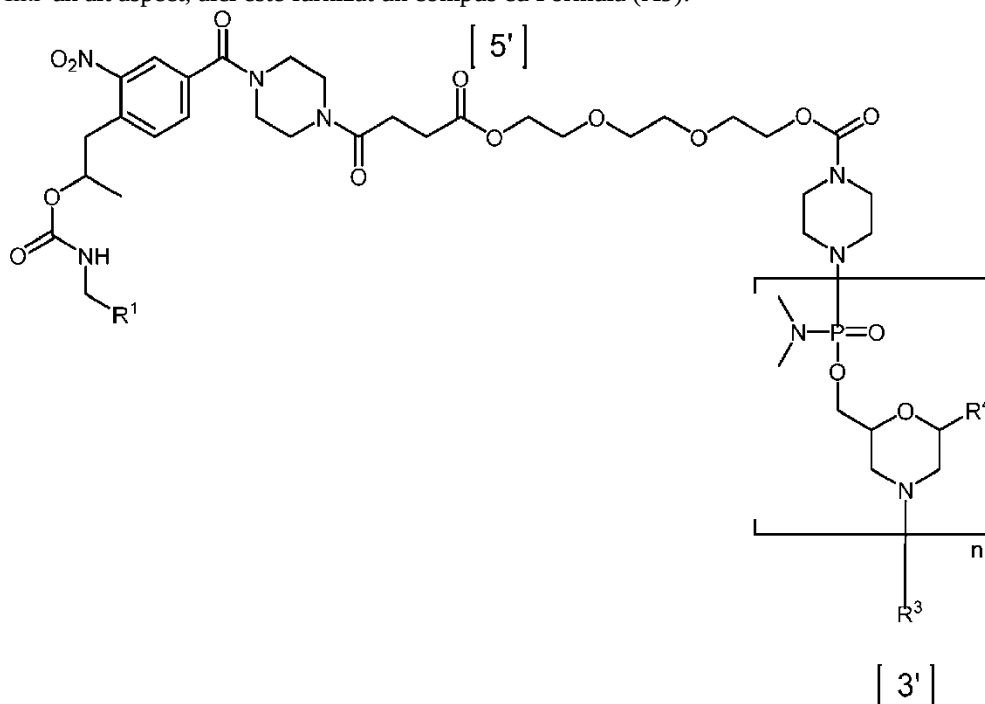
și

în care R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T

Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

Într-un alt aspect, aici este furnizat un compus cu Formula (A9):



(A9),

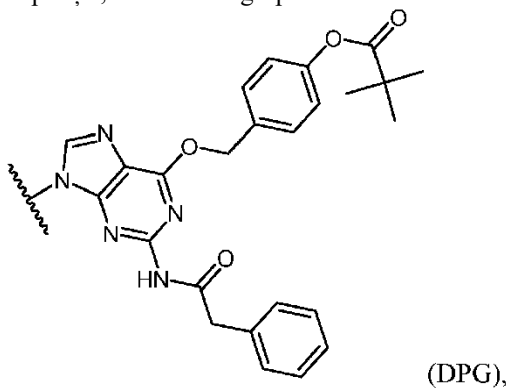
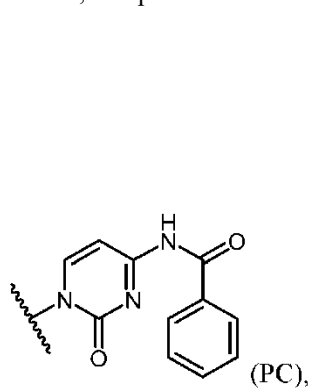
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

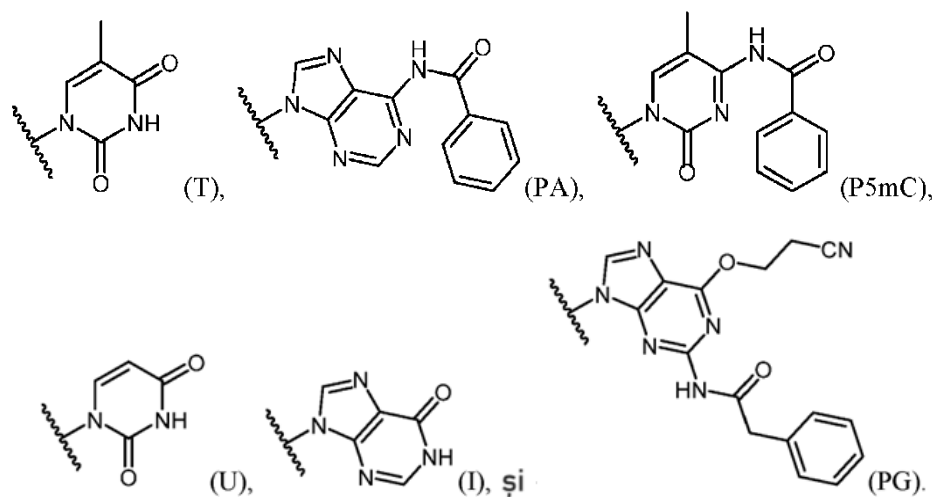
n este un întreg de la 10 până la 40;

$\mathbb{R}^1$ este un mediu suport;

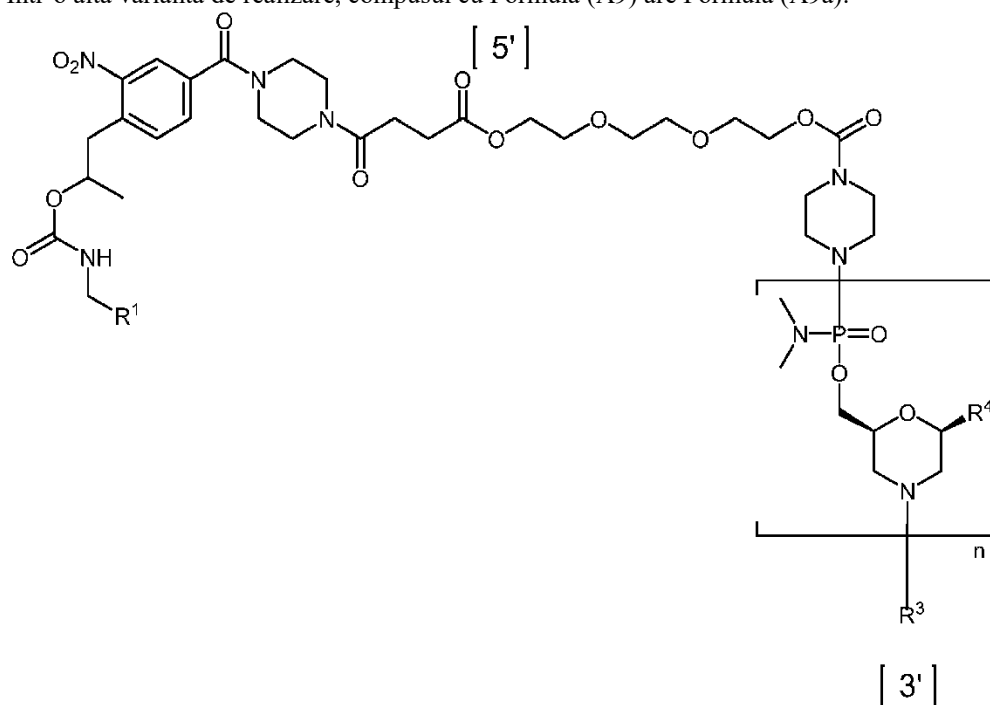
R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

R^4 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (A9) are Formula (A9a):



(A9a),

5

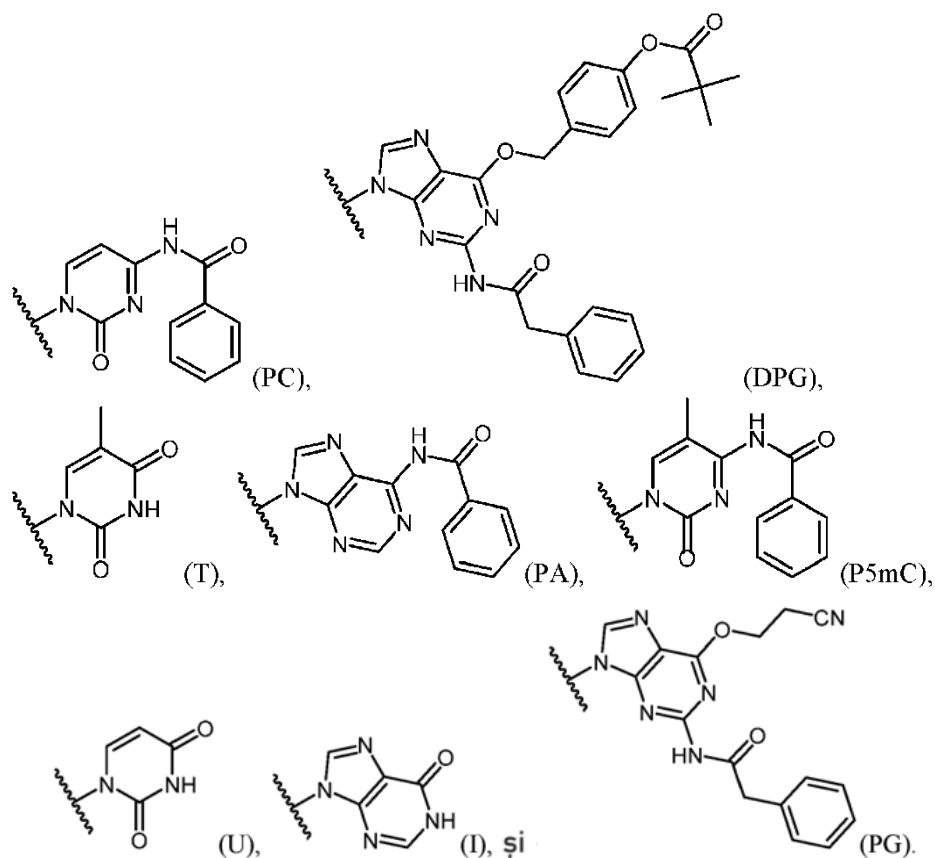
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

n este un întreg de la 10 până la 40;

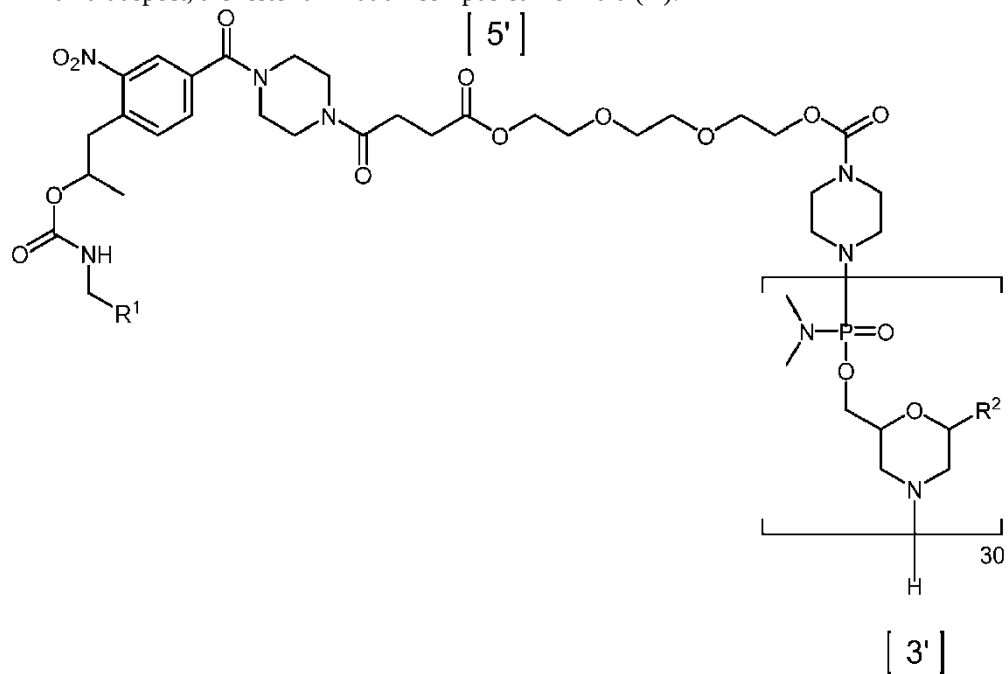
R¹ este un mediu suport;

R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



Într-un alt aspect, aici este furnizat un compus cu Formula (X):

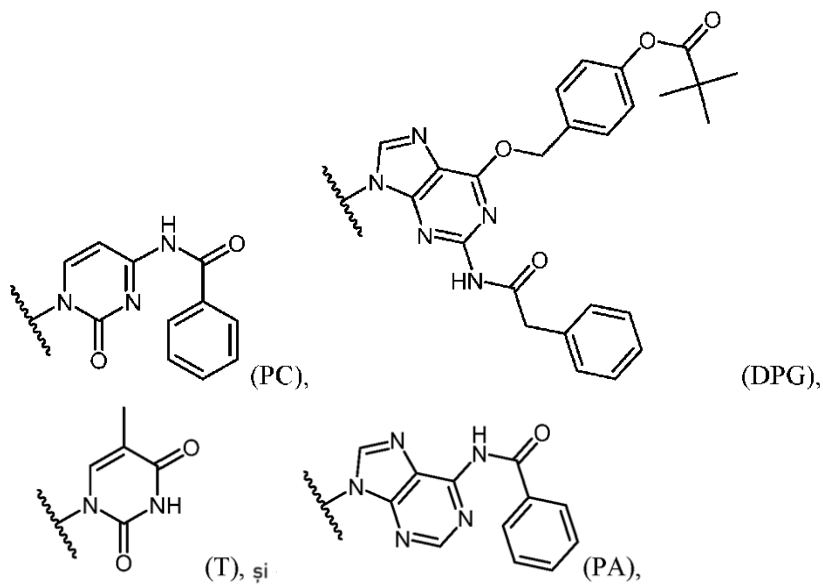


5

(X);

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care

 R^1 este un mediu suport, și R^2 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

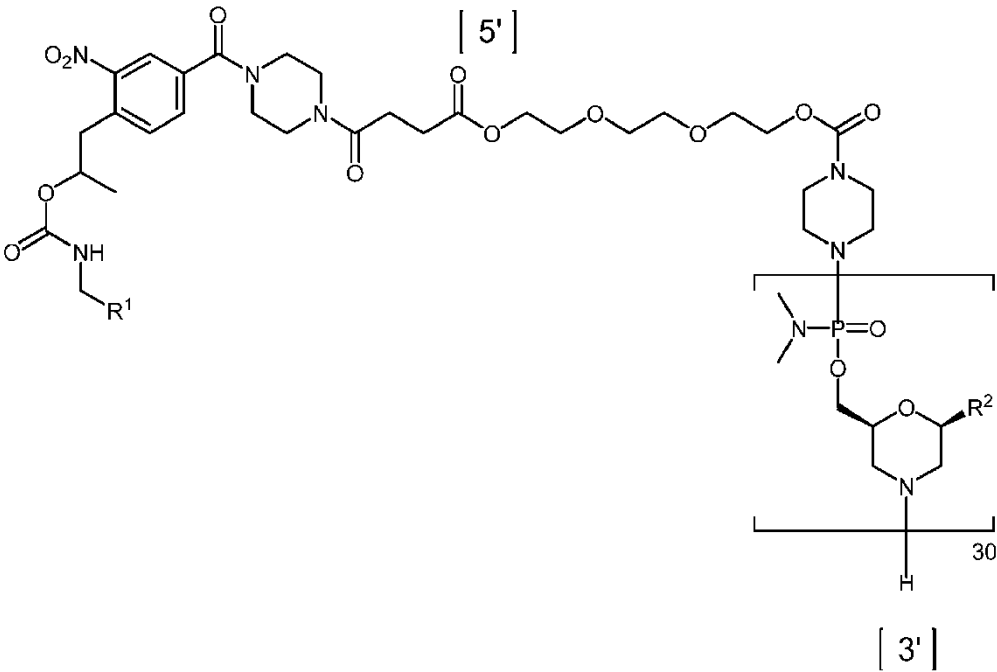


și
în care R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

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

5

Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (X) are Formula (Xa):

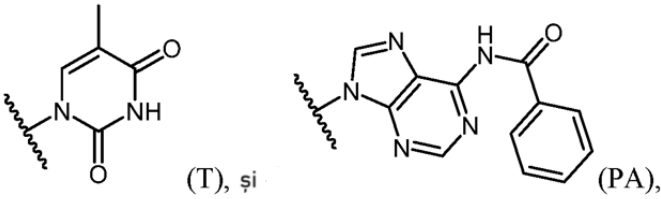
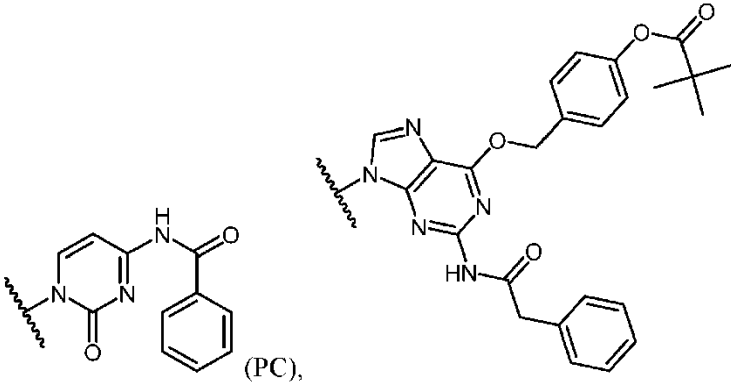


(Xa),

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care

R¹ este un mediu suport, și

R² este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



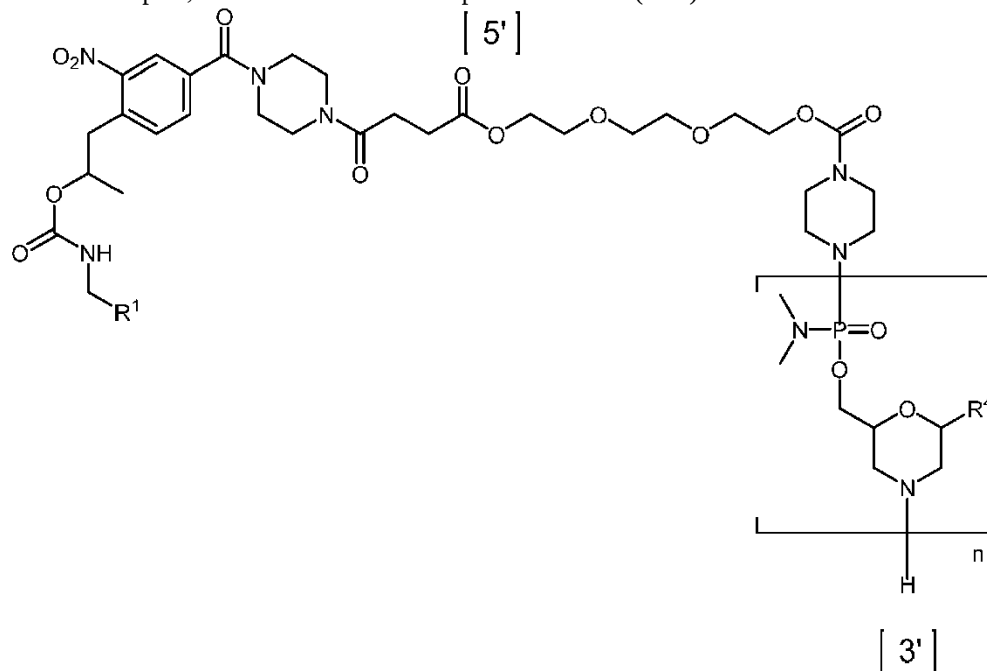
și

în care R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
1	PC	11	PA	21	DPG
2	T	12	PA	22	PC
3	PC	13	DPG	23	PA
4	PC	14	DPG	24	T
5	PA	15	PA	25	T
6	PA	16	PA	26	T

Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²	Poziția Nr. 5' până la 3'	R ²
7	PC	17	DPG	27	PC
8	PA	18	PA	28	T
9	T	19	T	29	PA
10	PC	20	DPG	30	DPG

Într-un alt aspect, aici este furnizat un compus cu Formula (A10):



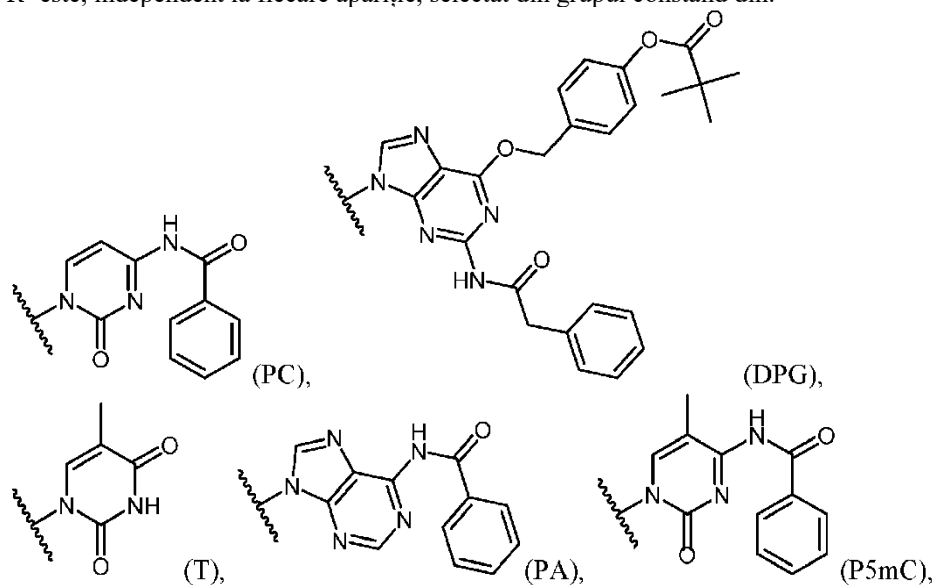
(A10),

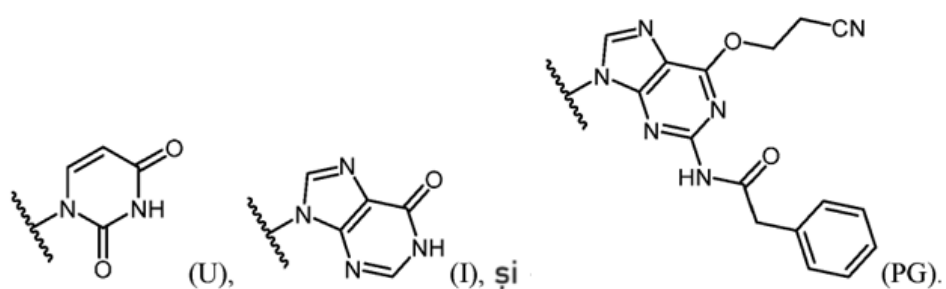
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

n este un întreg de la 10 până la 40;

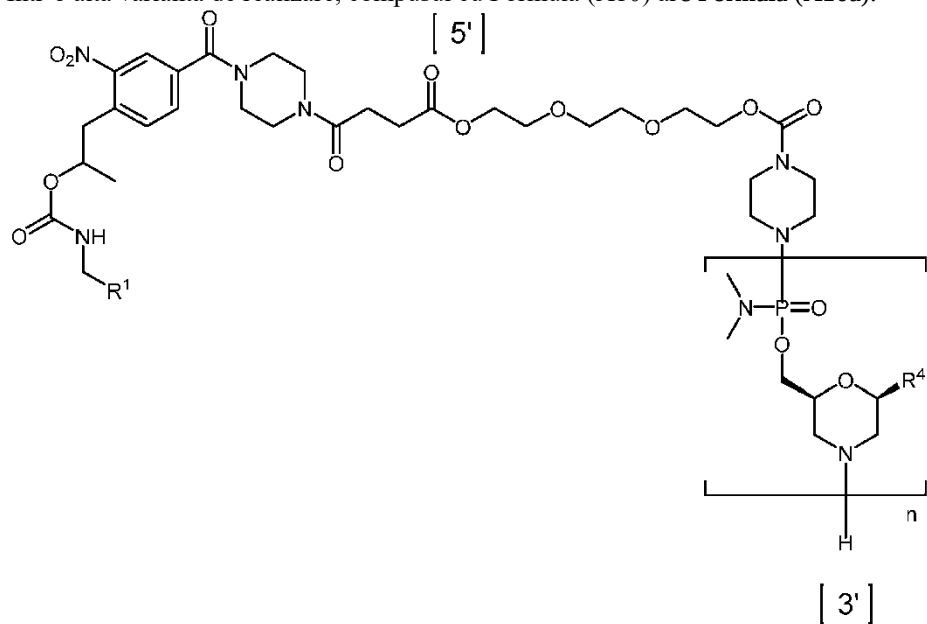
R¹ este un mediu suport; și

R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (A10) are Formula (A10a):

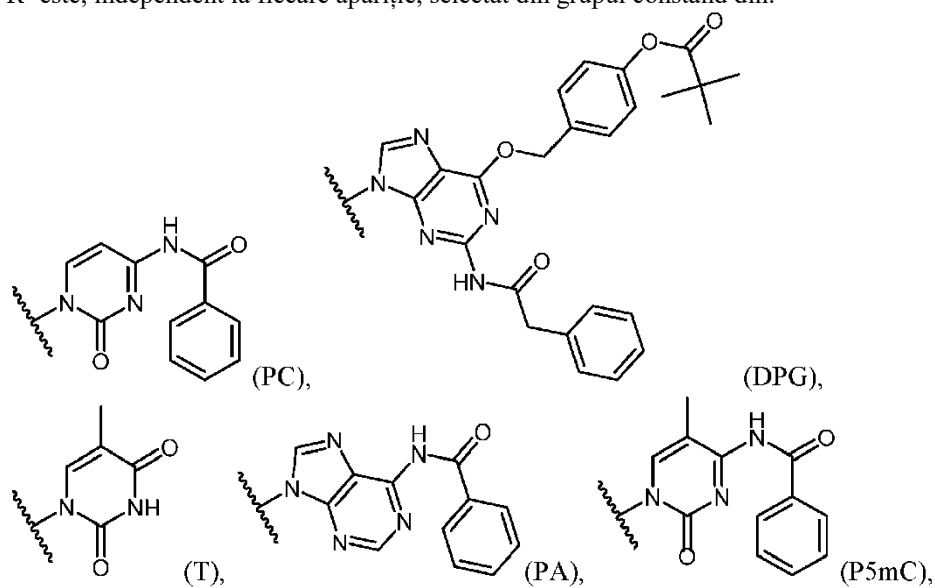


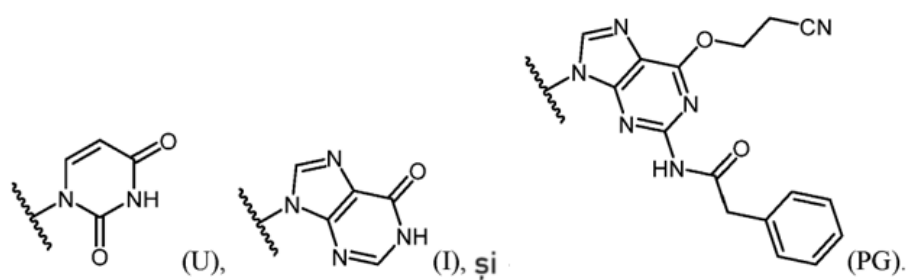
sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia, în care:

n este un întreg de la 10 până la 40;

R¹ este un mediu suport; și

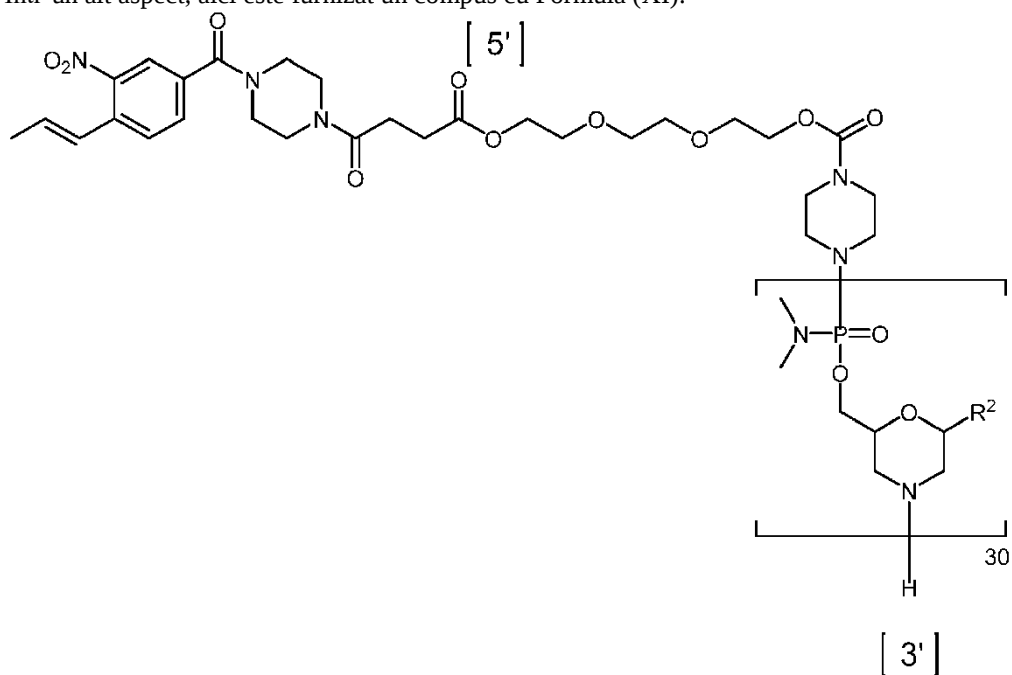
R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





Într-o altă variantă de realizare a acestor compuși, mediul suport cuprinde polistiren cu 1% divinilbenzen reticulat.

Într-un alt aspect, aici este furnizat un compus cu Formula (XI):

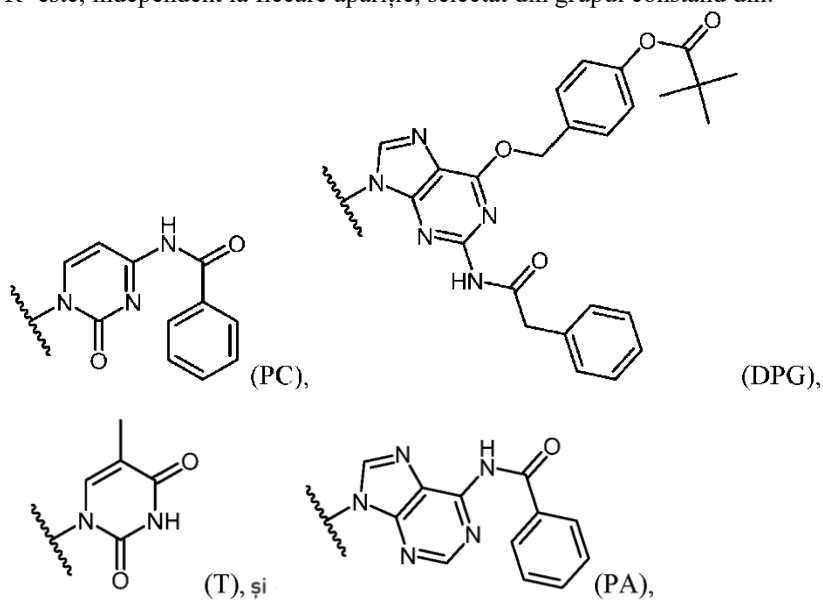


5

(XI),

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

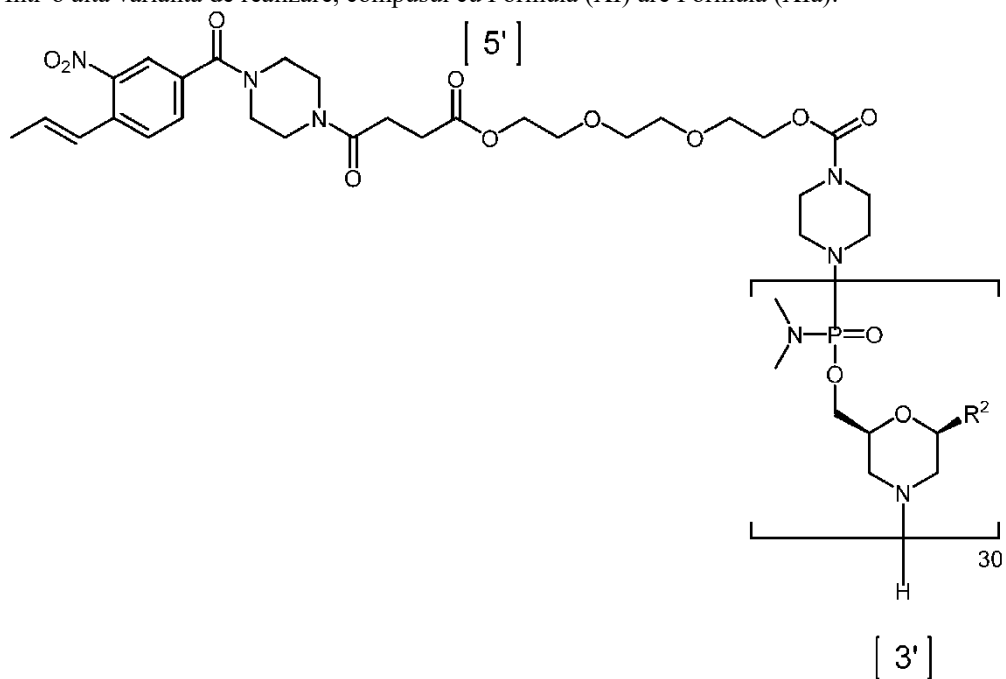
R² este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



și
în care R² este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

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

Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (XI) are Formula (XIa):

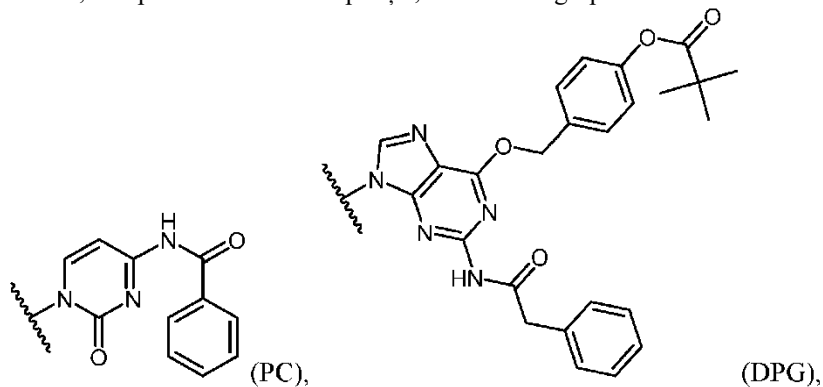


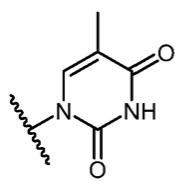
5

(XIa),

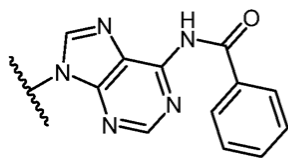
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

R² este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





(T), și



(PA),

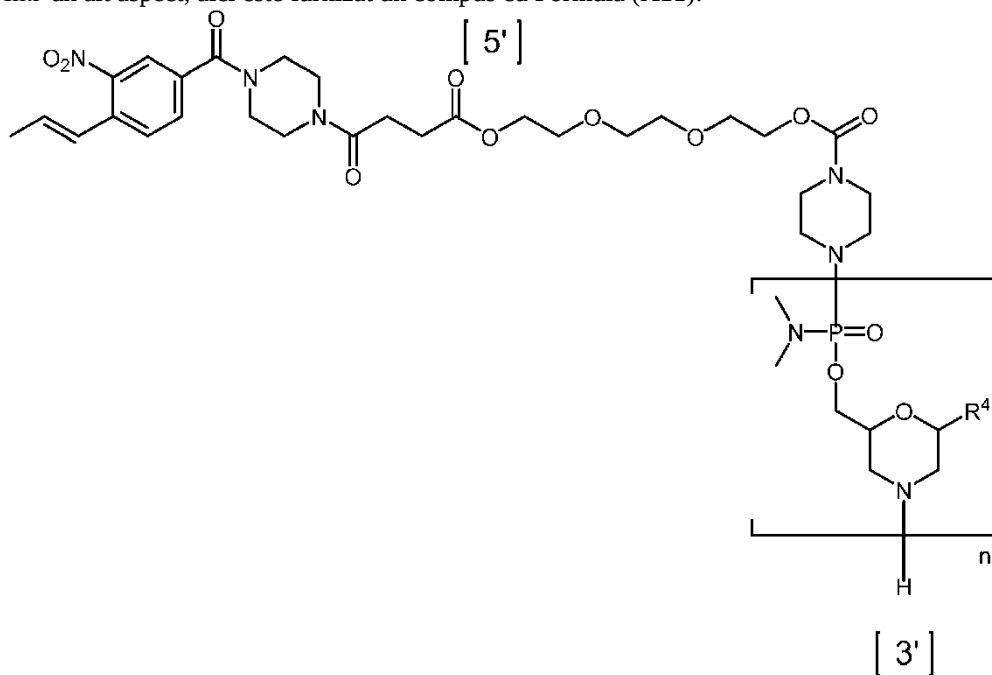
și

în care R^2 este la fiecare poziție de la 1 până la 30 și 5' până la 3':

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

5

Într-un alt aspect, aici este furnizat un compus cu Formula (A11):

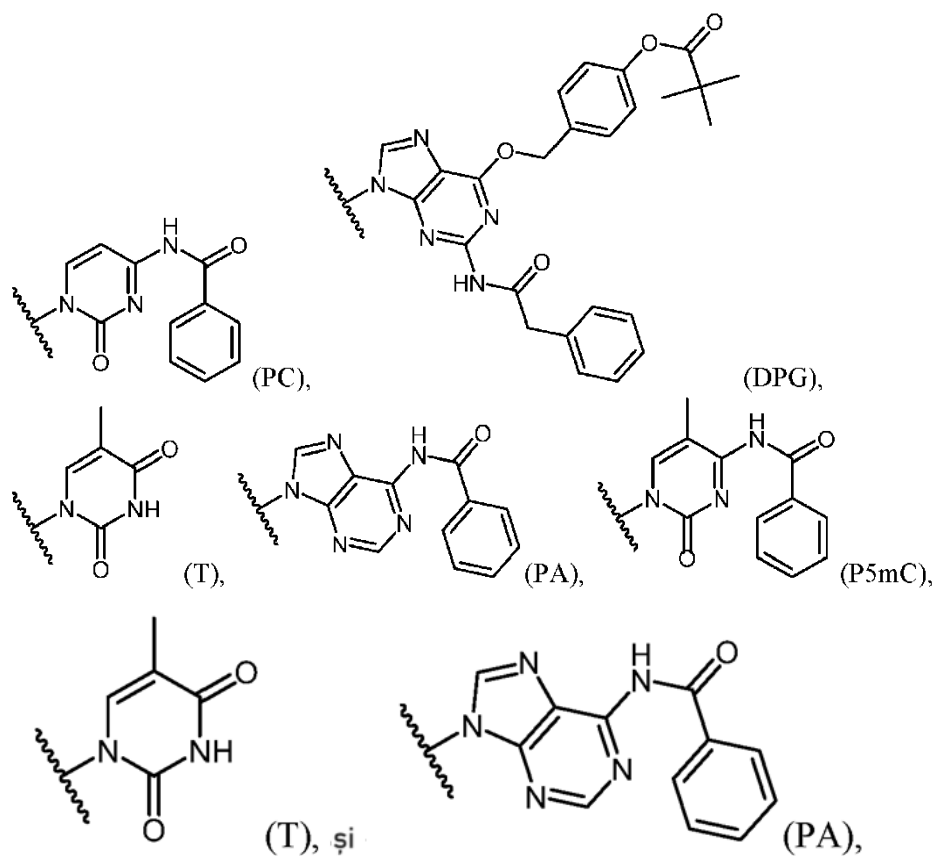


(A11),

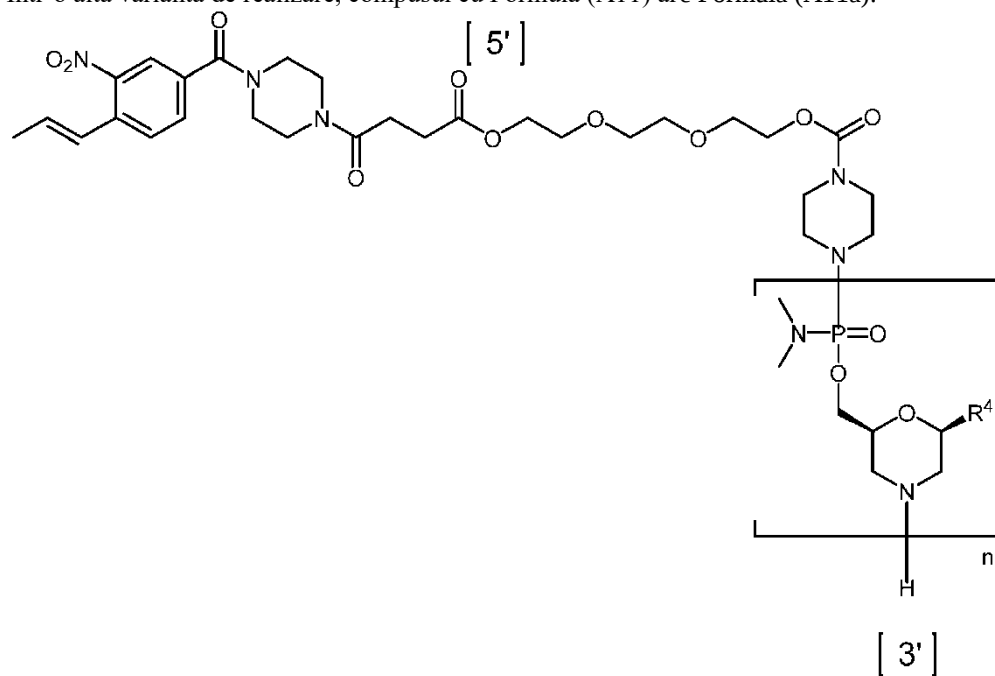
sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

 n este un întreg de la 10 până la 40; R^1 este un mediu suport; și R^4 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:

10



Într-o altă variantă de realizare, compusul cu Formula (A11) are Formula (A11a):



(A11a),

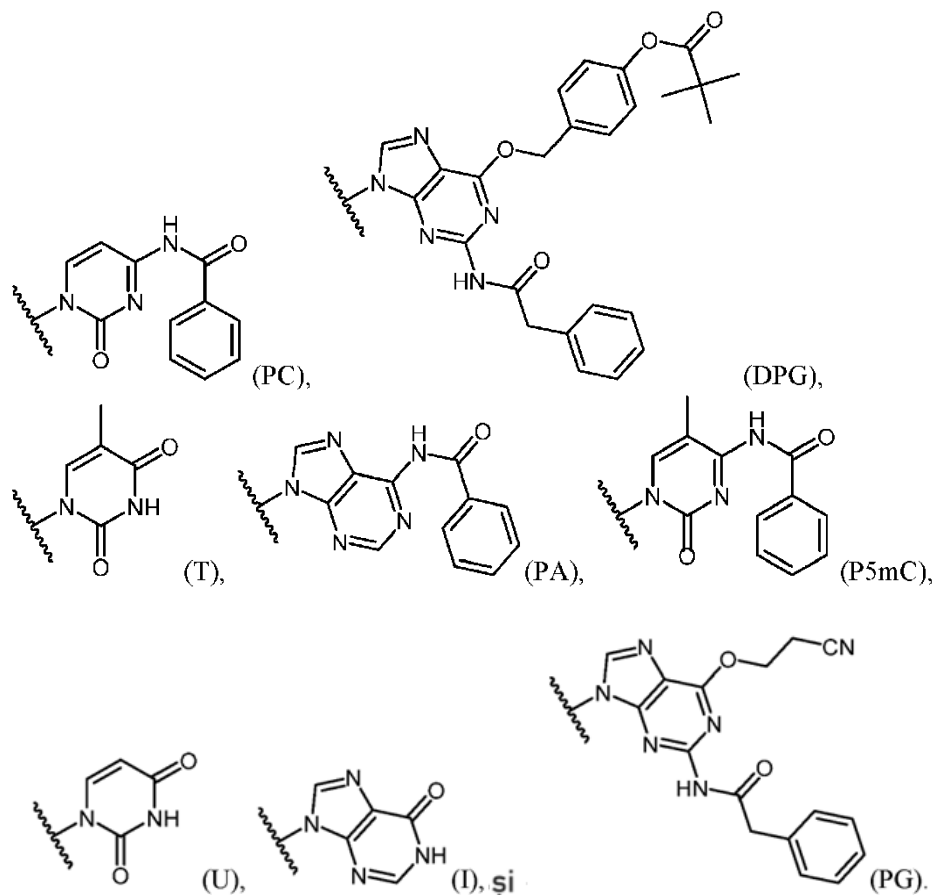
5

sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, în care:

n este un întreg de la 10 până la 40;

R¹ este un mediu suport; și

R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



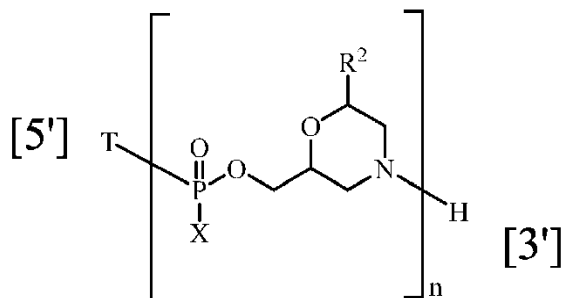
Oligomeri morfolino

Proprietățile importante ale subunităților pe bază de morfolino includ: 1) capacitatea de a fi legate într-o formă oligomerică prin legături de structură stabile, neîncărcate sau încărcate pozitiv; 2) capacitatea de a susține o bază nucleotidică (de ex., adenină, citozină, guanină, timidină, uracil, 5-metil-citozină și hipoxantină) astfel încât polimerul format să poată hibridiza cu un acid nucleic țintă cu bază complementară, incluzând ARN țintă; 3) capacitatea oligomerului de a fi transportat activ sau pasiv în celulele de mamifere; și 4) capacitatea oligomerului și a heteroduplexului oligomer:ARN de a rezista degradării RNazei și, respectiv, RNazei H.

În unele realizări, oligomerii antisens conțin modificări de bază sau substituții. De exemplu, anumite nucleobaze pot fi selectate pentru a crește afinitatea de legare a oligomerilor antisens descriși aici. S-a demonstrat că substituțiile 5-metilcitozinei cresc stabilitatea duplexului acidului nucleic cu 0,6-1,2°C și pot fi încorporate în oligomerii antisens descriși aici. Într-o variantă de realizare, cel puțin o bază pirimidină a oligomerului cuprinde o bază pirimidină 5-substituită, în care baza pirimidină este selectată din grupul constând din citozină, timină și uracil. Într-o variantă de realizare, baza pirimidină 5-substituită este 5-metilcitozină. Într-o altă variantă de realizare, cel puțin o bază purinică a oligomerului cuprinde hipoxantină.

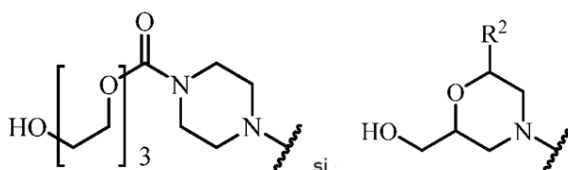
Oligomerii pe bază de morfolino (inclusiv oligomerii antisens) sunt detaliați, de exemplu, în brevetele U.S. Nr. 5.698.685, 5.217.866, 5.142.047, 5.034.506, 5.166.315, 5.185.444, 5.521.063, 5.506.337, 8.299.206, și 8.076.476; publicațiile internaționale de cereri de brevet Nrele. WO/2009/064471 și WO/2012/043730; și Summerton și colab., *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 1997, 7, 187-195.

În unele realizări descrise aici, dar care nu fac parte din prezenta invenție, este un procedeu pentru prepararea unui compus oligomeric cu Formula (B):



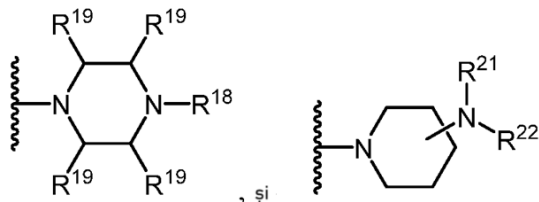
(B);

în care n este un întreg de la 10 până la 40,
T este selectat dintre



5

X este, independent la fiecare apariție, selectat dintre H, OH, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$, $\text{N}(\text{R}^{17})_2$,



în care

R^{17} este, independent la fiecare apariție, H sau C_{1-6} -alchil;

R^{18} este selectat din grupul constând din: H, C_{1-6} -alchil, $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$, -

10 $\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_q\text{NR}^{20}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$, și $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{NR}^{20}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$;

q este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R^{19} este, independent la fiecare apariție, H sau metil;

R^{20} este H sau C_{1-6} -alchil;

R^{21} este selectat din grupul constând din: H, C_{1-6} -alchil, $\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$,

15 $\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_r\text{NR}^{23}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$, $\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$,

$\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_2\text{NHC}(\text{O})(\text{CH}_2)_5\text{NR}^{23}\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$, și $\text{C}(\text{O})\text{CH}(\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$;

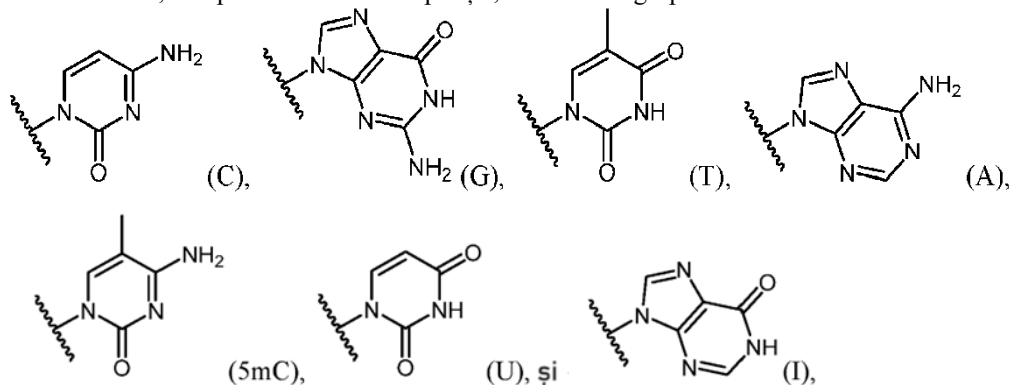
R^{22} este H sau C_{1-6} -alchil;

R^{23} este H sau C_{1-6} -alchil; și

r este 1, 2, 3, 4, sau 5;

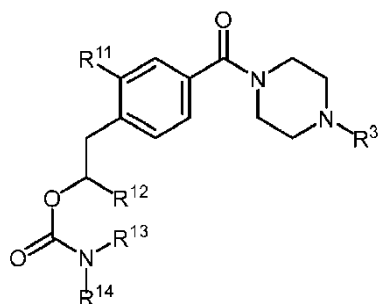
20

fiecare R^2 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



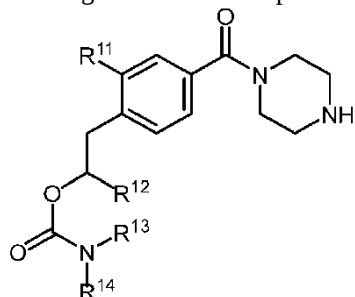
în care procedeul cuprinde etapele secvențiale de:

(a) punerea în contact a unui compus cu Formula (B 1):



(B1);

în care

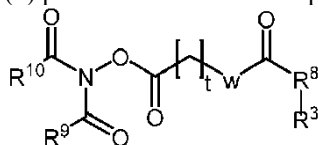
R¹¹ este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO₂;R¹² este C₁₋₆-alchil;R¹³ este H sau C₁₋₆-alchil; șiR¹⁴ este un prim linker legat de un mediu suport,R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; cu un agent de deblocare pentru a forma compusul cu Formula (II-B);

(II-B);

în care

R¹¹ este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO₂;R¹² este C₁₋₆-alchil;R¹³ este H sau C₁₋₆-alchil; șiR¹⁴ este un prim linker legat de un mediu suport;

(b) punerea în contact a compusului cu Formula (II) cu un compus cu formula (III):

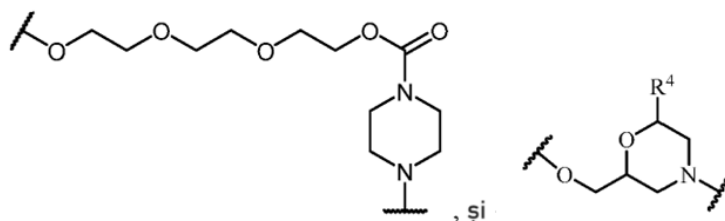


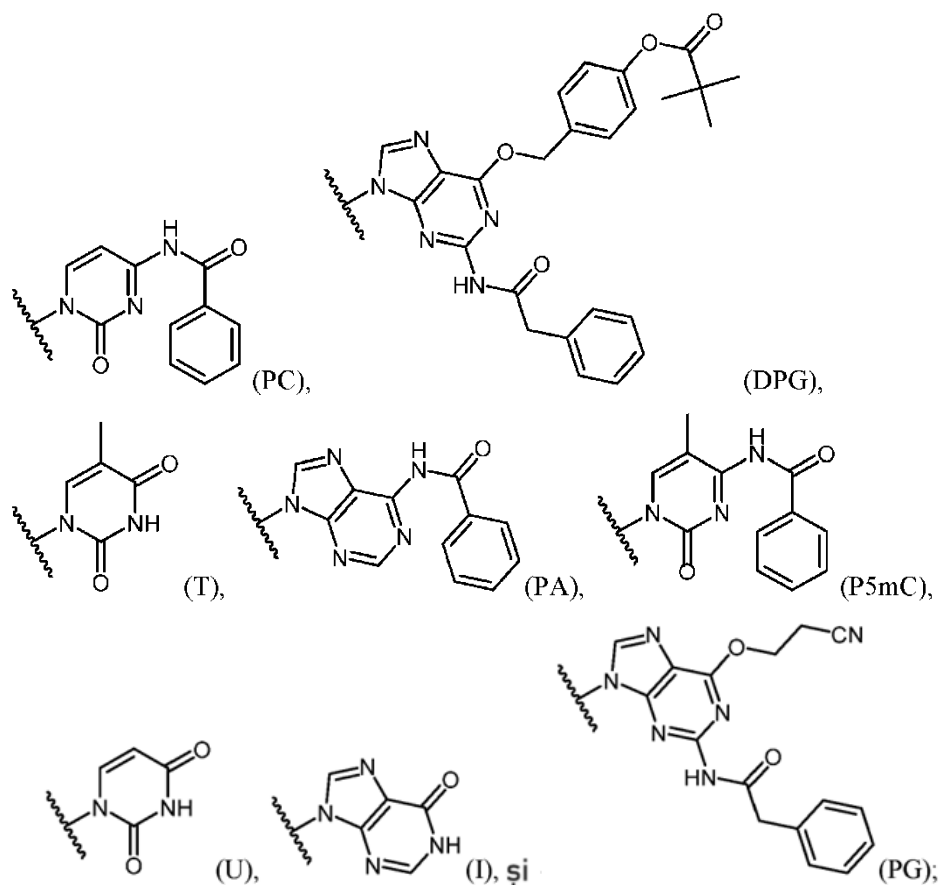
(III-B);

în care

w este selectat dintre O sau C;

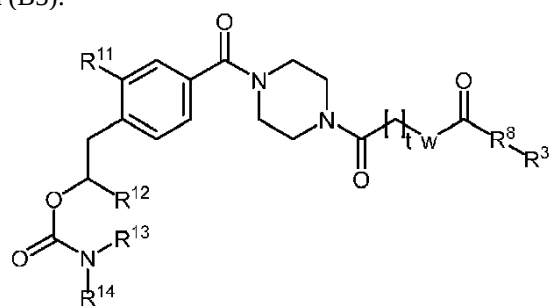
t este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R⁸ este selectat dintre:în care R⁴ este selectat din grupul constând din:



R^3 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul format din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;

R^9 și R^{10} sunt, independent, C_{1-6} -alchil, sau R^9 și R^{10} , împreună cu atomii de care sunt atașați, formează un inel ciclic sau policiclic cuprinzând 4-10 atomi de carbon pentru a forma un compus cu Formula (B3):



(B3);

în care

w este selectat dintre O sau C;

t este 1, 2, 3, 4, sau 5;

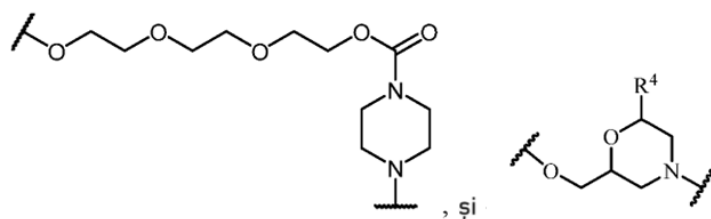
R^{11} este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO_2 ;

R^{12} este C_{1-6} -alchil;

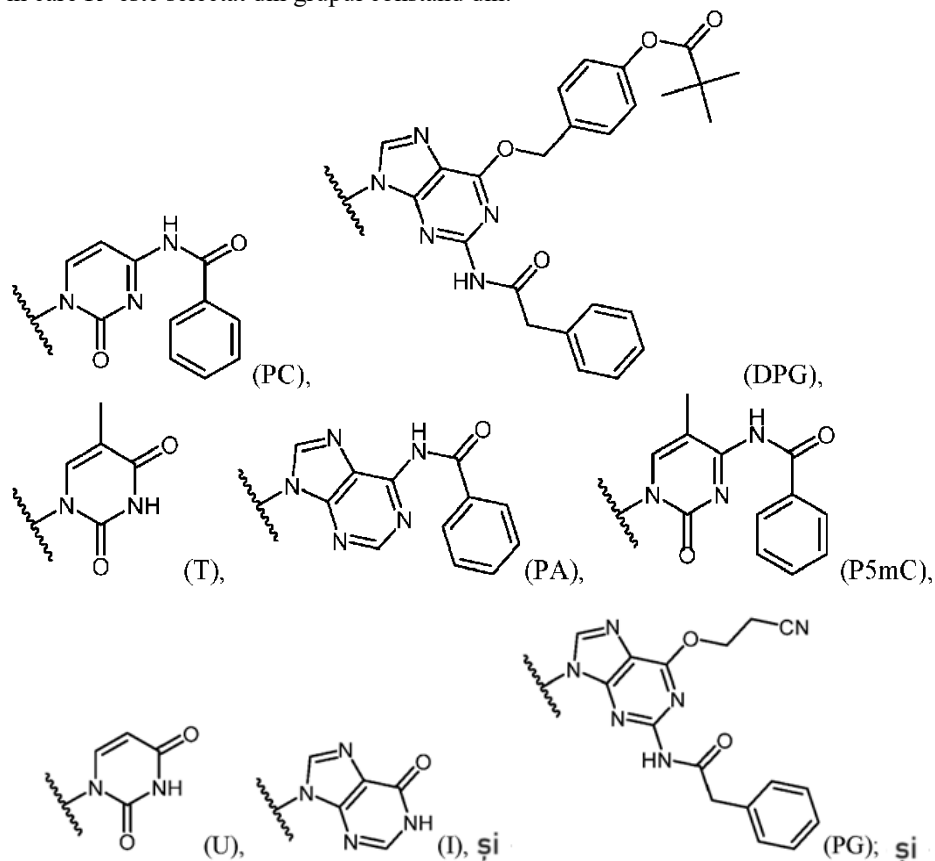
R^{13} este H sau C_{1-6} -alchil;

R^{14} este un prim linker legat de un mediu suport;

R^8 este selectat dintre:



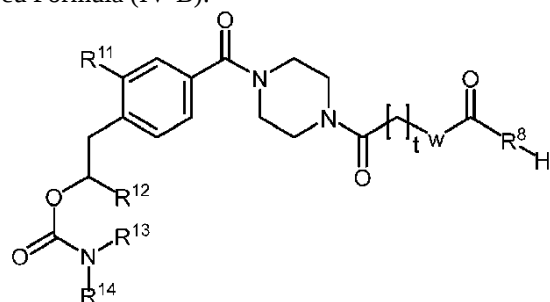
în care R^4 este selectat din grupul constând din:



5

R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;

(c) punerea în contact a compusului cu Formula (A3) cu un agent de deblocare pentru a forma un compus cu Formula (IV-B);



(IV-B);

10

în care

w este selectat dintre O sau C;

t este 1, 2, 3, 4, sau 5;

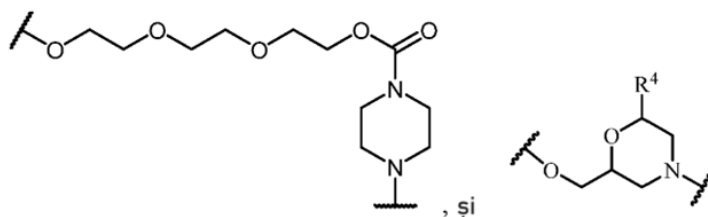
R^{11} este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO_2 ;

R^{12} este C_{1-6} -alchil;

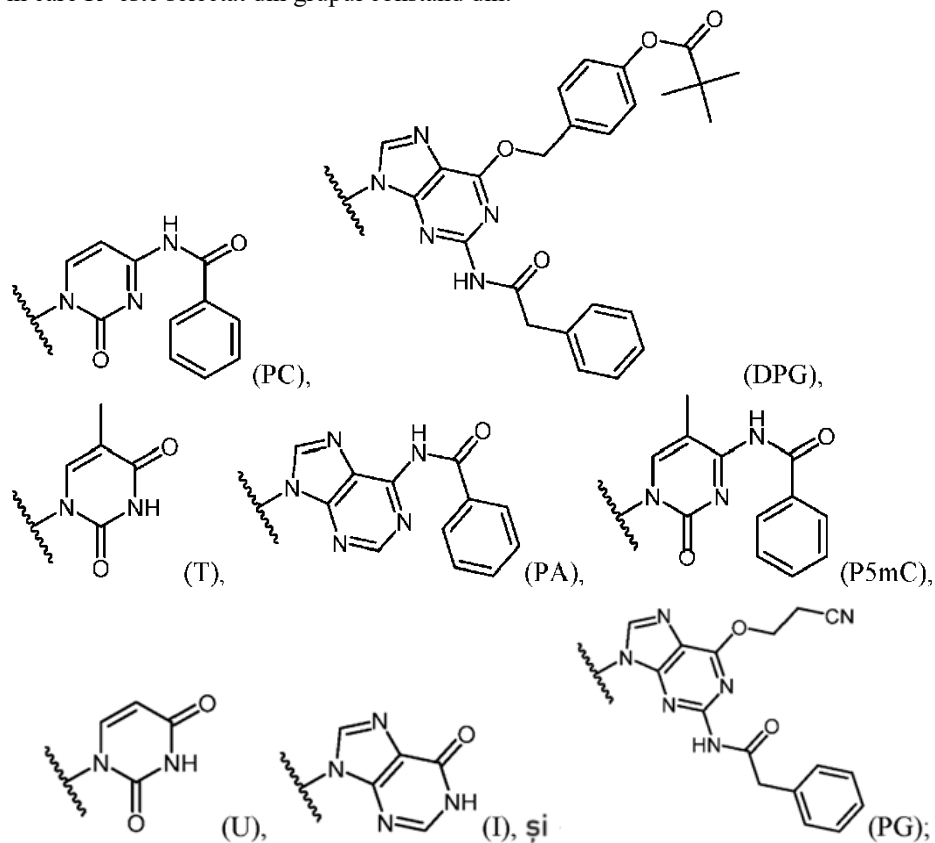
15

R^{13} este H sau C_{1-6} -alchil;

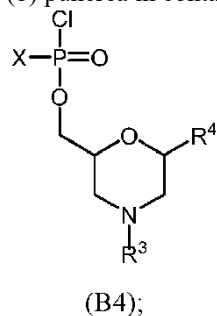
R^{14} este un prim linker legat de un mediu suport; și
 R^8 este selectat dintre:



în care R^4 este selectat din grupul constând din:

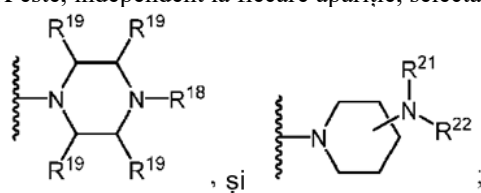


(b) punerea în contact a compusului cu Formula (IV-B) cu un compus cu Formula (B4):



în care

X este, independent la fiecare apariție, selectat dintre H, OH, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$, $\text{N}(\text{R}^{17})_2$,



R^{17} este, independent la fiecare apariție, H sau C_{1-6} -alchil;

R^{18} este selectat din grupul constând din: H, C_{1-6} -alchil, $-C(=NH)NH_2$, $-C(O)(CH_2)_qNR^{20}C(=NH)NH_2$, și $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{20}C(=NH)NH_2$;

q este 1, 2, 3, 4, sau 5;

5 R^{19} este, independent la fiecare apariție, H sau metil;

R^{20} este H sau C_{1-6} -alchil;

R^{21} este selectat din grupul constând din: H, C_{1-6} -alchil, $C(=NH)NH_2$, $C(O)(CH_2)_iNR^{23}C(=NH)NH_2$, $C(O)CH(NH_2)(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$, $C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{23}C(=NH)NH_2$, și $C(O)CH(NH_2)(CH_2)_4NH_2$;

10 R^{22} este H sau C_{1-6} -alchil;

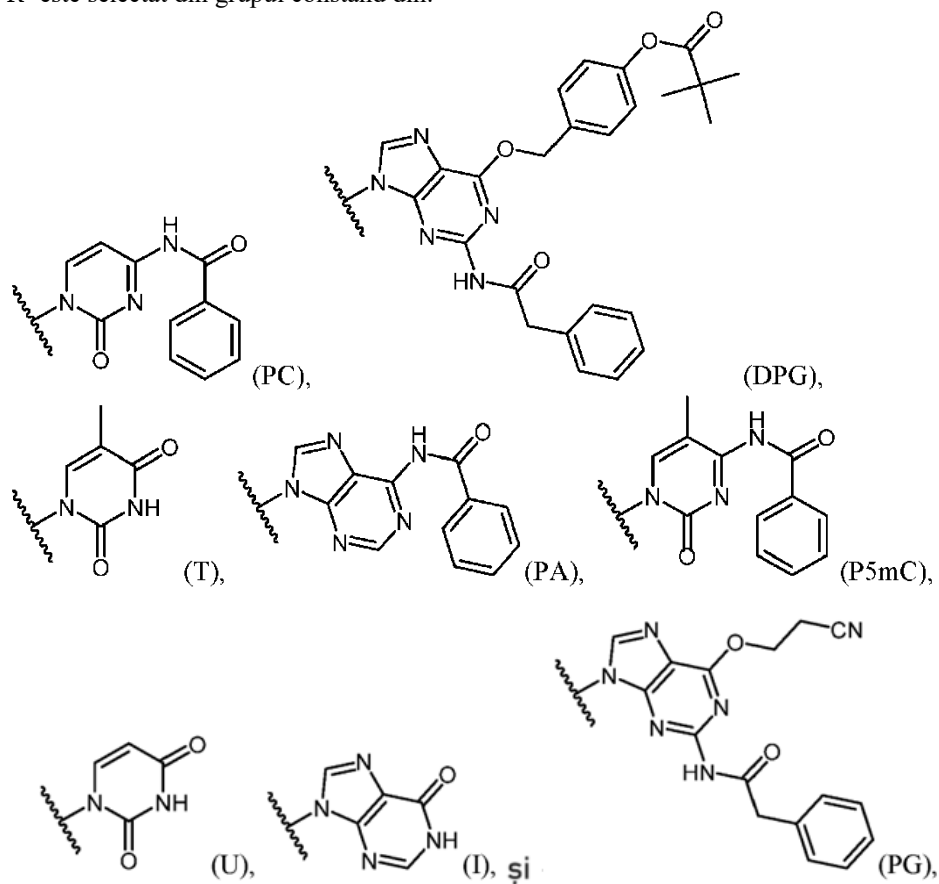
R^{23} este H sau C_{1-6} -alchil; și

r este 1, 2, 3, 4, sau 5;

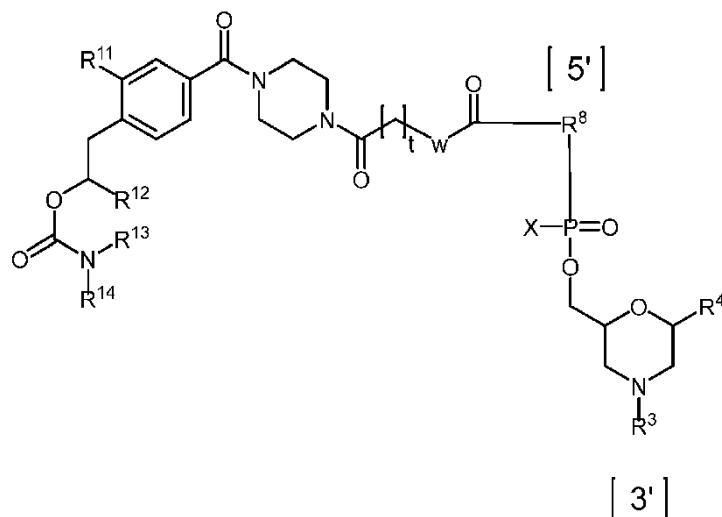
R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

R^4 este selectat din grupul constând din:

15



pentru a forma un compus cu Formula (B5):

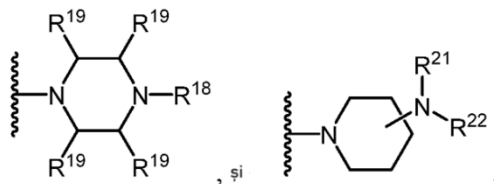


(B5);

în care:

w este selectat dintre O sau C;

t este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R¹¹ este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO₂;R¹² este C₁₋₆-alchil;R¹³ este H sau C₁₋₆-alchil;R¹⁴ este un prim linker legat de un mediu suport;X este, independent la fiecare apariție, selectat dintre H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,

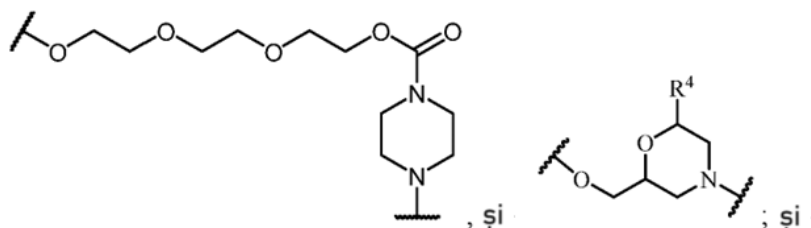
în care:

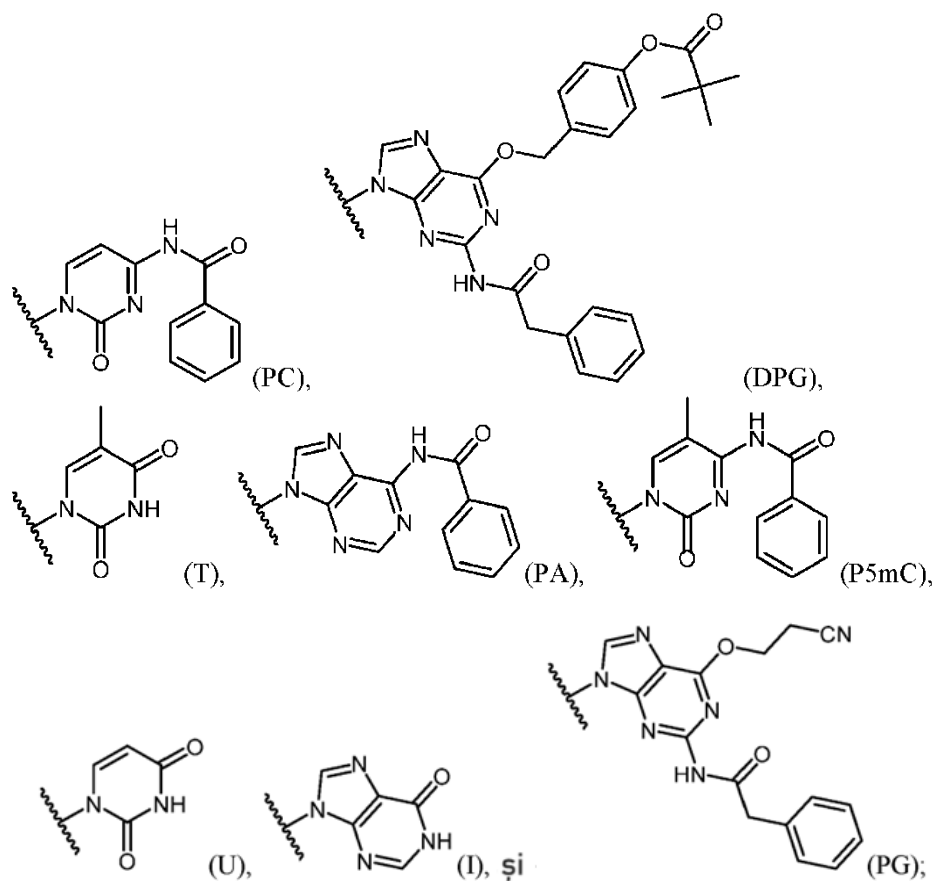
R¹⁷ este, independent la fiecare apariție, H sau C₁₋₆-alchil;R¹⁸ este selectat din grupul constând din H, C₁₋₆-alchil, -C(=NH)NH₂,-C(O)(CH₂)_qNR²⁰C(=NH)NH₂,și -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁰C(=NH)NH₂;

q este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R¹⁹ este, independent la fiecare apariție, H sau metil;R²⁰ este H sau C₁₋₆-alchil;R²¹ este selectat din grupul constând din: H, C₁₋₆-alchil, C(=NH)NH₂,C(O)(CH₂)₂NR²³C(=NH)NH₂, C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂,C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²³C(=NH)NH₂, și C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂;R²² este H sau C₁₋₆-alchil;R²³ este H sau C₁₋₆-alchil; și

r este 1, 2, 3, 4, sau 5;

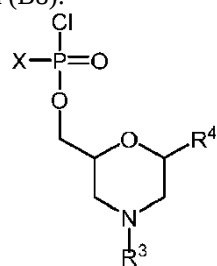
R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil,R⁸ este selectat dintre:R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat dintre:



(b) efectuarea de n-1 iterații ale etapelor secvențiale ale:

5 și (e1) punerea în contact a produsului format prin etapa imediat anterioară cu un agent de deblocare;

(e2) punerea în contact a compusului format prin etapa imediat anterioară cu un compus cu Formula (B8):

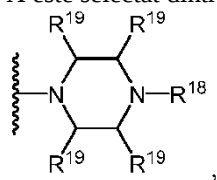


(B8);

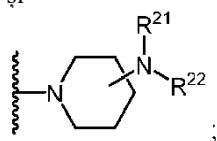
10

în care:

X este selectat dintre H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,



și



15

în care

R^{17} este, independent la fiecare apariție, H sau C_{1-6} -alchil;

R^{18} este selectat din grupul constând din H, C_{1-6} -alchil, $-C(=NH)NH_2$,

$-C(O)(CH_2)_qNR^{20}C(=NH)NH_2$,

și $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{20}C(=NH)NH_2$;

q este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R^{19} este, independent la fiecare apariție, H sau metil;

R^{20} este H sau C_{1-6} -alchil;

R^{21} este selectat din grupul constând din: H, C_{1-6} -alchil, $C(=NH)NH_2$,

$C(O)(CH_2)_rNR^{23}C(=NH)NH_2$, $C(O)CH(NH_2)(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$,

$C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{23}C(=NH)NH_2$, și $C(O)CH(NH_2)(CH_2)_4NH_2$;

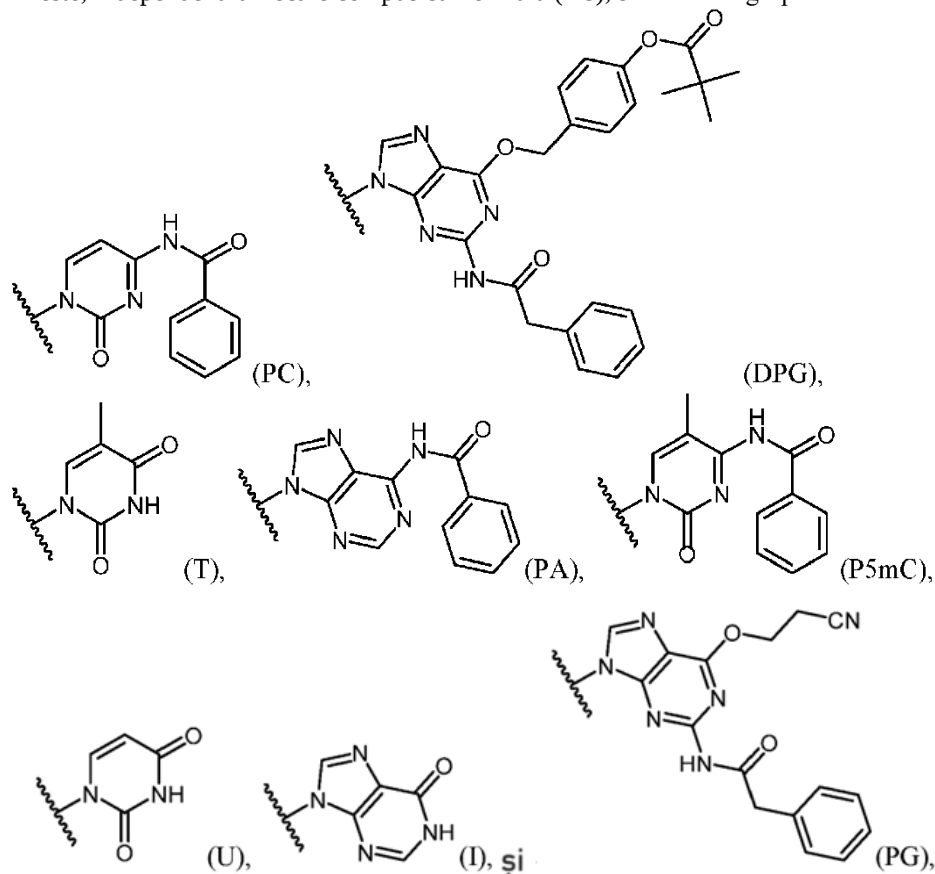
R^{22} este H sau C_{1-6} -alchil;

R^{23} este H sau C_{1-6} -alchil;

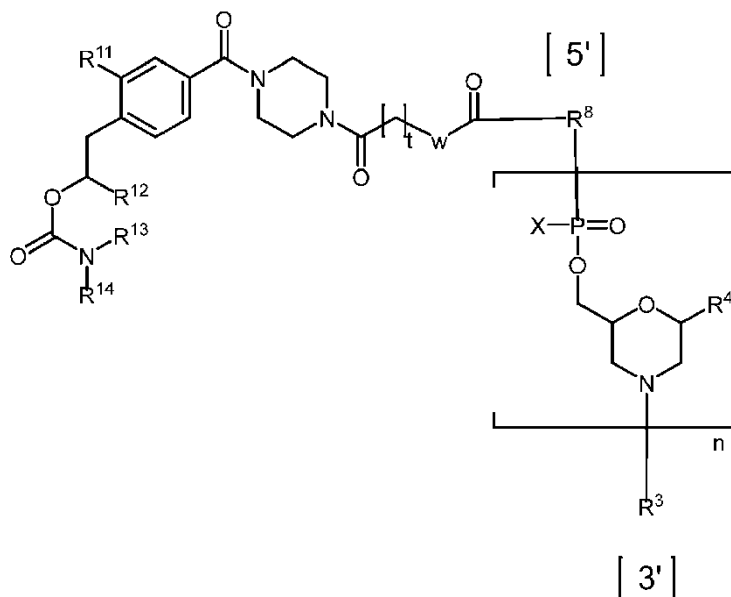
r este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

R^4 este, independent la fiecare compus cu Formula (A8), selectat din grupul constând din:



pentru a forma un compus cu Formula (B9):



(B9);

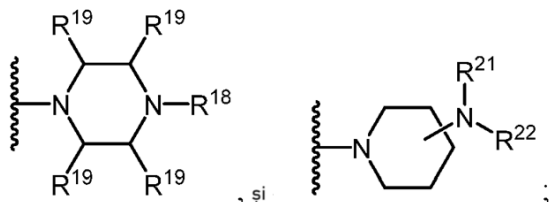
în care:

w este selectat dintre O sau C;

t este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R¹¹ este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO₂;R¹² este C₁₋₆-alchil;R¹³ este H sau C₁₋₆-alchil;R¹⁴ este un prim linker legat de un mediu suport;

n este un întreg de la 10 până la 40,

X este, independent la fiecare apariție, selectat dintre H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,

în care:

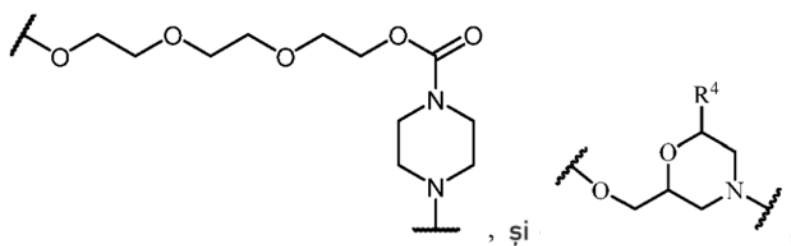
R¹⁷ este, independent la fiecare apariție, H sau C₁₋₆-alchil;R¹⁸ este selectat din grupul constând din H, C₁₋₆-alchil, -C(=NH)NH₂,-C(O)(CH₂)_qNR²⁰C(=NH)NH₂,și -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁰C(=NH)NH₂;

q este 1, 2, 3, 4, sau 5;

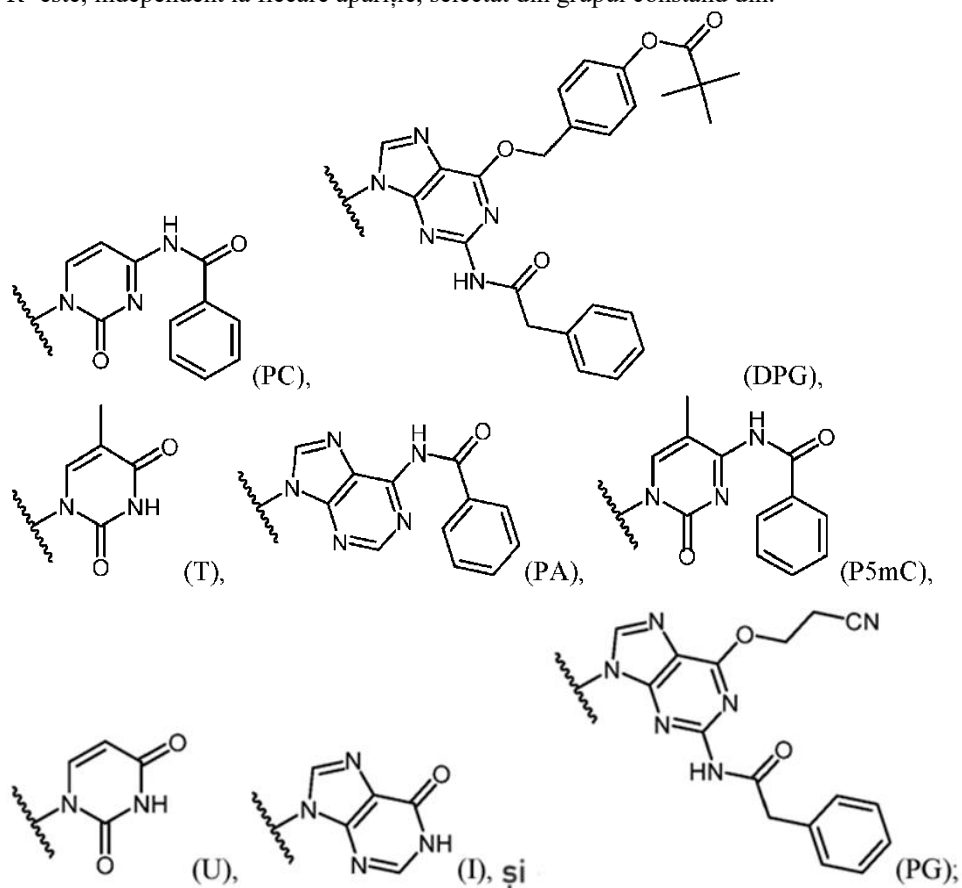
R¹⁹ este, independent la fiecare apariție, H sau metil;R²⁰ este H sau C₁₋₆-alchil;R²¹ este selectat din grupul constând din: H, C₁₋₆-alchil, C(=NH)NH₂,C(O)(CH₂)_rNR²³C(=NH)NH₂, C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂,C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²³C(=NH)NH₂, și C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂;R²² este H sau C₁₋₆-alchil;R²³ este H sau C₁₋₆-alchil; și

r este 1, 2, 3, 4, sau 5;

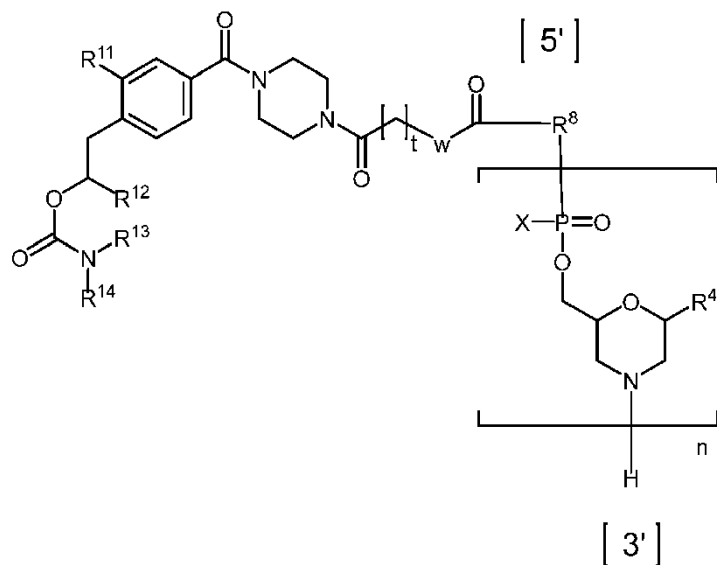
R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil,R⁸ este selectat dintre:



și
R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



și
(f) punerea în contact a compusului cu Formula (A9) cu un agent de deblocare pentru a forma un compus cu Formula (B 10):



(B10);

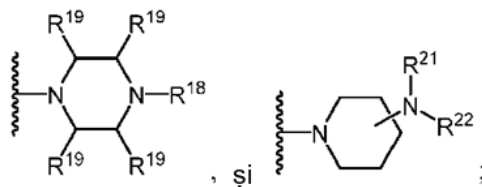
în care:

w este selectat dintre O sau C;

t este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R¹¹ este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO₂;R¹² este C₁₋₆-alchil;R¹³ este H sau C₁₋₆-alchil;R¹⁴ este un prim linker legat de un mediu suport;

n este un întreg de la 10 până la 40,

X este, independent la fiecare apariție, selectat dintre H, OH, -OCH₂CH₂CN, N(R¹⁷)₂,

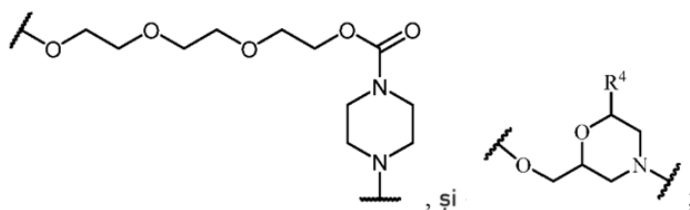
în care:

R¹⁷ este, independent la fiecare apariție, H sau C₁₋₆-alchil;R¹⁸ este selectat din grupul constând din H, C₁₋₆-alchil, -C(=NH)NH₂,-C(O)(CH₂)_qNR²⁰C(=NH)NH₂,și -C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²⁰C(=NH)NH₂;

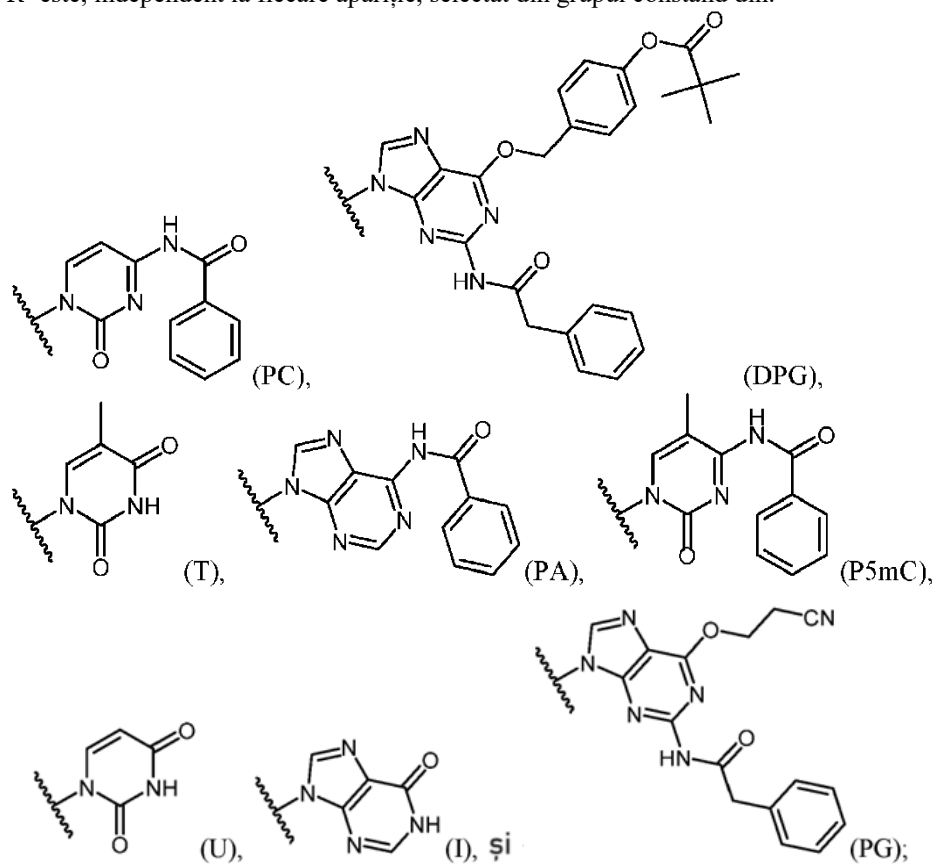
q este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R¹⁹ este, independent la fiecare apariție, H sau metil;R²⁰ este H sau C₁₋₆-alchil;R²¹ este selectat din grupul constând din: H, C₁₋₆-alchil, C(=NH)NH₂,C(O)(CH₂)_rNR²³C(=NH)NH₂, C(O)CH(NH₂)(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂,C(O)(CH₂)₂NHC(O)(CH₂)₅NR²³C(=NH)NH₂, și C(O)CH(NH₂)(CH₂)₄NH₂;R²² este H sau C₁₋₆-alchil;R²³ este H sau C₁₋₆-alchil; și

r este 1, 2, 3, 4, sau 5;

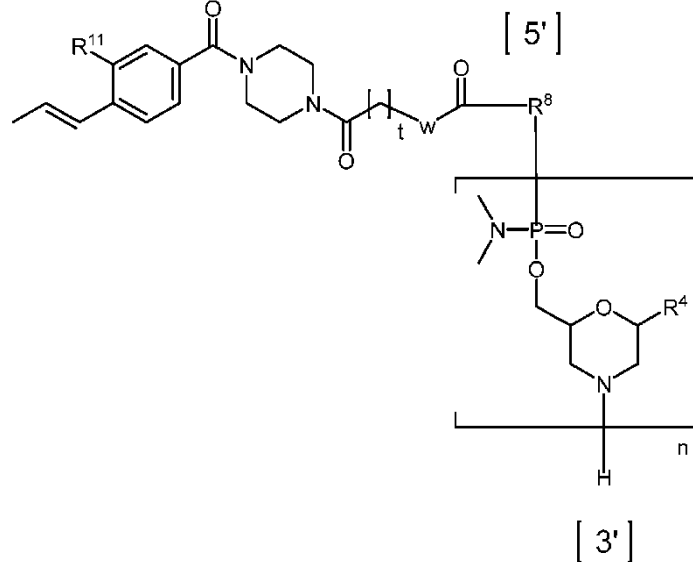
R⁸ este selectat dintre:

și
 R^4 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



5

(g) punerea în contact a compusului cu Formula (B10) cu un agent de clivare pentru a forma un compus cu Formula (B11):



(B11);

în care:

w este selectat dintre O sau C;

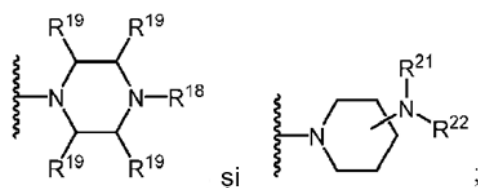
t este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R^{11} este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO_2 ;

n este un întreg de la 10 până la 40,

X este, independent la fiecare apariție, selectat dintre H, OH, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$, $\text{N}(\text{R}^{17})_2$,

10



în care:

R^{17} este, independent la fiecare apariție, H sau C_{1-6} -alchil;

R^{18} este selectat din grupul constând din H, C_{1-6} -alchil, $-C(=NH)NH_2$,

$-C(O)(CH_2)_qNR^{20}C(=NH)NH_2$,

și $-C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{20}C(=NH)NH_2$;

q este 1, 2, 3, 4, sau 5;

R^{19} este, independent la fiecare apariție, H sau metil;

R^{20} este H sau C_{1-6} -alchil;

R^{21} este selectat din grupul constând din: H, C_{1-6} -alchil, $C(=NH)NH_2$,

$C(O)(CH_2)_rNR^{23}C(=NH)NH_2$, $C(O)CH(NH_2)(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$,

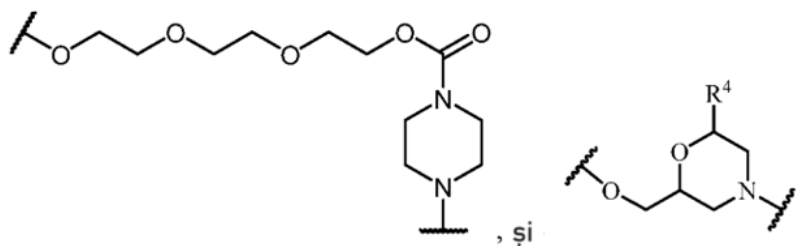
$C(O)(CH_2)_2NHC(O)(CH_2)_5NR^{23}C(=NH)NH_2$, și $C(O)CH(NH_2)(CH_2)_4NH_2$;

R^{22} este H sau C_{1-6} -alchil;

R^{23} este H sau C_{1-6} -alchil; și

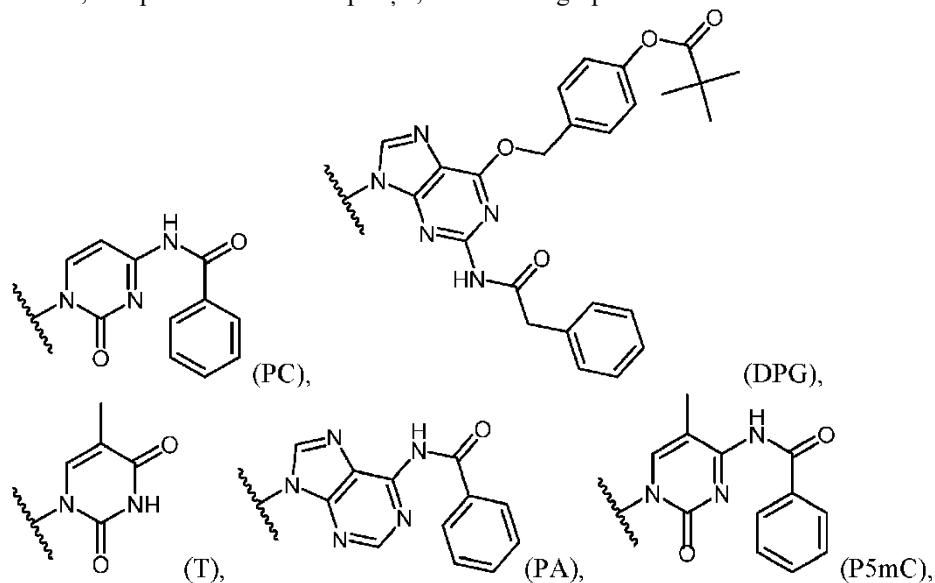
r este 1, 2, 3, 4, sau 5;

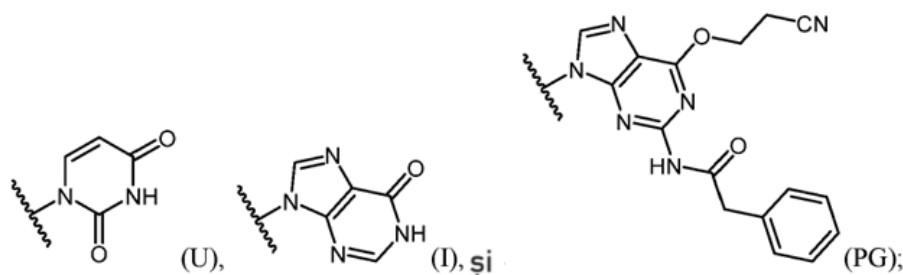
R^8 este selectat dintre:



și

R^4 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





și

(i) punerea în contact a compusului cu Formula (B 11) cu un agent de deprotejare pentru a forma un compus oligomeric cu Formula (B).

Într-o variantă de realizare, etapa (d) sau etapa (e2) mai cuprinde punerea în contact a compusului cu Formula (IV-B) sau a compusului format prin etapa imediat anterioară, respectiv, cu un agent de acoperire.

Într-o altă variantă de realizare, fiecare etapă este realizată în prezența a cel puțin unui solvent.

În unele variante de realizare, agentul de deblocare utilizat în fiecare etapă este o soluție care cuprinde un acid halogenat. În unele variante de realizare, agentul de deblocare utilizat în fiecare etapă este acidul cianoacetic. În unele variante de realizare, acidul halogenat este selectat din grupul constând din acid cloracetic, acid dicloracetic, acid tricloroacetic, acid fluoracetic, acid difluoracetic și acid trifluoracetic. În unele variante de realizare, acidul halogenat este acidul trifluoracetic.

În unele variante de realizare, cel puțin una dintre etapele (a), (c), (e1) și (f) mai cuprinde etapa de punere în contact a compusului deblocat din fiecare etapă cu un agent de neutralizare. În unele variante de realizare, fiecare dintre etapele (a), (c), (e1) și (f) mai cuprinde etapa de punere în contact a compusului deblocat din fiecare etapă cu un agent de neutralizare. În unele variante de realizare, agentul de neutralizare este într-o soluție care cuprinde diclormetan și alcool izopropilic. În unele variante de realizare, agentul de neutralizare este un monoalchil, dialchil sau trialchilamină. În unele variante de realizare, agentul de neutralizare este N,N-diizopropiletilamină.

În unele variante de realizare, agentul de deblocare utilizat în fiecare etapă este o soluție care cuprinde 4-cianopiridină, diclormetan, acid trifluoracetic, trifluoretanol și apă.

În unele variante de realizare, agentul de acoperire este într-o soluție care cuprinde etilmorfolină și metilpirolidonă. În unele variante de realizare, agentul de acoperire este o anhidridă acidă. În unele variante de realizare, anhidrida acidă este anhidrida benzoică.

În unele variante de realizare, compușii cu Formula (B4) și Formula (B8) sunt fiecare, independent, într-o soluție care cuprinde etilmorfolină și dimetilimidazolidinonă.

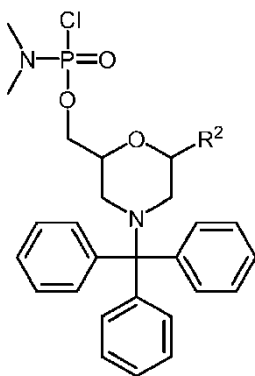
În unele variante de realizare, agentul de scindare cuprinde ditiotritol și 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-enă. În unele variante de realizare, agentul de scindare este într-o soluție care cuprinde N-metil-2-pirolidonă.

În unele variante de realizare, agentul de deprotejare cuprinde NH_3 . În unele variante de realizare, agentul de deprotejare este într-o soluție apoasă.

În unele variante de realizare, mediul suport cuprinde polistiren cu 1% divinilbenzen reticulat.

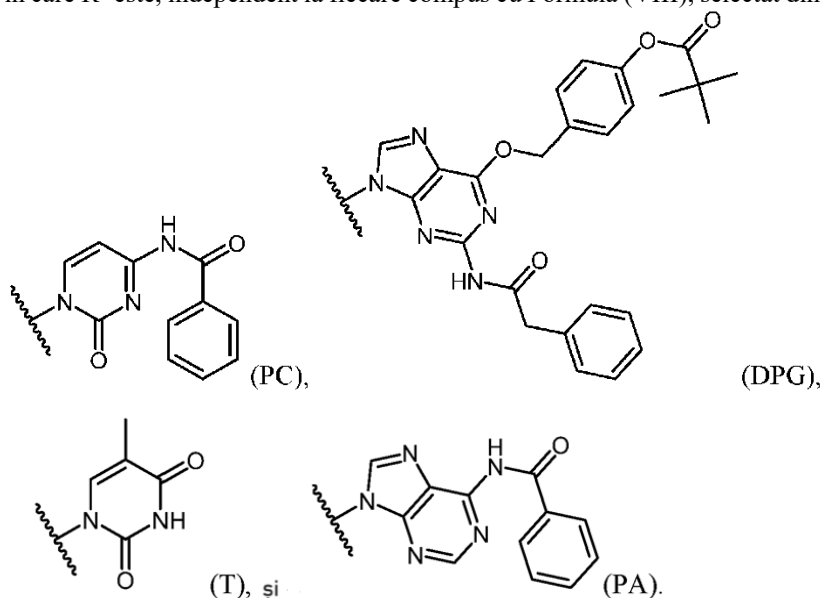
Compușii oligomerici din dezvăluire pot avea centri asimetrici, axe chirale și plane chirale (așa cum este descris, de exemplu, în: E. L. Eliel și S. H. Wilen, Stereo-chemistry of Carbon Compounds, John Wiley & Sons, New York, 1994, paginile 1119-1190, și March, J., Advanced Organic Chemistry, 3. Ed., Chap. 4, John Wiley & Sons, New York (1985)), și poate apărea ca racemați, amestecuri racemice și ca diastereomeri individuali, cu toți posibii izomeri și amestecuri ale acestora, inclusiv izomeri optici. Compușii oligomerici din dezvăluire menționați în mod specific aici, fără nici o indicație a stereo-chimiei lor, sunt menționați să reprezinte toți posibii izomeri și amestecuri ale acestora.

În mod specific, fără a dori să fie legați de vreo teorie particulară, compușii oligomerici din dezvăluire sunt preparați, așa cum s-a discutat aici, din subunități morfolino activate incluzând astfel de exemple nelimitative, cum ar fi un compus cu Formula (VIII):

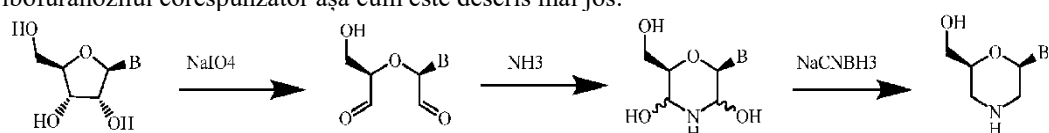


(VIII);

în care R² este, independent la fiecare compus cu Formula (VIII), selectat din grupul constând din:

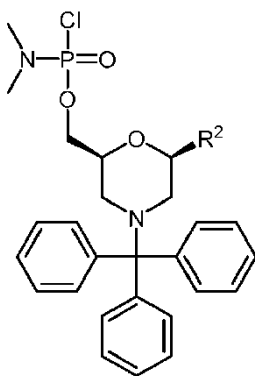


- 5 Fiecare dintre compușii menționați mai sus cu Formula (VIII) poate fi preparat, de exemplu, din beta-D-ribofuranozilul corespunzător așa cum este descris mai jos:



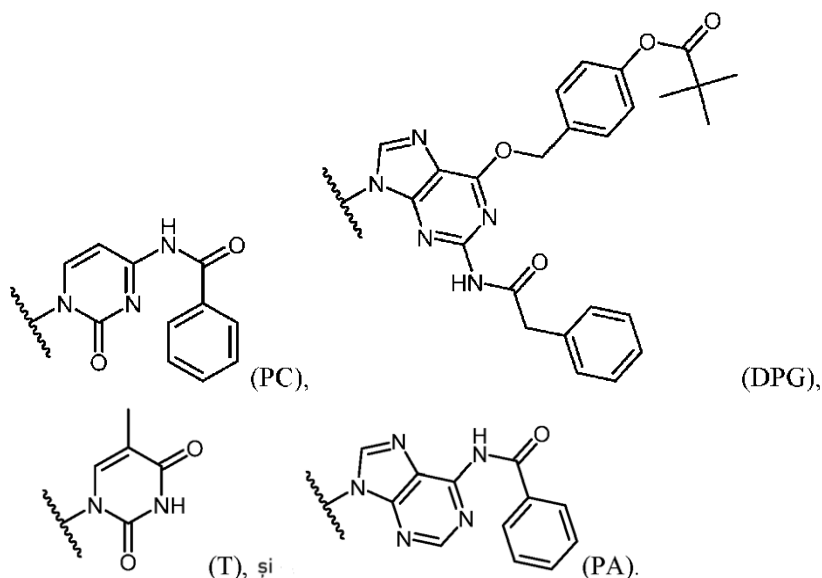
- 10 Vezi Summerton și colab., Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 1997, 7, 187-195. Fără a fi legat de vreo teorie particulară, stereochemia celor doi atomi de carbon chirali este reținută în condiții sintetice astfel încât un număr de stereoisomeri posibili ai fiecărei subunități morfolino pot fi produși pe baza selecției, de exemplu, a unui alfa-L-ribofuranozil, material de pornire alfa-D-ribofuranozil, beta-L-ribofuranozil sau beta-D-ribofuranozil.

De exemplu, în unele variante de realizare, un compus cu Formula (VIII) din dezvăluire poate avea Formula (VIIIa):



(VIIIa);

în care R^2 este, independent la fiecare compus cu Formula (VIIIa), selectat din grupul constând din:



5

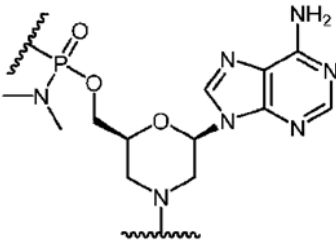
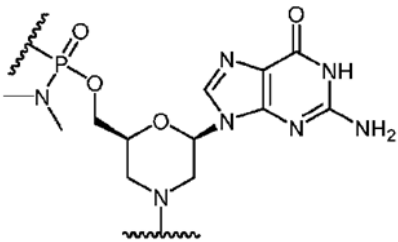
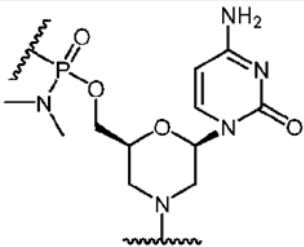
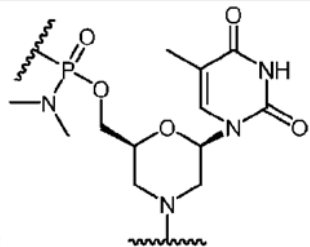
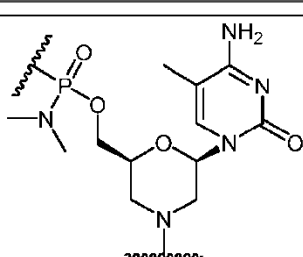
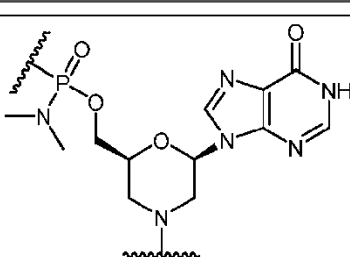
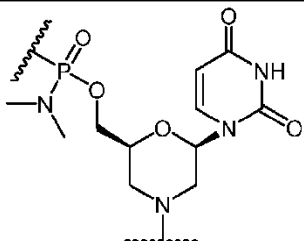
Fără a fi legat de vreo teorie particulară, încorporarea a 10 până la 40 de compuși cu Formula (VIII), de exemplu, într-un compus oligomeric din dezvoltare poate avea ca rezultat numeroși stereoisomeri posibili.

10 Fără a dori să fie legat de vreo teorie particulară, compușii oligomerici din dezvoltare cuprind una sau mai multe legături intersubunități care conțin fosfor, care creează un centru chiral la fiecare fosfor, fiecare dintre care este desemnat fie ca o configurație „Sp”, sau „Rp”. așa cum se înțelege în domeniu. Fără a dori să fie legat de vreo teorie anume, această chiralitate creează stereoisomeri, care au o compoziție chimică identică, dar o aranjare tridimensională diferită a atomilor lor.

15 Fără a dori să fim legat de vreo teorie particulară, configurația fiecărei legături intersubunități care conține fosfor are loc aleatoriu în timpul sintezei, de exemplu, a compușilor oligomerici din dezvoltare. Fără a dori să fie legat de vreo teorie particulară, procesul de sinteză generează un număr exponențial mare de stereoisomeri ai unui compus oligomeric din dezvoltare, deoarece compușii oligomerici din dezvoltare sunt cuprinși din numeroase legături intersubunități care conțin fosfor - cu fiecare legătură intersubunități care conține fosfor având o configurație chirală aleatorie. În mod specific, fără a dori să fie legat de vreo teorie particulară, fiecare legătură intersubunități a unei subunități morfolino suplimentare dublează numărul de stereoisomeri ai produsului, astfel încât un preparat convențional al unui compus oligomeric din dezvoltare este de fapt un amestec foarte eterogen de 2^N stereoisomeri, unde N reprezintă numărul de legături intersubunități care conțin fosfor.

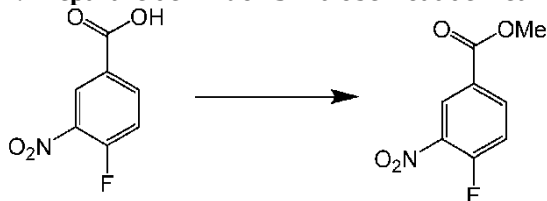
25 Tabelul 1 prezintă diferite variante de realizare ale subunităților morfolino furnizate în procedeele descrise aici.

Tabelul 1: Diverse variante ale subunităților morfolino.

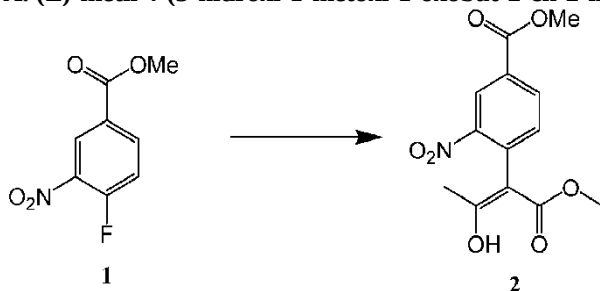
 A =	 G =
 C =	 T =
 5-Me-C =	 I =
 U =	

EXEMPLE

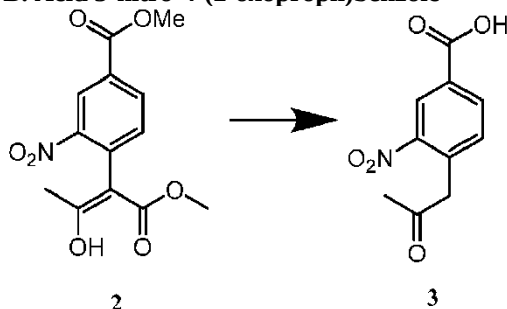
- Exemplele au fost prezentate mai jos în scopul ilustrării și pentru a descrie anumite exemple de realizare specifice ale dezvoltării. Cu toate acestea, scopul revendicărilor nu trebuie să fie limitat în niciun fel de exemplele prezentate aici. Definițiile variabilelor din structurile din schemele de aici sunt proporționale cu cele ale pozițiilor corespunzătoare din formulele prezentate aici.

Exemplul 1: Sinteză ancoră NCP2**1. Preparare de 4-fluor-3-nitrobenzoat de metil (1)****1**

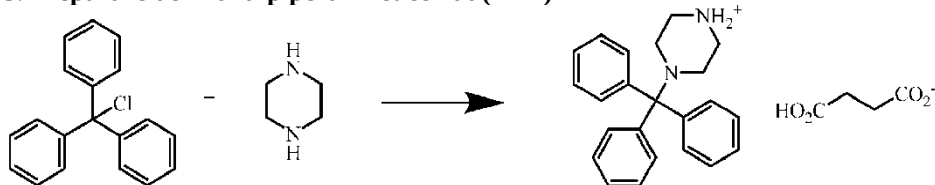
Într-un balon de 100 l s-au încărcat 12,7 kg de acid 4-fluor-3-nitrobenzoic, s-au adăugat 40 kg de metanol și 2,82 kg de acid sulfuric concentrat. Amestecul a fost agitat la reflux (65°C) timp de 36 ore. Amestecul de reacție a fost răcit la 0°C. S-au format cristale la 38°C. Amestecul a fost menținut la 0°C timp de 4 h apoi filtrat sub azot. Balonul de 100 l a fost spălat și turta de filtrare a fost spălată cu 10 kg de metanol care a fost răcit la 0°C. Turta solidă de filtrare a fost uscată pe pălnie timp de 1 oră, transferată în tăvi și uscată într-un cuptor cu vid la temperatura camerei până la o greutate constantă de 13,695 kg 4-fluor-3-nitrobenzoat de metil (randament 100%; HPLC 99%).

2. Preparare de acid 3-nitro-4-(2-oxopropil)benzoic**A. (Z)-metil 4-(3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobut-2-en-2-il)-3-nitrobenzoat (2)**

Într-un balon de 100 l s-au încărcat 3,98 kg de 4-fluor-3-nitrobenzoat de metil (1) din etapa anterioară 9,8 kg DMF, 2,81 kg acetoacetat de metil. Amestecul a fost agitat și răcit la 0°C. La acesta s-au adăugat 3,66 kg DBU timp de aproximativ 4 ore în timp ce temperatura a fost menținută la sau sub 5°C. Amestecul a fost agitat încă 1 oră. În balonul de reacție s-a adăugat o soluție de 8,15 kg de acid citric în 37,5 kg de apă purificată în timp ce temperatura de reacție a fost menținută la sau sub 15°C. După adăugare, amestecul de reacție a fost agitat și apoi s-a adăugat 30 de minute, apoi s-a filtrat sub azot. Turta de filtrare umedă a fost returnată în balonul de 100 l împreună cu 14,8 kg de apă purificată. Suspensia a fost agitată timp de 10 minute apoi filtrată. Turta umedă a fost din nou returnată în balonul de 100 l, s-a amestecat cu 14,8 kg de apă purificată timp de 10 minute și s-a filtrat la 4-(3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobut-2-en-2-il)-3-nitrobenzoat de (Z)-metil brut.

B. Acid 3-nitro-4-(2-oxopropil)benzoic

4-(3-hidroxi-1-metoxi-1-oxobut-2-en-2-il)-3-nitrobenzoat brut de (Z)-metil a fost încărcat într-un balon de reacție de 100 l sub azot. La aceasta s-au adăugat 14,2 kg 1,4-dioxan și s-au agitat. La amestec s-a adăugat o soluție de 16,655 kg HCl concentrat și 13,33 kg apă purificată (HCl 6M) timp de 2 ore, în timp ce temperatura amestecului de reacție a fost menținută sub 15°C. Când adăugarea a fost completă, amestecul de reacție a fost încălzit la reflux (80°C) timp de 24 ore, răcit la temperatura camerei și filtrat sub azot. Turta solidă de filtrare a fost triturată cu 14,8 kg apă purificată, filtrată, triturată din nou cu 14,8 kg apă purificată și filtrată. Solidul a fost returnat în balonul de 100 l cu 39,9 kg de DCM și refluxat cu agitare timp de 1 oră. S-au adăugat 1,5 kg de apă purificată pentru a dizolva solidele rămase. Stratul organic inferior a fost împărțit într-un balon preîncălzit de 72 l, apoi înapoiat într-un balon curat uscat de 100 l. Soluția a fost răcită la 0°C, ținută timp de 1 oră, apoi filtrată. Turta solidă de filtru a fost spălată de două ori fiecare cu o soluție de 9,8 kg DCM și 5 kg heptan, apoi uscată pe pânză. Solidul a fost transferat în tăvi și uscat la o greutate constantă de 1,855 kg acid 3-nitro-4-(2-oxopropil)benzoic. Randament total 42% din compusul 1. HPLC 99,45%.

3. Preparare de N-tritilpiperazin succinat (NTP)

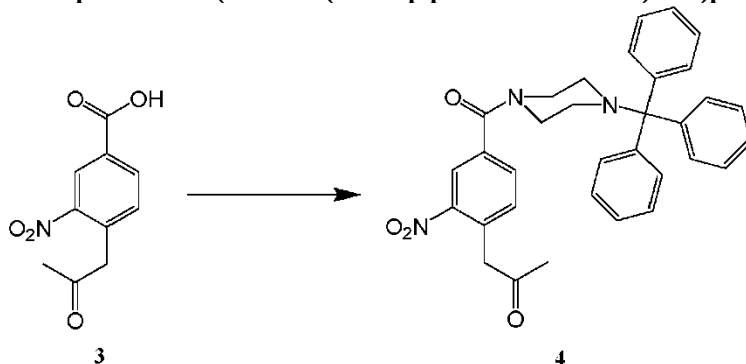
Într-un balon cu cămașă de 72 l s-au încărcat sub azot 1,805 kg clorură de trifenilmetil și 8,3 kg toluen (soluție TPC). Amestecul a fost agitat până când solidele s-au dizolvat. Într-un balon de reacție cu manta de 100 l s-au adăugat sub azot 5,61 kg piperazină, 19,9 kg toluen și 3,72 kg metanol. Amestecul a fost agitat și răcit la 0°C. La acesta a fost adăugată încet, în porții, soluția de TPC timp de 4 ore, în timp ce temperatura de reacție a fost menținută la sau sub 10°C. Amestecul a fost agitat timp de 1,5 ore la 10°C, apoi lăsat să se încălzească la 14°C. 32,6 kg de apă purificată au fost încărcate în balonul de 72 l, apoi transferate în balonul de 100 l în timp ce temperatura internă a lotului a fost menținută la 20 +/- 5°C.

Straturile au fost lăsate să se despartă și stratul apos inferior a fost separat și depozitat. Stratul organic a fost extras de trei ori cu 32 kg de apă purificată fiecare, iar straturile apoase au fost separate și combinate cu soluția apoasă stocată.

Stratul organic rămas a fost răcit la 18°C și o soluție de 847 g de acid succinic în 10,87 kg de apă purificată a fost adăugată încet, în porțiuni, la stratul organic. Amestecul a fost agitat timp de 1,75 ore la 20+/-5°C. Amestecul a fost filtrat, iar solidele au fost spălate cu 2 kg TBME și 2 kg de acetonă apoi uscate pe pâlnie. Turta de filtrare a fost triturată de două ori cu 5,7 kg fiecare de acetonă și filtrată și spălată cu 1 kg de acetonă între triturări. Solidul a fost uscat pe pâlnie, apoi transferat în tăvi și uscat într-un cuptor cu vid la temperatura camerei până la o greutate constantă de 2,32 kg de NTP. Randament=80%.

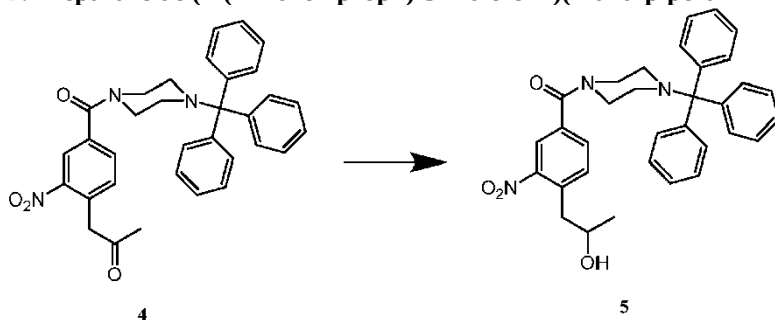
4. Preparare de (4-(2-hidroxiopropil)-3-nitrofenil)(4-tritilpiperazin-1-il)metanonă

A. Preparare de 1-(2-nitro-4(4-tritilpiperazin-1-carbonil)fenil)propan-2-onă



Într-un balon cu manta de 100 l s-au încărcat sub azot 2 kg de acid 3-nitro-4-(2-oxopropil)benzoic (3), 18,3 kg DCM, 1,845 kg clorhidrat de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimidă (EDC.HCl). Soluția a fost agitată până când s-a format un amestec omogen. S-au adăugat 3,048 kg de NTP timp de 30 de minute la temperatura camerei și s-au agitat timp de 8 ore. La amestecul de reacție s-au adăugat 5,44 kg de apă purificată și s-a agitat timp de 30 de minute. Straturile au fost lăsate să se separe și stratul organic inferior care conținea produsul a fost drenat și depozitat. Stratul apos a fost extras de două ori cu 5,65 kg de DCM. Straturile organice combinate au fost spălate cu o soluție de 1,08 kg clorură de sodiu în 4,08 kg apă purificată. Straturile organice au fost uscate pe 1,068 kg de sulfat de sodiu și filtrate. Sulfatul de sodiu a fost spălat cu 1,3 kg de DCM. Straturile organice combinate au fost suspendate cu 252 g de silicagel și filtrate printr-o pâlnie de filtrare care conținea un pat de 252 g de silicagel. Patul de silicagel a fost spălat cu 2 kg de DCM. Straturile organice combinate s-au evaporat pe un rotovapor. La reziduu s-au adăugat 4,8 kg de THF și apoi s-au evaporat pe rotovap până când s-au atins 2,5 volume de 1-(2-nitro-4(4-tritilpiperazin-1-carbonil)fenil)propan-2-onă brută în THF.

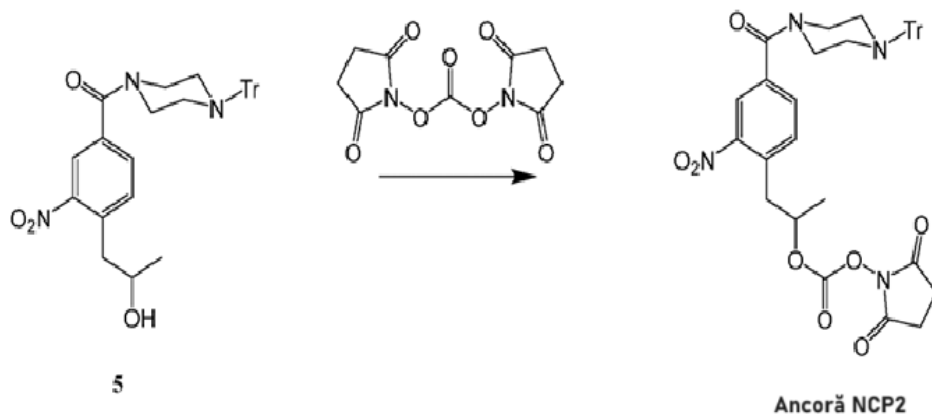
B. Preparare de (4-(2-hidroxiopropil)-3-nitrofenil)(4-tritilpiperazin-1-il)metanonă (5)



Într-un balon cu manta de 100 l s-au încărcat sub azot 3600 g de 4 de la pasul anterior și 9800g THF. Soluția agitată a fost răcită la ≤5°C. Soluția a fost diluată cu 11525 g etanol și s-au adăugat 194 g de borohidru de sodiu timp de aproximativ 2 ore la ≤5°C. Amestecul de reacție a fost agitat încă 2 ore la ≤5°C. Reacția a fost stinsă cu o soluție de aproximativ 1,1 kg clorură de amoniu în aproximativ 3 kg de apă prin adăugare lentă pentru a menține temperatura la ≤10°C. Amestecul de reacție a fost agitat încă 30 de minute, filtrat pentru a îndepărta substanțele anorganice și reîncărcat la un balon cu manta de 100 l și extras cu 23 kg de DCM. Stratul organic a fost separat și soluția apoasă a fost extrasă încă de două ori cu 4,7 kg de DCM fiecare. Straturile organice combinate au fost spălate cu o soluție de aproximativ 800 g de clorură de sodiu în aproximativ 3 kg de apă, apoi uscate pe 2,7 kg de sulfat de sodiu. Suspensia a fost filtrată și turta de filtrare a fost spălată cu 2 kg de DCM. Filtratele combinate au fost concentrate la 2,0 volume, diluate cu aproximativ 360 g de acetat de etil și evaporate. Produsul brut a fost încărcat pe o coloană de silicagel de 4 kg de silice umplut cu DCM sub azot și eluat cu 2,3 kg acetat de etil în 7,2 kg DCM. Frațiunile

combinat au fost evaporate și reziduul a fost preluat în 11,7 kg de toluen. Soluția de toluen a fost filtrată și turta de filtrare a fost spălată de două ori cu câte 2 kg de toluen fiecare. Turta de filtrare a fost uscată până la o greutate constantă de 2,275 kg de compus 5 (46% randament din compus 3) HPLC 96,99%.

5. Preparare de 2,5-dioxopirolidin-1-il(1-(2-nitro-4-(4-trifenilmetilpiperazin-1-carbonil)fenil)propan-2-il)carbonat (Ancoră NCP2)



Într-un balon cu manta de 100 l s-au încărcat sub azot 4,3 kg de compus 5 (greutate ajustată pe baza toluenului rezidual de H¹ RMN; toți reactivii de aici după au fost scalați corespunzător) și 12,7 kg de piridină. Pentru aceasta au fost încărcate 3,160 kg de DSC (78,91 % greutate de H¹ RMN) în timp ce temperatura internă a fost menținută la ≤35°C. Amestecul de reacție a fost îmbătrânit timp de aproximativ 22 de ore la ambianță apoi filtrat. Turta de filtrare a fost spălată cu 200 g de piridină. În două loturi, fiecare cuprinzând ½ din volumul de filtrat, filtratul spălat s-a încărcat lent într-un balon cu manta de 100 l care conține o soluție de aproximativ 11 kg de acid citric în aproximativ 50 kg de apă și s-a agitat timp de 30 de minute pentru a permite precipitarea solidă. Solidul a fost colectat cu o pâlnie de filtru, spălat de două ori cu 4,3 kg de apă per spălare și uscat pe pâlnia de filtru sub vid.

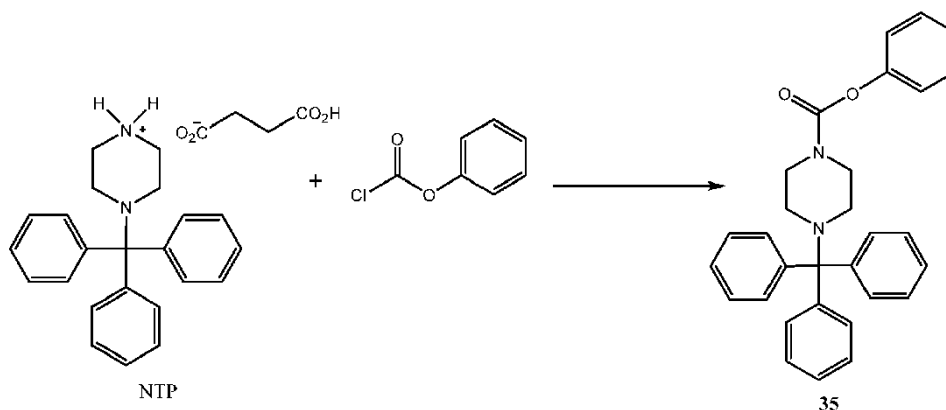
Solidele combinate au fost încărcate într-un balon cu manta de 100 l și dizolvate în 28 kg de DCM și spălate cu o soluție de 900 g de carbonat de potasiu în 4,3 kg de apă. După 1 oră, straturile au fost lăsate să se separe și stratul apos a fost îndepărtat. Stratul organic a fost spălat cu 10 kg de apă, separat și uscat pe 3,5 kg de sulfat de sodiu. DCM a fost filtrat, evaporat și uscat sub vid la 6,16 kg de Ancoră NCP2 (randament 114%).

Exemplul 2: Sinteza rășinii încărcate cu ancora

Într-un reactor de sinteză în fază solidă de 75 l cu un robinet de oprire din teflon s-au încărcat aproximativ 52 l de NMP și 2300 g de rășină aminometil polistiren. Rășina a fost agitată în NMP pentru a se umfla timp de aproximativ 2 ore, apoi a fost drenată. Rășina a fost spălată de două ori cu aproximativ 4l DCM per spălare, apoi de două ori cu 39l soluție de neutralizare per spălare, apoi de două ori cu 39l de DCM per spălare. Soluția de ancorare NCP2 a fost adăugată lent la soluția de rășină cu agitare, s-a agitat timp de 24 de ore la temperatura camerei și s-a drenat. Rășina a fost spălată de patru ori cu 39l de NMP per spălare și de șase ori cu 39l de DCM per spălare. Rășina a fost tratată și agitată cu ½ soluție de acoperire DEDC timp de 30 de minute, drenată și a fost tratată și agitată cu 2nd ½ din soluția de acoperire DEDC timp de 30 de minute și drenată. Rășina a fost spălată de șase ori cu 39 l de DCM per spălare apoi uscată într-un cuptor până la o greutate constantă de 3573,71 g de rășină încărcată cu ancoră.

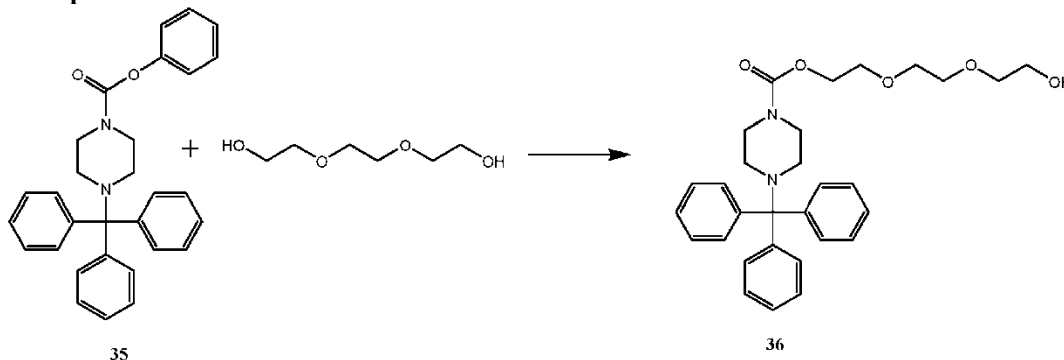
Exemplul 3: Preparare de coadă EG3 activată (Vezi Fig. 2)

1. Preparare de carbamat de tritil piperazin fenil 35



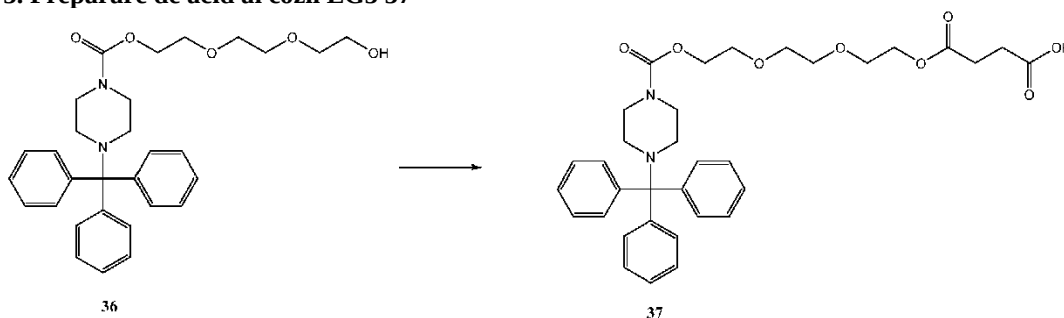
La o suspensie răcită de NTP în diclormetan (6 ml/g NTP) s-a adăugat o soluție de carbonat de potasiu (3,2 echiv.) în apă (4 ml/g carbonat de potasiu). La acest amestec în două faze s-a adăugat încet o soluție de cloroformat de fenil (1,03 echiv.) în diclormetan (2 g/g cloroformat de fenil). Amestecul de reacție a fost încălzit la 20°C. După terminarea reacției (1-2 h), straturile au fost separate. Stratul organic a fost spălat cu apă și uscat pe carbonat de potasiu anhidru. Produsul 35 a fost izolat prin cristalizare din acetoniitril. Randament=80%.

2. Prepararea alcoolului carbamat 36



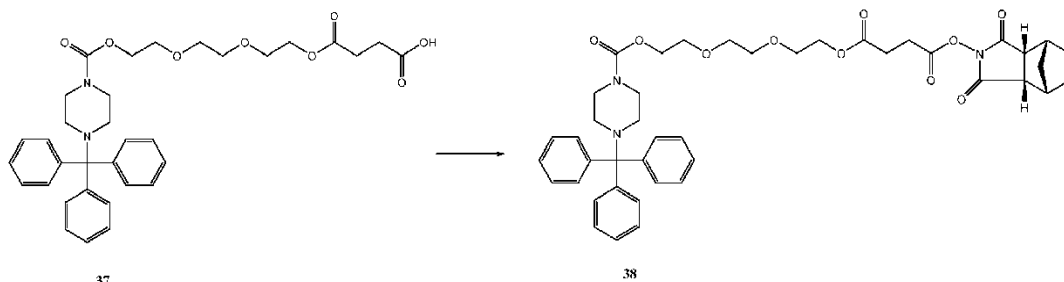
Hidruță de sodiu (1,2 echiv.) a fost suspendată în 1-metil-2-pirolidinonă (32 ml/g hidruță de sodiu). La această suspensie s-au adăugat trietilenglicol (10,0 echiv.) și compus 35 (1,0 echiv.). Suspensia rezultată a fost încălzită la 95°C. După terminarea reacției (1-2 h), amestecul a fost răcit la 20°C. La acest amestec s-a adăugat 30% diclormetan/metil terț-butil eter (v:v) și apă. Stratul organic care conține produsul a fost spălat succesiv cu NaOH apos, acid succinic apos și clorură de sodiu apoasă saturată. Produsul 36 a fost izolat prin cristalizare din diclormetan/metil terț-butil eter/heptan. Randament=90%.

3. Preparare de acid al cozii EG3 37



La o soluție de compus 36 în tetrahidrofuran (7 ml/g 36) s-a adăugat anhidridă succinică (2,0 echiv.) și DMAP (0,5 echiv.). Amestecul a fost încălzit la 50°C. După terminarea reacției (5 h), amestecul a fost răcit la 20°C și ajustat la pH 8,5 cu NaHCO₃ apos. S-a adăugat metil terț-butil eter și produsul a fost extras în stratul apos. S-a adăugat diclormetan și amestecul a fost ajustat la pH 3 cu acid citric apos. Stratul organic care conținea produsul a fost spălat cu un amestec de tampon citrat pH=3 și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu. Această soluție de diclormetan a 37 a fost utilizată fără izolare la prepararea compusului 38.

4. Prepararea cozii EG3 activate 38



La soluția compusului 37 s-a adăugat imida acidului N-hidroxi-5-norbornen-2,3-dicarboxilic (HONB) (1,02 echiv.), 4-dimetilaminopiridină (DMAP) (0,34 echiv.) și apoi clorhidrat de 1-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimidă (EDC) (1,1 echiv). Amestecul a fost încălzit la 55°C. După terminarea reacției (4-5 h), amestecul a fost răcit la 20°C și spălat succesiv cu 1: 1 acid citric 0,2 M/saramură și saramură. Soluția de diclormetan a suferit un schimb de solvent cu acetonă și apoi cu N,N-dimetilformamidă, și produsul a fost izolat prin precipitare din acetonă/N,N-dimetilformamidă în clorură de sodiu apoasă saturată. Produsul brut a fost preluat de câteva ori în apă pentru a îndepărta N,N-dimetilformamidă reziduală și sărurile. Randament = 70% coadă EG3 activată 38 din compusul 36.

Exemplul 4: 50l Sinteză în fază solidă de

Eteplirsen [Compus oligomeric (XII)] Substanță medicament brut

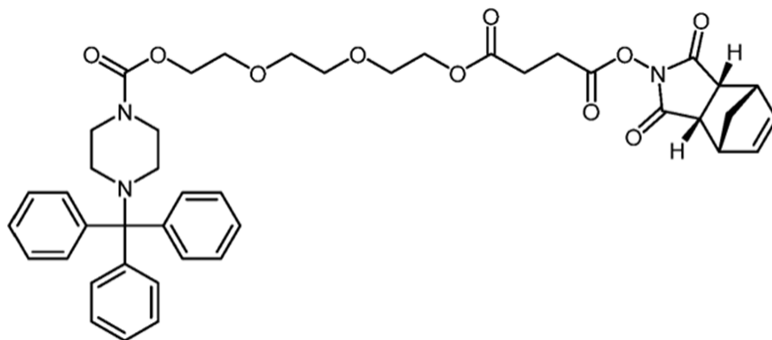
1. Materiale

Tabelul 2: Materii prime

Denumire material	Denumire chimică	Număr CAS	Formula chimică	MW
A subunitate activată	Acid fosforamidoclorhidric, <i>N,N</i> -dimetil-, [6-[6-(benzoilamino)-9H-purin-9-il]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metil ester	1155373-30-0	$C_{38}H_{37}ClN_7O_4P$	722.2
Subunitate activată C	Acid fosforamidoclorhidric, <i>N,N</i> -dimetil-, [6-[4-(benzoilamino)-2-oxo-1(2H)-pirimidinil]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metil ester	1155373-31-1	$C_{37}H_{37}ClN_5O_5P$	698.2
Subunitate activată DPG	Acid propanoic, 2,2-dimetil-4-[[[9-[6-[[[clor(dimetilamino)fosfinil]oxi]metil]-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]-2-[(2-fenilacetil)amino]-9H-purin-6-il]oxi]metil]fenil ester	1155309-89-9	$C_{51}H_{53}ClN_7O_7P$	942.2
Subunitate activată T	Acid fosforamidoclorhidric, <i>N,N</i> -dimetil-[6-(3,4-dihidro-5-metil-2,4-dioxo-1(2H)-pirimidinil)-4-(trifenilmetil)-2-morfolinil]metil ester	1155373-34-4	$C_{31}H_{34}ClN_4O_5P$	609.1
Coadă activată EG3	Acid butandioic, 1-[3aR,4S,7R,7aS)-1,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1,3-dioxo-4,7-metano-2H-izoindol-2-il]4-[2-[2-[2-[[[4-(trifenilmetil)-1-piperazinil] carbonil]oxi] etoxi] etoxi]etil] ester	1380600-06-5	$C_{43}H_{47}N_3O_{10}$	765.9

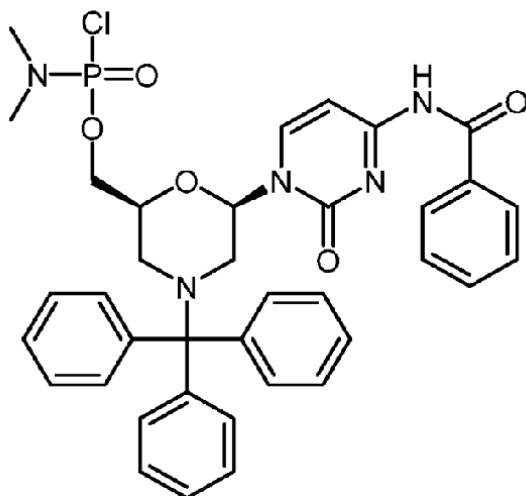
Structurile chimice ale materiilor prime:

A. Coadă EG3 activată



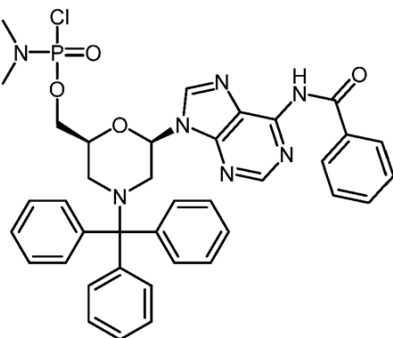
Compus (B)

B. Subunitatea C activată (pentru preparare, vezi brevet U.S. Nr. 8.067.571)



Compus (C1)

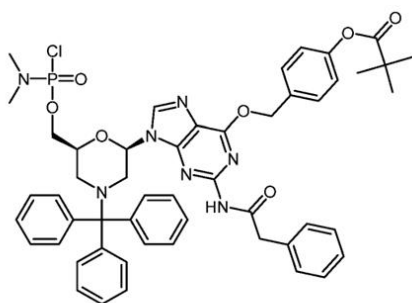
C. Subunitatea A activată (pentru preparare, vezi brevet U.S. Nr. 8.067.571)



Compus (D1)

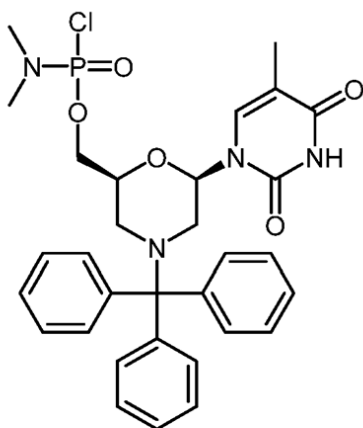
5

D. Subunitate DPG activată (pentru preparare, vezi WO 2009/064471)



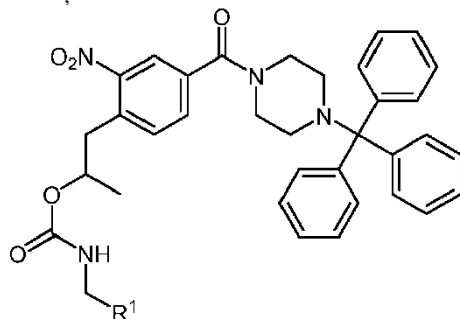
Compus (E1)

E. Subunitatea T activată (pentru preparare, vezi WO 2013/082551)



Compus (F1)

F. Rășină încărcată cu ancora



Formula (I)

în care

R¹ este un mediu suport.

Tabelul 3: Descrierea soluțiilor pentru sinteza oligomerului în fază solidă a substanței medicamentoase brute Eteplirsen

Nume soluție	Compoziție soluție
Soluție de ancoră NCP2	37,5l NMP și ancoră 1292g NCP2
Soluție de acoperire DEDC	4,16l Dicarbonat de dietil (DEDC), 3,64l NEM, și 33,8l DCM
Soluție CYTFA	2,02 kg 4-cianopiridină, 158 l DCM, 1,42 l TFA, 39 l TFE, și 2 l apă purificată
Soluție de neutralizare	35,3 l IPA, 7,5 l DIPEA, și 106,5 l DCM
Soluție de clivare	1.530,04 g DTT, 6,96 l NMP, și 2,98 l DBU

2. Sinteza de Eteplirsen substanță medicamentoasă brută

A. Rășină de umflare

750 g de rășină încărcată cu ancora și 10,5 l de NMP au fost încărcate într-un reactor silanizat de 50 l și agitate timp de 3 ore. NMP a fost drenat și rășina încărcată cu ancora a fost spălată de două ori cu 5,5l fiecare de DCM și de două ori cu 5,5 l fiecare de 30% TFE/DCM.

B. Ciclul 0: Cuplare de coadă EG3

Rășina încărcată cu ancora a fost spălată de trei ori cu 5,5 l fiecare de 30% TFE/DCM și drenată, spălată cu 5,5 l de soluție de CYTFA timp de 15 minute și drenată și din nou spălată cu 5,5 l de soluție de CYTFA timp de 15 minute fără scurgere. S-au încărcat 122 ml de NEM/DCM 1:1 și suspensia a fost agitată timp de 2 minute și s-a scurs. Rășina a fost spălată de două ori cu 5,5 l de soluție de neutralizare timp de 5 minute și s-a scurs, apoi de două ori cu 5,5 l de DCM fiecare și s-a scurs. O soluție de 706,2 g de coadă EG3 activată (MW 765,85) și 234 ml de NEM în 3 l de DMI a fost încărcată în rășină și agitată timp de 3 ore la temperatura camerei și drenată. Rășina a fost spălată de două ori cu câte 5,5 l de soluție de neutralizare timp de 5 minute pentru fiecare spălare și o dată cu 5,5 l de DCM și s-a scurs. O soluție de 374,8 g de anhidridă benzoică și 195 ml NEM în 2680 ml NMP a fost încărcată și agitată timp de 15 minute și s-a

scurs. Rășina a fost agitată cu 5,5 l de soluție de neutralizare timp de 5 minute, apoi a fost spălată o dată cu 5,5 l de DCM și de două ori cu 5,5 l fiecare de 30% TFE/DCM. Rășina a fost suspendată în 5,5 l de 30% TFE/DCM și menținută timp de 14 ore.

C. Cicluri de cuplare a subunității 1-30

5 **i. Tratamente de pre-cuplare**

Înainte de fiecare ciclu de cuplare, așa cum este descris în Tabelul 4, rășina a fost: 1) spălată cu 30% TFE/DCM; 2) a) tratată cu soluție CYTFA 15 minute și scursă, și b) tratată cu soluție CYTFA timp de 15 minute la care s-a adăugat 1: 1 NEM/DCM, s-a agitat și s-a scurs; 3) agitată de trei ori cu soluție de neutralizare; și 4) spălată de două ori cu DCM. Vezi tabelul 4.

10 **ii. Tratamente post cuplare**

După ce fiecare soluție de subunitate a fost drenată așa cum este descris în Tabelul 4, rășina a fost: 1) spălată cu DCM; și 2) spălată de două ori cu 30% TFE/DCM. Dacă rășina a fost menținută pentru o perioadă de timp înainte de următorul ciclu de cuplare, a doua spălare TFE/DCM nu a fost drenată și rășina a fost reținută în respectiva soluție de spălare TFE/DCM. Vezi Tabelul 4.

15 **iii. Cicluri de cuplare a subunității activate**

Ciclurile de cuplare au fost efectuate așa cum este descris în Tabelul 4.

iv. Spălare finală IPA

20 După ce etapa finală de cuplare a fost efectuată așa cum este descris în Tabelul 4, rășina a fost spălată de 8 ori cu câte 19,5 l de IPA și uscată sub vid la temperatura camerei timp de aproximativ 63,5 ore până la o greutate uscată de 5.579,8 g.

D. Clivare

25 Substanța medicamentoasă brută Eteplirsen legată de rășina de mai sus a fost împărțită în două loturi, fiecare lot a fost tratat după cum urmează. Un lot de 2.789,9 g de rășină a fost: 1) agitată cu 10l de NMP timp de 2h, apoi NMP a fost drenată; 2) spălată de trei ori cu câte 10l fiecare de 30% TFE/DCM; 3) tratată cu 10l soluție CYTFA timp de 15 minute; și 4) 10l de soluție CYTFA timp de 15 minute la care s-au adăugat apoi 130ml 1:1 NEM/DCM și s-a agitat timp de 2 minute și s-a scurs. Rășina a fost tratată de trei ori cu câte 10l de soluție de neutralizare, spălată de șase ori cu 10l de DCM și de opt ori cu câte 10l de NMP. Rășina a fost tratată cu o soluție de scindare de 1530,4g DTT și 2980 DBU în 6,96l NMP timp de 2 ore pentru a detașa substanța medicamentoasă brută Eteplirsen din rășină. Soluția de clivare a fost drenată și reținută într-un vas separat. Reactorul și rășina au fost spălate cu 4,97 l de NMP care a fost combinat cu soluția de scindare.

30

Tabelul 4 :

Ciclu nr: Subunitate (SU)	Tratament pre-cuplare				Ciclu cuplare		Tratament post-cuplare	
	1	2	3	4			1	2
	30% TFE/DC M Spălare	CYTFA Soluție	Soluție neutralizare	DCM Spălare	Cantitate SU (g) NEM (L) DMI (L)	RT Timp cuplare (Hr.)	DC M Spălare	30% TFE/DC M Spălare
1:C	5.5L	a) 5,5L b) 5.5L, 122ml	3x5.5L	5.5L	536.7g; 195 ml NEM; 3.2L DMI	5	5.5L	2x5.5L
2:T	7.0L	a) 7L b) 7L, 158ml	3x7L	2x7L	468.2g și 195ml NEM 3.2L DMI	4.25	7L	2x7L ²
3:C	8L	a) 8L b) 8L, 182ml	3x8L	2x8L	536.7g; 195ml NEM; 3.4L DMI	4.25	8L	2x8L
4:C	9L	a) 9L b) 9L, 206ml	3x9L	2x9L	536.7g; 195ml NEM; 3.6L DMI	4.25	9L	2x9L ³
5:A	9.5L	a) 9.5L b) 9.5L, 220ml	3x9.5L	2x9.5 L	555.2g; 195ml NEM; 3.4L DMI	4.25	9.5L	2x9.5L
6:A	10L	a) 10L b) 10L, 232ml	3x10L	2x10 L	555.2g; 195ml NEM; 3.45L DMI	4.25	10L	2x10L ⁴

¹ ml arată cantitatea de NEM/DCM 1:1

² Rășina reținută la această etapă timp de 1/2 zi

³ Rășina reținută la această etapă timp de 1/2 zi

⁴ Rășina reținută la această etapă timp de 0,4 zi

Tabelul 4- continuare

Ciclu nr. Subunitate (SU)	Tratament pre-cuplare				Ciclu cuplare		Tratament post-cuplare	
	1	2	3	4			1	2
	30% TFE/DCM Spălare	CYTFA Soluție	Soluție neutralizare	DCM Spălare	Cantitate SU (g) NEM (L) DMI (L)	RT Timp cuplare (Hr.)	DCM Spălare	30% TFE/DCM Spălare
7:C	11L	a) 11L b) 11L, 256ml	3x11L	2x11L	536.7g; 195ml NEM; 3.57L DMI	4.25	11L	2x11L
8:A	11L	a) 11L b) 11L, 256ml	3x11L	2x11L	555.2g; 195ml NEM; 3.64L DMI	4.25	11L	2x11L ⁵
9:T	11.5L	a) 11.5L b) 11.5L 268ml	3x11.5L	2x 11.5L	468.2g; 195ml NEM; 3.72L DMI	4.25	11.5L	2x11.5L
10:C	12L	a) 12L b) 12L, 280ml	3x12L	2x12L	536.7g; 195ml NEM; 3.96L DMI	4.25	12L	2x12L ⁶
11:A	13.5L	a) 13.5L b) 13.5L, 204ml	3x13.5L	2x 13.5L	721.7g; 253ml NEM; 4.02L DMI	4.25	13.5L	2x13.5L
12:A	13.5L	a) 13.5L b) 13.5L, 204ml	3x13.5L	2x 13.5L	721.7g; 253ml NEM; 4.02L DMI	4.25	13.5L	2x13.5L ⁷

⁵ Rășina reținută la această etapă timp de 2,5 zile⁶ Rășina reținută la această etapă timp de 1/2 zi⁷ Rășina reținută la această etapă timp de 0,4 zile

Tabelul 4- continuare

Ciclu nr. Subunitate (SU)	Tratament pre-cuplare				Ciclu cuplare :		Tratament post-cuplare	
	1	2	3	4			1	2
	30% TFE/DC M Spălare	CYTF A Soluție	Soluție neutralizare	DCM Spălare	Cantitate SU (g) NEM (L) DMI (L)	RT Timp cuplare (Hr .)	DCM Spălare	30% TFE/DC M Spălare
13:DP G	14L	a) 14L b) 14L, 216ml	3x14L	2x14 L	941.9g; 253ml NEM; 4.02L DMI	4.25	14L	2x14L
14:DP G	14.5L	a) 14.5L b) 14.5L, 228ml	3x14.5L	2x 14.5L	941.9g; 253ml NEM; 4.1L DMI	4.25	14.5 L	2x14.5L ⁸
15:A	15.5L	a) 15.5L b) 15.5L, 254ml	3x15.5L	2x 15.5L	721.7g; 253ml NEM; 4.26L DMI	4.25	15.5 L	2x15.5L
16:A	15.5L	a) 15.5L b) 15.5L, 254ml	3x15.5L	2x 15.5L	721.7g; 253ml NEM; 4.26L DMI	4.25	15.5 L	2x15.5L ⁹
17:DP G	16L	a) 16L b) 16L, 366ml	3x16L	2x16 L	941.9g; 253ml NEM; 4.4L DMI	4.75	16L	2x16L
18:A	16.5L	a) 16.5L b) 16.5L, 378ml	3x16.5L	2x 16.5L	721.7g; 253ml NEM; 4.4L DMI	4.25	16.5 L	2x16.5L ¹⁰

⁸ Rășina reținută la această etapă timp de 0,4 zile⁹ Rășina reținută la această etapă timp de 0,4 zile¹⁰ Rășina reținută la această etapă timp de 1,5 zile

Tabelul 4- continuare

Ciclu nr. Subunitate (SU)	Tratament pre-cuplare				Ciclu cuplare		Tratament post-cuplare	
	1	2	3	4			1	2
	30% TFE/DCM Spălare	CYTF A Soluție	Soluție neutralizare	DCM Spălare	Cantitate SU (g) NEM (L) DMI (L)	RT Timp cuplare (Hrs.)	DCM Spălare	30% TFE/DCM Spălare
19:T	16.5L	a) 16.5L b) 16.5L, 378ml	3x16.5L	2x 16.5L	608.7g; 253ml NEM; 4.57L DMI	4.25	16.5L	2x16.5 L
20:DPG	17L	a) 17L b) 17L, 390ml	3x17L	2x17L	941.9g; 253ml NEM; 4.57L DMI	4.75	17L	2x17L ¹¹
21:DPG	17L	a) 17L b) 17L, 390ml	3x17L	2x17L	1159.2g; 311ml NEM; 4.72L DMI	4.25	17L	2x17L
22:C	17.5L	a) 17.5L b) 17.5L, 402ml	3x17.5L	2x 17.5L	858.7g; 311ml NEM; 4.72L DMI	4.75	17.5L	2x17.5 L ¹²
23:A	17.5L	a) 17.5L b) 17.5L, 402ml	3x17.5L	2x 17.5L	888.3g; 311ml NEM; 4.88L DMI	4.25	17.5L	2x17.5 L
24:T	18L	a) 18L b) 18L, 414ml	3x18L	2x18L	749.1g; 311ml NEM; 4.95L DMI	4.25	18L	2x18L ¹³

¹¹ Rășina reținută la această etapă timp de 0,3 zile¹² Rășina reținută la această etapă timp de 0,4 zile¹³ Rășina reținută la această etapă timp de 0,4 zile

Tabelul 4- continuare

Ciclu nr. Subunitate (SU)	Tratament pre-cuplare				Ciclu cuplare		Tratament post-cuplare	
	1	2	3	4			1	2
	30% TFE/DCM Spălare	CYTF A Soluție	Soluție neutralizare	DCM Spălare	Cantitate SU (g) NEM (L) DMI (L)	RT Timp cuplare (Hr .)	DCM Spălare	30% TFE/DCM Spălare
25:T	18L	a) 18L b) 18L, 414ml	3x18L	2x18L	749.1g; 311ml NEM; 5.1L DMI	4.25	18L	2x18L
26:T	18.5L	a) 18.5L b) 18.5L, 426ml	3x18.5L	2x 18.5L	749.1g; 311ml NEM; 5.1L DMI	4.25	18.5 L	2x18.5L ¹⁴
27:C	18.5L	a) 18.5L b) 18.5L, 426ml	3x18.5L	2x 18.5L	858.7g; 311ml NEM; 5.25L DMI	4.25	18.5 L	2x18.5L
28:T	19L	a) 19L b) 19L, 438ml	3x19L	2x1 9L	749.1g; 311ml NEM; 5.25L DMI	4.25	19L	2x19L ¹⁵
29:A	19L	a) 19L b) 19L, 438ml	3x19L	2x1 9L	888.3g; 311ml NEM; 5.41L DMI	4.25	19L	2x19L
30:DPG	19.5L	a) 19.5L b) 19.5L, 450ml	3x19.5L	2x 19.5L	1159.2g ; 311ml NEM; 5.44L DMI	4.75	19.5 L	2x19.5L

¹⁴ Rășina reținută la această etapă timp de 0,4 zile¹⁵ Rășina reținută la această etapă timp de 0,3 zile**E. Deprotejare**

Soluția de scindare combinată și spălarea NMP au fost transferate într-un vas sub presiune la care s-au adăugat 39,8l de NH₄OH (NH₃•H₂O) care a fost răcit la o temperatură de -10° până la -25° C într-un congelator. Vasul sub presiune a fost sigilat și încălzit la 45°C timp de 16h, apoi lăsat să se răcească la 25°C. Această soluție de deprotejare care conține substanța medicamentoasă brută Eteplirsen a fost diluată 3:1 cu apă purificată și pH-ul ajustat la 3,0 cu acid fosforic 2M, apoi la pH 8,03 cu NH₄OH. HPLC (C18) 73-74% (**Figura 1**).

Tabelul 5. Date din Figura 1

Vârf #	Nume compus	Timp de retenție (min)	Rel. Timp Ret. Produs	Zonă {mAu*min}	Zonă rel. %	Plăci (USP)
1		2.488	0.381	0.821928	0.18	1105

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

Exemplul 5: Purificarea substanței medicamentoase brute Eteplirsen

Soluția de deprotejare din Exemplul 2, partea D, care conține substanța medicamentoasă brută Eteplirsen a fost încărcată pe o coloană de rășină schimbătoare de anioni ToyoPearl Super-Q 650S (Tosoh Bioscience) și eluată cu un gradient de 0-35% B pe 17 volum de coloană (Tampon A: 10 mM hidroxid de sodiu Tampon B: 1 M clorură de sodiu în 10 mM hidroxid de sodiu) și fracțiunile de puritate acceptabilă (C18 și SCX HPLC) au fost reunite într-o soluție purificată de produs medicamentos. HPLC (**Figura 2**): 97,74% (C18) 94,58% (SCX).

Soluția de substanță medicamentoasă purificată a fost desalinizată și liofilizată la 1959 g de substanță medicamentoasă Eteplirsen purificată. Randament 61,4%; HPLC (**Figura 3**): 97,7% (C18) 94,6% (SCX).

Tabelul 6. Date din Figura 2

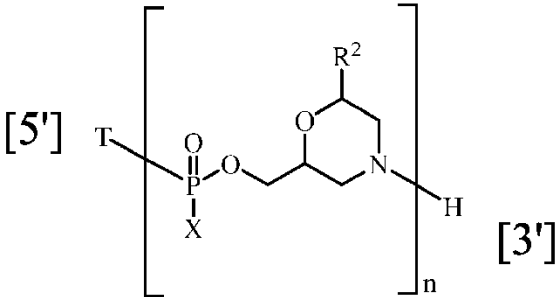
Vârf #	Nume compus	Timp de retenție (min)	Rel. Timp Ret. (Produs)	Zonă {mAu*min}	Procent zonă	Plăci (USP)
1		6.837	0.750	0.050757	0.058	41574
2		7.405	0.813	0.303271	0.344	841
3		8.086	0.887	1.130007	1.280	13
4		8.615	0.946	2.265128	2.567	761
5	AVI-4658	9.111	1.000	83.468700	94.583	4405
6		10.019	1.100	0.704599	0.798	n.a.
7		11.069	1.215	0.326550	0.370	3044

Tabelul 7. Date din Figura 3

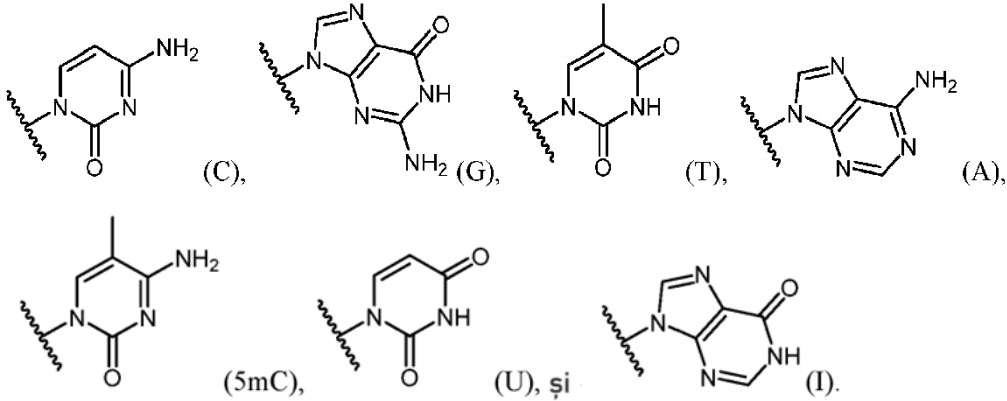
Vârf #	Nume compus	Timp de retenție. (min)	Rel. Timp Ret. (Produs)	Zonă {mAu*min}	Procent zonă	Plăci (USP)
1		6.866	0.751	0.044399	0.063	608
2		7.794	0.852	0.280589	0.397	n.a.
3		8.188	0.895	0.816793	1.156	209
4		8.644	0.945	1.842896	2.608	1147
5	AVI-4658	9.145	1.000	66.857088	94.622	4664
6		10.058	1.100	0.575793	0.815	n.a.
7		11.103	1.214	0.239454	0.339	4375

Exemplul 6: Oligomeri suplimentari preparați prin procedeul dezvăluirii

Următorii oligomeri ai următoarelor secvențe au fost preparați conform metodelor din Exemplele 4 și 5 aproximativ:



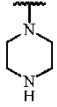
în care R² este, la fiecare apariție, selectat independent din grupul constând din:



Tabelul 8. Oligomer R² la fiecare poziție de la 1 până la n și 5' până la 3'

Den umire		R ² 5' la 3' și 1 la n	
PMO1	22	CAA TGC CAT CCT GGA GTT CCT G	EG3
PMO2	25	GTT GCC TCC GGT TCT GAA GGT GTT C	EG3
AVI-7100	20	CGGT+TAGAAGAC+TCATC+TTT	EG3
AVI-7537	19	GCC+ATGGT+TTT+TTC+TC+AGG	EG3
AVI-7288	23	GAATATTAAC+AI+AC+TGAC+A+AGTC	EG3

Mai sus în Tabelul 8, "+" indică în care X este



altfel X este -N(CH₃)₂.

Tabelul 9. Acronime

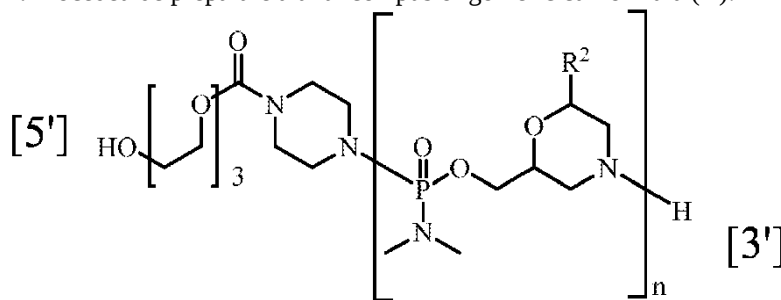
Acronim	Denumire
DBU	1,8-Diazabicycloundec-7-enă
DCM	Diclorometan
DIPEA	N,N-Diizopropiletilamină
DMI	1,3-Dimetil-2-imidazolidinonă
DTT	Ditiotreitol
IPA	Alcool izopropilic
MW	Greutate moleculară
NEM	N-Etilmorfolină
NMP	N-metil-2-pirolidonă
RT	Temperatura camerei
TFA	Acid 2,2,2-trifluoracetic
TFE	2,2,2-Trifluoretanol

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- VIRTÀ P ET AL: "Solid-supported synthesis of oligomeric bioconjugates", TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 59, no. 28, 7 July 2003 (2003-07-07), pages 5137 - 5174, XP004434882, ISSN: 0040-4020, DOI: 10.1016/S0040-4020(03)00704-X
- WO-A1-2013/082551
- WO-A2-2011/150408
- WO-A2-2014/153240

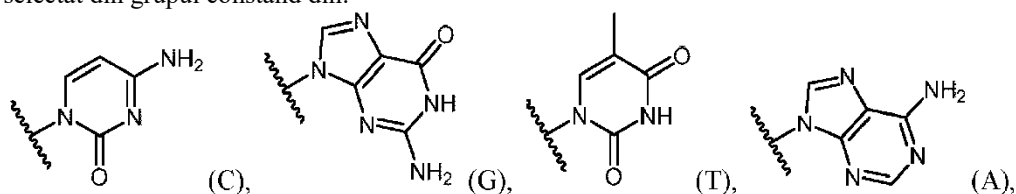
(57) Revendicări:

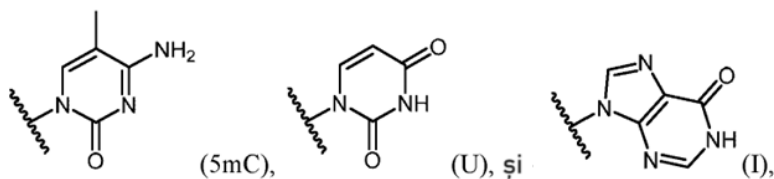
1. Procedeu de preparare a unui compus oligomeric cu Formula (A):



(A);

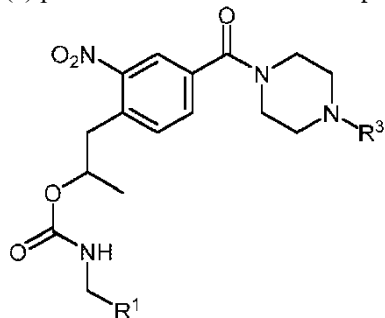
în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, și fiecare R² este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





în care procedeul cuprinde etapele secvențiale de:

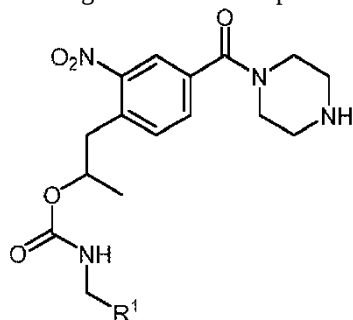
(a) punerea în contact a unui compus cu Formula (A1):



(A1);

în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;

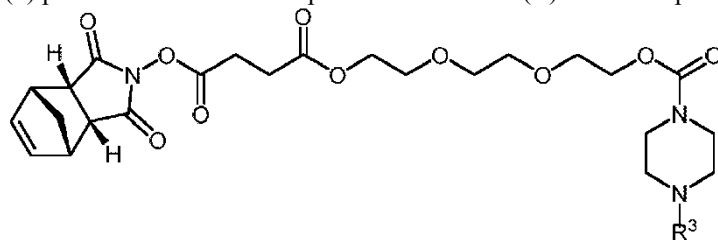
cu un agent de deblocare pentru a forma compusul cu Formula (II):



(II);

în care R^1 este un mediu suport;

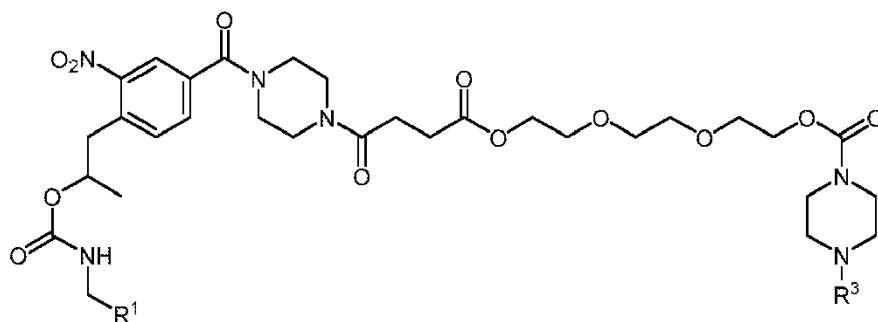
(b) punerea în contact a compusului cu Formula (II) cu un compus cu formula (A2):



(A2);

în care R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;

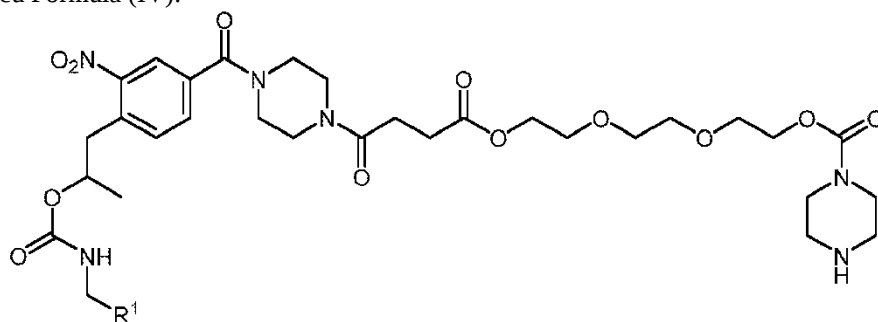
pentru a forma un compus cu Formula (A3):



(A3);

în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil;

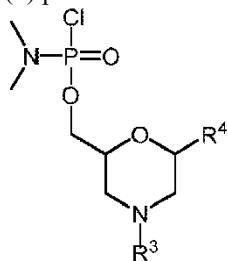
(c) punerea în contact a compusului cu Formula (A3) cu un agent de deblocare pentru a forma un compus cu Formula (IV):



(IV);

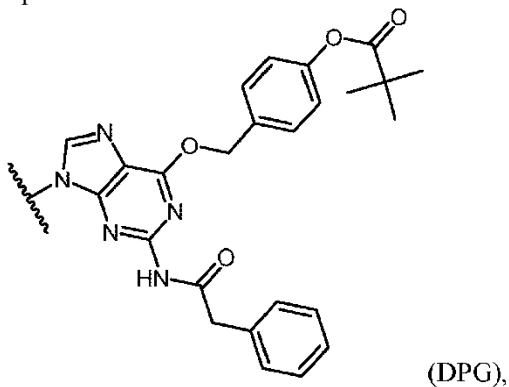
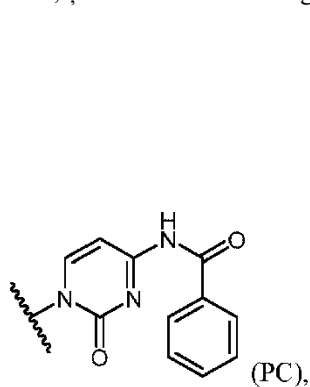
în care R^1 este un mediu suport;

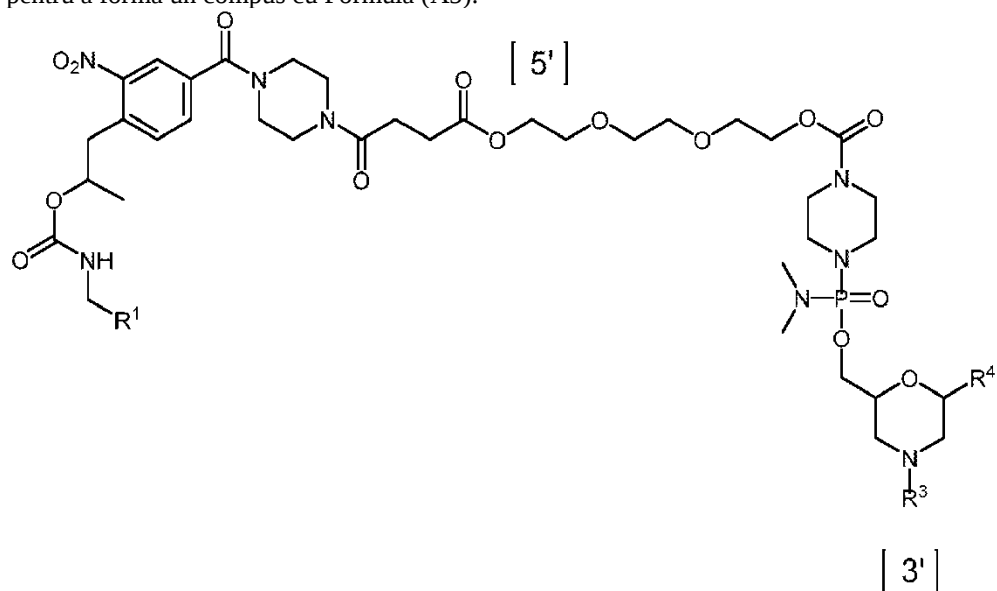
(b) punerea în contact a compusului cu Formula (IV) cu un compus cu formula (A4):



(A4);

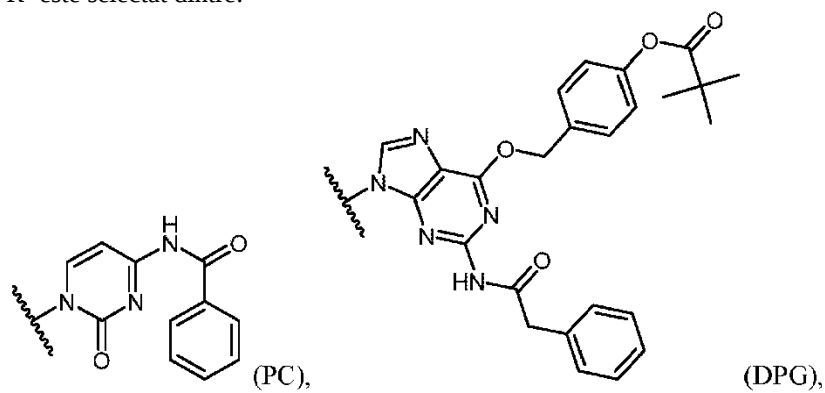
în care R^3 este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și R^4 este selectat din grupul constând din:

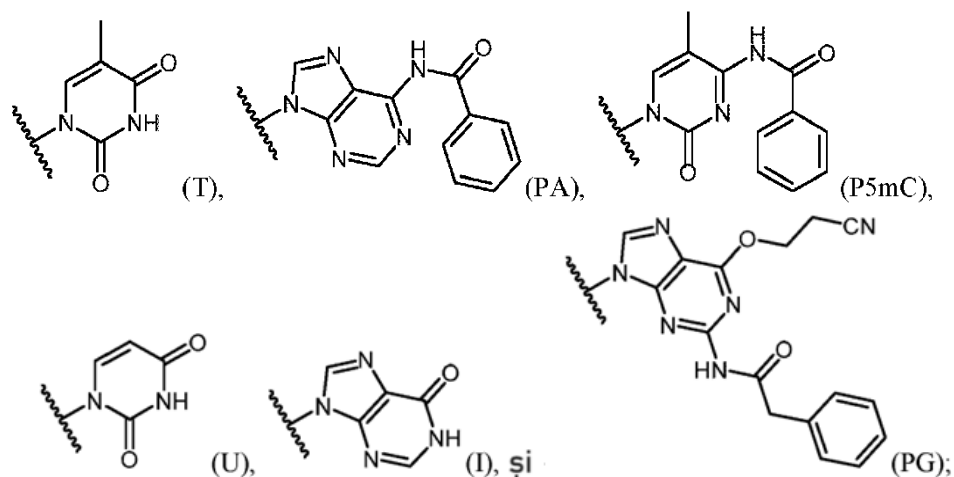




(A5);

în care R^1 este un mediu suport și R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și
 R^4 este selectat dintre:





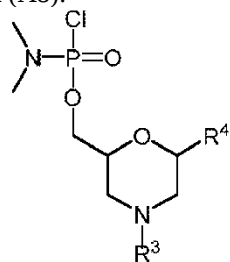
(b) efectuarea de n-1 iterații ale etapelor secvențiale ale:

(e1) punerea în contact a produsului format prin etapa imediat anterioară cu un agent de deblocare;

și

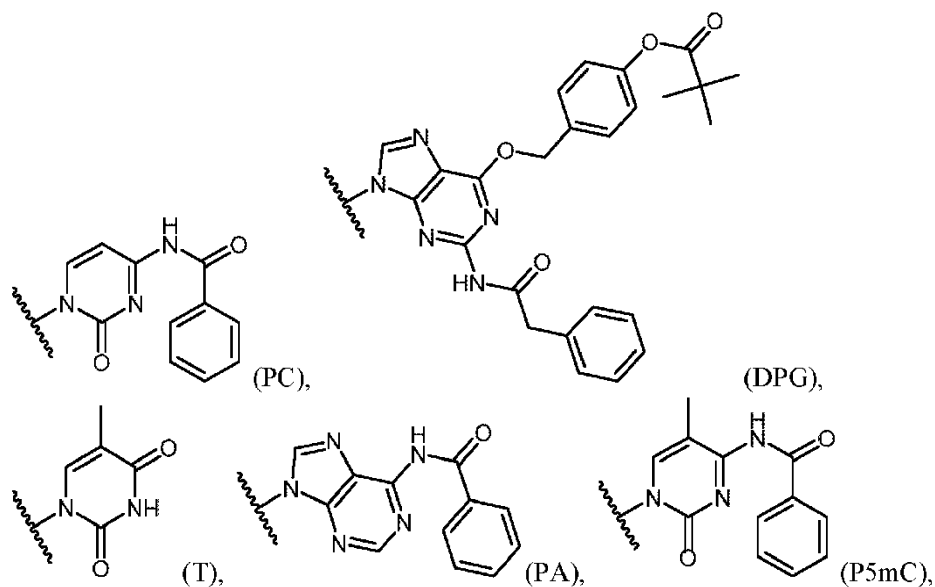
(e2) punerea în contact a compusului format prin etapa imediat anterioară cu un compus cu

Formula (A8):



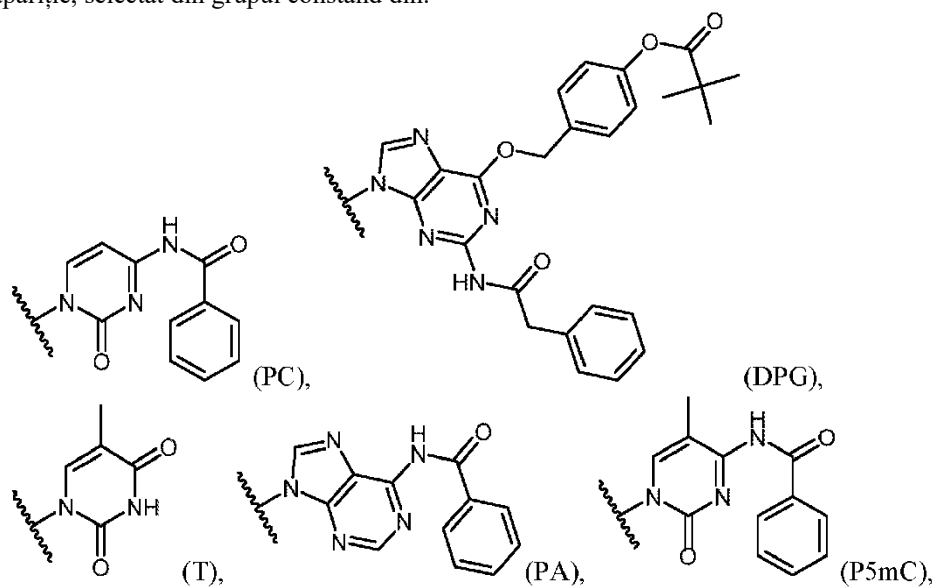
(A8);

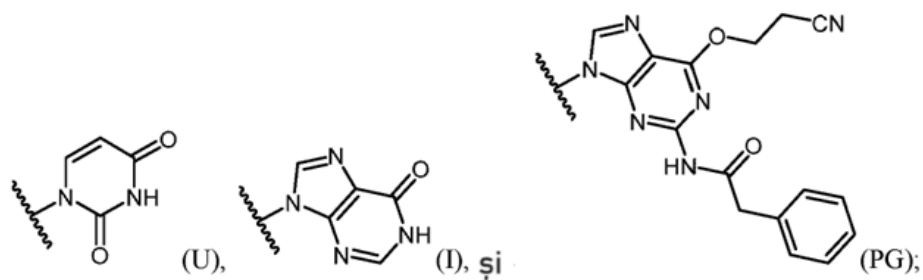
în care R³ este selectat din grupul constând din tritol, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și R⁴ este independent pentru fiecare compus cu Formula (A8), selectat din grupul constând din:





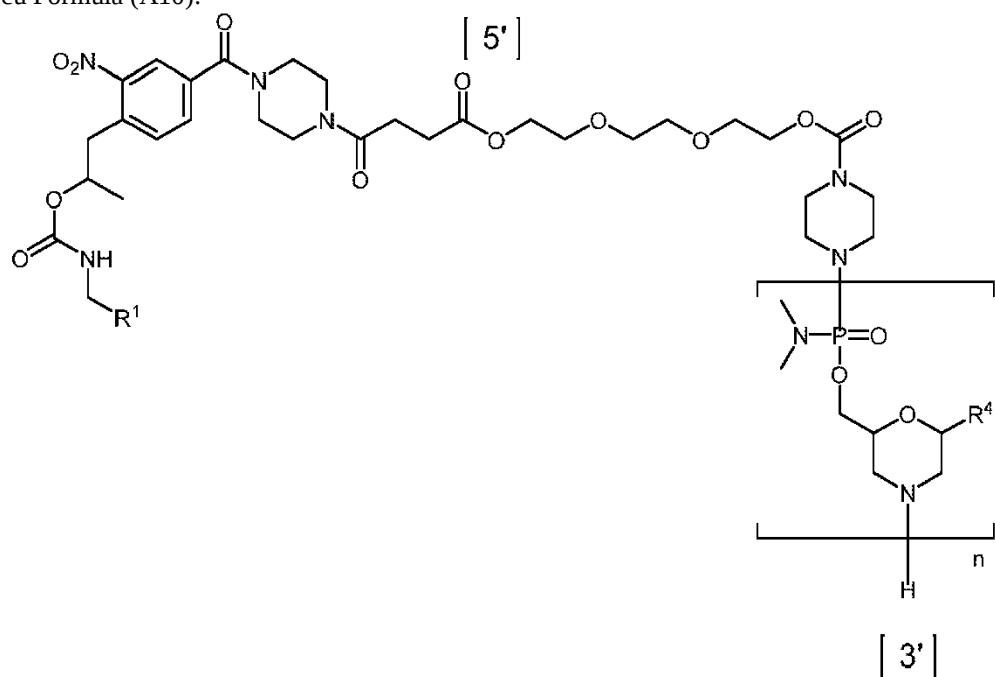
în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, R^1 este un mediu suport, R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil și R^4 este, independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





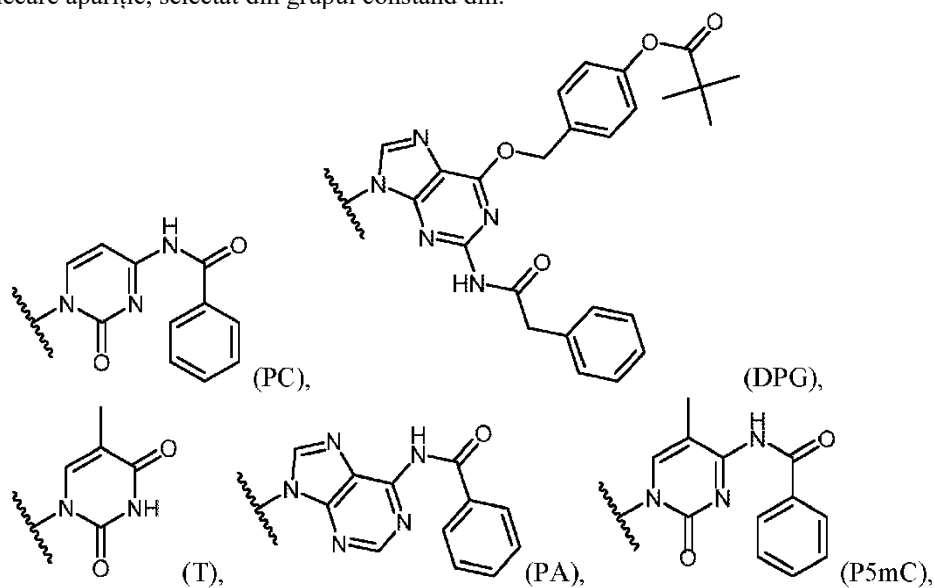
și

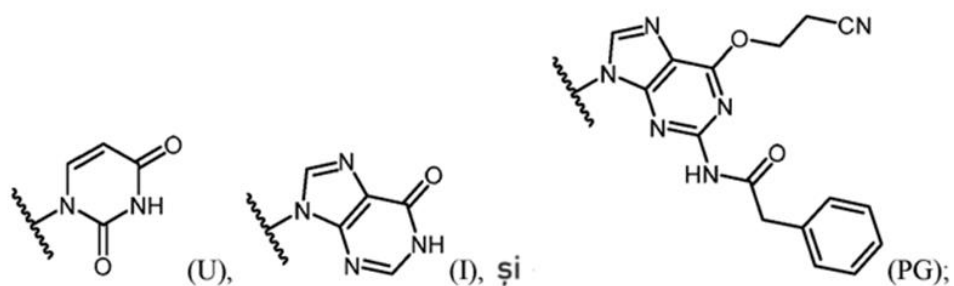
(f) punerea în contact a compusului cu Formula (A9) cu un agent de deblocare pentru a forma un compus cu Formula (A10):



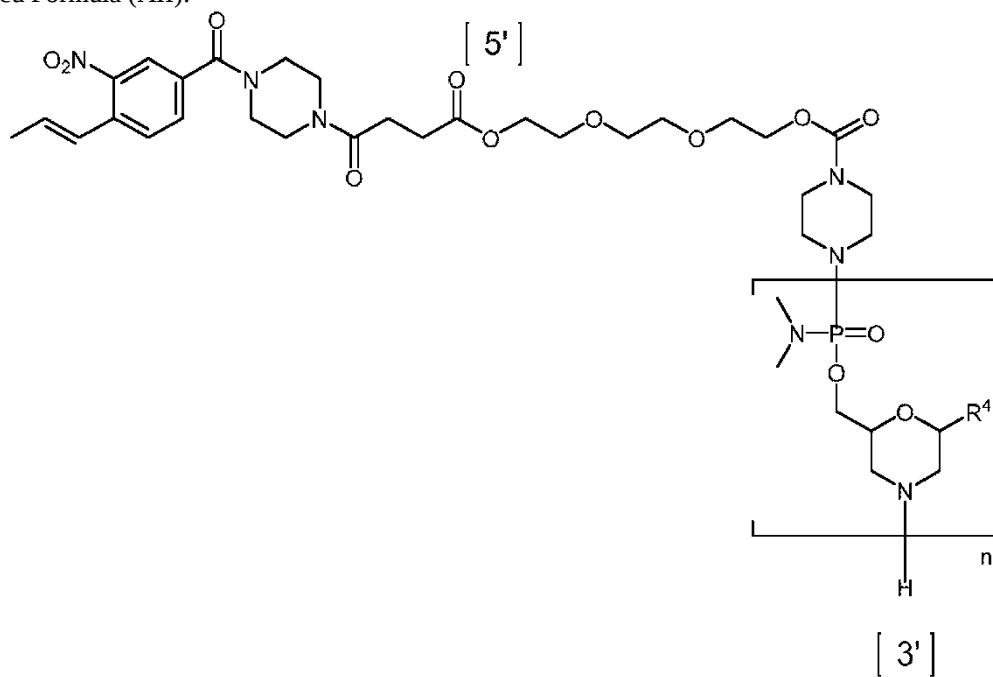
(A10);

în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, R^1 este un mediu suport, și R^4 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



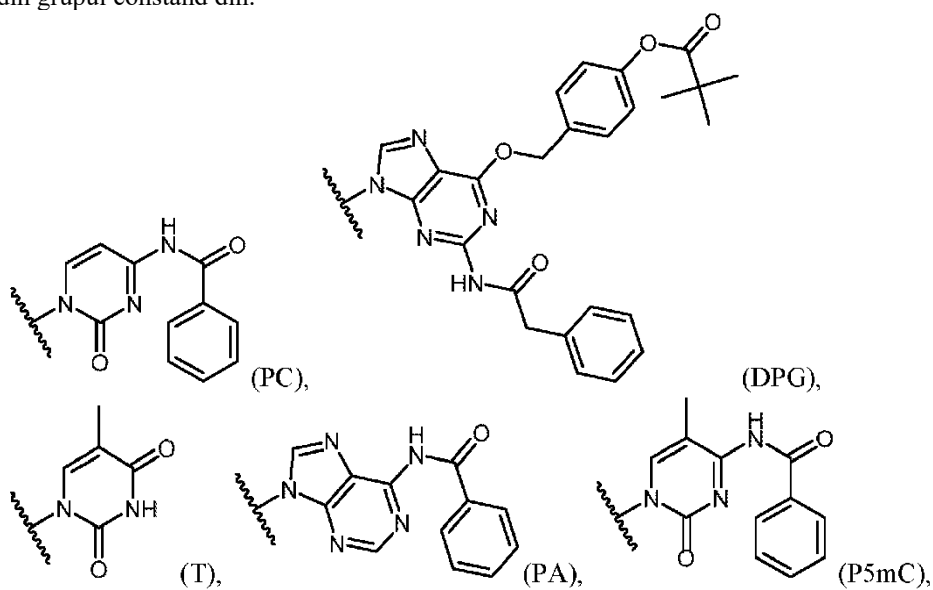


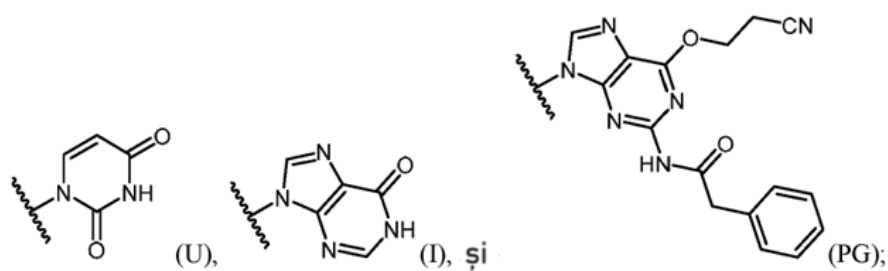
(g) punerea în contact a compusului cu Formula (A10) cu un agent de clivare pentru a forma un compus cu Formula (AII):



(A11);

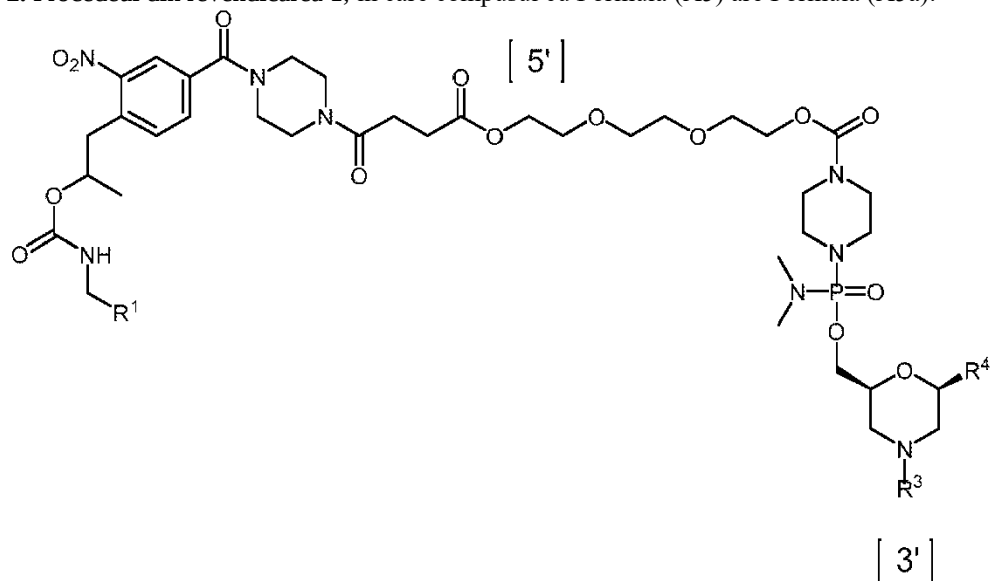
în care n este un număr întreg de la 10 până la 40, și R^4 este independent pentru fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





și
(h) punerea în contact a compusului cu Formula (A11) cu un agent de deprotejare pentru a forma un compus oligomeric cu Formula (A).

2. Procedeu din revendicarea 1, în care compusul cu Formula (A5) are Formula (A5a):

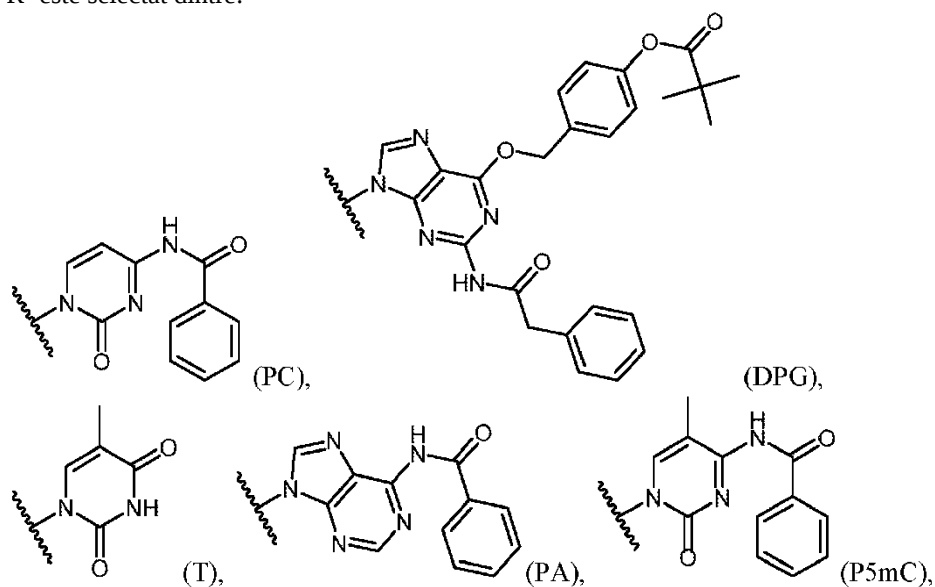


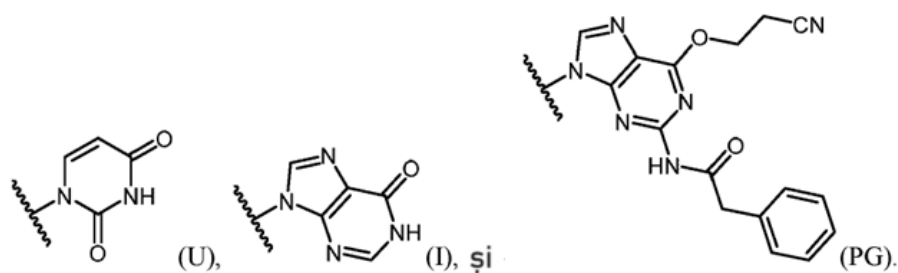
în care:

R¹ este un mediu suport;

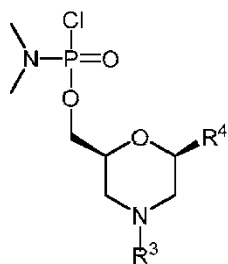
R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

R⁴ este selectat dintre:





3. Procedeul din revendicarea 1 sau revendicarea 2, în care compusul cu Formula (A8) are Formula (A8a):

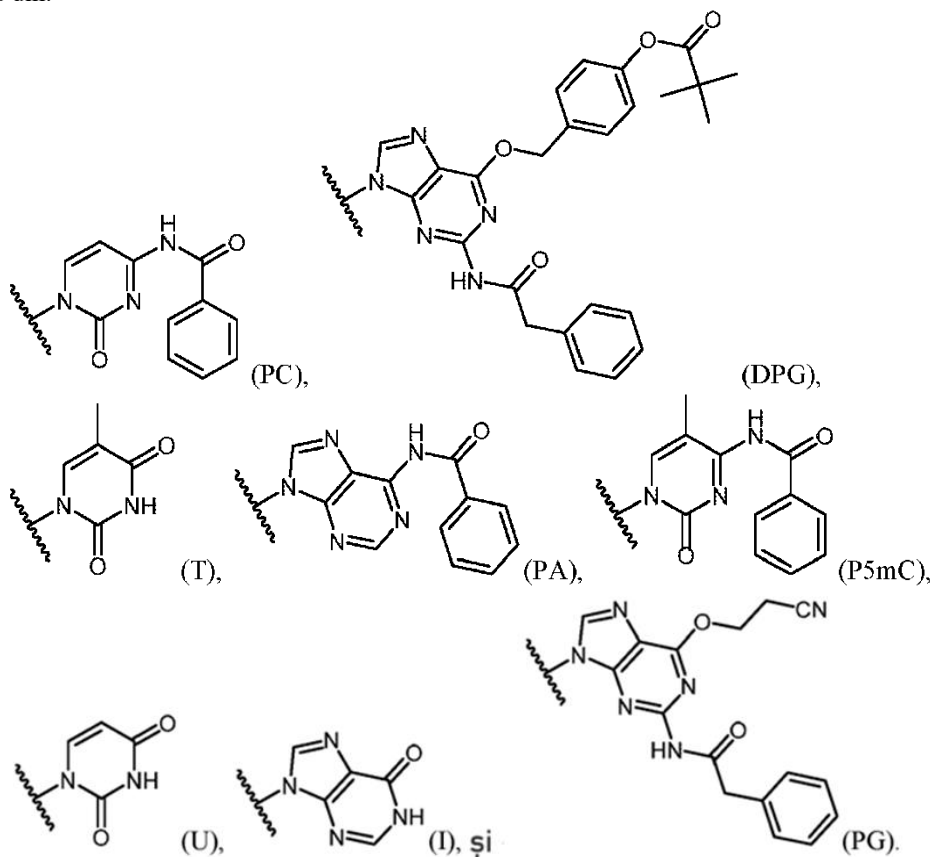


(A8a);

în care:

R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

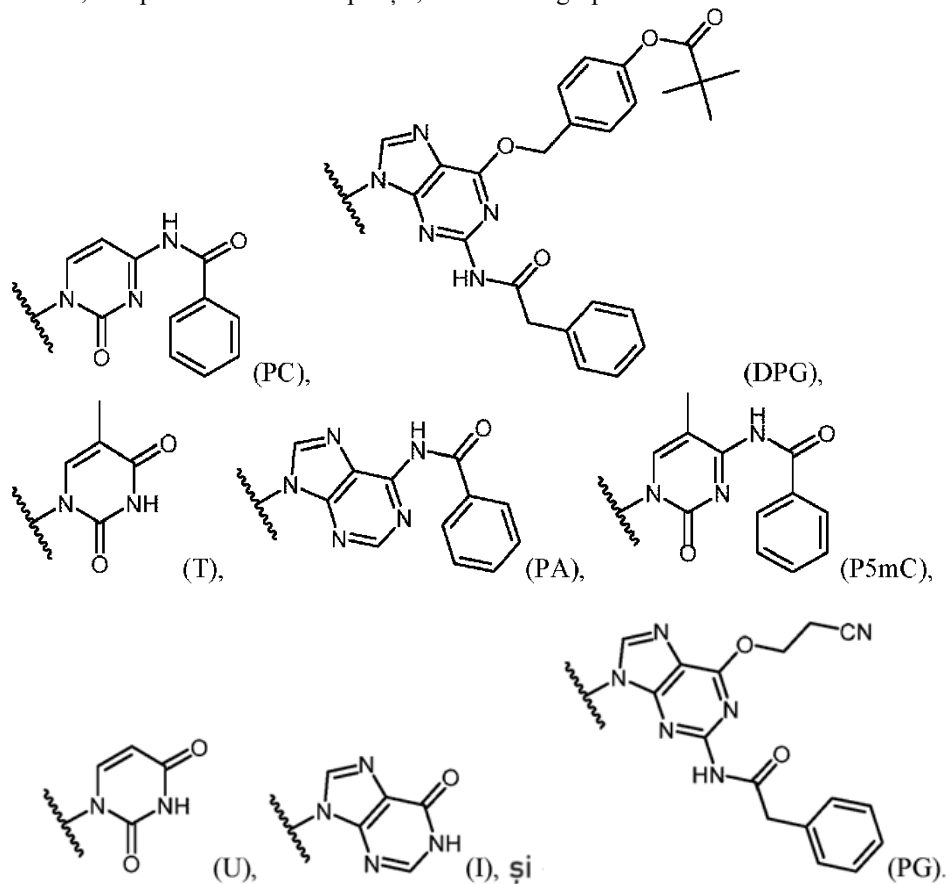
R^4 este, independent la fiecare apariție a compusului cu formula (A8a), selectat din grupul constând din:



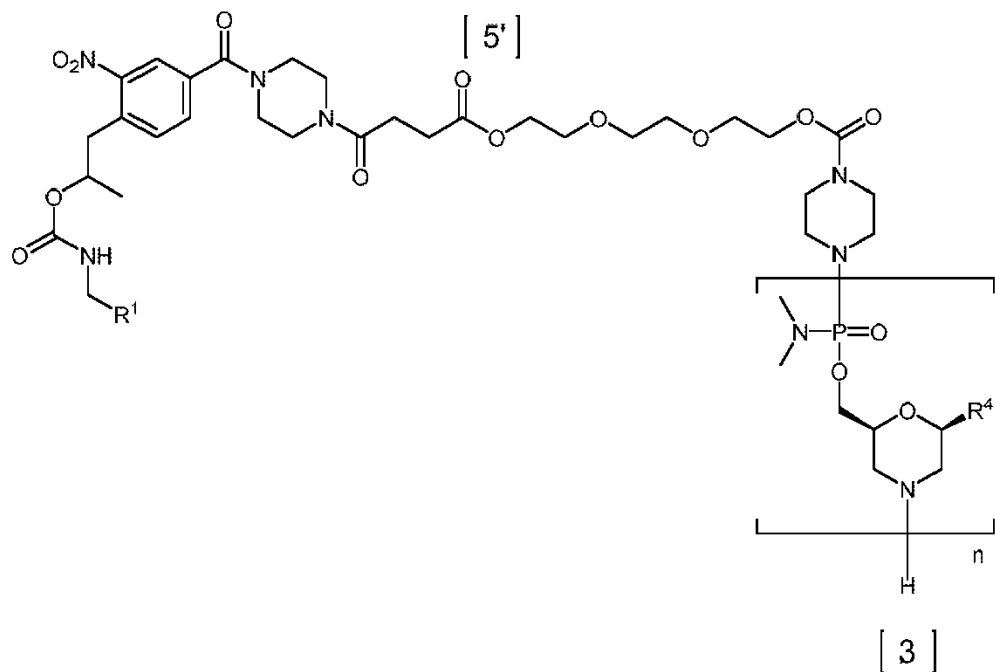
4. Procedeul din oricare din revendicările 1-3, în care compusul cu Formula (A9) are Formula (A9a):



R^4 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



5. Procedeul din oricare din revendicările 1-4, în care compusul cu Formula (A10) are Formula (A10a):



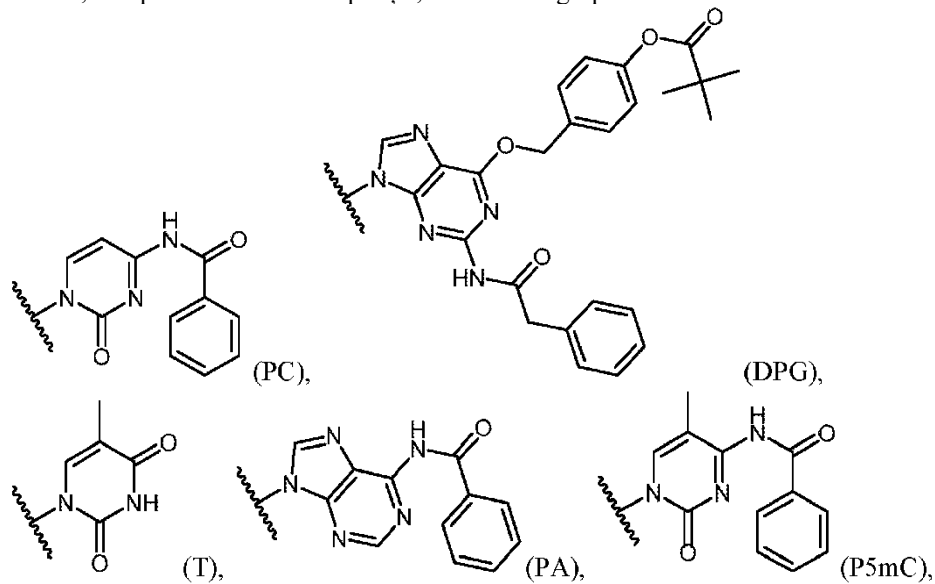
(A10a);

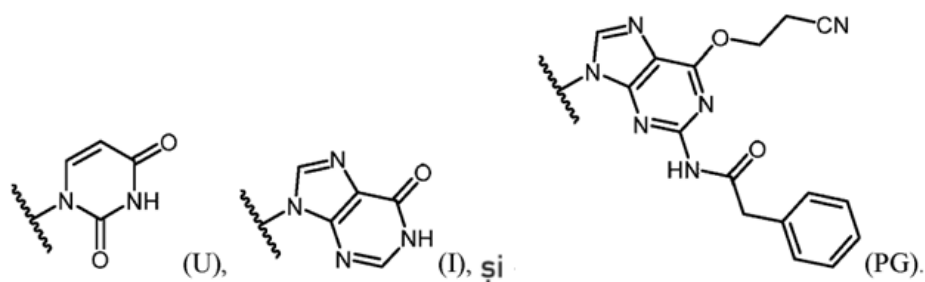
în care:

n este un întreg de la 10 până la 40,

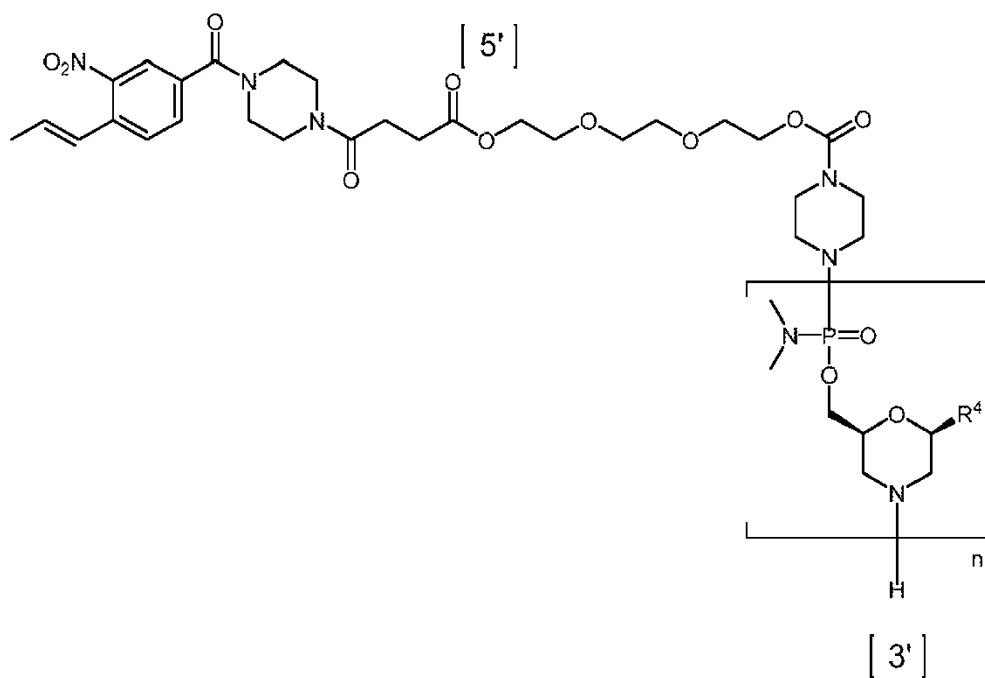
$\mathbb{R}^1$ este un mediu suport, și

R^4 este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





6. Procedul din oricare din revendicările 1-5, în care compusul cu Formula (A11) are Formula (A11a):

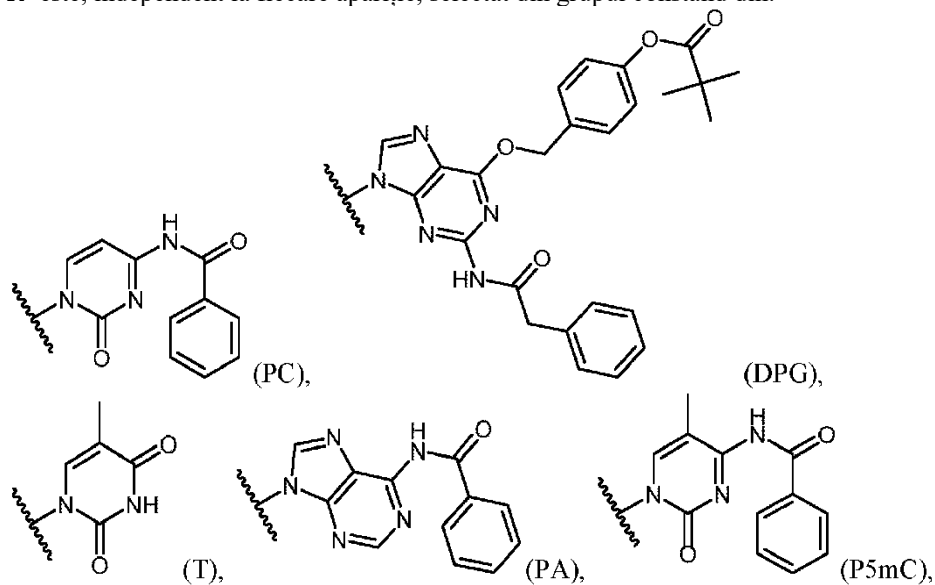


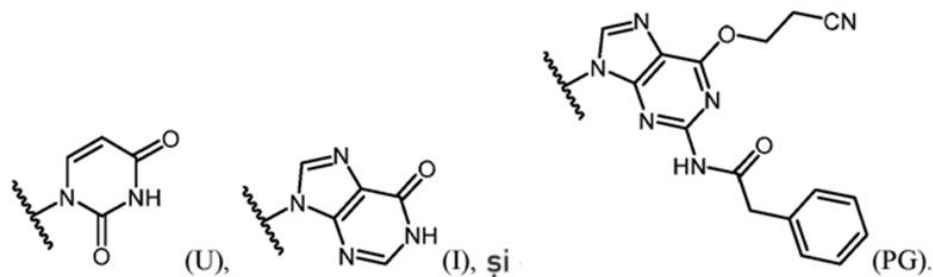
(A11a);

în care:

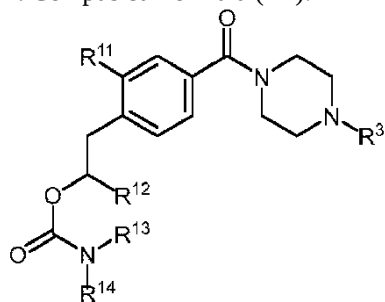
n este un întreg de la 10 până la 40, și

R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:





7. Compus cu Formula (B1):



(B1);

sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia
în care

R^{11} este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO_2 ;

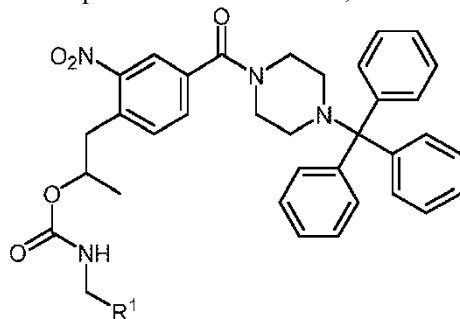
R^{12} este C_{1-6} -alchil;

R^{13} este H sau C_{1-6} -alchil; și

R^{14} este un prim linker legat de un mediu suport,

R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil.

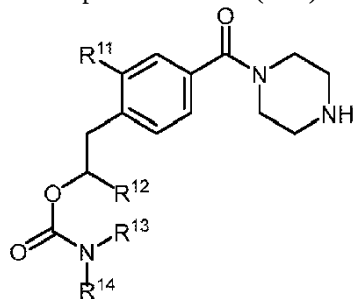
8. Compusul din revendicarea 7, în care compusul cu Formula (B1) are Formula (I):



(I),

în care R^1 este un mediu suport.

9. Compus cu Formula (II-B):



(II-B);

sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia

în care

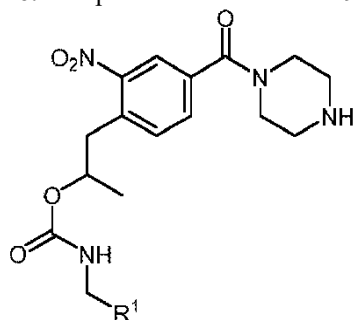
R^{11} este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO_2 ;

R^{12} este C_{1-6} -alchil;

R^{13} este H sau C_{1-6} -alchil; și

R^{14} este un prim linker legat de un mediu suport.

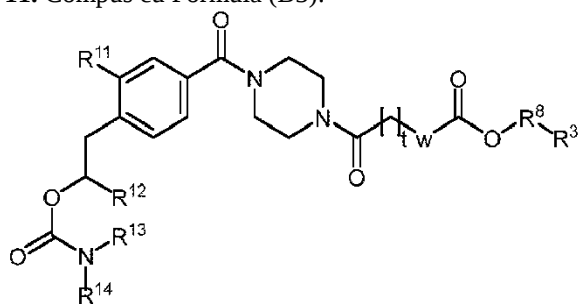
10. Compusul din revendicarea 9, în care compusul cu Formula (II-B) are Formula (II):



(II);

în care R^1 este un mediu suport.

11. Compus cu Formula (B3):



(B3);

sau o sare acceptabilă farmaceutică a acestuia

în care

w este selectat dintre O sau C;

t este 1, 2, 3, 4, sau 5;

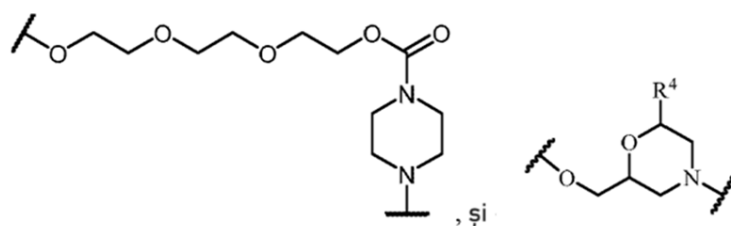
R^{11} este selectat din grupul constând din halo, CN, și NO_2 ;

R^{12} este C_{1-6} -alchil;

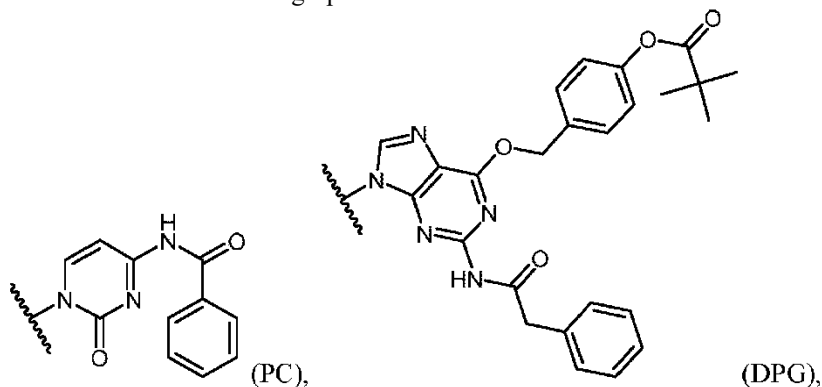
R^{13} este H sau C_{1-6} -alchil;

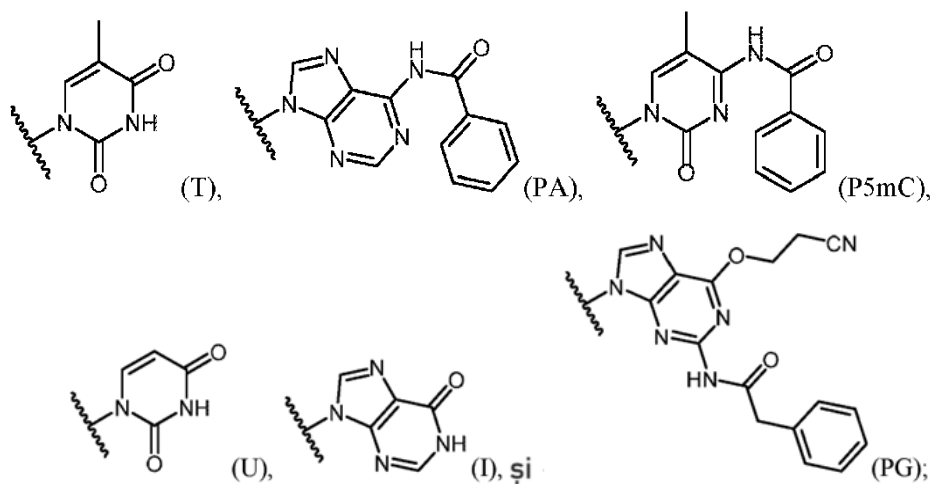
R^{14} este un prim linker legat de un mediu suport;

R^8 este selectat dintre:

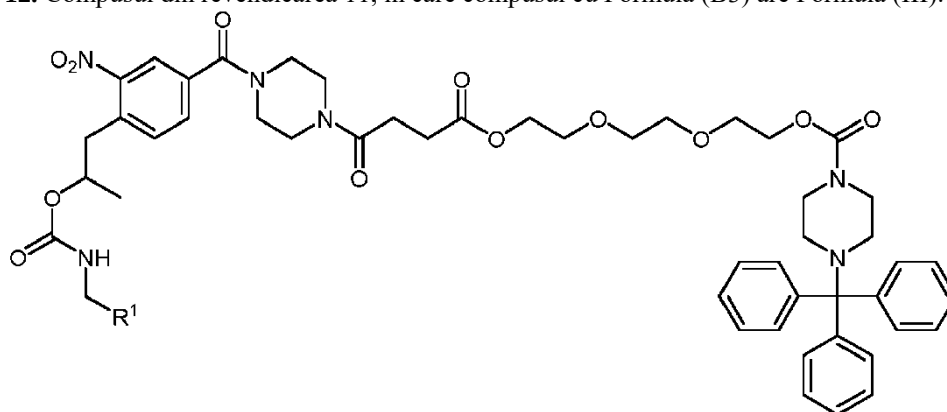


în care R^4 este selectat din grupul constând din:





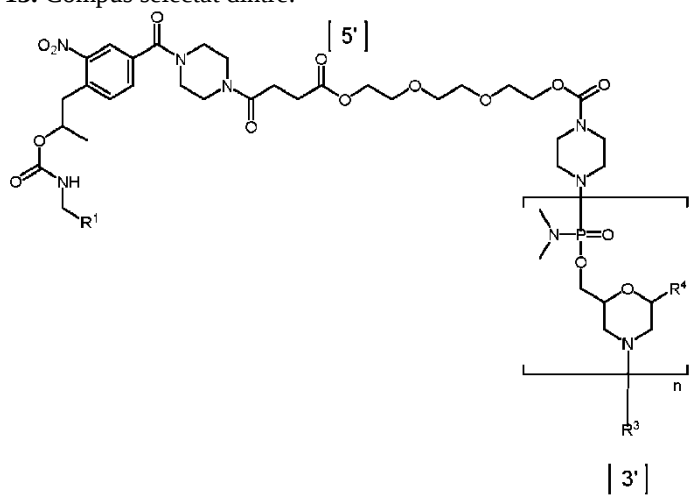
și
 R^3 este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil.
12. Compusul din revendicarea 11, în care compusul cu Formula (B3) are Formula (III):



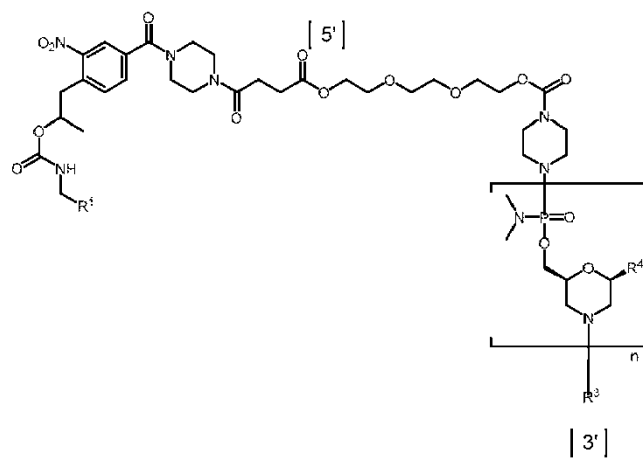
(III);

în care R^1 este un mediu suport.

13. Compus selectat dintre:



și



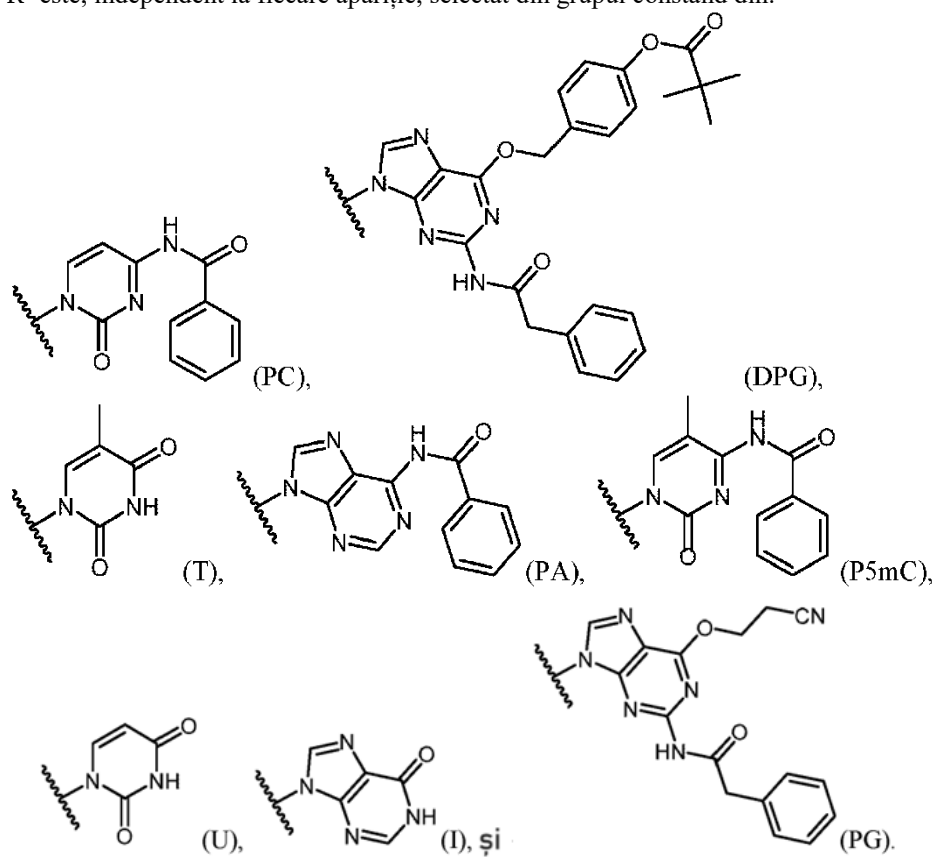
în care:

n este un întreg de la 10 până la 40;

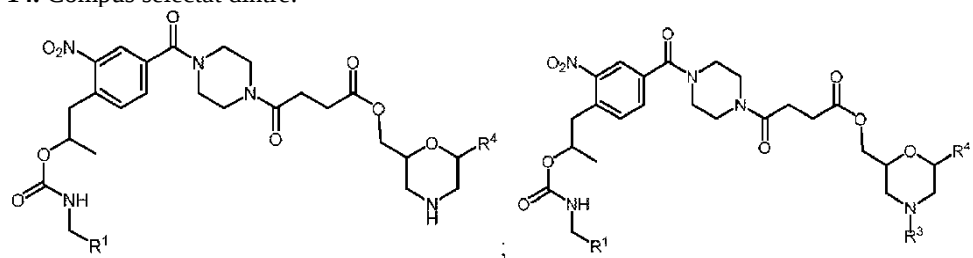
R¹ este un mediu suport;

R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

R⁴ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



14. Compus selectat dintre:



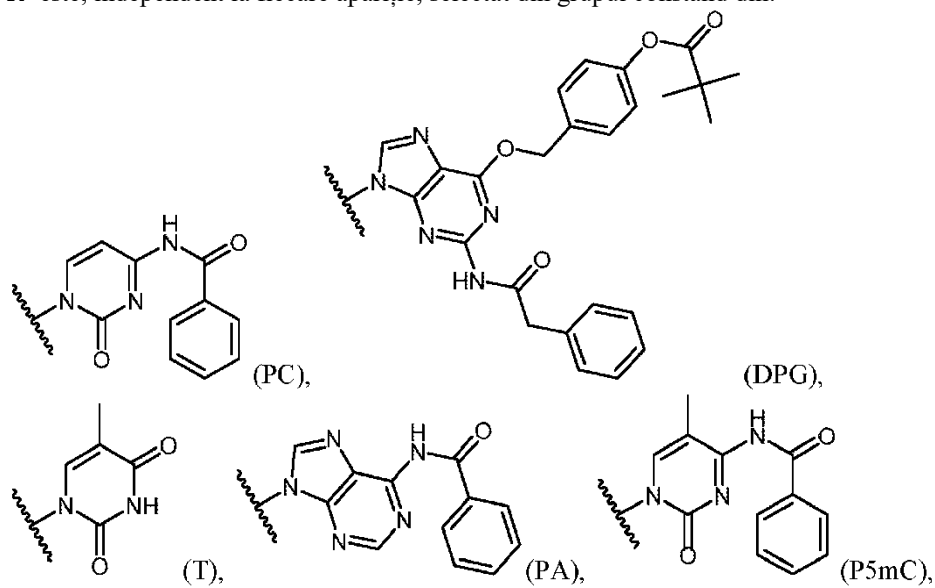


n este un întreg de la 10 până la 40;

R^1 este un mediu suport;

R³ este selectat din grupul constând din tritil, monometoxitritil, dimetoxitritil și trimetoxitritil; și

$\mathbb{R}^4$ este, independent la fiecare apariție, selectat din grupul constând din:



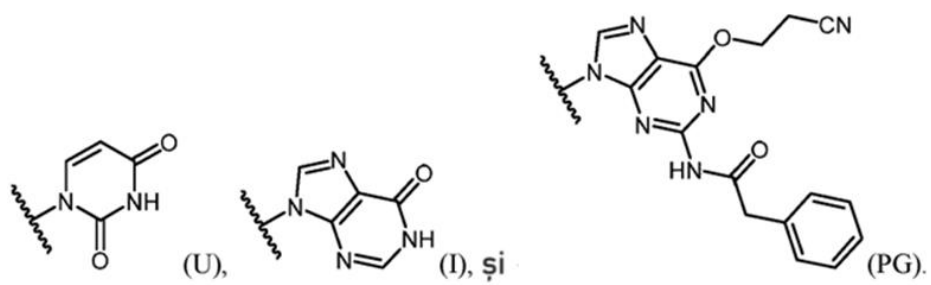


Fig. 1

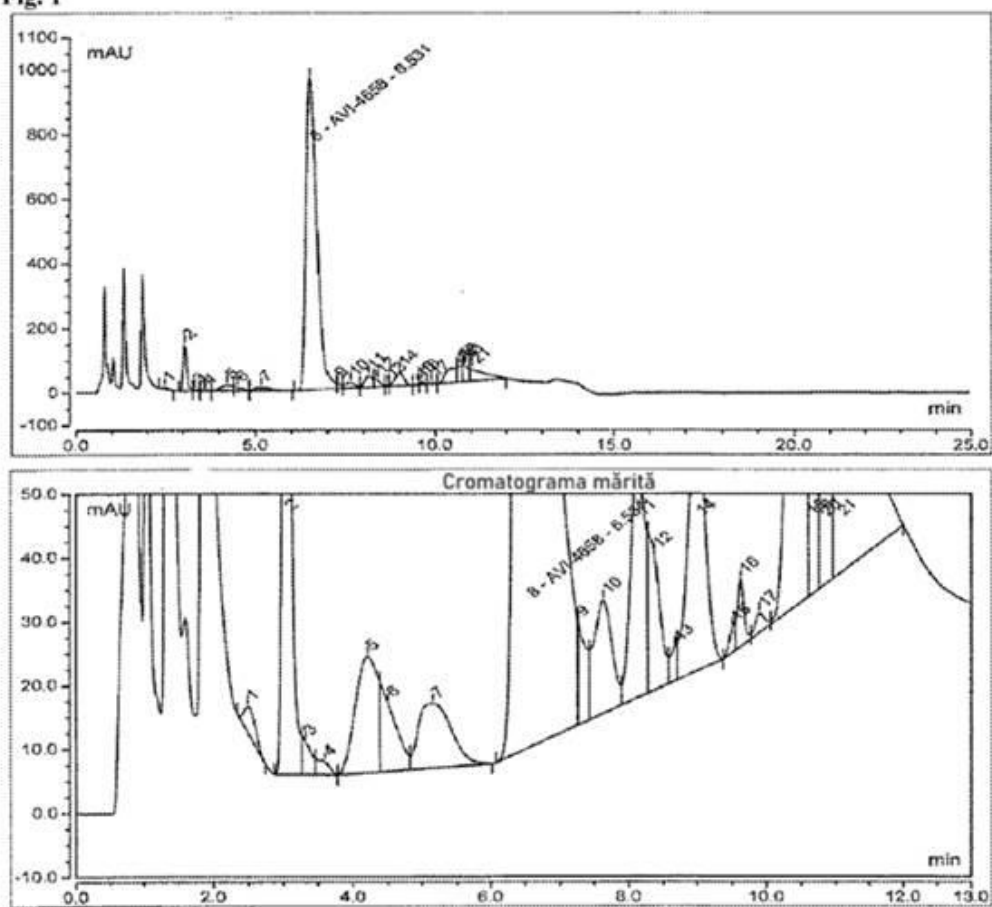


Fig. 2

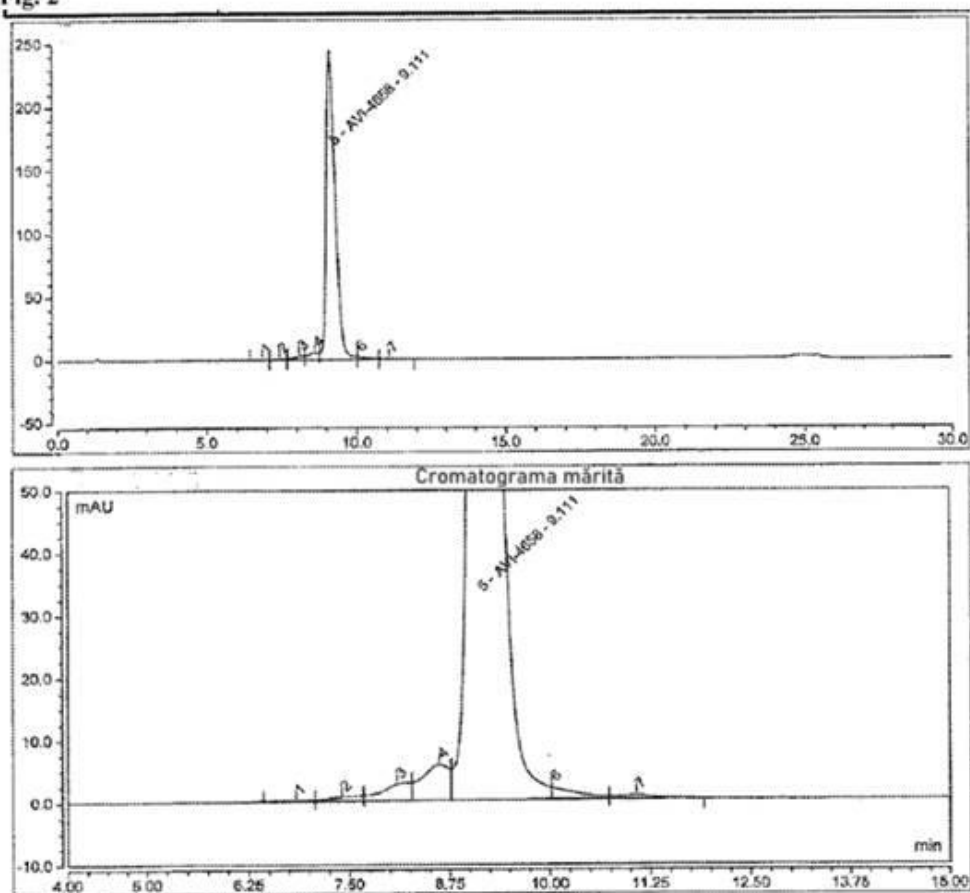


Fig. 3

