

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7564173号
(P7564173)

(45)発行日 令和6年10月8日(2024.10.8)

(24)登録日 令和6年9月30日(2024.9.30)

(51)国際特許分類	F I		
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/113	Z Z N A	
A 6 1 K 31/713 (2006.01)	A 6 1 K 31/713		
A 6 1 K 47/54 (2017.01)	A 6 1 K 47/54		
A 6 1 P 31/20 (2006.01)	A 6 1 P 31/20		
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16		
請求項の数 10 (全242頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2022-176285(P2022-176285)	(73)特許権者	513146871
(22)出願日	令和4年11月2日(2022.11.2)		アルプータス・バイオフィーマー・コー
(62)分割の表示	特願2019-555936(P2019-555936)		ポレイション
原出願日	平成30年4月10日(2018.4.10)		カナダ国 V 5 J 5 J 8 プリティッシ
(65)公開番号	特開2023-17897(P2023-17897A)		ュコロンピア州 バーナビー グレンリヨ
(43)公開日	令和5年2月7日(2023.2.7)	(74)代理人	ン パークウェイ 1 0 0 - 8 9 0 0
審査請求日	令和4年12月2日(2022.12.2)		100139723
(31)優先権主張番号	62/484,247	(74)代理人	弁理士 樋口 洋
(32)優先日	平成29年4月11日(2017.4.11)		100116540
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(72)発明者	弁理士 河野 香
(31)優先権主張番号	62/525,071		ジェイムズ ヘイズ
(32)優先日	平成29年6月26日(2017.6.26)		カナダ国 ブイ5ジェイ 5ジェイ8 ,
(33)優先権主張国・地域又は機関			プリティッシュュコロンピア , バーナビ
	最終頁に続く		ー , グレンヨン パークウェイ 8 9 0 0
			- 1 0 0
			最終頁に続く

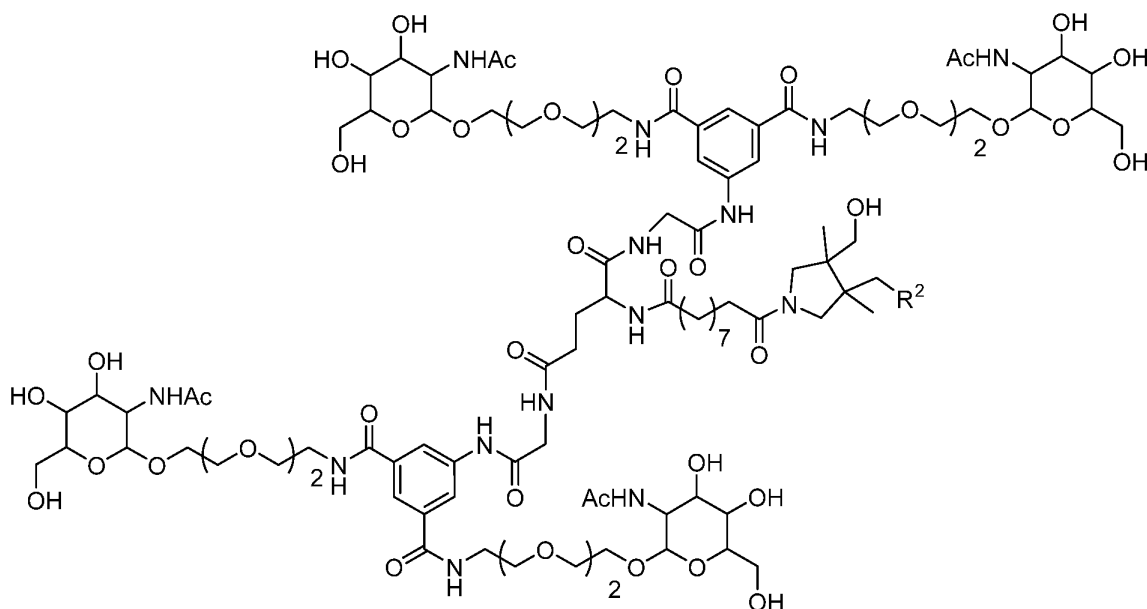
(54)【発明の名称】 標的化組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の化合物またはその塩：

【化 1】



10

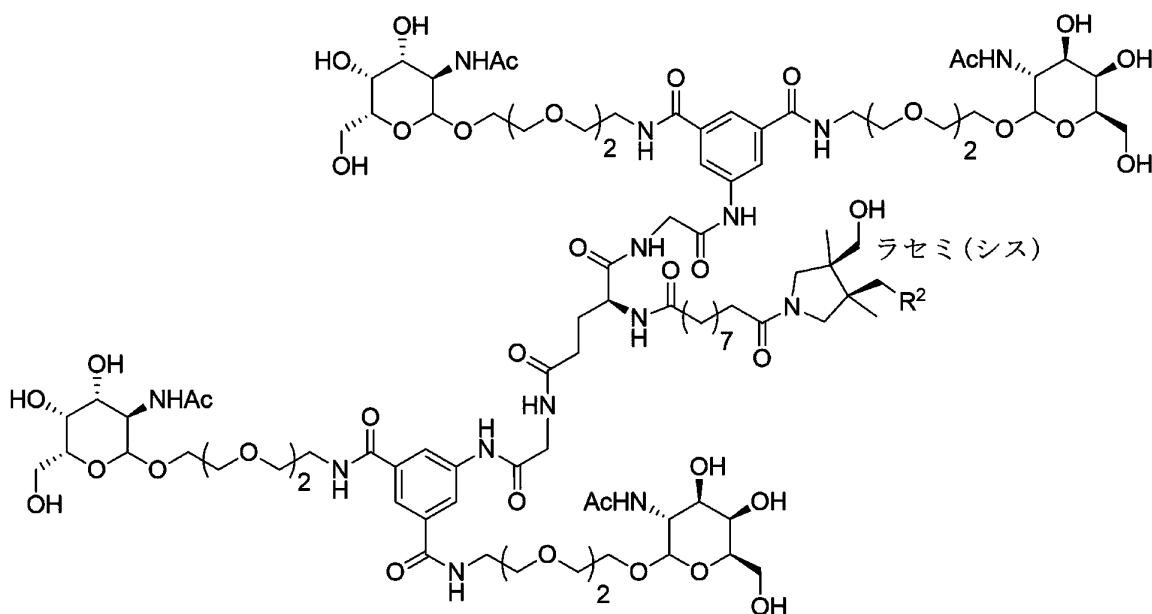
20

[式中、 R^2 は二本鎖 *s i R N A* 分子である]。

【請求項 2】

以下の式により表される、請求項 1 に記載の化合物またはその塩：

【化 2】



30

40

[式中、 R^2 は二本鎖 *s i R N A* 分子である]。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【請求項 4】

動物の肝臓に *s i R N A* を送達するための組成物であって、請求項 1 または 2 に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む、組成物。

50

【請求項 5】

動物の B 型肝炎ウイルス感染を処置するための組成物であって、請求項 1 または 2 に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む、組成物。

【請求項 6】

皮下投与される、請求項 3 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

動物における医学療法に使用するための組成物であって、請求項 1 または 2 に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む、組成物。

【請求項 8】

動物の B 型肝炎ウイルス感染の予防処置または治療処置のための組成物であって、請求項 1 または 2 に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む、組成物。

10

【請求項 9】

動物の B 型肝炎ウイルス感染を処置するための薬物を調製するための、請求項 1 または 2 に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用。

【請求項 10】

前記動物がヒトである、請求項 4 ~ 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0001】

本特許出願は、2017年6月26日に出願された米国特許出願第62/525,071号、及び2017年4月11日に出願された米国特許出願第62/484,247号に基づく優先権の利益を主張する。これらの出願は、参照により本明細書に組み込まれる。

20

【背景技術】

【0002】

例えば B 型肝炎及び非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) のようないくつかの疾患は、肝臓に特異的である。したがって、生きている対象の肝臓、腎臓、心臓、脾臓、または他の器官を主に標的とすることができる治療用組成物があれば有益であろう。

【0003】

s i R N A を含む核酸は、治療剤として有用である。

【0004】

現在、生きている対象に二本鎖 s i R N A などの治療用核酸を送達 (例えば、標的化) するために使用することができる組成物及び方法が必要とされている。

30

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明は、核酸分子 (例えば、治療用二本鎖 s i R N A 分子)、ならびにかかる核酸を (例えば肝臓に) 標的化するために使用することができる化合物、組成物、及び方法を提供する。

【0006】

したがって、一態様において本発明は、s i R N A 1 (配列番号 1 及び 2)、2 (配列番号 3 及び 4)、3 (配列番号 5 及び 6)、4 (配列番号 7 及び 8)、5 (配列番号 9 及び 10)、6 (配列番号 11 及び 12)、7 (配列番号 13 及び 14)、8 (配列番号 15 及び 16)、9 (配列番号 17 及び 18)、10 (配列番号 19 及び 20)、11 (配列番号 21 及び 22)、12 (配列番号 23 及び 24)、13 (配列番号 25 及び 26)、14 (配列番号 27 及び 28)、15 (配列番号 29 及び 30)、16 (配列番号 31 及び 32)、17 (配列番号 33 及び 34)、18 (配列番号 35 及び 36)、19 (配列番号 37 及び 38)、20 (配列番号 39 及び 40)、21 (配列番号 41 及び 42)、22 (配列番号 43 及び 44)、23 (配列番号 45 及び 46)、24 (配列番号 47 及び 48)、25 (配列番号 49 及び 50)、26 (配列番号 51 及び 52)、27 (配列番号 53 及び 54)、28 (配列番号 55 及び 56)、29 (配列番号 57 及び 58

40

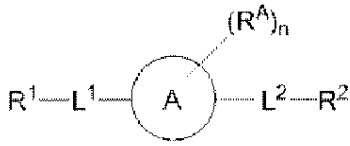
50

)、30 (配列番号59及び60)、31 (配列番号61及び62)、32 (配列番号63及び64)、33 (配列番号65及び66)、34 (配列番号67及び68)、35 (配列番号69及び70)、36 (配列番号71及び72)、及び37 (配列番号73及び74) からなる群から選択される二本鎖 siRNA 分子を提供する。

【0007】

本発明の別の態様は、式 I の化合物

【化1】



10

(I)

またはその塩を提供し、式中、

R¹ は、標的化リガンドであり、

L¹ は、存在しないか、または結合基であり、

L² は、存在しないか、または結合基であり、

R² は、表1の二本鎖 siRNA から選択される二本鎖 siRNA 分子であり、

環 A は、存在しないか、3 ~ 20 員シクロアルキル、5 ~ 20 員アリール、5 ~ 20 員ヘテロアリール、または 3 ~ 20 員ヘテロシクロアルキルであり、

20

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、-C₁₋₂アルキル-OR^B、C₁₋₁₀アルキルC₂₋₁₀アルケニル、及びC₂₋₁₀アルキニルからなる群から選択され、このC₁₋₁₀アルキルC₂₋₁₀アルケニル、及びC₂₋₁₀アルキニルは、ハロ、ヒドロキシ、及びC₁₋₃アルコキシから独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されており、

R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。

【0008】

本発明の別の態様は、本明細書に記載される siRNA のうちの1つを含む GalNAc コンジュゲートを提供し、このコンジュゲートは、本明細書に開示されるリガンド-リンカーを含むコンジュゲートに限定されない。例えば、本発明のある態様は、式 X の GalNAc コンジュゲート：

30

A - B - C

(X)

を提供し、式中、

A は標的化リガンドであり、

B は、任意選択のリンカーであり、

C は、本明細書に記載の siRNA 分子である。

【0009】

40

本明細書に記載の治療用二本鎖 siRNA、ならびにかかる siRNA を含む化合物及び組成物は、B型肝炎ウイルス及びB型肝炎ウイルス/D型肝炎ウイルスを処置するために使用され得る。

【0010】

本発明は、式 I の化合物を調製するために有用である、本明細書に開示される合成中間体及び方法も提供する。

【0011】

当業者には、以下の詳細な説明及び図面から、本発明の他の目的、特徴、及び利点が明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

50

【 0 0 1 2 】

【図 1】標的化リガンド/リンカーが固相支持体に結合しており、Pg¹が保護基DMTrである、式Ieの中間体化合物を例示する図である。

【図 2】標的化リガンドが固相支持体に結合しており、核酸が共有結合した、式Idの代表的な化合物を例示する図である。

【図 3】式Iの化合物をもたらずように、標的化リガンド-核酸コンジュゲートが固相支持体から切断され、脱保護されている、式Idの代表的な化合物を例示する図である。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 1 3 】

図、実施例、及びスキームを含め、本出願において、オリゴヌクレオチドは、表 1 に記載の二本鎖 siRNA 分子であり得ることを理解されたい。

10

【 0 0 1 4 】

本明細書で使用される場合、以下の用語は、別段の定めがない限り、それらに帰せられる意味を有する。

【 0 0 1 5 】

本明細書で使用される「コンジュゲート」という用語は、標的化リガンドに結合したオリゴヌクレオチド（例えば、siRNA 分子）を含む式（I）の化合物を含む。したがって、化合物及びコンジュゲートという用語は、本明細書では交換可能に使用され得る。

【 0 0 1 6 】

本明細書で使用される「低分子干渉 RNA」または「siRNA」という用語は、siRNA が標的遺伝子または配列と同じ細胞内にあるとき、（例えば、siRNA 配列と相補的な mRNA の分解を媒介するか、またはその翻訳を阻害することによって）標的遺伝子または配列の発現を低減または阻害することができる二本鎖 RNA（すなわち、二重鎖 RNA）を指す。siRNA は、標的遺伝子または配列と実質的もしくは完全な同一性を有する場合もあれば、または mismatches の領域（すなわち、mismatches motif）を含む場合もある。ある特定の実施形態において、siRNA は、約 19 ~ 25（二重鎖）ヌクレオチド長であってよく、好ましくは、約 20 ~ 24、21 ~ 22、または 21 ~ 23（二重鎖）ヌクレオチド長である。siRNA 二重鎖は、約 1 ~ 約 4 ヌクレオチドまたは約 2 ~ 約 3 ヌクレオチドの 3' オーバーハング、及び 5' リン酸末端を含み得る。siRNA の例としては、限定されるものではないが、一方の鎖がセンス鎖であり、他方が相補的なアンチセンス鎖である、2 本の別々の鎖状分子から構築された二本鎖ポリヌクレオチド分子が挙げられる。

20

30

【 0 0 1 7 】

ある特定の実施形態において、siRNA の一方または両方の鎖の 5' 及び/または 3' オーバーハングは、1 ~ 4 つ（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の修飾及び/または未修飾デオキシチミジン（t または dT）ヌクレオチド、1 ~ 4 つ（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の修飾（例えば、2' OMe）及び/または未修飾ウリジン（U）リボヌクレオチド、及び/または、標的配列（例えば、アンチセンス鎖の 3' オーバーハング）もしくはその相補鎖（例えば、センス鎖の 3' オーバーハング）との相補性を有する 1 ~ 4 つ（例えば、1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の修飾（例えば、2' OMe）及び/または未修飾リボヌクレオチドもしくはデオキシリボヌクレオチドを含む。

40

【 0 0 1 8 】

好ましくは、siRNA は化学合成される。siRNA は、より長い dsRNA（例えば、約 25 ヌクレオチドを超える長さの dsRNA）を E. coli RNase III またはダイサーで切断することによって生成することもできる。これらの酵素は、dsRNA をプロセシングして、生物活性のある siRNA にする（例えば、Yang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99: 9942 - 9947 (2002)、Calegari et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99: 14236 (2002)、Byrom et al., Ambion Tech Notes, 10(1): 4 - 6 (2003)、Kawasaki et al., Nu

50

cleic Acids Res., 31:981-987(2003)、Knight et al., Science, 293:2269-2271(2001)、及び Robertson et al., J. Biol. Chem., 243:82(1968)を参照されたい)。好ましくは、dsRNAは、少なくとも50ヌクレオチド~約100、200、300、400、または500ヌクレオチドの長さである。dsRNAは、1000、1500、2000、5000ヌクレオチド長ほどの長さ、またはこれを超える長さであってもよい。dsRNAは、遺伝子転写物の全体または部分的な遺伝子転写物をコードし得る。ある特定の事例では、siRNAは、プラスミドによってコードされる(例えば、ヘアピンループを有する二重鎖に自動的にフォールディングする配列として転写される)場合がある。

10

【0019】

「標的遺伝子の発現を阻害する」という表現は、標的遺伝子の発現をサイレンシング、低減、または阻害する本発明のsiRNAの能力を指す。遺伝子サイレンシングの程度を検査するためには、標的遺伝子の発現をサイレンシング、低減、または阻害するsiRNAに、試験試料(例えば、標的遺伝子を発現する目的の生物から得た生体試料、または標的遺伝子を発現する培養細胞の試料)を接触させる。この試験試料中の標的遺伝子の発現を、siRNAに接触させていない対照試料(例えば、標的遺伝子を発現する目的の生物から得た生体試料、または標的遺伝子を発現する培養細胞の試料)中の標的遺伝子の発現と比較する。対照試料(例えば、標的遺伝子を発現する試料)には、100%の値を割り当てることができる。特定の実施形態では、対照試料(例えば、バッファーのみ、異なる遺伝子を標的とするsiRNA配列、スクランブルsiRNA配列など)に対して、試験試料の値が、約100%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%、79%、78%、77%、76%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、または0%であるとき、標的遺伝子の発現のサイレンシング、阻害、または低減が達成される。好適なアッセイとしては、限定されるものではないが、例えば、ドットプロット、ノーザンプロット、インサイトハイブリダイゼーション、ELISA、免疫沈降、酵素機能などの当業者に公知の技術を使用したタンパク質またはmRNAレベルの検査、ならびに当業者に公知の表現型アッセイが挙げられる。

20

30

【0020】

「合成活性化基」という用語は、原子に結合し、その原子を活性化して別の反応基と共有結合を形成させることができる基を指す。合成活性化基の性質は、それが活性化させている原子に左右され得ることが理解される。例えば、合成活性化基が酸素原子に結合している場合、合成活性化基は、その酸素原子を活性化して、別の反応基と結合(例えば、エステル結合、カルバメート結合、またはエーテル結合)を形成させる基である。そのような合成活性化基は公知である。酸素原子に結合し得る合成活性化基の例としては、アセテート、サクシネート、トリフェート、及びメシレートが挙げられるが、これらに限定されない。合成活性化基がカルボン酸の酸素原子に結合している場合、合成活性化基は、公知のカップリング試薬(例えば、公知のアミドカップリング試薬)から誘導される基であり得る。そのようなカップリング試薬は公知である。そのようなカップリング試薬の例としては、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBt)、N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカーボネート(EDC)、(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリス(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(BOP)、ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(PyBOP)、またはO-ベンゾトリアゾール-1-イル-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HBTU)が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0021】

siRNAなどの治療用核酸の「有効量」または「治療有効量」とは、所望の効果、例

50

例えば、*siRNA*の非存在下で検出される通常の発現レベルと比較した、標的配列の発現の阻害をもたらすのに十分な量である。特定の実施形態では、対照（例えば、バッファーのみ、異なる遺伝子を標的とする*siRNA*配列、スクランブル*siRNA*配列など）に対して、*siRNA*で得られる値が、約100%、99%、98%、97%、96%、95%、94%、93%、92%、91%、90%、89%、88%、87%、86%、85%、84%、83%、82%、81%、80%、79%、78%、77%、76%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、または0%であるとき、標的遺伝子または標的配列の発現の阻害が達成される。標的遺伝子または標的配列の発現を測定するために好適なアッセイとしては、例えば、ドットプロット、ノーザンプロット、インサイツハイブリダイゼーション、ELISA、免疫沈降、酵素機能などの当業者に公知の技術を使用したタンパク質または*mRNA*レベルの検査、ならびに当業者に公知の表現型アッセイが挙げられるが、これらに限定されない。

【0022】

本明細書で使用される「核酸」という用語は、一本鎖または二本鎖のいずれかの形態で、少なくとも2つのヌクレオチド（すなわち、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド）を含有するポリマーを指し、DNA及びRNAを含む。「ヌクレオチド」は、糖のデオキシリボース（DNA）またはリボース（RNA）、塩基、及びリン酸基を含有する。ヌクレオチドは、リン酸基を介してひとつに結合する。「塩基」にはプリン及びピリミジンが含まれ、これらには、プリン及びピリミジンの天然化合物であるアデニン、チミン、グアニン、シトシン、ウラシル、イノシン、及び天然類似体、ならびに合成誘導体が更に含まれ、合成誘導体は、例えばアミン、アルコール、チオール、カルボキシレート、及びハロゲン化アルキルなどだがこれらに限定されない新しい反応基を配置する修飾を含むが、これに限定されない。核酸には、合成のもの、天然に存在するもの、及び天然に存在しないものであり、かつ参照核酸と同様の結合特性を有する、公知のヌクレオチド類似体または修飾された骨格残基もしくは結合を含有する核酸が含まれる。そのような類似体及び/または修飾残基の例としては、限定されるものではないが、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラル-メチルホスホネート、2'-O-メチルリボヌクレオチド、及びペプチド核酸（PNA）が挙げられる。更に、核酸は、1つ以上のUNA部分を含み得る。

【0023】

「核酸」という用語には、任意のオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドが含まれ、最大60個のヌクレオチドを含有する断片は一般的にオリゴヌクレオチドと称され、より長い断片はポリヌクレオチドと称される。デオキシリボオリゴヌクレオチドは、デオキシリボースと呼ばれる5炭素糖が、この糖の5'炭素及び3'炭素でリン酸と共有結合して、交互の非分枝状ポリマーを形成したもものからなる。DNAは、例えば、アンチセンス分子、プラスミドDNA、予め凝縮されたDNA、PCR産物、ベクター、発現カセット、キメラ配列、染色体DNA、またはこれらの群の誘導体及び組み合わせの形態であってよい。リボオリゴヌクレオチドは、5炭素糖がリボースである同様の反復構造からなる。RNAは、例えば、低分子干渉RNA（*siRNA*）、ダイサー基質*dsRNA*、低分子ヘアピンRNA（*shRNA*）、非対称干渉RNA（*aiRNA*）、マイクロRNA（*miRNA*）、*mRNA*、*tRNA*、*rRNA*、*tRNA*、ウイルスRNA（*vRNA*）、及びそれらの組み合わせの形態であり得る。したがって、本発明との関連において、「ポリヌクレオチド」及び「オリゴヌクレオチド」という用語は、天然に存在する塩基、糖、及び糖間（骨格）結合からなるヌクレオチドまたはヌクレオシドモノマーのポリマーまたはオリゴマーを指す。「ポリヌクレオチド」及び「オリゴヌクレオチド」という用語には、同様に機能する天然に存在しないモノマーまたはその一部分を含むポリマーまたはオリゴマーも含まれる。そのような修飾または置換されたオリゴヌクレオチドは、例えば、増強された細胞取り込み、低減した免疫原性、及びヌクレアーゼの存在下における増加した安定性などの特性を理由として、天然型よりも好ましいことが多い。

【0024】

別段の記載がない限り、特定の核酸配列は、明示される配列だけでなく、その保存的に修飾された変異体（例えば、縮重コドン置換）、対立遺伝子、オルソログ、SNP、及び相補配列を暗に包含する。特に、縮重コドン置換は、1つ以上の選択された（または全ての）コドンの第3位が混合塩基及び/またはデオキシイノシン残基で置換されている配列を生成することにより達成され得る（Batzer et al., *Nucleic Acid Res.*, 19:5081 (1991)、Ohtsuka et al., *J. Biol. Chem.*, 260:2605-2608 (1985)、Rossolini et al., *Mol. Cell. Probes*, 8:91-98 (1994)）。

【0025】

「遺伝子」という用語は、ポリペプチドまたは前駆体ポリペプチドの産生に必要な部分長または全長のコード配列を含む核酸（例えば、DNAまたはRNA）配列を指す。

【0026】

本明細書で使用される「遺伝子産物」とは、RNA転写物またはポリペプチドなどの遺伝子の産物を指す。

【0027】

本明細書で使用される「アルキル」という用語は、別段の記載がない限り、単独で、または別の置換基の一部として、指定された数の炭素原子を有する（すなわち、 C_{1-8} は炭素数1~8を意味する）直鎖または分枝鎖の炭化水素基を意味する。アルキル基の例としては、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、*t*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*n*-ペンチル、*n*-ヘキシル、*n*-ヘプチル、*n*-オクチルなどが挙げられる。「アルケニル」という用語は、1つ以上の二重結合を有する不飽和アルキル基を指す。同様に、「アルキニル」という用語は、1つ以上の三重結合を有する不飽和アルキル基を指す。そのような不飽和アルキル基の例としては、ビニル、2-プロペニル、クロチル、2-イソペンテニル、2-(ブタジエニル)、2,4-ペンタジエニル、3-(1,4-ペンタジエニル)、エチニル、1-プロピニル及び3-プロピニル、3-ブチニル、ならびに高級同族体及び異性体が挙げられる。

【0028】

「アルキレン」という用語は、単独で、または別の置換基の一部として、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 及び $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ によって例示されるような、アルカン（直鎖状アルカン及び分枝状アルカンを含む）に由来する二価基を意味する。

【0029】

「シクロアルキル」、「炭素環式」、または「炭素環」という用語は、全環原子数が3~20の炭化水素環系を指し（例えば、3~20員シクロアルキルは、環原子数3~20のシクロアルキルであり、または C_{3-20} シクロアルキルは、炭素環原子数3~20のシクロアルキルである）、3~5員シクロアルキルの場合、完全に飽和しているか、または環頂点間に1つを超える二重結合を有しないものであり、6員以上のシクロアルキルの場合、完全に飽和しているか、または環の頂点間に2つを超える二重結合を有しないものである。本明細書で使用される場合、「シクロアルキル」、「炭素環式」、または「炭素環」とは、例えば、ビスクロ[2.2.1]ヘプタン、ピナン、ビスクロ[2.2.2]オクタン、アダマンタン、ノルボルネン、スピロ環式 C_{5-12} アルカンなどの、二環式、多環式、及びスピロ環式の炭化水素環系を指すことも意図される。本明細書で使用される場合、「アルケニル」、「アルキニル」、「シクロアルキル」、「炭素環」、及び「炭素環式」という用語は、それらのモノハロゲン化変異体及びポリハロゲン化変異体を含むよう意図される。

【0030】

「ヘテロシクロアルキル」、「複素環式」、または「複素環」という用語は、環原子として、N、O、及びSから選択される1~10個のヘテロ原子を含有する、全環原子数が3~20の飽和または部分的に不飽和の環系基を指し（例えば、3~20員ヘテロシクロアルキルは、環原子数3~20のヘテロシクロアルキル基であり、 C_{2-19} ヘテロシクロ

10

20

30

40

50

アルキルは、環原子数 3 ~ 10 であり、2 ~ 19 個の環原子が炭素であるヘテロシクロアルキルである)、ここで、窒素原子及び硫黄原子は、場合により酸化されており、窒素原子(複数可)は、場合により四級化されている。別段の記載がない限り、「ヘテロシクロアルキル」、「複素環式」、または「複素環」の環は、単環式、二環式、スピロ環式、または多環式の環系であり得る。「ヘテロシクロアルキル」、「複素環式」、または「複素環」の環の非限定的な例としては、ピロリジン、ピペリジン、N-メチルピペリジン、イミダゾリジン、ピラゾリジン、ブチロラクタム、バレロラクタム、イミダゾリジノン、ヒダントイン、ジオキソラン、フタルイミド、ピペリジン、ピリミジン-2,4(1H,3H)-ジオン、1,4-ジオキサン、モルホリン、チオモルホリン、チオモルホリン-S-オキシド、チオモルホリン-S,S-オキシド、ピペラジン、ピラン、ピリドン、3-ピロリン、チオピラン、ピロン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロチオフエン、キヌクリジン、トロパン、2-アザスピロ[3.3]ヘプタン、(1R,5S)-3-アザビシクロ[3.2.1]オクタン、(1s,4s)-2-アザビシクロ[2.2.2]オクタン、(1R,4R)-2-オキサ-5-アザビシクロ[2.2.2]オクタンなどが挙げられる。「ヘテロシクロアルキル」、「複素環式」、または「複素環」基は、1つ以上の環炭素またはヘテロ原子を介して分子の残部に結合することができる。「ヘテロシクロアルキル」、「複素環式」、または「複素環」は、それらのモノハロゲン化変異体及びポリハロゲン化変異体を含み得る。

10

【0031】

「アルコキシ」及び「アルキルチオ」という用語は、それらの従来的な意味で使用され、酸素原子(「オキシ」)またはチオ基を介して分子の残部に結合したアルキル基を指し、それらのモノハロゲン化変異体及びポリハロゲン化変異体を更に含む。

20

【0032】

「ハロ」または「ハロゲン」という用語は、単独で、または別の置換基の一部として、別段の記載がない限り、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、またはヨウ素原子を意味する。「(ハロ)アルキル」という用語は、「アルキル」置換基及び「ハロアルキル」置換基の両方を含むよう意図される。更に、「ハロアルキル」という用語は、モノハロアルキル及びポリハロアルキルを含むよう意図される。例えば、「C₁₋₄ハロアルキル」という用語は、トリフルオロメチル、2,2,2-トリフルオロエチル、4-クロロブチル、3-ブromoプロピル、ジフルオロメチルなどを含むよう意図される。

30

【0033】

「アリール」という用語は、1つ以上の基に縮合しているか否かを問わず、6~14個の炭素原子を有する炭素環式の芳香族基を意味する。アリール基の例としては、別段の記載がない限り、フェニル、ナフチル、ピフェニルなどが挙げられる。

【0034】

「ヘテロアリール」という用語は、N、O、及びSから選択される1~5個のヘテロ原子を含有するアリール環(複数可)を指し、ここで、窒素原子及び硫黄原子は、場合により酸化されており、窒素原子(複数可)は、場合により四級化されている。ヘテロアリール基は、ヘテロ原子を介して分子の残部に結合することができる。ヘテロアリール基の例としては、ピリジル、ピリダジニル、ピラジニル、ピリミジニル、トリアジニル、キノリニル、キノキサリニル、キナゾリニル、シンノリニル、フタラジニル、ベンゾトリアジニル、プリニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾピラゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾイソキサゾリル、イソベンゾフリル、イソインドリル、インドリジニル、ベンゾトリアジニル、チエノピリジニル、チエノピリミジニル、ピラゾロピリミジニル、イミダゾピリジン、ベンゾチアキソリル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、インドリル、キノリル、イソキノリル、イソチアゾリル、ピラゾリル、インダゾリル、プテリジニル、イミダゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアジアゾリル、ピロリル、チアゾリル、フリル、チエニルなどが挙げられる。

40

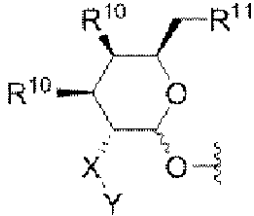
【0035】

糖類という用語には、単糖、二糖、及び三糖が含まれる。この用語には、グルコース、

50

スクロース、フルクトース、ガラクトース、及びリボース、ならびにデオキシリボースなどのデオキシ糖及びガラクトサミンなどのアミノ糖が含まれる。糖類誘導体は、好都合なことに、国際特許出願公開第WO96/34005号及び同第97/03995号に記載されるように調製することができる。糖類は、好都合に、エーテル結合、チオエーテル結合（例えばS-グリコシド）、アミン窒素（例えばN-グリコシド）、または炭素間結合（例えばC-グリコシド）を介して、式Iの化合物の残部に結合することができる。一実施形態において、糖類は、好都合に、エーテル結合を介して式Iの化合物の残部に結合することができる。一実施形態において、糖類という用語は、次式：

【化2】



10

の基を含み、式中、

XはNR³であり、Yは、-(C=O)R⁴、-SO₂R⁵、及び-(C=O)NR⁶R⁷から選択されるか、またはXは-(C=O)-であり、YはNR⁸R⁹であり、

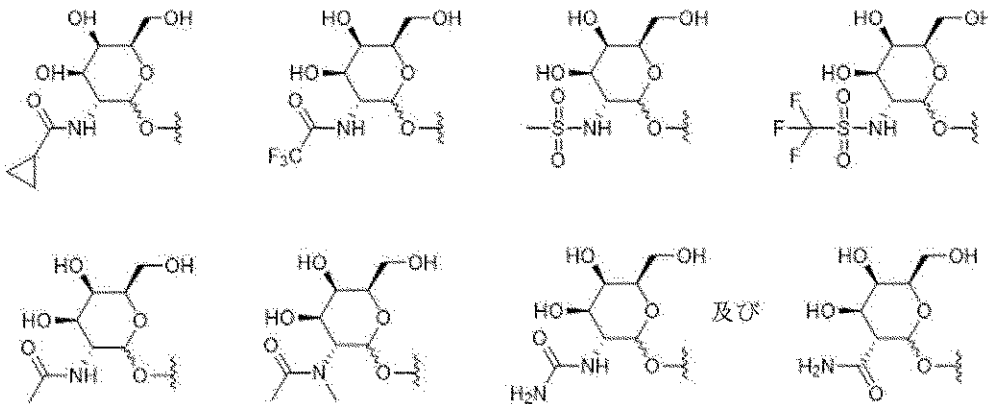
R³は、水素または(C₁~C₄)アルキルであり、

R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、及びR⁹は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₁~C₈)ハロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、ならびにハロ、(C₁~C₄)アルキル、(C₁~C₄)ハロアルキル、(C₁~C₄)アルコキシ、及び(C₁~C₄)ハロアルコキシからなる群から独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている(C₃~C₆)シクロアルキルからなる群から選択され、

R¹⁰は、-OH、-NR⁸R⁹、または-Fであり、

R¹¹は、-OH、-NR⁸R⁹、-F、またはハロ、ヒドロキシル、カルボキシル、アミノ、(C₁~C₄)アルキル、(C₁~C₄)ハロアルキル、(C₁~C₄)アルコキシ、及び(C₁~C₄)ハロアルコキシからなる群から独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている5員複素環である。別の実施形態では、糖類は、

【化3】



40

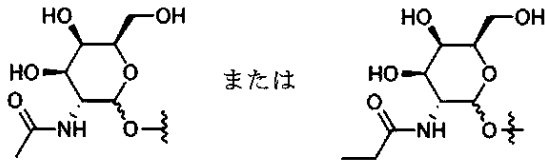
からなる群から選択することができる。

【0036】

別の実施形態では、糖類は、

50

【化 4】



N-アセチルガラクトサミン (GalNAc)

GalPro

であってよい。

【0037】

「動物」という用語には、ヒト、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ハムスター、モルモット、ウサギ、家畜などの哺乳動物種が含まれる。

【0038】

「脂質」という用語は、脂肪酸のエステルを含むがこれに限定されず、水に不溶であるが多くの有機溶媒に溶解することを特徴とする有機化合物の群を指す。脂質は通常、(1) 脂肪及び油ならびにワックスを含む「単純脂質」、(2) リン脂質及び糖脂質を含む「複合脂質」、及び(3) ステロイドなどの「誘導脂質」という少なくとも3つのクラスに分けられる。

【0039】

「脂質粒子」という用語には、治療用核酸(例えば、siRNA)を目的の標的部位(例えば、細胞、組織、器官など)に送達するために使用することができる脂質製剤が含まれる。好ましい実施形態において、本発明の脂質粒子は核酸-脂質粒子であり、これは典型的には、カチオン性脂質と、非カチオン性脂質(例えばリン脂質)と、粒子の凝集を防止するコンジュゲート脂質(例えばPEG-脂質)と、場合によりコレステロールとから形成される。典型的には、治療用核酸(例えば、siRNA)は、酵素分解から保護されるように、粒子の脂質部分に封入され得る。

【0040】

「高電子密度コア」という用語は、本発明の脂質粒子について説明するために使用される場合、クライオ透過型電子顕微鏡(「クライオTEM」)を使用して可視化したときに暗く見える脂質粒子の内部を指す。本発明の脂質粒子のいくつかは、高電子密度コアを有し、脂質二重層構造をもたない。本発明の脂質粒子のいくつかは、高電子密度コアを有し、脂質二重層構造をもたず、逆六方相または立方相構造を有する。理論に束縛されることを望むものではないが、非二重層脂質の充填は、水及び核が内部にある脂質シリンダーの3次元ネットワーク、すなわち本質的には核酸を含有する脂肪滴が浸透した水性チャネルをもたらすと考えられる。

【0041】

本明細書で使用される場合、「SNALP」という用語は、安定な核酸-脂質粒子を指す。SNALPは、脂質(例えば、カチオン性脂質、非カチオン性脂質、及び粒子の凝集を防止するコンジュゲート脂質)から作られた粒子であり、この脂質内に核酸(例えばsiRNA)が完全に封入されている。ある特定の事例では、SNALPは、静脈内(i.v.)注射後の長期の循環寿命を呈することができ、遠位部位(例えば、投与部位から物理的に分離した部位)で蓄積することができ、これらの遠位部位においてsiRNA発現を媒介することができるため、全身適用に極めて有用である。核酸は、PCT公開第WO 00/03683号(その開示内容は、あらゆる目的でその全体が参照により本明細書に組み込まれている)に記載されているように、縮合剤と複合体を形成し、SNALP内に封入されてよい。

【0042】

本発明の脂質粒子(例えば、SNALP)は、典型的には、約30nm~約150nm、約40nm~約150nm、約50nm~約150nm、約60nm~約130nm、約70nm~約110nm、約70nm~約100nm、約80nm~約100nm、約

10

20

30

40

50

90 nm ~ 約 100 nm、約 70 ~ 約 90 nm、約 80 nm ~ 約 90 nm、約 70 nm ~ 約 80 nm、または約 30 nm、35 nm、40 nm、45 nm、50 nm、55 nm、60 nm、65 nm、70 nm、75 nm、80 nm、85 nm、90 nm、95 nm、100 nm、105 nm、110 nm、115 nm、120 nm、125 nm、130 nm、135 nm、140 nm、145 nm、または 150 nm の平均直径を有し、実質的に無毒である。加えて、核酸は、本発明の脂質粒子中に存在する場合、水溶液中でヌクレアーゼによる分解に耐性がある。核酸 - 脂質粒子及びそれらの調製方法は、例えば、米国特許公開第 20040142025 号及び同第 20070042031 号に開示されており、これらの開示内容は、あらゆる目的でその全体が参照により本明細書に組み込まれている。

10

【0043】

本明細書で使用される場合、「脂質に封入された」とは、siRNA などの治療用核酸に、完全な封入、部分的な封入、または両方をもたらす脂質粒子を指すことができる。好ましい実施形態において、核酸（例えば、siRNA）は、（例えば、SNALP または他の核酸 - 脂質粒子を形成するように）脂質粒子中に完全に封入されている。

【0044】

「脂質コンジュゲート」という用語は、脂質粒子の凝集を阻害するコンジュゲート脂質を指す。そのような脂質コンジュゲートとしては、PEG - 脂質コンジュゲート、例えば、ジアルキルオキシプロピルにカップリングされた PEG（例えば、PEG - DAA コンジュゲート）、ジアシルグリセロールにカップリングされた PEG（例えば、PEG - DAG コンジュゲート）、コレステロールにカップリングされた PEG、ホスファチジルエタノールアミンにカップリングされた PEG、及びセラミドにカップリングされた PEG（例えば、米国特許第 5,885,613 号を参照されたい）、カチオン性 PEG 脂質、ポリオキサゾリン（POZ） - 脂質コンジュゲート、ポリアミドオリゴマー（例えば、ATA - 脂質コンジュゲート）、ならびにそれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。POZ - 脂質コンジュゲートの更なる例は、PCT 公開第 WO 2010/006282 号に記載されている。PEG または POZ は、脂質に直接コンジュゲートされていてもよいし、またはリンカー部分を介して脂質に結合していてもよい。例えば、エステル不含リンカー部分及びエステル含有リンカー部分を含め、PEG または POZ を脂質にカップリングするために好適な任意のリンカー部分を使用することができる。ある特定の好ましい実施形態では、エステル不含リンカー部分、例えばアミドまたはカルバメートが使用される。上記特許文献のそれぞれの開示内容は、あらゆる目的でその全体が参照により本明細書に組み込まれている。

20

30

【0045】

「両親媒性脂質」という用語は、ひとつには、脂質物質の疎水性部分が疎水性相に向かい、親水性部分が水相に向かう、任意の好適な物質を指す。親水性の特徴は、極性基または荷電基、例えば炭水化物基、リン酸基、カルボン酸基、スルファト基、アミノ基、スルフヒドリル基、ニトロ基、ヒドロキシル基、及び他の同様の基の存在に由来する。疎水性は、長鎖の飽和及び不飽和の脂肪族炭化水素基、ならびにこのような基が 1 つ以上の芳香族基、脂環式基、または複素環式基（複数可）で置換されたものを含むがこれらに限定されない、無極性基の包含によってもたらされ得る。両親媒性化合物の例としては、リン脂質、アミノ脂質、及びスフィンゴ脂質が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0046】

リン脂質の代表例としては、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジレイノシトール、ホスファチジン酸、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジオレオイルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルコリン、及びジリノレオイルホスファチジルコリンが挙げられるが、これらに限定されない。リンを欠いている他の化合物、例えばスフィンゴ脂質、スフィンゴ糖脂質ファミリー、ジアシルグリセロール、及び - アシルオキシ酸

50

も、両親媒性脂質と指定される群に含まれる。更に、上述の両親媒性脂質は、トリグリセリド及びステロールを含む他の脂質と混合することができる。

【0047】

「中性脂質」という用語は、選択されたpHにおいて無電荷または中性の双性イオン形態のいずれかで存在するいくつかの脂質種のうちのいずれかを指す。生理的pHにおいて、そのような脂質は、例えば、ジアシルホスファチジルコリン、ジアシルホスファチジルエタノールアミン、セラミド、スフィンゴミエリン、セファリン、コレステロール、セレブロシド、及びジアシルグリセロールを含む。

【0048】

「非カチオン性脂質」という用語は、任意の両親媒性脂質、及び任意の他の中性脂質またはアニオン性脂質を指す。

10

【0049】

「アニオン性脂質」という用語は、生理的pHで負に帯電している任意の脂質を指す。これらの脂質には、限定されるものではないが、ホスファチジルグリセロール、カルジオリピン、ジアシルホスファチジルセリン、ジアシルホスファチジン酸、N-ドデカノイルホスファチジルエタノールアミン、N-サクシニルホスファチジルエタノールアミン、N-グルタリルホスファチジルエタノールアミン、リジルホスファチジルグリセロール、パルミトイルオレオイルホスファチジルグリセロール(POPG)、及び他のアニオン性修飾基が中性脂質に結合したものが含まれる。

【0050】

20

「疎水性脂質」という用語は、長鎖の飽和及び不飽和の脂肪族炭化水素基、ならびにこのような基が1つ以上の芳香族基、脂環式基、または複素環式基(複数可)で場合により置換されているものを含むがこれらに限定されない、無極性基を有する化合物を指す。好適な例としては、ジアシルグリセロール、ジアルキルグリセロール、N-N-ジアルキルアミノ、1,2-ジアシルオキシ-3-アミノプロパン、及び1,2-ジアルキル-3-アミノプロパンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0051】

本明細書において、「カチオン性脂質」及び「アミノ脂質」という用語は、1つ、2つ、3つ、またはそれ以上の脂肪酸または脂肪アルキル鎖と、pH滴定可能なアミノ頭部基(例えば、アルキルアミノまたはジアルキルアミノ頭部基)とを有する脂質及びそれらの塩を含むよう、交換可能に使用される。カチオン性脂質は、典型的には、カチオン性脂質の pK_a を下回るpHではプロトン化(すなわち正に帯電)しており、 pK_a を上回るpHでは実質的に中性である。本発明のカチオン性脂質は、滴定可能なカチオン性脂質と称される場合もある。いくつかの実施形態では、カチオン性脂質は、プロトン化可能な三級アミン(例えばpH滴定可能な)頭部基、各アルキル鎖が独立して0~3(例えば、0、1、2、または3つ)の二重結合を有する C_{18} アルキル鎖、及び頭部基とアルキル鎖との間のエーテル結合、エステル結合、またはケタール結合を含む。そのようなカチオン性脂質としては、DSDMA、DODMA、DLinDMA、DLenDMA、-DLenDMA、DLin-K-DMA、DLin-K-C2-DMA(別称DLin-C2K-DMA、XTC2、及びC2K)、DLin-K-C3-DMA、DLin-K-C4-DMA、DLen-C2K-DMA、-DLen-C2K-DMA、DLin-M-C2-DMA(別称MC2)、DLin-M-C3-DMA(別称MC3)、及び(DLin-MP-DMA)(別称1-B11)が挙げられるが、これらに限定されない。

30

40

【0052】

「アルキルアミノ」という用語は、式-N(H)Rの基を含み、式中、Rは本明細書で定義されるアルキルである。

【0053】

「ジアルキルアミノ」という用語は、式-NR₂の基を含み、式中、各Rは独立して、本明細書で定義されるアルキルである。

【0054】

50

「塩」という用語は、カチオン性脂質と1つ以上のアニオンとの間に形成された錯体など、任意のアニオンとカチオンとの錯体を含む。アニオンの非限定的な例としては、無機アニオン及び有機アニオン、例えば、水素化物、フッ化物、塩化物、臭化物、ヨウ化物、シュウ酸（例えば、ヘミオキサレート）、リン酸、ホスホン酸、リン酸水素、リン酸二水素、酸化物、炭酸、炭酸水素、硝酸、亜硝酸、窒化物、亜硫酸水素、硫化物、亜硫酸、重硫酸、硫酸、チオ硫酸、硫酸水素、ホウ酸、ギ酸、酢酸、安息香酸、クエン酸、酒石酸、乳酸、アクリル酸、ポリアクリル酸、フマル酸、マレイン酸、イタコン酸、グリコール酸、グルコン酸、リンゴ酸、マンデル酸、チグリン酸、アスコルビン酸、サリチル酸、ポリメタクリル酸、過塩素酸、塩素酸、亜塩素酸、次亜塩素酸、臭素酸、次亜臭素酸、ヨウ素酸、アルキルスルホネート、アリールスルホネート、ヒ酸、亜ヒ酸、クロム酸、ニクロム酸、シアン化物、シアン酸、チオシアン酸、水酸化物、過酸化物、過マンガン酸、及びそれらの混合物が挙げられる。特定の実施形態では、本明細書に開示されるカチオン性脂質の塩は、結晶塩である。

【0055】

「アシル」という用語には、以下に定義するように、結合点における炭素がオキシ基で置換されている、任意のアルキル、アルケニル、またはアルキニルが含まれる。以下は、アシル基の非限定的な例である：-C(=O)アルキル、-C(=O)アルケニル、及び-C(=O)アルキニル。

【0056】

「膜融合性」という用語は、SNALPなどの脂質粒子が細胞の膜と融合する能力を指す。この膜は、細胞膜か、または例えば、エンドソーム、核などのオルガネラを包囲する膜かのいずれであってもよい。

【0057】

本明細書で使用される場合、「水溶液」という用語は、水を全体または一部に含む組成物を指す。

【0058】

本明細書で使用される場合、「有機脂質溶液」という用語は、脂質を有する有機溶媒を全体または一部に含む組成物を指す。

【0059】

本明細書で使用される「遠位部位」とは、物理的に分離した部位を指し、隣接する毛細血管床に限定されず、生物全体に広く分布する部位を含む。

【0060】

SNALPなどの核酸-脂質粒子に関する「血清安定性」とは、遊離DNAまたはRNAを著しく分解する血清またはヌクレアーゼアッセイへの曝露後に粒子が著しく分解されないことを意味する。好適なアッセイとしては、例えば、標準的な血清アッセイ、DNAseアッセイ、またはRNAseアッセイが挙げられる。

【0061】

本明細書で使用される「全身送達」とは、生物におけるsiRNAなどの活性剤の広い体内分布をもたらす脂質粒子の送達を指す。いくつかの投与技術は、ある特定の薬剤の全身送達をもたらすことができるが、その他のものにこれは当てはまらない。全身送達とは、有用な（好ましくは治療的な）量の薬剤が、身体のおよそすべての部分に曝露されることを意味する。広い体内分布を得るには、一般に、薬剤が投与部位から遠位にある疾患部位に達する前に急速に（例えば初回通過器官（肝臓、肺など）によって、または急速な非特異的細胞結合によって）分解または排出されないような血中寿命が必要である。脂質粒子の全身送達は、例えば、静脈内、皮下、及び腹腔内を含め、当技術分野で公知の任意の手段によるものであってよい。好ましい実施形態において、脂質粒子の全身送達は、静脈内送達によるものである。

【0062】

本明細書で使用される「局所送達」とは、siRNAなどの活性剤の、生物における標的部位への直接的な送達を指す。例えば、薬剤は、疾患部位、他の標的部位、または肝臓

10

20

30

40

50

、心臓、脾臓、腎臓などの標的器官への直接注射によって局所送達され得る。

【0063】

本明細書において、脂質：s i R N Aの比について説明するために使用される場合、「脂質」という用語は、粒子中の全脂質を指す。

【0064】

当業者には、キラル中心を有する本発明の化合物が光学活性形態及びラセミ形態で存在し、これらの形態で単離されることが察知されよう。いくつかの化合物は、多型性を呈し得る。本発明は、本明細書に記載される有用な特性を有する、本発明の化合物の任意のラセミ形態、光学活性形態、多型形態、もしくは立体異性体形態、またはそれらの混合物を包含するものと理解されたい。当技術分野において、光学活性形態を調製する方法（例えば、再結晶技術によるラセミ形態の分割によるもの、光学活性のある出発物質からの合成によるもの、キラル合成によるもの、またはキラル固定相を使用したクロマトグラフ分離によるもの）は周知である。

10

【0065】

本明細書における化合物式中の結合が非立体化学的様式（例えば平面）で描かれている場合、その結合が結合している原子は、あらゆる立体化学的な可能性を含む。特に別段の記載がない限り、本明細書における化合物式中の結合が所定の立体化学的様式（例えば太線、太線のくさび形、破線または破線のくさび形）で描かれている場合、立体化学的結合が結合している原子が、示されている絶対立体異性体において濃縮されていると理解される。一実施形態において、化合物の少なくとも51%が、示されている絶対立体異性体であり得る。別の実施形態では、化合物の少なくとも60%が、示されている絶対立体異性体であり得る。別の実施形態では、化合物の少なくとも80%が、示されている絶対立体異性体であり得る。別の実施形態では、化合物の少なくとも90%が、示されている絶対立体異性体であり得る。別の実施形態では、化合物の少なくとも95%が、示されている絶対立体異性体であり得る。別の実施形態では、化合物の少なくとも99%が、示されている絶対立体異性体であり得る。

20

【0066】

本明細書に別段の記載がない限り、「約」という用語は、値または値の範囲に関連して使用される場合、規定の値または値の範囲のプラスまたはマイナス5%を意味する。

【0067】

s i R N A分子の生成

s i R N Aは、例えば、1つ以上の単離された低分子干渉RNA (s i R N A) 二重鎖として、より長い二本鎖RNA (d s R N A) として、またはDNAプラスミド内の転写カセットから転写されたs i R N Aもしくはd s R N Aとしての形態を含む、いくつかの形態で用意することができる。一部の実施形態では、s i R N Aは、酵素的に、または部分的/完全有機合成によって産生してよく、インビトロ酵素合成または有機合成により、修飾されたりボヌクレオチドを導入することができる。ある特定の事例では、各鎖が化学的に調製される。RNA分子を合成する方法は、例えばVerma and Eckstein (1998) に記載された化学合成方法のように当技術分野において公知であるか、または本明細書に記載される。

30

40

【0068】

RNAを単離する方法、RNAを合成する方法、核酸をハイブリダイズする方法、cDNAライブラリを作製しスクリーニングする方法、及びPCRを行なう方法は、当技術分野で周知である（例えば、Gubler and Hoffman, Gene, 25:263-269 (1983)、Sambrook et al. (上記)、Ausubel et al. (上記)を参照されたい）。また、PCR法も当技術分野で周知である（米国特許第4,683,195号及び同第4,683,202号、PCR Protocol s: A Guide to Methods and Applications (Innis et al., eds, 1990)を参照されたい）。発現ライブラリも当業者には周知である。本発明における使用の一般的方法を開示する更なる基本的なテキストとして

50

は、Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd ed., 1989)、Kriegler, Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual (1990)、及びCurrent Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds., 1994)が挙げられる。これらの参考文献の開示内容は、あらゆる目的でその全体が参照により本明細書に組み込まれている。

【0069】

典型的には、siRNAは化学合成される。本発明のsiRNA分子を含むオリゴヌクレオチドは、Usman et al., J. Am. Chem. Soc., 109:7845 (1987)、Scaringe et al., Nucl. Acids Res., 18:5433 (1990)、Wincott et al., Nucl. Acids Res., 23:2677-2684 (1995)、及びWincott et al., Methods Mol. Bio., 74:59 (1997)に記載されているものなど、当技術分野で公知の種々の技術のいずれかを使用して合成することができる。オリゴヌクレオチドの合成は、5'末端におけるジメトキシトリチル及び3'末端におけるホスホラミダイトなどの一般的な核酸保護基及びカップリング基を利用する。非限定的な例として、Applied Biosystemsの合成機で0.2 μmol規模のプロトコールを使用した小規模合成を実施することができる。代替的には、Protogene (Palo Alto, CA)の96ウェルプレート合成機で0.2 μmol規模の合成を行なうことができる。しかしながら、より大規模または小規模の合成も本発明の範囲内である。オリゴヌクレオチド合成に好適な試薬、RNA脱保護のための方法、及びRNA精製のための方法は、当業者には公知である。

【0070】

siRNA分子は、一方のオリゴヌクレオチドがsiRNAのセンス鎖を含み、他方がアンチセンス鎖を含む、2つの別個のオリゴヌクレオチドから構築され得る。例えば、各鎖を別々に合成し、合成及び/または脱保護後にハイブリダイゼーションまたはライゲーションによってひとつに結合させることができる。

【0071】

本発明の実施形態

実施例25の表1は、B型肝炎ウイルス(「HBV」と略す)を標的とする一連の化学修飾されたsiRNA二重鎖を記載する(センス鎖及びアンチセンス鎖が示されている)。本明細書に記載されるように、本発明の化合物は、かかるsiRNA(すなわち、siRNA 1~37)を含み得る。

【0072】

したがって、本発明の一態様は、配列番号1、配列番号3、配列番号5、配列番号7、配列番号9、配列番号11、配列番号13、配列番号15、配列番号17、配列番号19、配列番号21、配列番号23、配列番号25、配列番号27、配列番号29、配列番号31、配列番号33、配列番号35、配列番号37、配列番号39、配列番号41、配列番号43、配列番号45、配列番号47、配列番号49、配列番号51、配列番号53、配列番号55、配列番号57、配列番号59、配列番号61、配列番号63、配列番号65、配列番号67、配列番号69、配列番号71、及び配列番号73からなる群から選択される核酸分子である。

【0073】

本発明の別の態様は、配列番号2、配列番号4、配列番号6、配列番号8、配列番号10、配列番号12、配列番号14、配列番号16、配列番号18、配列番号20、配列番号22、配列番号24、配列番号26、配列番号28、配列番号30、配列番号32、配列番号34、配列番号36、配列番号38、配列番号40、配列番号42、配列番号44、配列番号46、配列番号48、配列番号50、配列番号52、配列番号54、配列番号56、配列番号58、配列番号60、配列番号62、配列番号64、配列番号66、配列

10

20

30

40

50

番号 68、配列番号 70、配列番号 72、及び配列番号 74 からなる群から選択される核酸分子である。

【0074】

本発明の一態様は、本明細書に記載の核酸分子またはその組み合わせを含む組成物である。

【0075】

本発明の一態様は、s i R N A 1 (配列番号 1 及び 2)、2 (配列番号 3 及び 4)、3 (配列番号 5 及び 6)、4 (配列番号 7 及び 8)、5 (配列番号 9 及び 10)、6 (配列番号 11 及び 12)、7 (配列番号 13 及び 14)、8 (配列番号 15 及び 16)、9 (配列番号 17 及び 18)、10 (配列番号 19 及び 20)、11 (配列番号 21 及び 22)、12 (配列番号 23 及び 24)、13 (配列番号 25 及び 26)、14 (配列番号 27 及び 28)、15 (配列番号 29 及び 30)、16 (配列番号 31 及び 32)、17 (配列番号 33 及び 34)、18 (配列番号 35 及び 36)、19 (配列番号 37 及び 38)、20 (配列番号 39 及び 40)、21 (配列番号 41 及び 42)、22 (配列番号 43 及び 44)、23 (配列番号 45 及び 46)、24 (配列番号 47 及び 48)、25 (配列番号 49 及び 50)、26 (配列番号 51 及び 52)、27 (配列番号 53 及び 54)、28 (配列番号 55 及び 56)、29 (配列番号 57 及び 58)、30 (配列番号 59 及び 60)、31 (配列番号 61 及び 62)、32 (配列番号 63 及び 64)、33 (配列番号 65 及び 66)、34 (配列番号 67 及び 68)、35 (配列番号 69 及び 70)、36 (配列番号 71 及び 72)、及び 37 (配列番号 73 及び 74) からなる群から選択される二本鎖 s i R N A 分子を提供する。

【0076】

本発明の別の態様は、本明細書に記載の二本鎖 s i R N A 分子を含む組成物を提供する。

【0077】

一実施形態において、本組成物は、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物である。

【0078】

本発明の一態様は、発明の概要に記述される式 I の化合物、またはその塩である。

【0079】

式 I の化合物の一実施形態において、 R^1 は、標的化リガンドであり、
 L^1 は、存在しないか、または結合基であり、
 L^2 は、存在しないか、または結合基であり、
 R^2 は、表 1 の二本鎖 s i R N A から選択される二本鎖 s i R N A 分子であり、
環 A は、存在しないか、3 ~ 20 員シクロアルキル、5 ~ 20 員アリール、5 ~ 20 員ヘテロアリール、または 3 ~ 20 員ヘテロシクロアルキルであり、
各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$ アルキル-OR^B、ならびにハロ、ヒドロキシ、及び C_{1-3} アルコキシから独立して選択される 1 つ以上の基で場合により置換されている C_{1-8} アルキルからなる群から選択され、
 R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、
n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 である。

【0080】

一実施形態において、 R^1 は、 $-C(H)_{(3-p)}(L^3 - \text{糖類})_p$ であり、式中、各 L^3 は独立して結合基であり、p は、1、2、または 3 であり、糖類は、単糖または二糖である。

【0081】

一実施形態において、糖類は、

10

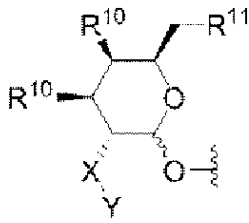
20

30

40

50

【化5】



またはその塩であり、
式中、

XはNR³であり、Yは、-(C=O)R⁴、-SO₂R⁵、及び-(C=O)NR⁶R⁷から選択されるか、またはXは-(C=O)-であり、YはNR⁸R⁹であり、

R³は、水素または(C₁~C₄)アルキルであり、

R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、及びR⁹は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₁~C₈)ハロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、ならびにハロ、(C₁~C₄)アルキル、(C₁~C₄)ハロアルキル、(C₁~C₄)アルコキシ、及び(C₁~C₄)ハロアルコキシからなる群から独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている(C₃~C₆)シクロアルキルからなる群から選択され、

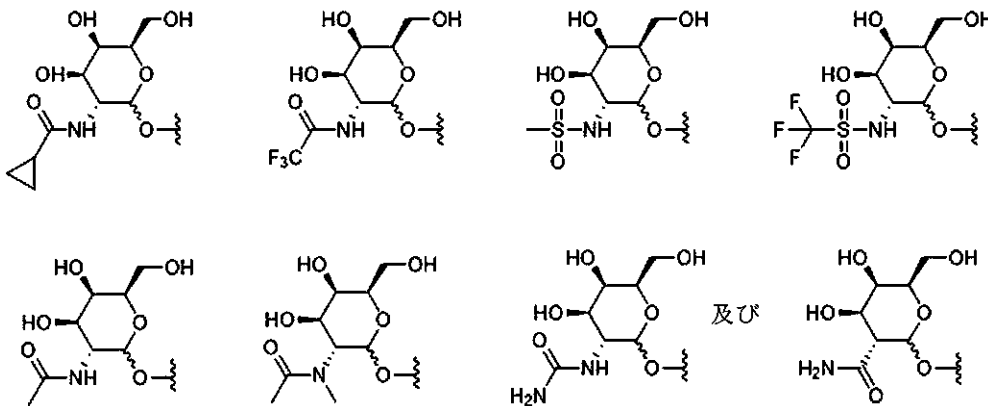
R¹⁰は、-OH、-NR⁸R⁹、または-Fであり、

R¹¹は、-OH、-NR⁸R⁹、-F、またはハロ、ヒドロキシル、カルボキシル、アミノ、(C₁~C₄)アルキル、(C₁~C₄)ハロアルキル、(C₁~C₄)アルコキシ、及び(C₁~C₄)ハロアルコキシからなる群から独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている5員複素環である。

【0082】

一実施形態において、糖類は、

【化6】



ならびにそれらの塩からなる群から選択される。

【0083】

一実施形態において、糖類は、

【化7】



N-アセチルガラクトサミン (GalNAc)

GalPro

である。

【0084】

一実施形態において、各 L^3 は、独立して、0 ~ 50 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち1個以上（例えば1個、2個、3個、または4個）は、 $-O-$ 、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 、または $-S-$ で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または $(C_1 \sim C_6)$ アルキルであり、炭化水素鎖は、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、 $(C_3 \sim C_6)$ シクロアルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルカノイル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルカノイルオキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシカルボニル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上（例えば1つ、2つ、3つ、または4つ）の置換基で場合により置換されている。

10

【0085】

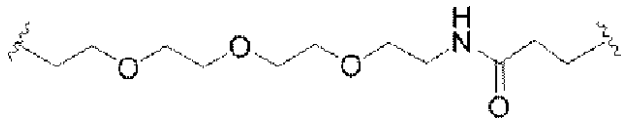
一実施形態において、各 L^3 は、独立して、1 ~ 20 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち1個以上（例えば1個、2個、3個、または4個）は、 $-O-$ 、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 、または $-S-$ で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または $(C_1 \sim C_6)$ アルキルであり、炭化水素鎖は、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、 $(C_3 \sim C_6)$ シクロアルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルカノイル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルカノイルオキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシカルボニル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上（例えば1つ、2つ、3つ、または4つ）の置換基で場合により置換されている。

20

【0086】

一実施形態において、 L^3 は、

【化8】



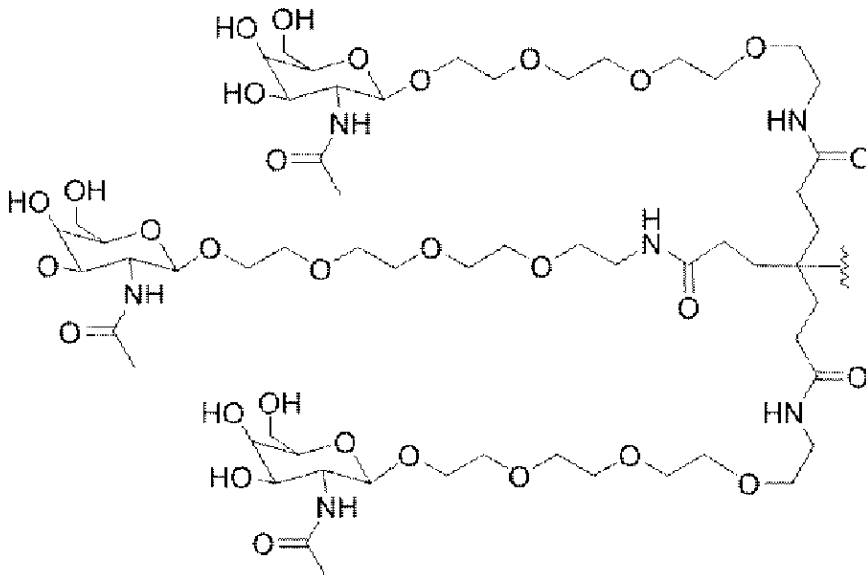
またはその塩である。

30

【0087】

一実施形態において、 R^1 は、

【化9】



40

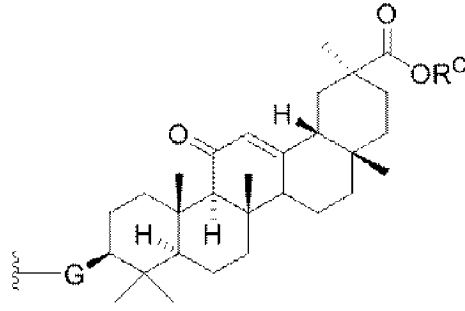
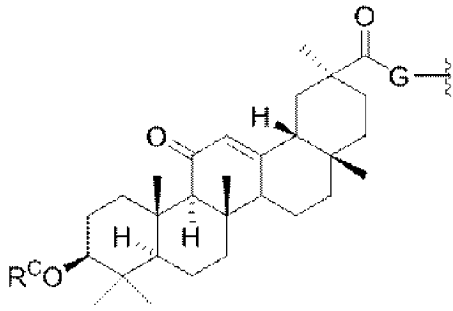
またはその塩である。

50

【0088】

一実施形態において、 R^1 は、

【化10】



10

またはその塩であり、

式中、 G は $-NH-$ または $-O-$ であり、

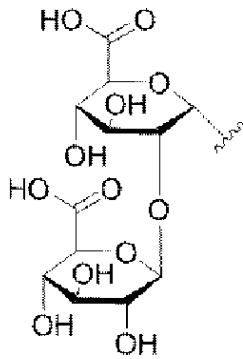
R^C は、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_8)$ ハロアルキル、 $(C_1 \sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルカノイル、 $(C_3 \sim C_{20})$ シクロアルキル、 $(C_3 \sim C_{20})$ 複素環、アリール、ヘテロアリール、単糖、二糖、または三糖であり、ここでシクロアルキル、複素環、アリール、ヘテロアリール、及び糖類は、ハロ、カルボキシル、ヒドロキシル、アミノ、 $(C_1 \sim C_4)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルキル、 $(C_1 \sim C_4)$ アルコキシ、及び $(C_1 \sim C_4)$ ハロアルコキシからなる群から独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている)。

20

【0089】

一実施形態において、 R^C は、

【化11】



30

である。

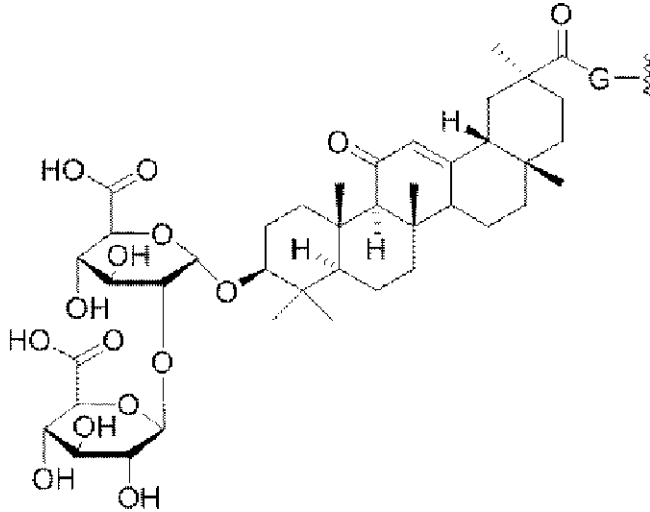
【0090】

一実施形態において、 R^1 は、

40

50

【化 1 2】



10

である。

【0091】

一実施形態において、 R^C は、

【化 1 3】



20

である。

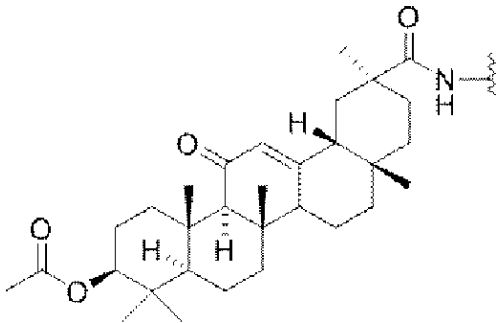
【0092】

一実施形態において、 G は、 $-NH-$ である。

【0093】

一実施形態において、 R^1 は、

【化 1 4】



30

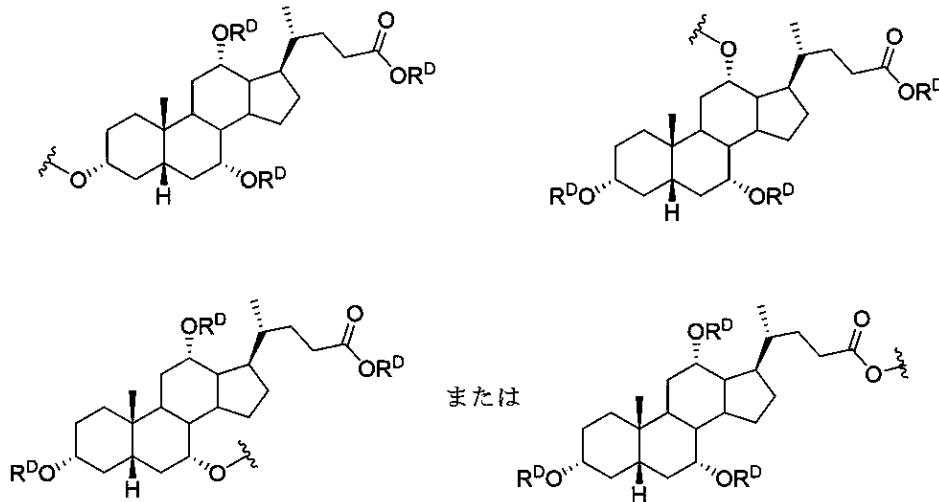
である。

【0094】

一実施形態において、 R^1 は、

40

【化15】



10

であり、

式中、各 R^D は、独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₉~C₂₀)アルキルシリル、(R^W)₃Si-、(C₂~C₆)アルケニル、テトラヒドロピラニル、(C₁~C₆)アルカノイル、ベンゾイル、アリール(C₁~C₃)アルキル、TMT_r(トリメトキシトリチル)、DMT_r(ジメトキシトリチル)、MMT_r(モノメトキシトリチル)、及びT_r(トリチル)からなる群から選択され、

20

各 R^W は、独立して、(C₁~C₄)アルキル及びアリールからなる群から選択される。

【0095】

一実施形態において、結合基 L^1 及び L^2 は、独立して、1~50個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち1個以上(例えば1個、2個、3個、または4個)は、-O-、-NR^X-、-NR^X-C(=O)-、-C(=O)-NR^X-、または-S-で場合により置き換えられており、R^Xは、水素または(C₁~C₆)アルキルであり、炭化水素鎖は、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₃~C₆)シクロアルキル、(C₁~C₆)アルカノイル、(C₁~C₆)アルカノイルオキシ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニル、(C₁~C₆)アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上(例えば1つ、2つ、3つ、または4つ)の置換基で場合により置換されている。

30

【0096】

一実施形態において、 L^1 及び L^2 は、独立して、1~20個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち1個以上(例えば1個、2個、3個、または4個)は、-O-、-NR^X-、-NR^X-C(=O)-、-C(=O)-NR^X-、または-S-で場合により置き換えられており、R^Xは、水素または(C₁~C₆)アルキルであり、炭化水素鎖は、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₃~C₆)シクロアルキル、(C₁~C₆)アルカノイル、(C₁~C₆)アルカノイルオキシ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニル、(C₁~C₆)アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上(例えば1つ、2つ、3つ、または4つ)の置換基で場合により置換されている。

40

【0097】

一実施形態において、 L^1 及び L^2 は、独立して、1~14個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち1個以上(例えば1個、2個、3個、または4個)は、場合により置き換えられており、-O-、-NR^X-、-NR^X-C(=O)-、-C(=O)-NR^X-、また

50

は - S - であり、 R^X は、水素または ($C_1 \sim C_6$) アルキルであり、炭化水素鎖は、($C_1 \sim C_6$) アルコキシ、($C_3 \sim C_6$) シクロアルキル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイルオキシ、($C_1 \sim C_6$) アルコキシカルボニル、($C_1 \sim C_6$) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ (=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上(例えば1つ、2つ、3つ、または4つ)の置換基で場合により置換されている。

【0098】

一実施形態において、 L^1 は、-NH-、-O-、-S-、-(C=O)-、-(C=O)-NH-、-NH-(C=O)-、-(C=O)-O-、-NH-(C=O)-NH-、または-NH-(SO₂)-を介して R^1 に結合している。

10

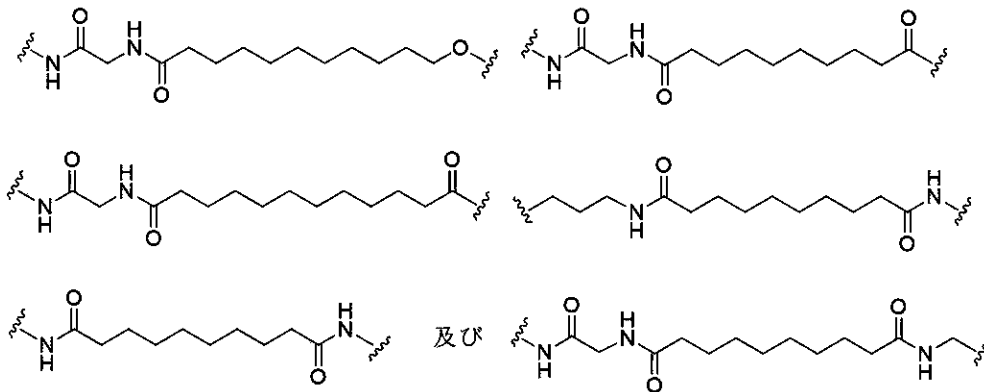
【0099】

一実施形態において、 L^2 は、-O-を介して R^2 に結合している。

【0100】

一実施形態において、 L^1 は、

【化16】



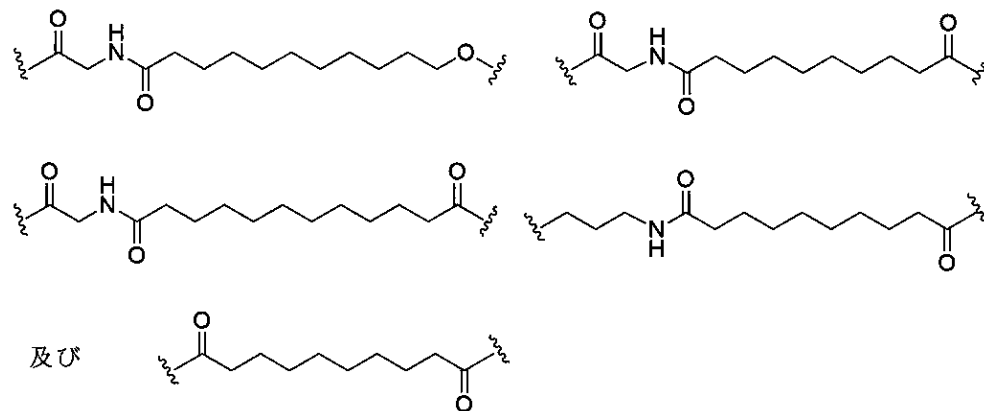
20

からなる群から選択される。

【0101】

一実施形態において、 L^1 は、

【化17】



40

ならびにそれらの塩からなる群から選択される。

【0102】

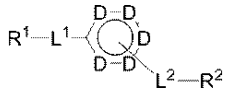
一実施形態において、 L^2 は、-CH₂-O-または-CH₂-CH₂-O-である。

【0103】

一実施形態において、式Iの化合物は、次式Ia:

50

【化 1 8】



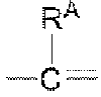
(I a)

を有するか、またはその塩であり、

式中、

各 D は、独立して、

【化 1 9】



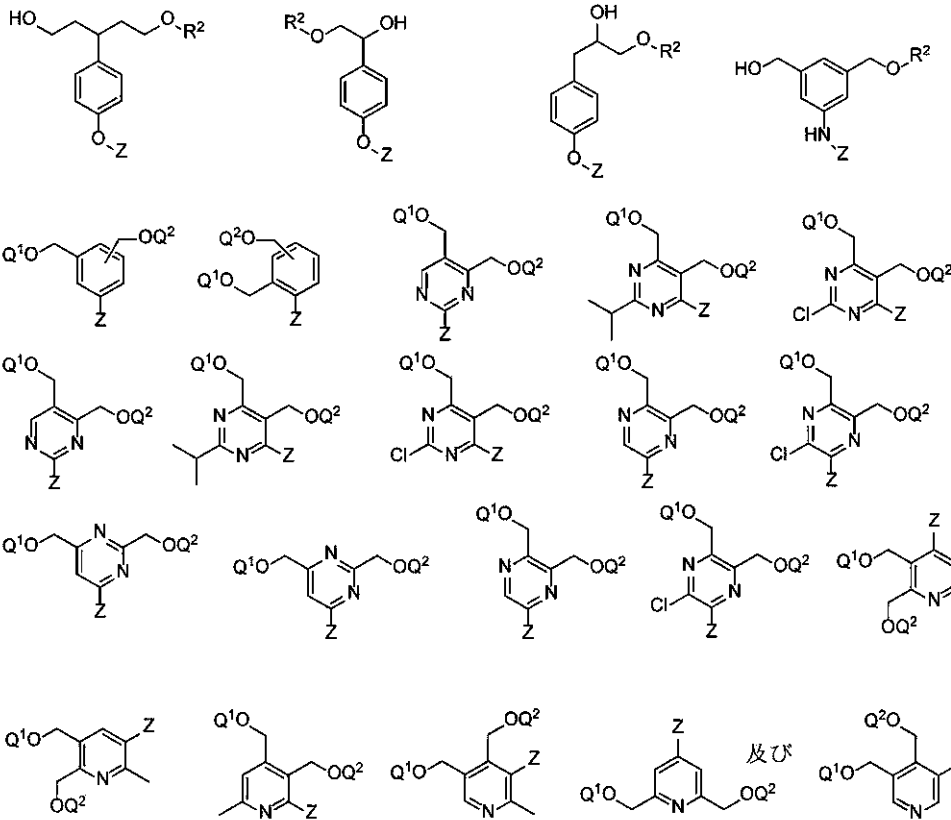
10

及び - N = からなる群から選択される。

【 0 1 0 4】

一実施形態において、式 I a の化合物は、

【化 2 0】



20

30

ならびにそれらの塩からなる群から選択され、

40

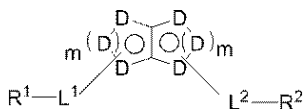
式中、

Q¹ は水素であり、Q² は R² であるか、または Q¹ は R² であり、Q² は水素であり、Z は - L¹ - R¹ である。

【 0 1 0 5】

一実施形態において、式 I の化合物は、次式 I b :

【化 2 1 - 1】



50

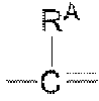
(I b)

を有するか、またはその塩であり、

式中、

各 D は、独立して、

【化 2 1 - 2】



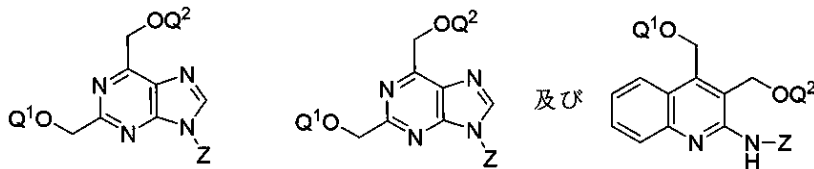
及び - N = からなる群から選択され、

各 m は、独立して、1 または 2 である。

【0 1 0 6】

一実施形態において、式 I b の化合物は、

【化 2 2】



ならびにそれらの塩からなる群から選択され、

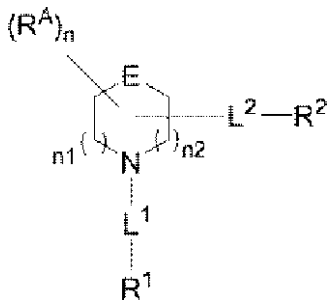
式中、

Q¹ は水素であり、Q² は R² であるか、または Q¹ は R² であり、Q² は水素であり、
Z は - L¹ - R¹ である。

【0 1 0 7】

一実施形態において、式 I の化合物は、次式 (I c) :

【化 2 3】



(I c)

を有するか、またはその塩であり、

式中、E は、- O - または - CH₂ - であり、

n は、0、1、2、3、及び 4 からなる群から選択され、

n₁ 及び n₂ は、それぞれ独立して、0、1、2、及び 3 からなる群から選択される。

【0 1 0 8】

ある特定の実施形態において、式 (I c) の化合物は、

10

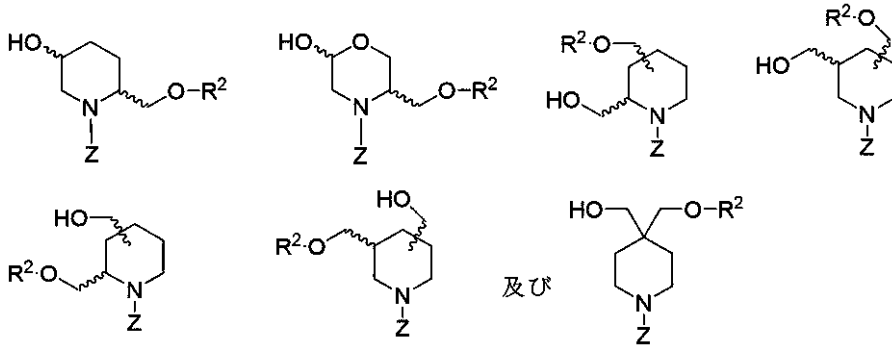
20

30

40

50

【化24】



10

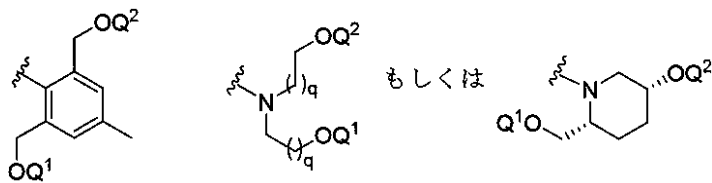
ならびにそれらの塩からなる群から選択され、

式中、Zは $-L^1 - R^1$ である。

【0109】

一実施形態において、 $-A - L^2 - R^2$ 部分は、

【化25】



20

またはその塩であり、

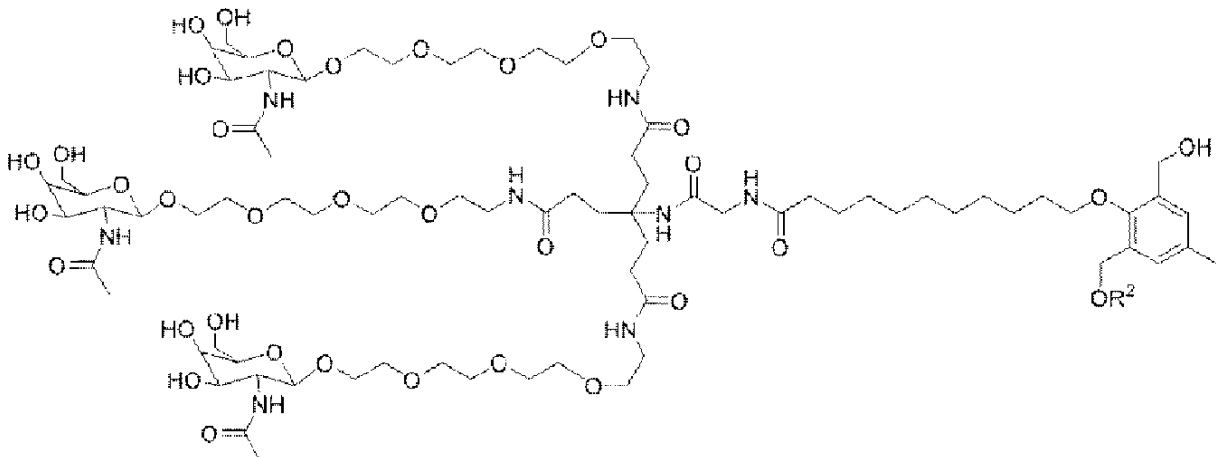
式中、

Q^1 は水素であり、 Q^2 は R^2 であるか、または Q^1 は R^2 であり、 Q^2 は水素であり、各qは、独立して、0、1、2、3、4、または5である。

【0110】

一実施形態において、式(I)の化合物は、

【化26】

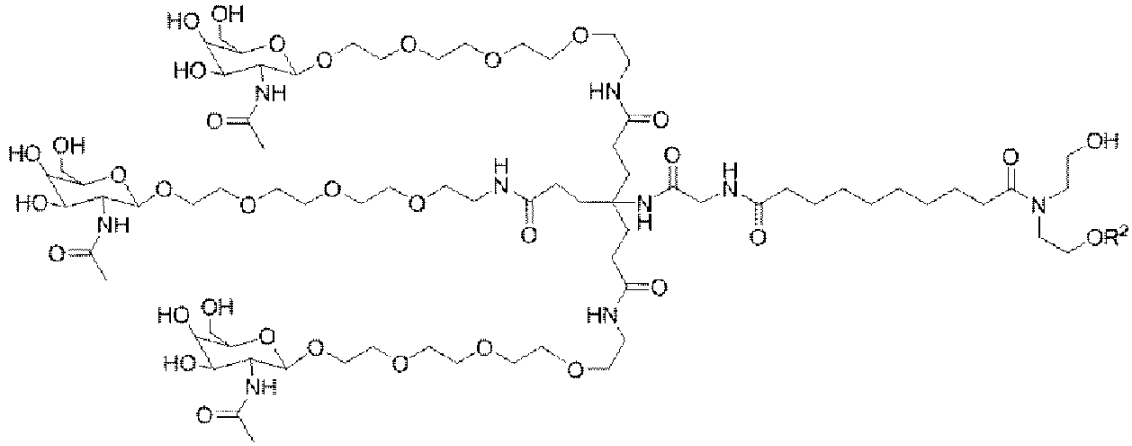


30

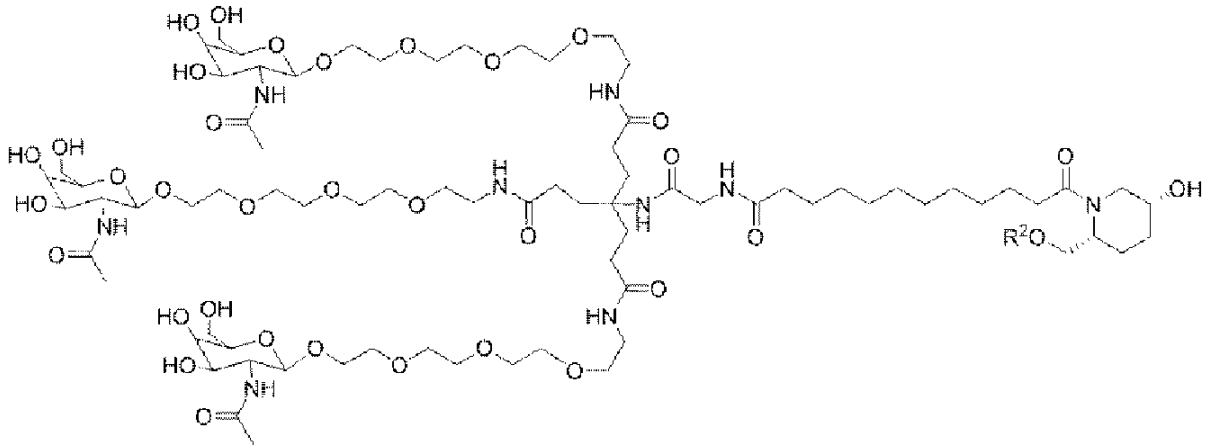
40

50

【化 2 7】



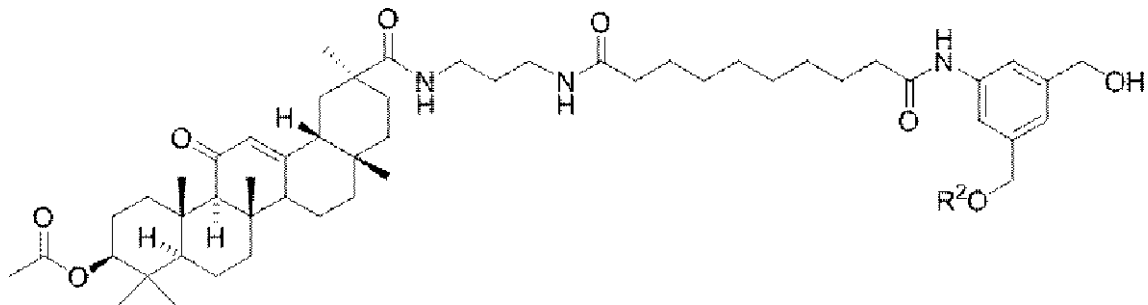
10



20

及び

【化 2 8】



30

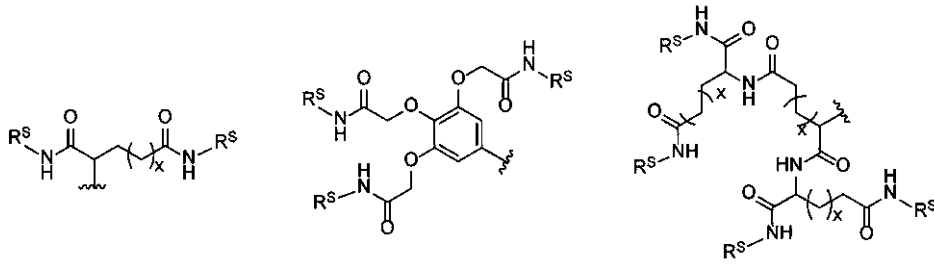
ならびにそれらの塩からなる群から選択される。

【0 1 1 1】

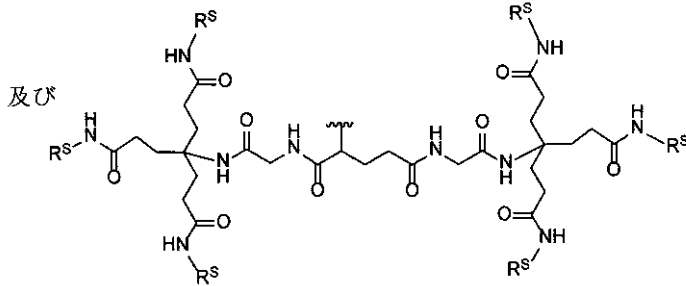
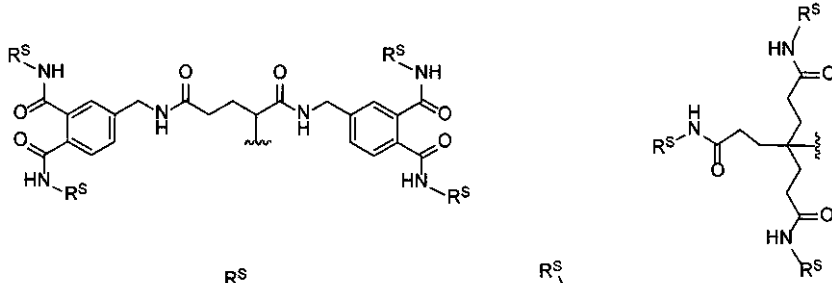
一実施形態において、 R^1 は、

40

【化 2 9】



10

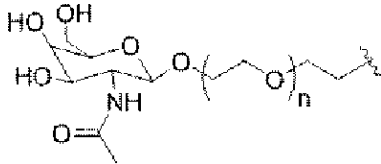


20

からなる群から選択され、

式中、R^Sは、

【化 3 0】



30

であり、

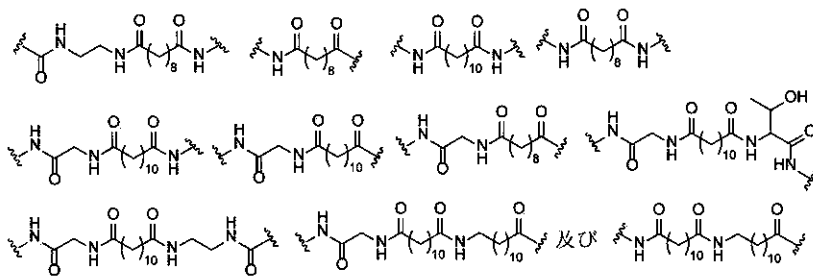
n は、2、3、または4であり、

x は、1または2である。

【0 1 1 2】

一実施形態において、L¹は、

【化 3 1】



40

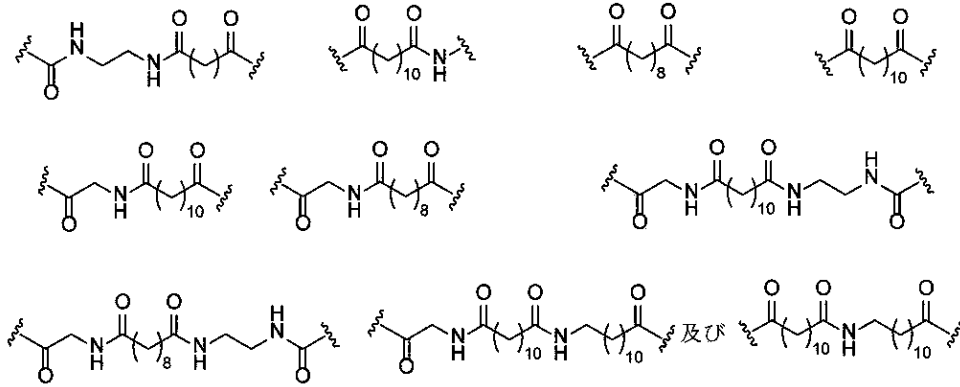
からなる群から選択される。

【0 1 1 3】

一実施形態において、L¹は、

50

【化 3 2】



10

からなる群から選択される。

【 0 1 1 4】

一実施形態において、Aは、存在しないか、フェニル、ピロリジニル、またはシクロペンチルである。

【 0 1 1 5】

一実施形態において、L²は、ヒドロキシで場合により置換されているC₁~4アルキレン-O-である。

【 0 1 1 6】

一実施形態において、L²は、-CH₂O-、-CH₂CH₂O-、または-CH(OH)CH₂O-である。

20

【 0 1 1 7】

一実施形態において、各R^Aは、独立して、ヒドロキシ、またはヒドロキシルで場合により置換されているC₁~8アルキルである。

【 0 1 1 8】

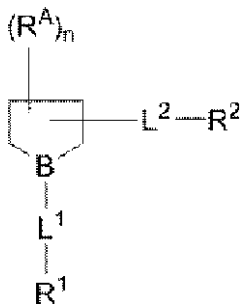
一実施形態において、各R^Aは、独立して、ヒドロキシ、メチル、及び-CH₂OHからなる群から選択される。

【 0 1 1 9】

一実施形態において、式Iの化合物は、次式(Ig)：

30

【化 3 3】



40

(I g)

を有するか、またはその塩であり、

式中、Bは、-N-または-CH-であり、

L¹は、存在しないか、または-NH-であり、

L²は、ヒドロキシルまたは八口で場合により置換されているC₁~4アルキレン-O-であり、

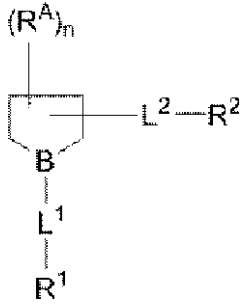
nは、0、1、または2である。

【 0 1 2 0】

一実施形態において、式Iの化合物は、次式(Ig)：

50

【化34】



10

(I g)

を有するか、またはその塩であり、

式中、Bは、- N - または - C H - であり、

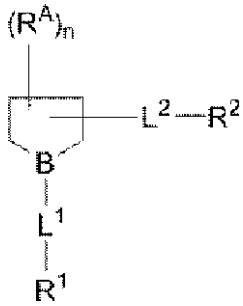
L¹は、存在しないか、または - N H - であり、L²は、ヒドロキシルまたはハロで場合により置換されているC₁~4アルキレン - O - であり、

nは、0、1、2、3、4、5、6、または7である。

【0121】

一実施形態において、式Iの化合物は、次式(I g)：

【化35】



20

(I g)

を有するか、またはその塩であり、

式中、Bは、- N - または - C H - であり、

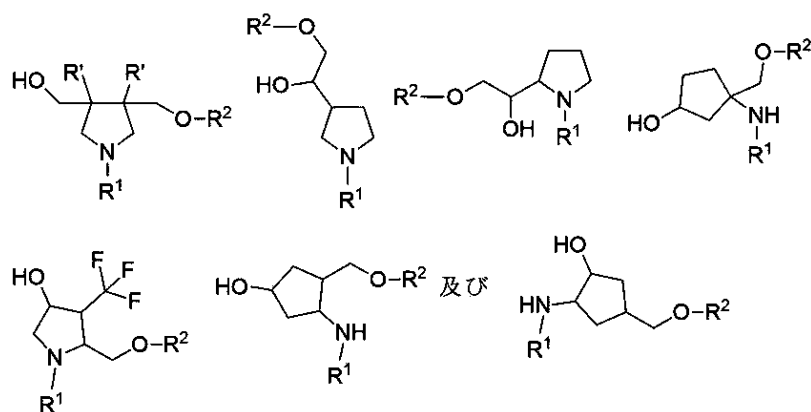
L¹は、存在しないか、または - N H - であり、L²は、ヒドロキシルまたはハロで場合により置換されているC₁~4アルキレン - O - であり、

nは、0、1、2、3、または4である。

【0122】

一実施形態において、式I gの化合物は、

【化36】



40

50

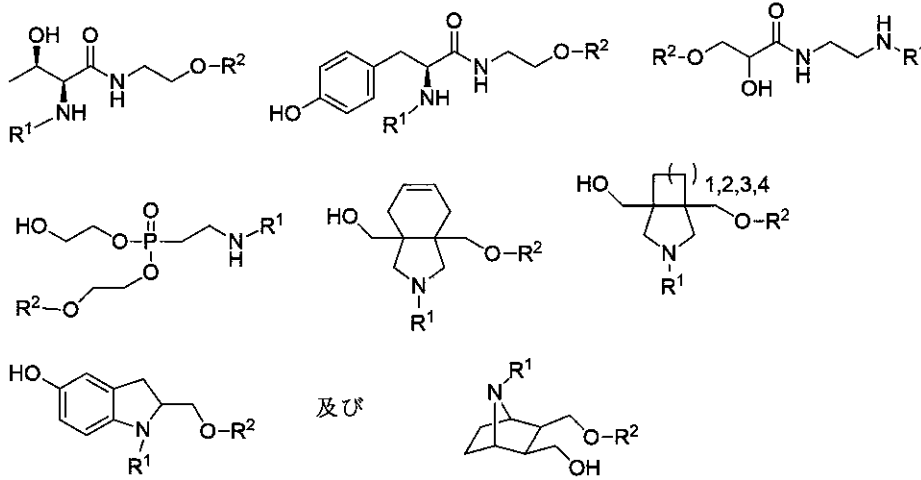
ならびにそれらの塩からなる群から選択され、

式中、 R^1 は、 $C_1 \sim 9$ アルキル、 $C_2 \sim 9$ アルケニル、または $C_2 \sim 9$ アルキニルであり、この $C_1 \sim 9$ アルキル、 $C_2 \sim 9$ アルケニル、または $C_2 \sim 9$ アルキニルは、ハロまたはヒドロキシルで場合により置換されている。

【0123】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【化37】



10

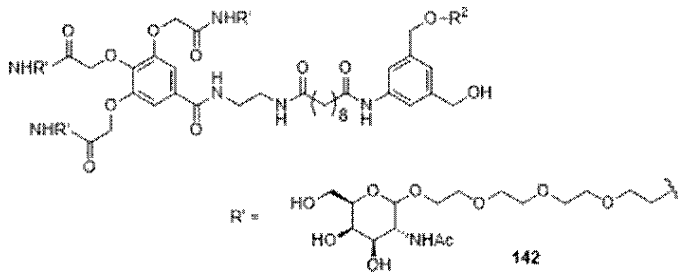
20

ならびにそれらの塩からなる群から選択される。

【0124】

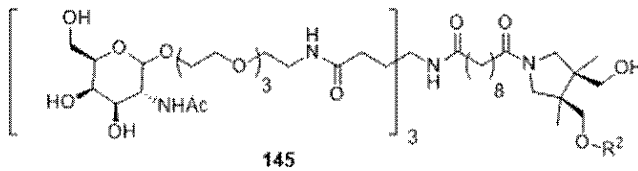
一実施形態において、式 I の化合物またはその塩は、

【化38】

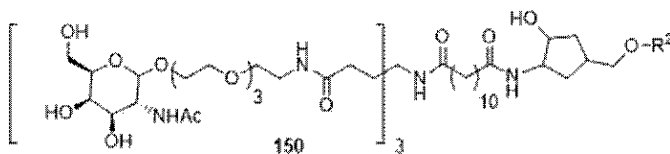


30

【化39】



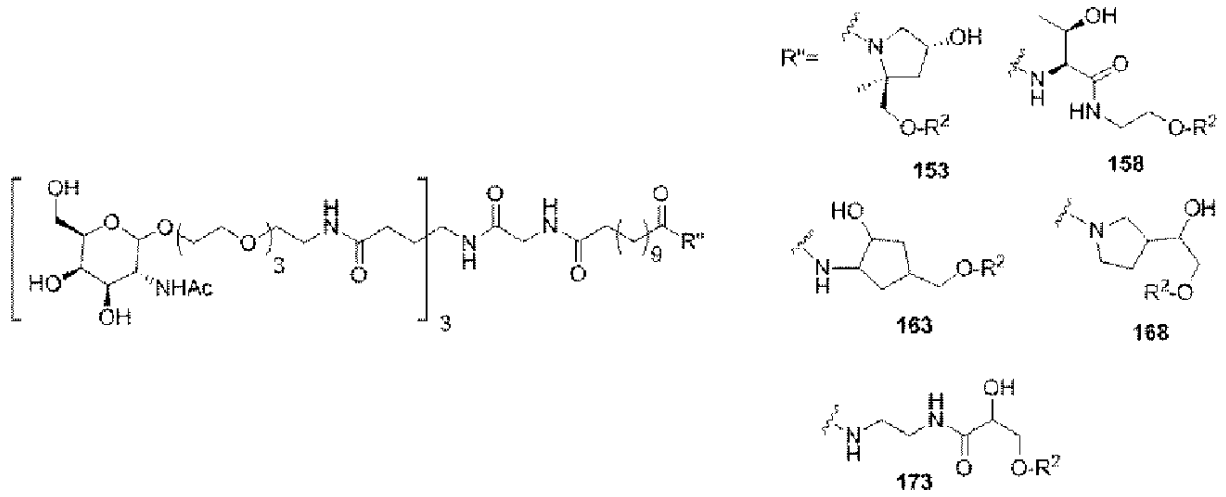
【化40】



40

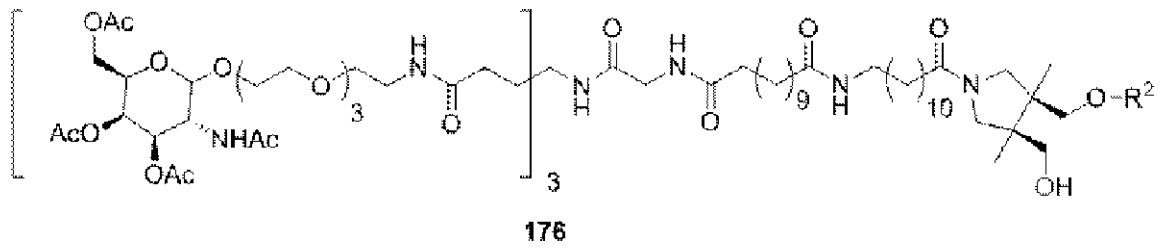
50

【化 4 1】



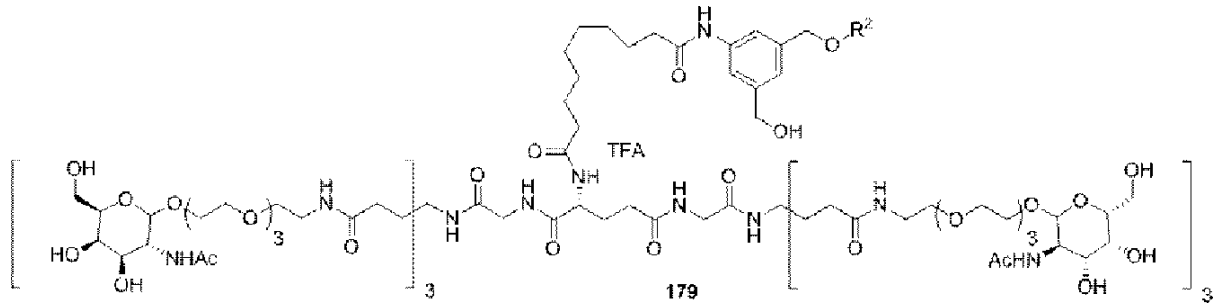
10

【化 4 2】



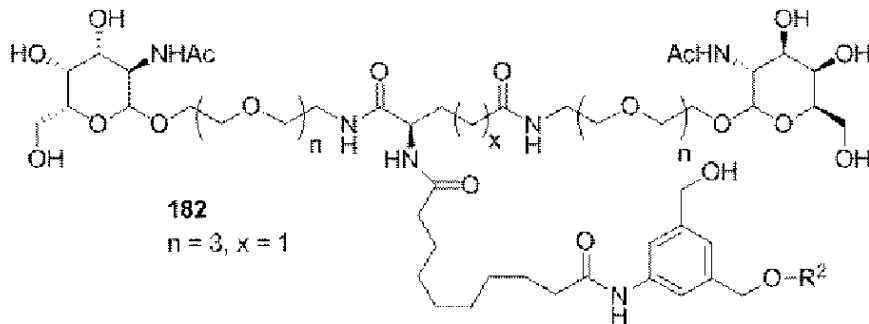
20

【化 4 3】



30

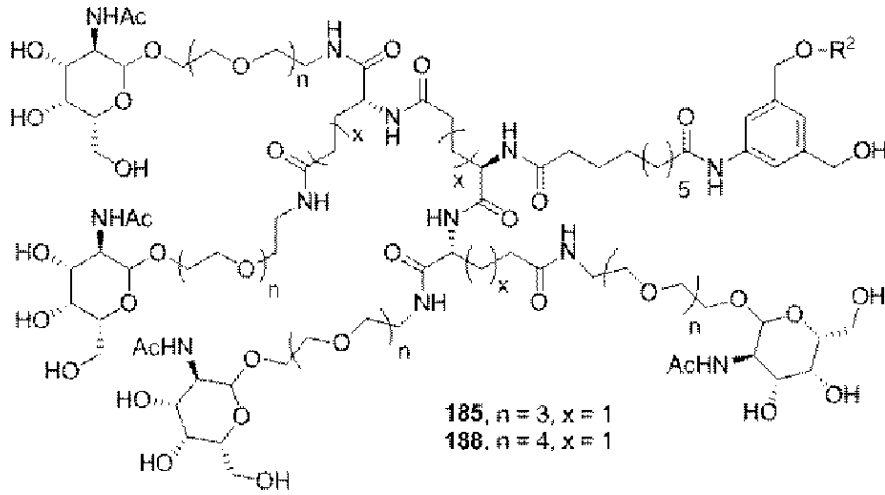
【化 4 4】



40

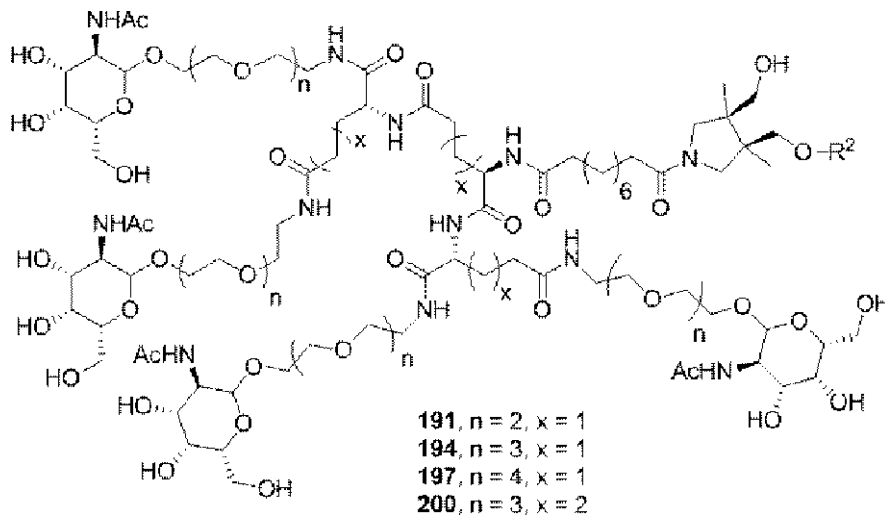
50

【化 4 5】



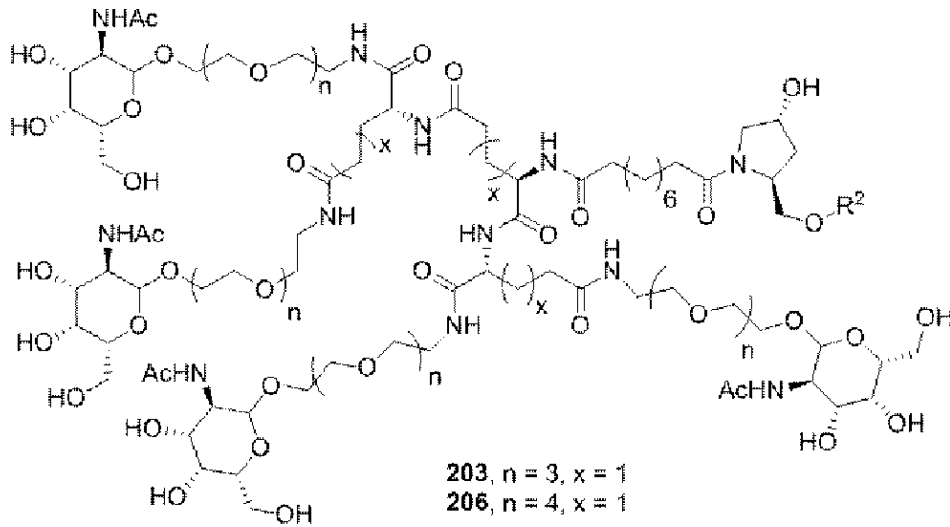
10

【化 4 6】



20

【化 4 7】

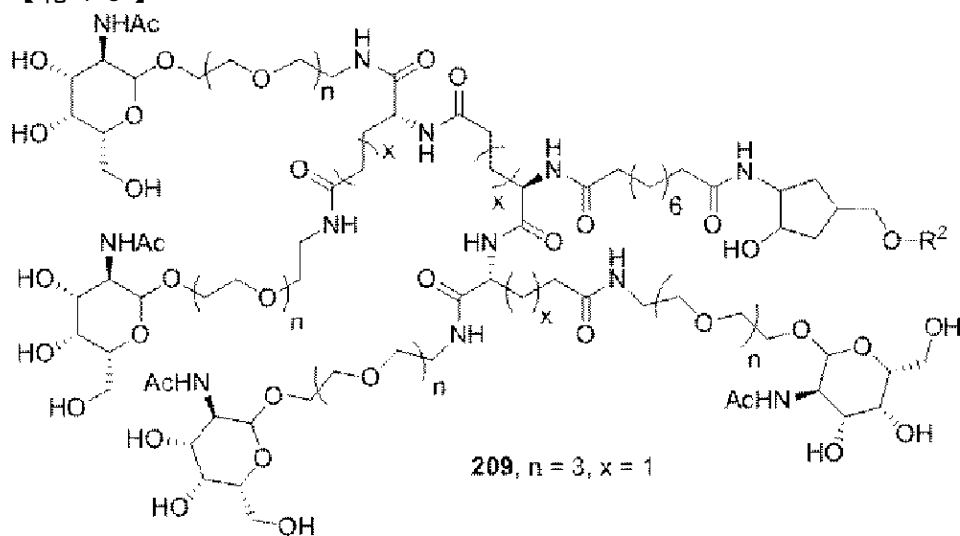


30

40

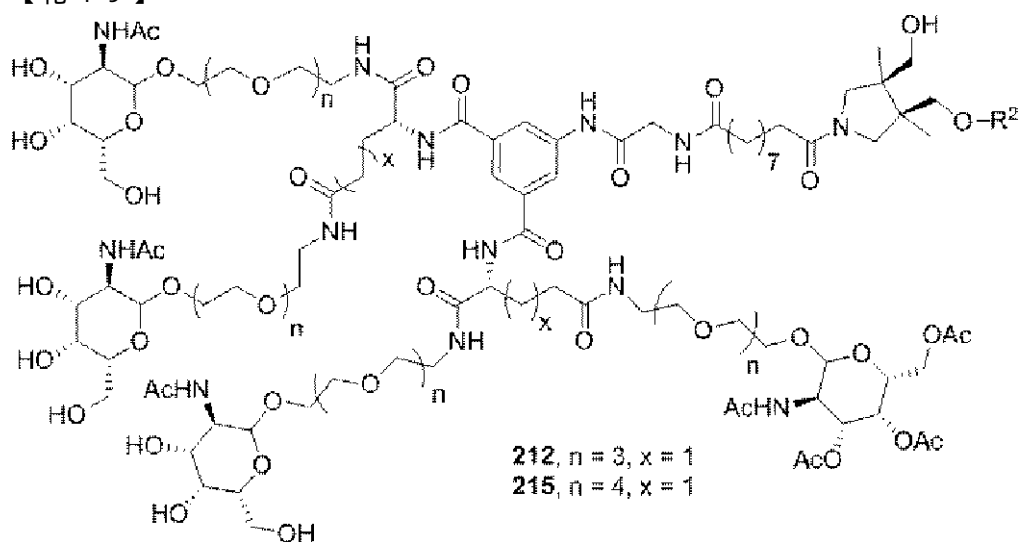
50

【化 4 8】



10

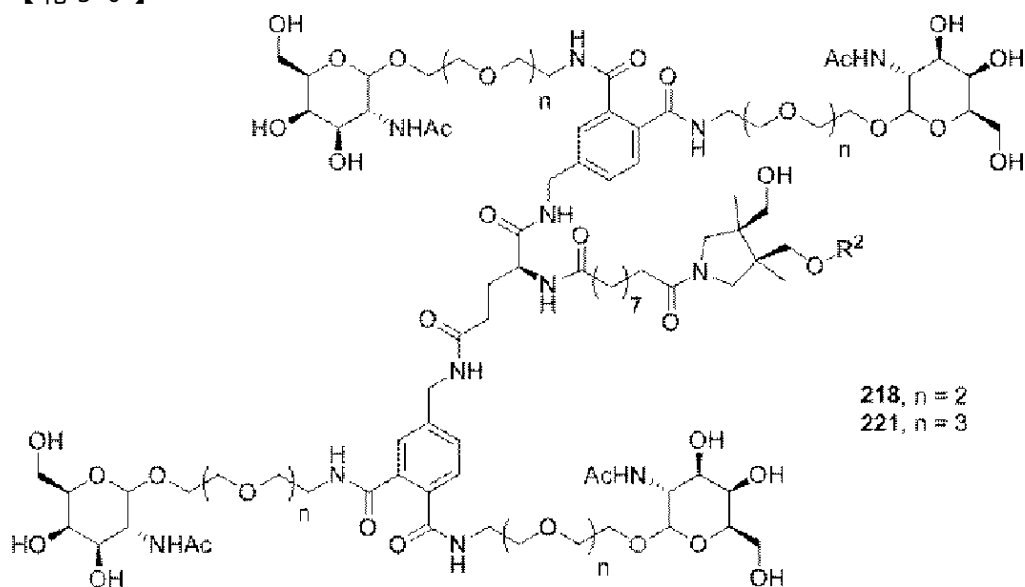
【化 4 9】



20

30

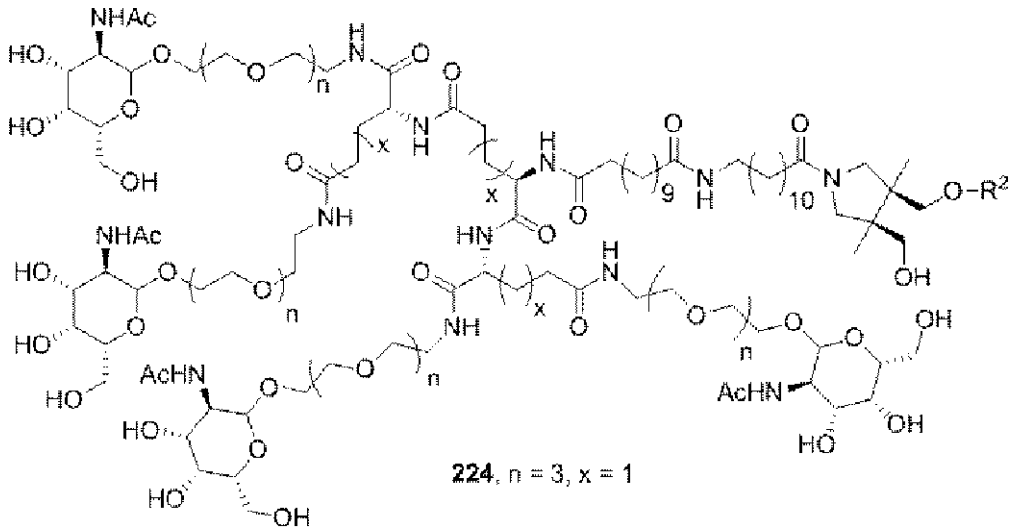
【化 5 0】



40

50

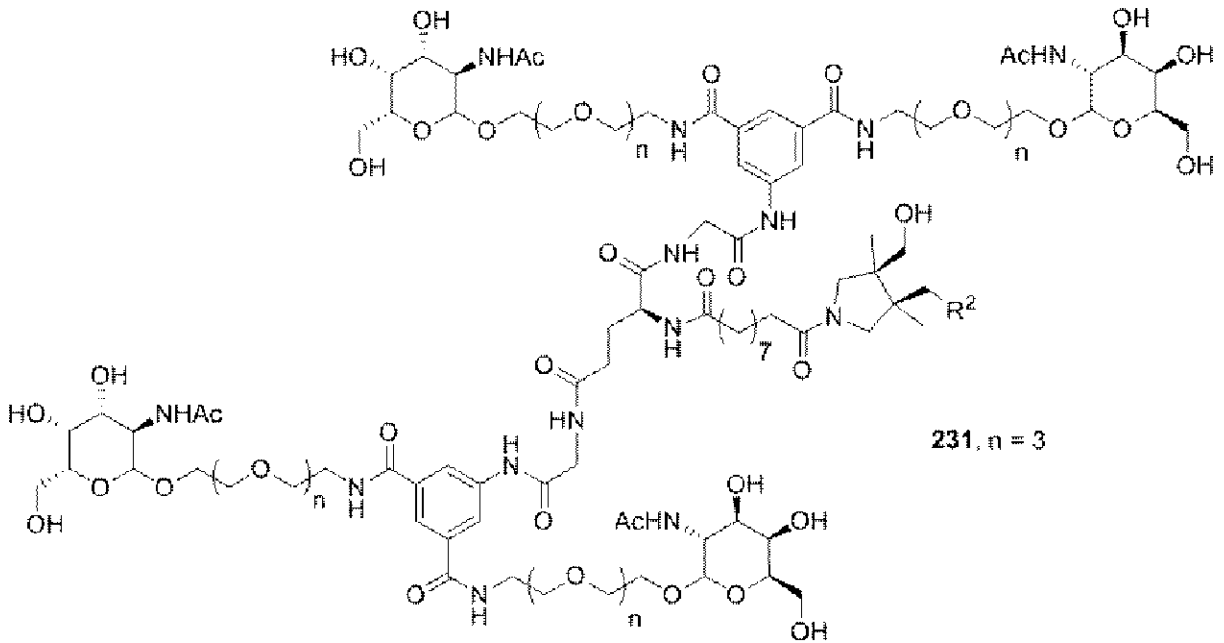
【化 5 1】



10

、及び

【化 5 2】



20

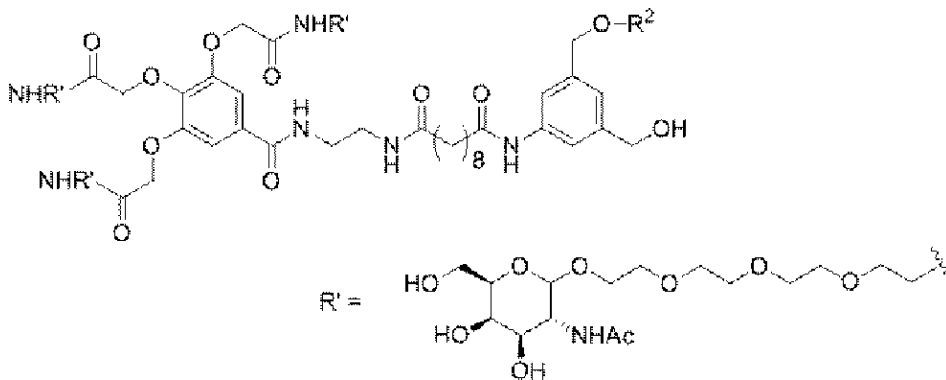
30

からなる群から選択される。

【 0 1 2 5】

一実施形態において、式 I の化合物またはその塩は、

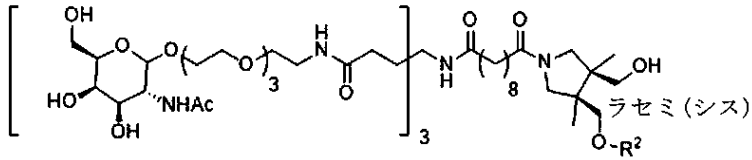
【化 5 3】



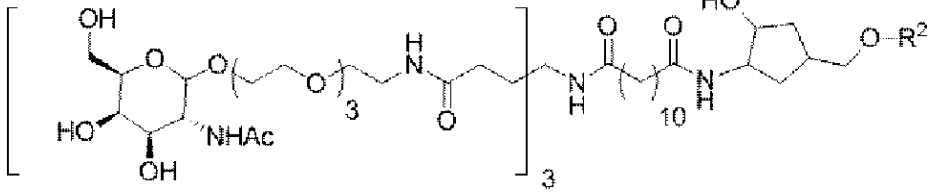
40

50

【化54】

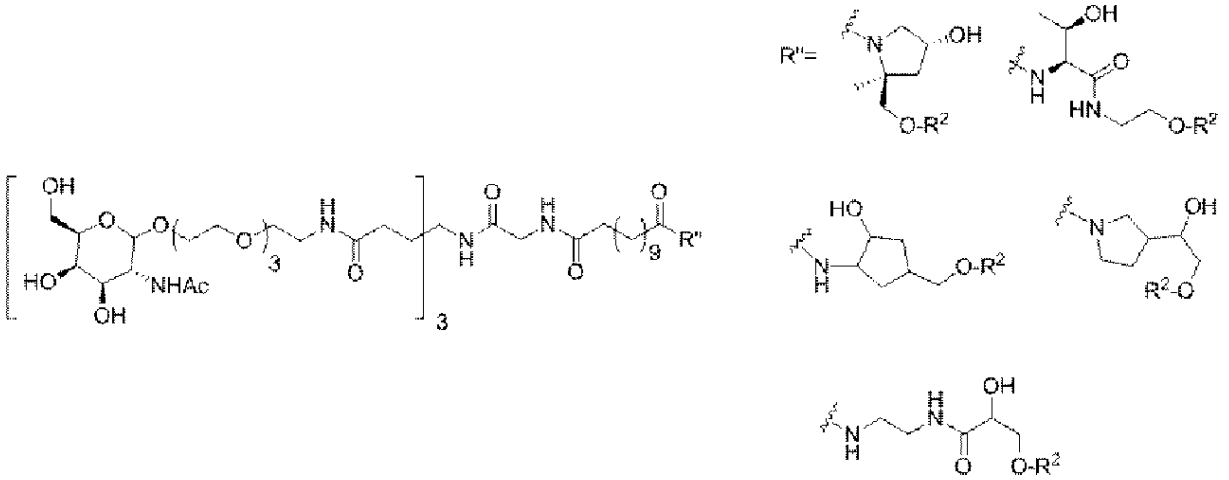


【化55】



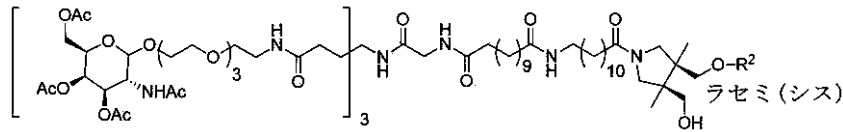
10

【化56】



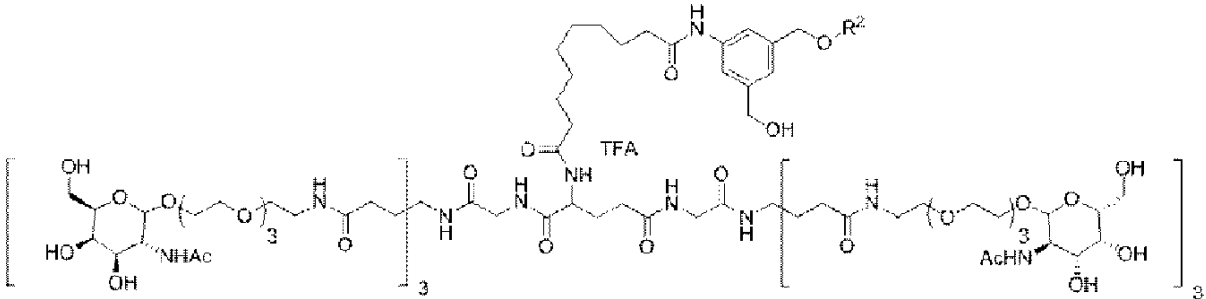
20

【化57】



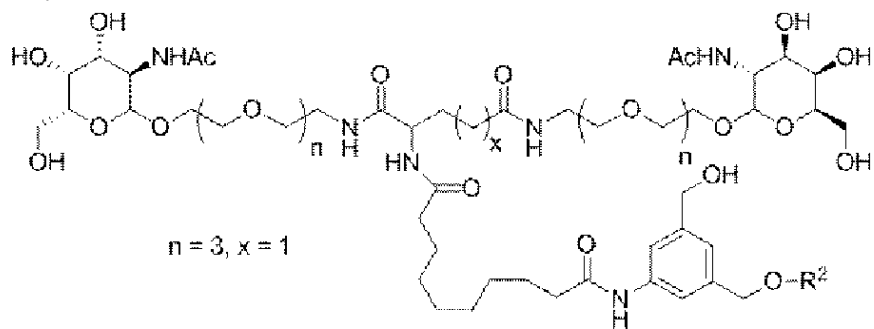
30

【化58】



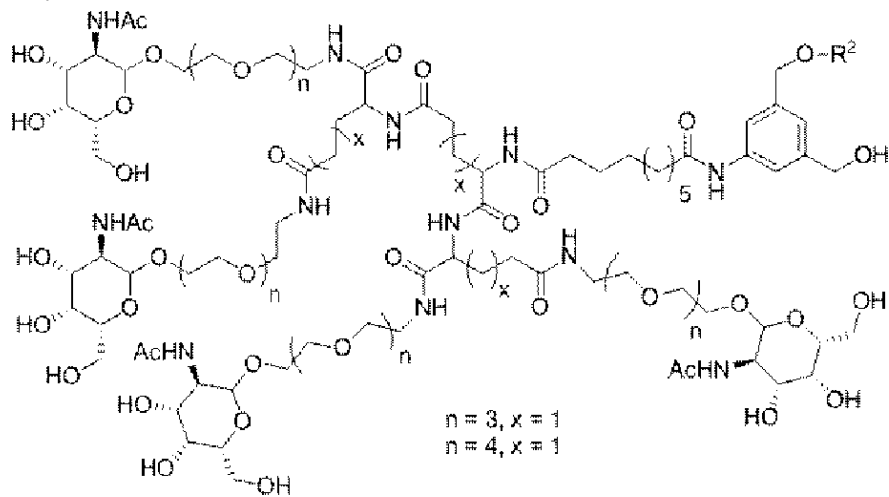
40

【化 5 9】



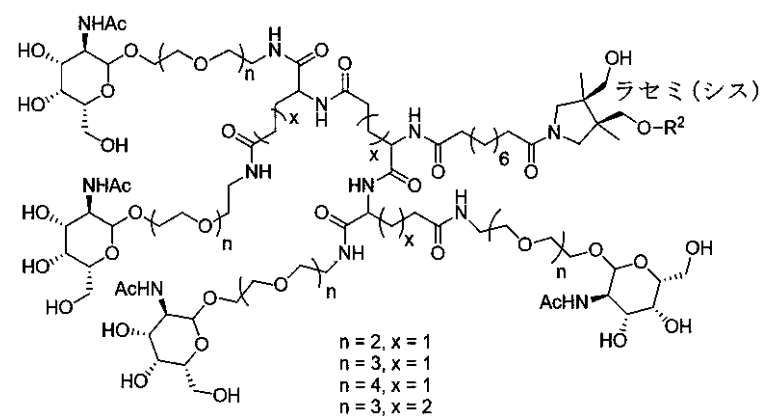
10

【化 6 0】



20

【化 6 1】

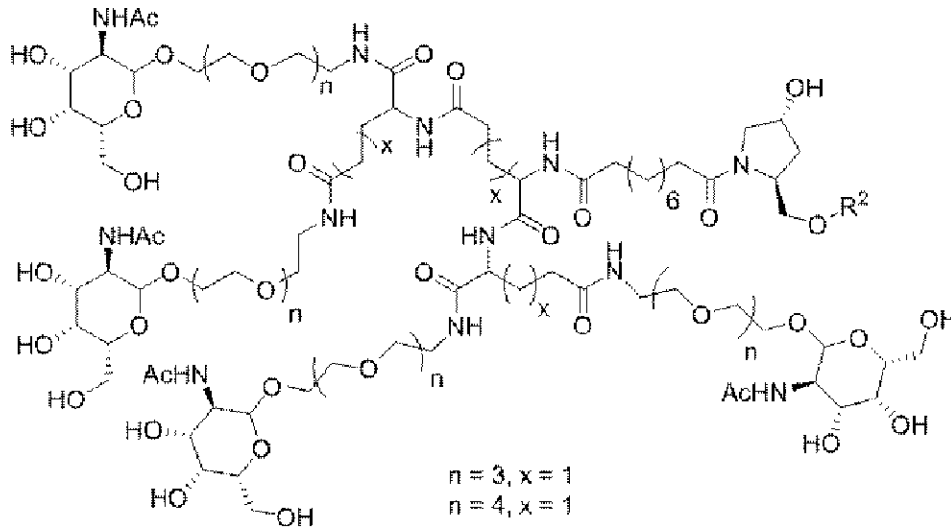


30

40

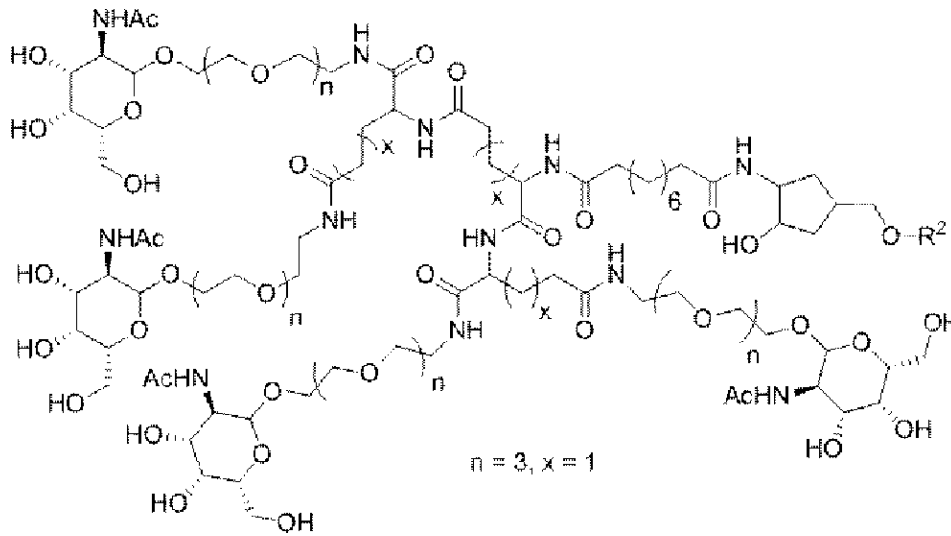
50

【化 6 2】



10

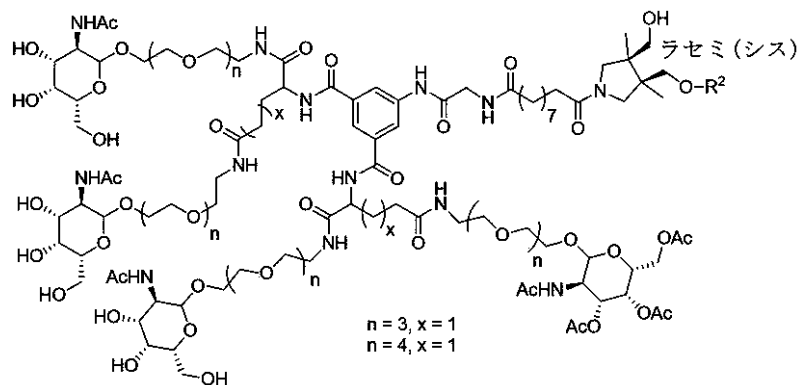
【化 6 3】



20

30

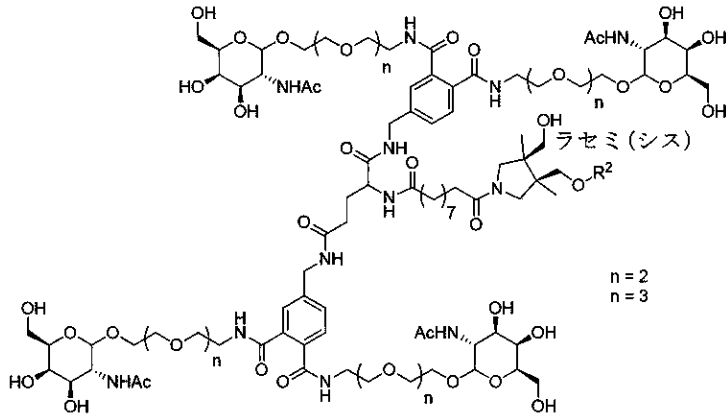
【化 6 4】



40

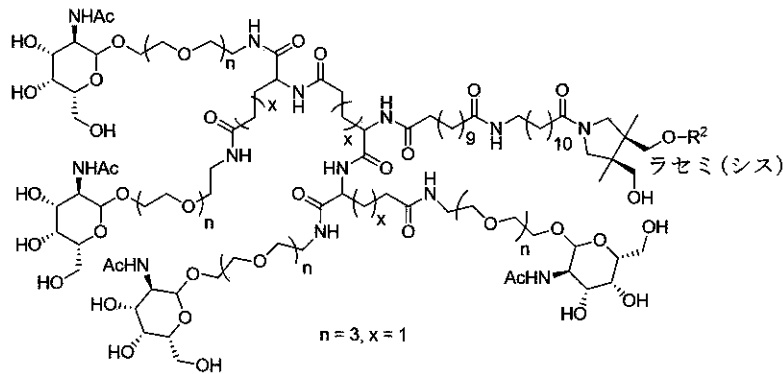
50

【化 6 5】



10

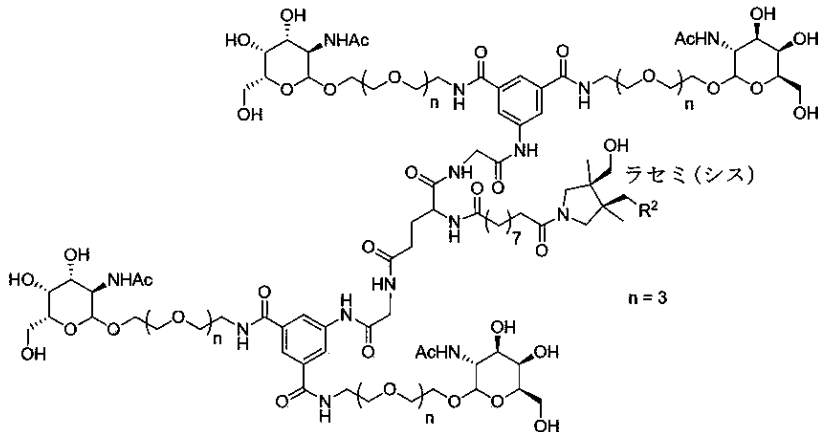
【化 6 6】



20

及び

【化 6 7】



30

またはそれらの薬学的に許容される塩からなる群から選択され、
 式中、 R^2 は、表 1 の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である。

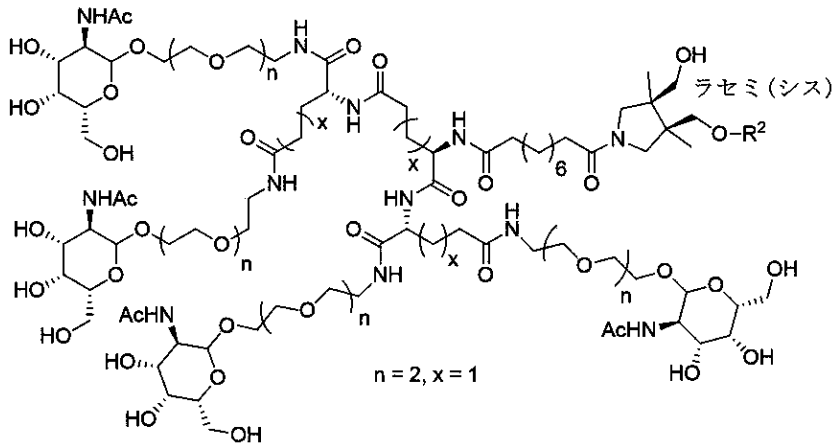
40

【 0 1 2 6】

一実施形態において、式 I の化合物は、

50

【化68】



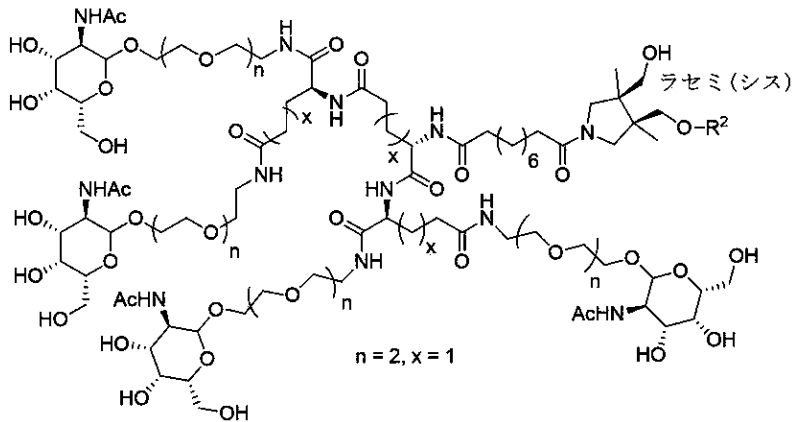
10

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 siRNA 分子（例えば、表1の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子）である。

【0127】

一実施形態において、式Iの化合物は、

【化69】



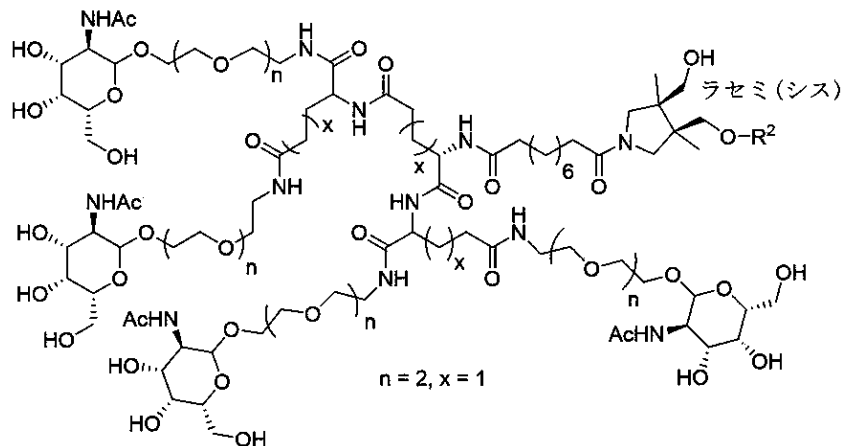
20

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 siRNA 分子（例えば、表1の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子）である。

【0128】

一実施形態において、式Iの化合物は、

【化70】



40

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 siRNA 分子（例えば

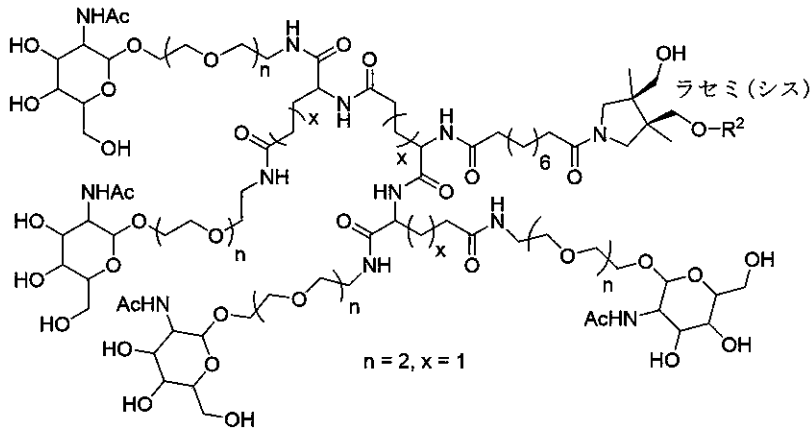
50

、表 1 の二本鎖 *siRNA* 分子から選択される二本鎖 *siRNA* 分子)である。

【 0 1 2 9 】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【化 7 1】



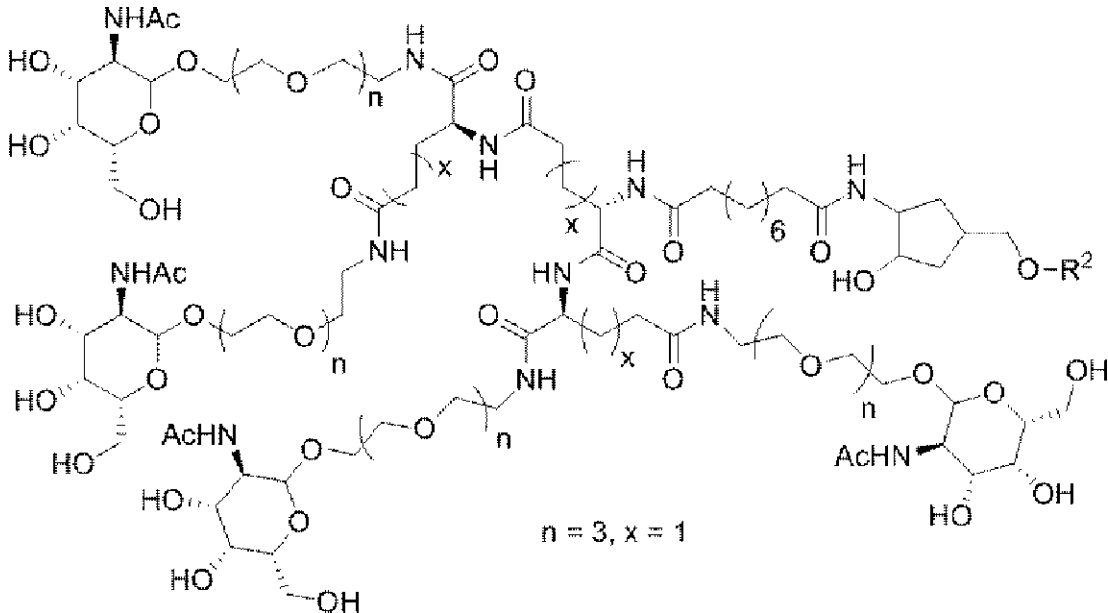
10

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 *siRNA* 分子 (例えば、表 1 の二本鎖 *siRNA* 分子から選択される二本鎖 *siRNA* 分子)である。

【 0 1 3 0 】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【化 7 2】



30

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 *siRNA* 分子 (例えば、表 1 の二本鎖 *siRNA* 分子から選択される二本鎖 *siRNA* 分子)である。

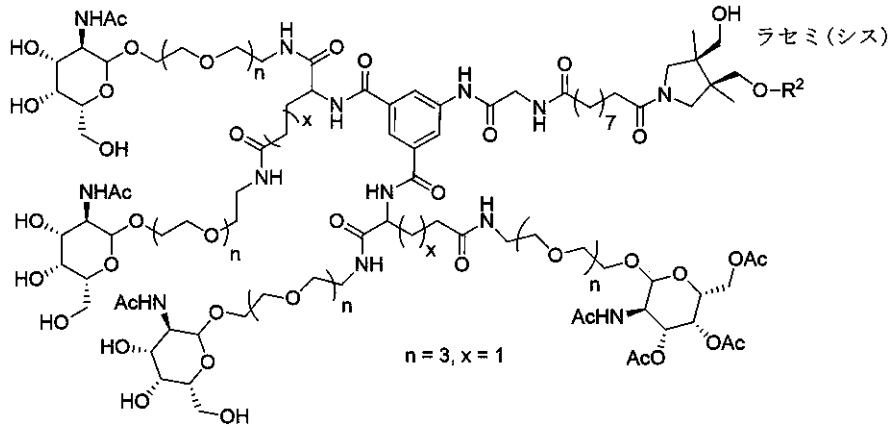
【 0 1 3 1 】

一実施形態において、式 I の化合物は、

40

50

【化73】



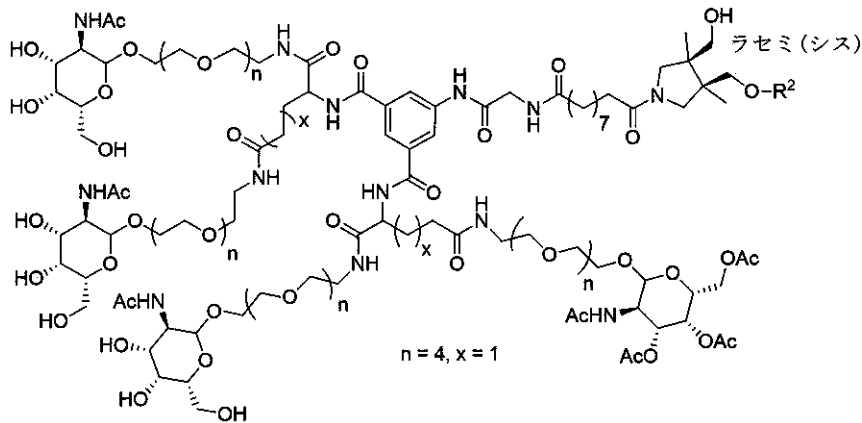
10

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 siRNA 分子（例えば、表 1 の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子）である。

【0132】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【化74】



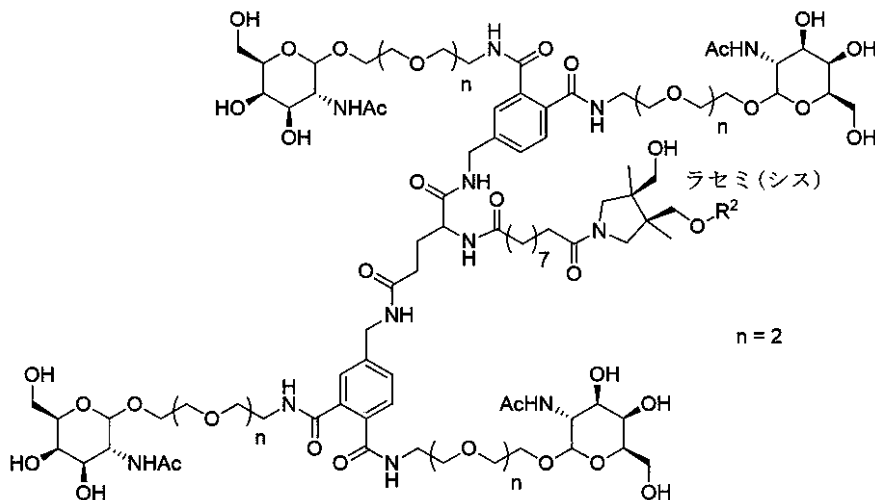
20

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 siRNA 分子（例えば、表 1 の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子）である。

【0133】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【化75】



40

またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 siRNA 分子（例えば

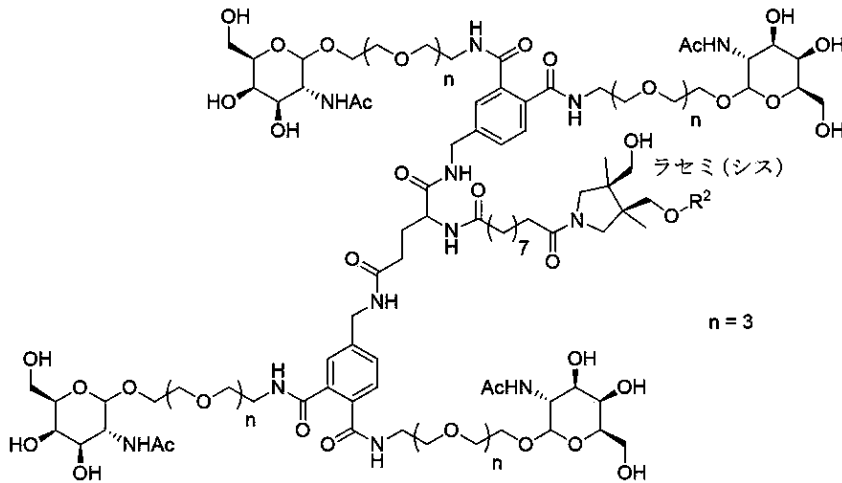
50

、表 1 の二本鎖 s i R N A 分子から選択される二本鎖 s i R N A 分子) である。

【 0 1 3 4 】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【 化 7 6 】



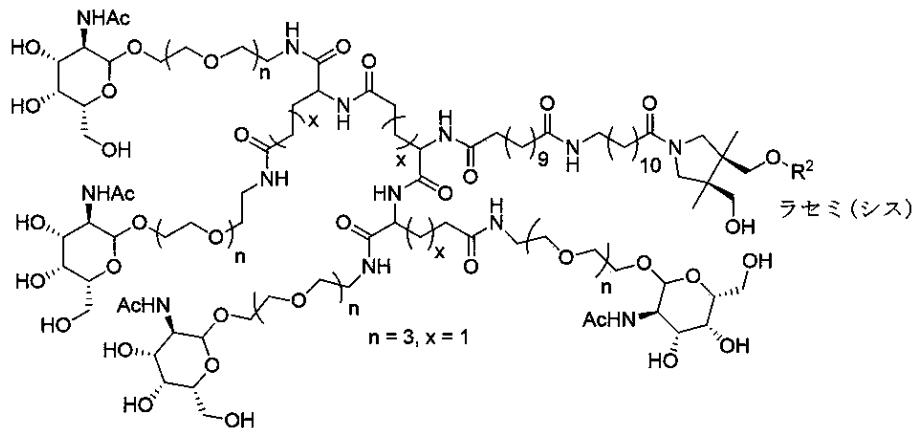
またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 s i R N A 分子 (例えば、表 1 の二本鎖 s i R N A 分子から選択される二本鎖 s i R N A 分子) である。

20

【 0 1 3 5 】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【 化 7 7 】



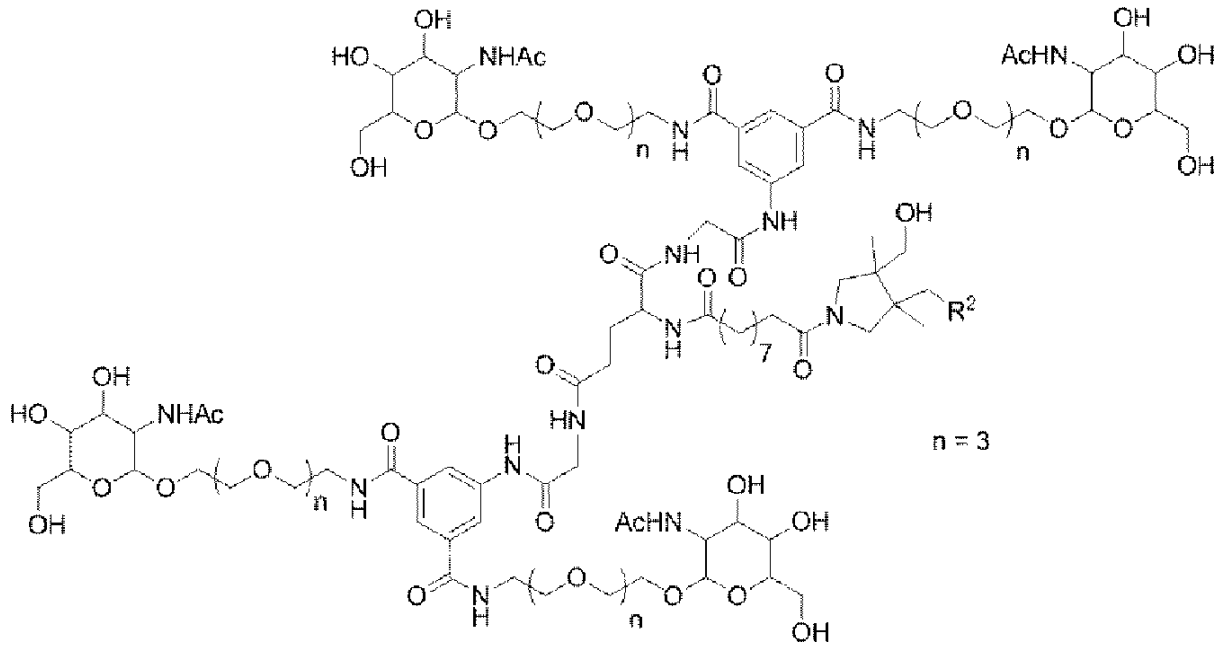
またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 s i R N A 分子 (例えば、表 1 の二本鎖 s i R N A 分子から選択される二本鎖 s i R N A 分子) である。

【 0 1 3 6 】

一実施形態において、式 I の化合物は、

40

【化 8 0】



10

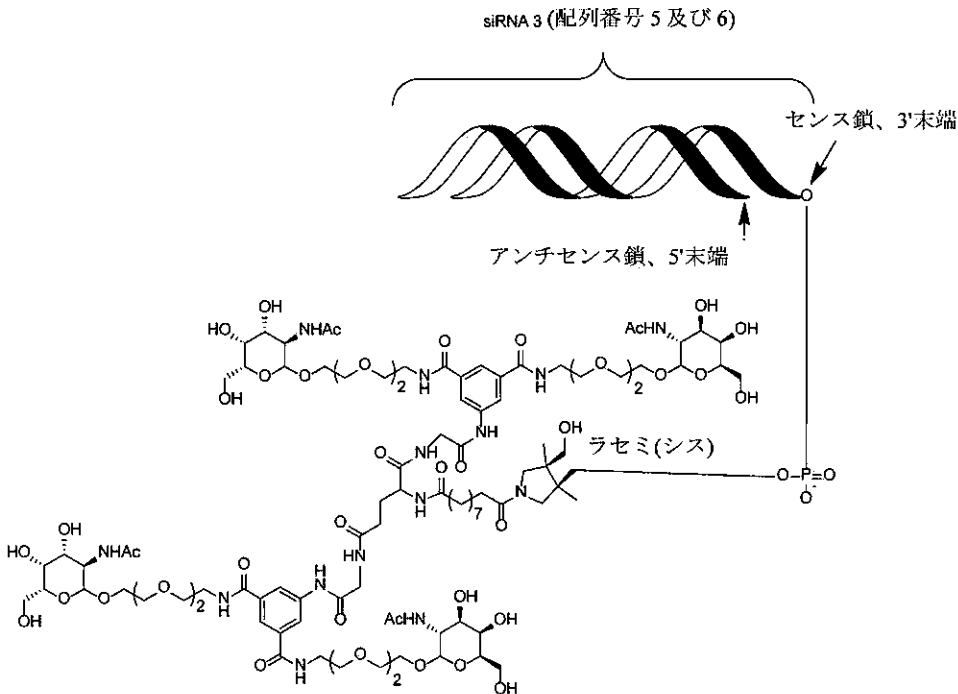
またはその薬学的に許容される塩であり、式中、 R^2 は、二本鎖 siRNA 分子（例えば、表 1 の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子）である。

20

【 0 1 3 9】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【化 8 1】



30

40

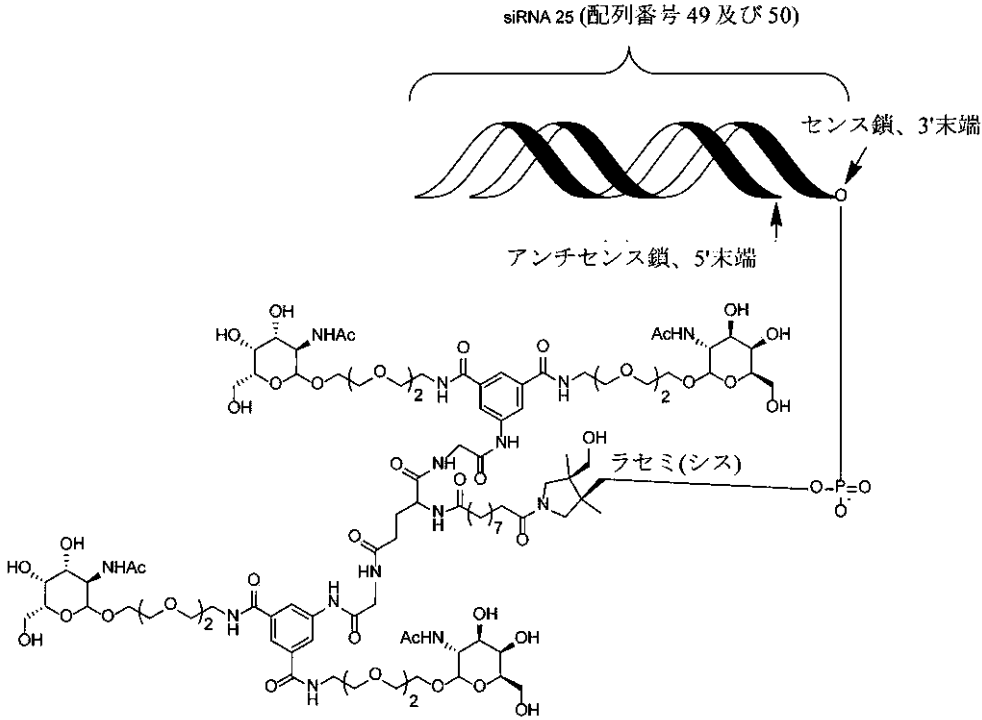
またはその薬学的に許容される塩である。

【 0 1 4 0】

一実施形態において、式 I の化合物は、

50

【化 8 2】

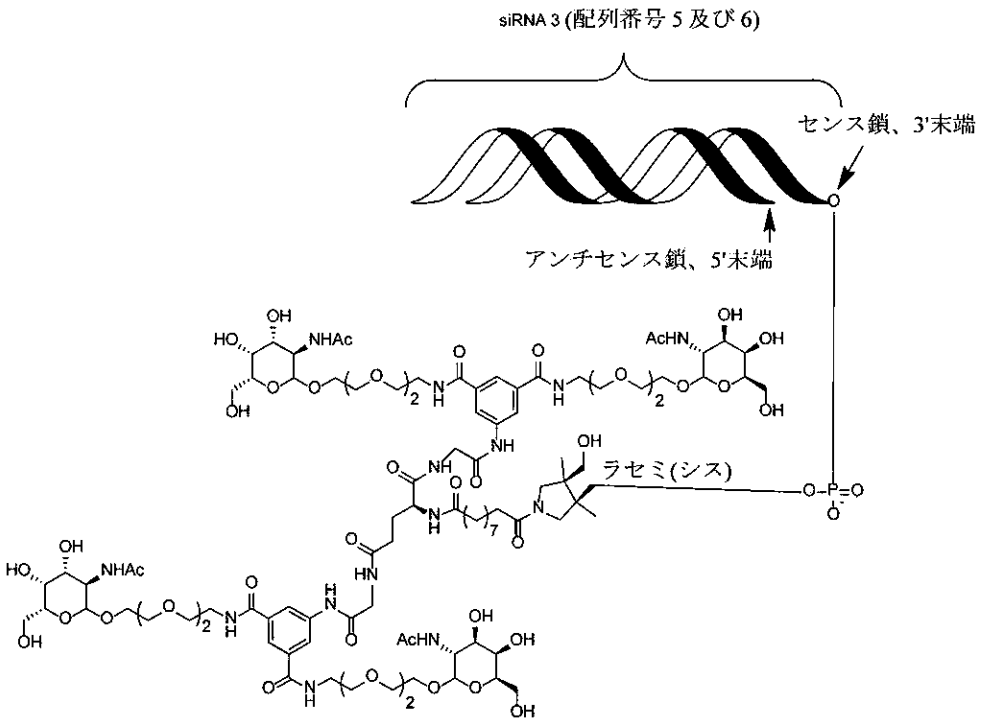


またはその薬学的に許容される塩である。

【 0 1 4 1】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【化 8 3】

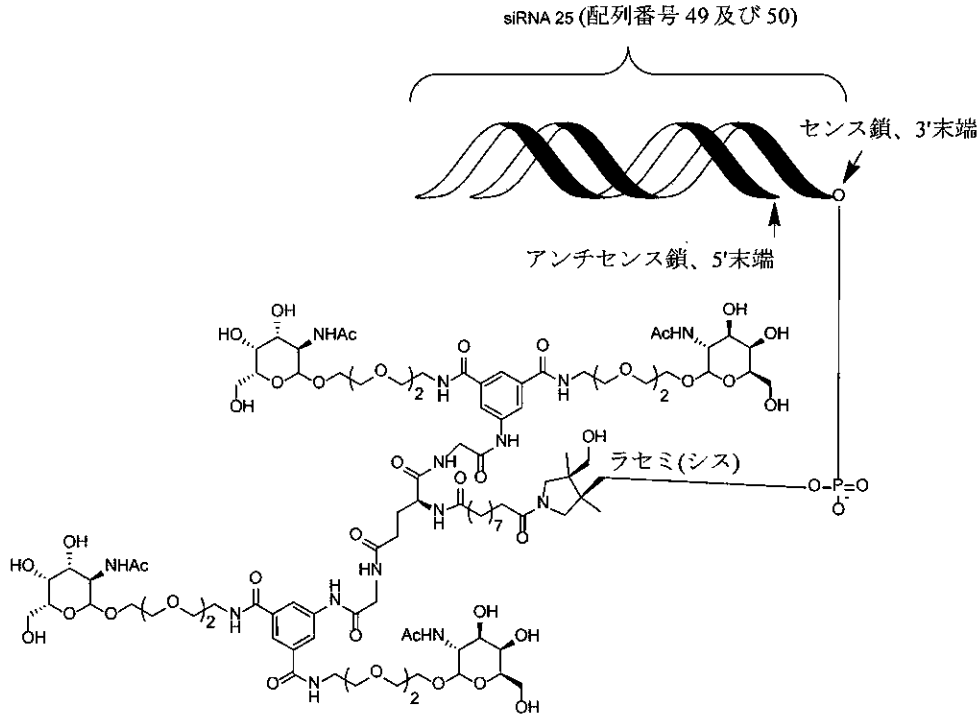


またはその薬学的に許容される塩である。

【 0 1 4 2】

一実施形態において、式 I の化合物は、

【化 8 4】



10

20

またはその薬学的に許容される塩である。

【 0 1 4 3】

一実施形態において、式 I の化合物は、

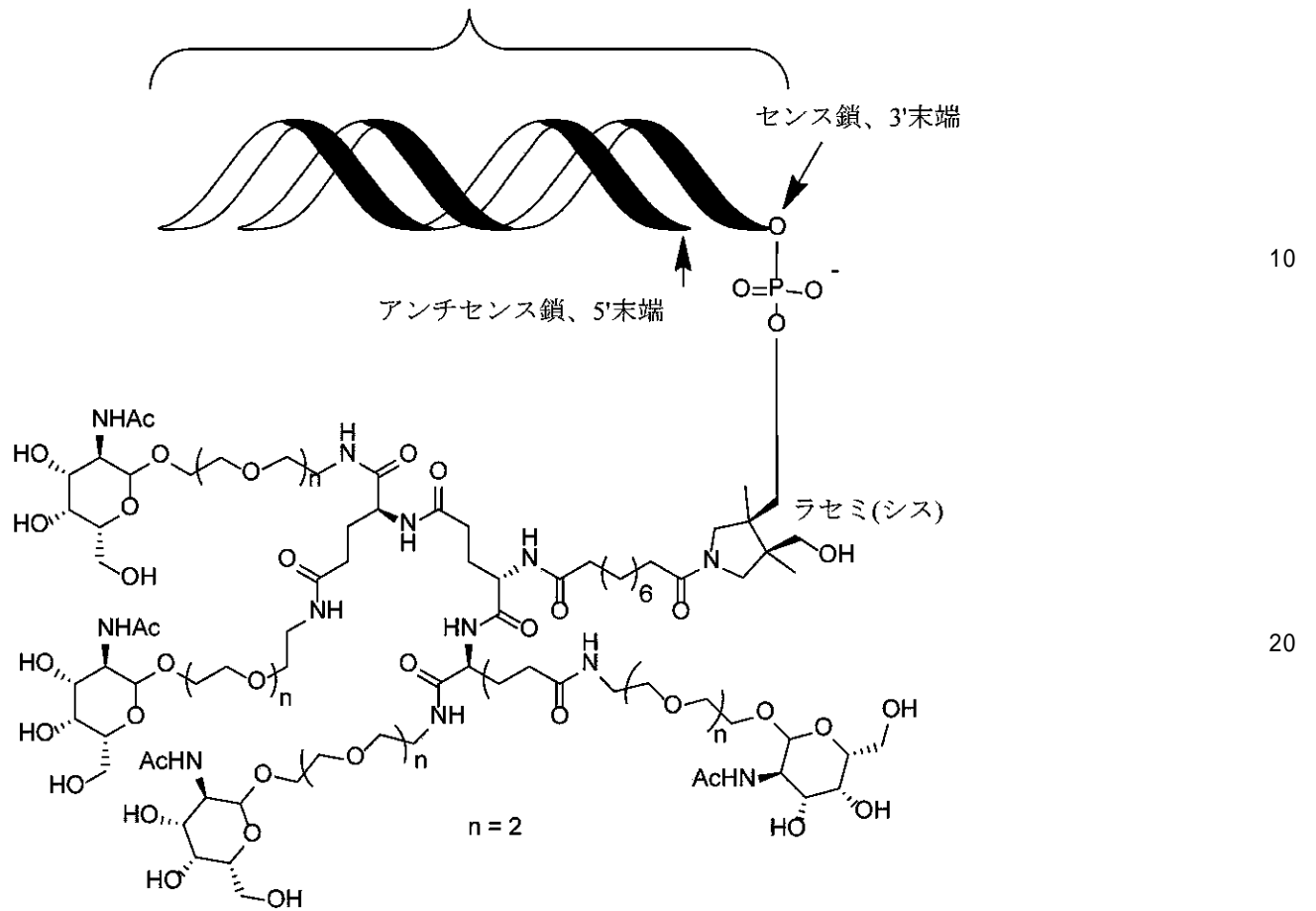
30

40

50

【化 8 5】

siRNA 3 (配列番号 5 及び 6)



またはその薬学的に許容される塩である。

【 0 1 4 4】

一実施形態において、式 I の化合物は、

10

20

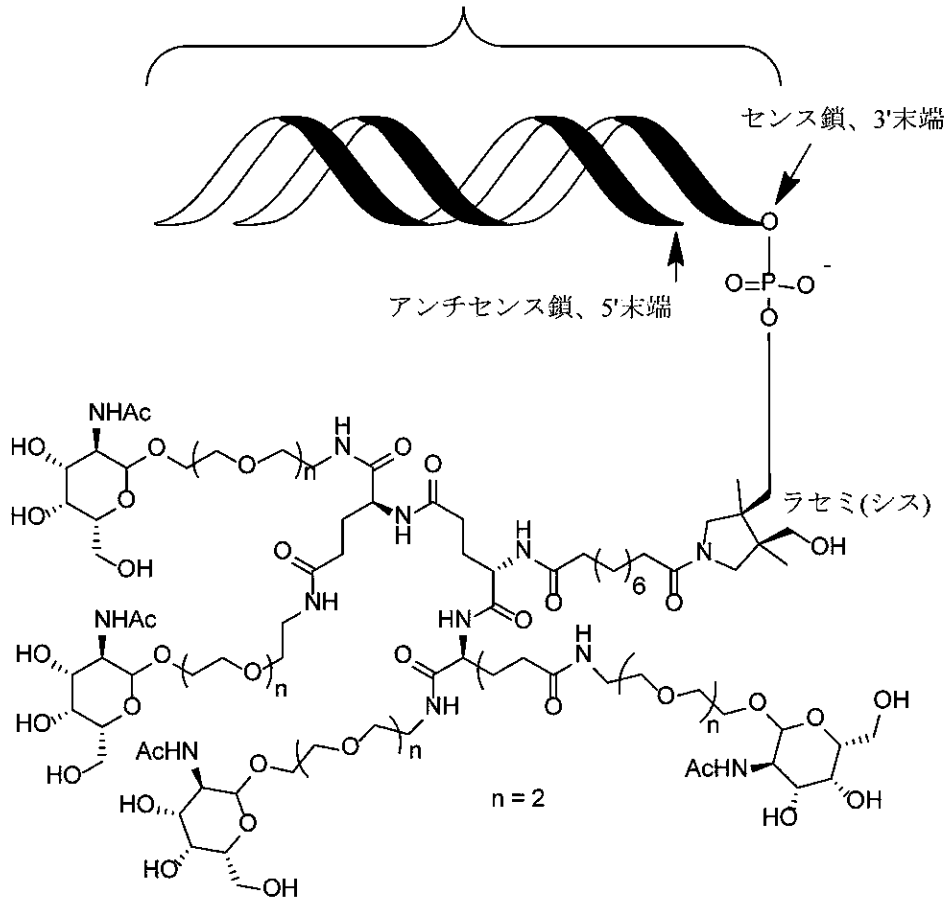
30

40

50

【化 8 6】

siRNA 25 (配列番号 49 及び 50)



10

20

またはその薬学的に許容される塩である。

30

【 0 1 4 5】

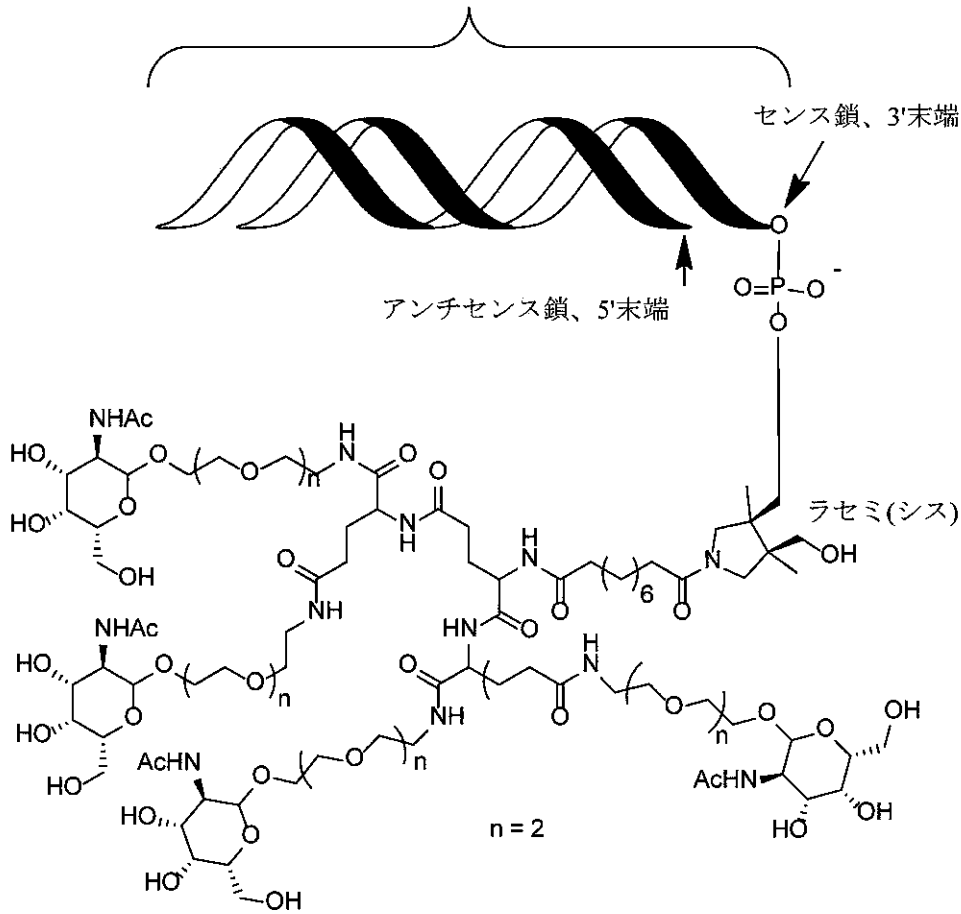
一実施形態において、式 I の化合物は、

40

50

【化 8 7】

siRNA 3 (配列番号 5 及び 6)



10

20

またはその薬学的に許容される塩である。

【 0 1 4 6】

一実施形態において、式 I の化合物は、

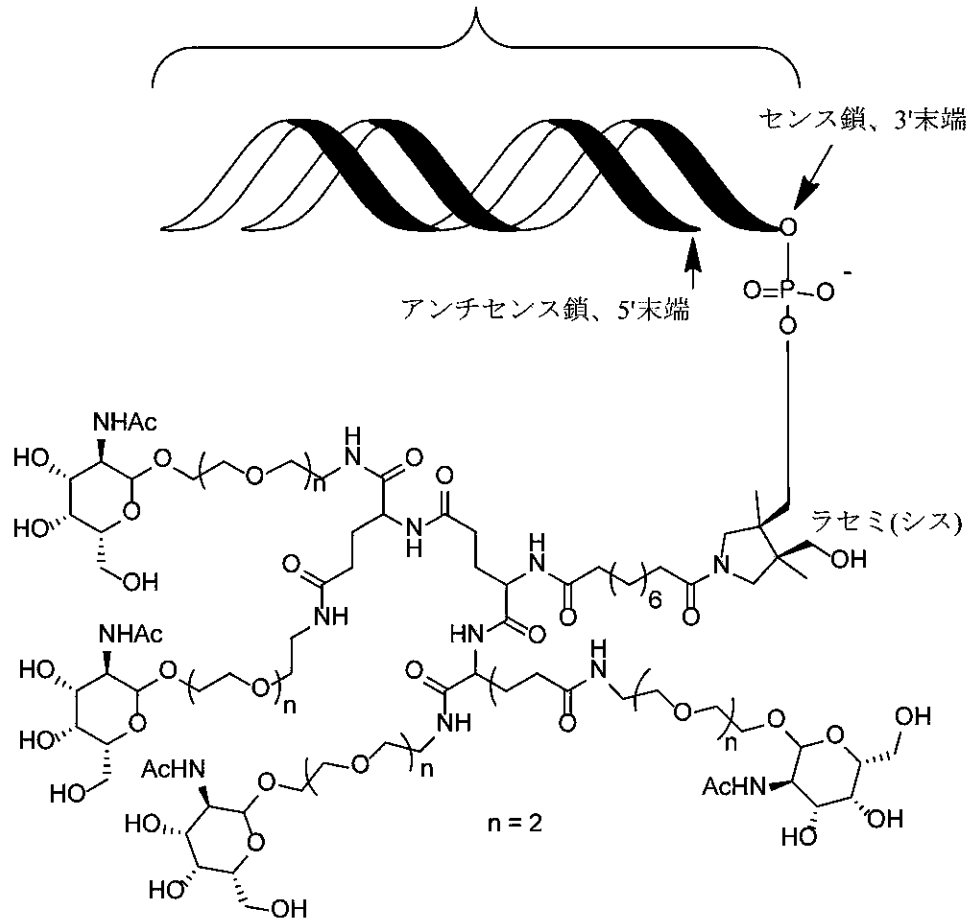
30

40

50

【化 8 8】

siRNA 25 (配列番号 49 及び 50)



10

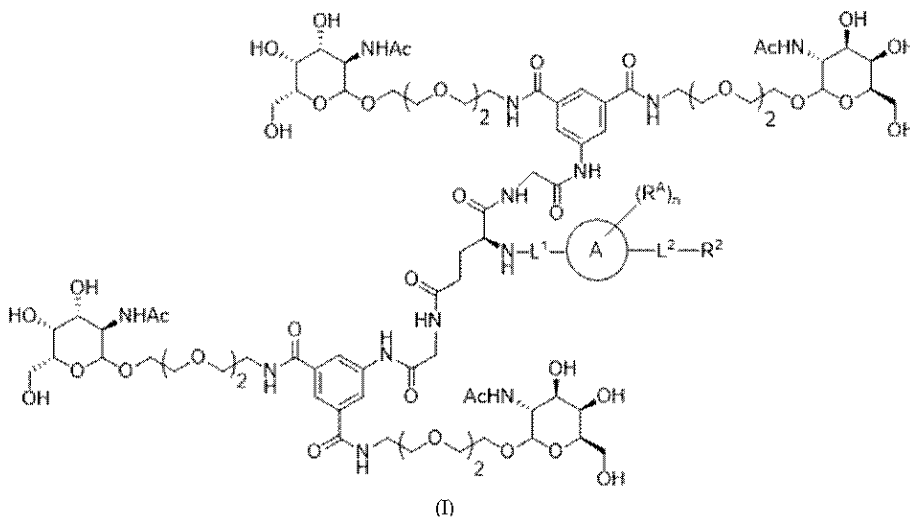
20

またはその薬学的に許容される塩である。

【 0 1 4 7】

一実施形態において、本発明は、式 (I) の化合物：

【化 8 9】



30

40

またはその塩を提供し、

式中、

L¹ は、存在しないか、または結合基であり、

L² は、存在しないか、または結合基であり、

50

R^2 は、核酸であり、

環 A は、存在しないか、3 ~ 20 員シクロアルキル、5 ~ 20 員アリール、5 ~ 20 員ヘテロアリール、または 3 ~ 20 員ヘテロシクロアルキルであり、

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$ アルキル- OR^B 、 C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルからなる群から選択され、この C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルは、ハロ、ヒドロキシ、及び C_{1-3} アルコキシから独立して選択される 1 つ以上の基で場合により置換されており、

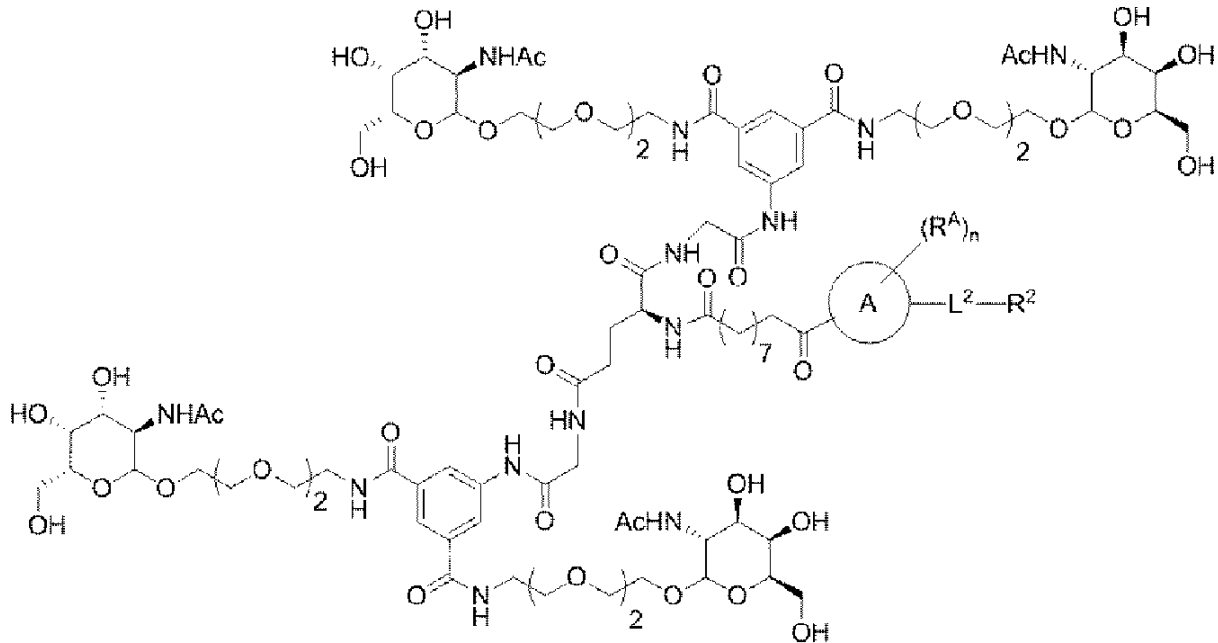
R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 である)。

【0148】

一実施形態において、本発明は、次式の化合物：

【化90】



またはその塩を提供し、

式中、

L^2 は、存在しないか、または結合基であり、

R^2 は、核酸であり、

環 A は、存在しないか、3 ~ 20 員シクロアルキル、5 ~ 20 員アリール、5 ~ 20 員ヘテロアリール、または 3 ~ 20 員ヘテロシクロアルキルであり、

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$ アルキル- OR^B 、 C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルからなる群から選択され、この C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルは、ハロ、ヒドロキシ、及び C_{1-3} アルコキシから独立して選択される 1 つ以上の基で場合により置換されており、

R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 である。

【0149】

一実施形態において、本発明は、次式の化合物：

10

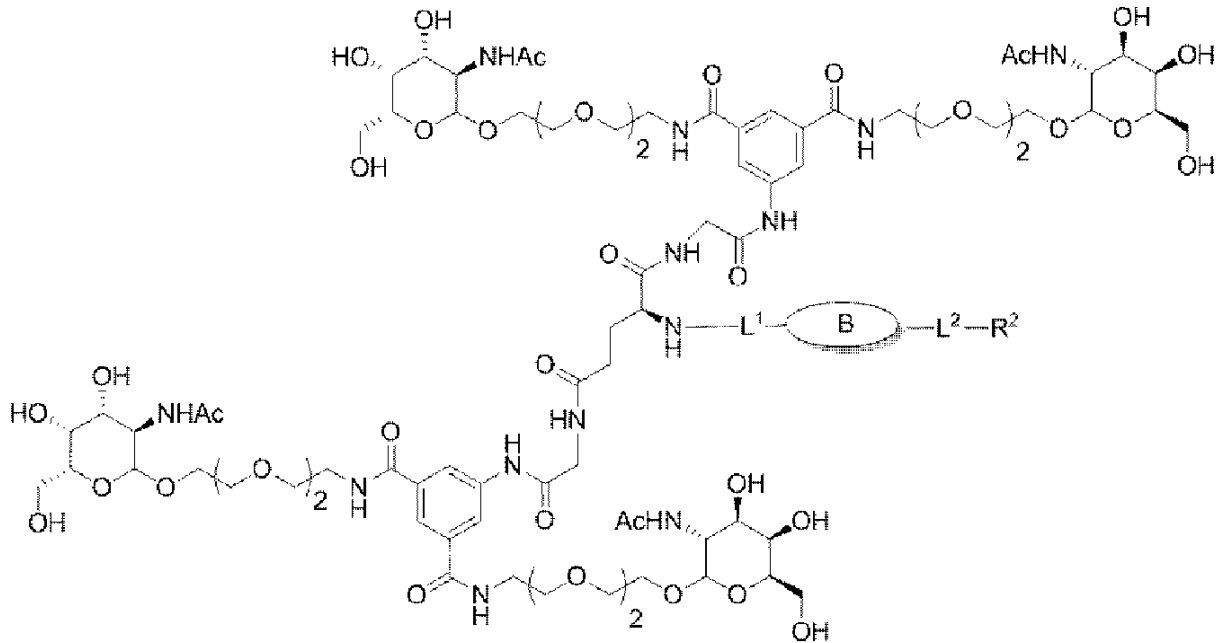
20

30

40

50

【化 9 1】



またはその塩を提供し、

式中、

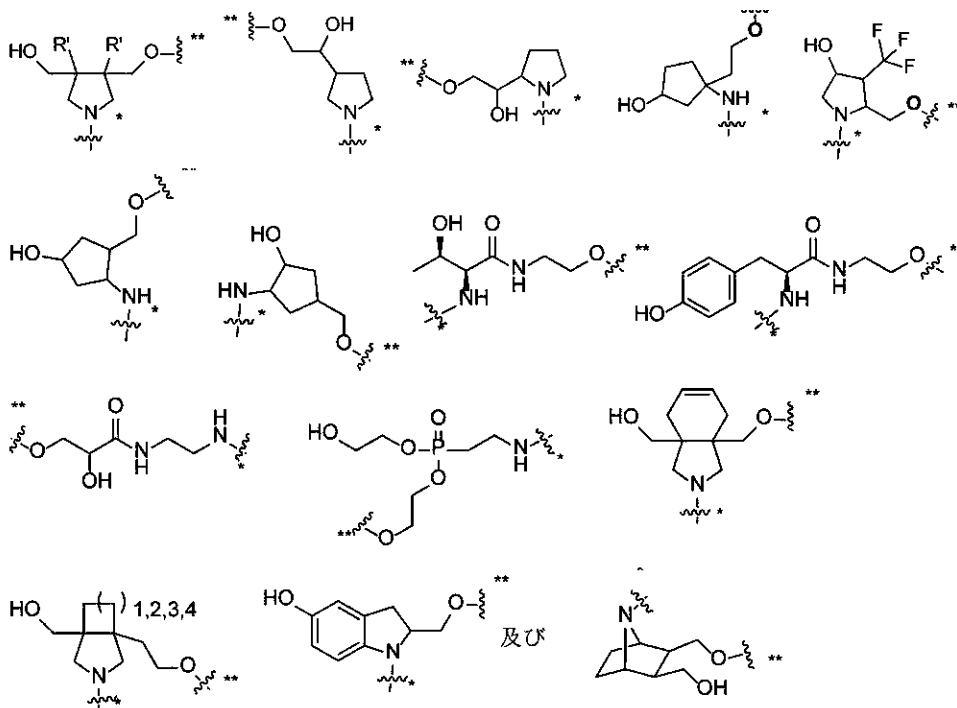
L¹ は、存在しないか、または結合基であり、

L² は、存在しないか、または結合基であり、

R² は、核酸であり、

B は、二価であり、かつ、

【化 9 2】



からなる群から選択され、ここで、

各 R¹ は、独立して、C₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルであり、このC₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルは、ハロまたはヒドロキシルで場合により置換されており、

* が付いた原子価は、L¹ に結合しているか、またはL¹ が存在しない場合はR¹ に結合し

10

20

30

40

50

ており、

* * が付いた原子価は、 L^2 に結合しているか、または L^2 が存在しない場合は R^2 に結合している。

【0150】

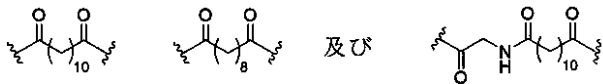
一実施形態において、 L^1 及び L^2 は、独立して、1 ~ 50 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、 $-O-$ 、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 、または $-S-$ で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または ($C1 \sim C6$) アルキルであり、炭化水素鎖は、($C1 \sim C6$) アルコキシ、($C3 \sim C6$) シクロアルキル、($C1 \sim C6$) アルカノイル、($C1 \sim C6$) アルカノイルオキシ、($C1 \sim C6$) アルコキシカルボニル、($C1 \sim C6$) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上の置換基で場合により置換されている。

10

【0151】

一実施形態において、 L^1 は、

【化93】



20

またはそれらの塩からなる群から選択される。

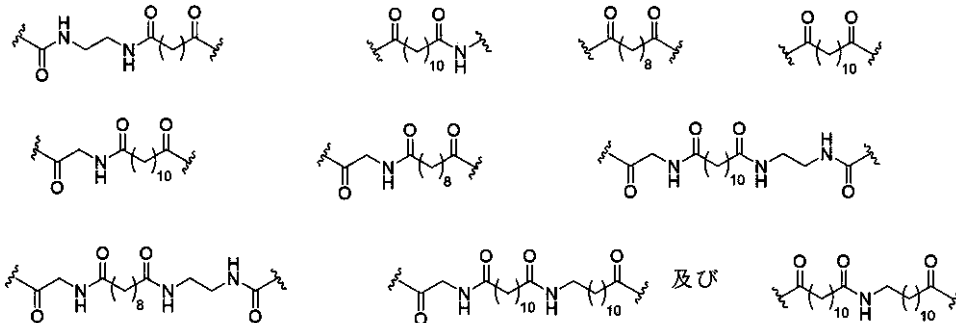
【0152】

一実施形態において、 L^1 は、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-(C=O)-$ 、 $-(C=O)-NH-$ 、 $-NH-(C=O)-$ 、 $-(C=O)-O-$ 、 $-NH-(C=O)-NH-$ 、または $-NH-(SO_2)-$ からなる群から選択される結合を介して B^1 に結合している。

【0153】

一実施形態において、 L^1 は、

【化94】



30

からなる群から選択される。

【0154】

一実施形態において、 L^2 は、 $-O-$ を介して R^2 に結合している。

40

【0155】

一実施形態において、 L^2 は、ヒドロキシで場合により置換されている $C1 \sim 4$ アルキレン $-O-$ である。

【0156】

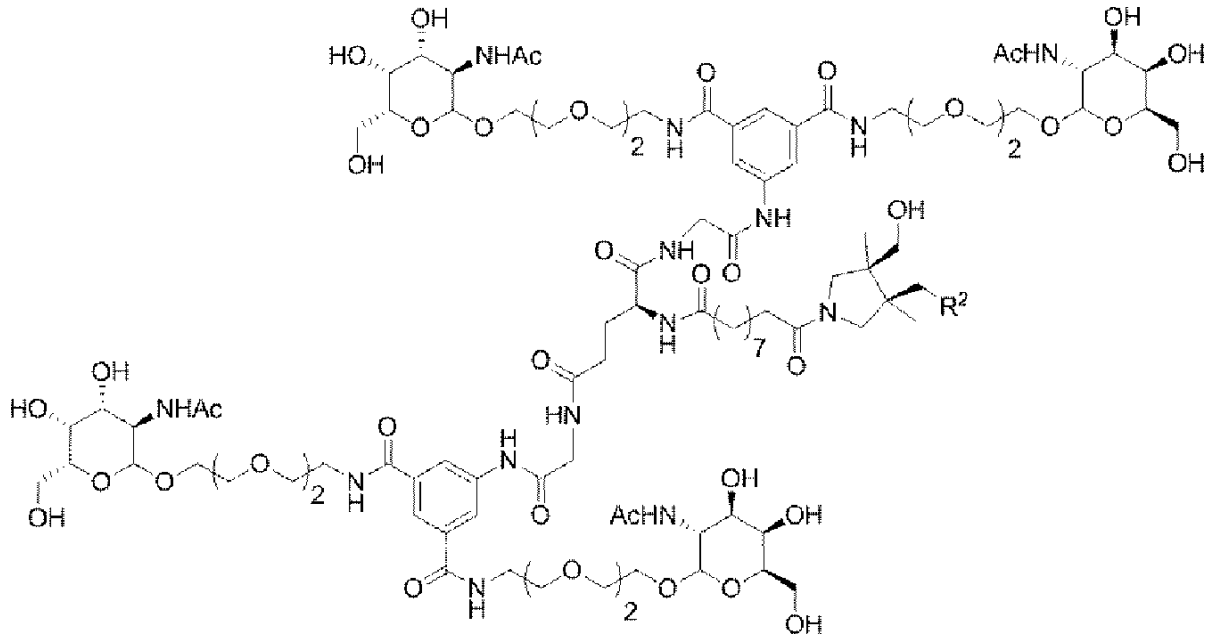
一実施形態において、 L^2 は存在しない。

【0157】

一実施形態において、本発明は、化合物

50

【化 9 5】



10

またはその塩を提供し、式中、 R^2 は核酸である。

【0158】

20

本発明の一態様は、式 I の化合物、及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物である。

【0159】

本発明の別の態様は、動物の肝臓に二本鎖 siRNA を送達する方法であって、式 I の化合物またはその薬学的に許容される塩を動物に投与することを含む、方法である。

【0160】

本発明の別の態様は、動物の疾患または障害（例えば、肝臓病、または B 型肝炎ウイルス感染などのウイルス感染）を処置する方法であって、式 I の化合物またはその薬学的に許容される塩を動物に投与することを含む、方法である。

【0161】

30

本発明のある特定の実施形態は、医学療法に使用するための、式 (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩を提供する。

【0162】

本発明のある特定の実施形態は、動物の疾患または障害（例えば、肝臓病、または B 型肝炎ウイルス感染などのウイルス感染）の予防処置または治療処置のための、式 (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩を提供する。

【0163】

本発明のある特定の実施形態は、動物の疾患または障害（例えば、肝臓病、または B 型肝炎ウイルス感染などのウイルス感染）を処置するための薬物を調製するための、式 (I) の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。

40

【0164】

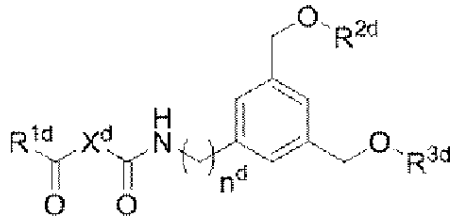
ある特定の実施形態において、動物は、ヒト（例えば、HBV 感染患者）などの哺乳動物である。

【0165】

一実施形態において、式 I の化合物は、次式 (I d) :

50

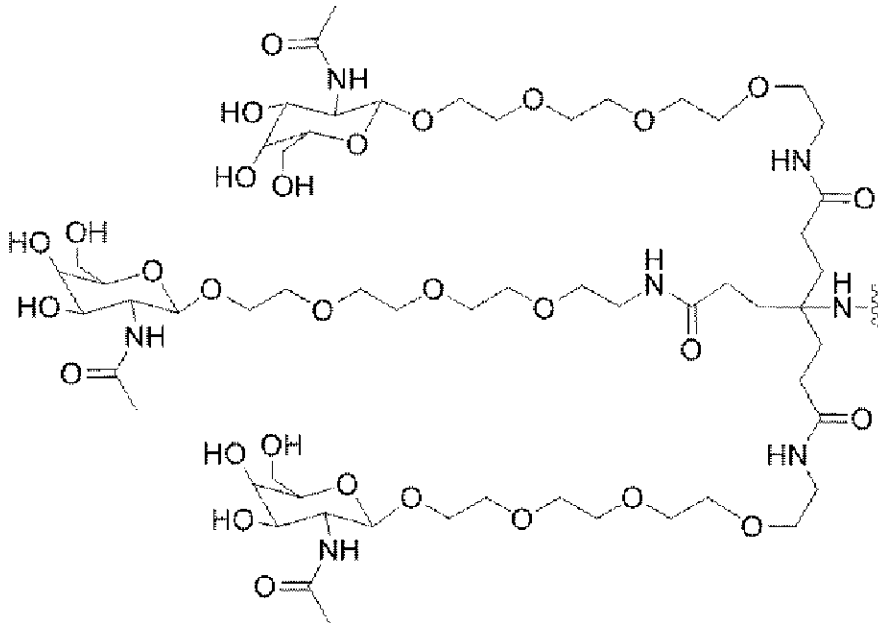
【化 9 6】



(I d)

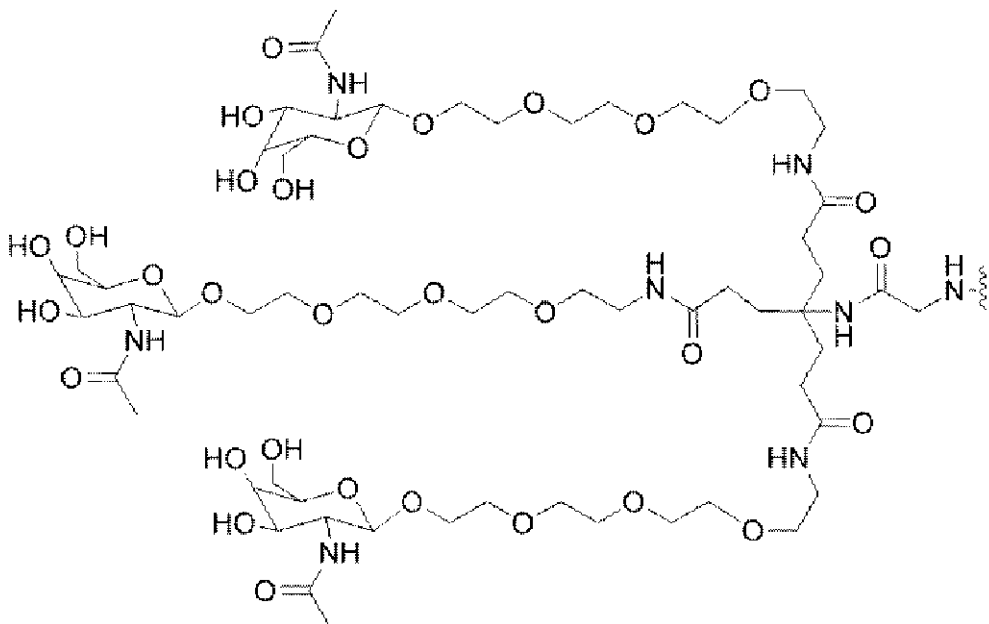
を有し、
 式中、
 R^{1d}は、
 【化 9 7】

10



20

及び
 【化 9 8】



30

40

から選択され、

50

X^d は、 $C_2 \sim 10$ アルキレンであり、
 n^d は、0 または 1 であり、
 R^{2d} は、表 1 の二本鎖 *siRNA* から選択される二本鎖 *siRNA* 分子であり、
 R^{3d} は、H、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合である。

【0166】

一実施形態において、 R^{3d} は、式 I d の化合物の残部を固体支持体に結合させる結合基を含む。化合物が、 R^{2d} が表 1 の二本鎖 *siRNA* から選択される二本鎖 *siRNA* 分子である式 I d の化合物を調製するのに好適な中間体である限り、結合基の性質は重要ではない。

10

【0167】

一実施形態において、 R^{3d} のリンカーは、約 20 ダルトン ~ 約 1,000 ダルトンの分子量を有する。

【0168】

一実施形態において、 R^{3d} のリンカーは、約 20 ダルトン ~ 約 500 ダルトンの分子量を有する。

【0169】

一実施形態において、 R^{3d} のリンカーは、固体支持体を式 I の化合物の残部から長さ約 5 オングストローム ~ 約 40 オングストローム (境界値を含む) だけ分離させる。

【0170】

一実施形態において、 R^{3d} のリンカーは、2 ~ 15 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭素原子のうち 1 個以上 (例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個) は、(-O-) または (-N(H)-) で場合により置き換えられており、この鎖は、($C_1 \sim C_6$) アルコキシ、($C_3 \sim C_6$) シクロアルキル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイルオキシ、($C_1 \sim C_6$) アルコキシカルボニル、($C_1 \sim C_6$) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ (=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上 (例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ) の置換基で炭素が場合により置換されている。

20

【0171】

一実施形態において、 R^{3d} のリンカーは、2 ~ 10 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭素原子のうち 1 個以上 (例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個) は、(-O-) または (-N(H)-) で場合により置き換えられており、この鎖は、($C_1 \sim C_6$) アルコキシ、($C_3 \sim C_6$) シクロアルキル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイルオキシ、($C_1 \sim C_6$) アルコキシカルボニル、($C_1 \sim C_6$) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ (=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上 (例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ) の置換基で炭素が場合により置換されている。

30

【0172】

一実施形態において、 R^{3d} のリンカーは、 $-C(=O)CH_2CH_2C(=O)N(H)-$ である。

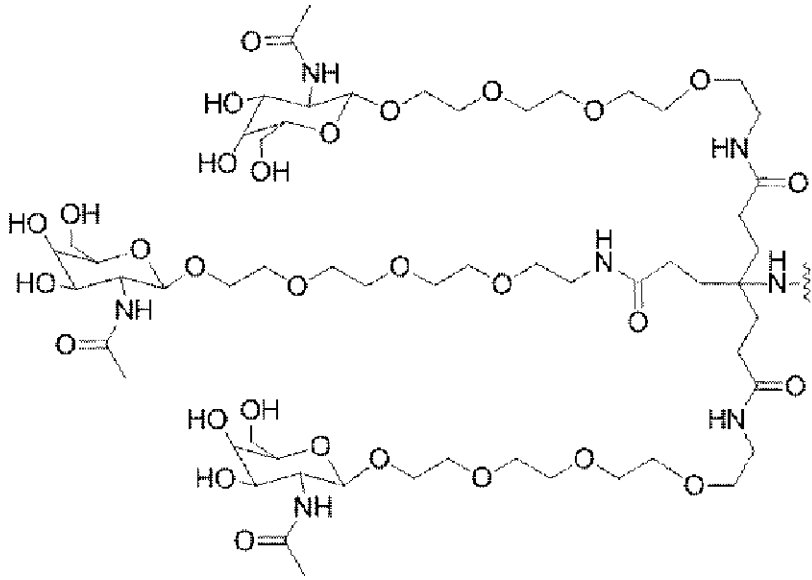
40

【0173】

一実施形態において、 R^{1d} は、

50

【化 9 9】



10

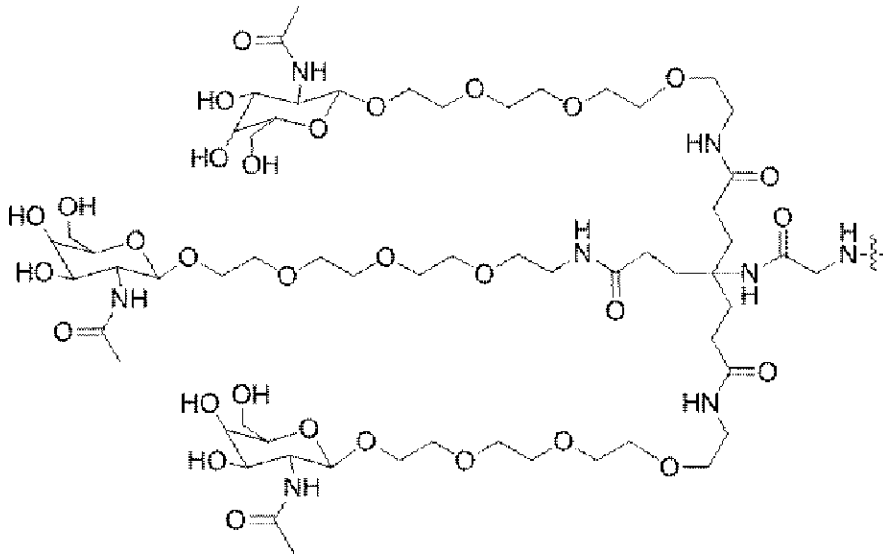
である。

【 0 1 7 4】

一実施形態において、 R^{1d} は、

20

【化 1 0 0】



30

である。

【 0 1 7 5】

一実施形態において、 X^d は、 C_8 アルキレンである。

【 0 1 7 6】

一実施形態において、 n^d は、0である。

40

【 0 1 7 7】

一実施形態において、 R^{2d} は、siRNAである。

【 0 1 7 8】

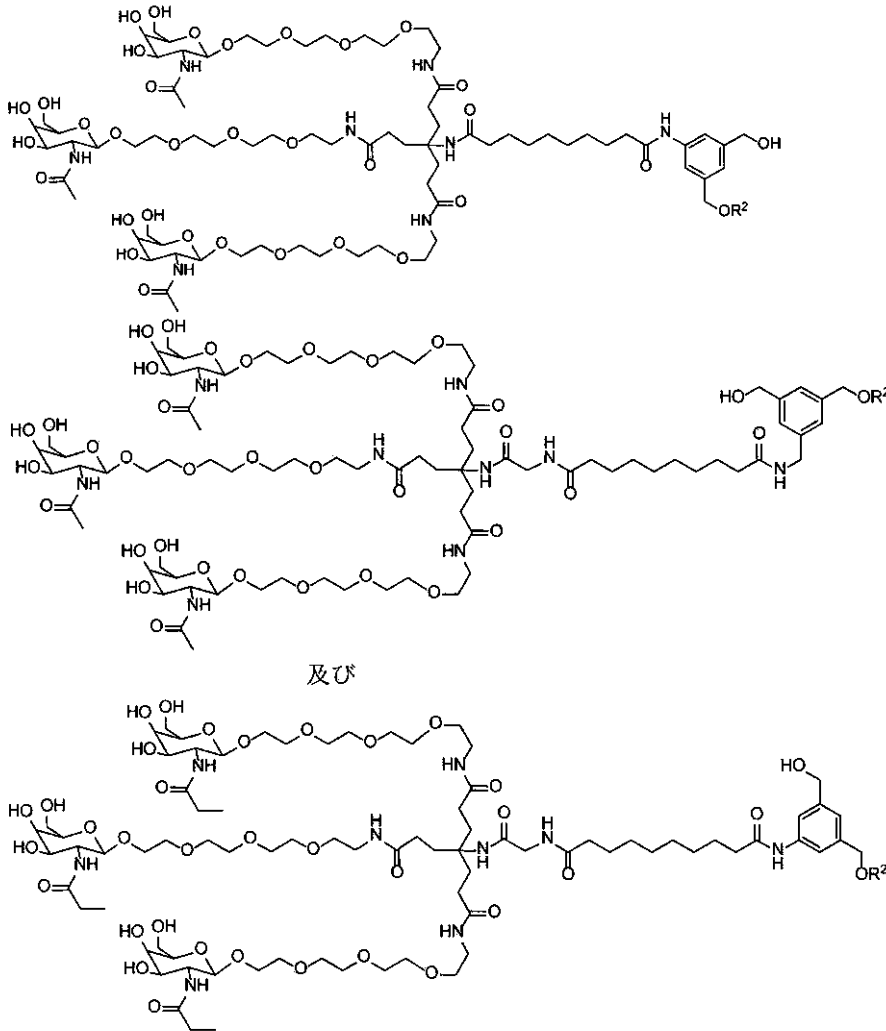
一実施形態において、 R^{3d} は、Hである。

【 0 1 7 9】

別の実施形態では、(I^d)の化合物またはその塩は、

50

【化 1 0 1】



10

20

ならびにそれらの塩からなる群から選択される。

30

【 0 1 8 0】

本発明の一態様は、式 (I d) の化合物、及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物である。

【 0 1 8 1】

本発明の一態様は、動物の肝臓に二本鎖 *siRNA* を送達する方法であって、式 (I d) の化合物またはその薬学的に許容される塩を動物に投与することを含む、方法である。

【 0 1 8 2】

本発明の別の態様は、動物の疾患または障害 (例えば、B型肝炎ウイルス感染などのウイルス感染) を処置する方法であって、式 (I d) の化合物またはその薬学的に許容される塩を動物に投与することを含む、方法である。

40

【 0 1 8 3】

本発明のある特定の実施形態は、医学療法に使用するための、式 (I d) の化合物またはその薬学的に許容される塩を提供する。

【 0 1 8 4】

本発明のある特定の実施形態は、動物の疾患または障害 (例えば、B型肝炎ウイルス感染などのウイルス感染) の予防処置または治療処置のための、式 (I d) の化合物またはその薬学的に許容される塩を提供する。

【 0 1 8 5】

本発明のある特定の実施形態は、動物の疾患または障害 (例えば、B型肝炎ウイルス感染などのウイルス感染) を処置するための薬物を調製するための、式 (I d) の化合物ま

50

たはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。

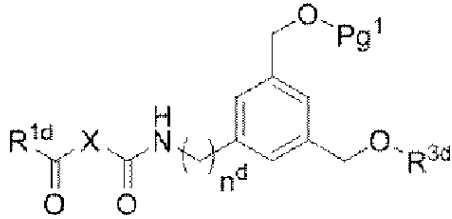
【0186】

ある特定の実施形態において、動物は、ヒト（例えば、HBV感染患者）などの哺乳動物である。

【0187】

本発明は、式(I d)の化合物を調製するために有用である、本明細書に開示される合成中間体及び方法も提供する。例えば、本発明は、式I eの中間体化合物：

【化102】



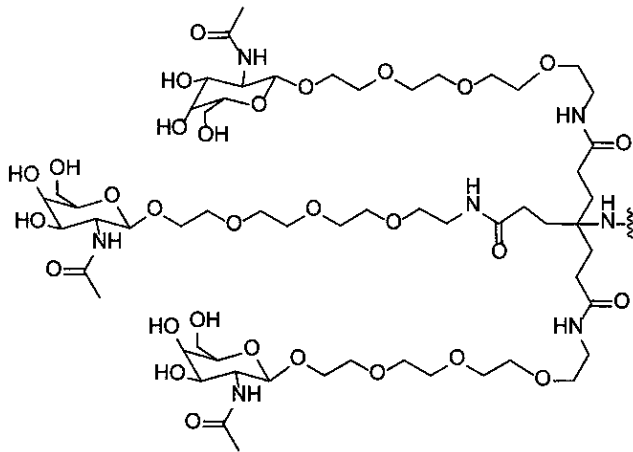
10

(I e)

またはその塩を含み、式中、

R^{1d}は、

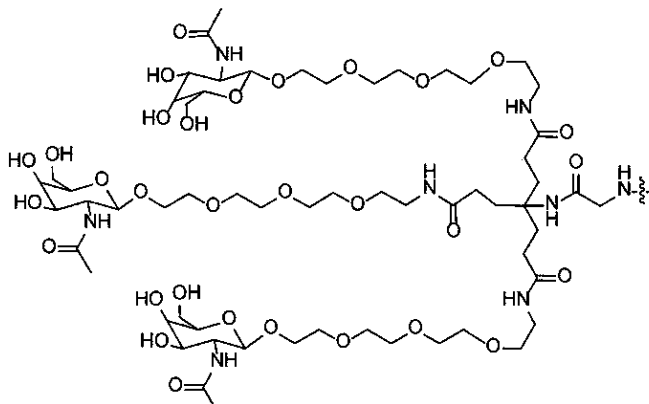
【化103】



20

30

及び



40

から選択され、

X^dは、C₂~8アルキレンであり、

n^dは、0または1であり、

Pg¹は、Hまたは好適な保護基であり、

R^{3d}は、H、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合である。図1は、標的化リガンド/リンカーが固相支持体に結合しており、Pg¹が保護基DMTrである、式(I e)の代表的な中間体化合物を例示する。

50

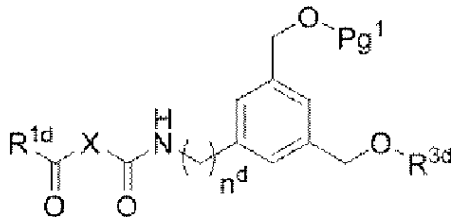
【0188】

一実施形態において、Pg¹は、TMT_r（トリメトキシトリチル）、DMT_r（ジメトキシトリチル）、MMT_r（モノメトキシトリチル）、またはTr（トリチル）である。

【0189】

本発明はまた、本明細書に記載の式(I d)の化合物を調製する方法であって、対応する式(I e)の化合物：

【化104】



10

(I e)

(式中、

X^dは、C₂~8アルキレンであり、n^dは、0または1であり、Pg¹は、Hであり、

R^{3d}は、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合である)を、固相核酸合成条件に供し、対応する式I dの化合物(式中、R^{2d}は、表1の二本鎖siRNA分子から選択される二本鎖siRNA分子である)をもたらすことを含む、方法を提供する。

20

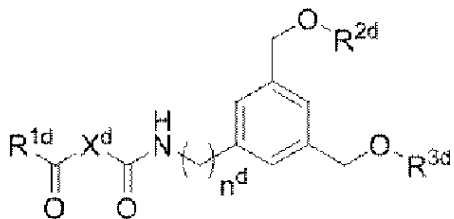
【0190】

一実施形態において、本方法は、化合物を固体支持体から除去して、R^{3d}がHである対応する式I dの化合物をもたらすことを更に含む。

【0191】

一実施形態において、化合物は、式I dの化合物：

【化105】



30

(I d)

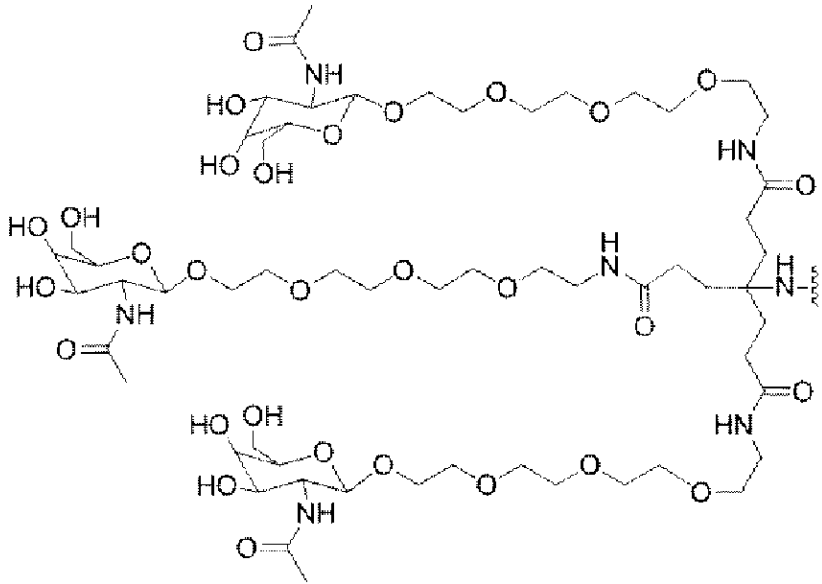
またはその塩

(式中、R^{1d}は、

40

50

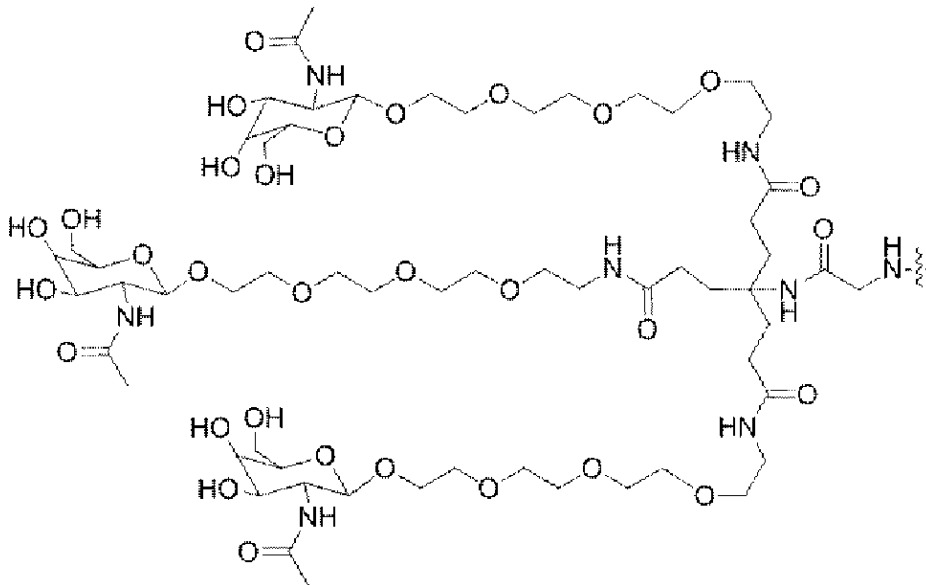
【化106】



10

及び

【化107】



20

30

から選択され、

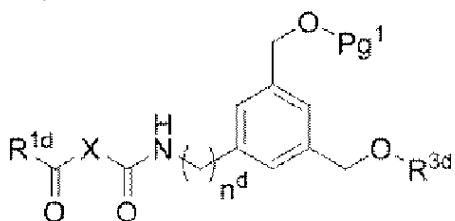
 X^d は、 $C_2 \sim 10$ アルキレンであり、 N^d は、0または1であり、 R^{2d} は、表1の二本鎖siRNA分子から選択される二本鎖siRNA分子であり、 R^{3d} は、H、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合である)ではない。

40

【0192】

一実施形態において、化合物は、式Ieの化合物：

【化108】



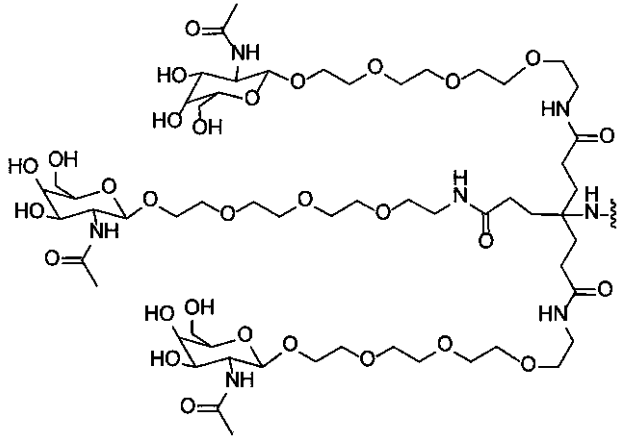
50

(I e)

またはその塩

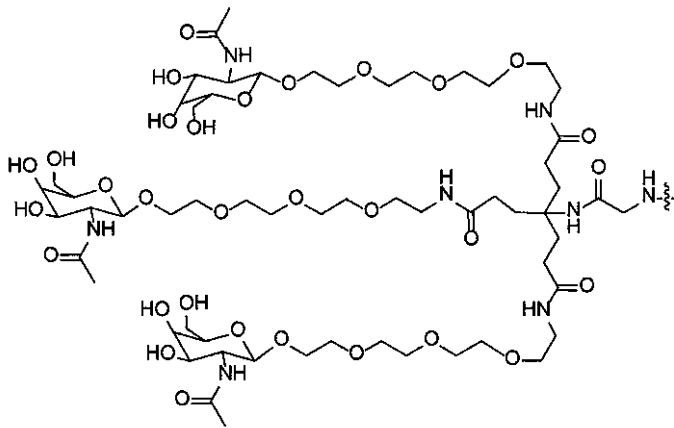
(式中、 R^{1d} は、

【化 1 0 9】



10

及び



20

から選択され、

 X^d は、 $C_2 \sim 8$ アルキレンであり、 n^d は、0 または 1 であり、 Pg^1 は、H または好適な保護基であり、 R^{3d} は、H、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合である) ではない。

【0 1 9 3】

一実施形態において、 R^{3d} は、H である。

【0 1 9 4】

一実施形態において、 R^{3d} は、固体支持体への共有結合である。

【0 1 9 5】

一実施形態において、 R^{3d} は、固体支持体に結合した結合基への結合であり、結合基は、2 ~ 15 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭素原子のうち 1 個以上 (例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個) は、(-O-) または (-N(H)-) で場合により置き換えられており、この鎖は、($C_1 \sim C_6$) アルコキシ、($C_3 \sim C_6$) シクロアルキル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイルオキシ、($C_1 \sim C_6$) アルコキシカルボニル、($C_1 \sim C_6$) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ (=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上 (例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ) の置換基で炭素が場合により置換されている。

30

40

50

【0196】

一実施形態において、 R^{3d} は、固体支持体に結合した結合基への結合であり、結合基は、2～10個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭素原子のうち1個以上（例えば1個、2個、3個、または4個）は、(-O-)または(-N(H)-)で場合により置き換えられており、この鎖は、(C₁～C₆)アルコキシ、(C₃～C₆)シクロアルキル、(C₁～C₆)アルカノイル、(C₁～C₆)アルカノイルオキシ、(C₁～C₆)アルコキシカルボニル、(C₁～C₆)アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上（例えば1つ、2つ、3つ、または4つ）の置換基で炭素が場合により置換されている。

10

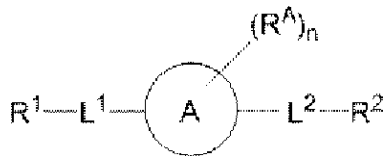
【0197】

一実施形態において、 R^{3d} は、固体支持体に結合した結合基への結合であり、結合基は、-C(=O)CH₂CH₂C(=O)N(H)-である。

【0198】

一実施形態において、本発明は、式(I)の化合物：

【化110】



20

(I)

またはその塩を提供し、

式中、

R^1 は、Hまたは合成活性化基であり、

L^1 は、存在しないか、または結合基であり、

L^2 は、存在しないか、または結合基であり、

R^2 は、表1の二本鎖siRNA分子から選択される二本鎖siRNA分子であり、

環Aは、存在しないか、3～20員シクロアルキル、5～20員アリール、5～20員ヘテロアリール、または3～20員ヘテロシクロアルキルであり、

30

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、-C₁～₂アルキル-OR^B、C₁～₁₀アルキルC₂～₁₀アルケニル、及びC₂～₁₀アルキニルからなる群から選択され、このC₁～₁₀アルキルC₂～₁₀アルケニル、及びC₂～₁₀アルキニルは、ハロ、ヒドロキシ、及びC₁～₃アルコキシから独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されており、

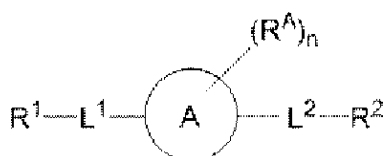
R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

nは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。

【0199】

一実施形態において、本発明は、式(I)の化合物：

【化111】



40

(I)

またはその塩を提供し、

式中、

50

R^1 は、標的化リガンドであり、

L^1 は、存在しないか、または結合基であり、

L^2 は、存在しないか、または結合基であり、

R^2 は、Hまたは合成活性化基であり、

環Aは、存在しないか、3～20員シクロアルキル、5～20員アリール、5～20員ヘテロアリール、または3～20員ヘテロシクロアルキルであり、

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$ アルキル-OR^B、 C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルからなる群から選択され、この C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルは、ハロ、ヒドロキシ、及び C_{1-3} アルコキシから独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されており、

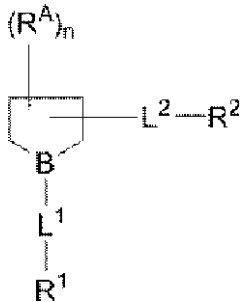
R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

nは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。

【0200】

一実施形態において、本発明は、式(Ig)の化合物：

【化112】



(I g)

またはその塩を提供し、

式中、

Bは、 $-N-$ または $-CH-$ であり、

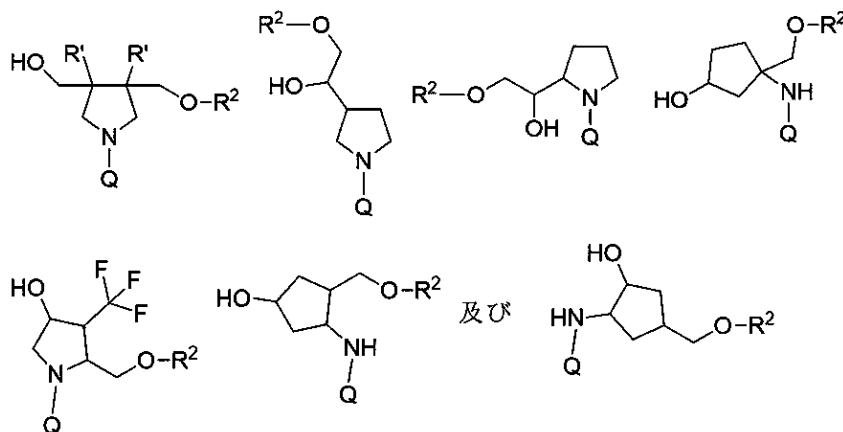
L^2 は、ヒドロキシルまたはハロで場合により置換されている C_{1-4} アルキレン- $O-$ であり、

nは、0、1、2、3、4、5、6、または7である。

【0201】

一実施形態において、本発明は、

【化113】



ならびにそれらの塩からなる群から選択される化合物を提供し、

式中、

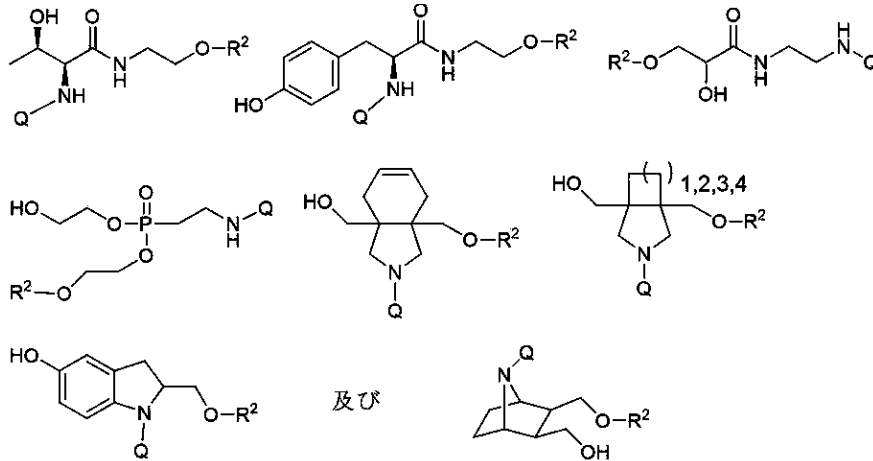
Qは - L¹ - R¹ であり、

R¹は、C₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルであり、このC₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルは、ハロまたはヒドロキシルで場合により置換されている。

【0202】

一実施形態において、本発明は、

【化114】



10

20

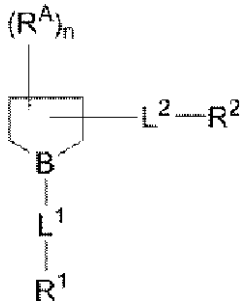
ならびにそれらの塩からなる群から選択される化合物を提供し、

式中、Qは - L¹ - R¹ である。

【0203】

一実施形態において、本発明は、式(Ig)の化合物：

【化115】



30

(Ig)

またはその塩を提供し、

式中、

Bは、- N - または - CH - であり、

L¹は、存在しないか、または結合基であり、

L²は、ヒドロキシルまたはハロで場合により置換されているC₁~4アルキレン - O - であり、

nは、0、1、2、3、4、5、6、または7であり、

R¹は、Hまたは合成活性化基であり、

R²は、Hまたは合成活性化基である。

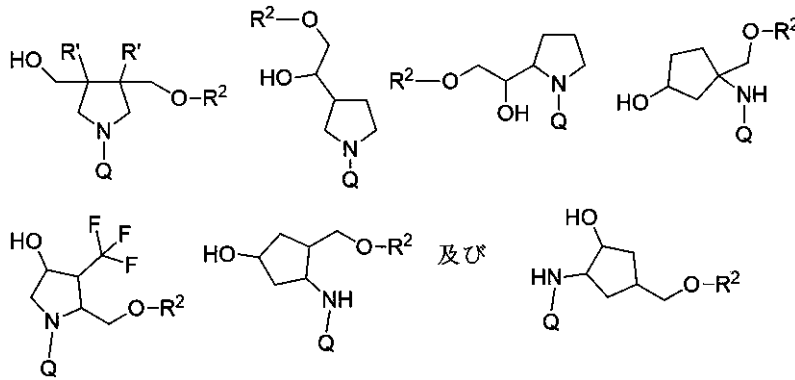
【0204】

一実施形態において、本発明は、

40

50

【化 1 1 6】



10

からなる群から選択される化合物、またはその塩を提供し、

式中、Qは - L¹ - R¹であり、

L¹は、存在しないか、または結合基であり、

R¹は、C₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルであり、このC₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルは、ハロまたはヒドロキシルで場合により置換されており、

R¹は、Hまたは合成活性化基であり、

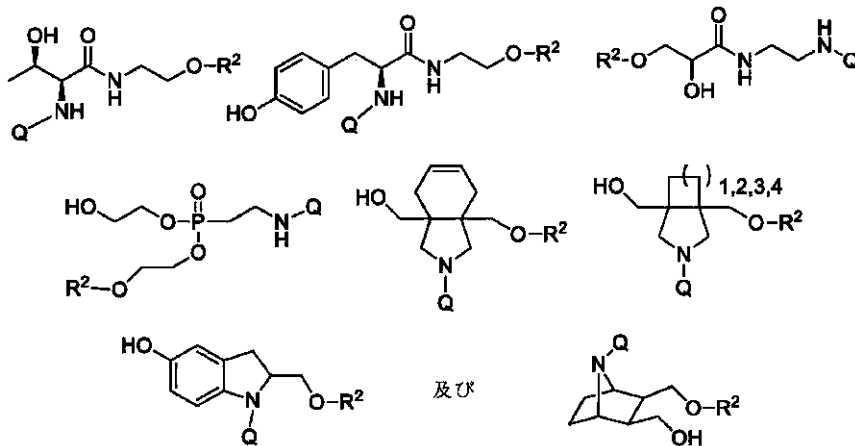
R²は、Hまたは合成活性化基である。

20

【0 2 0 5】

一実施形態において、本発明は、

【化 1 1 7】



30

からなる群から選択される化合物、またはその塩を提供し、

式中、

Qは - L¹ - R¹であり、

L¹は、存在しないか、または結合基であり、

R¹は、Hまたは合成活性化基であり、

R²は、Hまたは合成活性化基である。

40

【0 2 0 6】

一実施形態において、R¹は、H、またはDCC、HOBt、EDC、BOP、PyBOP、もしくはHBTUから誘導できる合成活性化基である。

【0 2 0 7】

一実施形態において、R²は、H、アセテート、トリフレート、メシレート、またはサクシネートである。

【0 2 0 8】

一実施形態において、R¹は、DCC、HOBt、EDC、BOP、PyBOP、また

50

であり、この $C_1 \sim 9$ アルキル、 $C_2 \sim 9$ アルケニル、または $C_2 \sim 9$ アルキニルは、ハロまたはヒドロキシルで場合により置換されており、

* が付いた原子価は、 L^1 に結合しているか、または L^1 が存在しない場合は R^1 に結合しており、

** が付いた原子価は、 L^2 に結合しているか、または L^2 が存在しない場合は R^2 に結合している。

【0212】

一実施形態において、 R^1 は、2～8の糖類を含む。

【0213】

一実施形態において、 R^1 は、2～6の糖類を含む。

10

【0214】

一実施形態において、 R^1 は、2～4の糖類を含む。

【0215】

一実施形態において、 R^1 は、3～8の糖類を含む。

【0216】

一実施形態において、 R^1 は、3～6の糖類を含む。

【0217】

一実施形態において、 R^1 は、3～4の糖類を含む。

【0218】

一実施形態において、 R^1 は、3つの糖類を含む。

20

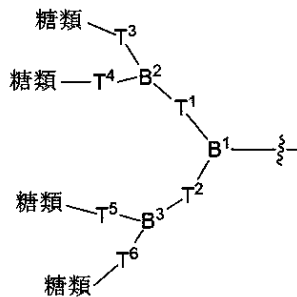
【0219】

一実施形態において、 R^1 は、4つの糖類を含む。

【0220】

一実施形態において、 R^1 は、次式：

【化121】



30

を有し、

式中、

B^1 は、約1個～約20個の原子を含む三価基であり、 L^1 、 T^1 、及び T^2 に共有結合しており、

B^2 は、約1個～約20個の原子を含む三価基であり、 T^1 、 T^3 、及び T^4 に共有結合しており、

40

B^3 は、約1個～約20個の原子を含む三価基であり、 T^2 、 T^5 、及び T^6 に共有結合しており、

T^1 は、存在しないか、または結合基であり、

T^2 は、存在しないか、または結合基であり、

T^3 は、存在しないか、または結合基であり、

T^4 は、存在しないか、または結合基であり、

T^5 は、存在しないか、または結合基であり、

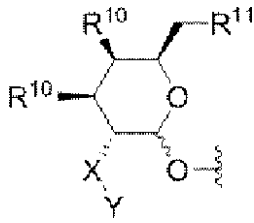
T^6 は、存在しないか、または結合基である。

【0221】

一実施形態において、各糖類は、独立して、

50

【化 1 2 2】



から選択され、

式中、

Xは NR^3 であり、Yは、 $-(\text{C}=\text{O})\text{R}^4$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^5$ 、及び $-(\text{C}=\text{O})\text{NR}^6\text{R}^7$ から選択されるか、またはXは $-(\text{C}=\text{O})-$ であり、Yは NR^8R^9 であり、

R^3 は、水素または $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ アルキルであり、

R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、及び R^9 は、それぞれ独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ ハロアルキル、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルコキシ、ならびにハロ、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ アルキル、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ ハロアルキル、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ アルコキシ、及び $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ ハロアルコキシからなる群から独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている $(\text{C}_3\sim\text{C}_6)$ シクロアルキルからなる群から選択され、

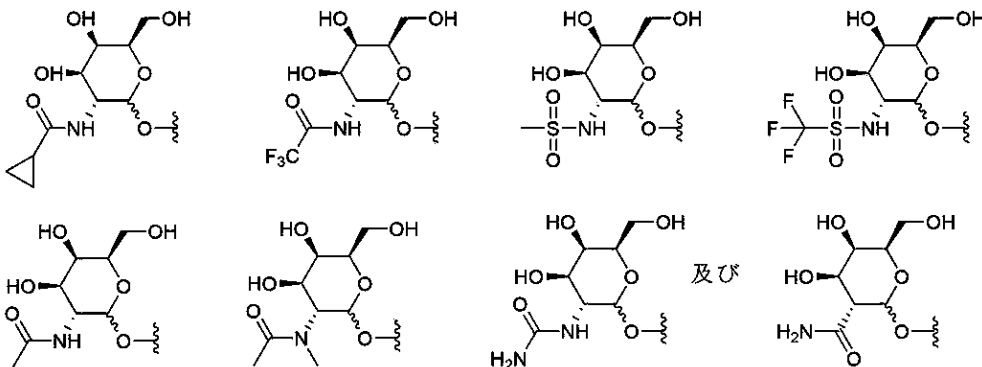
R^{10} は、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^8\text{R}^9$ 、または $-\text{F}$ であり、

R^{11} は、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NR}^8\text{R}^9$ 、 $-\text{F}$ 、またはハロ、ヒドロキシル、カルボキシル、アミノ、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ アルキル、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ ハロアルキル、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ アルコキシ、及び $(\text{C}_1\sim\text{C}_4)$ ハロアルコキシからなる群から独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている5員複素環である。

【0 2 2 2】

一実施形態において、各糖類は、独立して、

【化 1 2 3】



からなる群から選択される。

【0 2 2 3】

一実施形態において、各糖類は、独立して、

【化 1 2 4】



である。

【0 2 2 4】

一実施形態において、 T^1 及び T^2 のうちの一方は存在しない。

【0225】

一実施形態において、 T^1 及び T^2 はいずれも存在しない。

【0226】

一実施形態において、 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、及び T^6 のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 50 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは不飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、 $-O-$ 、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 、または $-S-$ で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または (C1 ~ C6) アルキルであり、炭化水素鎖は、(C1 ~ C6) アルコキシ、(C3 ~ C6) シクロアルキル、(C1 ~ C6) アルカノイル、(C1 ~ C6) アルカノイルオキシ、(C1 ~ C6) アルコキシカルボニル、(C1 ~ C6) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ (=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上（例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の置換基で場合により置換されている。

10

【0227】

一実施形態において、 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、及び T^6 のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 20 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは不飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、 $-O-$ 、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 、または $-S-$ で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または (C1 ~ C6) アルキルであり、炭化水素鎖は、(C1 ~ C6) アルコキシ、(C3 ~ C6) シクロアルキル、(C1 ~ C6) アルカノイル、(C1 ~ C6) アルカノイルオキシ、(C1 ~ C6) アルコキシカルボニル、(C1 ~ C6) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ (=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上（例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の置換基で場合により置換されている。

20

【0228】

一実施形態において、 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、及び T^6 のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 50 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは不飽和の炭化水素鎖、またはその塩であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、 $-O-$ または $-NR^X-$ で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または (C1 ~ C6) アルキルであり、炭化水素鎖は、ハロ、ヒドロキシ、及びオキソ (=O) から選択される 1 つ以上（例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の置換基で場合により置換されている。

30

【0229】

一実施形態において、 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、及び T^6 のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 20 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは非飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、 $-O-$ で場合により置き換えられており、炭化水素鎖は、ハロ、ヒドロキシ、及びオキソ (=O) から選択される 1 つ以上（例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の置換基で場合により置換されている。

40

【0230】

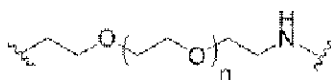
一実施形態において、 T^1 、 T^2 、 T^3 、 T^4 、 T^5 、及び T^6 のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 20 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは非飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、 $-O-$ で場合により置き換えられており、炭化水素鎖は、ハロ、ヒドロキシ、及びオキソ (=O) から選択される 1 つ以上（例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の置換基で場合により置換されている。

【0231】

一実施形態において、 T^3 、 T^4 、 T^5 、及び T^6 のうち少なくとも 1 つは、

50

【化 1 2 5】



であり、

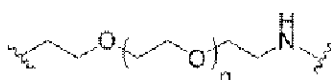
式中、

$n = 1、2、3$ である。

【0 2 3 2】

一実施形態において、 $T^3、T^4、T^5、$ 及び T^6 のそれぞれは、独立して、

【化 1 2 6】



からなる群から選択され、

式中、

$n = 1、2、3$ である。

【0 2 3 3】

一実施形態において、 T^1 及び T^2 のうち少なくとも 1 つはグリシンである。

【0 2 3 4】

一実施形態において、 T^1 及び T^2 のそれぞれはグリシンである。

【0 2 3 5】

一実施形態において、 B^1 は、1 ~ 15 個の原子を含む三価基であり、 $L^1、T^1、$ 及び T^2 に共有結合している。

【0 2 3 6】

一実施形態において、 B^1 は、1 ~ 10 個の原子を含む三価基であり、 $L^1、T^1、$ 及び T^2 に共有結合している。

【0 2 3 7】

一実施形態において、 B^1 は ($C_1 \sim C_6$) アルキルを含む。

【0 2 3 8】

一実施形態において、 B^1 は $C_3 \sim 8$ シクロアルキルを含む。

【0 2 3 9】

一実施形態において、 B^1 はシリル基を含む。

【0 2 4 0】

一実施形態において、 B^1 は D - アミノ酸または L - アミノ酸を含む。

【0 2 4 1】

一実施形態において、 B^1 は糖類を含む。

【0 2 4 2】

一実施形態において、 B^1 はリン酸基を含む。

【0 2 4 3】

一実施形態において、 B^1 はホスホン酸基を含む。

【0 2 4 4】

一実施形態において、 B^1 はアリアルを含む。

【0 2 4 5】

一実施形態において、 B^1 はフェニル環を含む。

【0 2 4 6】

一実施形態において、 B^1 はフェニル環である。

【0 2 4 7】

一実施形態において、 B^1 は CH である。

【0 2 4 8】

一実施形態において、 B^1 はヘテロアリアルを含む。

10

20

30

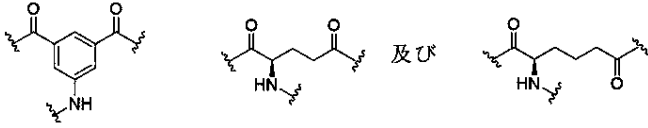
40

50

【0249】

一実施形態において、B¹は、

【化127】

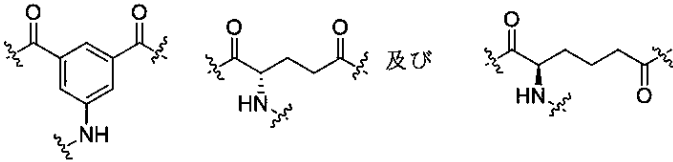


からなる群から選択される。

【0250】

一実施形態において、B¹は、

【化128】



からなる群から選択される。

【0251】

一実施形態において、B²は、1～15個の原子を含む三価基であり、L¹、T¹、及びT²に共有結合している。

【0252】

一実施形態において、B²は、1～10個の原子を含む三価基であり、L¹、T¹、及びT²に共有結合している。

【0253】

一実施形態において、B²は(C₁～C₆)アルキルを含む。

【0254】

一実施形態において、B²はC₃～8シクロアルキルを含む。

【0255】

一実施形態において、B²はシリル基を含む。

【0256】

一実施形態において、B²はD-アミノ酸またはL-アミノ酸を含む。

【0257】

一実施形態において、B²は糖類を含む。

【0258】

一実施形態において、B²はリン酸基を含む。

【0259】

一実施形態において、B²はホスホン酸基を含む。

【0260】

一実施形態において、B²はアリールを含む。

【0261】

一実施形態において、B²はフェニル環を含む。

【0262】

一実施形態において、B²はフェニル環である。

【0263】

一実施形態において、B²はCHである。

【0264】

一実施形態において、B²はヘテロアリールを含む。

【0265】

10

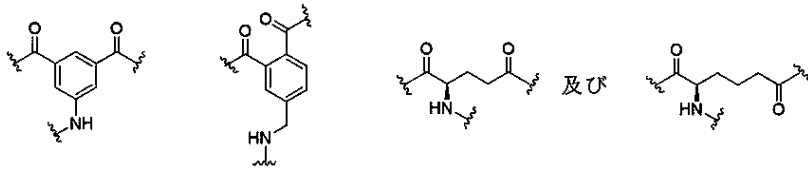
20

30

40

50

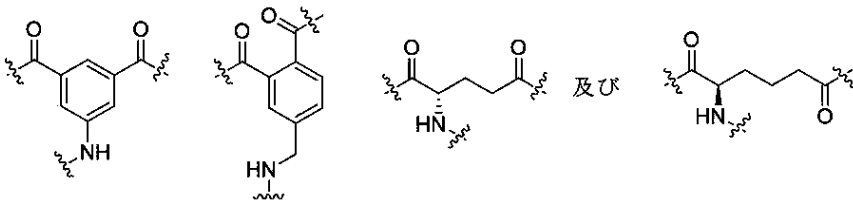
一実施形態において、 B^2 は、
【化129】



からなる群から選択される。

【0266】

一実施形態において、 B^2 は、
【化130】



またはそれらの塩からなる群から選択される。

【0267】

一実施形態において、 B^3 は、1～15個の原子を含む三価基であり、 L^1 、 T^1 、及び T^2 に共有結合している。

【0268】

一実施形態において、 B^3 は、1～10個の原子を含む三価基であり、 L^1 、 T^1 、及び T^2 に共有結合している。

【0269】

一実施形態において、 B^3 は(C₁～C₆)アルキルを含む。

【0270】

一実施形態において、 B^3 はC₃～8シクロアルキルを含む。

【0271】

一実施形態において、 B^3 はシリル基を含む。

【0272】

一実施形態において、 B^3 はD-アミノ酸またはL-アミノ酸を含む。

【0273】

一実施形態において、 B^3 は糖類を含む。

【0274】

一実施形態において、 B^3 はリン酸基を含む。

【0275】

一実施形態において、 B^3 はホスホン酸基を含む。

【0276】

一実施形態において、 B^3 はアリールを含む。

【0277】

一実施形態において、 B^3 はフェニル環を含む。

【0278】

一実施形態において、 B^3 はフェニル環である。

【0279】

一実施形態において、 B^3 はCHである。

【0280】

一実施形態において、 B^3 はヘテロアリールを含む。

10

20

30

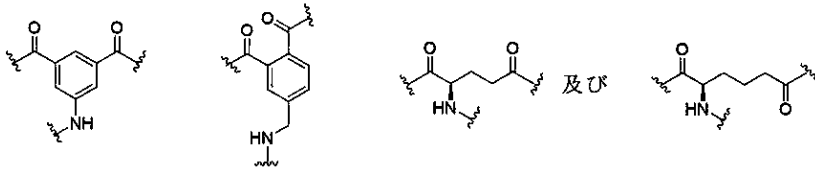
40

50

【0281】

一実施形態において、 B^3 は、

【化131】



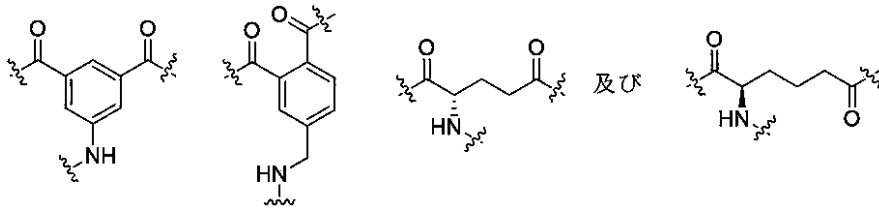
からなる群から選択される。

10

【0282】

一実施形態において、 B^3 は、

【化132】



20

またはそれらの塩からなる群から選択される。

【0283】

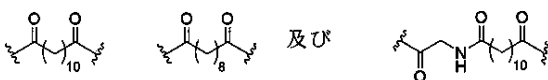
一実施形態において、 L^1 及び L^2 は、独立して、1～50個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、炭化水素鎖中の炭素原子のうち1個以上（例えば1個、2個、3個、または4個）は、 $-O-$ 、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 、または $-S-$ で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または(C1～C6)アルキルであり、炭化水素鎖は、(C1～C6)アルコキシ、(C3～C6)シクロアルキル、(C1～C6)アルカノイル、(C1～C6)アルカノイルオキシ、(C1～C6)アルコキシカルボニル、(C1～C6)アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリアル、アリアルオキシ、ヘテロアリアル、及びヘテロアリアルオキシから選択される1つ以上（例えば1つ、2つ、3つ、または4つ）の置換基で場合により置換されている。

30

【0284】

一実施形態において、 L^1 は、

【化133】



またはそれらの塩からなる群から選択される。

40

【0285】

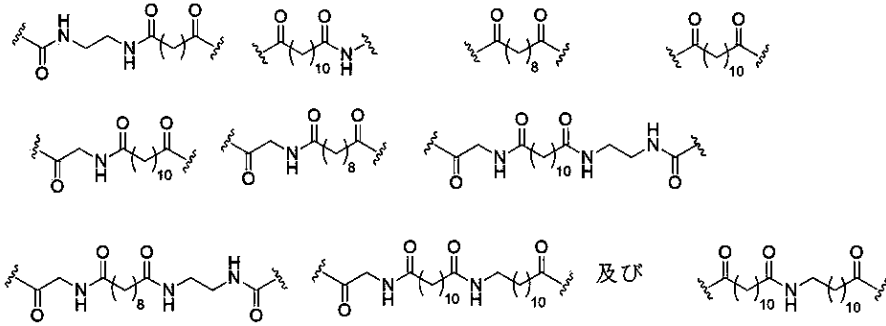
一実施形態において、 L^1 は、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NH-$ 、 $-NH-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-NH-C(=O)-NH-$ 、または $-NH-(SO_2)-$ からなる群から選択される結合を介して B^1 に結合している。

【0286】

一実施形態において、 L^1 は、

50

【化 1 3 4】



10

からなる群から選択される。

【 0 2 8 7】

一実施形態において、 L^2 は、 $-O-$ を介して R^2 に結合している。

【 0 2 8 8】

一実施形態において、 L^2 は、ヒドロキシで場合により置換されている C_{1-4} アルキレン $-O-$ である。

【 0 2 8 9】

一実施形態において、 L^2 は、 $-O-$ を介して R^2 に結合している。

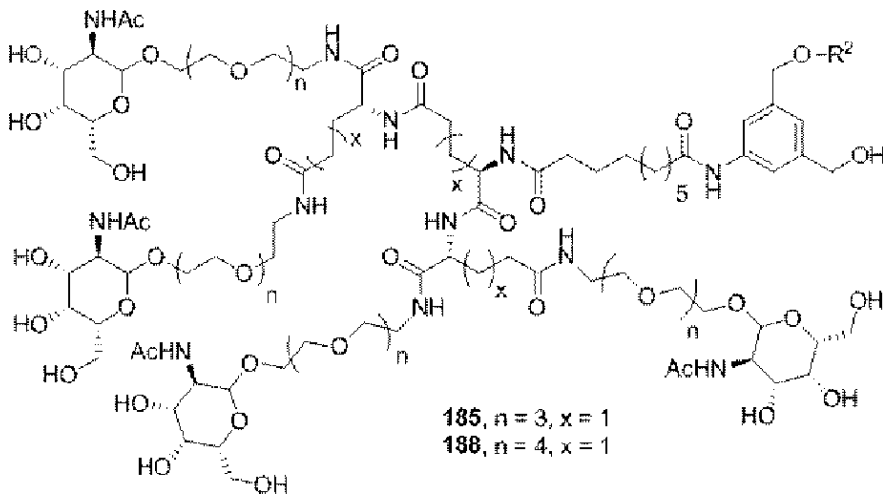
【 0 2 9 0】

一実施形態において、 L^2 は存在しない。

【 0 2 9 1】

一実施形態において、本発明は、

【化 1 3 5】

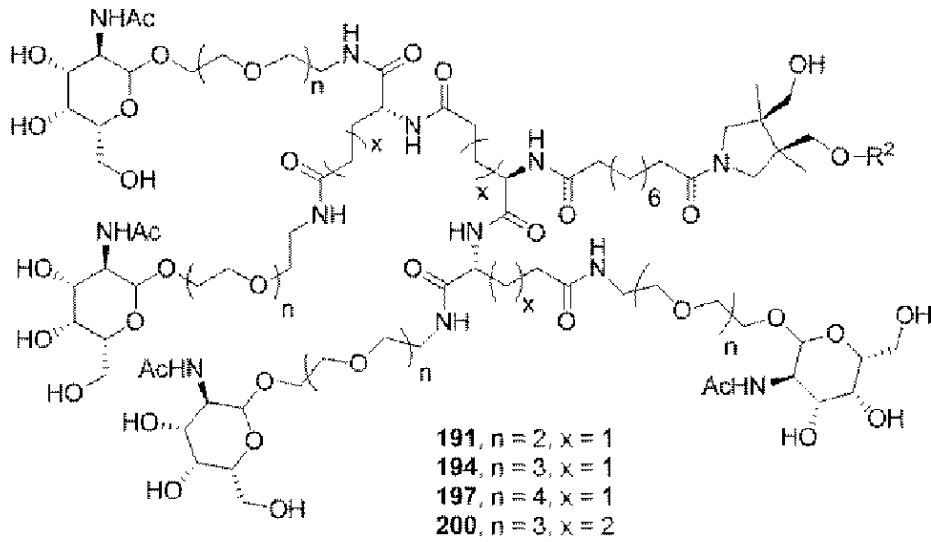


30

40

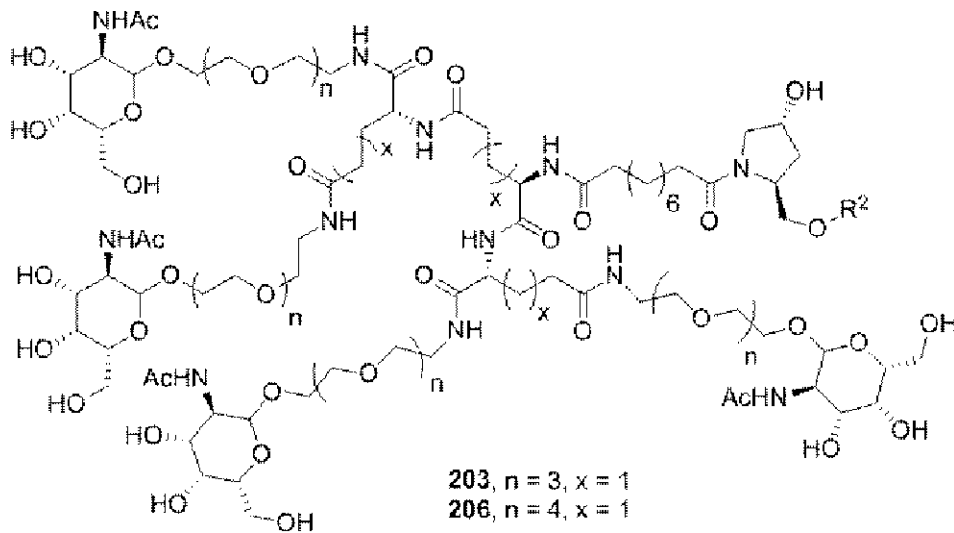
50

【化 1 3 6】



10

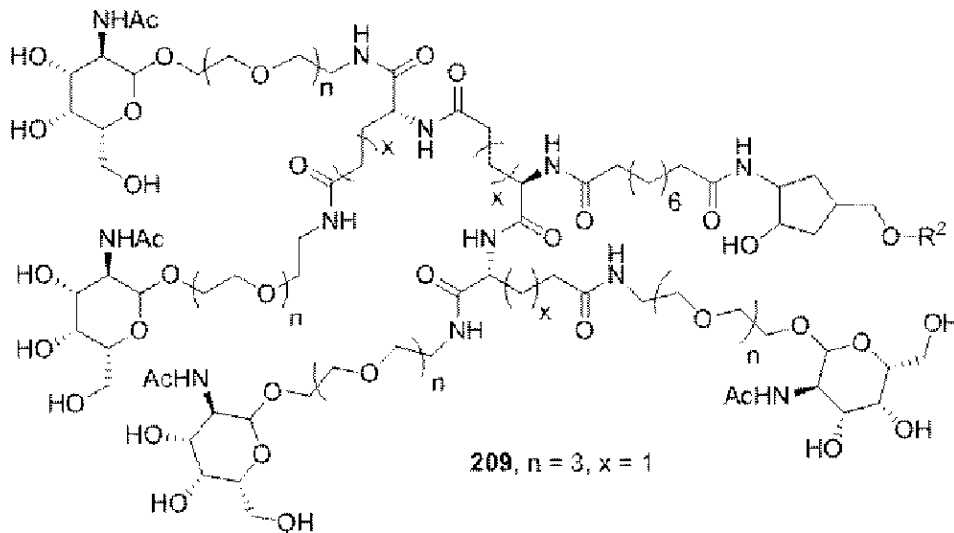
【化 1 3 7】



20

30

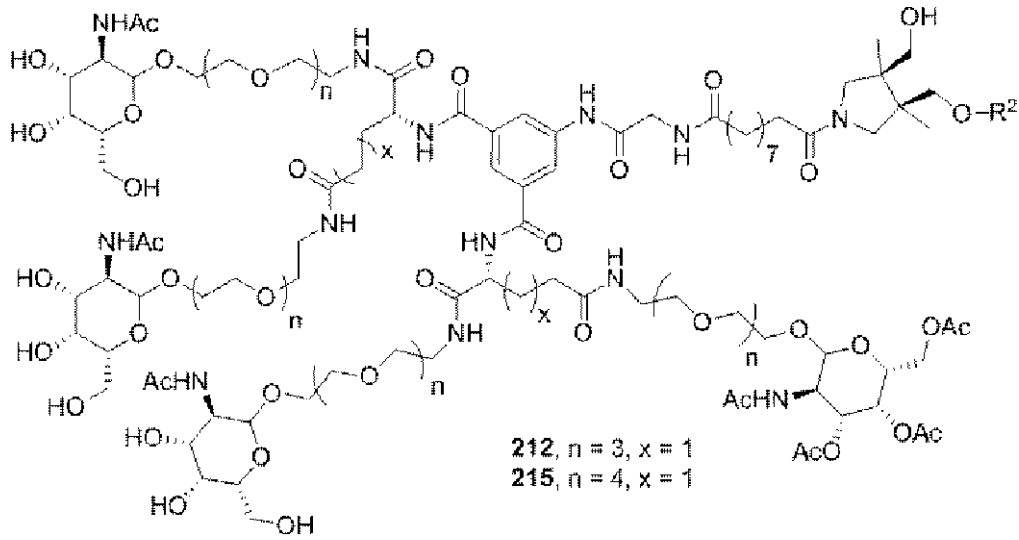
【化 1 3 8】



40

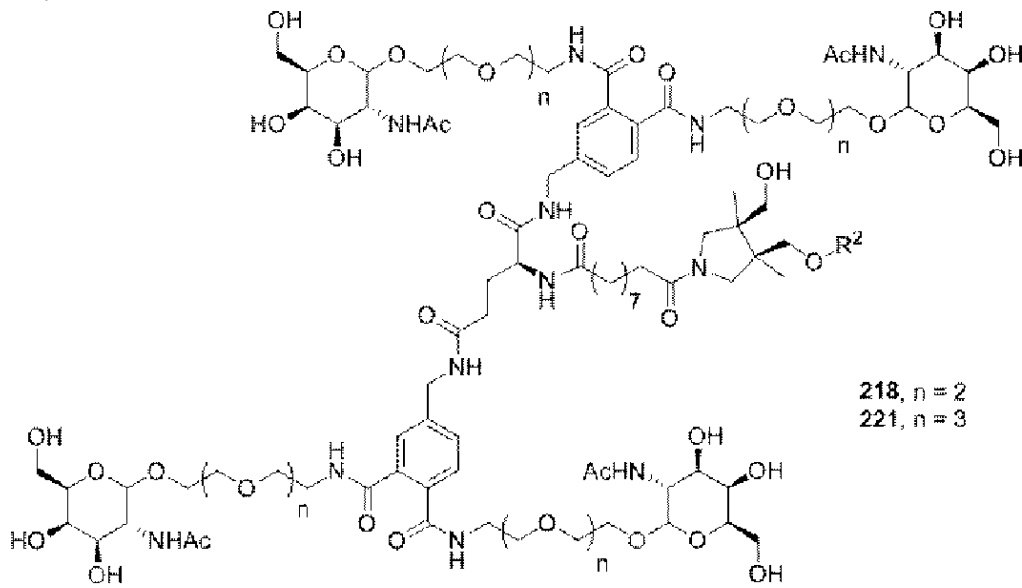
50

【化 1 3 9】



10

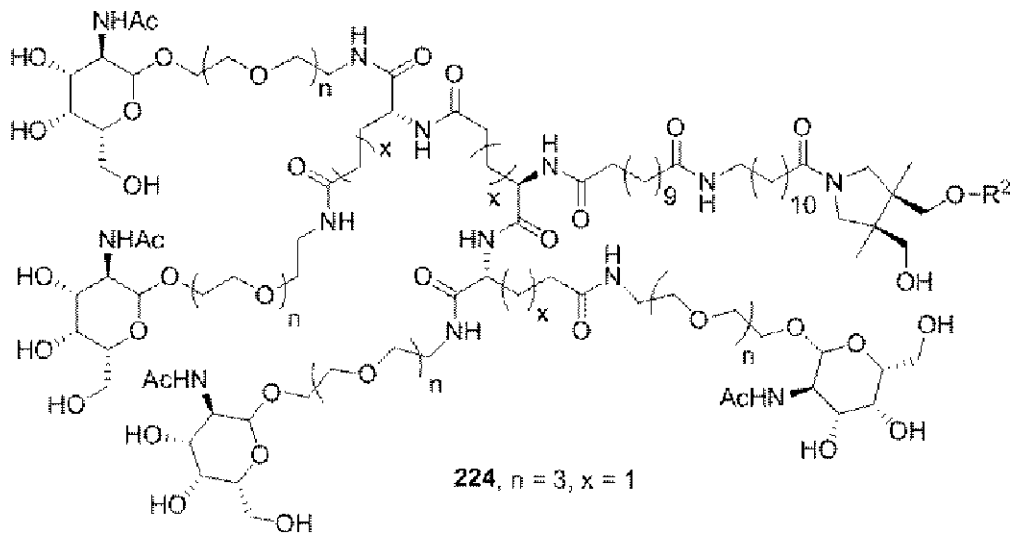
【化 1 4 0】



20

30

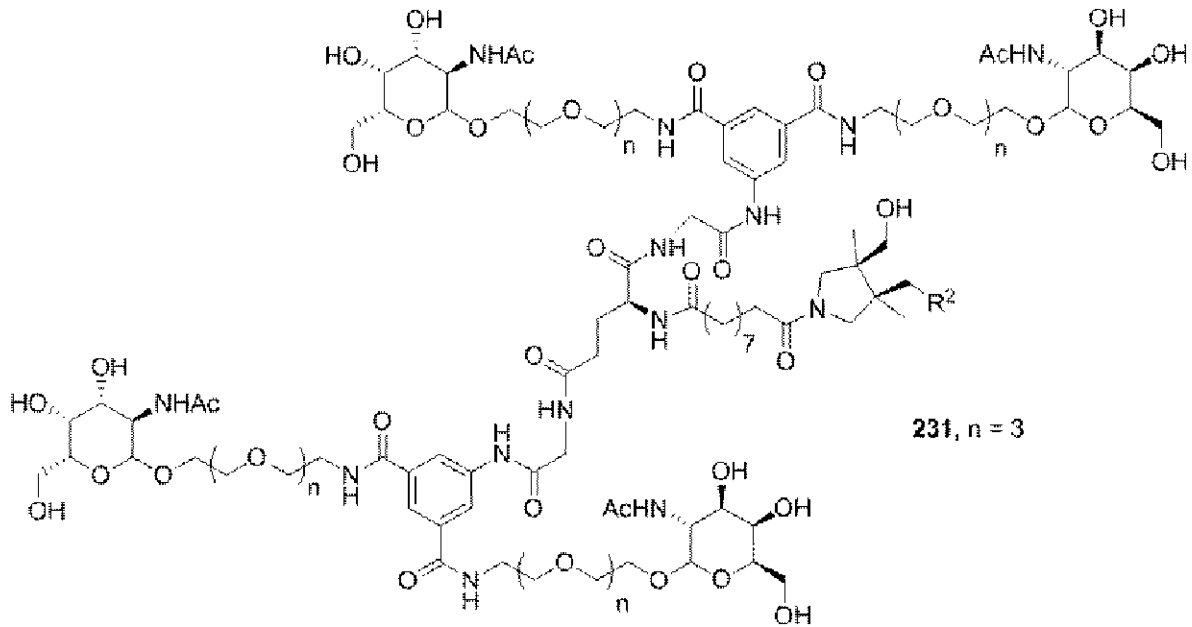
【化 1 4 1】



40

50

【化 1 4 2】



10

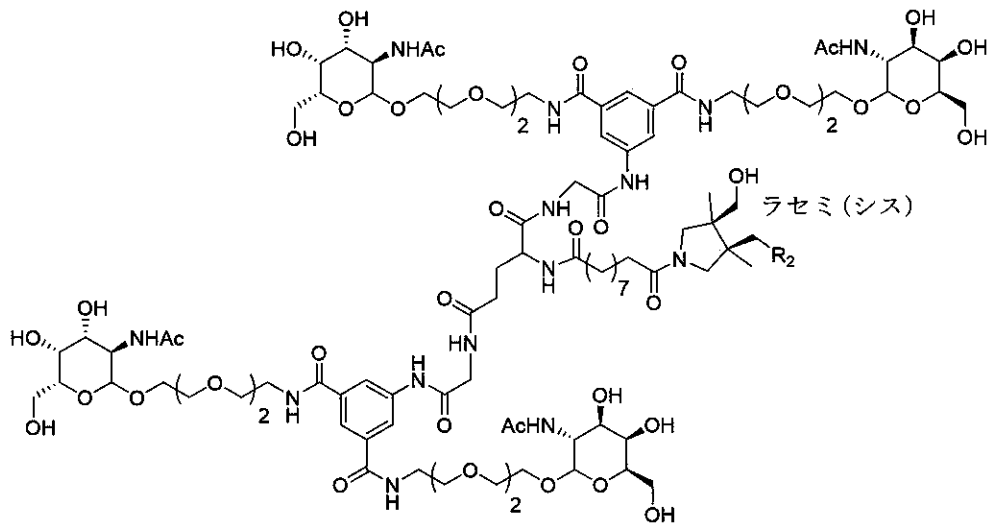
及びそれらの薬学的に許容される塩からなる群から選択される化合物または塩を提供し、
 式中、 R^2 は、表1の二本鎖siRNA分子から選択される二本鎖siRNA分子である。

20

【0 2 9 2】

一実施形態において、本発明は、次式の化合物：

【化 1 4 3】



30

またはその塩を提供し、式中、 R^2 は核酸である。

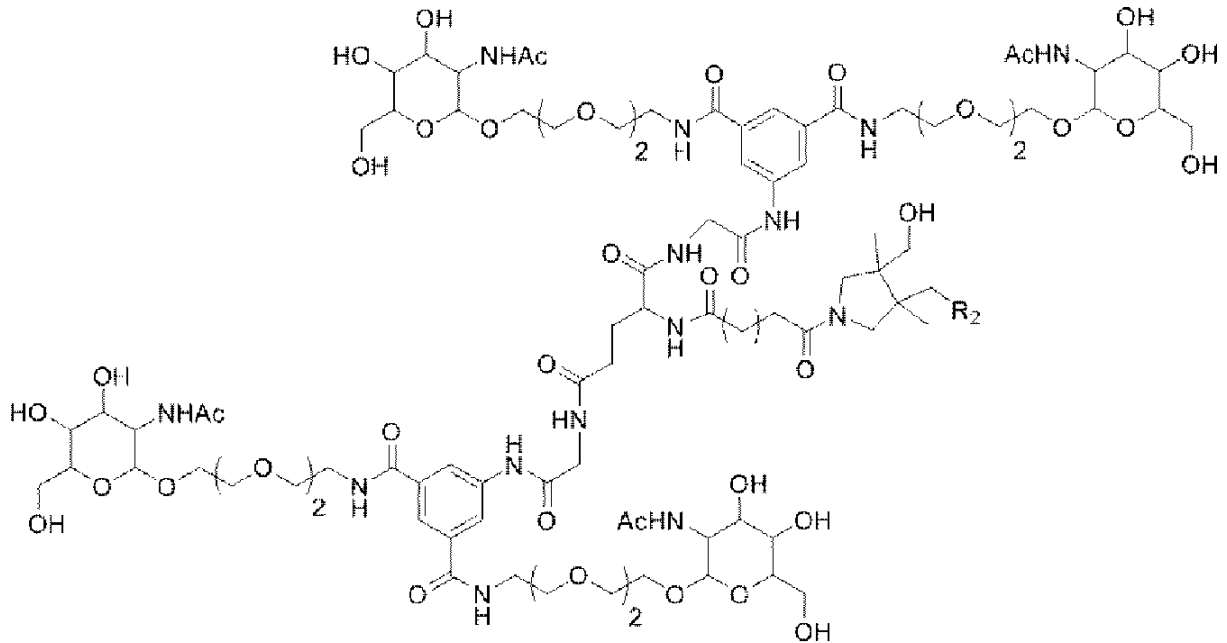
【0 2 9 3】

一実施形態において、本発明は、次式の化合物：

40

50

【化 1 4 4】



10

またはその塩を提供し、式中、 R^2 は核酸である。

【0 2 9 4】

20

一実施形態において、核酸分子（例えば、*siRNA*）は、センス鎖の3'末端におけるリン酸の酸素を介して化合物の残部に結合している。

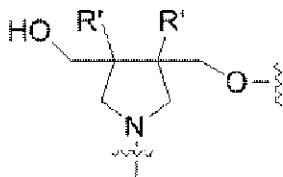
【0 2 9 5】

一実施形態において、化合物または塩は皮下投与される。

【0 2 9 6】

化合物が次式の基を含む場合、

【化 1 4 5】



30

環上で4種の立体異性体（2種のシス及び2種のトランス）が可能である。別段の記載がない限り、本発明の化合物は、そのような環に関する4種全ての立体異性体を含む。一実施形態において、2つの R' 基は、シス配座をとる。一実施形態において、2つの R' 基は、トランス配座をとる。

【0 2 9 7】

本発明の一態様は、

(a) 表1の二本鎖 $siRNA$ 分子から選択される1つ以上の二本鎖 $siRNA$ 分子と、

40

(b) カチオン性脂質と、

(c) 非カチオン性脂質と

を含む、核酸-脂質粒子である。

【実施例】

【0 2 9 8】

特定の実施例によって本発明を更に詳細に説明する。以下の実施例は例示目的で提示するものであり、本発明をいかようにも限定することを意図するものではない。当業者であれば、変更または改変しても本質的に同じ結果をもたらすことができる種々の重要なパラメータを容易に認識するであろう。一実施形態において、オリゴヌクレオチドは表1に記載される二本鎖 $siRNA$ 分子であることが理解される。

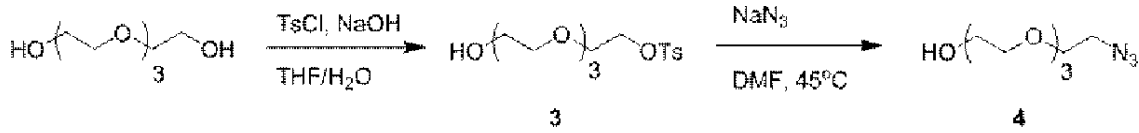
50

【 0 2 9 9 】

実施例 1。コンジュゲート 1 の合成

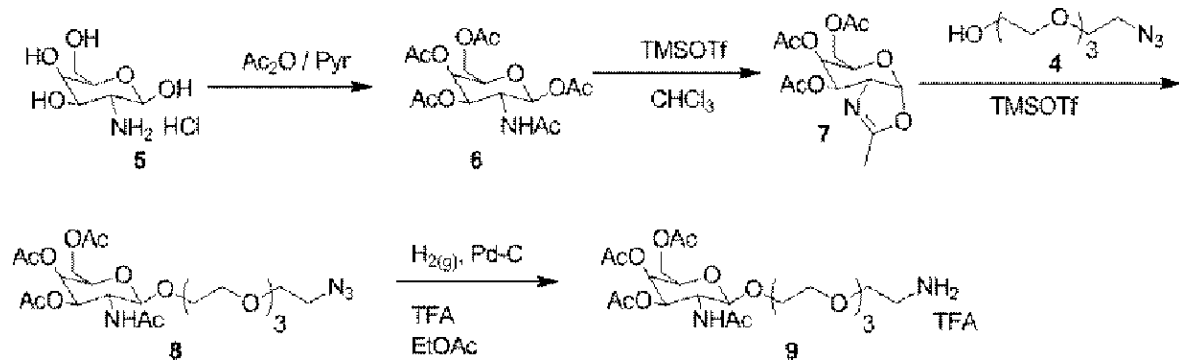
スキーム 1。

【 化 1 4 6 】



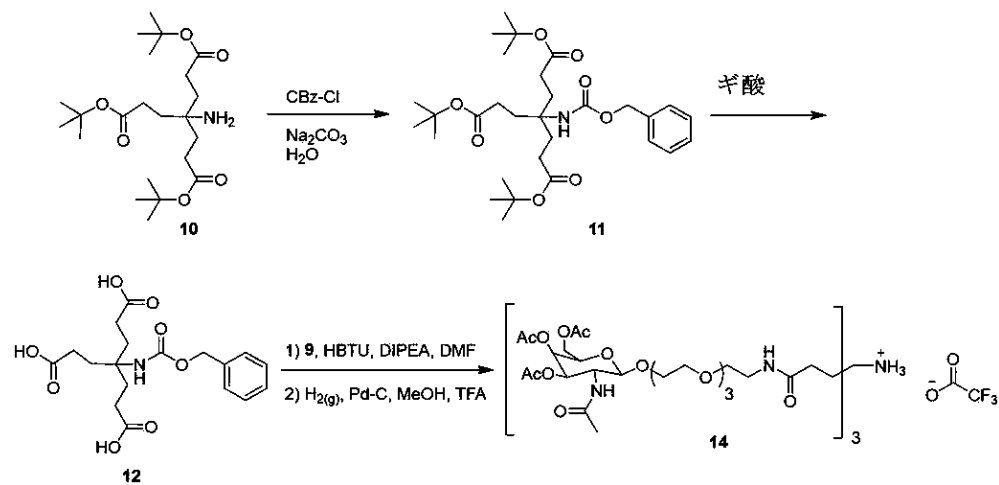
スキーム 2。

【 化 1 4 7 】



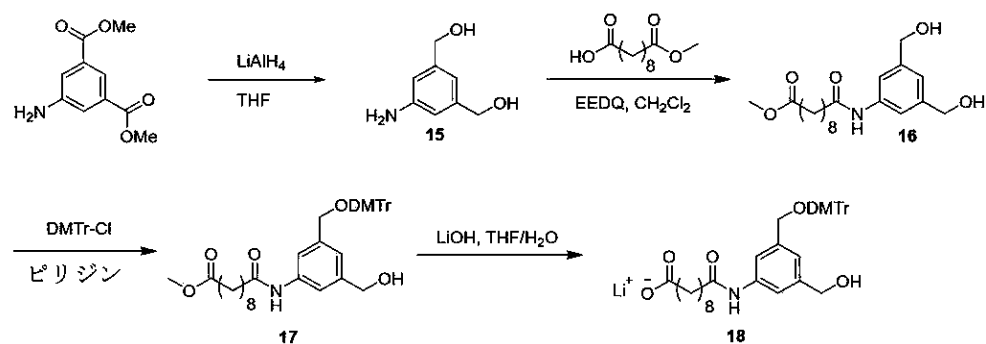
スキーム 3。

【 化 1 4 8 】



スキーム 4。

【 化 1 4 9 】



スキーム 5。

10

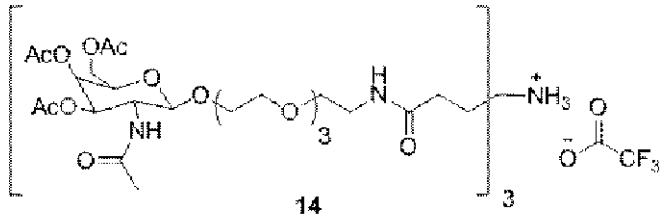
20

30

40

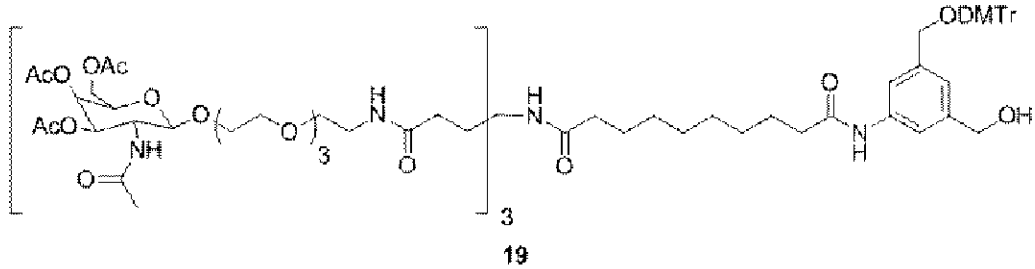
50

【化150】

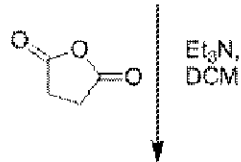


10

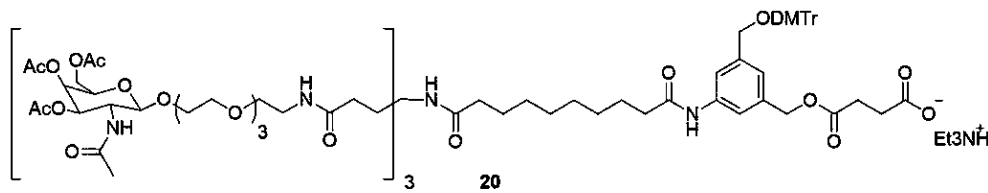
【化151】



20



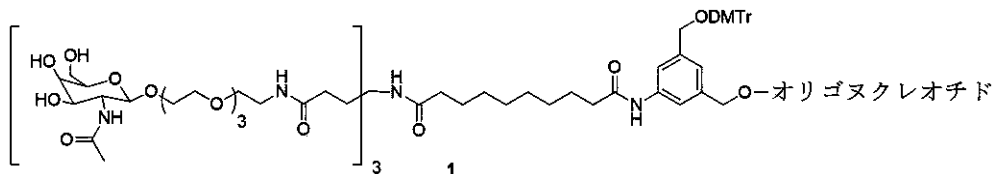
【化152】



30

- 1) 1000Å Icaa CPG
- 2) オリゴヌクレオチド合成
- 3) 脱保護

【化153】



40

【0300】

ステップ1。2 - (2 - (2 - (2 - ヒドロキシエトキシ) エトキシ) エトキシ) エチル 4 - メチルベンゼンスルホネート 3 の調製

【化154】



50

THF (175 mL) 及び NaOH 水溶液 (5 M、145 mL) にテトラエチレングリコール (934 g、4.8 mol) を含む溶液を冷却し (0)、THF (605 mL) 中に溶解した p-トルエンスルホニルクロリド (91.4 g、480 mmol) で処理し、次いで 2 時間撹拌した (0)。この混合物を水 (3 L) で希釈し、CH₂Cl₂ で抽出した (3 × 500 mL)。合わせた抽出物を水及びブラインで洗浄し、次いで乾燥させ (MgSO₄)、濾過し、濃縮させて、2-(2-(2-(2-ヒドロキシエトキシ)エトキシ)エチル 4-メチルベンゼンスルホネート (3) (140 g、84%) を淡黄色油状物として得た。R_f (0.57, 10% MeOH-CH₂Cl₂)。

【0301】

ステップ 2。2-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)エタン-1-オール (4) の調製

10

【化155】



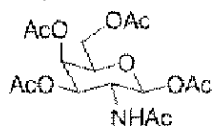
3 (140 g、403 mmol) の DMF 溶液 (880 mL) をアジ化ナトリウム (131 g、2.02 mol) で処理し、一晚加熱した (45)。DMF の大部分を減圧下で除去し、残渣を CH₂Cl₂ (500 mL) に溶解させ、ブラインで洗浄し (3 × 500 mL)、次いで乾燥させ (MgSO₄)、濾過し、濃縮させた。残渣を短いシリカ床 (5% MeOH-CH₂Cl₂) に通し、濃縮させて、2-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)エタン-1-オール (4) (65 g、74%) を黄色油状物として得た。R_f (0.56, 10% MeOH-CH₂Cl₂)。

20

【0302】

ステップ 3。過アセチル化ガラクトサミン (6) の調製

【化156】



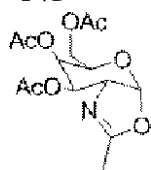
D-ガラクトサミン塩酸塩 (5) (250 g、1.16 mol) を含むピリジン (1.5 L) を 45 分間にわたって無水酢酸 (1.25 L、13.2 mol) で処理した。一晚撹拌した後、反応混合物を 3 つの 1 L 分量に分けた。各 1 L 分量を 3 L の氷水に注ぎ、1 時間混合した。混合した後、固体を濾過して除き、合わせて液体窒素で凍結してから、5 日間にわたって凍結乾燥させて、過アセチル化ガラクトサミン (6) (369.4 g、82%) を白色固体として得た。R_f (0.58, 10% MeOH-CH₂Cl₂)。

30

【0303】

ステップ 4。(3aR, 5R, 6R, 7R, 7aR)-5-(アセトキシメチル)-2-メチル-3a, 6, 7, 7a-テトラヒドロ-5H-ピラノ[3, 2-d]オキサゾール-6, 7-ジイルジアセテート (7) の調製

【化157】



40

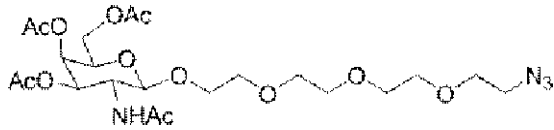
過アセチル化ガラクトサミン (6) (8.45 g、21.7 mmol) の CHCl₃ 溶液 (320 mL) を、TMSOTf (4.32 mL、23.9 mmol) の滴下により処理した。撹拌 (1.5 時間、40) の後、トリエチルアミン (5 mL) の添加により反応物をクエンチし、濃縮乾固させて、化合物 7 を淡黄色ガラス状物として得た (7.2 g、定量的)。この生成物を、更に精製することなく使用した。R_f (0.59, 10% MeOH-CH₂Cl₂)。

50

【0304】

ステップ5。(2R, 3R, 4R, 5R, 6R) - 5 - アセトアミド - 2 - (アセトキシメチル) - 6 - (2 - (2 - (2 - (2 - アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)テトラヒドロ - 2H - ピラン - 3, 4 - ジイルジアセテート(8)の調製

【化158】



化合物7(7.2g, 21.7mmol)及び2-(2-(2-(2-アジドエトキシ)エトキシ)エトキシ)エタン-1-オール4(2.65g, 15.2mmol)をトルエン(150mL)から共沸させ(3回)、微量の水を除去した。脱水した物質を1,2-ジクロロエタン(150mL)に溶解させ、冷却し(約5℃)、TMSOTf(784μL, 4.34mmol)で処理した。一晩攪拌した後、トリエチルアミン(5mL)の添加により反応物をクエンチし、濃縮させた。クロマトグラフィ(1% - 5% MeOH - CH₂Cl₂)によって残渣を精製して、8(7.12g, 85%)を褐色油状物として得た。R_f(0.3, 10% MeOH - CH₂Cl₂)。

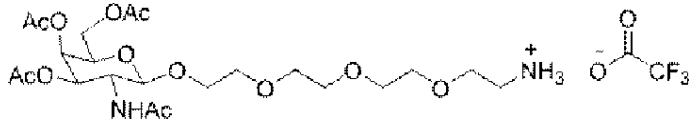
10

【0305】

ステップ6。2-(2-(2-(2-(2-(2R, 3R, 4R, 5R, 6R)-3-アセトアミド-4,5-ジアセトキシ-6-(アセトキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エタン-1-アミニウム2,2,2-トリフルオロアセテート(9)の調製

20

【化159】



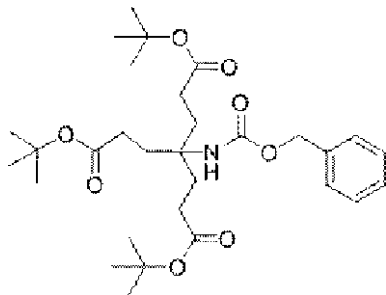
EtOAc(150mL)及びトリフルオロ酢酸(2mL)にアジド8(7.12g, 13mmol)を含む溶液を、パラジウム炭素(1.5g, 10%w/w湿量基準)で処理した。次いで、この反応混合物を水素でパージし、一晩勢いよく攪拌した。窒素でパージした後、混合物をセライトで濾過し、MeOHですすいだ。この濾液を濃縮させ、クロマトグラフィ(5% - 10% - 20% MeOH - CH₂Cl₂)によって精製して、9(5.8g, 72%)を褐色油状物として得た。R_f(0.34, 15% MeOH - CH₂Cl₂)。

30

【0306】

ステップ7。ジ-tert-ブチル4-((ベンジルオキシ)カルボニル)アミノ-4-(3-(tert-ブトキシ)-3-オキソプロピル)ヘプタンジオエート(11)の調製

【化160】



40

ジ-tert-ブチル4-アミノ-4-(3-(tert-ブトキシ)-3-オキソプロピル)ヘプタンジオエート(10)(13.5g, 33mmol)、25% Na₂CO₃

50

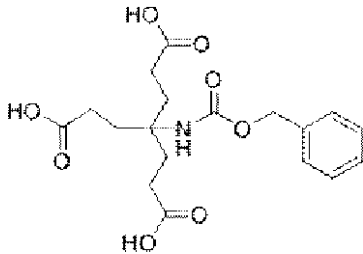
3 (水溶液) (150 mL)、及びジクロロメタン (300 mL) の溶液に、クロロギ酸ベンジル (14 mL、98 mmol) をゆっくりと添加した。この溶液を室温で一晩 (16 時間) 勢いよく撹拌した。完了次第、更なるジクロロメタン (100 mL) を添加し、ジクロロメタン層を分離させた。水層をジクロロメタン (2 × 100 mL) で抽出した。合わせたジクロロメタン抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させた。生成物 11 が無色油状物として単離され、更なる精製は必要なかった (15.8 g、88%)。R_f (0.7, 1:1 EtOAc - ヘキサン)。

【0307】

ステップ 8。4 - (((ベンジルオキシ) カルボニル) アミノ) - 4 - (2 - カルボキシエチル) ヘプタン二酸 (12) の調製

10

【化161】



12

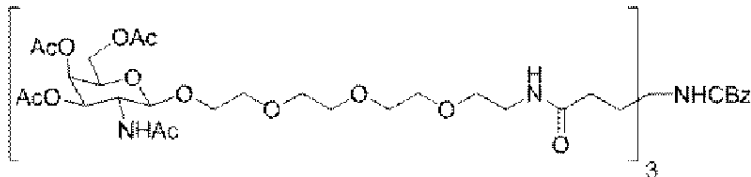
20

11 (15.6 g、28.8 mmol) のギ酸溶液 (50 mL) を室温で 2 時間撹拌した。この溶液を濃縮乾固させ、酢酸エチル (約 25 mL) に溶解させた。静置すると、この生成物は無色固体として結晶化した。固体を濾過し、酢酸エチルで洗浄し、空気乾燥させて、12 を無色固体として得た (10.2 g、93%)。R_f (0.1, 10% MeOH - CH₂Cl₂)。

【0308】

ステップ 9。化合物 13 の調製

【化162】



30

13

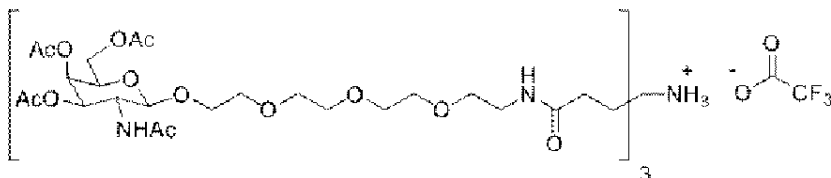
12 (793 mg、2.08 mmol) 及び 9 (5.8 g、9.36 mmol) の DMF 溶液 (50 mL) を、BOP (3.67 g、8.32 mmol)、次いで N, N - ジイソプロピルエチルアミン (4.31 mL、25 mmol) で処理した。一晩撹拌した後、混合物を濃縮乾固させ、クロマトグラフィ (1% 2% 5% 10% 15% MeOH - CH₂Cl₂) に供して、13 を得た (5.71 g [未精製]、> 100% - 次のステップに影響しなかったカップリング副生成物を含有した)。R_f (0.45, 10% MeOH - CH₂Cl₂)。

40

【0309】

ステップ 10。化合物 14 の調製

【化163】



50

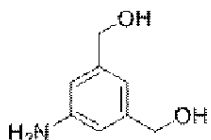
14

化合物13 (5.7 g) を MeOH (150 mL) 及び TFA (1.5 mL) に溶解させ、パラジウム炭素 (1 g、10% w/w 湿量基準) で処理した。次いで、この反応混合物を水素でパージし、一晩勢いよく攪拌した。窒素でパージした後、混合物をセライトで濾過し、MeOHですすいだ。この濾液を濃縮させ、クロマトグラフィ (5% 10% 20% MeOH - CH₂Cl₂) によって精製して、14 を褐色油状物として得た (2.15 g、2ステップで56%)。R_f (0.32, 10% MeOH - CH₂Cl₂)。

【0310】

ステップ11。(5-アミノ-1,3-フェニレン)ジメタノール(15)の調製

【化164】

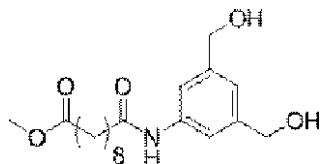


ジメチル5-アミノイソフタレート (20.0 g、96 mmol) の THF 溶液 (350 mL) を、THF (440 mL) 中の3.75当量の LiAlH₄ (13.6 g、358 mmol) の還流混合物に、1時間にわたって滴加した。この混合物を還流下で更に2時間攪拌し、次いで室温に冷まし、MeOH (27 mL) の次に水 (40 mL) を注意深く添加することによりクエンチした。クエンチした混合物を2時間攪拌した後、これを濾過し、濃縮乾固させた。残渣を EtOAc から再結晶させ (2回)、15 を褐色がかった黄色の結晶として得た (10.2 g、70%)。

【0311】

ステップ12。メチル10-((3,5-ビス(ヒドロキシメチル)フェニル)アミノ)-10-オキソデカノエート(16)の調製

【化165】

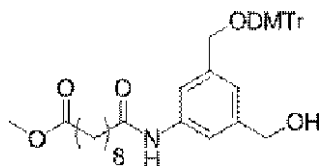


セバシン酸メチル (3.8 g、17 mmol)、15 (2.5 g、17 mmol)、及び EEDQ (8.1 g、33 mmol) の2:1ジクロロメタン/メタノール溶液 (200 mL) を、室温で2時間攪拌した。完了次第、溶液を濃縮乾固させた。得られた固体をジクロロメタン (50 mL) で粉碎し、濾過した。固体を冷ジクロロメタンですすぎ、空気乾燥させて、16 を無色固体として得た (4.3 g、72%)。R_f (0.33, EtOAc)。

【0312】

ステップ13。メチル10-((3-((4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-5-(ヒドロキシメチル)フェニル)アミノ)-10-オキソデカノエート(17)の調製

【化166】



16 (4.3 g、12 mmol) のピリジン溶液 (50 mL) に、4,4'-(クロロ(フェニル)メチレン)ビス(メトキシベンゼン) (4.1 g、12 mmol) を添加した。この溶液を室温で一晩、窒素下で攪拌した。完了次第、溶液を濃縮乾固させ、カラムク

10

20

30

40

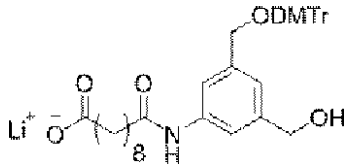
50

ロマトグラフィ (0.5% 0.75% 1% 1.5% MeOH - CH₂Cl₂) によって残渣を精製して、17を黄色固体として得た (2.9 g, 35%)。R_f (0.6, 10% MeOH - CH₂Cl₂)。

【0313】

ステップ14。10 - ((3 - ((ビス(4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 5 - (ヒドロキシメチル) フェニル) アミノ) - 10 - オキソデカン酸リチウム (18) の調製

【化167】



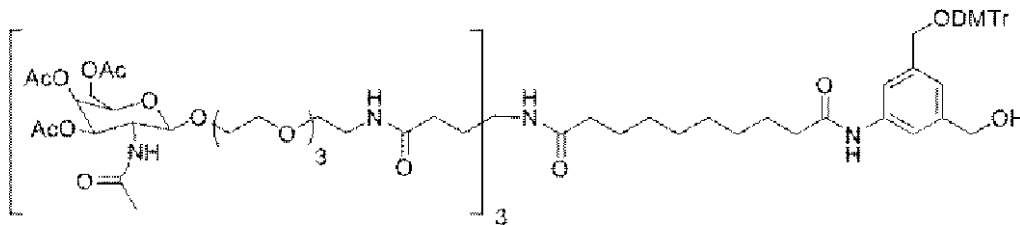
10

17 (2.9 g, 4.3 mmol) の THF 溶液 (60 mL) に、水 (15 mL) 及び水酸化リチウム (112 mg, 4.7 mmol) を添加した。この溶液を室温で一晩攪拌した。完了次第、溶液を濃縮させ、THF を除去した。残った水溶液を液体窒素で急速凍結し、一晩凍結乾燥させて無色固体を得た (2.9 g, 定量的)。R_f (0.3, 10% MeOH - CH₂Cl₂)。

【0314】

ステップ15。化合物19の調製

【化168】



20

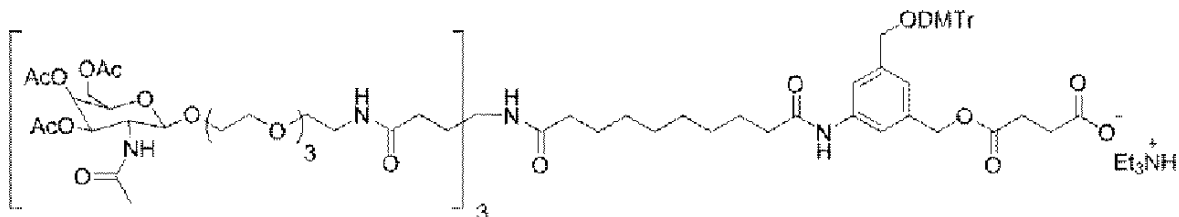
14 (454 mg, 0.67 mmol)、18 (1.25 g, 0.67 mmol)、及び HBTU (381 mg, 1.0 mmol) の無水 DMF 溶液 (25 mL) に、N,N - ジイソプロピルエチルアミン (0.35 mL, 2.0 mmol) を添加した。この溶液を室温で一晩攪拌した。完了次第、溶液を酢酸エチル (250 mL) に注ぎ、ブライン (3 x 200 mL) で洗浄した。酢酸エチル層を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させた。カラムクロマトグラフィ (5% 7.5% 10% 15% の MeOH を含む CH₂Cl₂) による精製により、19 を淡橙色泡状物として得た (1.5 g, 94%)。R_f (0.25, 10% MeOH - CH₂Cl₂)。

30

【0315】

ステップ16。化合物20の調製

【化169】



40

化合物19 (1.5 g, 0.6 mmol)、無水コハク酸 (120 mg, 1.2 mmol)、DMAP (220 mg, 1.8 mmol)、及びトリメチルアミン (250 μL, 1.8 mmol) の無水 CH₂Cl₂ 溶液 (50 mL) を、室温で一晩攪拌した。完了次第、溶液を濃縮乾固させ、短いシリカプラグ (100% CH₂Cl₂ 15% の MeOH

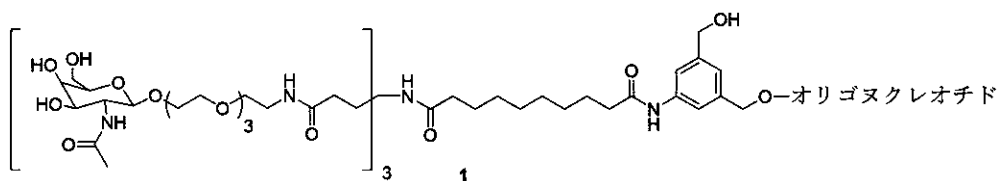
50

を含む CH_2Cl_2)で濾過し、生成物20を明るいベージュ色の泡状物として得た(1.1 g、70%)。質量 m/z (ES-TOF MS) 727.7 [$M + 3H - \text{DMTr}$] $^+$, 1091.1 [$M + 2H - \text{DMTr}$]。 $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) 8.92 (br s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.49 - 7.47 (m, 3H), 7.41 (br s, 1H), 7.38 - 7.34 (m, 5H), 7.32 - 7.26 (m, 4H), 7.24 - 7.08 (br s, 3H), 7.08 (s, 1H), 6.90 - 6.80 (m, 7H), 5.31 (d, 3H, $J = 2.7 \text{ Hz}$), 5.12 (s, 2H), 5.06 (dd, 3H, $J = 11.2, 3.2 \text{ Hz}$), 4.78 (d, 3H, $J = 8.5 \text{ Hz}$), 4.24 - 4.08 (m, 12H), 3.95 - 3.88 (m, 7H), 3.85 - 3.76 (m, 4H), 3.78 (s, 6H), 3.68 - 3.56 (m, 34H), 3.54 - 3.44 (m, 8H), 3.41 - 3.33 (m, 6H), 2.70 - 2.60 (m, 4H), 2.52 - 2.30 (m, 30H), 2.24 - 2.16 (m, 8H), 2.14 (s, 9H), 2.04 (s, 9H), 2.02 - 1.96 (m, 6H), 1.98 (s, 9H), 1.96 (s, 9H), 1.74 - 1.52 (m, 4H), 1.36 - 1.24 (m, 12H)。

【0316】

ステップ17。コンジュゲート1の調製

【化170】



標準的なアミドカップリング化学を使用し、サクシネート20を1000 LC AA (長鎖アミノアルキル)CPG (制御細孔ガラス)に負荷した。ジイソプロピルカルボジイミド(52.6 μmol)、N-ヒドロキシサクシニミド(0.3 mg、2.6 μmol)、及びピリジン(10 μL)の無水アセトニトリル溶液(0.3 mL)を、20(20.6 mg、8 μmol)を含む無水ジクロロメタン(0.2 mL)に添加した。この混合物をLC AA CPG(183 mg)に加えた。この懸濁液を室温で一晩穏やかに混合した。20が消失したら(HPLC)、反応混合物を濾過し、ジクロロメタン、アセトニトリル、5%無水酢酸/5%N-メチルイミダゾール/5%ピリジンのTHF溶液、次いでTHF、アセトニトリル及びジクロロメタン各1 mLでCPGを洗浄した。次いで、CPGを高真空下で一晩乾燥させた。UV/Vis(504 nm)による標準的なDMTrアッセイによって、負荷を25 $\mu\text{mol/g}$ と判定した。結果として得られたGalNAcが負荷されたCPG固体支持体を、標準的な手順を使用した自動化オリゴヌクレオチド合成に用いた。ヌクレオチド脱保護の後に固体支持体からの除去を(ガラクトサミンアセテート脱保護と同時に)行なうと、代表例としてのGalNAc-オリゴヌクレオチドコンジュゲート1が得られた。

【0317】

実施例2：コンジュゲート34の合成

スキーム6。

10

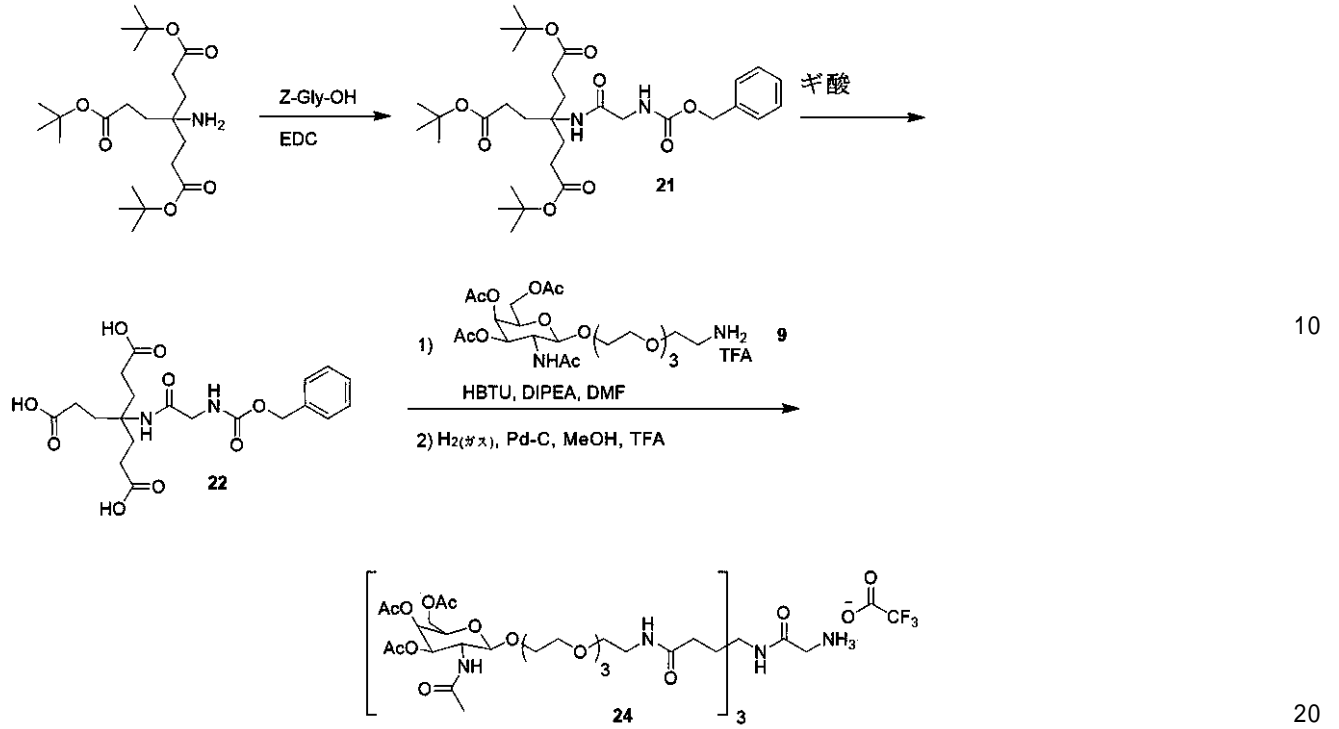
20

30

40

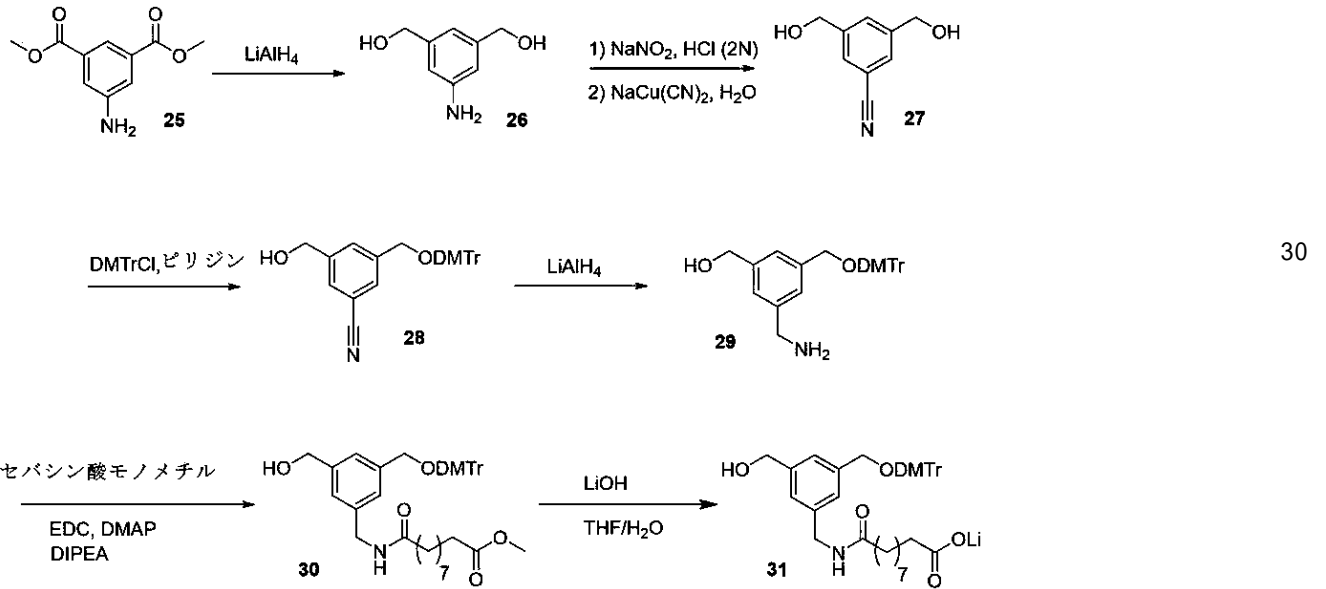
50

【化171】



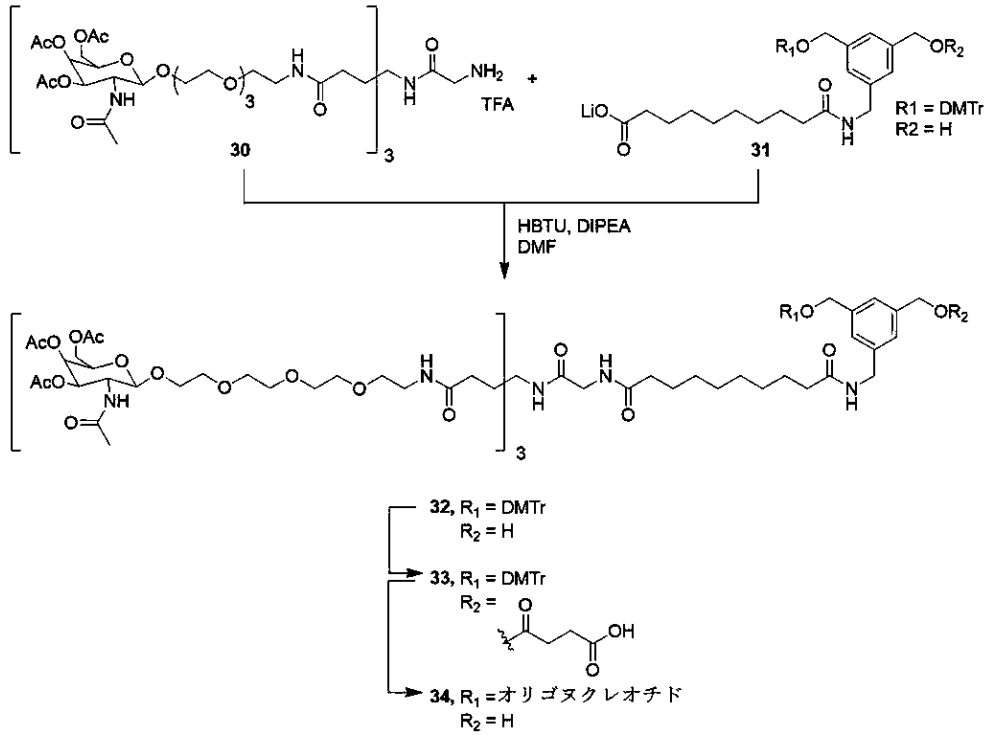
スキーム 7。

【化172】



スキーム 8。

【化173】



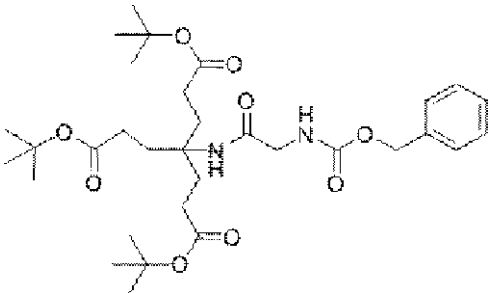
10

20

【0318】

ステップ1。ジ-tert-ブチル4-(2-((ベンジルオキシ)カルボニル)アミノ)アセトアミド)-4-(3-(tert-ブトキシ)-3-オキソプロピル)ヘプタンジオエート(21)の調製

【化174】



30

ジ-tert-ブチル4-アミノ-4-(3-(tert-ブトキシ)-3-オキソプロピル)ヘプタンジオエート(25g、60mmol)及びZ-グリシン(18.9g、90.2mmol)のCH₂Cl₂溶液(300mL)を、EDC(23g、120mmol)、ジイソプロピルエチルアミン(32mL、180mmol)、及びDMAP(触媒、17mg)で連続的に処理した。攪拌(16時間)した後、反応混合物をNaHCO₃(飽和水溶液)に注ぎ、CH₂Cl₂で抽出し、ブラインで洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、濃縮して、ジ-tert-ブチル4-(2-((ベンジルオキシ)カルボニル)アミノ)アセトアミド)-4-(3-(tert-ブトキシ)-3-オキソプロピル)ヘプタンジオエート21を非晶質固体として得て、これを更に処理することなく使用した(36g、定量的)。R_f(0.85, 10% MeOH-CH₂Cl₂)。

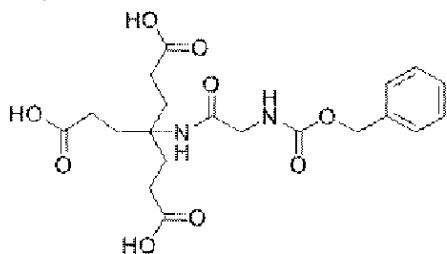
40

【0319】

ステップ2。4-(2-((ベンジルオキシ)カルボニル)アミノ)アセトアミド)-4-(2-カルボキシエチル)ヘプタン二酸(22)の調製

50

【化175】

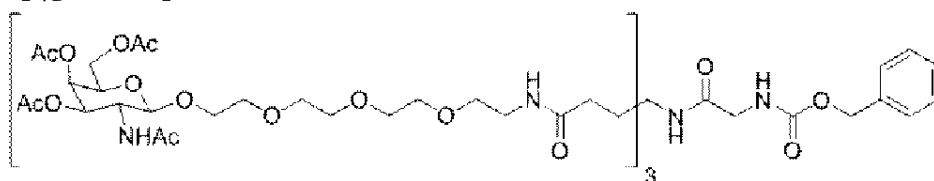


ジ-tert-ブチル4-(2-((ベンジルオキシ)カルボニル)アミノ)アセトアミド)-4-(3-(tert-ブトキシ)-3-オキソプロピル)ヘプタンジオエート(21)(59.3mmol、36g)の溶液を、無希釈ギ酸(150mL)中で72時間撹拌した。完了次第、ギ酸を減圧下で除去し、粗固体を高真空で一晩乾燥させて、22を無色固体として得た(15.9g、61%)。Rf(0.15, 10% MeOH-CH₂Cl₂)。

【0320】

ステップ3。化合物23の調製

【化176】

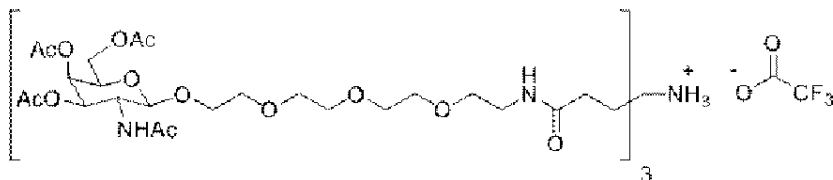


22(6.2g、14.1mmol)及び2-(2-(2-(2-((2R,3R,4R,5R,6R)-3-アセトアミド-4,5-ジアセトキシ-6-(アセトキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)エトキシ)エトキシ)エタン-1-アミニウム2,2,2-トリフルオロアセテート(35g、56.5mmol)のDMF溶液(250mL)を、BOP(25g、56.5mmol)、次いでN,N-ジイソプロピルエチルアミン(29mL、170mmol)で処理した。一晩撹拌した後、混合物を濃縮乾固させ、クロマトグラフィ(100% CH₂Cl₂から15% MeOH-CH₂Cl₂)に供して、化合物23を得た(24.6g、89%)。Rf(0.55, 15% MeOH-CH₂Cl₂)。

【0321】

ステップ4。化合物24の調製

【化177】



化合物23(24.6g)をMeOH(200mL)及びTFA(1.5mL)に溶解させ、窒素でパージした。パラジウム炭素(1g、10%w/w湿量基準)を添加し、次いで反応混合物を水素でパージし、一晩勢いよく撹拌した。完了次第、反応物を窒素でパージし、セライトで濾過し、MeOHですすいだ。この濾液を濃縮させ、シリカゲル60でのカラムクロマトグラフィ(勾配:5% 10% 20% MeOH-CH₂Cl₂)によって精製して、24を淡褐色粘性油状物として得た(23g)。Rf(0.32, 10% MeOH-CH₂Cl₂)。

【0322】

ステップ5。(5-アミノ-1,3-フェニレン)ジメタノール(26)の調製

10

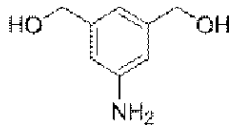
20

30

40

50

【化178】



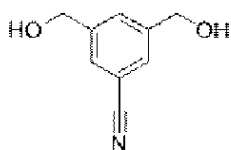
水素化アルミニウムリチウム (13.6 g、358 mmol) の無水テトラヒドロフラン懸濁液 (450 mL) を窒素雰囲気下で還流し、ジメチル-5-アミノイソフタレート (25) (20 g、96 mmol) の無水テトラヒドロフラン溶液 (350 mL) の滴下により処理した。添加が完了した後、混合物を更に2時間にわたって加熱還流した。完了次第、溶液を室温に冷まし、MeOH (27 mL) の次に水 (40 mL) をゆっくりと添加することによってクエンチした。2時間攪拌した後、混合物を濾過し、濃縮させ、EtOAc から再結晶させ、(5-アミノ-1,3-フェニレン)ジメタノール (26) をオフホワイトの結晶として得た (10.2 g、70%)。Rf 0.5 (15% MeOH-CH₂Cl₂)。

10

【0323】

ステップ6。3,5-ビス(ヒドロキシメチル)ベンゾニトリル (27) の調製

【化179】



20

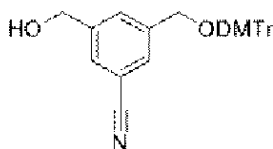
26 (5 g、33 mmol) の2N塩酸溶液 (100 mL) を0 に冷却し、亜硝酸ナトリウム (3.53 g、36 mmol) の冷水溶液 (50 mL) で処理した。反応混合物を5 以下の温度に30分間維持し、次いで1回分量のシアン化銅 (I) (3.19 g、35.6 mmol) 及びシアン化ナトリウム (3.53 g、72 mmol) の水溶液 (50 mL) で処理した。室温で一晩攪拌した後、混合物を濾過し、ジクロロメタン (3 × 100 mL) で抽出し、濃縮させ、更に精製することなく使用した。ジオールである3,5-ビス(ヒドロキシメチル)ベンゾニトリル (27) を黄色固体として得た (2.19 g、41%)。Rf 0.75 (15% MeOH-CH₂Cl₂)。

30

【0324】

ステップ7。3-((ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-5-(ヒドロキシメチル)ベンゾニトリル (28) の調製

【化180】



3,5-ビス(ヒドロキシメチル)ベンゾニトリル (27) (538 mg、3.3 mmol) のピリジン溶液 (14 mL) を4,4'-ジメトキシトリチルクロリド (1.17 g、3.46 mmol) で処理し、室温で一晩攪拌した。完了次第、混合物を濃縮させ、ジエチルエーテル (25 mL) に分散させ、濾過し、濃縮させた。シリカゲル60でのカラムクロマトグラフィ (勾配: 10% から50% のEtOAc-ヘキサン) によって粗生成物を精製して、28を黄色固体として得た (725 mg、47%)。Rf 0.5 (1:1 EtOAc-ヘキサン)。

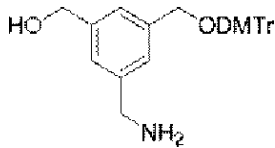
40

【0325】

ステップ8。(3-(アミノメチル)-5-((ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)フェニル)メタノール (29) の調製

50

【化181】



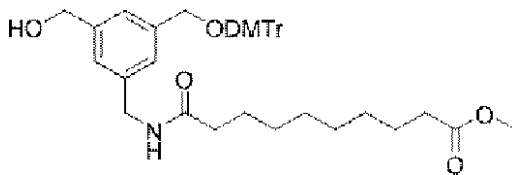
28 (100 mg、0.22 mmol) のメチルテトラヒドロフラン溶液 (5 mL) を 0 に冷却し、水素化アルミニウムリチウムでゆっくりと処理した (0.64 mmol = 0.28 mL の 2.3 M MeTHF 溶液)。1 時間攪拌した後、メタノール (1 mL) の次に水 (0.3 mL) を添加することにより反応物をクエンチし、30 分間攪拌した。混合物を濾過し、濃縮させて、(3 - (アミノメチル) - 5 - ((ビス(4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) フェニル) メタノール (29) を得た (78 mg、77%)。R_f 0.15 (10% MeOH - CH₂Cl₂)。

10

【0326】

ステップ 9。メチル 10 - ((3 - ((ビス(4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 5 - (ヒドロキシメチル) ベンジル) アミノ) - 10 - オキソデカノエート (30) の調製

【化182】



20

(3 - (アミノメチル) - 5 - ((ビス(4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) - メチル) フェニル) メタノール (29) (78 mg、0.17 mmol) 及びセバシン酸モノメチル (38 mg、0.17 mmol) のジクロロメタン溶液 (5 mL) を、EDC (48 mg、0.25 mmol)、DMA P (触媒、5 mg)、及びジイソプロピルエチルアミン (57 μL、0.33 mmol) で連続的に処理した。攪拌 (3.5 時間) した後、反応混合物を飽和炭酸水素ナトリウム溶液 (50 mL) に注いだ。炭酸水素ナトリウム溶液をジクロロメタン (3 × 50 mL) で抽出し、ブライン (50 mL) で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させた。シリカゲル 60 のカラムクロマトグラフィ (勾配: 2% から 5% の MeOH - CH₂Cl₂) によって粗物質を精製して、メチル 10 - ((3 - ((ビス(4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 5 - (ヒドロキシメチル) ベンジル) アミノ) - 10 - オキソデカノエート (30) を黄色油状物として得た (57 mg、53%)。R_f 0.45 (10% MeOH - CH₂Cl₂)。

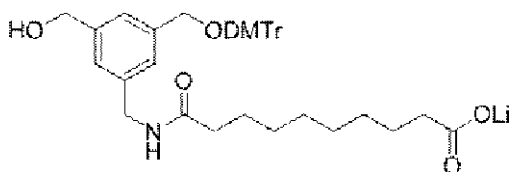
30

【0327】

ステップ 10。10 - ((3 - ((ビス(4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 5 - (ヒドロキシメチル) ベンジル) アミノ) - 10 - オキソデカン酸リチウム (31) の調製

40

【化183】



化合物 30 (188 mg、0.28 mmol) をテトラヒドロフラン (5 mL) に溶解させ、LiOH (7 mg、0.30 mmol) の水溶液 (1 mL) で処理した。完了次第、テトラヒドロフランを真空中で除去し、残った水性混合物を凍結及び凍結乾燥させて、10 - ((3 - ((ビス(4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 5

50

- (ヒドロキシメチル)ベンジル)アミノ) - 10 - オキソデカン酸リチウム (31) を無色固体として得た (180 mg、99%)。Rf 0.45 (10% MeOH - CH₂Cl₂)。

【0328】

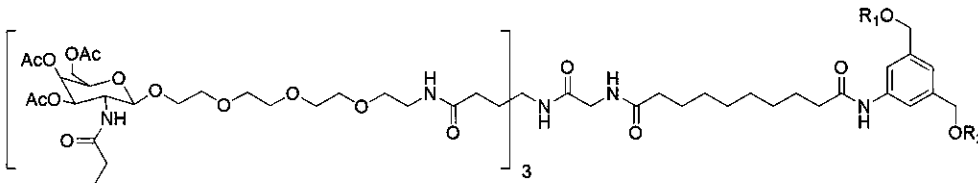
ステップ11。化合物32、33、及び34の調製

化合物32、33、及び34を、それぞれ、化合物19、20、及び1を合成するために使用したのと同じ手順に従って調製した。

【0329】

実施例3。コンジュゲート36の合成

【化184】



36, R₁ = オリゴヌクレオチド
R₂ = H

10

【0330】

ステップ1。コンジュゲート36の調製

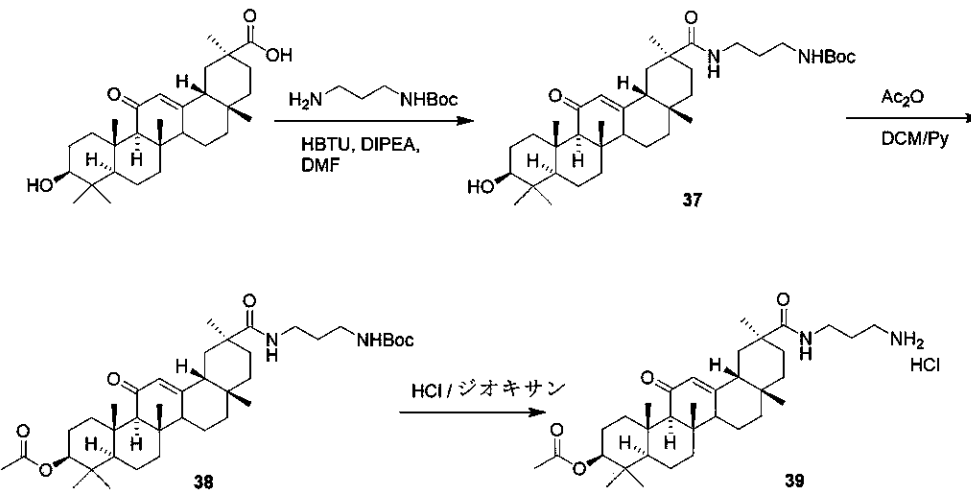
化合物34及び全ての対応する中間体を合成するために使用したのと同じ手順を使用し、コンジュゲート36を調製した。唯一の例外は、無水酢酸の代わりにプロパン酸無水物を使用した化合物6の合成であった。

【0331】

実施例4。コンジュゲート42の合成

スキーム9。

【化185】



スキーム10。

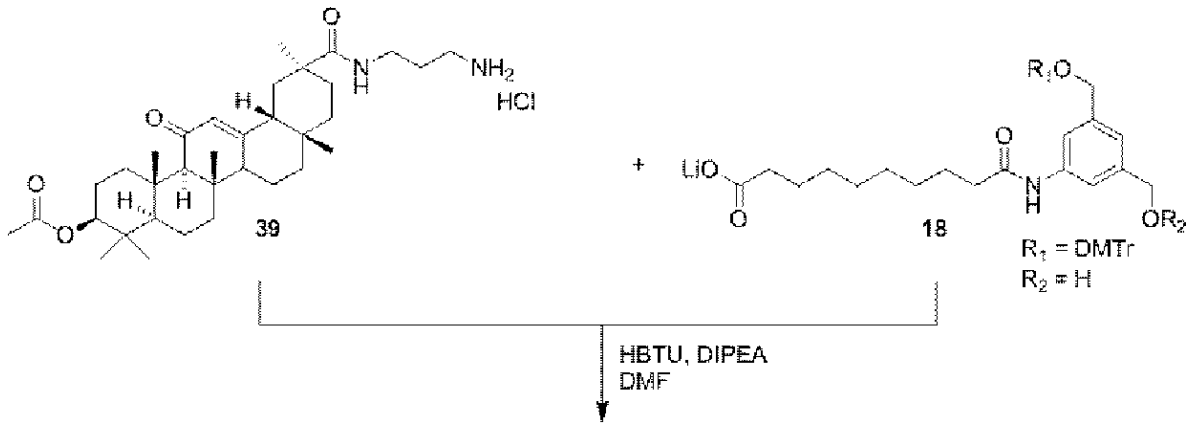
20

30

40

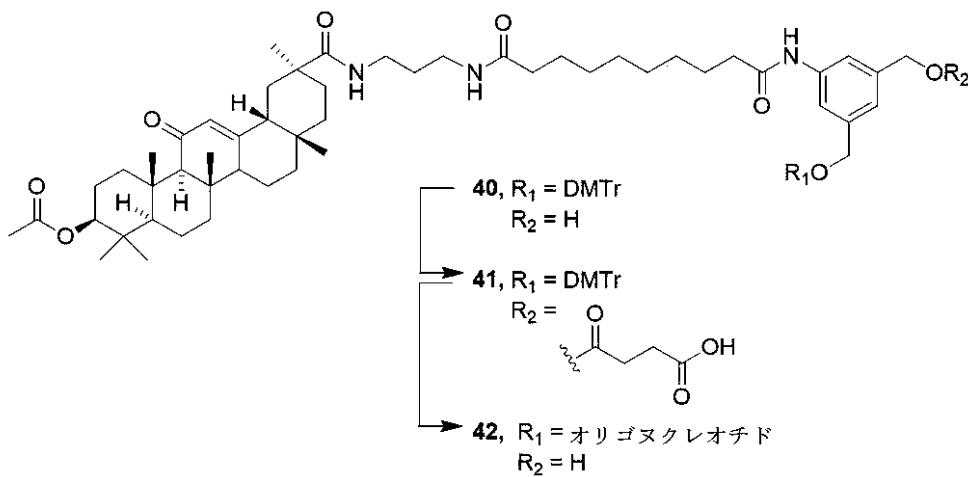
50

【化 1 8 6】



10

【化 1 8 7】



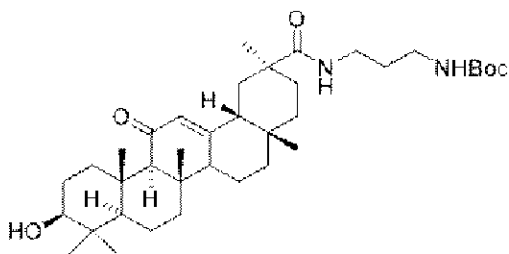
20

【0 3 3 2】

ステップ 1。化合物 3 7 の調製

30

【化 1 8 8】



18 - グリチルレチン酸 (2.5 g、5.3 mmol)、tert-ブチル (3-アミノプロピル) カルバメート (1.1 g、6.4 mmol)、及び HBTU (3.0 g、8.0 mmol) の N,N-ジメチルホルムアミド溶液 (20 mL) に、ジイソプロピルエチルアミン (2.75 mL、15.9 mmol) を添加した。この溶液を室温で一晩攪拌した。完了次第、溶液を真空中で濃縮乾固させた。シリカゲル 60 のカラムクロマトグラフィ (勾配: 2% から 5% の MeOH / CH₂Cl₂) によって残渣を精製して、生成物を無色固体として得た (2.1 g、63%)。

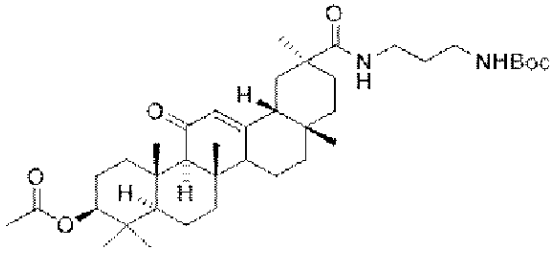
40

【0 3 3 3】

ステップ 2。化合物 3 8 の調製

50

【化 1 8 9】



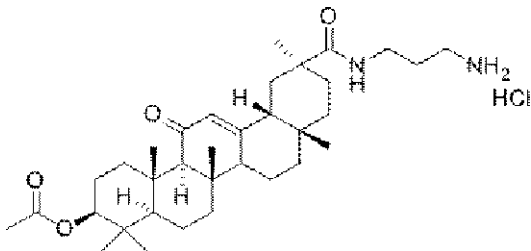
37 (2.1 g, 3.3 mmol) 及びトリエチルアミン (3.5 mL, 10 mmol) のジクロロメタン溶液 (25 mL) に、無水酢酸 (850 μ L, 5.3 mmol) 及び DMAP (5 mg) を添加した。この溶液を室温で一晩攪拌した。完了次第、溶液を濃縮乾固させ、酢酸エチル (100 mL) に溶解させ、水 (100 mL) で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、淡褐色泡状物を得た (1.9 g, 85%)。

10

【0334】

ステップ 3。化合物 39 の調製

【化 1 9 0】



20

38 (1.5 g, 2.3 mmol) の無水ジオキサン溶液 (25 mL) に、2 M 塩化水素を含むジオキサン (25 mL) を添加した。この溶液を室温で一晩攪拌し、次いで真空中で濃縮乾固させて、明褐色固体を得た (1.3 g, 96%)。

【0335】

ステップ 4。化合物 40、41、及び 42 の調製

化合物 40、41、及び 42 は、それぞれ、化合物 19、20、及び 1 を合成するために使用したものと同一手順に従って調製した。

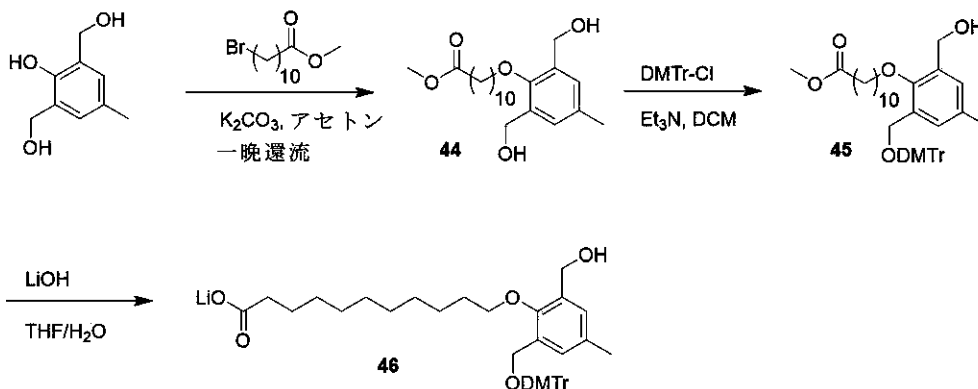
30

【0336】

実施例 5。コンジュゲート 43 の合成

スキーム 11。

【化 1 9 1】

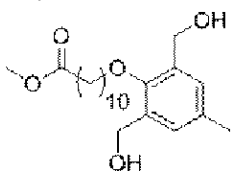


40

スキーム 12。

50

【化194】



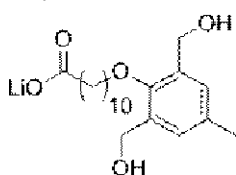
メチル11-(2,6-ビス(ヒドロキシメチル)-4-メチルフェノキシ)ウンデカノエート(44)(1.5g、4.1mmol)の無水ピリジン溶液(20mL)に、4,4'-ジメトキシトリチルクロリド(1.4g、4.1mmol)を添加した。この溶液を室温で一晩攪拌した。完了次第、溶液を真空中で濃縮乾固させ、シリカゲル60でのカラムクロマトグラフィ(0.5から1%のMeOHを含むCH₂Cl₂)によって精製して、メチル11-(2-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-6-(ヒドロキシメチル)-4-メチルフェノキシ)ウンデカノエート(45)を淡黄色固体として得た(1.1g、40%)。

10

【0339】

ステップ3。11-(2-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-6-(ヒドロキシメチル)-4-メチルフェノキシ)ウンデカン酸リチウム(46)の調製

【化195】



20

無水テトラヒドロフラン(40mL)及び水(10mL)にメチル11-(2-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-6-(ヒドロキシメチル)-4-メチルフェノキシ)ウンデカノエート(45)(1.1g、1.7mmol)を含む溶液に、水酸化リチウム(44mg、1.8mmol)を添加した。この溶液を真空中で濃縮させて、テトラヒドロフランを全て除去した。残った水溶液を液体窒素で急速凍結し、次いで一晩凍結乾燥させて、11-(2-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-6-(ヒドロキシメチル)-4-メチルフェノキシ)ウンデカン酸リチウム(46)を淡桃色固体として得た(1.1g、94%)。

30

【0340】

ステップ4。化合物47の調製

10(1.33g、0.66mmol)、46(0.5g、0.73mmol)、HB TU(400mg、1mmol)のN,N-ジメチルホルムアミド溶液(25mL)に、ジイソプロピルエチルアミン(0.35mL、2mmol)を添加した。この溶液を室温で一晩(18時間)攪拌した。完了次第、溶媒を真空中で除去し、シリカゲルでのカラムクロマトグラフィ(勾配:100%CH₂Cl₂-5%-10%-15%のMeOHを含むCH₂Cl₂)によって残渣を精製して、47を無色固体として得た(710mg、41%)。

40

【0341】

ステップ5。化合物48の調製

47(0.71g、0.3mmol)、トリエチルアミン(0.4mL、3.0mmol)、及びポリスチレン-DMAP(3mmol/g負荷、200mg、0.6mmol)のジクロロメタン溶液(15mL)に、無水コハク酸(60mg、0.6mmol)を添加した。この溶液を室温で一晩攪拌し、完了次第、濾過し、真空中で濃縮乾固させた。シリカゲル60でのカラムクロマトグラフィ(勾配5%から20%のMeOHを含むCH₂Cl₂)によって残渣を精製して、48を淡黄色固体として得た(570mg、70%)。¹H NMR(DMSO-d₆, 400MHz) 7.91(m, 1H), 7.

50

8.6 - 7.76 (m, 6H), 7.45 - 7.40 (m, 2H), 7.36 - 7.14 (m, 10H), 7.10 (s, 1H), 6.91 (d, J = 8.9 Hz, 4H), 5.21 (d, J = 3.3 Hz, 3H), 5.01 (s, 2H), 4.97 (dd, J = 11.2, 3.4 Hz, 3H), 4.56 (d, J = 8.5 Hz, 3H), 4.06 - 3.98 (m, 11H), 3.93 - 3.84 (m, 3H), 3.81 - 3.72 (m, 3H), 3.74 (s, 6H), 3.65 - 3.46 (m, 38H), 3.40 - 3.35 (m, 6H), 3.20 - 3.16 (m, 6H), 2.56 - 2.44 (m, 4H), 2.33 (s, 3H), 2.15 - 2.08 (m, 2H), 2.10 (s, 9H), 2.04 - 1.96 (m, 6H), 1.89 (s, 9H), 1.82 - 1.76 (m, 4H), 1.77 (s, 9H), 1.54 - 1.34 (m, 4H), 1.28 - 1.10 (m, 12H).

10

【0342】

ステップ6。化合物49の調製

ジクロロメタン(2 mL)及びアセトニトリル(3 mL)に48(100 mg、40 μ mol)、N-ヒドロキシサクシニミド(30 mg/mLアセトニトリル溶液、50 μ L、13 μ mol)、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(40 μ L、264 μ mol)、及びピリジン(50 μ L)を含む溶液に、1000 lcaa CPG(プライム合成、920 mg)を加えた。この溶液をオービタルシェーカーにて室温で一晩撹拌した。反応溶液のTLC分析は、活性化されたN-ヒドロキシコハク酸エステルの部分的な消費しか示さなかったため、更なるCPG(500 mg)を加えた。この溶液を再度一晩撹拌した。完了次第、CPGを濾過し、ジクロロメタン(25 mL)、アセトニトリル(25 mL)、及びテトラヒドロフラン(25 mL)で洗浄した。無水酢酸を含むアセトニトリル(3 mL)と10%N-メチルイミダゾール/10%ピリジンを含むテトラヒドロフラン(3 mL)との1:1溶液を添加することにより、CPG上の未反応のアミン残基をアセチル化(キャッピング)した。この懸濁液を2時間静置してから濾過し、等量のテトラヒドロフラン(25 mL)、アセトニトリル(25 mL)、及びジクロロメタン(25 mL)ですすいだ。負荷されたCPG 49を高真空下で一晩乾燥させた。標準的なDMT負荷アッセイ(CH₂Cl₂中3%のトリクロロ酢酸、UV-VIS、A504)を使用し、リガンド負荷効率を22 μ mol/gと判定した。

20

【0343】

ステップ7。コンジュゲート43の調製

結果として得られたGalNAcが負荷されたCPG固体支持体49を、標準的な手順を使用した自動化オリゴヌクレオチド合成に用いた。ヌクレオチド脱保護の後に固体支持体からの除去を(ガラクトサミンアセテート脱保護と同時に)行なうと、GalNAc-オリゴヌクレオチドコンジュゲート43が得られた。

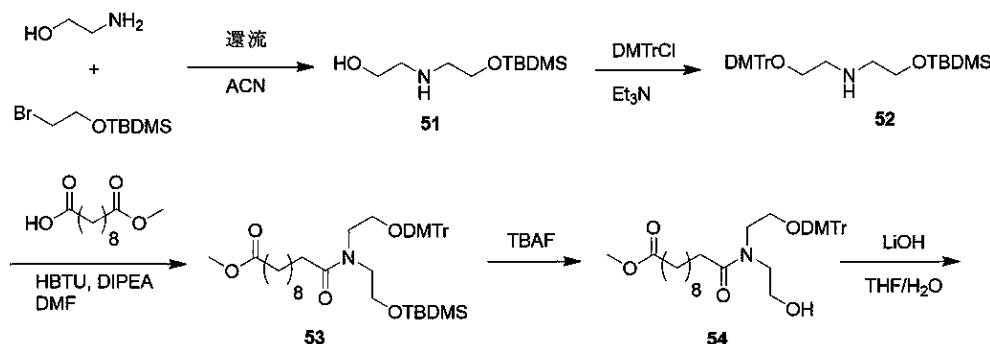
30

【0344】

実施例6。コンジュゲート50の合成

スキーム13。

【化196】

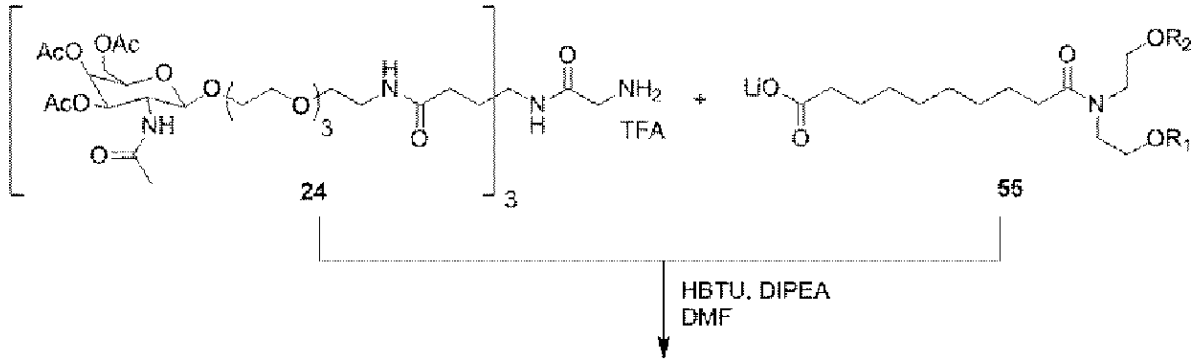


40

スキーム14。

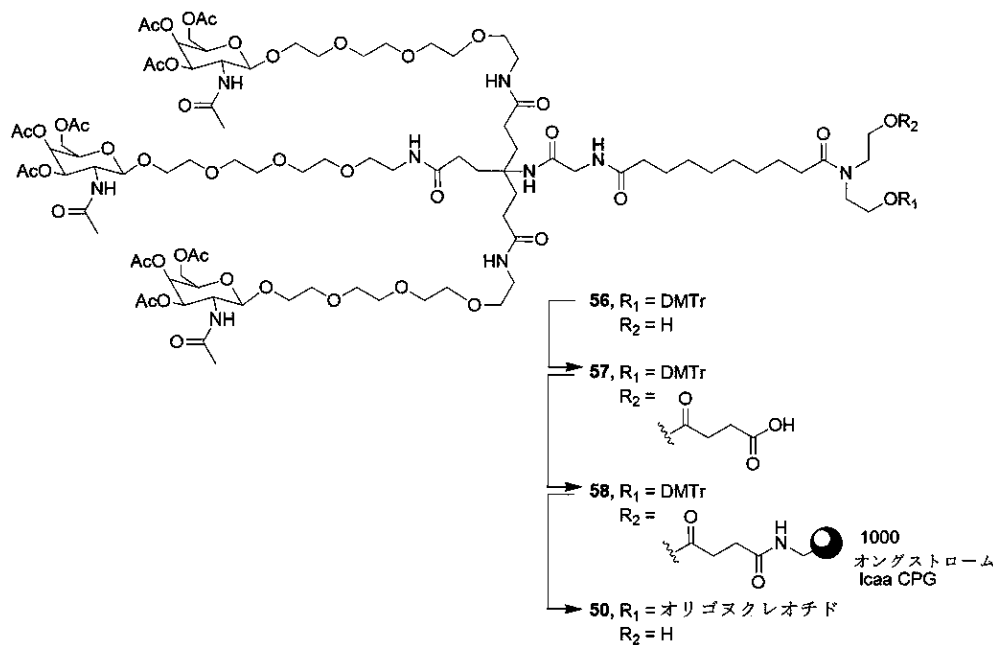
50

【化197】



10

【化198】



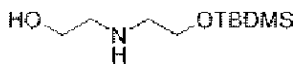
20

30

【0345】

ステップ1。2 - ((2 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) エチル) アミノ) エタン - 1 - オール (51) の調製

【化199】



エタノールアミン (77 mL、1.25 mol) 及び (2 - プロモエトキシ) - tert - ブチルジメチルシラン (15 g、62.7 mmol) の無水アセトニトリル溶液 (200 mL) を、3時間還流した。完了次第、反応物を室温に冷まし、水 (400 mL) で希釈し、酢酸エチル (3 × 150 mL) で抽出した。合わせた酢酸エチル抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮乾固させた。まず50%酢酸エチル/ヘキサン、次いで50% MeOH / EtOAcを用い、シリカパッドを通した濾過によって残渣を精製して、51を淡黄色油状物として得た (14 g、100%)。

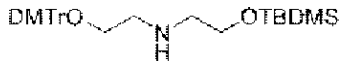
40

【0346】

ステップ2。2 - ((ビス(4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) - N - (2 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) エチル) エタン - 1 - アミン (52)) の調製

50

【化200】



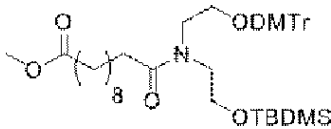
2 - ((2 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) エチル) アミノ) エタン - 1 - オール (51) (14 g、64 mmol) 及びトリエチルアミン (17.5 mL、128 mmol) の無水ジクロロメタン溶液 (250 mL) に、4,4' - ジメトキシトリチルクロリド (24 g、70 mmol) を添加した。この溶液を室温で一晩攪拌し、次いで真空中で濃縮乾固させた。残渣を酢酸エチル (300 mL) に溶解させ、水 (250 mL) 及びブライン (250 mL) で洗浄した。酢酸エチルを硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮乾固させた。シリカゲル60でのカラムクロマトグラフィ (1% から5% の MeOH を含む CH₂Cl₂) による精製により、52 を淡黄色粘性油状物として得た (13 g、39%)。

10

【0347】

ステップ3。メチル10 - ((2 - (ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) エチル) (2 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) エチル) アミノ) - 10 - オキソデカノエート (53) の調製

【化201】



20

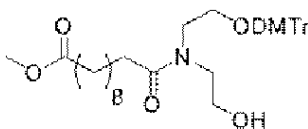
2 - (ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) - N - (2 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) エチル) エタン - 1 - アミン (52) (5.4 g、10.3 mmol)、セバシン酸モノメチル (2.2 g、10.3 g)、HB TU (4.9 g、12.9 mmol)、DIPEA (5.3 mL、30.9 mmol) のN,N - ジメチルホルムアミド溶液 (100 mL) を、室温で3時間攪拌した。完了次第、溶液を水 (400 mL) に注ぎ、酢酸エチル (1 x 500 mL) で抽出した。酢酸エチル抽出物をブライン (2 x 250 mL) で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮乾固させた。シリカゲル60でのカラムクロマトグラフィ (10% から25% の酢酸エチルを含むヘキサン) による精製により、53 を粘性黄色油状物として得た (6.5 g、87%)。

30

【0348】

ステップ4。メチル10 - ((2 - (ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) エチル) (2 - ヒドロキシエチル) アミノ) - 10 - オキソデカノエート (54) の調製

【化202】



40

メチル10 - ((2 - (ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) エチル) (2 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) エチル) アミノ) - 10 - オキソデカノエート (53) (2.0 g、2.8 mmol) 及びトリエチルアミン (1 mL) の無水テトラヒドロフラン溶液 (20 mL) に、TBAF (THF 中 1 M、3.4 mL、3.3 mmol) を添加した。この溶液を6時間攪拌したが、TLC (5% の MeOH を含む CH₂Cl₂) では部分的な変換しか観察されなかった。更に1.7 mL の TBAF を添加し、この溶液を室温で一晩攪拌した。完了次第、溶液を真空中で濃縮させ、シリカゲル60でのカラムクロマトグラフィ (10% から50% の EtOAc を含むヘキサン、次いで100% EtOAc) によって精製して、54 を粘性無色油状物として得た (0

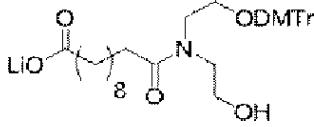
50

. 5 g、29%)。

【0349】

ステップ5。10 - ((2 - (ビス(4 - メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)エチル)(2 - ヒドロキシエチル)アミノ) - 10 - オキソデカン酸リチウム(55)の調製

【化203】



10

メチル10 - ((2 - (ビス(4 - メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)エチル)(2 - ヒドロキシエチル)アミノ) - 10 - オキソデカノエート(54)(0.5 g、0.83 mmol)のTHF溶液(40 mL)に、水(10 mL)及び水酸化リチウム(24 mg、1.0 mmol)を添加した。この溶液を室温で一晩攪拌し、次いで真空中で濃縮させてTHFを除去した。残った水溶液を液体窒素で急速凍結し、凍結乾燥させて、55を無色固体として得た(485 mg、95%)。

【0350】

ステップ6。化合物56、57、58、及び50の調製

化合物56、57、58、及び50は、それぞれ、化合物47、48、49、及び43を合成するために使用したものと同一の手順を使用して調製した。

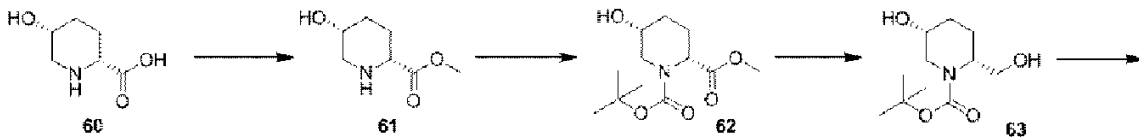
20

【0351】

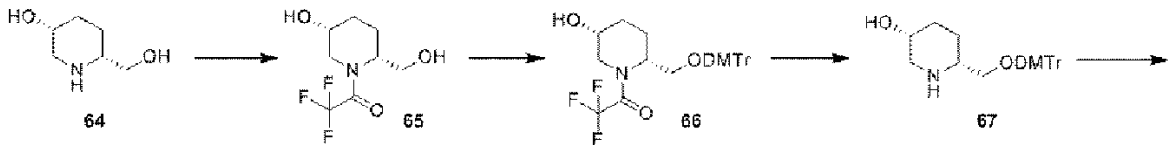
実施例7。コンジュゲート59の合成

スキーム15。

【化204】

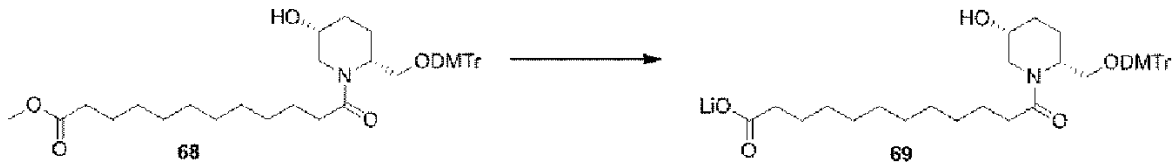


【化205】



30

【化206】

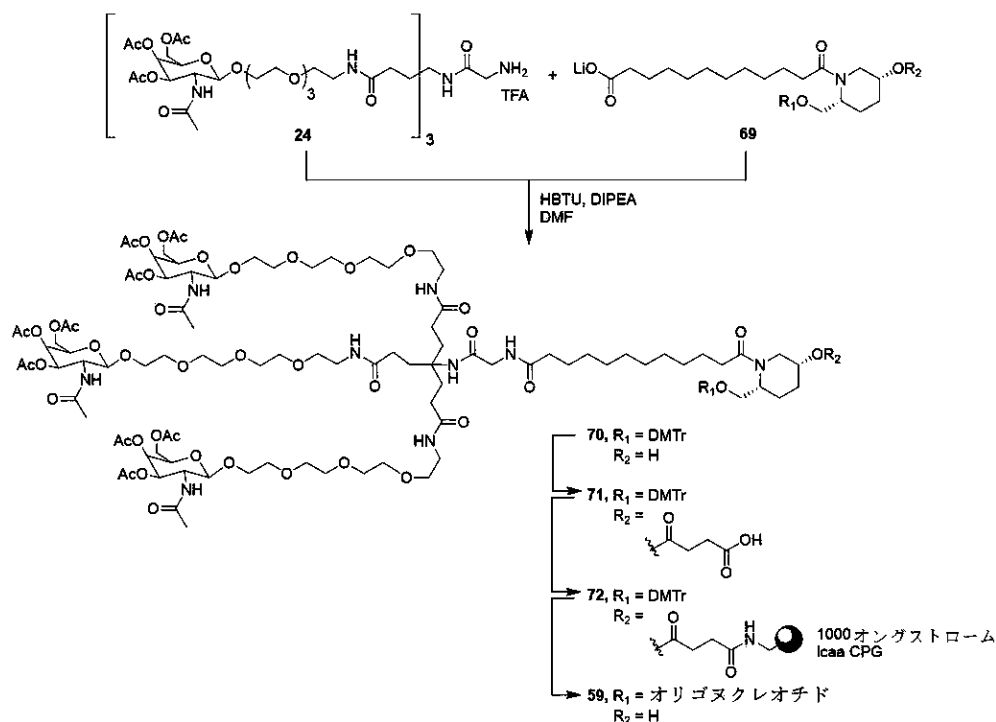


40

スキーム16。

50

【化207】



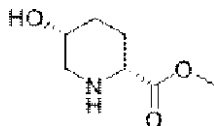
10

20

【0352】

ステップ1。メチル(2R, 5R)-5-ヒドロキシピペリジン-2-カルボキシレート(61)の調製

【化208】



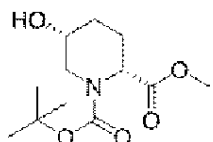
(2R, 5R)-5-ヒドロキシピペリジン-2-カルボン酸(60)(3.5g, 24.1mmol)をMeOH(50mL)中で撹拌した。この溶液にHCl(ガス)を2分間通気させ、反応物を還流下で1.5時間撹拌した。この反応物を真空中で濃縮させると、定量的収率のメチル(2R, 5R)-5-ヒドロキシピペリジン-2-カルボキシレート(61)がもたらされ、これを更に精製することなく使用した。

30

【0353】

ステップ2。1-(tert-ブチル)2-メチル(2R, 5R)-5-ヒドロキシピペリジン-1, 2-ジカルボキシレート(62)の調製

【化209】



メチル(2R, 5R)-5-ヒドロキシピペリジン-2-カルボキシレート(61)(24.1mmol)及びTEA(7.2mL, 53.02mmol)を、DCM(100mL)中で室温にて撹拌した。ジ-tert-ブチル-ジ-カルボネート(5.7g, 26.5mmol)を少量に分けて添加し、反応物を2時間撹拌した。この反応物をDCM(100mL)で希釈し、1MのHCl(2x75mL)、飽和NaHCO₃(2x75mL)、H₂O(2x75mL)、及び飽和NaCl溶液(2x75mL)で順次洗浄した。有機物を分離させ、乾燥させ(Na₂SO₄)、真空中で濃縮させると、1-(te

40

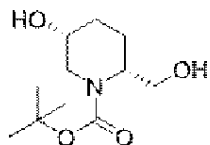
50

tert-ブチル) 2-メチル(2R, 5R)-5-ヒドロキシピペリジン-1, 2-ジカルボキシレート(62) (5.53 g, 88%) がもたらされ、これを更に精製することなく使用した。

【0354】

ステップ3。tert-ブチル(2R, 5R)-5-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)ピペリジン-1-カルボキシレート(63)の調製

【化210】



10

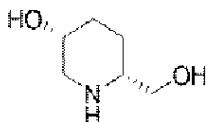
(2R, 5R)-1-(tert-ブトキシカルボニル)-5-ヒドロキシピペリジン-2-カルボン酸(62) (5.53 g, 21.4 mmol) を、0 のTHF中で撹拌した。LiBH₄ (3.0 M THF溶液) (8.9 mL, 27.7 mmol) を1時間にわたって滴加した。この反応物を室温に戻し、撹拌を16時間続けた。反応物を1 MのNaOHでクエンチし、THFを真空中で除去し、水性物をEtOAc (10 x 100 mL) で徹底的に抽出した。合わせた有機物をH₂O (50 mL)、飽和NaCl溶液 (2 x 50 mL) で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、真空中で濃縮させると、tert-ブチル(2R, 5R)-5-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)ピペリジン-1-カルボキシレート(63) (2.4 g, 49.0%) がもたらされ、これを更に精製することなく使用した。

20

【0355】

ステップ4。(3R, 6R)-6-(ヒドロキシメチル)ピペリジン-3-オール(64)の調製

【化211】



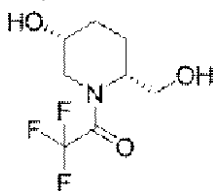
30

tert-ブチル(2R, 5R)-5-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)ピペリジン-1-カルボキシレート(63) (2.4 g, 10.4 mmol) を、Et₂O中で室温にて撹拌した。HCl (ガス) を45秒間通気させ、反応物を室温で45分間撹拌した。この反応物を真空中で濃縮させ、高真空下で乾燥させて、(3R, 6R)-6-(ヒドロキシメチル)ピペリジン-3-オール(64)を得た。この生成物を、更に精製することなく使用した。

【0356】

ステップ5。2, 2, 2-トリフルオロ-1-((2R, 5R)-5-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)ピペリジン-1-イル)エタン-1-オン(65)の調製

【化212】



40

先の反応から得た粗製の(3R, 6R)-6-(ヒドロキシメチル)ピペリジン-3-オール(64)を、TEA (3.5 mL, 25.2 mmol) を含むMeCN (50 mL) 中で室温にて撹拌した。トリフルオロ酢酸エチル (3 mL, 25.2 mmol) を添加し、この反応物を室温で16時間撹拌してから真空中で濃縮させると、2, 2, 2-トリ

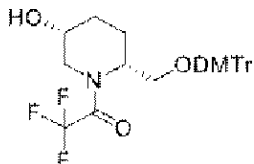
50

フルオロ - 1 - ((2 R , 5 R) - 5 - ヒドロキシ - 2 - (ヒドロキシメチル) ピペリジン - 1 - イル) エタン - 1 - オン (6 5) がもたらされた。この生成物を、更に精製することなく使用した。

【 0 3 5 7 】

ステップ 6。1 - ((2 R , 5 R) - 2 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 5 - ヒドロキシピペリジン - 1 - イル) - 2 , 2 , 2 - トリフルオロエタン - 1 - オン (6 6) の調製

【 化 2 1 3 】



10

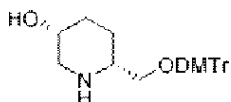
先の反応から得た粗製の 2 , 2 , 2 - トリフルオロ - 1 - ((2 R , 5 R) - 5 - ヒドロキシ - 2 - (ヒドロキシメチル) ピペリジン - 1 - イル) エタン - 1 - オン (6 5) を、T E A (5 0 m L) を含む D C M 中で R T にて攪拌した。4 , 4 ' - ジメトキシトリチルクロリド (D M T r C l) (3 . 8 7 g , 1 1 . 4 4 m m o l) を 1 回で添加し、反応物を室温で 3 時間攪拌した。この反応物を D C M (5 0 m L) で希釈し、飽和 N a H C O ₃ (2 × 7 5 m L)、H ₂ O (2 × 7 5 m L)、及び飽和 N a C l 溶液 (2 × 7 5 m L) で順次洗浄した。有機物を分離させ、乾燥させ (N a ₂ S O ₄)、真空中で濃縮させ、カラムクロマトグラフィ (1 0 0 % ヘキサン - 6 0 % E t O A c / ヘキサン) (0 . 1 % T E A) によって精製すると、1 - ((2 R , 5 R) - 2 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 5 - ヒドロキシピペリジン - 1 - イル) - 2 , 2 , 2 - トリフルオロエタン - 1 - オン (6 6) がもたらされた (3 . 1 4 g , 5 7 %) 。

20

【 0 3 5 8 】

ステップ 7。(3 R , 6 R) - 6 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - ピペリジン - 3 - オール (6 7) の調製

【 化 2 1 4 】



30

1 - ((2 R , 5 R) - 2 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 5 - ヒドロキシピペリジン - 1 - イル) - 2 , 2 , 2 - トリフルオロエタン - 1 - オン (6 6) (3 . 1 4 g , 6 . 0 m m o l) を、M e O H (5 0 m L) 中で室温にて攪拌した。K O H (6 7 2 m g , 1 2 m m o l) を添加し、反応物を室温で 1 6 時間攪拌した。更なる K O H (3 0 0 m g , 6 m m o l) を添加し、攪拌を更に 2 4 時間続けた。この反応物を真空中で濃縮させ、D C M (1 5 0 m L) に取り、H ₂ O (4 × 5 0 m L) で洗浄し、乾燥させ (N a ₂ S O ₄)、真空中で濃縮させると、(3 R , 6 R) - 6 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) ピペリジン - 3 - オール (6 7) (2 . 3 4 g , 9 0 %) がもたらされ、これを更に精製することなく使用した。

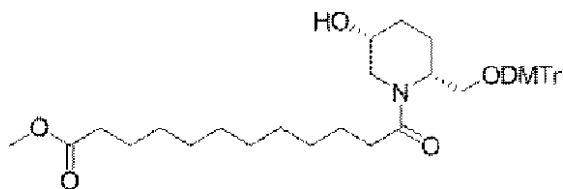
40

【 0 3 5 9 】

ステップ 8。メチル 1 2 - ((2 R , 5 R) - 2 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) - メトキシ) メチル) - 5 - ヒドロキシピペリジン - 1 - イル) - 1 2 - オキソドデカノエート (6 8) の調製

50

【化 2 1 5】



(3R,6R)-6-((bis(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)ピペリジン-3-オール(67)(2.34g、5.34mmol)を、DCM(75mL)中で室温にて攪拌した。トリエチルアミン(2.2mL、16.2mmol)、HATU(3.5g、9.2mmol)、及び12-メトキシ-12-オキソドデカン酸(1.32g、5.4mmol)を添加し、反応物を室温で3時間攪拌した。結果として生じた固体沈殿物を濾過によって除去し、この濾液を真空中で濃縮させ、カラムクロマトグラフィ(2.5%MeOH/DCM、0.1%TEA)によって残渣を精製すると、定量的収率のメチル12-((2R,5R)-2-((bis(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-5-ヒドロキシピペリジン-1-イル)-12-オキソドデカノエート(68)がもたらされた。

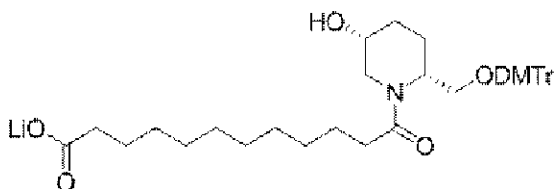
10

【0360】

ステップ9。12-((2R,5R)-2-((bis(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)-メチル)-5-ヒドロキシピペリジン-1-イル)-12-オキソドデカン酸リチウム(69)の調製

20

【化 2 1 6】



メチル12-((2R,5R)-2-((bis(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-5-ヒドロキシピペリジン-1-イル)-12-オキソドデカノエート(68)(5.4mmol)及びLiOH(140mg、5.94mmol)を、THF:H₂O(1:1、100mL)中で室温にて48時間攪拌した。THFを真空中で除去し、水性物を凍結及び凍結乾燥させると、12-((2R,5R)-2-((bis(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-5-ヒドロキシピペリジン-1-イル)-12-オキソドデカン酸リチウム(69)がもたらされた(3.2g、91%)。これを、更に精製することなく後続の反応に使用した。

30

【0361】

ステップ10。化合物70、71、72、及び59の調製

化合物70、71、72、及び59は、それぞれ、化合物47、48、49、及び43を合成するために使用したものと同一の手順を使用して調製した。

40

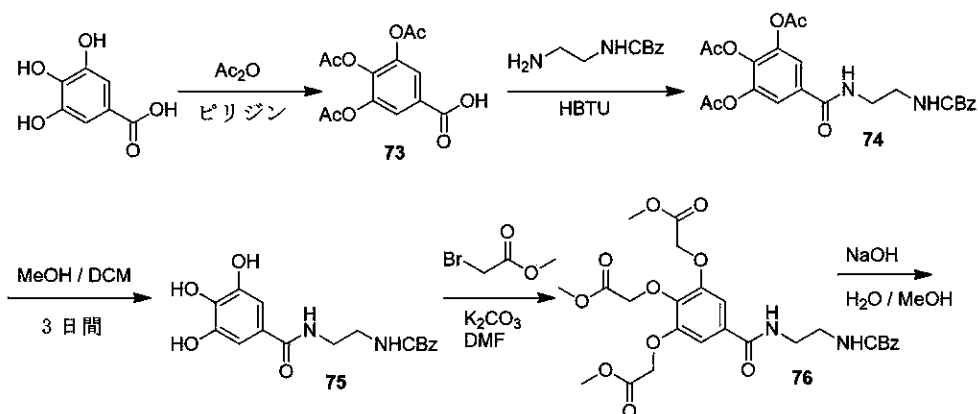
【0362】

実施例8。コンジュゲート142の合成

スキーム17。

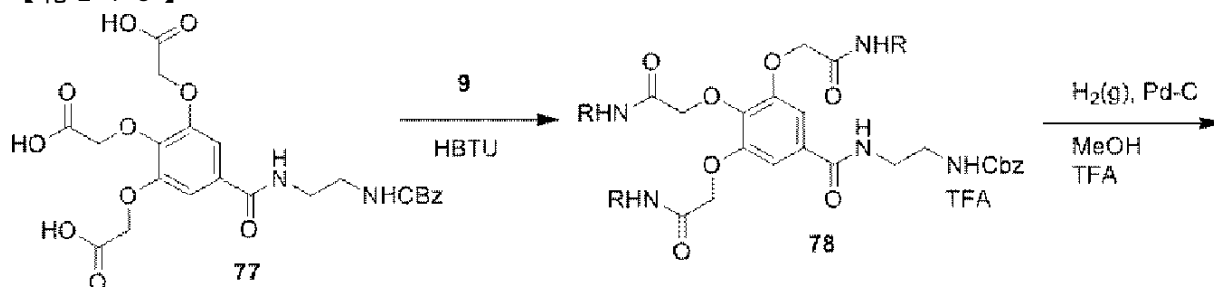
50

【化 2 1 7】

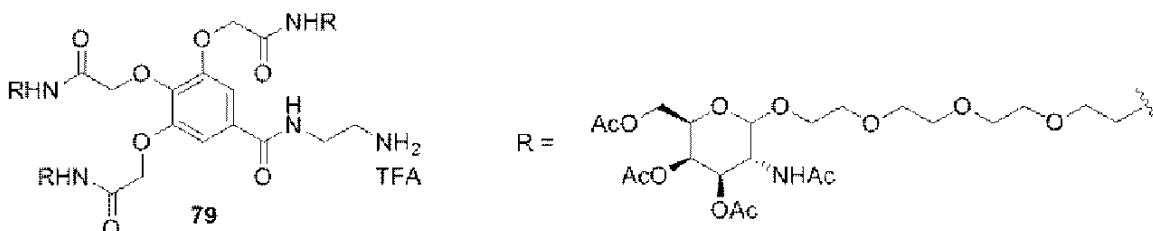


10

【化 2 1 8】



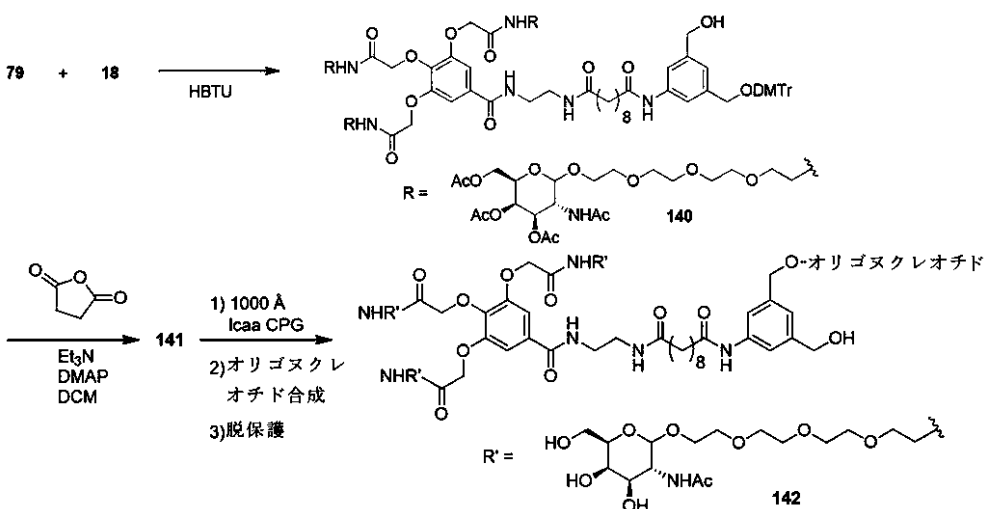
20



30

スキーム 18。

【化 2 1 9】



40

【0363】

ステップ 1。3, 4, 5 - トリアセトキシ安息香酸 (73) の調製

ピリジン (50 mL) 及び無水酢酸 (50 mL) に没食子酸 (20 g) を含む溶液に。この溶液を室温で一晩攪拌し、次いで氷水 (1 L) に注いだ。この溶液を濃塩酸で酸性に

50

するとすぐに無色固体が沈殿した。この固体を濾過により収集し、水(5 × 100 mL)で洗浄した。この湿った固体を液体窒素で凍結し、フリーズドライして、3, 4, 5-トリアセトキシ安息香酸を得た(26 g、75%)。

【0364】

ステップ2。5-((2-((2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)アミノ)エチル)カルバモイル)ベンゼン-1, 2, 3-トリイルトリアセテート(74)の調製
3, 4, 5-トリアセトキシ安息香酸(10 g、33.8 mmol)、N-カルボベンゾキシ-1, 2-ジアミノエタン塩酸塩(5.3 g、33.8 mmol)、及びHBTU(13.5 g、35.5 mmol)のDMF溶液(200 mL)に、DIPEA(17.5 mL、101 mmol)を添加した。この溶液を16時間攪拌し、次いで酢酸エチル(250 mL)で希釈し、ブライン(3 × 200 mL)で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮乾固させた。シリカゲルでのカラムクロマトグラフィ(勾配1%から5%のMeOHを含むDCM)によって粗生成物を精製して、5-((2-((2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)アミノ)エチル)カルバモイル)ベンゼン-1, 2, 3-トリイルトリアセテートをオフホワイトの固体として得た(5.5 g)。

10

【0365】

ステップ3。3, 4, 5-トリヒドロキシ-N-(2-((2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)アミノ)エチル)ベンズアミド(75)の調製

5-((2-((2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)アミノ)エチル)カルバモイル)ベンゼン-1, 2, 3-トリイルトリアセテート(5 g、1.1 mmol)の1:1 MeOH/CH₂Cl₂溶液(100 mL)を、室温で3日間攪拌した。完了次第、溶媒を除去して、3, 4, 5-トリヒドロキシ-N-(2-((2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)アミノ)エチル)ベンズアミドを無色固体として得た(4 g、定量的)。

20

【0366】

ステップ4。トリメチル2, 2', 2''-((5-((2-((2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)アミノ)エチル)カルバモイル)ベンゼン-1, 2, 3-トリイル)トリス(オキシ))トリアセテート(76)の調製

3, 4, 5-トリヒドロキシ-N-(2-((2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)アミノ)エチル)ベンズアミド(4 g、11.6 mmol)、プロモ酢酸メチル(7.7 g、46.4 mmol)、及び炭酸カリウム(9.6 g、69.4 mmol)のDMF溶液(100 mL)を、60℃で一晩攪拌した。完了次第、この溶液を室温に冷まし、酢酸エチル(200 mL)で希釈し、水(200 mL)、ブライン(3 × 100 mL)で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮乾固させた。シリカゲルでのカラムクロマトグラフィ(勾配2%から10%のMeOHを含むDCM)によって粗生成物を精製して、トリメチル2, 2', 2''-((5-((2-((2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)アミノ)エチル)カルバモイル)ベンゼン-1, 2, 3-トリイル)トリス(オキシ))-トリアセテートをベージュ色の固体として得た(5 g、79%)。

30

【0367】

ステップ5。2, 2', 2''-((5-((2-((2-オキソ-2-フェニル-4-エチル)アミノ)エチル)-カルバモイル)ベンゼン-1, 2, 3-トリイル)トリス(オキシ))トリ酢酸(77)の調製

トリメチル2, 2', 2''-((5-((2-((2-オキソ-2-フェニル-4-エチル)アミノ)エチル)-カルバモイル)ベンゼン-1, 2, 3-トリイル)トリス(オキシ))トリアセテート(5 g、9.2 mmol)及び1 MのNaOH(30 mL)のメタノール溶液(100 mL)を、室温で2時間攪拌した。完了次第、反応物を濃縮させてメタノールを除去し、水(75 mL)で希釈した。この混合物を0℃に冷却し、2 MのHClで酸性化し、酢酸エチル(5 × 150 mL)で抽出した。合わせた酢酸エチル抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮乾固させて、2, 2', 2''-((5-((2-((2-オキソ-2-フェニル-4-エチル)アミノ)エチル)-カルバモイル)ベンゼン-1, 2, 3-トリイル)トリス(オキシ))トリ酢酸を得た(5 g、79%)。

40

50

(5 - ((2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) エチル) カルバモイル) ベンゼン - 1, 2, 3 - トリイル) トリス(オキシ)) トリ酢酸を無色固体として得た(2.3 g、50%)。

【0368】

ステップ6。化合物78の調製

化合物13に使用したものと同一の手順を使用し、化合物9(2.75 g、4.3 mmol)及び77(0.5 g、0.96 mmol)から化合物78を調製した。収量：600 mg。

【0369】

ステップ7。化合物79の調製

化合物14に使用したものと同一の手順を使用し、化合物78(0.6 g)から化合物79を調製した。収量：500 mg。

【0370】

ステップ8。化合物140の調製

化合物19に使用したものと同一の手順を使用し、化合物79(500 mg、0.25 mmol)及び化合物18(175 mg、0.25 mmol)から化合物140を調製した。収量：250 mg、44%。

【0371】

ステップ9。化合物141の調製

化合物20に使用したものと同一の手順を使用し、化合物140(250 mg、0.11 mmol)から化合物141を調製した。収量：200 mg。

【0372】

ステップ10。コンジュゲート142の調製

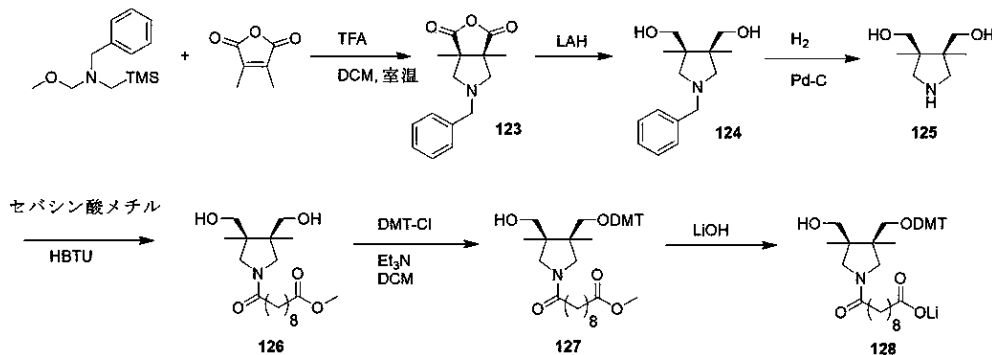
化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物141(200 mg)及び1000 Å l c a a C P G(1.8 g)からコンジュゲート142を調製した。収量：1.9 g、22 μmol/g C P G負荷。結果として得られたG a l N A cが負荷されたC P G固体支持体を、標準的な手順を使用した自動化オリゴヌクレオチド合成に用いた。ヌクレオチド脱保護の後に固体支持体からの除去を(ガラクトサミンアセテート脱保護と同時に)行なうと、G a l N A c - オリゴヌクレオチドコンジュゲート142が得られた。

【0373】

実施例9。コンジュゲート145の合成

スキーム19。

【化220】



スキーム20。

10

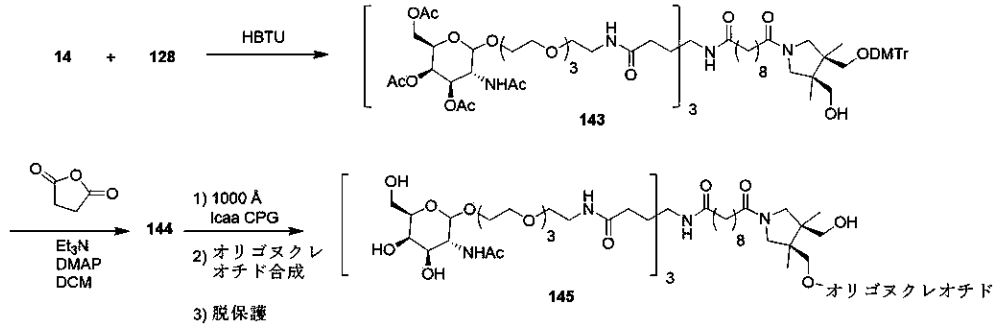
20

30

40

50

【化 2 2 1】



10

【0 3 7 4】

ステップ 1。ラセミ(シス)5-ベンジル-3a, 6a-ジメチルテトラヒドロ-1H-フロ[3, 4-c]ピロール-1, 3(3aH)-ジオン(123)の調製

ジクロロメタン(75 mL)に3, 4-ジメチルフラン-2, 5-ジオン(3 g、24 mmol)及びN-ベンジル-1-メトキシ-N-(トリメチルシリル)メチル)メタンアミン(7 g、29.8 mmol)を含む冷却溶液(0)に、トリフルオロ酢酸(75 µL)をゆっくりと添加した。一晩攪拌し、氷浴が溶けるにつれて溶液が室温にゆっくりと戻るようにした。この反応混合物を濃縮乾固させ、酢酸エチル(100 mL)に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム(2 × 100 mL)で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させた。シリカゲルでのカラムクロマトグラフィ(勾配: 20%の酢酸エチルを含むヘキサンから100%の酢酸エチル)による精製により、ラセミ(シス)5-ベンジル-3a, 6a-ジメチルテトラヒドロ-1H-フロ[3, 4-c]ピロール-1, 3(3aH)-ジオンを黄色油状物として得た(3.5 g、56%)。

20

【0 3 7 5】

ステップ 2。ラセミ(シス)1-ベンジル-3, 4-ジメチルピロリジン-3, 4-ジイル)ジメタノール(124)の調製

無水ジエチルエーテル(50 mL)に(3aR, 6aS)-5-ベンジル-3a, 6a-ジメチルテトラヒドロ-1H-フロ[3, 4-c]ピロール-1, 3(3aH)-ジオン(3.5 g、13.4 mmol)を含む冷却溶液(0)に、水素化アルミニウムリチウムペレット(1.5 g、40 mmol)を3回に分けてゆっくりと添加した。この溶液を一晩攪拌し、氷水浴が溶けるにつれて室温に戻るようにした。完了次第、反応物を0に冷却し、1.5 mLの5MのNaOHに続いて1.5 mLの水で非常にゆっくりとクエンチした。30分間攪拌し、次いで硫酸マグネシウムを添加し、濾過した。この濾液を濃縮させて、ラセミ(シス)1-ベンジル-3, 4-ジメチルピロリジン-3, 4-ジイル)ジメタノールを無色油状物として得た(2.7 g)。

30

【0 3 7 6】

ステップ 3。ラセミ(シス)3, 4-ジメチルピロリジン-3, 4-ジイル)ジメタノール(125)の調製

((3R, 4S)-1-ベンジル-3, 4-ジメチルピロリジン-3, 4-ジイル)ジメタノール(10 g、40 mmol)のメタノール溶液(10 mL)に、湿った10%パラジウム活性炭(1 g)を添加した。この溶液を、水素雰囲気下で16時間にわたって勢いよく攪拌した。完了次第、溶液をセライトで濾過し、濃縮乾固させて、ラセミ(シス)3, 4-ジメチルピロリジン-3, 4-ジイル)ジメタノールを無色固体として得た(5.5 g、86%)。

40

【0 3 7 7】

ステップ 4。ラセミ(シス)メチル10-(3, 4-ビス(ヒドロキシメチル)-3, 4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカノエート(126)の調製

化合物17に使用したものと同一の手順を使用し、化合物125(1.3 g、8.2 mmol)及びセバシン酸モノメチル(1.8 g、8.2 mmol)から化合物126を調

50

製した。収量：1.8 g、61%。

【0378】

ステップ5。ラセミ(シス)メチル10-(3-(ビス(4-メトキシフェニル)-(フェニル)メトキシ)-メチル)-4-(ヒドロキシメチル)-3,4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカノエート(127)の調製

化合物18に使用したものと同一の手順を使用し、化合物126(1.8 g、5.0 mmol)及び4,4'-ジメトキシトリチルクロリド(1.7 g、5.0 mmol)から化合物127を調製した。収量：1.4 g、42%。

【0379】

ステップ6。ラセミ(シス)10-(3-(ビス(4-メトキシフェニル)-(フェニル)メトキシ)-メチル)-4-(ヒドロキシメチル)-3,4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカン酸リチウム(128)の調製

THF(50 mL)及び水(50 mL)に化合物127(3.0 g、4.6 mmol)を含む溶液に、水酸化リチウム(121 mg、5.0 mmol)を添加した。この溶液を室温で4時間攪拌し、次いで濃縮させてTHFを除去した。残った水溶液を一晩フリーズドライして、淡桃色固体を得た(2.9 g、定量的)。

【0380】

ステップ7。化合物143の調製

化合物19に使用したものと同一の手順を使用し、化合物128(270 mg、0.42 mmol)及び化合物14(800 mg、0.42 mmol)から化合物143を調製した。収量：900 mg、87%。

【0381】

ステップ8。化合物144の調製

化合物20に使用したものと同一の手順を使用し、化合物143(500 mg、0.2 mmol)から化合物144を調製した。収量：200 mg。

【0382】

ステップ9。コンジュゲート145の調製

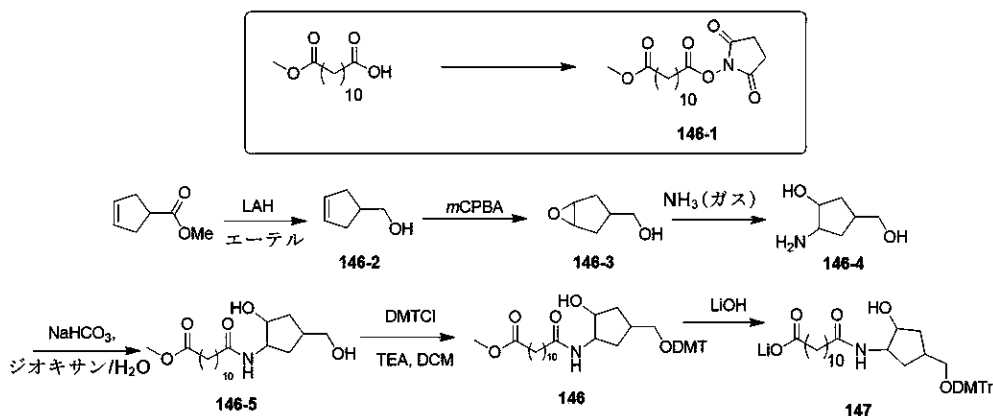
化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物144(200 mg)及び1000A1c aa CPG(1.8 g)からコンジュゲート145を調製した。収量：1.9 g、20 μmol/g CPG負荷。結果として得られたGalNAcが負荷されたCPG固体支持体を、標準的な手順を使用した自動化オリゴヌクレオチド合成に用いた。ヌクレオチド脱保護の後に固体支持体からの除去を(ガラクトサミンアセテート脱保護と同時に)行なうと、GalNAc-オリゴヌクレオチドコンジュゲート145が得られた。

【0383】

実施例10。コンジュゲート150の合成

スキーム21。

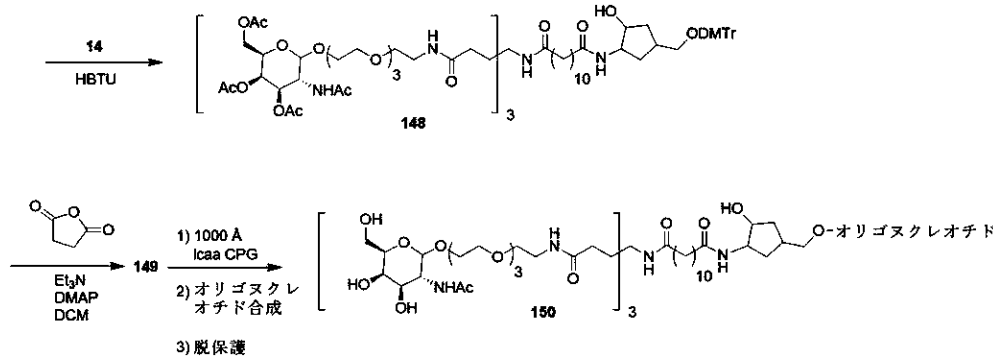
【化222】



40

50

【化 2 2 3】



10

【0 3 8 4】

ステップ 1。1 4 6 - 1 の調製

ドデカン二酸のモノメチルエステル (12.2 g、50.0 mmol) のジクロロメタン溶液 (300 mL) に、N-ヒドロキシサクシニミド (6.10 g、53.0 mmol) 及び 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (EDC) (10.52 g、55.0 mmol) を添加した。濁った混合物を室温で一晩攪拌すると、反応物は透明な溶液になった。TLC は反応が完了したことを示した。有機物を飽和 NH₄Cl (300 mL) 及びブライン (100 mL) で洗浄した。有機層を分離させ、MgSO₄ で乾燥させ、濃縮乾固させて、純粋な 1-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)12-メチルドデカンジオエート (146-1) を白色固体として得た (16.7 g、97.8%)。

20

【0 3 8 5】

ステップ 2。シクロペンタ-3-エン-1-イルメタノール (146-2) の調製

窒素下で 0 の水素化アルミニウムリチウム (15.2 g、0.40 mol) の無水エーテル懸濁液 (1 L) に、メチルシクロペンタ-3-エンカルボキシレート (50 g、0.40 mol) のエーテル溶液 (300 mL) を 5 時間にわたって滴加した。この懸濁液を室温で一晩攪拌した。TLC は反応の完了を示した。この反応物を 0 に再冷却した。Na₂SO₄ の飽和溶液 (32 mL) を滴加して、反応物をクエンチした。添加が完了した後、混合物を更に 3 時間攪拌し、セライトパッドで濾過した。溶媒の蒸発により、シクロペンタ-3-エン-1-イルメタノール 146-2 (37.3 g、95%) が無色液体として得られた。

30

【0 3 8 6】

ステップ 3。(6-オキサビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-イル)メタノール 146-3 の調製

0 のシクロペンタ-3-エン-1-イルメタノール (146-2) (4.0 g、41 mmol) のジクロロメタン溶液 (150 mL) に、3-クロロ過安息香酸 (10 g、45 mmol、純度 77%) を少量に分けて添加した。この反応物を一晩攪拌した。ジクロロメタン (150 mL) を添加した。チオ硫酸ナトリウム (10 mL の水中 12 g)、続いて飽和 NaHCO₃ (40 mL) で有機物を洗浄した。残った 3-クロロ過安息香酸が全て洗い流されるまでこれを繰り返した。有機物を MgSO₄ で乾燥させた。溶媒の蒸発により、シス及びトランスの 6-オキサビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-イルメタノール (146-3) の混合物 (2.6 g、57%) が黄色油状物としてもたらされた。GC-MS: m/z 114 (5) (M⁺), 95 (15), 88 (100), 81 (15)。

40

【0 3 8 7】

ステップ 4。2-アミノ-4-(ヒドロキシメチル)シクロペンタン-1-オール (146-4) の調製

0 の 6-オキサビシクロ[3.1.0]ヘキサン-3-イルメタノール 146-3 (2.0 g、17.6 mmol) のメタノール溶液 (20 mL) に、アンモニアガスを 10 分間パージした。この反応物を室温で一晩攪拌した。TLC は反応の未完了を示した。メ

50

タノールを除去し、 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (50 mL) を添加し、これを室温で1週間にわたって攪拌した。TLCにより反応の完了が確認された。エタノールとの共沸により水を除去して、2-アミノ-4-(ヒドロキシメチル)シクロペンタノール(146-4)(2.1 g、91%)を黄色油状物として得た。

【0388】

ステップ5。メチル12-(2-ヒドロキシ-4-(ヒドロキシメチル)シクロペンチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(146-5)の調製

12-(2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)エチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(3-2)の合成において説明したものと同一の手順を使用し、2-アミノ-4-(ヒドロキシメチル)シクロペンタノール(146-4)及び1-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)12-メチルドデカンジオエート(146-1)から化合物146-5を調製した。メチル12-(2-ヒドロキシ-4-(ヒドロキシメチル)シクロペンチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(146-5)を、87.4%の収率でオフホワイトの固体として得た。

10

【0389】

ステップ6。化合物147の調製

化合物18に使用したものと同一の手順を使用し、化合物146(1.4 g、2.33 mmol)から化合物147を定量的に調製した。

【0390】

ステップ7。化合物148の調製

化合物19に使用したものと同一の手順を使用し、化合物147(150 mg、0.23 mmol)及び化合物14(431 mg、0.23 mmol)から化合物148を調製した。収量：460 mg、84%。

20

【0391】

ステップ8。化合物149の調製

化合物20に使用したものと同一の手順を使用し、化合物148(460 mg、0.19 mmol)から化合物149を調製した。収量：436 mg、91%。

【0392】

ステップ9。コンジュゲート150の調製

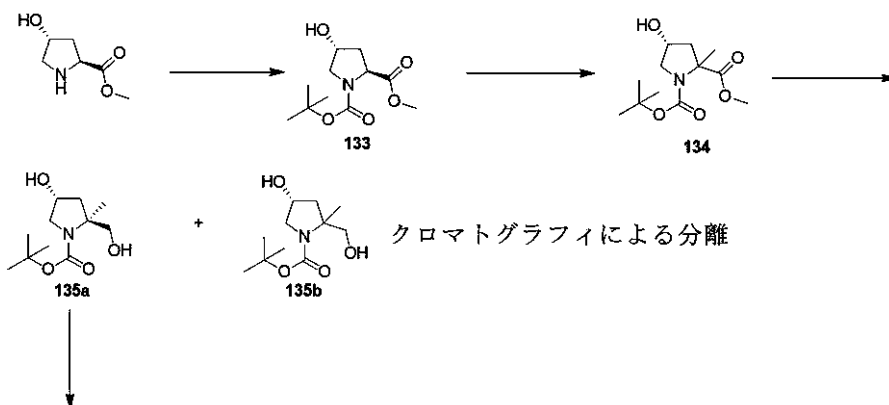
化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物149(436 mg)及び1000A l c a a C P G (2.62 g)から化合物150を調製した。収量：2.7 g、21.3 $\mu\text{mol/g}$ CPG負荷。結果として得られたGalNAcが負荷されたCPG固体支持体を、標準的な手順を使用した自動化オリゴヌクレオチド合成に用いた。ヌクレオチド脱保護の後に固体支持体からの除去を(ガラクトサミンアセテート脱保護と同時に)行なうと、GalNAc-オリゴヌクレオチドコンジュゲート150が得られた。

30

【0393】

実施例11。コンジュゲート153、158、163、168、及び173の合成スキーム22。

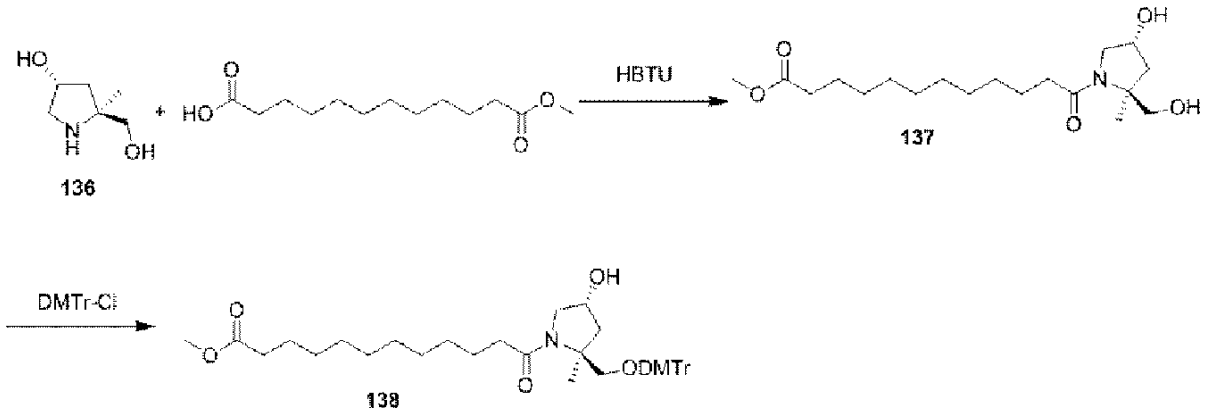
【化224】



40

50

【化 2 2 5】



10

【0394】

ステップ1。1-(tert-ブチル)2-メチル(2S, 4R)-4-ヒドロキシピロリジン-1, 2-ジカルボキシレート(133)の調製

メチル(2S, 4R)-4-ヒドロキシピロリジン-2-カルボキシレート(25.9 g、46 mmol)、BOC無水物(65.9 g、302.5 mmol)、及びTEA(42 ml、302.5 mmol)を、DCM中で室温にて16時間撹拌した。有機物を1MのHCl(2回)、飽和NaHCO₃(2回)、H₂O、及びブラインで順次洗浄し、乾燥させ、真空中で濃縮させると、1-(tert-ブチル)2-メチル(2S, 4R)-4-ヒドロキシピロリジン-1, 2-ジカルボキシレート(133)がもたらされた(58.1 g、85%)。

20

【0395】

ステップ2。1-(tert-ブチル)2-メチル(4R)-4-ヒドロキシ-2-メチルピロリジン-1, 2-ジカルボキシレート(134)の調製

1-(tert-ブチル)2-メチル(2S, 4R)-4-ヒドロキシピロリジン-1, 2-ジカルボキシレート(133)(5 g、20.4 mmol)及びMeI(12 g、84.5 mmol)を、-40 °Cの無水THF中で撹拌した。LDA(2.0 M THF溶液)(37.5 mL、75 mmol)を滴加した。この反応物を室温に戻し、4時間撹拌してから、飽和NH₄Clでクエンチした。この反応物をEtOAcで抽出し、H₂O及びブラインで洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、真空中で濃縮させた。カラムクロマトグラフィ50:50 EtOAc//ヘキサンによって残渣を精製すると、1-(tert-ブチル)2-メチル(4R)-4-ヒドロキシ-2-メチルピロリジン-1, 2-ジカルボキシレート(134)がラセミ混合物としてもたらされた(3.6 g、68%)。

30

【0396】

ステップ3。tert-ブチル(2S, 4R)-4-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)-2-メチルピロリジン-1-カルボキシレート(135a)の調製

1-(tert-ブチル)2-メチル(4R)-4-ヒドロキシ-2-メチルピロリジン-1, 2-ジカルボキシレート(134)(19 g、73.5 mmol)を、N₂下の無水THF中で撹拌した。LiBH₄溶液(48 ml、96 mmol)を滴加し、反応物を室温で48時間撹拌した。反応物を1MのNaOHでクエンチし、THFを真空中で除去し、残留物をEtOAc(4 x 100 ml)で抽出した。有機物をH₂O及びブラインで洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、真空中で濃縮させた。カラムクロマトグラフィ(5% MeOH/DCM)によって残渣を精製すると、tert-ブチル(2S, 4R)-4-ヒドロキシ-2-(ヒドロキシメチル)-2-メチルピロリジン-1-カルボキシレート(135a)が主な生成物としてもたらされた(8 g、47%)。構造は、参考文献に従って割り当てた。

40

【0397】

ステップ4。(3R, 5S)-5-(ヒドロキシメチル)-5-メチルピロリジン-3-オール塩酸塩(136)の調製

50

tert - ブチル (2 S , 4 R) - 4 - ヒドロキシ - 2 - (ヒドロキシメチル) - 2 - メチルピロリジン - 1 - カルボキシレート (1 3 5 a) (8 g , 3 4 . 6 m m o l) を、EtOAc 中で室温にて攪拌し、HCl ガスをおよそ 2 分間適用した。この反応物を 1 時間攪拌し、次いで真空中で濃縮させ、高真空下で乾燥させると、(3 R , 5 S) - 5 - (ヒドロキシメチル) - 5 - メチルピロリジン - 3 - オール塩酸塩 (1 3 6) が定量的な様式でもたらされた。

【 0 3 9 8 】

ステップ 5。メチル 1 2 - ((2 S , 4 R) - 4 - ヒドロキシ - 2 - (ヒドロキシメチル) - 2 - メチルピロリジン - 1 - イル) - 1 2 - オキソドデカノエート (1 3 7) の調製 (3 R , 5 S) - 5 - (ヒドロキシメチル) - 5 - メチルピロリジン - 3 - オール塩酸塩 (1 3 6) (7 . 9 g , 4 7 . 4 m m o l)、1 2 - メトキシ - 1 2 - オキソドデカノ酸 (1 1 . 5 g , 4 7 . 4 m m o l)、HBTU (3 6 g , 7 6 m m o l)、及び TEA (2 0 m L、1 4 2 . 2 m m o l) を、DCM 中で室温にて 1 6 時間攪拌した。沈殿物を濾過により除去し、有機物を 1 M の HCl (2 回)、飽和 NaHCO₃ (2 回)、H₂O、及びブラインで洗浄した。乾燥後、有機物を真空中で濃縮させ、カラムクロマトグラフィ (5 % MeOH / DCM) によって精製すると、メチル 1 2 - ((2 S , 4 R) - 4 - ヒドロキシ - 2 - (ヒドロキシメチル) - 2 - メチルピロリジン - 1 - イル) - 1 2 - オキソドデカノエート (1 3 7) がもたらされた (3 . 1 g、1 8 . 3 %)。

10

【 0 3 9 9 】

ステップ 6。メチル 1 2 - ((2 S , 4 R) - 2 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) - メチル) - 4 - ヒドロキシ - 2 - メチルピロリジン - 1 - イル) - 1 2 - オキソドデカノエート (1 3 8) の調製

20

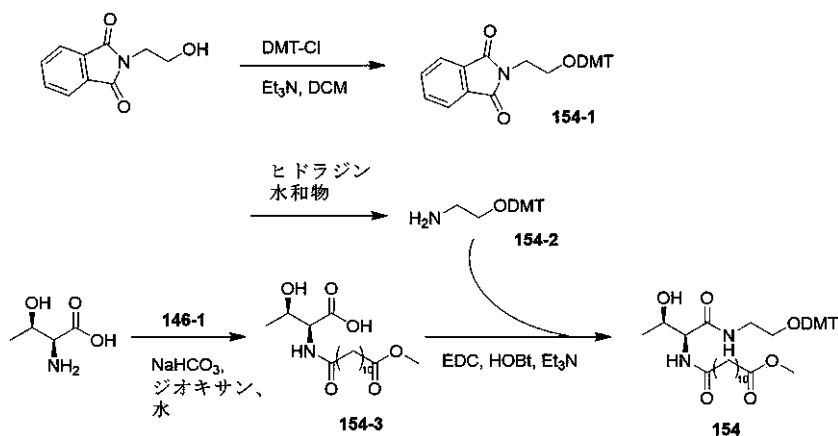
メチル 1 2 - ((2 S , 4 R) - 4 - ヒドロキシ - 2 - (ヒドロキシメチル) - 2 - メチルピロリジン - 1 - イル) - 1 2 - オキソドデカノエート (1 3 7) (3 . 1 g、9 . 0 m m o l)、DMTr - Cl (2 . 8 g、8 . 2 m m o l)、及び TEA (1 . 1 m l、8 . 2 m m o l) を、DCM 中で室温にて 1 6 時間攪拌した。この反応物を真空中で濃縮させ、カラムクロマトグラフィ (5 % MeOH / DCM、0 . 1 % TEA) によって残渣を精製すると、メチル 1 2 - ((2 S , 4 R) - 2 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 4 - ヒドロキシ - 2 - メチルピロリジン - 1 - イル) - 1 2 - オキソドデカノエート (1 3 8) がもたらされた (2 . 7 g、4 5 . 5 m m o l)。

30

【 0 4 0 0 】

スキーム 2 3

【 化 2 2 6 】



40

【 0 4 0 1 】

ステップ 7。化合物 1 5 4 - 1 の調製

窒素下で 0 の N - (2 - ヒドロキシエチル) フタルイミド (4 . 8 0 g、2 5 . 0 m m o l) 及び 4 , 4 ' - ジメトキシトリチルクロリド (8 . 8 g、2 6 . 0 m m o l) のジ

50

クロロメタン溶液 (200 mL) に、トリエチルアミン (10.4 mL、74.6 mmol) を滴加した。この反応混合物を室温で3時間攪拌した。TLCは反応の完了を示した。有機層をブライン (100 mL) で洗浄し、MgSO₄で乾燥させ、濃縮乾固させた。これを精製することなく次の反応に直接使用した。

【0402】

ステップ8。化合物154-2の調製

上記で得られた2-(2-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)エチル)イソインドリン-1,3-ジオン(154-1)及びヒドラジン-水和物(3.6 mL、74 mmol)を含むエタノール(100 mL)を、室温で一晩攪拌した。TLCは反応の完了を示した。沈殿物を濾過して取り除いた。濾液を蒸発させた。残渣を酢酸エチル(100 mL)によって取った。この有機溶液を10%のNaOH、水、及びブラインで洗浄し、MgSO₄で乾燥させた。溶媒の蒸発により、2-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)エタンアミン(154-2)が黄色液体として得られた(8.11 g、2ステップで収率89.3%)。これを更に精製することなく次の反応に使用した。

10

【0403】

ステップ9。化合物154-3の調製

水(20 mL)及びジオキサン(10 mL)にL-スレオニン(1.19 g、10.0 mmol)及びNaHCO₃(2.3 g、27 mmol)を含む溶液に、1-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)12-メチルドデカンジオエート(146-1)(3.1 g、9.1 mmol)を含むジオキサン(10 mL)を滴加した。この反応混合物を室温で一晩攪拌した。4NのHCl(10 mL)を添加した。沈殿物を濾過により収集し、水(3×10 mL)で洗浄した。この固体をデシケーターにおいてP₂O₅で乾燥させて、(2S,3R)-3-ヒドロキシ-2-(12-メトキシ-12-オキソドデカンアミド)ブタン酸(154-3)をオフホワイトの固体として得た(2.84 g、82.2%)。LC-MS(ESI): m/z: 346(100), (M+H⁺)。

20

【0404】

ステップ10。化合物154の調製

(2S,3R)-3-ヒドロキシ-2-(12-メトキシ-12-オキソドデカンアミド)ブタン酸(154-3)(2.47 g、7.15 mmol)、2-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)エタンアミン(154-2)(2.60 g、7.15 mmol)、EDC(1.64 g、8.58 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)(1.16 g、8.58 mmol)、及びTEA(2.4 mL、17.2 mmol)を、室温のジクロロメタン(72 mL)中で2時間攪拌した。水(30 mL)を添加した。有機層を分離させ、ブライン(2×30 mL)で洗浄した。溶媒の蒸発に続いてカラムクロマトグラフィ(30%酢酸エチル/ヘキサン-50%酢酸エチル/ヘキサン)を行なって、メチル12-((2S,3R)-1-(2-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)エチルアミノ)-3-ヒドロキシ-1-オキソブタン-2-イルアミノ)-12-オキソドデカノエート(154)をワックス状の黄色半固体として得た(2.60 g、52.6%)。¹H NMR(400 MHz, アセトン-d₆, ppm): 7.51(t, J = 5.5 Hz, 1H), 7.45-7.49(m, 2H), 7.28-7.36(m, 6H), 7.21(tt, J = 7.2, 1.2 Hz, 1H), 7.08(d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.88(dt, J = 8.9, 2.5 Hz, 4H), 4.39(dd, J = 8.2, 3.0 Hz, 1H), 4.20-4.27(m, 1H), 3.78(s, 6H), 3.60(s, 1H), 3.35-3.52(m, 2H), 3.07-3.16(m, 2H), 2.23-2.37(m, 4H), 1.53-1.65(m, 4H), 1.23-1.36(m, 12H), 1.10(d, J = 6.4 Hz, 3H)。

30

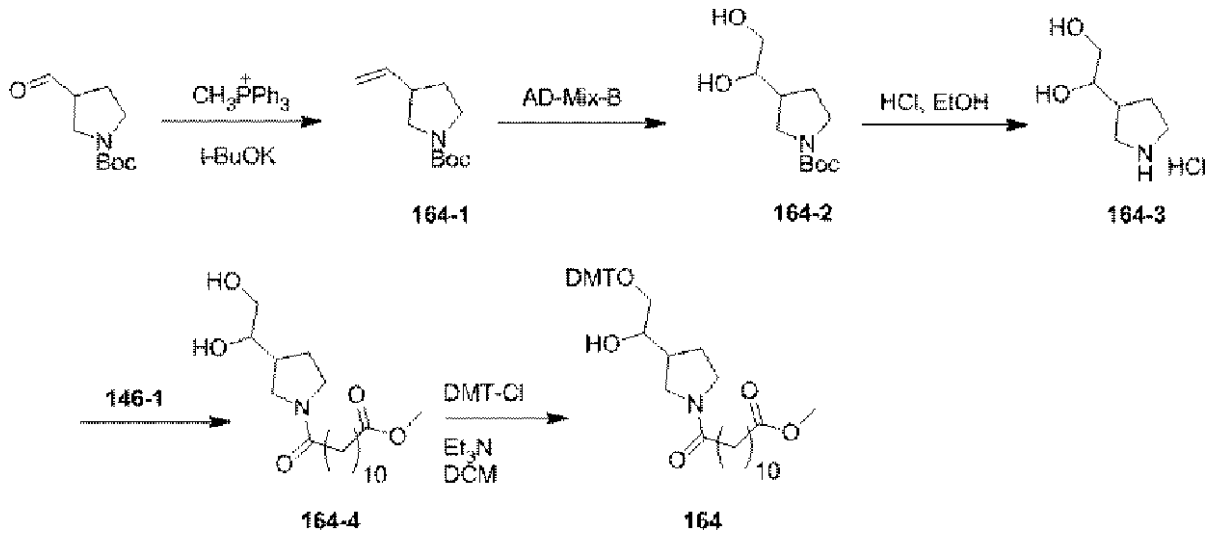
40

【0405】

スキーム24

50

【化 2 2 7】



10

【0 4 0 6】

ステップ 11. 化合物 164-1 の調製

THF (120 mL) / エーテル (360 mL) にカリウム *t*-ブトキシド (14.6 g、130 mmol) を含む懸濁液に、メチルトリフェニルホスホニウムブロミド (46.6 g、130 mmol) を添加した。この混合物を 2 時間還流し、次いで 0 °C に冷却した。*tert*-ブチル 2-ホルミルピロリジン-1-カルボキシレート (13.0 g、65.2 mmol) を含むエーテル (50 mL) を滴加した。この反応混合物を 0 °C で撹拌してから、水 (250 mL) の添加によってクエンチした。有機層を分離させ、水性物をエーテル (250 mL) で抽出した。合わせた抽出物を MgSO_4 で乾燥させた。溶媒の蒸発に続いてカラムクロマトグラフィ精製 (5% 酢酸エチル / ヘキサン) を行なうと、*tert*-ブチル 3-ビニルピロリジン-1-カルボキシレート (164-1) (11.5 g、89.4%) が無色液体としてもたらされた。GC-MS: m/z : 197 (2) (M^+), 141 (40), 124 (30), 57 (100)。

20

【0 4 0 7】

ステップ 12. 化合物 164-2 の調製

t-BuOH (140 mL) 及び水 (70 mL) の混合物に、AD-mix-B (47.4 g) 及びメタンスルホンアミド (2.89 g、30.4 mmol) を加えた。この混合物を室温で 30 分間撹拌し、次いで 0 °C に冷却した。*tert*-ブチル 3-ビニルピロリジン-1-カルボキシレート (164-1) (6.00 g、30.4 mmol) を添加した。この反応物を室温で一晩撹拌した。この反応混合物を 0 °C に冷却した。チオ硫酸ナトリウム五水和物 (96 g、387 mmol) を添加し、温度を室温に戻した。水 (700 mL) を添加し、混合物を酢酸エチル (500 mL) で抽出した。抽出物を水 (2 × 500 mL) 及びブライン (50 mL) で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥させた。溶媒の蒸発に続いてカラムクロマトグラフィ (2% メタノール / ジクロロメタン - 7% メタノール / ジクロロメタン) を行なうと、*tert*-ブチル 3-(1,2-ジヒドロキシエチル)ピロリジン-1-カルボキシレート (164-2) (5.4 g、77%) が明褐色油状物としてもたらされた。

30

40

【0 4 0 8】

ステップ 13. 化合物 164-3 の調製

tert-ブチル 3-(1,2-ジヒドロキシエチル)ピロリジン-1-カルボキシレート (164-2) (3.1 g、13.4 mmol) のエタノール溶液 (10 mL) に、3 N の HCl (30 mL、90 mmol) を添加した。この反応混合物を室温で一晩撹拌した。TLC は反応の完了を示した。エタノールを蒸発させた。トルエンを添加し、蒸発させた。これを 3 回繰り返すと、1-(ピロリジン-3-イル)エタン-1,2-ジオール

50

ト(146-1)(5.09g、14.9mmol)を含むジクロロメタン(50mL)を室温で滴加した。この反応混合物を一晩攪拌し、TLCは反応の完了を示した。100mLのブラインを添加し、有機層を分離させた。有機層を0.5NのHCl(150mL)、ブライン(2×100mL)で洗浄し、MgSO₄で乾燥させた。溶媒の蒸発により、純粋なメチル12-(2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)エチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(170-1)(5.85g、100%)が白色固体としてもたらされた。

【0413】

ステップ17。化合物170-2の調製

0の12-(2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)エチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(170-1)(5.55g、14.4mmol)のメタノール溶液(100mL)に、塩化チオニル(3.3mL、45.5mmol)を滴加した。次いで、この反応物を室温で一晩攪拌した。TLCは反応の完了を示した。溶媒及び揮発性有機物を蒸発させた。次いで、この残渣をヘプタンと2回共蒸発させると、メチル12-(2-アミノエチルアミノ)-12-オキソドデカノエート塩酸塩(170-2)が白色固体として定量的にもたらされた。LC-MS(ESI): m/z: 287(100), (M+H⁺, 遊離アミン)。

10

【0414】

ステップ18。化合物170-3の調製

(-)-メチル(S)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン-4-カルボキシレート(5.01g、31.2mmol)及びLiOH·H₂O(2.55g、60.8mmol)を含むTHF(50mL)及び水(50mL)を一晩攪拌した。TLCは反応の完了を示した。THFを蒸発させ、水性物を1NのHClでpH=1に酸性化した。これを酢酸エチル(5×50mL)で抽出した。合わせた抽出物をMgSO₄で乾燥させた。溶媒の蒸発により、(S)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン-4-カルボン酸(170-3)(2.93g、64.3%)が淡黄色液体としてもたらされた。

20

【0415】

ステップ19。化合物170-4の調製

化合物(170-4)は、1-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)12-メチルドデカンジオエート(146-1)の合成において説明したものと同一手順を使用し、(S)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン-4-カルボン酸(170-3)及びN-ヒドロキシサクシニミドから収率86%で合成した。(S)-2,5-ジオキソピロリジン-1-イル2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン-4-カルボキシレート(170-4)は、収率86%で白色固体として得られた。

30

【0416】

ステップ20。化合物170-5の調製

メチル12-(2-アミノエチルアミノ)-12-オキソドデカノエート塩酸塩(170-2)(14.4mmol)及び(S)-2,5-ジオキソピロリジン-1-イル2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン-4-カルボキシレート(170-4)(3.80g、15.6mmol)のジクロロメタン懸濁液(100mL)に、トリエチルアミン(6mL、43.0mmol)を含むジクロロメタン(25mL)を4時間にわたって0で添加した。次いで、この反応混合物を室温で一晩攪拌した。LC-MSは、出発物質170-2が完全に変換されたことを示した。有機層をブライン(50mL)、1NのHCl(50mL)、ブライン(50mL)で洗浄し、MgSO₄で乾燥させ、濃縮乾固させて、(S)-メチル12-(2-(2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン-4-カルボキサミド)エチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(170-5)(5.93g、99.3%)を白色固体として得た。

40

【0417】

ステップ21。化合物170-6の調製

(S)-メチル12-(2-(2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン-4-カルボ

50

キサミド)エチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(170-5)(5.93g、14.3mmol)の溶液に、濃硫酸を1滴添加した。これを6時間還流し、次いで室温に冷ました。固体を濾過によって収集し、冷メタノールで2回洗浄した。この固体を空气中で乾燥させた(3.32g)。母液から第2の収集物(0.42g)を得て、(S)-メチル12-(2-(2,3-ジヒドロキシプロパンアミド)エチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(170-6)(総量3.74g、69.4%)を白色結晶として得た。LC-MS(ESI): m/z: 375(100), (M+H⁺)。¹H NMR(400MHz, DMSO-d₆, ppm): 7.79(br, 2H), 5.49(d, J = 5.3 Hz, 1H), 4.66(t, J = 5.8 Hz, 1H), 3.83-3.88(m, 1H), 3.55-3.61(m, 4H), 3.41-3.47(m, 1H), 3.05-3.15(m, 4H), 2.29(t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.03(t, J = 7.6 Hz, 2H), 1.42-1.52(m, 4H), 1.18-1.29(m, 12H)。

【0418】

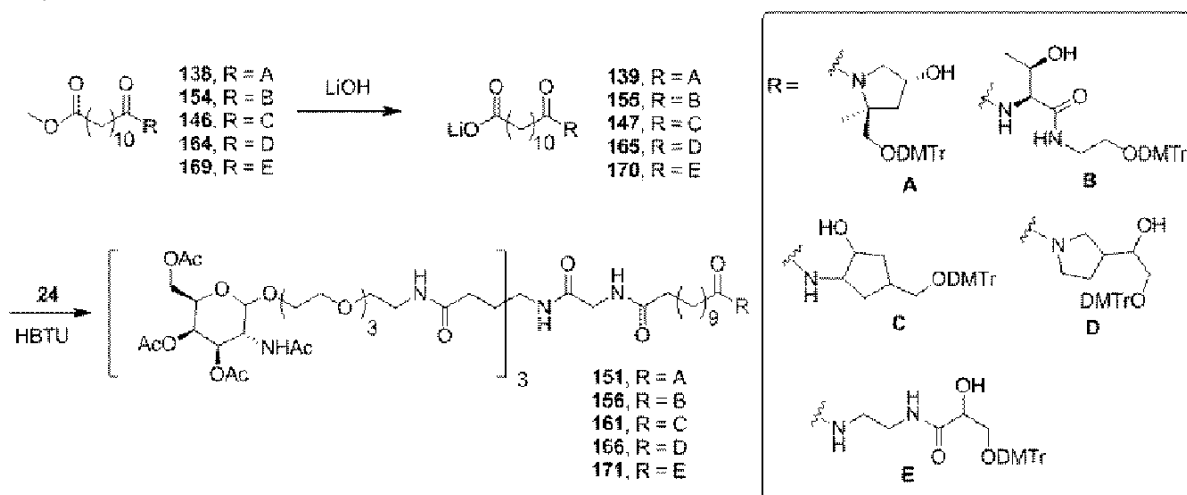
ステップ22。化合物170の調製

窒素下の(S)-メチル12-(2-(2,3-ジヒドロキシプロパンアミド)エチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(170-6)(2.99g、7.99mmol)の無水ピリジン溶液(57.5mL)に、4,4'-ジメトキシトリチルクロリド(2.84g、8.38mmol)を1回で添加した。この反応物を室温で2日間撈拌した。メタノール(5mL)を添加して反応物をクエンチした。ピリジンを蒸発させた。トルエンを添加し、次いで蒸発させた。これを3回繰り返した。水(100mL)を添加し、これを酢酸エチル(5×250mL)で抽出した。抽出物を合わせ、MgSO₄で乾燥させた。溶媒の蒸発に続いてカラムクロマトグラフィ(1%メタノール/ジクロロメタン-3%メタノール/ジクロロメタン)を行なうと、(S)-メチル12-(2-(3-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)-2-ヒドロキシプロパンアミド)-エチルアミノ)-12-オキソドデカノエート(170)(1.70g、31.4%)が粘性油状物としてもたらされた。¹H NMR(400MHz, アセトン-d₆, ppm): 7.64-7.70(br, 1H), 7.47-7.51(m, 2H), 7.33-7.37(m, 4H), 7.26-7.32(m, 2H), 7.20(dt, J = 7.3, 2.1 Hz, 1H), 7.11(br, 1H), 6.86(d, J = 8.7 Hz, 4H), 4.84(br, 1H), 4.21(dd, J = 5.1, 3.8 Hz, 1H), 3.78(s, 6H), 3.60(s, 1H), 3.25-3.42(m, 6H), 2.28(t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.48-1.62(m, 4H), 1.21-1.34(m, 12H)。

【0419】

スキーム26。

【化229】



10

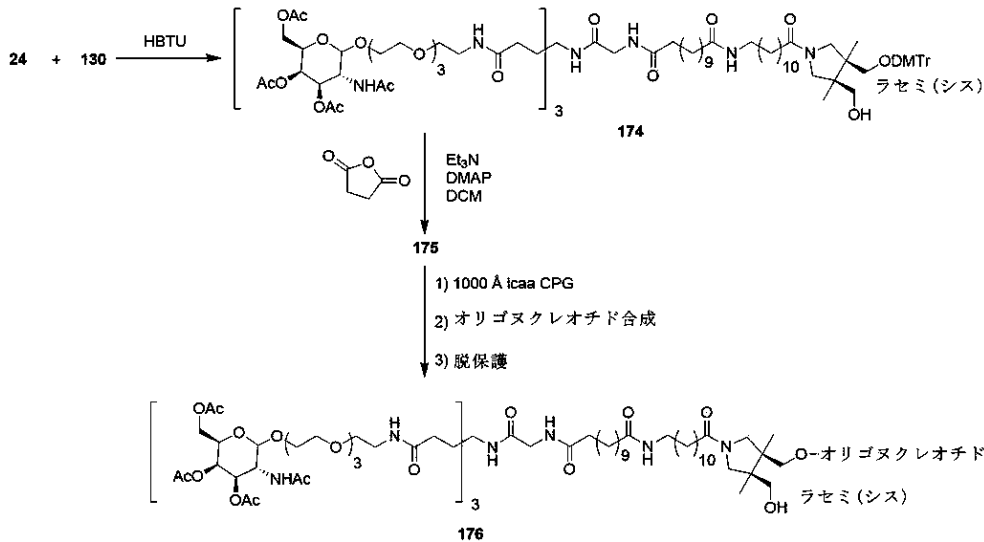
20

30

40

50

【化 2 3 2】



10

【0 4 2 3】

ステップ 1. メチル 12 - アミノドデカノエート (1 3 2) の調製

12 - アミノウンデカン酸 (1 3 1) (10 g、4.64 mmol) を MeOH 中で室温にて攪拌した。塩化アセチル (856 μL 、12 mmol) を滴加し、反応物を 1.5 時間攪拌した。溶媒を真空中で除去し、残渣を MTBE に取り、冷蔵庫で一晩冷やした。結果として生じた沈殿物を濾過によって収集し、氷冷 MTBE で洗浄し、高真空下で乾燥させて、メチル 12 - アミノドデカノエート (1 3 2) を得た。

20

【0 4 2 4】

ステップ 2. ラセミ (シス) メチル 12 - (12 - (10 - (3 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) - (フェニル) メトキシ) メチル) - 4 - (ヒドロキシメチル) - 3, 4 - ジメチルピロリジン - 1 - イル) - 10 - オキソデカンアミド) ドデカンアミド) ドデカノエート (1 2 9) の調製

メチル 12 - アミノドデカノエート (1 3 2) (778 mg、3.1 mmol) のラセミ (シス) 10 - (3 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 4 - (ヒドロキシメチル) - 3, 4 - ジメチルピロリジン - 1 - イル) - 10 - オキソデカン酸リチウム (1 2 8) (2 g、3.1 mmol)、HBTU (1.2 g、3.1 mmol)、及び TEA (1.4 mL、10 mmol) を、DCM 中で室温にて一晩 (O/N) 攪拌した。沈殿物を濾過によって除去し、濾液を真空中で濃縮させ、カラムクロマトグラフィ (5% MeOH、DCM) によって残渣を精製した。TLC は、同一の質量で接近して泳動する 2 つのスポットを示した。これらを幾何異性体として割り当て、一緒にプールしたところ、メチル 12 - (12 - (10 - ((3 R, 4 S) - 3 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 4 - (ヒドロキシメチル) - 3, 4 - ジメチルピロリジン - 1 - イル) - 10 - オキソデカンアミド) ドデカンアミド) ドデカノエート (1 2 9) が定量的な様式でもたらされた。

30

40

【0 4 2 5】

ステップ 3. ラセミ (シス) 12 - (12 - (10 - (- 3 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) - メトキシ) メチル) - 4 - (ヒドロキシメチル) - 3, 4 - ジメチルピロリジン - 1 - イル) - 10 - オキソデカンアミド) - ドデカンアミド) ドデカン酸リチウム (1 3 0) の調製

ラセミ (シス) メチル 12 - (12 - (10 - (3 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 4 - (ヒドロキシメチル) - 3, 4 - ジメチルピロリジン - 1 - イル) - 10 - オキソデカンアミド) ドデカンアミド) ドデカノエート (1 2 9) (3.1 mmol) を、LiOH (88 mg、3.7 mmol) を含む THF : H₂O (50 : 50) 中で室温にて一晩攪拌した。反応を TLC により確認し、THF を真

50

空中で除去した。この水溶液を液体N₂中で凍結させ、48時間にわたって凍結乾燥させると、ラセミ(シス)12-(12-(10-(3-(4-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)-メトキシ)メチル)-4-(ヒドロキシメチル)-3,4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカンアミド)-ドデカンアミド)ドデカン酸リチウム(130)が定量的にもたらされた。

【0426】

ステップ4。コンジュゲート176の調製

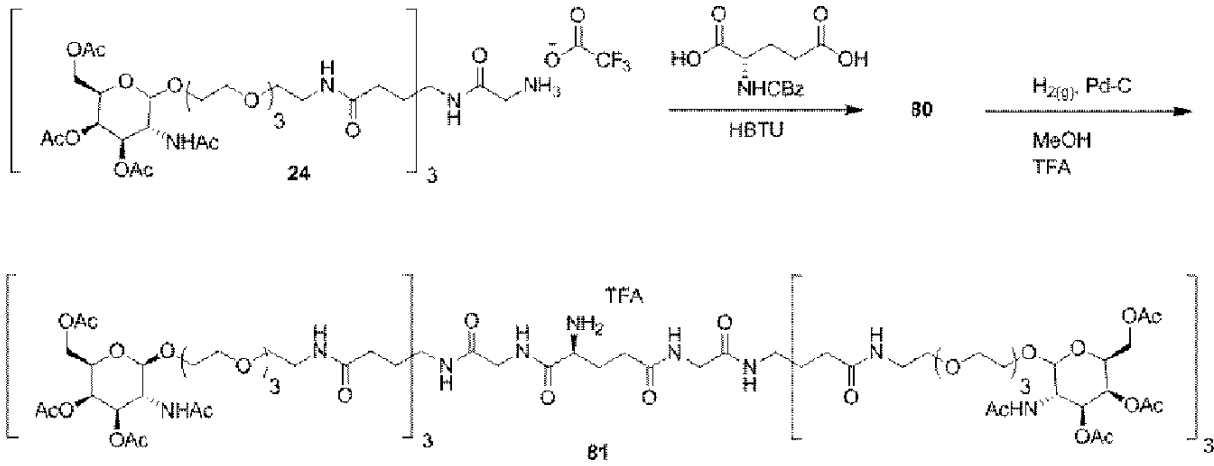
化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物24及び130からコンジュゲート176を調製した。

【0427】

実施例13。コンジュゲート179の合成

スキーム29。

【化233】



スキーム30。

10

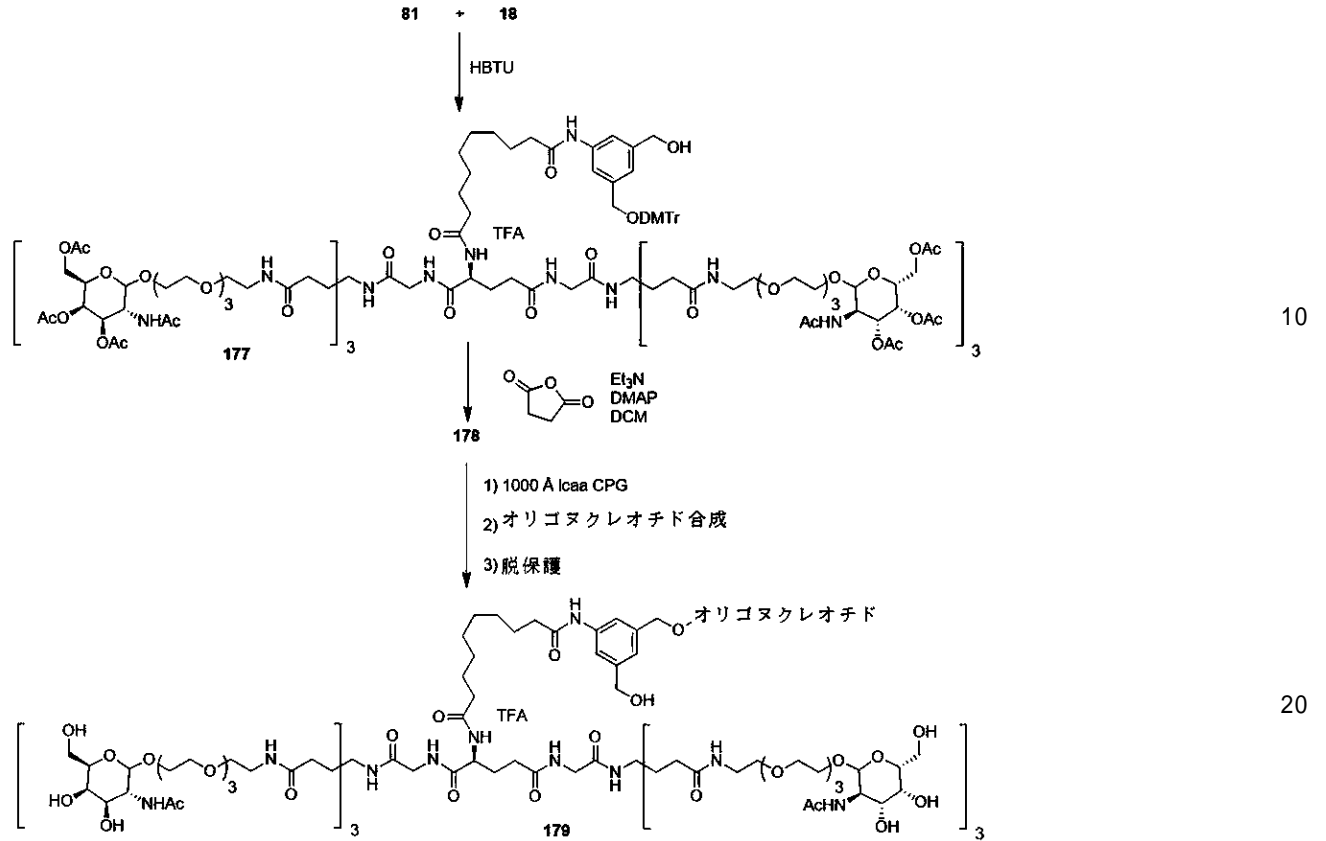
20

30

40

50

【化 2 3 4】



【0 4 2 8】

ステップ 1。化合物 8 0 の調製

化合物 2 4 (2 g、0 . 8 6 m m o l)、N - カルボベンゾキシ - L - グルタミン酸 (1 2 0 m g、0 . 4 3 m m o l)、H B T U (3 2 6 m g、0 . 8 6 m m o l)、及び T E A (3 5 3 μ L、2 . 6 m m o l) を、D C M 中で室温にて一晩撹拌した。この混合物を真空中で濃縮させ、カラムクロマトグラフィによって精製すると、化合物 8 0 がもたら

30

【0 4 2 9】

ステップ 2。化合物 8 1 の調製

化合物 1 4 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 8 0 (6 7 0 m g、0 . 1 7 m m o l) から化合物 8 1 を調製した。この化合物を後続の反応で粗製のまま使用し、収率を定量的に求めた。

【0 4 3 0】

ステップ 3。コンジュゲート 1 7 9 の調製

化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 1 8 及び 8 1 からコンジュゲート 1 7 9 を調製した。

40

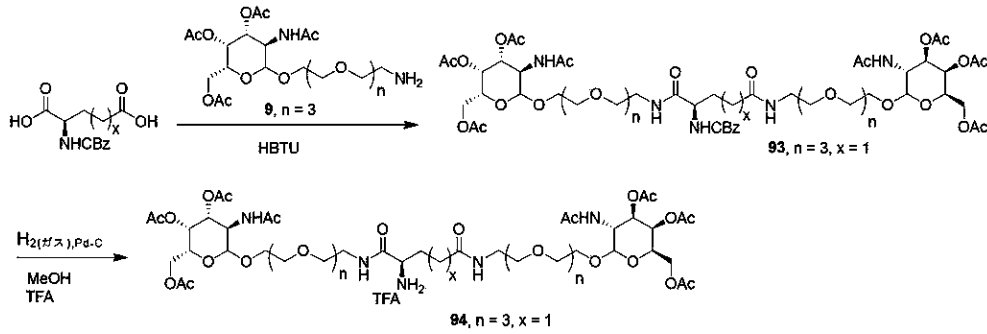
【0 4 3 1】

実施例 1 4。コンジュゲート 1 8 2 の合成

スキーム 3 1。

50

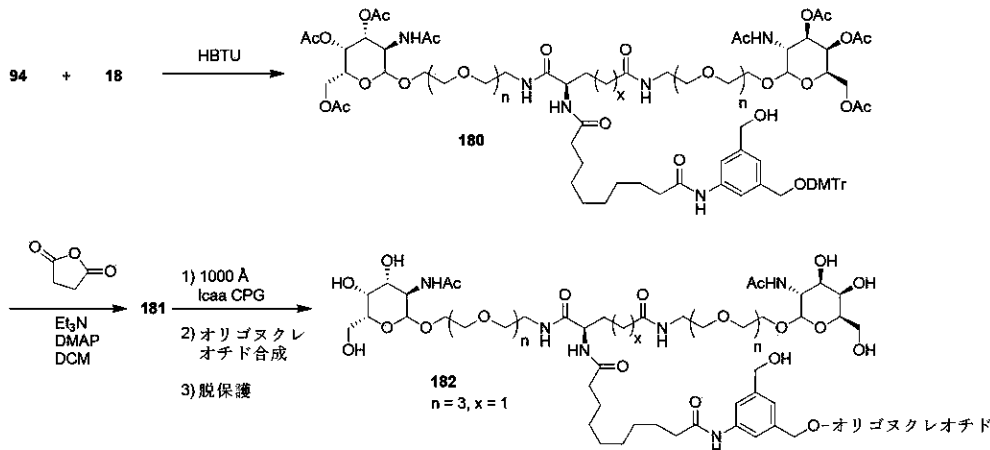
【化 2 3 5】



10

スキーム 3 2。

【化 2 3 6】



20

【0 4 3 2】

ステップ 1。化合物 9 3 の調製

化合物 8 9 に使用したものと同一の手順を使用し、(2 - オキソ - 2 - フェニル - 1, 2 - エチル) - D - グルタミン酸 (2.25 g, 8.1 mmol) 及び 9 (13 g, 21 mmol) から化合物 9 3 を調製した。収量：11.2 g。

30

【0 4 3 3】

ステップ 2。化合物 9 4 の調製

化合物 9 0 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 9 3 (11.1 g) から化合物 9 4 を調製した。収量：10.2 g。

【0 4 3 4】

ステップ 3。コンジュゲート 1 8 2 の調製

化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 1 8 及び 9 4 からコンジュゲート 1 8 2 を調製した。

【0 4 3 5】

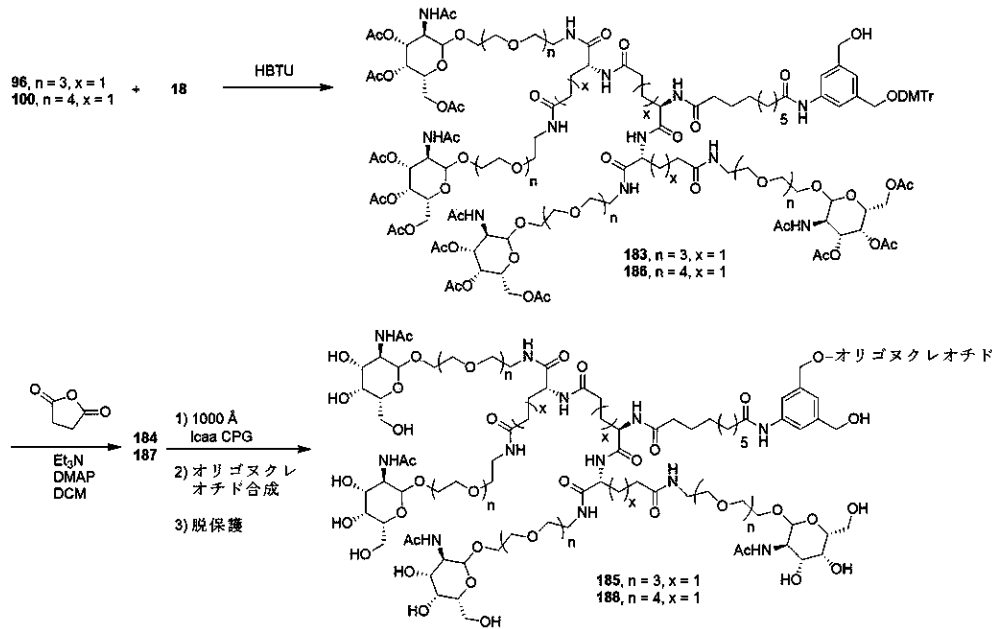
実施例 1 5。コンジュゲート 1 8 5 及び 1 8 8 の合成

スキーム 3 3。

40

50

【化239】



10

【0436】

ステップ1。14-ヒドロキシ-3,6,9,12-テトラオキサテトラデシル4-メチルベンゼンスルホネート(82)の調製

20

ペンタエチレングリコール(35g、147mmol)、TEA(41mL、294mmol)、及びトリメチルアミン-HCl(1.4g、14.7mmol)のCH₂Cl₂溶液(600mL)を、塩化トシル(29.4g、154mmol)で処理した。攪拌(18時間)した後、反応混合物をH₂O-ブライン(1:1)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、濃縮し、クロマトグラフィに供して、82(24.6g、43%)を淡黄色油状物として得た。Rf 0.8(10%CH₃OH-CH₂Cl₂)。

【0437】

ステップ2。14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-1-オール(83)

30

化合物4に使用したものと同一の手順を使用し、82(24.6g、62.7mmol)及びアジ化ナトリウム(7.13g、110mmol)から14-アジド-3,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-1-オール(83)を調製した。収量:14.8g、90%。

【0438】

ステップ3。化合物84の調製

GalNAc 6(12.2g、31.4mmol)及びHO-PEG-N₃ 83(9.2g、35mmol)の1,2-ジクロロエタン溶液(150mL)を、Sc(OTf)₃(771mg、1.6mmol)で処理した。攪拌(85、2時間)した後、反応物を冷まし(室温)、TEA(40mL)の添加によってクエンチし、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、84(11.16g、60%)を淡黄色泡状物として得た。Rf 0.7(10%CH₃OH-CH₂Cl₂)。

40

【0439】

ステップ4。化合物85の調製

84(11.16g、18.8mmol)及びPd/C(1.1g、10%-湿潤支持体)のEtOAc溶液(120mL)を、TFA(4.32mL、56.5mmol)で処理し、H₂でパージした。勢いよく攪拌(4.5時間)した後、反応物をN₂でパージし、セライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、85(5.77g、45%)を無色泡状物として得た。Rf 0.5(10%CH₃OH-CH₂Cl₂)。

50

【0440】

ステップ5。化合物95の調製

化合物91に使用したものと同一の手順を使用し、(2-オキソ-2-フェニル-1,2-エチル)-D-グルタミン酸(1.04g、3.7mmol)及び化合物94(10.2g)から化合物95を調製した。収量：7.2g。

【0441】

ステップ6。化合物96の調製

化合物92に使用したものと同一の手順を使用し、化合物95(11.1g)から化合物96を調製した。収量：6.5g。

【0442】

ステップ7。化合物97の調製

化合物89に使用したものと同一の手順を使用し、(2-オキソ-2-フェニル-1,2-エチル)-D-グルタミン酸(2g、7.1mmol)及び85(12.1g、17.8mmol)から化合物97を調製した。収量：10g、定量的。

【0443】

ステップ8。化合物98の調製

化合物90に使用したものと同一の手順を使用し、化合物97(10g、7.2mmol)から化合物98を調製した。収量：3.5g、36%。

【0444】

ステップ9。化合物99の調製

化合物91に使用したものと同一の手順を使用し、(2-オキソ-2-フェニル-1,2-エチル)-D-グルタミン酸(350mg、1.25mmol)及び化合物98(2.86mg、2.5mmol)から化合物99を定量的に調製した。

【0445】

ステップ10。化合物100の調製

化合物92に使用したものと同一の手順を使用し、化合物99(3.2g、1.25mmol)から化合物100を定量的に調製した。

【0446】

ステップ11。コンジュゲート185及び188の調製

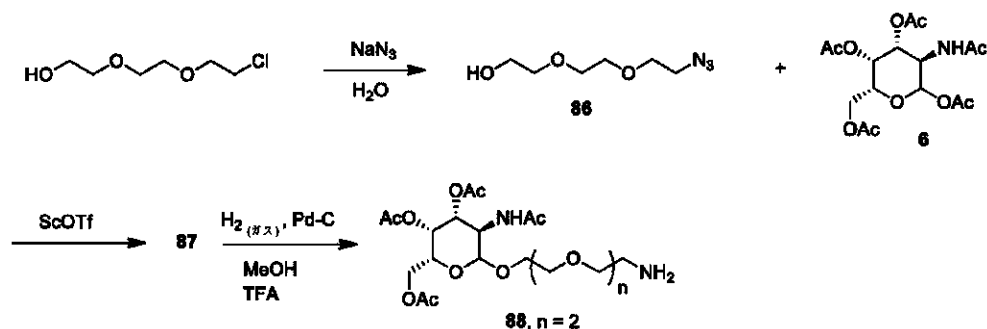
化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物18及び96または18及び100からコンジュゲート185及び188を調製した。

【0447】

実施例16。コンジュゲート191、194、197、及び200の合成

スキーム36

【化240】



スキーム37。

10

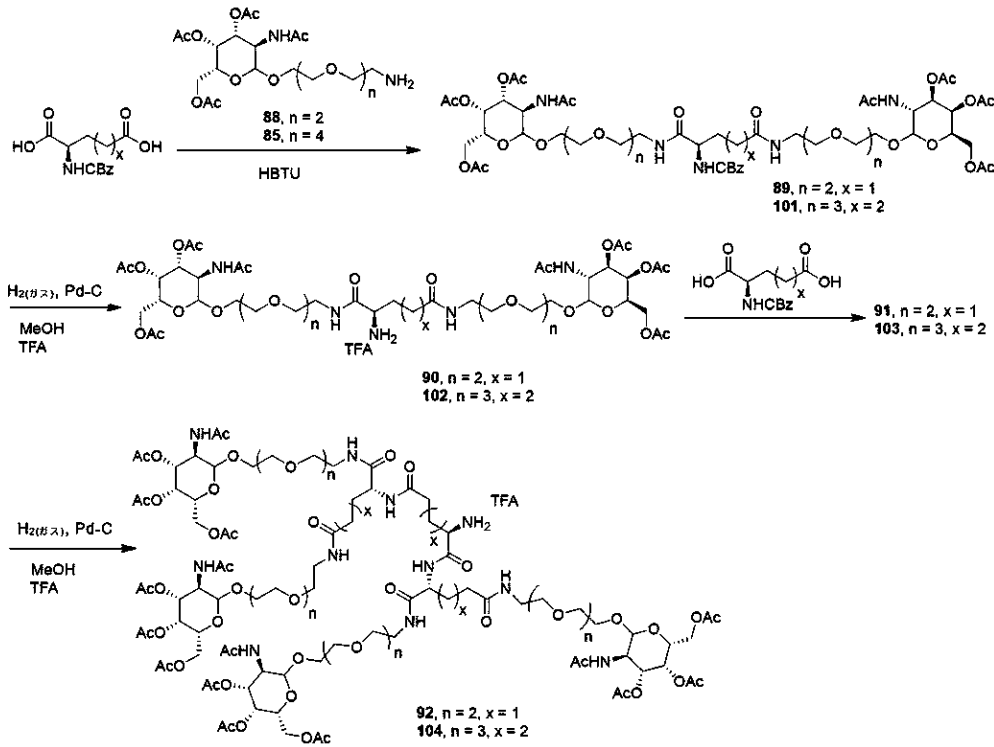
20

30

40

50

【化 2 4 1】

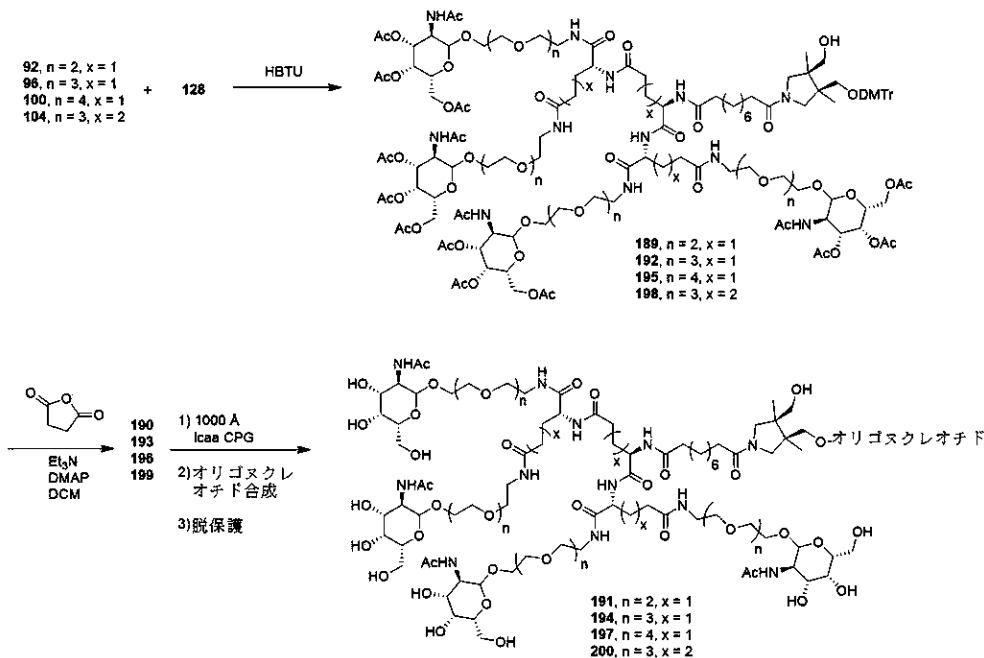


10

20

スキーム 3 8。

【化 2 4 2】



30

40

【0 4 4 8】

ステップ 1。2 - (2 - (2 - アジドエトキシ) エトキシ) エタン - 1 - オール (8 6) の調製

2 - (2 - (2 - クロロエトキシ) エトキシ) エタン - 1 - オール (1 3 g、7 7 m m o l) の水溶液 (2 0 0 m L) に、アジ化ナトリウム (1 0 g、1 5 4 m m o l) を添加した。この反応物を 1 8 時間 にわたって 1 0 0 ° に加熱した。この反応物を室温に冷まし、1 L の分液漏斗に注ぎ、ジクロロメタン (3 × 2 0 0 m L) で抽出した。合わせたジクロロメタン抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、2 - (2 -

50

(2 - アジドエトキシ)エトキシ)エタン - 1 - オールを無色油状物として得た (11.7 g)。

【0449】

ステップ2。化合物87の調製

化合物84に使用したものと同一の手順を使用し、86 (4.95 g、28.3 mmol) 及び6 (10 g、25.7 mmol) から化合物87を調製した。収量：10 g、77%。

【0450】

ステップ3。化合物88の調製

化合物85に使用したものと同一の手順を使用し、87 (10 g、19.8 mmol) から化合物88を調製した。収量：7.63 g、65%。

10

【0451】

ステップ4。化合物89の調製

88 (2 g、3.38 mmol) 及びZ - グルタミン酸 (427 mg、1.52 mmol) のCH₂Cl₂溶液 (50 mL) を、HBTU (1.41 g、3.7 mmol) 及びヒューニツヒ塩基 (1.77 mL、10.1 mmol) で処理した。攪拌 (18時間) した後、混合物を濃縮させ、クロマトグラフィに供して、89 (871 mg、48%) を無色泡状物として得た。Rf 0.5 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0452】

ステップ5。化合物90の調製

89 (870 mg、0.72 mmol) 及びPd/C (90 mg、10% - 湿潤支持体) のEtOAc溶液 (10 mL) を、TFA (84 µL、1.1 mmol) で処理し、H₂でパージした。勢いよく攪拌 (2時間) した後、反応物をN₂でパージし、セライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質を更に処理することなく使用し、90 (850 mg、定量的) を無色泡状物として得た。Rf 0.25 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)

20

【0453】

ステップ6。化合物91の調製

90 (850 mg、0.72 mmol) 及びZ - グルタミン酸 (91 mg、0.32 mmol) のCH₂Cl₂溶液 (10 mL) を、HBTU (300 mg、0.79 mmol) 及びヒューニツヒ塩基 (502 µL、2.9 mmol) で処理した。攪拌 (1.5時間) した後、混合物をCH₂Cl₂で希釈し、NaHCO₃ (飽和水溶液) で洗浄し、乾燥させ (MgSO₄)、濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、91 (590 mg、76%) を無色泡状物として得た。Rf 0.5 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

30

【0454】

ステップ7。化合物92の調製

91 (590 mg、0.25 mmol) 及びPd/C (100 mg、10% - 湿潤支持体) のCH₃OH溶液 (30 mL) を、TFA (29 µL、0.37 mmol) で処理し、H₂でパージした。攪拌 (3時間) した後、混合物をN₂でパージし、セライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質を更に処理することなく使用し、92 (600 mg、定量的) を無色泡状物として得た。Rf 0.1 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

40

【0455】

ステップ8。化合物101の調製

化合物89に使用したものと同一の手順を使用し、(R) - 2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1,1,2 - エチル) アミノ) ヘキサン二酸 (2.51 g、8.6 mmol) 及び9 (11 g、17.2 mmol) から化合物101を調製した。収量：4.2 g、37%。

【0456】

ステップ9。化合物102の調製

化合物90に使用したものと同一の手順を使用し、化合物101 (4.2 g、3.2 m

50

mol) から化合物 102 を調製した。収量：2.1 g、47%。

【0457】

ステップ 10。化合物 103 の調製

化合物 91 に使用したものと同一の手順を使用し、(R)-2-((2-オキソ-2-フェニル-1,1,2-エチル)アミノ)ヘキサン二酸(265 mg、0.9 mmol) 及び化合物 102 (2.1 g、1.8 mmol) から化合物 103 を調製した。収量：(560 mg、24%)。

【0458】

ステップ 11。化合物 104 の調製

化合物 92 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 103 (560 mg) から化合物 104 を定量的に調製した。この化合物を精製することなく使用した。

10

【0459】

ステップ 12。コンジュゲート 191、194、及び 197 の調製

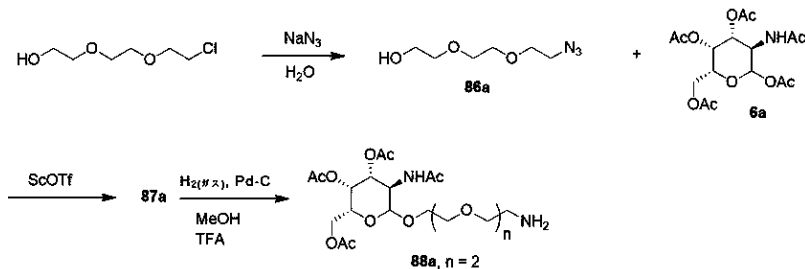
化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 128 及び 92、96、及び 100 からコンジュゲート 191、194、及び 197 を調製した。

【0460】

実施例 16 a。コンジュゲート 191 a の合成

スキーム 36 a

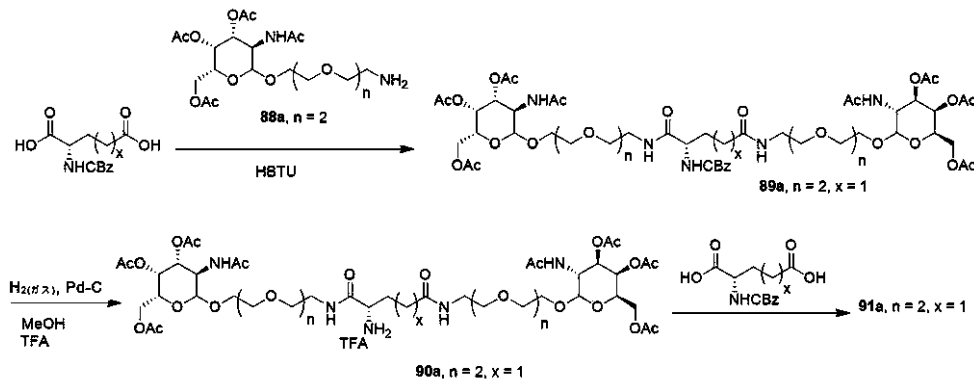
【化 243】



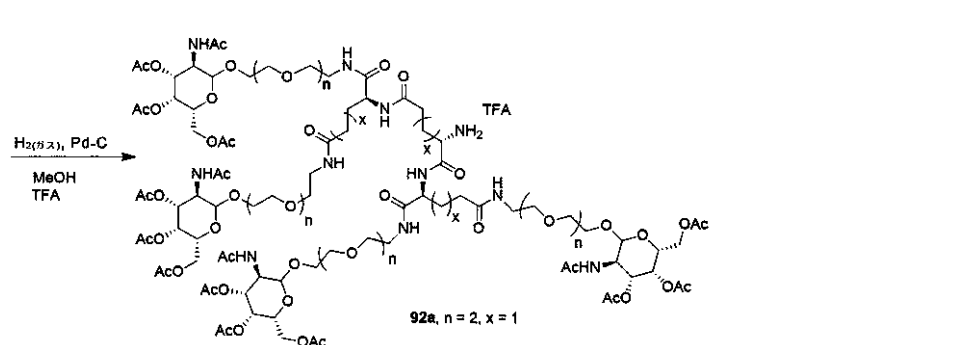
20

スキーム 37 a。

【化 244】



30

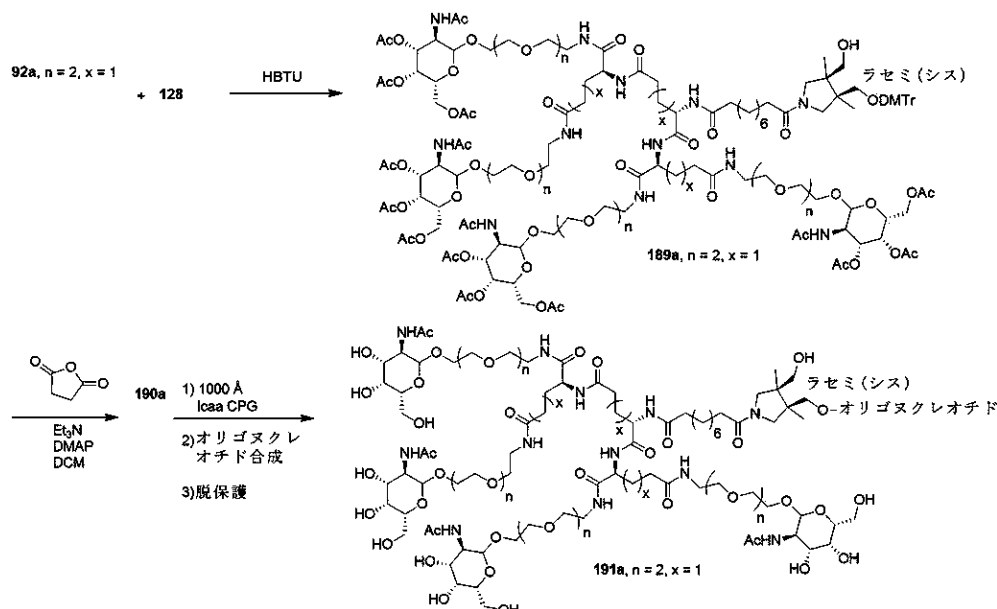


40

スキーム 38 a。

50

【化 2 4 5】



10

【0 4 6 1】

ステップ 1。2 - (2 - (2 - アジドエトキシ) エトキシ) エタン - 1 - オール (8 6 a) の調製 20

2 - (2 - (2 - クロロエトキシ) エトキシ) エタン - 1 - オール (13 g、77 mmol) の水溶液 (200 mL) に、アジ化ナトリウム (10 g、154 mmol) を添加した。この反応物を 18 時間にわたって 100 に加熱した。この反応物を室温に冷まし、1 L の分液漏斗に注ぎ、ジクロロメタン (3 × 200 mL) で抽出した。合わせたジクロロメタン抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、2 - (2 - (2 - アジドエトキシ) エトキシ) エタン - 1 - オールを無色油状物として得た (11.7 g)。

【0 4 6 2】

ステップ 2。化合物 8 7 a の調製 30

化合物 8 4 に使用したものと同一の手順を使用し、8 6 a (4.95 g、28.3 mmol) 及び 6 a (10 g、25.7 mmol) から化合物 8 7 a を調製した。収量：10 g、77%。

【0 4 6 3】

ステップ 3。化合物 8 8 a の調製

化合物 8 5 に使用したものと同一の手順を使用し、8 7 a (10 g、19.8 mmol) から化合物 8 8 a を調製した。収量：7.63 g、65%。

【0 4 6 4】

ステップ 4。化合物 8 9 a の調製 40

8 8 a (2 g、3.38 mmol) 及び Z - L - グルタミン酸 (427 mg、1.52 mmol) の CH_2Cl_2 溶液 (50 mL) を、HBTU (1.41 g、3.7 mmol) 及びヒューニツヒ塩基 (1.77 mL、10.1 mmol) で処理した。攪拌 (18 時間) した後、混合物を濃縮させ、クロマトグラフィに供して、8 9 a (871 mg、48%) を無色泡状物として得た。Rf 0.5 (10% $\text{CH}_3\text{OH} - \text{CH}_2\text{Cl}_2$)。

【0 4 6 5】

ステップ 5。化合物 9 0 a の調製

8 9 a (870 mg、0.72 mmol) 及び Pd / C (90 mg、10% - 湿潤支持体) の EtOAc 溶液 (10 mL) を、TFA (84 μL 、1.1 mmol) で処理し、 H_2 でパージした。勢いよく攪拌 (2 時間) した後、反応物を N_2 でパージし、セライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質を更に処理することなく使用し、9 0 a (850 mg 50

、定量的)を無色泡状物として得た。Rf 0.25 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0466】

ステップ6。化合物91aの調製

90a (850 mg、0.72 mmol) 及び Z - グルタミン酸 (91 mg、0.32 mmol) の CH₂Cl₂ 溶液 (10 mL) を、HBTU (300 mg、0.79 mmol) 及び ヒューニツヒ塩基 (502 μL、2.9 mmol) で処理した。攪拌 (1.5 時間) した後、混合物を CH₂Cl₂ で希釈し、NaHCO₃ (飽和水溶液) で洗浄し、乾燥させ (MgSO₄)、濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、91a (590 mg、76%) を無色泡状物として得た。Rf 0.5 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

10

【0467】

ステップ7。化合物92aの調製

91a (590 mg、0.25 mmol) 及び Pd/C (100 mg、10% - 湿潤支持体) の CH₃OH 溶液 (30 mL) を、TFA (29 μL、0.37 mmol) で処理し、H₂ でパージした。攪拌 (3 時間) した後、混合物を N₂ でパージし、セライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質を更に処理することなく使用し、92a (600 mg、定量的) を無色泡状物として得た。Rf 0.1 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0468】

ステップ8。コンジュゲート191aの調製

化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物128及び化合物92aからコンジュゲート191aを調製した。

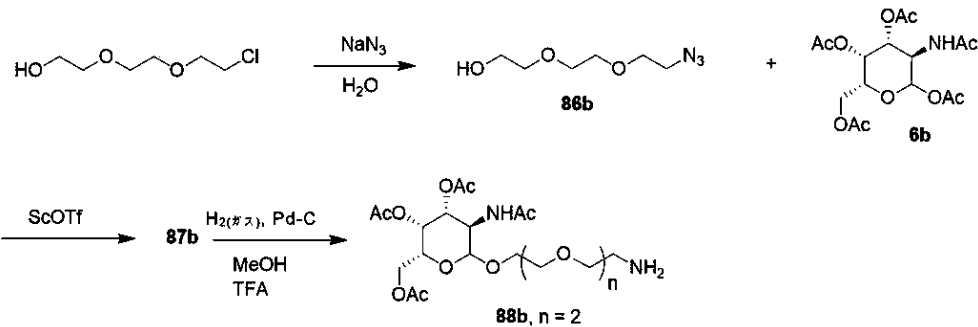
20

【0469】

実施例16b。コンジュゲート191bの合成

スキーム36b

【化246】



30

スキーム37b。

40

50

【0471】

ステップ2。化合物87bの調製

化合物84に使用したものと同一の手順を使用し、86b(4.95g、28.3mmol)及び6b(10g、25.7mmol)から化合物87aを調製した。収量：10g、77%。

【0472】

ステップ3。化合物88bの調製

化合物85に使用したものと同一の手順を使用し、87b(10g、19.8mmol)から化合物88aを調製した。収量：7.63g、65%。

【0473】

ステップ4。化合物89bの調製

88b(2g、3.38mmol)及びラセミZ-グルタミン酸(427mg、1.52mmol)のCH₂Cl₂溶液(50mL)を、HBTU(1.41g、3.7mmol)及びヒューニツヒ塩基(1.77mL、10.1mmol)で処理した。撹拌(18時間)した後、混合物を濃縮させ、クロマトグラフィに供して、89b(871mg、48%)を無色泡状物として得た。R_f 0.5 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0474】

ステップ5。化合物90bの調製

89b(870mg、0.72mmol)及びPd/C(90mg、10%-湿潤支持体)のEtOAc溶液(10mL)を、TFA(84μL、1.1mmol)で処理し、H₂でパージした。勢いよく撹拌(2時間)した後、反応物をN₂でパージし、セライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質を更に処理することなく使用し、90b(850mg、定量的)を無色泡状物として得た。R_f 0.25 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0475】

ステップ6。化合物91bの調製

90b(850mg、0.72mmol)及びZ-グルタミン酸(91mg、0.32mmol)のCH₂Cl₂溶液(10mL)を、HBTU(300mg、0.79mmol)及びヒューニツヒ塩基(502μL、2.9mmol)で処理した。撹拌(1.5時間)した後、混合物をCH₂Cl₂で希釈し、NaHCO₃(飽和水溶液)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、91b(590mg、76%)を無色泡状物として得た。R_f 0.5 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0476】

ステップ7。化合物92bの調製

91b(590mg、0.25mmol)及びPd/C(100mg、10%-湿潤支持体)のCH₃OH溶液(30mL)を、TFA(29μL、0.37mmol)で処理し、H₂でパージした。撹拌(3時間)した後、混合物をN₂でパージし、セライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質を更に処理することなく使用し、92b(600mg、定量的)を無色泡状物として得た。R_f 0.1 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0477】

ステップ8。コンジュゲート191bの調製

化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物128及び化合物92bからコンジュゲート191bを調製した。

【0478】

実施例16c。コンジュゲート191cの合成

スキーム36c

10

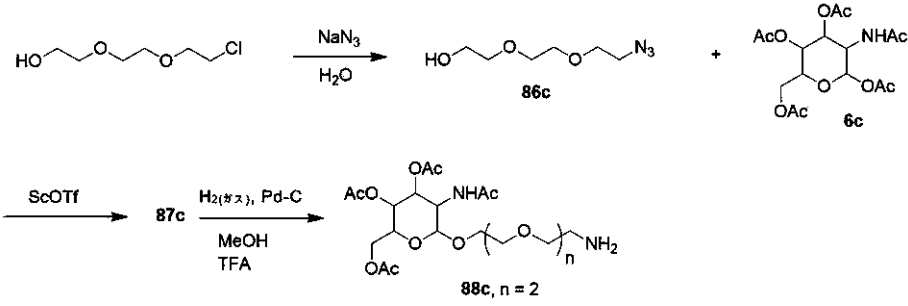
20

30

40

50

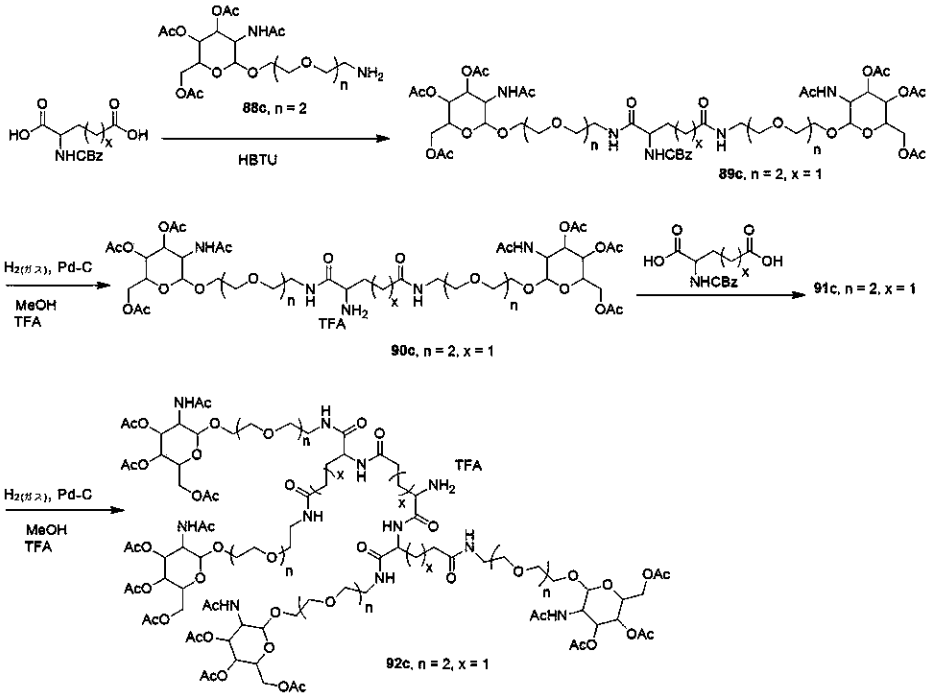
【化 2 4 9】



10

スキーム 37c。

【化 2 5 0】



20

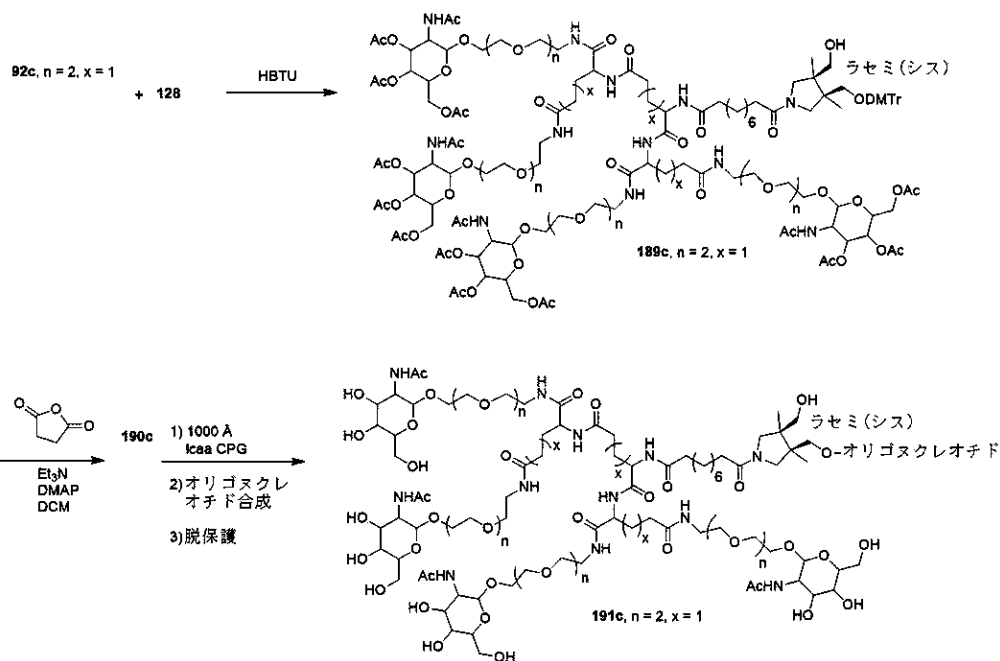
30

スキーム 38c。

40

50

【化 2 5 1】



10

【0 4 7 9】

ステップ 1。2 - (2 - (2 - アジドエトキシ) エトキシ) エタン - 1 - オール (8 6 c) の調製

2 - (2 - (2 - クロロエトキシ) エトキシ) エタン - 1 - オール (1 3 g、7 7 m m o l) の水溶液 (2 0 0 m L) に、アジ化ナトリウム (1 0 g、1 5 4 m m o l) を添加した。この反応物を 1 8 時間にわたって 1 0 0 に加熱した。この反応物を室温に冷まし、1 L の分液漏斗に注ぎ、ジクロロメタン (3 × 2 0 0 m L) で抽出した。合わせたジクロロメタン抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、2 - (2 - (2 - アジドエトキシ) エトキシ) エタン - 1 - オールを無色油状物として得た (1 1 . 7 g)。

【0 4 8 0】

ステップ 2。化合物 8 7 c の調製

化合物 8 4 に使用したものと同一の手順を使用し、8 6 c (4 . 9 5 g、2 8 . 3 m m o l) 及び 6 c (1 0 g、2 5 . 7 m m o l) から化合物 8 7 c を調製した。収量：1 0 g、7 7 %。

【0 4 8 1】

ステップ 3。化合物 8 8 c の調製

化合物 8 5 に使用したものと同一の手順を使用し、8 7 c (1 0 g、1 9 . 8 m m o l) から化合物 8 8 c を調製した。収量：7 . 6 3 g、6 5 %。

【0 4 8 2】

ステップ 4。化合物 8 9 c の調製

8 8 c (2 g、3 . 3 8 m m o l) 及びラセミ Z - グルタミン酸 (4 2 7 m g、1 . 5 2 m m o l) の CH_2Cl_2 溶液 (5 0 m L) を、HBTU (1 . 4 1 g、3 . 7 m m o l) 及びヒューニツヒ塩基 (1 . 7 7 m L、1 0 . 1 m m o l) で処理した。攪拌 (1 8 時間) した後、混合物を濃縮させ、クロマトグラフィに供して、8 9 c (8 7 1 m g、4 8 %) を無色泡状物として得た。R f 0 . 5 (1 0 % $\text{CH}_3\text{OH} - \text{CH}_2\text{Cl}_2$)。

【0 4 8 3】

ステップ 5。化合物 9 0 c の調製

8 9 c (8 7 0 m g、0 . 7 2 m m o l) 及び Pd / C (9 0 m g、1 0 % - 湿潤支持体) の EtOAc 溶液 (1 0 m L) を、TFA (8 4 μL 、1 . 1 m m o l) で処理し、 H_2 でパージした。勢いよく攪拌 (2 時間) した後、反応物を N_2 でパージし、セライト

20

30

40

50

で濾過し、濃縮させた。この粗物質を更に処理することなく使用し、90c (850 mg、定量的) を無色泡状物として得た。Rf 0.25 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0484】

ステップ6。化合物91cの調製

90c (850 mg、0.72 mmol) 及びZ-グルタミン酸 (91 mg、0.32 mmol) のCH₂Cl₂溶液 (10 mL) を、HBTU (300 mg、0.79 mmol) 及びヒューニツヒ塩基 (502 μL、2.9 mmol) で処理した。攪拌 (1.5 時間) した後、混合物をCH₂Cl₂で希釈し、NaHCO₃ (飽和水溶液) で洗浄し、乾燥させ (MgSO₄)、濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、91c (590 mg、76%) を無色泡状物として得た。Rf 0.5 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

10

【0485】

ステップ7。化合物92cの調製

91c (590 mg、0.25 mmol) 及びPd/C (100 mg、10% - 湿潤支持体) のCH₃OH溶液 (30 mL) を、TFA (29 μL、0.37 mmol) で処理し、H₂でパージした。攪拌 (3 時間) した後、混合物をN₂でパージし、セライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質を更に処理することなく使用し、92c (600 mg、定量的) を無色泡状物として得た。Rf 0.1 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

20

【0486】

ステップ8。コンジュゲート191cの調製

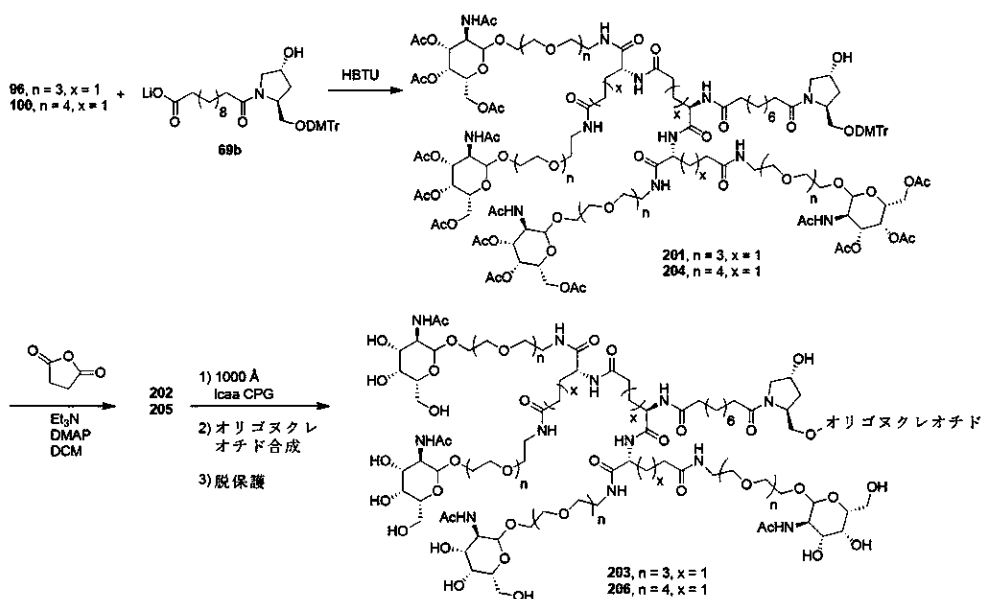
化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物128及び化合物92cからコンジュゲート191cを調製した。

【0487】

実施例17。コンジュゲート203及び206の合成

スキーム39。

【化252】



30

40

【0488】

ステップ1。化合物69bの調製

化合物69に使用したものと同一の手順を使用し、(2S, 4R)-4-ヒドロキシピロリジン-2-カルボン酸から化合物69bを調製した。

【0489】

ステップ2。コンジュゲート203及び206の調製

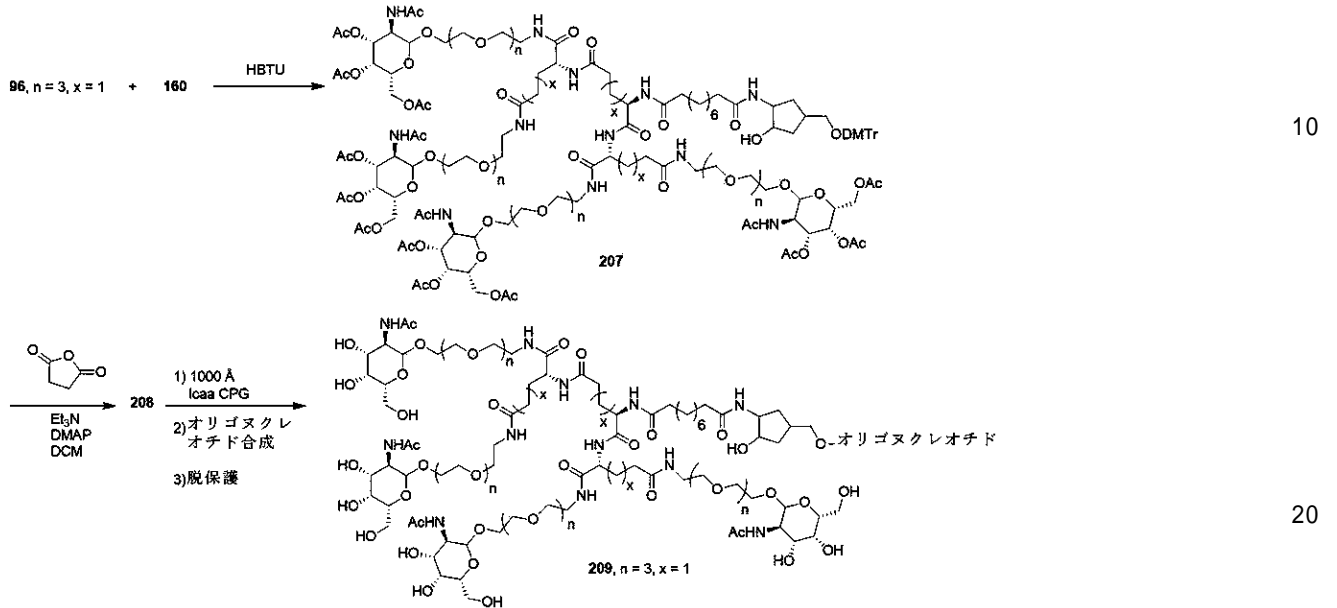
50

化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 9 6 及び 1 0 0 からコンジュゲート 2 0 3 及び 2 0 6 を調製した。

【 0 4 9 0 】

実施例 1 8。コンジュゲート 2 0 9 の合成
スキーム 4 0。

【 化 2 5 3 】



【 0 4 9 1 】

ステップ 1。コンジュゲート 2 0 9 の調製

化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 9 6 及び 1 6 0 からコンジュゲート 2 0 9 を調製した。

【 0 4 9 2 】

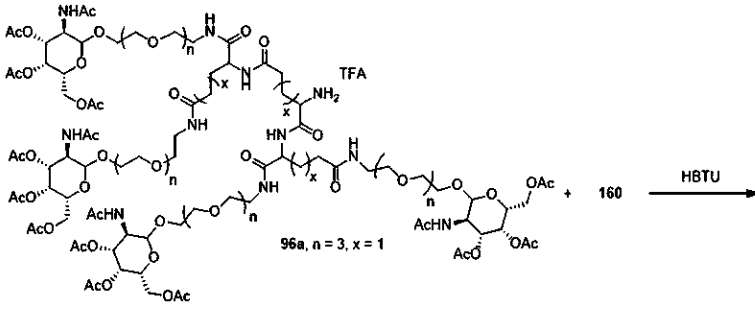
実施例 1 8 a。コンジュゲート 2 0 9 a の合成
スキーム 4 0 a。

30

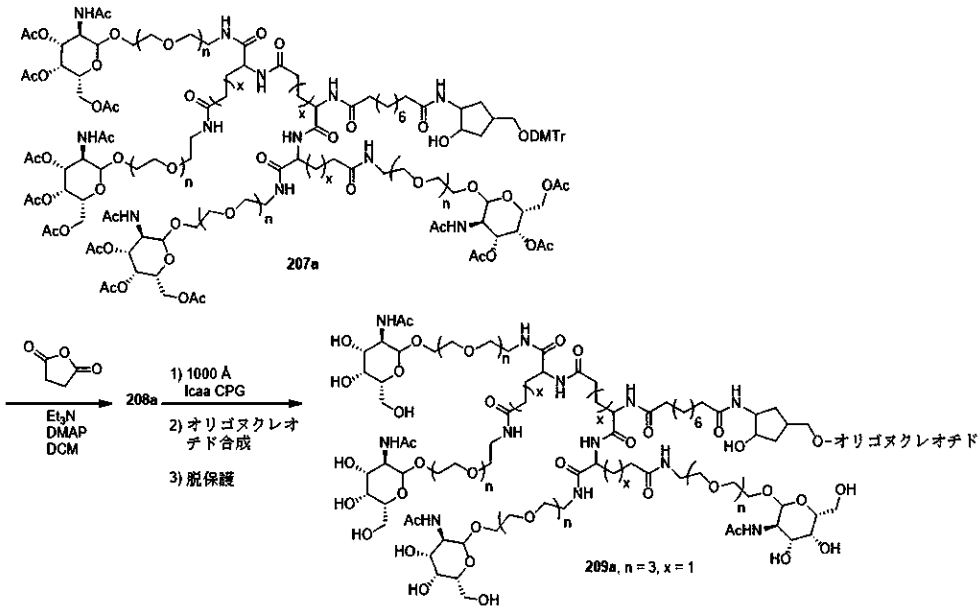
40

50

【化 2 5 4】



10



20

【 0 4 9 3】

ステップ 1。コンジュゲート 2 0 9 a の調製

化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 9 6 a 及び 1 6 0 からコンジュゲート 2 0 9 a を調製した。

30

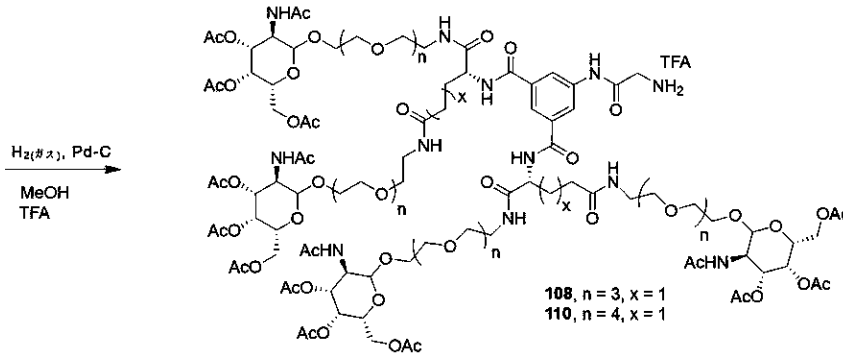
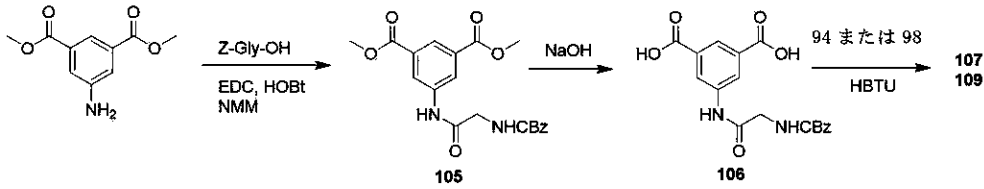
【 0 4 9 4】

実施例 1 9。コンジュゲート 2 1 2 及び 2 1 5 の合成スキーム 4 1。

40

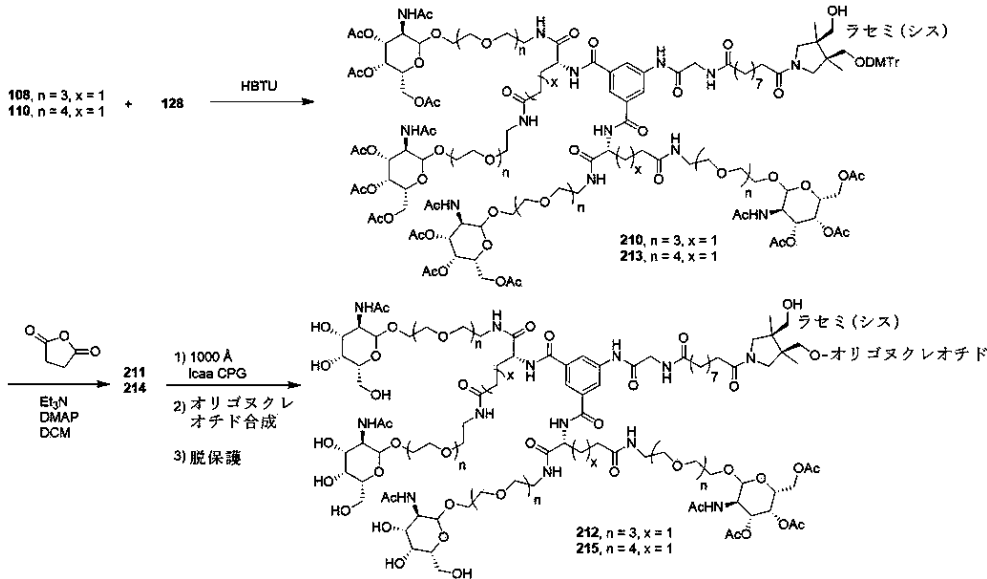
50

【化 2 5 5】



スキーム 4 2。

【化 2 5 6】



【0 4 9 5】

ステップ 1。ジメチル 5 - (2 - ((2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) - イソフタレート (105) の調製

ジメチル 5 - アミノイソフタレート (5 g、24 mmol)、Z - Gly - OH (5 g、24 mmol)、EDC (5 g、26.3 mmol)、HOBT (3.6 g、26.3 mmol)、NMM (2.9 mL、26.3 mmol) の DMF 溶液 (50 mL) を、室温で一晩攪拌した。完了次第、反応混合物を酢酸エチル (250 mL) で希釈し、それぞれ 1 M の HCl (2 × 100 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム (1 × 100 mL)、及びブライン (2 × 100 mL) で洗浄した。硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾燥させて、ジメチル 5 - (2 - ((2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタレートを無色固体として得た (7.2 g、79%)。

【0 4 9 6】

ステップ 2。5 - (2 - ((2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタル酸 (106) の調製

メタノール (25 mL) 及び THF (25 mL) にメチル 5 - (2 - ((2 - オキソ -

2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタレート (7.2 g) を含む溶液に、1 M の NaOH (25 mL) を添加した。この溶液を室温で2時間攪拌し、次いで濃縮させて THF 及び MeOH を除去した。残った水溶液を水 (75 mL) で希釈し、氷水浴で冷却し、6 M の HCl で pH = 1 に酸性化した。この固体を濾過し、水 (3 × 100 mL) で洗浄した。この固体をフリーズドライして、5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) - イソフタル酸を得た (6.9 g、定量的)。

【0497】

ステップ3。化合物107の調製

化合物95に使用したものと同一の手順を使用し、5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタル酸106 (200 mg、0.54 mmol) 及び94 (1.7 g、1.3 mmol) から化合物107を調製した。収量：600 mg。

10

【0498】

ステップ4。化合物108の調製

化合物96に使用したものと同一の手順を使用し、化合物107 (600 mg) から化合物108を調製した。収量：650 mg、定量的。

【0499】

ステップ5。化合物109の調製

化合物99に使用したものと同一の手順を使用し、5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタル酸 (106) (180 mg、0.48 mmol) 及び98 (1.5 g、1.1 mmol) から化合物109を調製した。収量：900 mg。

20

【0500】

ステップ6。化合物110の調製

化合物100に使用したものと同一の手順を使用し、化合物109 (900 mg) から化合物110を調製した。収量：920 mg、定量的。

【0501】

ステップ7。コンジュゲート212及び215の調製

化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物128及び108または110からコンジュゲート212及び215を調製した。

30

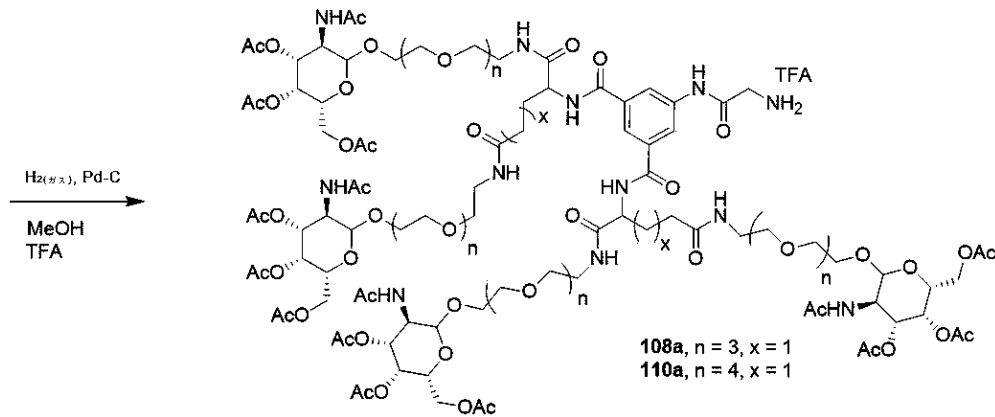
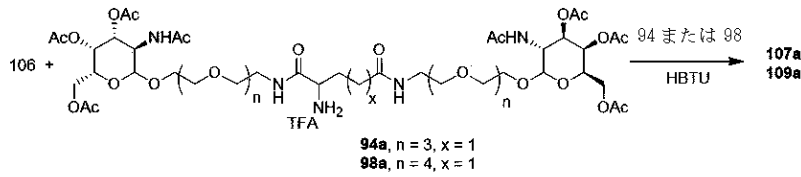
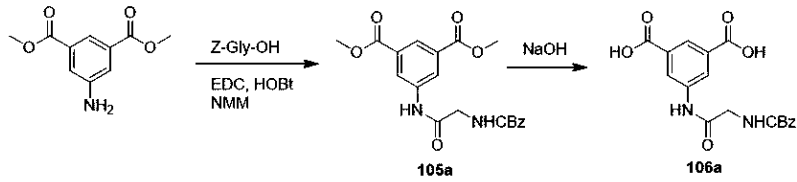
【0502】

実施例19a。コンジュゲート212a及び215aの合成
スキーム41a。

40

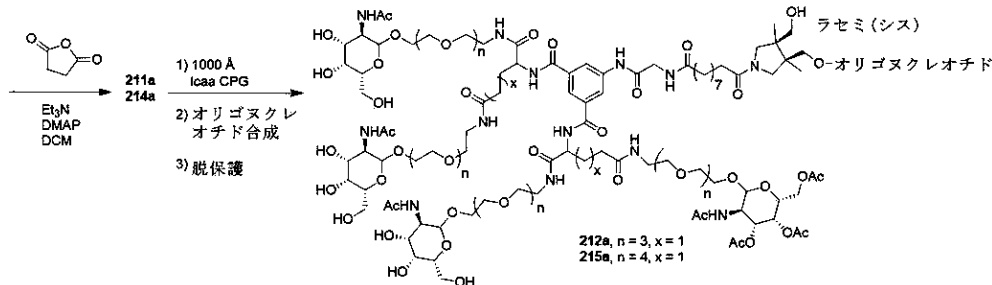
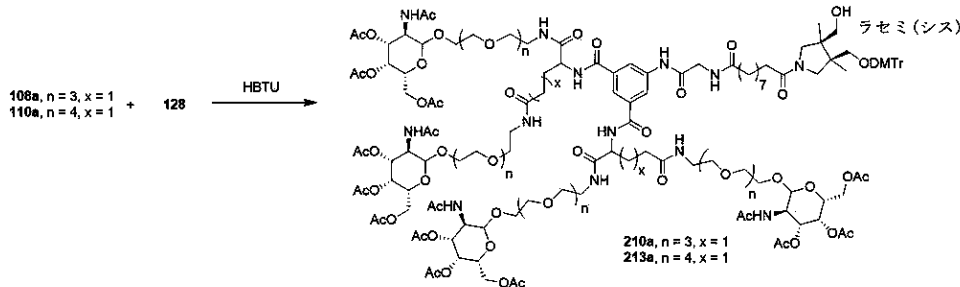
50

【化 2 5 7】



スキーム 4 2 a。

【化 2 5 8】



【0 5 0 3】

ステップ 1. ジメチル 5 - (2 - ((2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) - イソフタレート (1 0 5 a) の調製

ジメチル 5 - アミノイソフタレート (5 g、2.4 mmol)、Z - Gly - OH (5 g、2.4 mmol)、EDC (5 g、26.3 mmol)、HOBt (3.6 g、26.3 mmol)、NMM (2.9 mL、26.3 mmol) の DMF 溶液 (50 mL) を、室温で一晩攪拌した。完了次第、反応混合物を酢酸エチル (250 mL) で希釈し、それぞれ 1 M の HCl (2 × 100 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム (1 × 100 mL)、及び

10

20

30

40

50

ブライン (2 × 100 mL) で洗浄した。硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾燥させて、ジメチル 5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタレート を無色固体として得た (7.2 g、79%)。

【0504】

ステップ 2。5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタル酸 (106a) の調製

メタノール (25 mL) 及び THF (25 mL) にメチル 5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタレート (7.2 g) を含む溶液に、1 M の NaOH (25 mL) を添加した。この溶液を室温で 2 時間攪拌し、次いで濃縮させて THF 及び MeOH を除去した。残った水溶液を水 (75 mL) で希釈し、氷水浴で冷却し、6 M の HCl で pH = 1 に酸性化した。この固体を濾過し、水 (3 × 100 mL) で洗浄した。この固体をフリーズドライして、5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) - イソフタル酸を得た (6.9 g、定量的)。

10

【0505】

ステップ 3。化合物 107a の調製

化合物 95 に使用したものと同一の手順を使用し、5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタル酸 106a (200 mg、0.54 mmol) 及び 94a (1.7 g、1.3 mmol) から化合物 107a を調製した。収量：600 mg。

20

【0506】

ステップ 4。化合物 108a の調製

化合物 96a に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 107a (600 mg) から化合物 108a を調製した。収量：650 mg、定量的。

【0507】

ステップ 5。化合物 109a の調製

化合物 99 に使用したものと同一の手順を使用し、5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタル酸 106a (180 mg、0.48 mmol) 及び 98a (1.5 g、1.1 mmol) から化合物 109a を調製した。収量：900 mg。

30

【0508】

ステップ 6。化合物 110a の調製

化合物 100 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 109 (900 mg) から化合物 110a を調製した。収量：920 mg、定量的。

【0509】

ステップ 7。コンジュゲート 212a 及び 215a の調製

化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 128 及び 108a または 110a からコンジュゲート 212a 及び 215a を調製した。

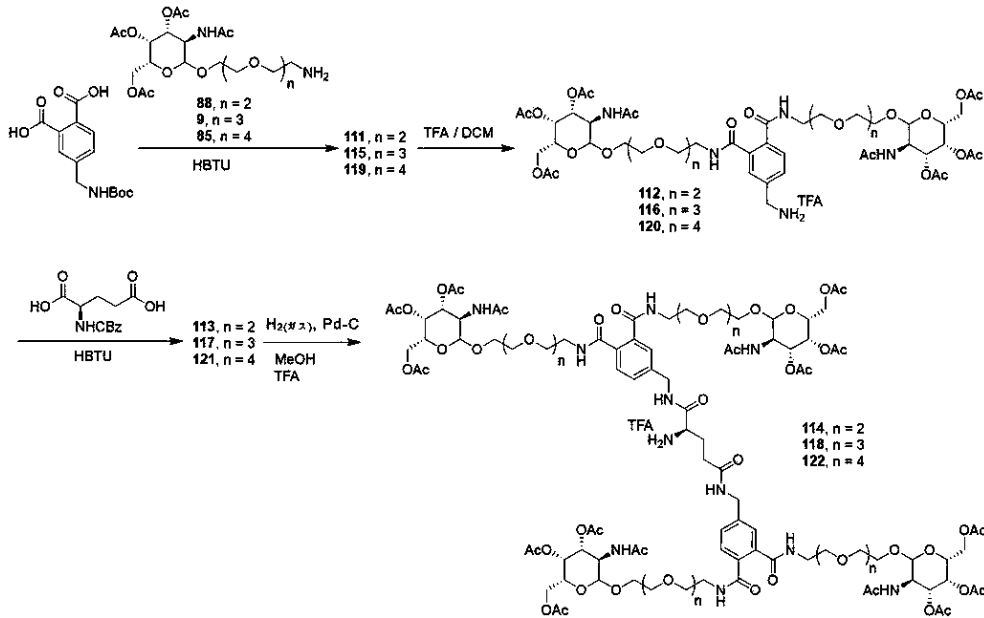
【0510】

実施例 20。コンジュゲート 218 及び 221 の合成

40

スキーム 43。

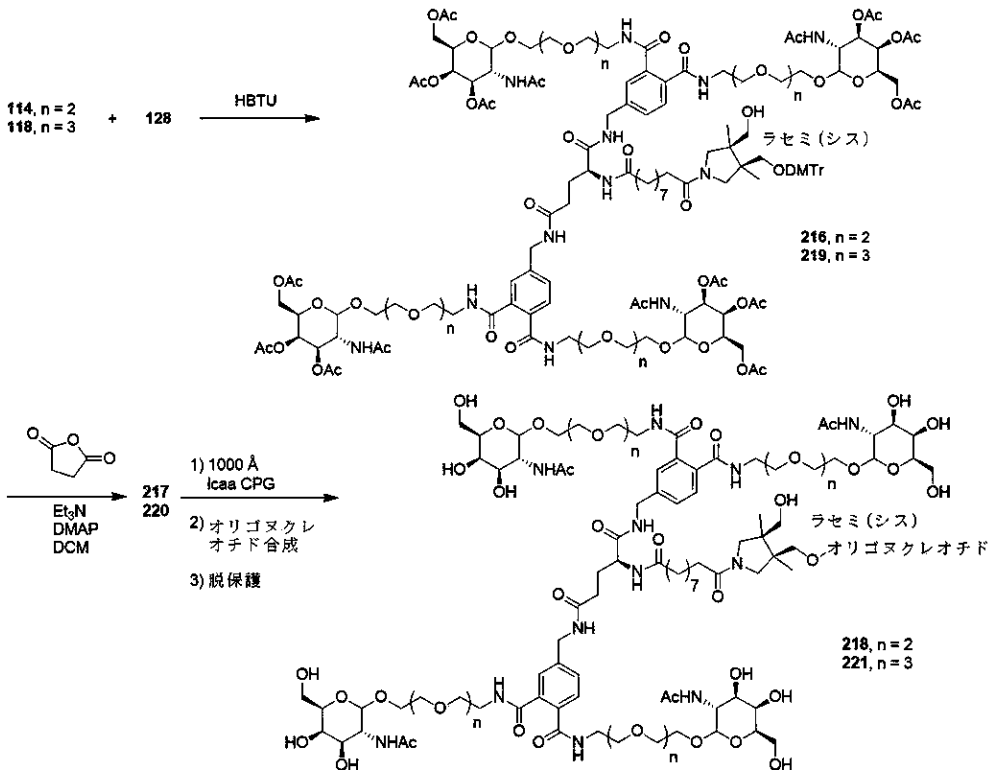
【化259】



10

スキーム 4 4。

【化260】



20

30

40

【0511】

ステップ 1。化合物 111 の調製

化合物 89 に使用したものと同一の手順を使用し、4 - ((tert - ブトキシカルボニル) アミノ) メチル) フタル酸 (1 . 13 g、3 . 84 mmol) 及び 88 (5 g、8 . 44 mmol) から化合物 111 を調製した。収量 : 2 . 21 g、49 %。

【0512】

ステップ 2。化合物 112 の調製

111 (2 . 21 g、1 . 87 mmol) の CH_2Cl_2 溶液 (40 mL) を、TFA (5 mL) でゆっくりと処理した。攪拌 (2 時間) した後、混合物を濃縮させ、クロマト

50

グラフィに供して、112 (1.08 g、47%) を無色泡状物として得た。Rf 0.1 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0513】

ステップ3。化合物113の調製

化合物91に使用したものと同一の手順を使用し、化合物112 (1.08 g、0.88 mmol) 及び (2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) - D - グルタミン酸 (112 mg、0.39 mmol) から化合物113を調製した。収量：600 mg、62%。

【0514】

ステップ4。化合物114の調製

化合物92に使用したものと同一の手順を使用し、化合物113から化合物114を調製した。

10

【0515】

ステップ5。化合物115の調製

化合物93に使用したものと同一の手順を使用し、4 - ((tert - ブトキシカルボニル) アミノ) メチル) フタル酸 (3.94 g、13.3 mmol) 及び9 (18.2 g、29.4 mmol) から化合物115を調製した。収量：9.02 g、53%。

【0516】

ステップ6。化合物116の調製

化合物112に使用したものと同一の手順を使用し、化合物115 (8 g、6.3 mmol) から化合物116を調製した。収量：3.23 g、39%。

20

【0517】

ステップ7。化合物117の調製

化合物95に使用したものと同一の手順を使用し、化合物116 (3.23 g、2.45 mmol) 及び (2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) - D - グルタミン酸 (192 mg、1.1 mmol) から化合物117を調製した。収量：2.22 g、34%。

【0518】

ステップ8。化合物118の調製

化合物96に使用したものと同一の手順を使用し、化合物117 (2.22 g、0.84 mmol) から化合物118を調製した。収量：2.02 g、91%。

30

【0519】

ステップ9。コンジュゲート218及び221の調製

化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物128及び114または118からコンジュゲート218及び221を調製した。

【0520】

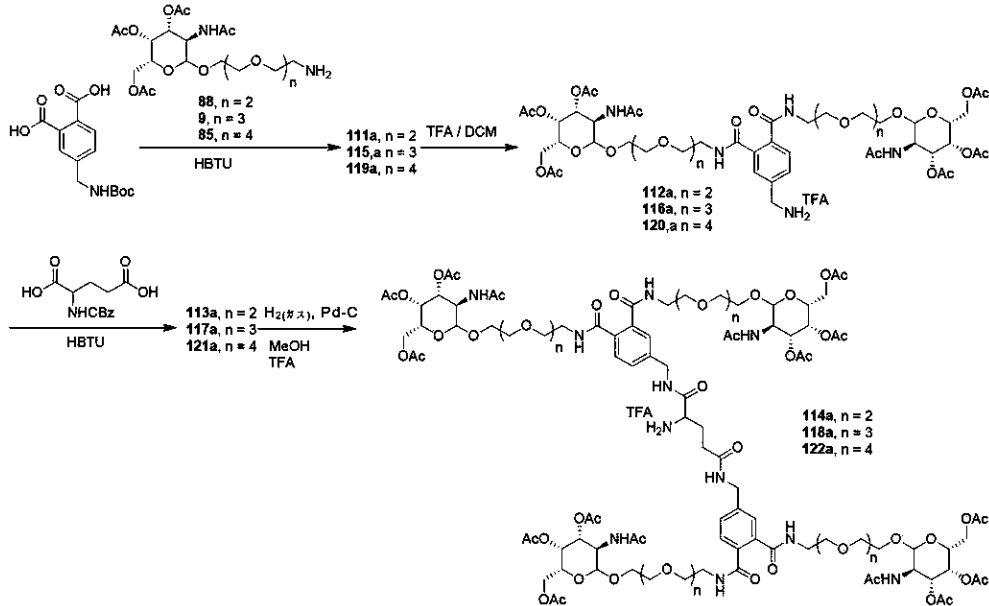
実施例20a。コンジュゲート218a及び221aの合成

スキーム43a。

40

50

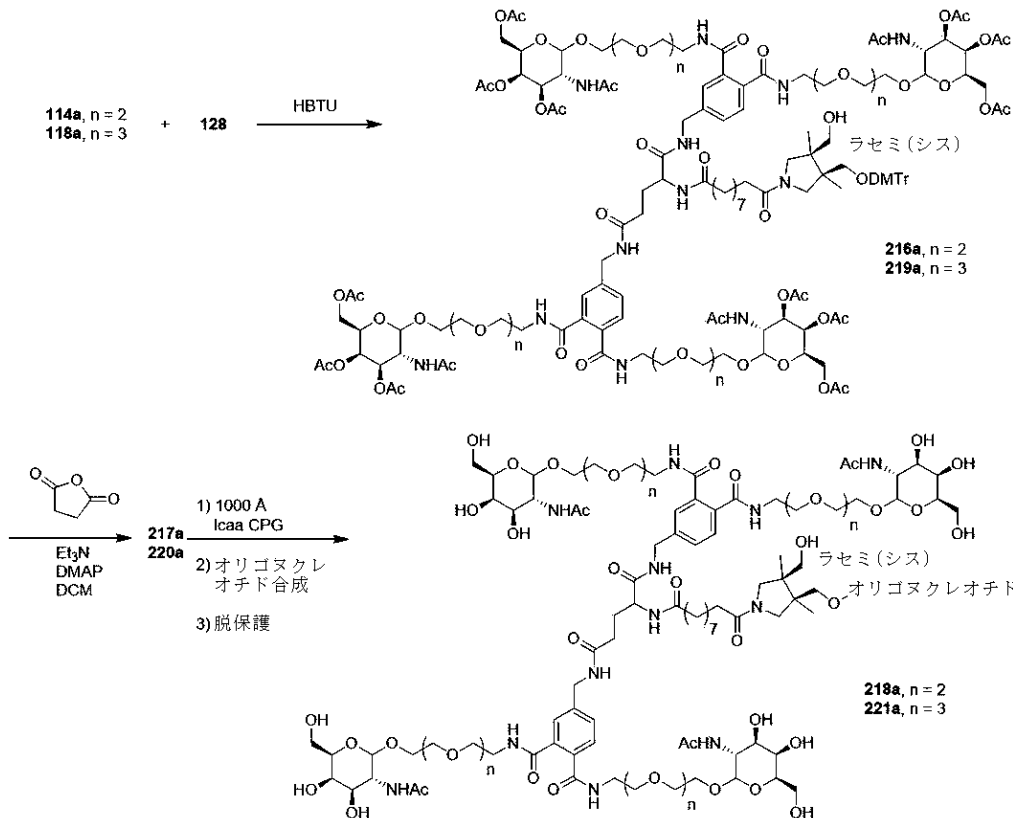
【化 2 6 1】



10

スキーム 4 4 a。

【化 2 6 2】



20

30

40

【0 5 2 1】

ステップ 1。化合物 1 1 1 a の調製

化合物 8 9 に使用したものと同一の手順を使用し、4 - ((tert - ブトキシカルボニル) アミノ) メチル) フタル酸 (1 . 1 3 g 、 3 . 8 4 m m o l) 及び 8 8 (5 g 、 8 . 4 4 m m o l) から化合物 1 1 1 a を調製した。収量 : 2 . 2 1 g 、 4 9 % 。

【0 5 2 2】

ステップ 2。化合物 1 1 2 a の調製

1 1 1 a (2 . 2 1 g 、 1 . 8 7 m m o l) の C H ₂ C l ₂ 溶液 (4 0 m L) を、 T F

50

A (5 mL) でゆっくりと処理した。攪拌 (2 時間) した後、混合物を濃縮させ、クロマトグラフィに供して、112a (1.08 g、47%) を無色泡状物として得た。Rf 0.1 (10% CH₃OH - CH₂Cl₂)。

【0523】

ステップ3。化合物113aの調製

化合物91に使用したものと同一の手順を使用し、化合物112a (1.08 g、0.88 mmol) 及び (2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)-D-グルタミン酸 (112 mg、0.39 mmol) から化合物113aを調製した。収量: 600 mg、62%。

【0524】

ステップ4。化合物114aの調製

化合物92に使用したものと同一の手順を使用し、化合物113aから化合物114aを調製した。

【0525】

ステップ5。化合物115aの調製

化合物93に使用したものと同一の手順を使用し、4-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)メチル)フタル酸 (3.94 g、13.3 mmol) 及び9 (18.2 g、29.4 mmol) から化合物115aを調製した。収量: 9.02 g、53%。

【0526】

ステップ6。化合物116aの調製

化合物11aに使用したものと同一の手順を使用し、化合物115a (8 g、6.3 mmol) から化合物116aを調製した。収量: 3.23 g、39%。

【0527】

ステップ7。化合物117aの調製

化合物95に使用したものと同一の手順を使用し、化合物116a (3.23 g、2.45 mmol) 及び (2-オキソ-2-フェニル-1²-エチル)グルタミン酸 (192 mg、1.1 mmol) から化合物117aを調製した。収量: 2.22 g、34%。

【0528】

ステップ8。化合物118aの調製

化合物96に使用したものと同一の手順を使用し、化合物117a (2.22 g、0.84 mmol) から化合物118aを調製した。収量: 2.02 g、91%。

【0529】

ステップ9。コンジュゲート218a及び221aの調製

化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物128及び114aまたは118aからコンジュゲート218a及び221aを調製した。

【0530】

実施例21。コンジュゲート224の合成

スキーム45。

10

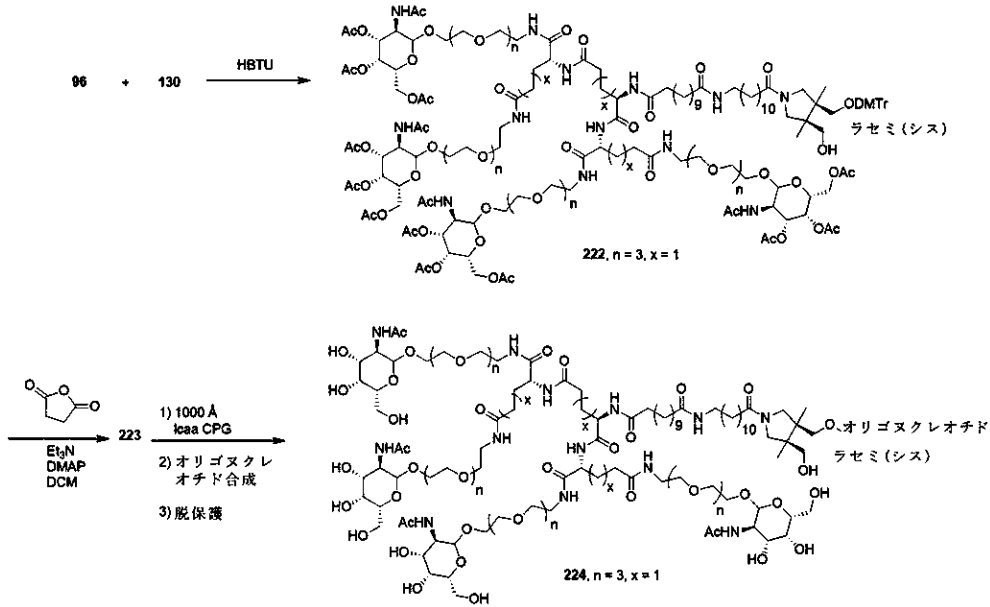
20

30

40

50

【化 2 6 3】



10

【0 5 3 1】

ステップ 1。化合物 2 2 4 の調製

化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 9 6 及び 1 3 0 からコンジュゲート 2 2 4 を調製した。

20

【0 5 3 2】

実施例 2 1 a。コンジュゲート 2 2 4 b の合成

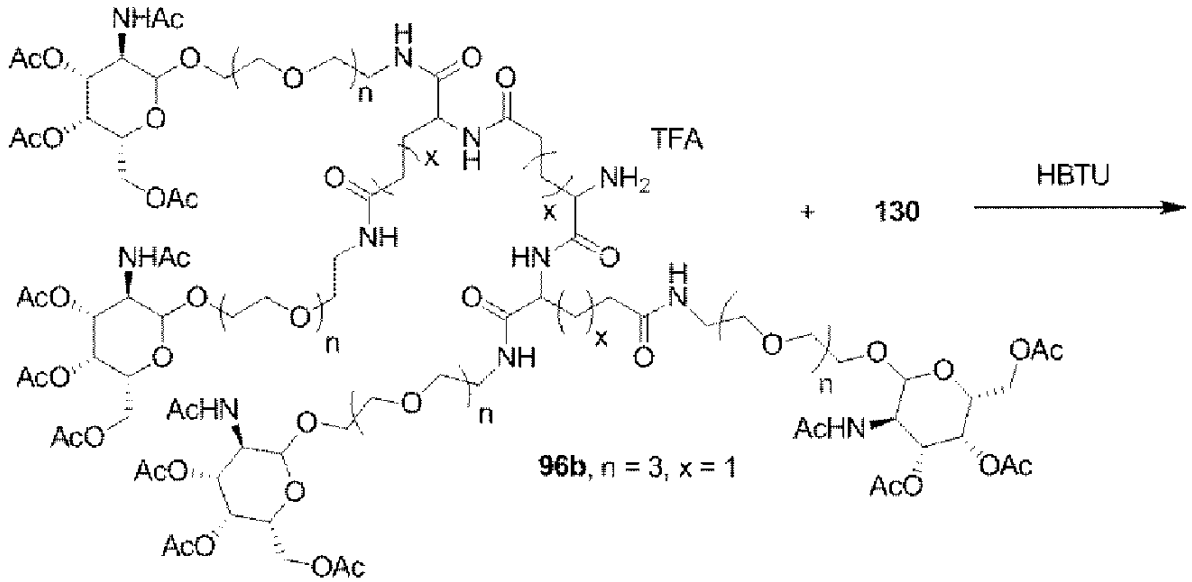
スキーム 4 5 a。

30

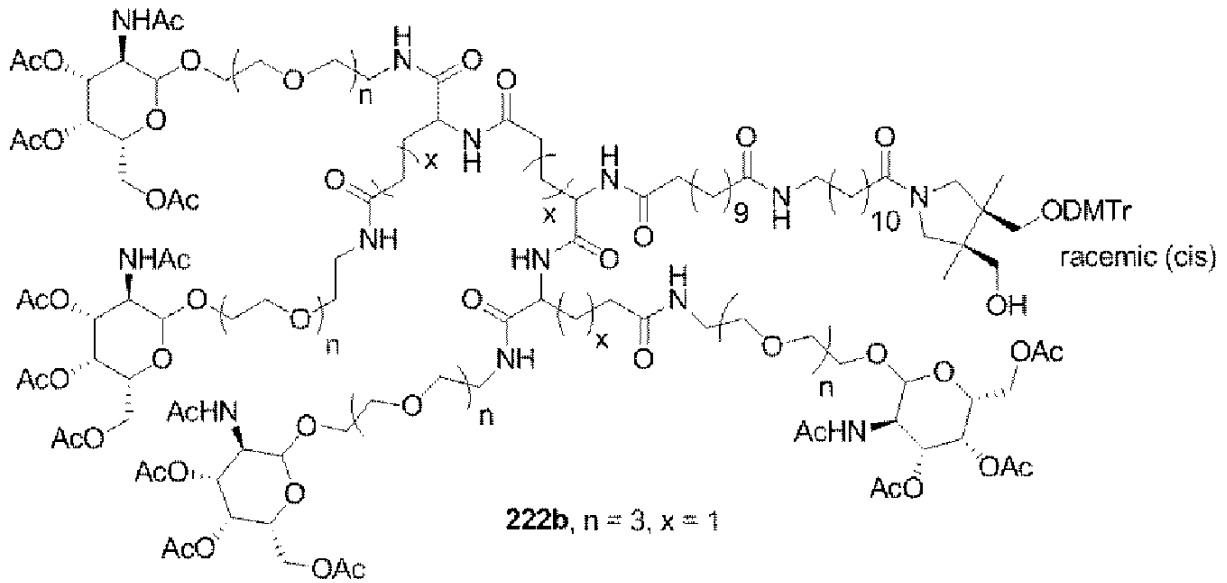
40

50

【化 2 6 4】



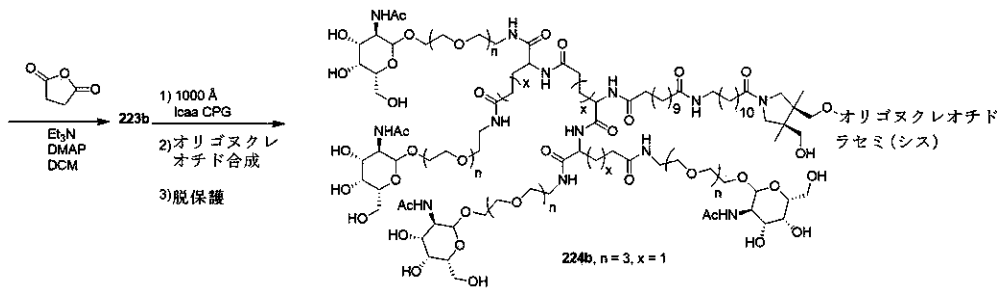
10



20

30

【化 2 6 5】



40

【0 5 3 3】

ステップ 1。化合物 2 2 4 b の調製

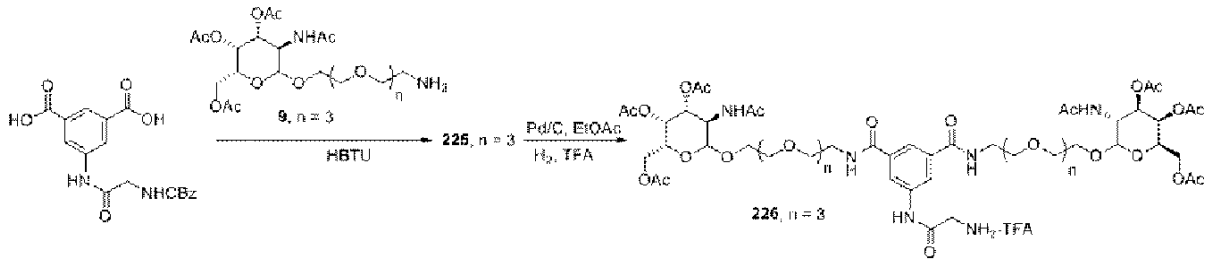
化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、化合物 9 6 b 及び 1 3 0 からコンジュゲート 2 2 4 b を調製した。

【0 5 3 4】

実施例 2 2 コンジュゲート 2 3 1 の合成

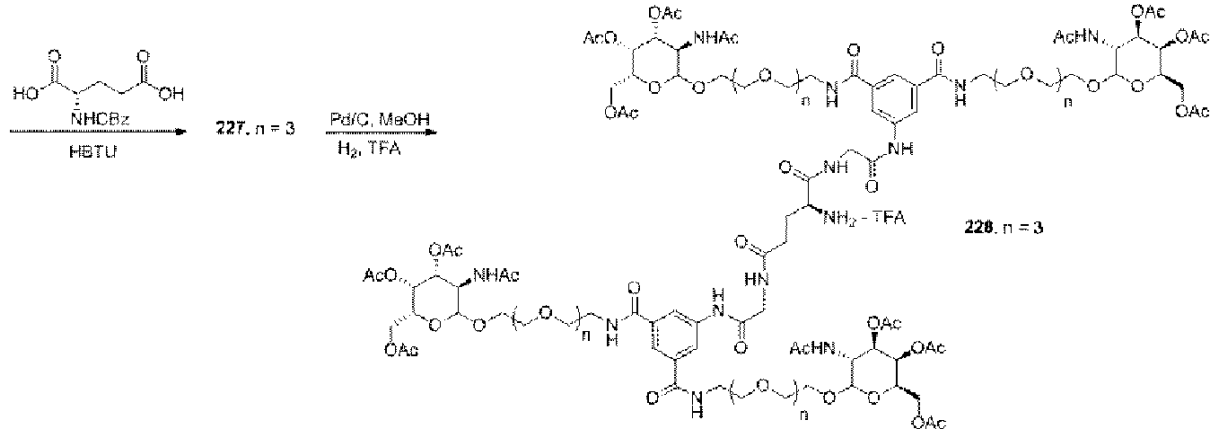
50

スキーム 4 6
【化 2 6 6】



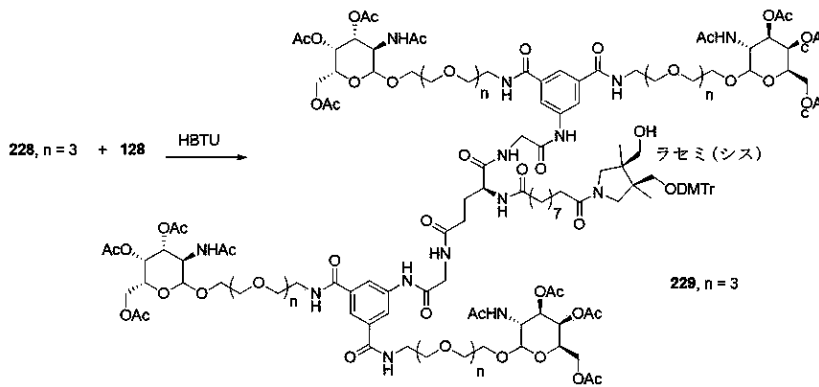
10

【化 2 6 7】



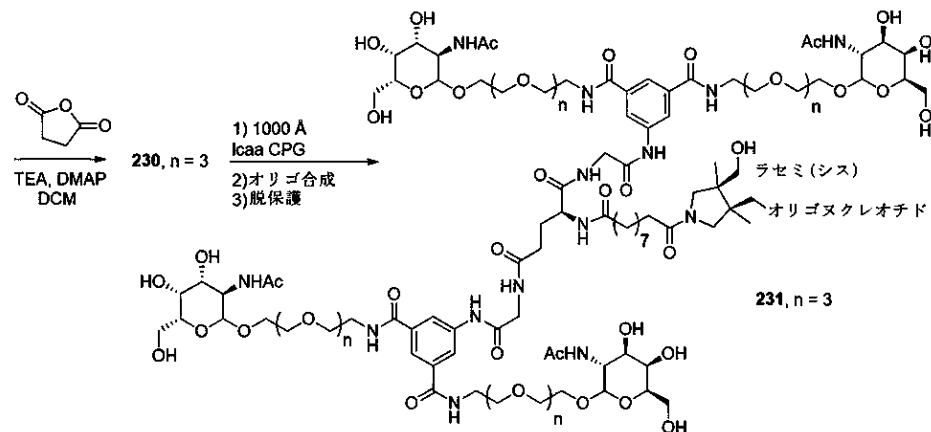
20

スキーム 4 7
【化 2 6 8】



30

【化 2 6 9】



40

50

【0535】

ステップ1 化合物225の調製

89に使用したものと同一の手順を使用し、5-(2-アミノアセトアミド)イソフタル酸(106)(560mg、1.5mmol)及び9(2.24g、3.6mmol)から化合物225を調製した。収量1.6g、80%。

【0536】

ステップ2 化合物226の調製

14と同じ様式で化合物226を調製した。収量1.22g、78%。

【0537】

ステップ3 化合物227の調製

Z-グルタミン酸(108mg、0.38mmol)及び226(1.22g、0.92mmol)から、89と同じ様式で化合物227を調製した。収量471mg、45%。

【0538】

ステップ4 化合物228の調製

14と同じ様式で化合物228を調製した。収量460mg、定量的。

【0539】

ステップ5 化合物229の調製

89と同じ様式で、228(460mg、0.17mmol)及び128(125mg、0.19mmol)から化合物229を調製した。収量365mg、66%。

【0540】

ステップ6 化合物231の調製

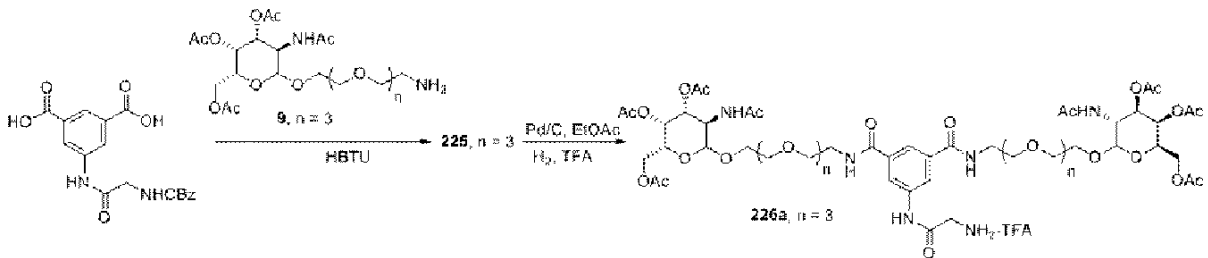
化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、コンジュゲート231を調製した。

【0541】

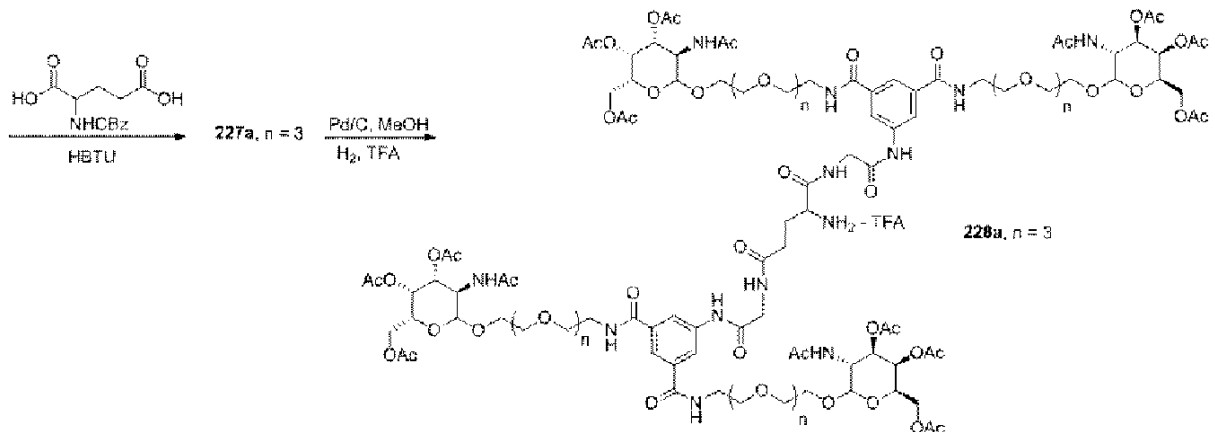
実施例22a コンジュゲート231aの合成

スキーム46a

【化270】



【化271】



スキーム47a

10

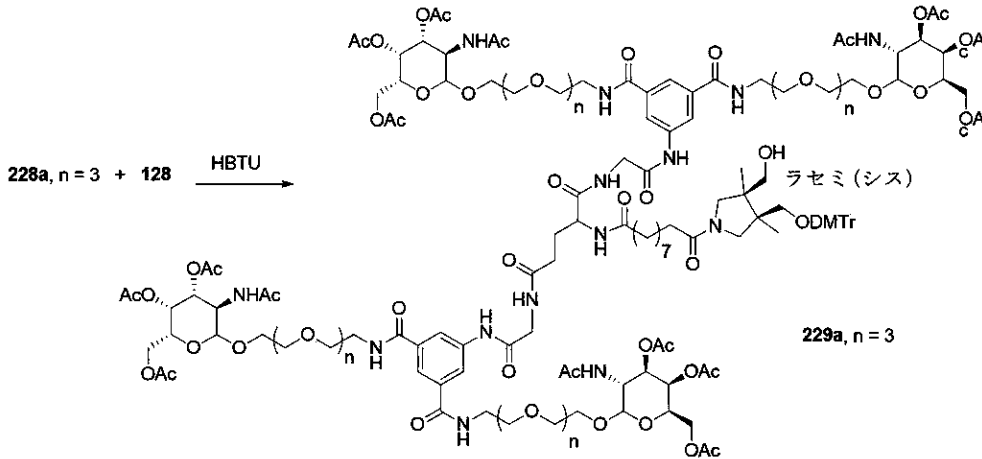
20

30

40

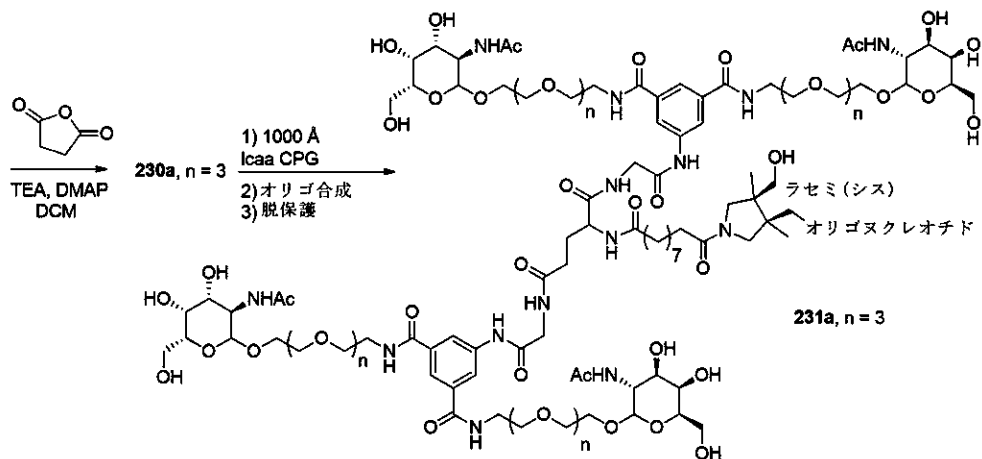
50

【化 2 7 2】



10

【化 2 7 3】



20

【0 5 4 2】

ステップ 1 化合物 2 2 5 a の調製

8 9 に使用したものと同一の手順を使用し、5 - (2 - アミノアセトアミド) イソフタル酸 (1 0 6) (5 6 0 m g、1 . 5 m m o l) 及び 9 (2 . 2 4 g、3 . 6 m m o l) から化合物 2 2 5 a を調製した。収量 1 . 6 g、8 0 %。

30

【0 5 4 3】

ステップ 2 化合物 2 2 6 a の調製

1 4 と同じ様式で化合物 2 2 6 a を調製した。収量 1 . 2 2 g、7 8 %。

【0 5 4 4】

ステップ 3 化合物 2 2 7 a の調製

Z - グルタミン酸 (1 0 8 m g、0 . 3 8 m m o l) 及び 2 2 6 a (1 . 2 2 g、0 . 9 2 m m o l) から、8 9 と同じ様式で化合物 2 2 7 a を調製した。収量 4 7 1 m g、4 5 %。

40

【0 5 4 5】

ステップ 4 化合物 2 2 8 a の調製

1 4 と同じ様式で化合物 2 2 8 a を調製した。収量 4 6 0 m g、定量的。

【0 5 4 6】

ステップ 5 化合物 2 2 9 a の調製

8 9 と同じ様式で、2 2 8 a (4 6 0 m g、0 . 1 7 m m o l) 及び 1 2 8 (1 2 5 m g、0 . 1 9 m m o l) から化合物 2 2 9 a を調製した。収量 3 6 5 m g、6 6 %。

【0 5 4 7】

ステップ 6 化合物 2 3 1 a の調製

50

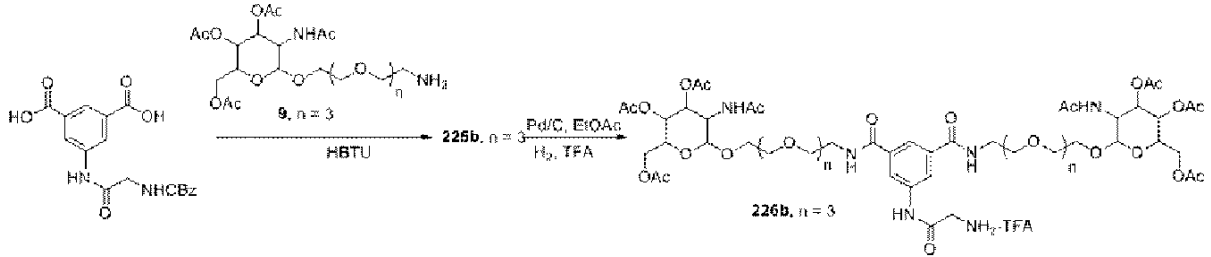
化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、コンジュゲート 2 3 1 a を調製した。

【 0 5 4 8 】

実施例 2 2 b コンジュゲート 2 3 1 b の合成

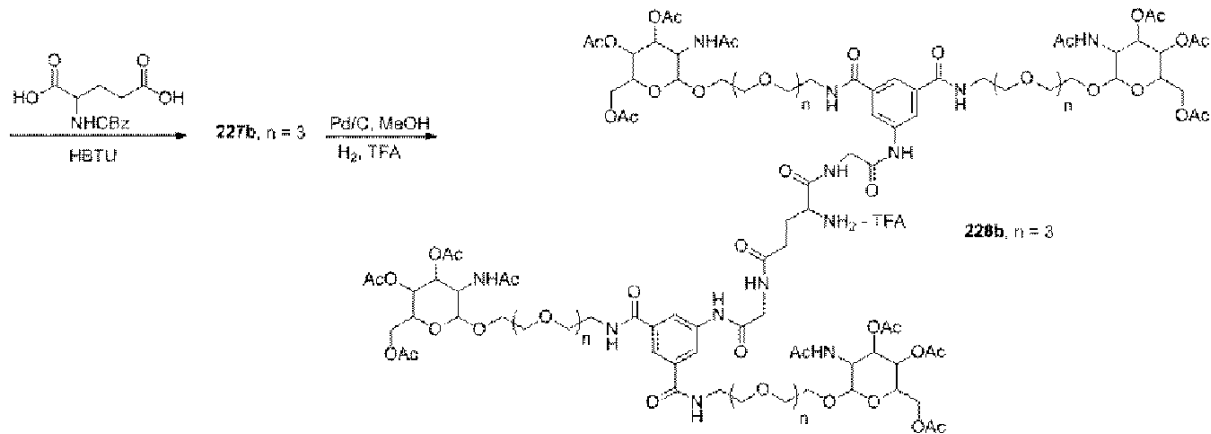
スキーム 4 6 b

【化 2 7 4】



10

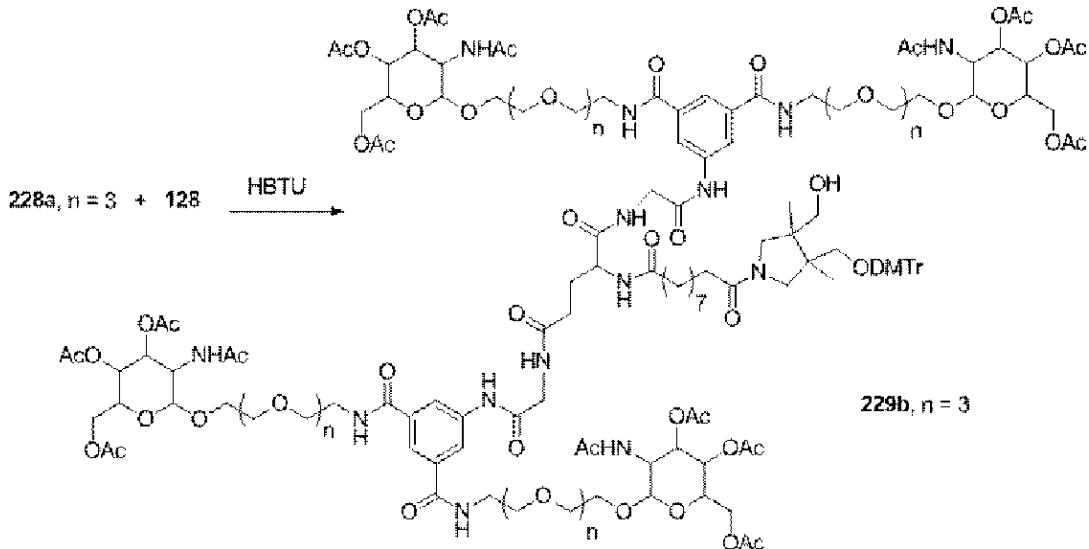
【化 2 7 5】



20

スキーム 4 7 b

【化 2 7 6】

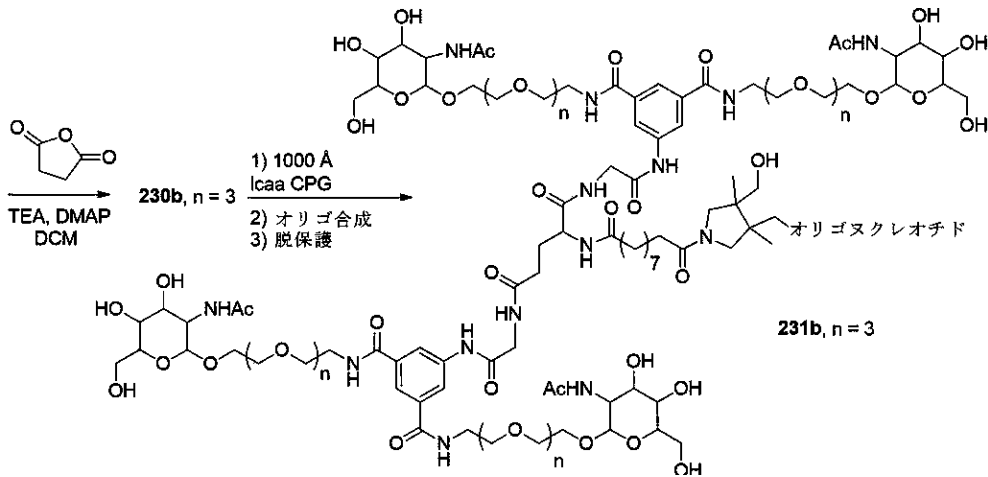


30

40

50

【化 2 7 7】



10

【0 5 4 9】

ステップ 1 化合物 2 2 5 b の調製

8 9 に使用したものと同一の手順を使用し、5 - (2 - アミノアセトアミド) イソフタル酸 (1 0 6) (5 6 0 m g 、 1 . 5 m m o l) 及び 9 (2 . 2 4 g 、 3 . 6 m m o l) から化合物 2 2 5 b を調製した。収量 1 . 6 g 、 8 0 % 。

【0 5 5 0】

ステップ 2 化合物 2 2 6 b の調製

1 4 と同じ様式で化合物 2 2 6 b を調製した。収量 1 . 2 2 g 、 7 8 % 。

【0 5 5 1】

ステップ 3 化合物 2 2 7 b の調製

Z - グルタミン酸 (1 0 8 m g 、 0 . 3 8 m m o l) 及び 2 2 6 b (1 . 2 2 g 、 0 . 9 2 m m o l) から、8 9 と同じ様式で化合物 2 2 7 b を調製した。収量 4 7 1 m g 、 4 5 % 。

【0 5 5 2】

ステップ 4 化合物 2 2 8 b の調製

1 4 と同じ様式で化合物 2 2 8 b を調製した。収量 4 6 0 m g 、 定量的。

【0 5 5 3】

ステップ 5 化合物 2 2 9 b の調製

8 9 と同じ様式で、2 2 8 b (4 6 0 m g 、 0 . 1 7 m m o l) 及び 1 2 8 (1 2 5 m g 、 0 . 1 9 m m o l) から化合物 2 2 9 b を調製した。収量 3 6 5 m g 、 6 6 % 。

【0 5 5 4】

ステップ 6 化合物 2 3 1 b の調製

化合物 1 に使用したものと同一の手順を使用し、コンジュゲート 2 3 1 b を調製した。

【0 5 5 5】

実施例 2 3 。コンジュゲート 2 3 3 の合成

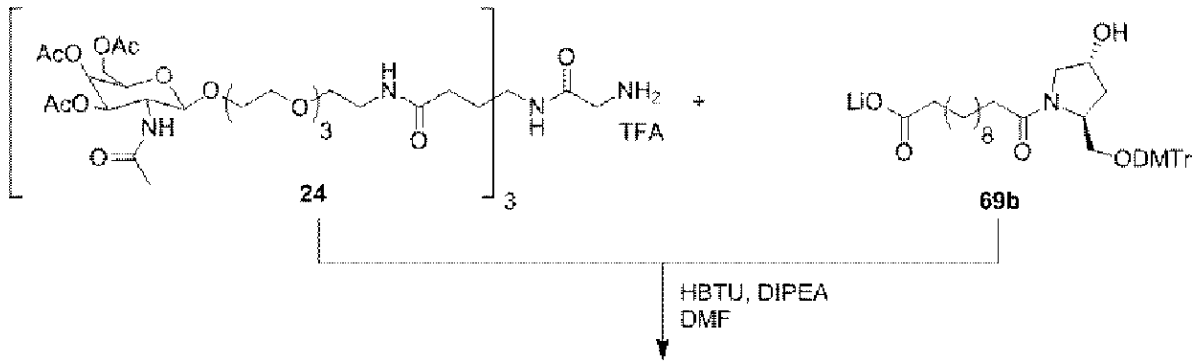
スキーム 4 8

30

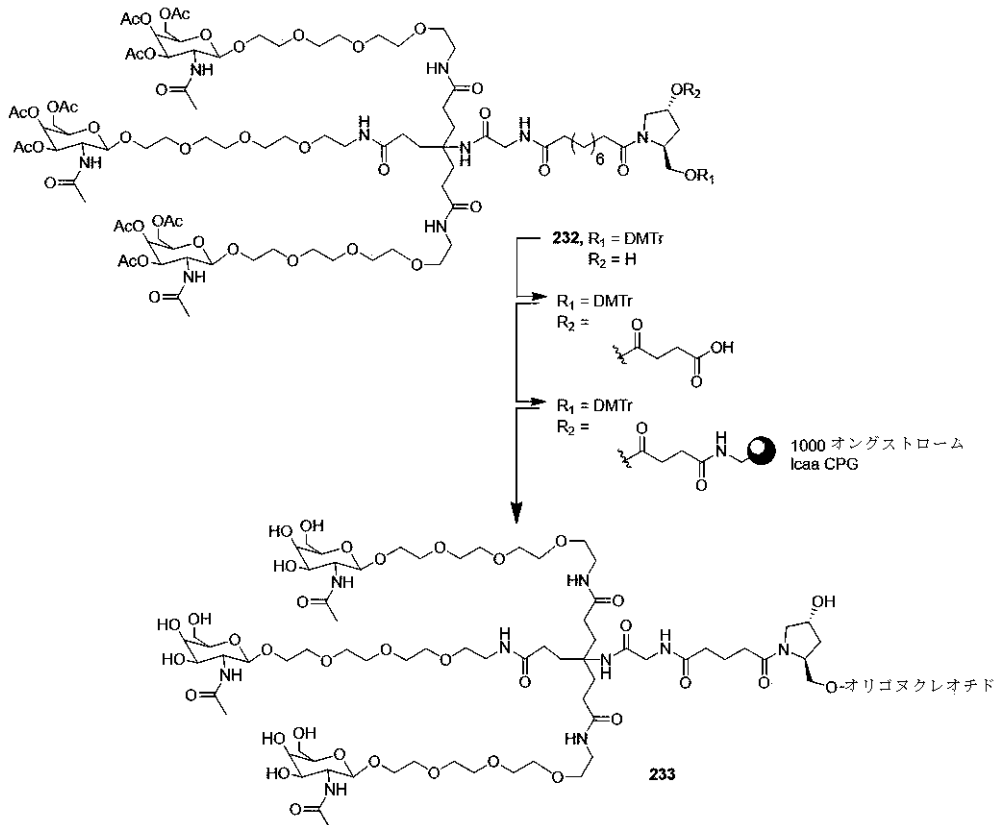
40

50

【化278】



【化279】



【0556】

ステップ1。化合物232の調製

化合物19に使用したものと同一の手順を使用し、化合物24 (650 mg、0.33 mmol) 及び化合物69b (175 mg、0.33 mmol) から化合物232を調製した。収量：380 mg、47%。

40

【0557】

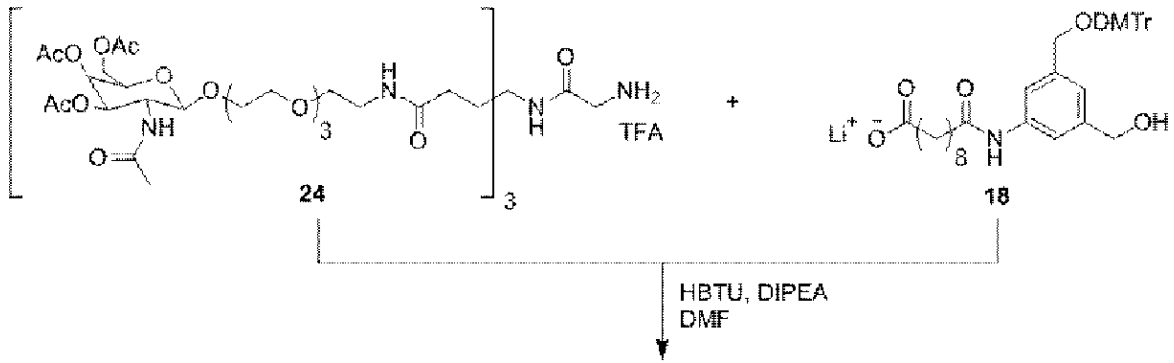
ステップ2。化合物233の調製

化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物232から化合物233を調製した。

【0558】

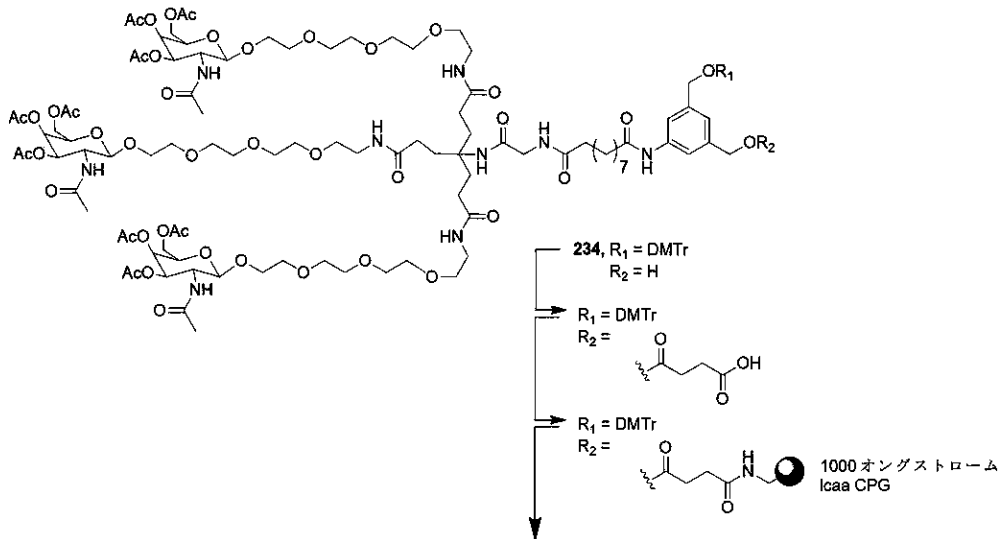
実施例24。コンジュゲート235の合成
スキーム49

【化280】



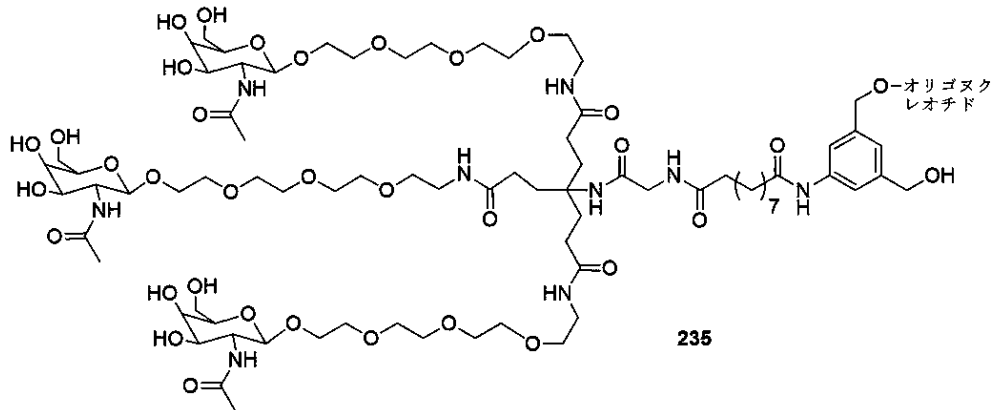
10

【化281】



20

【化282】



30

【0559】

ステップ1。化合物234の調製

化合物19に使用したものと同一の手順を使用し、化合物24 (1.1 g、0.55 mmol) 及び化合物18 (175 mg、0.33 mmol) から化合物234を調製した。収量：685 mg、51%。

【0560】

ステップ2。化合物235の調製

化合物1に使用したものと同一の手順を使用し、化合物234から化合物235を調製した。

【0561】

50

実施例 25。HBV siRNAコンジュゲートのインビボ試験

慢性HBV感染は、肝臓への進行性の損傷を伴う世界的な疾患である。現在利用可能な処置は、ウイルスDNAを低減させ得るが、疾患進行の大きな一因となるウイルス抗原に対してはほとんど影響を及ぼしていない。したがって、ウイルス抗原を低減させるためにHBVを標的とするsiRNAを設計した。

【0562】

GalNAcリガンドにコンジュゲートされた、表1に記載の化学修飾されたHBV siRNAを、HBV感染の確立されたマウスモデルにおいて、インビボ活性について試験した。AAV-HBV1.2 C57BL/6マウスモデルにおいて、HBVのゲノム長を超える配列をコードするアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを注射した後、安定した持続的なHBV発現が達成され、HBV RNA及びタンパク質の肝臓における発現、ならびにウイルス粒子及びサブウイルス粒子の血中への分泌がもたらされる。

10

【0563】

これらの研究に使用したAAV-HBV1.2構築物は、Dion, S., et al., Journal of Virology, 2013, 87(10): 5554-5563において提供される詳細に基づくものであった。動物関連の手技は全て、Canadian Council on Animal Care (CCAC) Guidelines on Good Animal Practicesに従う作業手順書に従って実施し、現地のInstitutional Animal Care and Use Committee (IACUC)によって認可された。

20

【0564】

各動物に、1E11ベクターゲノム(VG)のAAV-HBV1.2ベクターを接種した。処置前に、全ての動物の試験採血を行ない、確立されたHBV発現を確認するため、個々の動物の血清HBsAgレベルを判定した。

【0565】

siRNA処置：マウス群(典型的にはn=5)に、単回3mg/kg用量のHBV siRNAコンジュゲートを、0日目に1回(動物1匹当たり1用量)、肩甲部への皮下注射によって投与した。ピヒクルのみ(食塩水)を投与した1つの動物群を対照とした。

【0566】

収集：0日目、処置前、及び試験品投与後の所定の時点(例えば試験7日目、14日目、21日目、28日目、35日目、42日目、49日目、56日目、63日目、及び70日目)に、全マウスの試験採血を行なって、血清HBsAgレベルの最大低下率及び薬理活性の持続時間を判定した。

30

【0567】

分析：Biorad EIA GS HBsAg 3.0キット(BioRad、カタログ番号32591)を製造元の説明に従って使用し、血清試料中のHBsAgレベルを判定した。各処置群からプールされた血清を使用して、個々の時点における群平均HBsAgレベルを判定した。データを分析し、処置前ベースラインに対するHBsAgレベル(0日目に対する%)として表した。

【0568】

40

結果：表1に記載の化学修飾されたHBV siRNAのそれぞれを試験した結果を、表2に提示する。値は、処置後7日目、14日目、21日目、28日目、42日目、49日目、56日目、及び70日目におけるHBsAgレベルの(0日目ベースラインに対する)パーセント(%)を表す。

【表 1 - 1】

表 1。化学修飾されたHBV siRNA二重鎖

siRNA 番号	センス鎖 配列番号	センス鎖 5' - 3'	アンチセンス鎖 配列番号	アンチセンス鎖 5' - 3'
1	配列番号 1	csgsugugCaCUUcgcuucaccu	配列番号 2	asGsgugAaGCgaagUgCacacgsgsUU
2	配列番号 3	usgsCaCUUcgcuucaccu	配列番号 4	asGsgugAaGCgaagUgCacacscgU
3	配列番号 5	usgscaCUUcgcuucaccu	配列番号 6	asGsgugaagcgaagUgCacacscgU
4	配列番号 7	usgscaCUUCgcuucaccu	配列番号 8	asGsgugAagcgaagUgCacacscgU
5	配列番号 9	CsCsGuGuGcACUucGcuuCacc	配列番号 10	gsGsUgAaGcgAaguGcAcAcGgsusc
6	配列番号 11	cscsguguGcACUucgcuucacc	配列番号 12	gsGsugaAgCGaaguGcAcacggsusc
7	配列番号 13	cscsguGuGcAcUucgcuucacc	配列番号 14	gsGsugaAgCGaaguGcAcacggsusc
8	配列番号 15	cscsguguGcACUucgcuuCacc	配列番号 16	gsGsugaAgCgaaguGcAcacGgsusc
9	配列番号 17	cscsgugugcACUucgcuucacc	配列番号 18	gsGsugaagcgaaguGcAcacggsusc

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

siRNA 番号	センス鎖 配列番号	センス鎖 5' - 3'	アンチセンス鎖 配列番号	アンチセンス鎖 5' - 3'
10	配列番号 1 9	cscsguguGc <u>c</u> ac <u>u</u> cg <u>u</u> uc <u>a</u> cc	配列番号 2 0	gs <u>g</u> s <u>u</u> ga <u>A</u> g <u>C</u> G <u>a</u> ag <u>u</u> gcacacggsusc
11	配列番号 2 1	<u>C</u> scs <u>G</u> u <u>G</u> u <u>G</u> c <u>A</u> C <u>U</u> uc <u>G</u> cuu <u>C</u> acc	配列番号 2 2	gs <u>G</u> s <u>U</u> g <u>A</u> a <u>G</u> c <u>G</u> a <u>g</u> u <u>G</u> c <u>A</u> c <u>A</u> c <u>G</u> suscUU
12	配列番号 2 3	cscsguguGc <u>A</u> C <u>U</u> ucgcuucacc	配列番号 2 4	gs <u>G</u> s <u>u</u> ga <u>A</u> g <u>C</u> G <u>a</u> ag <u>u</u> Gc <u>A</u> cacggsuscUU
13	配列番号 2 5	cscsgu <u>G</u> u <u>G</u> c <u>A</u> c <u>U</u> ucgcuucacc	配列番号 2 6	gs <u>G</u> s <u>u</u> ga <u>A</u> g <u>C</u> G <u>a</u> ag <u>u</u> Gc <u>A</u> cacggsuscUU
14	配列番号 2 7	cscsguguGc <u>A</u> C <u>U</u> ucgcuu <u>C</u> acc	配列番号 2 8	gs <u>G</u> s <u>u</u> ga <u>A</u> g <u>C</u> <u>G</u> aag <u>u</u> Gc <u>A</u> cac <u>G</u> suscUU
15	配列番号 2 9	<u>G</u> sus <u>G</u> c <u>A</u> C <u>U</u> uc <u>G</u> cuu <u>C</u> acc	配列番号 3 0	gs <u>G</u> s <u>U</u> g <u>A</u> a <u>G</u> c <u>G</u> a <u>g</u> u <u>G</u> c <u>A</u> c <u>A</u> c <u>G</u> sgU
16	配列番号 3 1	<u>G</u> sus <u>G</u> c <u>A</u> C <u>U</u> uc <u>G</u> cuu <u>C</u> acc	配列番号 3 2	gs <u>G</u> s <u>U</u> g <u>A</u> a <u>G</u> c <u>G</u> a <u>g</u> u <u>G</u> c <u>A</u> c <u>A</u> c <u>G</u> sg
17	配列番号 3 3	<u>G</u> sus <u>G</u> c <u>A</u> C <u>U</u> uc <u>G</u> cuu <u>C</u> acc	配列番号 3 4	gs <u>G</u> s <u>U</u> g <u>A</u> a <u>G</u> c <u>G</u> a <u>g</u> u <u>G</u> c <u>A</u> c <u>A</u> s <u>c</u> s <u>G</u> sg
18	配列番号 3 5	<u>C</u> scs <u>G</u> u <u>G</u> u <u>G</u> c <u>A</u> C <u>U</u> uc <u>G</u> cuu <u>C</u> aca	配列番号 3 6	us <u>G</u> s <u>U</u> g <u>A</u> a <u>G</u> c <u>G</u> a <u>g</u> u <u>G</u> c <u>A</u> c <u>A</u> c <u>G</u> susc
19	配列番号 3 7	<u>C</u> scs <u>G</u> u <u>G</u> u <u>G</u> c <u>A</u> C <u>U</u> uc <u>G</u> cuu <u>C</u> aca	配列番号 3 8	us <u>G</u> s <u>U</u> g <u>A</u> a <u>G</u> c <u>G</u> a <u>g</u> u <u>G</u> c <u>A</u> c <u>A</u> c <u>G</u> suscUU
20	配列番号 3 9	cscsguguGc <u>A</u> C <u>U</u> ucgcuucaca	配列番号 4 0	us <u>G</u> s <u>u</u> ga <u>A</u> g <u>C</u> G <u>a</u> ag <u>u</u> Gc <u>A</u> cacggsuscUU
21	配列番号 4 1	cscsgu <u>G</u> u <u>G</u> c <u>A</u> c <u>U</u> ucgcuucaca	配列番号 4 2	us <u>G</u> s <u>u</u> ga <u>A</u> g <u>C</u> G <u>a</u> ag <u>u</u> Gc <u>A</u> cacggsuscUU
22	配列番号 4 3	cscsguguGc <u>A</u> C <u>U</u> ucgcuu <u>C</u> aca	配列番号 4 4	us <u>G</u> s <u>u</u> ga <u>A</u> g <u>C</u> <u>G</u> aag <u>u</u> Gc <u>A</u> cac <u>G</u> suscUU
23	配列番号 4 5	cscsgugugc <u>A</u> C <u>U</u> ucgcuucaca	配列番号 4 6	us <u>G</u> s <u>u</u> gaagc <u>a</u> ag <u>u</u> Gc <u>A</u> cacggsuscUU
24	配列番号 4 7	gsus <u>G</u> c <u>A</u> C <u>U</u> ucgcuucaca	配列番号 4 8	us <u>G</u> s <u>u</u> ga <u>A</u> g <u>C</u> G <u>a</u> ag <u>u</u> Gc <u>A</u> cacgsgU
25	配列番号 4 9	gsusgc <u>A</u> C <u>U</u> ucgcuucaca	配列番号 5 0	us <u>G</u> s <u>u</u> gaagc <u>a</u> ag <u>u</u> Gc <u>A</u> cacgsgU
26	配列番号 5 1	gsus <u>G</u> ca <u>C</u> <u>U</u> ucgcuucaca	配列番号 5 2	us <u>G</u> s <u>u</u> gaagc <u>a</u> ag <u>u</u> Gc <u>A</u> cacgsgU
27	配列番号 5 3	<u>G</u> sus <u>G</u> c <u>A</u> C <u>U</u> uc <u>G</u> cuu <u>C</u> aca	配列番号 5 4	us <u>G</u> s <u>U</u> g <u>A</u> a <u>G</u> c <u>G</u> a <u>g</u> u <u>G</u> c <u>A</u> c <u>A</u> c <u>G</u> sg
28	配列番号 5 5	uscsgcuuCa <u>C</u> <u>U</u> ucgacgucg	配列番号 5 6	cs <u>G</u> sacg <u>U</u> g <u>C</u> Agag <u>U</u> gAagcgasagUU
29	配列番号 5 7	uscsgcuuCa <u>C</u> <u>U</u> ucgacguc <u>a</u>	配列番号 5 8	us <u>G</u> sacg <u>U</u> g <u>C</u> Agag <u>U</u> gAagcgasagUU
30	配列番号 5 9	uscsgc <u>U</u> uCa <u>C</u> <u>U</u> ucgacguc <u>a</u>	配列番号 6 0	us <u>G</u> sacg <u>U</u> g <u>C</u> Agag <u>U</u> gAagcgasagUU
31	配列番号 6 1	ususCa <u>C</u> <u>U</u> ucgacguc <u>a</u>	配列番号 6 2	us <u>G</u> sacg <u>U</u> g <u>C</u> Agag <u>U</u> gAagcgsaU
32	配列番号 6 3	ususca <u>C</u> <u>U</u> ucgacguc <u>a</u>	配列番号 6 4	us <u>G</u> sacgucagag <u>U</u> gAagcgsaU
33	配列番号 6 5	ususCa <u>C</u> <u>U</u> ucgacguc <u>a</u>	配列番号 6 6	us <u>G</u> sacg <u>U</u> g <u>C</u> agag <u>U</u> gAagcgsaU
34	配列番号 6 7	ususua <u>C</u> u <u>A</u> g <u>U</u> G <u>C</u> ca <u>U</u> uuguu <u>a</u>	配列番号 6 8	us <u>G</u> s <u>A</u> a <u>C</u> a <u>A</u> au <u>G</u> gca <u>C</u> u <u>A</u> g <u>U</u> a <u>A</u> ascsu
35	配列番号 6 9	ususua <u>C</u> u <u>A</u> g <u>U</u> G <u>C</u> ca <u>U</u> uuguu <u>a</u>	配列番号 7 0	us <u>G</u> s <u>A</u> a <u>C</u> a <u>A</u> au <u>G</u> gca <u>C</u> u <u>A</u> g <u>U</u> a <u>A</u> ascsuUU
36	配列番号 7 1	ususua <u>C</u> u <u>A</u> g <u>U</u> G <u>C</u> ca <u>U</u> uuguu <u>a</u>	配列番号 7 2	us <u>G</u> s <u>a</u> ac <u>A</u> a <u>A</u> Ug <u>g</u> ca <u>C</u> u <u>A</u> g <u>u</u> aaascsuUU
37	配列番号 7 3	ususua <u>C</u> u <u>A</u> g <u>U</u> G <u>C</u> ca <u>U</u> uuguu <u>a</u>	配列番号 7 4	us <u>G</u> s <u>a</u> ac <u>A</u> a <u>A</u> Ug <u>g</u> ca <u>C</u> u <u>A</u> g <u>u</u> aaascsuUU

10

20

30

40

2' - O - メチルヌクレオチド = 小文字 ; 2' - フルオロヌクレオチド = 大文字下線付き、
 ホスホオチオエートリンカー = s、未修飾 = 大文字

【表 2 - 1】

表 2。表 1 の G a l N A c コンジュゲート s i R N A の単回皮下投与 (3 m g / k g) 後のマウスにおける血清 H B s A g レベル。

ベースライン (0 日目) の値に対するパーセントとして表した H B s A g データ

siRNA 番号	リガン ド化合 物番号	7日目	14日 目	21日 目	28日 目	42日 目	49日 目	56日 目	70日 目
食塩 水		95.7	118.6	101.0	111.4	115.3		112.2	106.5
1	145	3.1	1.0	22.8	1.3		3.2		7.3
2	145	1.3	0.5	0.4	0.7		3.4		6.5
5	235	12.7	7.0	9.6	21.3	59.7		74.6	98.8
5	233	16.6	8.2	11.0	12.6	24.4		32.2	60.3
5	145	4.3	1.2	1.7	2.4		11.9		24.5
6	233	20.1	10.4	10.9	13.5	30.8		46.0	67.5
7	233	20.7	12.4	10.5	13.6	24.9		46.2	77.0
8	233	18.1	10.5	11.5	12.1	26.0		37.6	64.9
9	145	10.0	2.7	2.0	3.6		6.8		17.0
10	145	16.7	16.7	16.0	16.7		74.4		97.3
11	233	20.5	14.8	16.0	23.9	65.2		80.2	
12	233	18.4	11.6	12.2	14.1	23.6		67.1	72.6
12	145	5.1	1.1	1.2	1.0	2.2		4.5	8.2
13	233	20.7	10.1	11.6	13.2	21.1		39.9	72.3
14	233	16.5	8.0	11.0	11.8	28.8		48.0	90.0
15	145	6.3	3.5	8.4	11.4		89.7		83.1
16	145	4.0	3.4	9.7	14.8		85.1		88.9
17	145	2.4	0.6	0.7	1.1		6.3		15.1
18	233	2.5	1.0	1.3	2.6	11.2		24.5	55.6
19	233	1.9	0.8	1.5	2.6	6.5		12.9	23.4
19	145	1.7	0.6	0.7	1.4	3.8		7.3	15.0
19	200	1.8	0.9	1.4	2.2	5.4		10.2	27.5
19	197	2.0	0.8	1.4	2.1	3.1		8.4	14.2
19	194	2.8	1.8	2.2	4.0	10.7		26.0	37.3
20	145	2.7	0.5	0.7	1.0	4.7		9.3	11.3
20	215	3.4	1.5	1.7	1.7	1.9		4.5	6.2
20	194	1.4	0.5	0.3	0.7	1.2		3.0	6.0
20	197	3.4	0.6	1.0	1.3	2.1		4.9	8.2
20	212	3.2	0.8	1.0	1.9	2.4		4.9	7.5
20	191	3.3	1.4	1.4	2.1	1.9		1.2	3.4

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

siRNA 番号	リガ ンド化 合物 番号	7日 目	14日 目	21日 目	28日 目	42日 目	49日 目	56日 目	70日 目
21	215	2.5	1.1	1.9	2.6	3.8		7.8	9.8
22	233	2.5	2.0	3.1	6.1	12.2		30.4	61.9
23	215	1.6	0.3	0.3	0.3	0.4		1.0	1.7
24	197	1.9	0.4	0.4	0.4	0.8		1.7	3.2
25	197	2.1	2.2	0.9	0.5	0.9		2.0	2.2
27	145	0.3	0.3	1.6	7.4		71.1		100.1
28	145	11.4	6.7	7.1	9.6	20.8		27.1	36.7
29	145	2.9	1.7	2.1	3.3	7.9		21.4	18.2
30	145	10.0	3.8	3.5	5.9	13.7		19.0	28.8
34	233	13.2	7.4	8.9	16.8	55.2		60.5	
35	233	11.6	8.5	14.0	19.5	58.4		82.0	
36	145	11.3	8.5	11.6	12.5	36.6		49.7	64.7
37	145	27.8	21.6	25.9	31.1	49.9		43.3	64.5

10

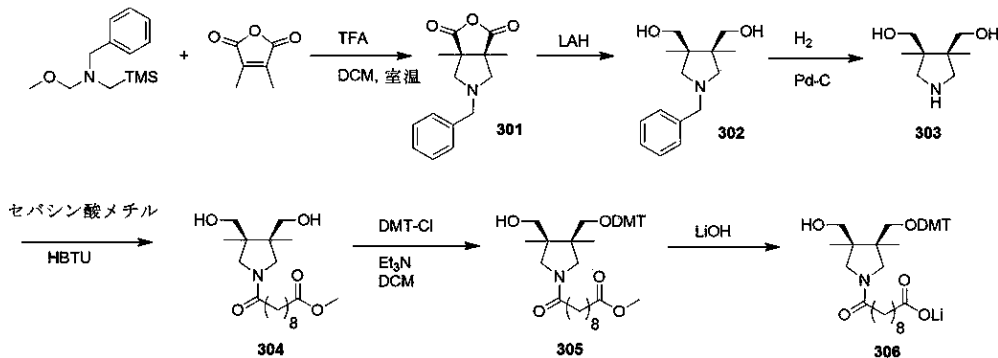
20

表 2 は、試験した HBV siRNA コンジュゲートの化合物番号（縦列 2）及び対応するオリゴヌクレオチド（縦列 1）を特定する。

【 0 5 6 9 】

実施例 26 コンジュゲート 320 の合成
スキーム 50 活性化リンカーの調製

【化 2 8 3】



30

【 0 5 7 0 】

ステップ 1。ラセミ（シス）5 - ベンジル - 3 a , 6 a - ジメチルテトラヒドロ - 1 H - フロ [3 , 4 - c] ピロール - 1 , 3 (3 a H) - ジオン (3 0 1) の調製

ジクロロメタン (7 5 m L) に 3 , 4 - ジメチルフラン - 2 , 5 - ジオン (3 g , 2 4 m m o l) 及び N - ベンジル - 1 - メトキシ - N - ((トリメチルシリル) メチル) メタンアミン (7 g , 2 9 . 8 m m o l) を含む冷却溶液 (0) に、トリフルオロ酢酸 (7 5 μ L) をゆっくりと添加した。一晩攪拌し、氷浴が溶けるにつれて溶液が室温にゆっくりと戻るようにした。この反応混合物を濃縮乾固させ、酢酸エチル (1 0 0 m L) に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム (2 × 1 0 0 m L) で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させた。シリカゲルでのカラムクロマトグラフィ (勾配 : 2 0 % の酢酸エチルを含むヘキサンから 1 0 0 % の酢酸エチル) による精製により、(3 a R , 6 a S) - 5 - ベンジル - 3 a , 6 a - ジメチルテトラヒドロ - 1 H - フロ [3 , 4 - c]

40

50

ピロール - 1, 3 (3 a H) - ジオンを黄色油状物として得た (3.5 g、56%)。

【0571】

ステップ2。ラセミ(シス)(1-ベンジル-3,4-ジメチルピロリジン-3,4-ジイル)ジメタノール(302)の調製

無水ジエチルエーテル(50 mL)に(3 a R, 6 a S) - 5 - ベンジル - 3 a, 6 a - ジメチルテトラヒドロ - 1 H - フロ [3, 4 - c] ピロール - 1, 3 (3 a H) - ジオン(3.5 g、13.4 mmol)を含む冷却溶液(0)に、水素化アルミニウムリチウムペレット(1.5 g、40 mmol)を3回に分けてゆっくりと添加した。この溶液を一晩攪拌し、氷水浴が溶けるにつれて室温に戻るようにした。完了次第、反応物を0に冷却し、1.5 mLの5 MのNaOHに続いて1.5 mLの水で非常にゆっくりとクエンチした。30分間攪拌し、次いで硫酸マグネシウムを添加し、濾過した。この濾液を濃縮させて、((3 R, 4 S) - 1 - ベンジル - 3, 4 - ジメチルピロリジン - 3, 4 - ジイル)ジメタノールを無色油状物として得た(2.7 g)。

10

【0572】

ステップ3。ラセミ(シス)(3,4-ジメチルピロリジン-3,4-ジイル)ジメタノール(303)の調製

((3 R, 4 S) - 1 - ベンジル - 3, 4 - ジメチルピロリジン - 3, 4 - ジイル)ジメタノール(10 g、40 mmol)のメタノール溶液(10 mL)に、湿った10%パラジウム活性炭(1 g)を添加した。この溶液を、水素雰囲気下で16時間にわたって勢いよく攪拌した。完了次第、溶液をセライトで濾過し、濃縮乾固させ、((3 R, 4 S) - 3, 4 - ジメチルピロリジン - 3, 4 - ジイル)ジメタノールを無色固体として得た(5.5 g、86%)。

20

【0573】

ステップ4。ラセミ(シス)メチル10-(3,4-ビス(ヒドロキシメチル)-3,4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカノエート(304)の調製

3(1.3 g、8.2 mmol)及びセバシン酸モノメチル(1.8 g、8.2 mmol)のCH₂Cl₂溶液(100 mL)を、HBTU(3.41 g、9.02 mmol)及びヒューニツヒ塩基(5.71 mL、32.8 mmol)で処理した。一晩攪拌した後、混合物をNaHCO₃(飽和水溶液)、水、及びブラインで洗浄し、次いで乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィ(勾配:0%のCH₃OH-CH₂Cl₂から20%)に供して、4(1.8 g、61%)を得た。

30

【0574】

ステップ5。ラセミ(シス)メチル10-(3-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-4-(ヒドロキシメチル)-3,4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカノエート(305)の調製

304(1.8 g、5.0 mmol)及び4,4'-ジメトキシトリチルクロリド(1.7 g、5.0 mmol)のピリジン溶液(180 mL)を一晩攪拌した。次いで、ピリジンを減圧下で除去し、この粗物質をクロマトグラフィ(勾配:0%のCH₃OH-CH₂Cl₂から10%)に供して、5(1.4 g、42%)を黄色油状物として得た。

40

【0575】

ステップ6。ラセミ(シス)10-(3-(ビス(4-メトキシフェニル)-(フェニル)メトキシ)メチル)-4-(ヒドロキシメチル)-3,4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカン酸リチウム(306)の調製

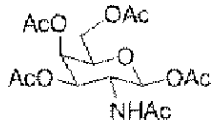
THF(50 mL)及び水(50 mL)に化合物305(3.0 g、4.6 mmol)を含む溶液に、水酸化リチウム(121 mg、5.0 mmol)を添加した。この溶液を室温で4時間攪拌し、次いで濃縮させてTHFを除去した。残った水溶液を一晩凍結乾燥して、淡桃色固体を得た(2.9 g、定量的)。2つのシス-ジアステレオマーの混合物として化合物306を調製した。

【0576】

スキーム51 過アセチル化ガラクトサミン(307)の合成

50

【化284】



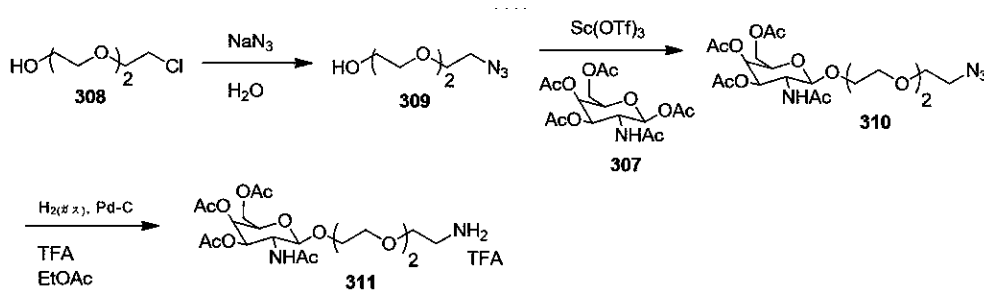
D-ガラクトサミン塩酸塩(250 g、1.16 mol)を含むピリジン(1.5 L)を45分間にわたって無水酢酸(1.25 L、13.2 mol)で処理した。一晩攪拌した後、反応混合物を3つの1 L分量に分けた。各1 L分量を3 Lの氷水に注ぎ、1時間混合した。混合した後、固体を濾過して除き、合わせて液体窒素で凍結してから、5日間にわたって凍結乾燥させて、過アセチル化ガラクトサミン(307)(369.4 g、82%)を白色固体として得た。R_f(0.58, 10% MeOH-CH₂Cl₂)。

10

【0577】

スキーム52 GalNAcモノマーの合成

【化285】



20

【0578】

ステップ1 化合物309の調製

2-[2-(2-クロロエトキシ)]エタノール(308)(100 g、593 mmol)の水溶液(1 L)を、NaN₃(77 g、1.19 mol)で処理し、加熱した(90)。攪拌(72時間)した後、溶液を冷まし(室温)、CH₂Cl₂で抽出した(4回)。合わせた有機物をブラインで洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、濃縮させ、更に処理することなく使用した。化合物9(88.9 g、86%)を淡黄色油状物として得た。

30

【0579】

ステップ2 化合物310の調製

7(2.76 g、7.1 mmol)及び309(1.37 g、7.8 mmol)の1,2-ジクロロエタン溶液(40 mL)を、Sc(OTf)₃(174 mg、0.36 mmol)で処理し、加熱した(85)。攪拌(2時間)した後、混合物を冷まし(室温)、TEA(4 mL)の添加によってクエンチし、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、310(3.03 g、85%)を淡黄色泡状物として得た。

【0580】

ステップ3 化合物311の調製

310(3.02 g、5.99 mmol)及びPd/C(300 mg、10% Pd負荷-湿潤支持体)のEtOAc溶液(30 mL)を、TFA(576 µL、7.5 mmol)で処理した。この反応混合物を水素ガスでパージし(45分間)、次いで窒素ガスでパージし(10分間)、次いでセライトで濾過した。この濾液を濃縮させ、次いでクロマトグラフィに供して、311(2.67 g、75%)を褐色泡状物として得た。

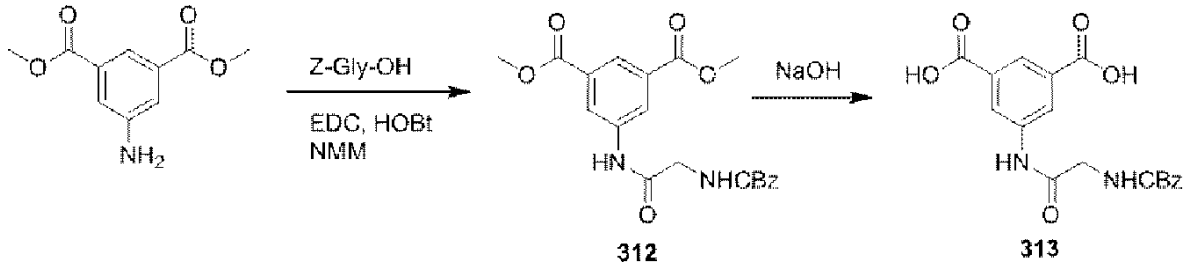
40

【0581】

スキーム53 芳香族コアの合成

50

【化 2 8 6】



【0 5 8 2】

ステップ 1。ジメチル 5 - (2 - ((2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) - イソフタレート (3 1 2) の調製

ジメチル 5 - アミノイソフタレート (5 g、2.4 mmol)、Z - Gly - OH (5 g、2.4 mmol)、EDC (5 g、26.3 mmol)、HOBT (3.6 g、26.3 mmol)、NMM (2.9 mL、26.3 mmol) の DMF 溶液 (50 mL) を、室温で一晩攪拌した。完了次第、反応混合物を酢酸エチル (250 mL) で希釈し、それぞれ 1 M の HCl (2 × 100 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム (1 × 100 mL)、及びブライン (2 × 100 mL) で洗浄した。硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させて、ジメチル 5 - (2 - ((2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) - アセトアミド) イソフタレートを無色固体として得た (7.2 g、79%)。

【0 5 8 3】

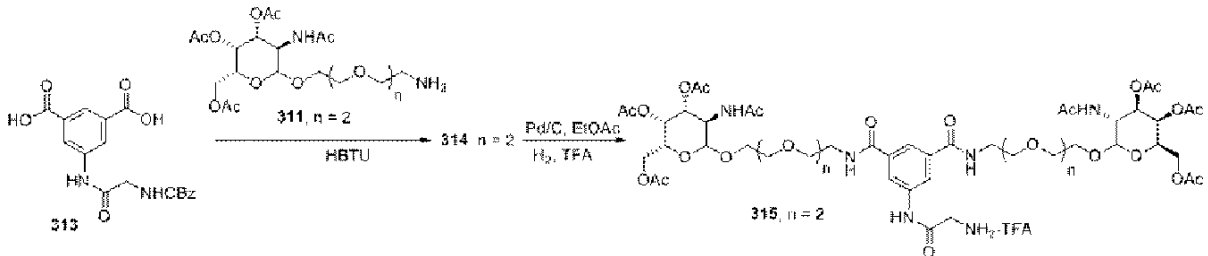
ステップ 2。5 - (2 - ((2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタル酸 (3 1 3) の調製

メタノール (25 mL) 及び THF (25 mL) にメチル 5 - (2 - ((2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタレート (7.2 g) を含む溶液に、1 M の NaOH (25 mL) を添加した。この溶液を室温で 2 時間攪拌し、次いで濃縮させて THF 及び MeOH を除去した。残った水溶液を水 (75 mL) で希釈し、氷水浴で冷却し、6 M の HCl で pH = 1 に酸性化した。この固体を濾過し、水 (3 × 100 mL) で洗浄した。この固体をフリーズドライして、5 - (2 - ((2 - オキソ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) - イソフタル酸を得た (6.9 g、定量的)。

【0 5 8 4】

スキーム 5 4 : 四量体の調製

【化 2 8 7】



10

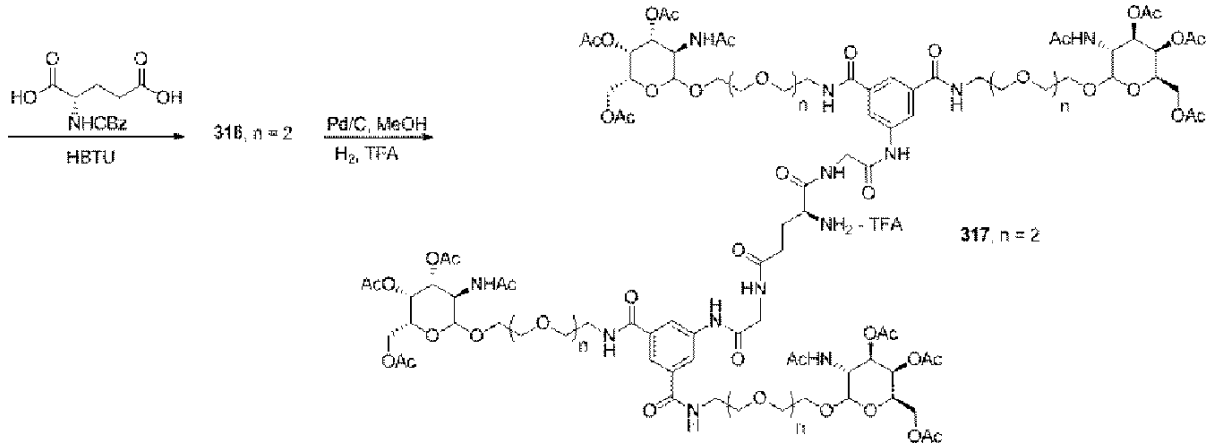
20

30

40

50

【化 2 8 8】



【0 5 8 5】

ステップ 1 化合物 3 1 4 の調製

3 1 3 (2 . 0 9 g 、 5 . 6 m m o l) 及び 3 1 1 (8 . 3 4 g 、 1 4 . 0 7 m m o l) の CH_2Cl_2 溶液 (1 5 0 m L) を、H B T U (6 . 4 g 、 1 6 . 9 m m o l) 及びヒューニツヒ塩基 (7 . 3 5 m L 、 4 2 . 2 m m o l) で処理した。攪拌 (一晩) した後、反応混合物を NaHCO_3 (飽和水溶液) に注ぎ、次いで水及びブラインで洗浄し、乾燥させ (MgSO_4) 、濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィ (勾配 1 - 1 2 % の $\text{CH}_3\text{OH} - \text{CH}_2\text{Cl}_2$) に供して、6 (3 . 9 7 g 、 5 5 %) を淡黄色泡状物として得た。

20

【0 5 8 6】

ステップ 2 化合物 3 1 5 の調製

化合物 3 1 4 (3 . 9 2 g 、 3 . 0 7 m m o l) 、 Pd/C (4 0 0 m g 、 1 0 % 負荷 - 湿潤支持体) 、及びトリフルオロ酢酸 (3 0 8 μL 、 4 m m o l) を、 H_2 でパージした。 H_2 下で (一晩) 攪拌した後、混合物を N_2 でパージし (1 5 ~ 2 0 分間) 、次いでセライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、7 (3 . 3 6 g 、 8 6 %) を白色からクリーム色の泡状物として得た。

30

【0 5 8 7】

ステップ 3 化合物 3 1 6 の調製

Z - グルタミン酸 (3 0 6 m g 、 1 . 0 9 m m o l) 及び 3 1 5 (3 . 3 g 、 2 . 6 m m o l) から、3 1 4 と同じ様式で化合物 3 1 6 を調製した。収量 1 . 6 6 g 、 6 0 % 。

40

【0 5 8 8】

ステップ 4 化合物 3 1 7 の調製

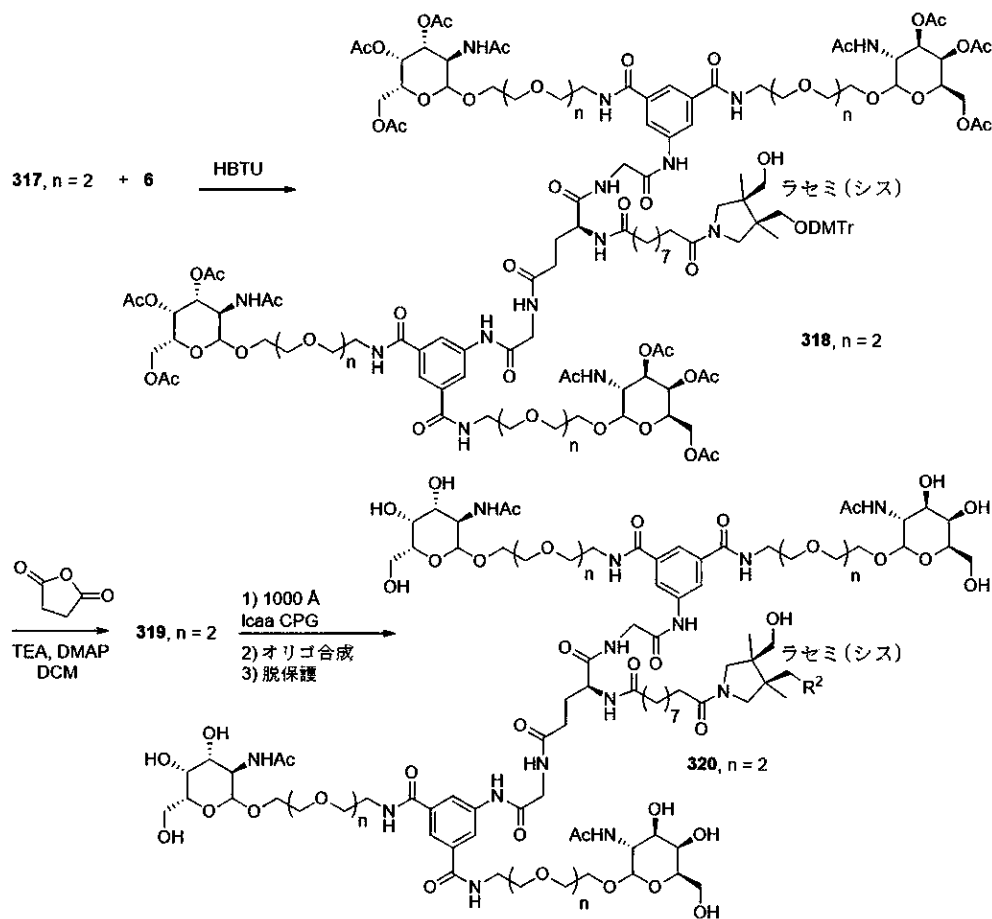
3 1 5 と同じ様式で化合物 3 1 7 を調製した。収量 1 . 6 5 g 、 定量的。

50

【0 5 8 9】

スキーム 5 5 完全なコンジュゲートの調製

【化289】



10

20

【0590】

ステップ1 化合物318の調製

317 (1.91 g, 0.75 mmol) の CH_2Cl_2 溶液 (100 mL) を、まずヒューニツヒ塩基 (392 μL , 2.25 mmol)、次いで6 (2つのシス-ジアステレオマーの混合物、509 mg, 0.79 mmol)、続いてHBTU (356 mg, 0.94 mmol) で処理した。攪拌 (一晚) した後、溶液を NaHCO_3 (飽和水溶液) に注ぎ、次いで水及びブラインで洗浄し、乾燥させ (MgSO_4)、濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、318 (1.19 g, 52%) を白色泡状物として得た。

30

【0591】

ステップ2 化合物319の調製

318 (1.19 g, 0.39 mmol) の1,2ジクロロエタン溶液 (100 mL) を、TEA (542 μL , 3.9 mmol)、DMAP (238 mg, 1.95 mmol)、及び無水コハク酸 (195 mg, 1.95 mmol) で処理し、加熱した (85)。攪拌 (2.5時間) した後、溶液を熱源から離し、 CH_3OH (10 mL) で処理し、攪拌させた (1時間)。攪拌した後、混合物を NaHCO_3 (飽和水溶液) に注ぎ、次いでブラインで洗浄し、乾燥させ (MgSO_4)、濾過し、濃縮させた。得られた残渣を、更に処理することなく使用した。収量 = 1.4 g、定量的。

40

【0592】

ステップ3 コンジュゲート320の調製

標準的なアミドカップリング化学を使用し、サクシネート319を1000 LCAA A (長鎖アミノアルキル) CPG (制御細孔ガラス) に負荷した。ジイソプロピルカルボジイミド (52.6 μmol)、N-ヒドロキシサクシニミド (0.3 mg, 2.6 μmol)、及びピリジン (10 μL) の無水アセトニトリル溶液 (0.3 mL) を、319

50

(20.6 mg、8 μmol)を含む無水ジクロロメタン(0.2 mL)に添加した。この混合物をLCAA CPG(183 mg)に加えた。この懸濁液を室温で一晩穏やかに混合した。319が消失したら(HPLC)、反応混合物を濾過し、ジクロロメタン、アセトニトリル、5%無水酢酸/5%N-メチルイミダゾール/5%ピリジンのTHF溶液、次いでTHF、アセトニトリル及びジクロロメタン各1 mLでCPGを洗浄した。次いで、CPGを高真空下で一晩乾燥させた。UV/Vis(504 nm)による標準的なDMTrアッセイによって、負荷を19 $\mu\text{mol/g}$ と判定した。結果として得られたGalNAcが負荷されたCPG固体支持体を、標準的な手順を使用した自動化オリゴヌクレオチド合成に用いた。ヌクレオチド脱保護の後に固体支持体からの除去を(ガラクトサミンアセテート脱保護と同時に)行なうと、GalNAc-オリゴヌクレオチドコンジュゲート320が得られた。

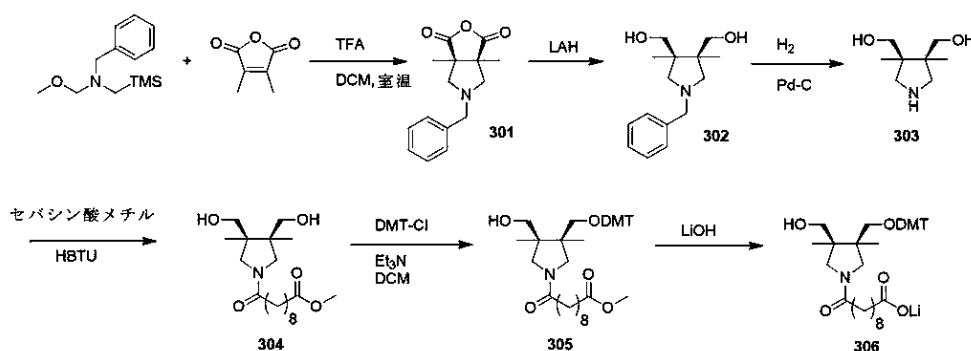
10

【0593】

実施例27 コンジュゲート520の合成

スキーム56 活性化リンカーの調製

【化290】



20

【0594】

ステップ1。ラセミ(シス)5-ベンジル-3a,6a-ジメチルテトラヒドロ-1H-フロ[3,4-c]ピロール-1,3(3aH)-ジオン(301)の調製

ジクロロメタン(75 mL)に3,4-ジメチルフラン-2,5-ジオン(3 g、24 mmol)及びN-ベンジル-1-メトキシ-N-(トリメチルシリル)メタンアミン(7 g、29.8 mmol)を含む冷却溶液(0)に、トリフルオロ酢酸(75 μL)をゆっくりと添加した。一晩攪拌し、氷浴が溶けるにつれて溶液が室温にゆっくりと戻るようにした。この反応混合物を濃縮乾固させ、酢酸エチル(100 mL)に溶解させ、飽和炭酸水素ナトリウム(2 x 100 mL)で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾固させた。シリカゲルでのカラムクロマトグラフィ(勾配:20%の酢酸エチルを含むヘキサンから100%の酢酸エチル)による精製により、(3aR,6aS)-5-ベンジル-3a,6a-ジメチルテトラヒドロ-1H-フロ[3,4-c]ピロール-1,3(3aH)-ジオンを黄色油状物として得た(3.5 g、56%)。

30

【0595】

ステップ2。ラセミ(シス)(1-ベンジル-3,4-ジメチルピロリジン-3,4-ジイル)ジメタノール(302)の調製

40

無水ジエチルエーテル(50 mL)に(3aR,6aS)-5-ベンジル-3a,6a-ジメチルテトラヒドロ-1H-フロ[3,4-c]ピロール-1,3(3aH)-ジオン(3.5 g、13.4 mmol)を含む冷却溶液(0)に、水素化アルミニウムリチウムペレット(1.5 g、40 mmol)を3回に分けてゆっくりと添加した。この溶液を一晩攪拌し、氷水浴が溶けるにつれて室温に戻るようにした。完了次第、反応物を0に冷却し、1.5 mLの5MのNaOHに続いて1.5 mLの水で非常にゆっくりとクエンチした。30分間攪拌し、次いで硫酸マグネシウムを添加し、濾過した。この濾液を濃縮させて、(3R,4S)-1-ベンジル-3,4-ジメチルピロリジン-3,4-ジイル)ジメタノールを無色油状物として得た(2.7 g)。

50

【0596】

ステップ3。ラセミ(シス)(3,4-ジメチルピロリジン-3,4-ジイル)ジメタノール(303)の調製

((3R,4S)-1-ベンジル-3,4-ジメチルピロリジン-3,4-ジイル)ジメタノール(10g、40mmol)のメタノール溶液(10mL)に、湿った10%パラジウム活性炭(1g)を添加した。この溶液を、水素雰囲気下で16時間にわたって勢いよく攪拌した。完了次第、溶液をセライトで濾過し、濃縮乾固させ、((3R,4S)-3,4-ジメチルピロリジン-3,4-ジイル)ジメタノールを無色固体として得た(5.5g、86%)。

【0597】

ステップ4。ラセミ(シス)メチル10-(3,4-ビス(ヒドロキシメチル)-3,4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカノエート(304)の調製

3(1.3g、8.2mmol)及びセバシン酸モノメチル(1.8g、8.2mmol)の CH_2Cl_2 溶液(100mL)を、HBTU(3.41g、9.02mmol)及びヒューニツヒ塩基(5.71mL、32.8mmol)で処理した。一晩攪拌した後、混合物を NaHCO_3 (飽和水溶液)、水、及びブラインで洗浄し、次いで乾燥させ(MgSO_4)、濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィ(勾配:0%の $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ から20%)に供して、4(1.8g、61%)を得た。

【0598】

ステップ5。ラセミ(シス)メチル10-(3-(ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)-メトキシ)メチル)-4-(ヒドロキシメチル)-3,4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカノエート(305)の調製

304(1.8g、5.0mmol)及び4,4'-ジメトキシトリチルクロリド(1.7g、5.0mmol)のピリジン溶液(180mL)を一晩攪拌した。次いで、ピリジンを減圧下で除去し、この粗物質をクロマトグラフィ(勾配:0%の $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$ から10%)に供して、5(1.4g、42%)を黄色油状物として得た。

【0599】

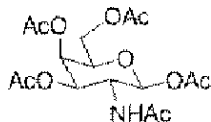
ステップ6。ラセミ(シス)10-(3-(ビス(4-メトキシフェニル)-(フェニル)メトキシ)メチル)-4-(ヒドロキシメチル)-3,4-ジメチルピロリジン-1-イル)-10-オキソデカン酸リチウム(306)の調製

THF(50mL)及び水(50mL)に化合物305(3.0g、4.6mmol)を含む溶液に、水酸化リチウム(121mg、5.0mmol)を添加した。この溶液を室温で4時間攪拌し、次いで濃縮させてTHFを除去した。残った水溶液を一晩凍結乾燥して、淡桃色固体を得た(2.9g、定量的)。2つのシス-ジアステレオマーの混合物として化合物306を調製した。

【0600】

スキーム57 過アセチル化ガラクトサミン(507)の合成

【化291】



ガラクトサミン塩酸塩(250g、1.16mol)を含むピリジン(1.5L)を45分間にわたって無水酢酸(1.25L、13.2mol)で処理した。一晩攪拌した後、反応混合物を3つの1L分量に分けた。各1L分量を3Lの氷水に注ぎ、1時間混合した。混合した後、固体を濾過して除き、合わせて液体窒素で凍結してから、5日間にわたって凍結乾燥させて、過アセチル化ガラクトサミン(507)(369.4g、82%)を白色固体として得た。Rf(0.58, 10% MeOH- CH_2Cl_2)。

【0601】

スキーム58 GalNAcモノマーの合成

10

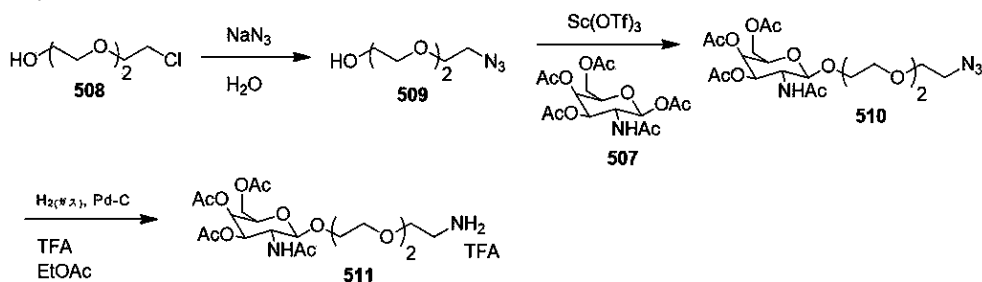
20

30

40

50

【化292】



【0602】

10

ステップ1 化合物509の調製

2-[2-(2-クロロエトキシ)]エタノール(508)(100g、593mmol)の水溶液(1L)を、 NaN_3 (77g、1.19mol)で処理し、加熱した(90)。攪拌(72時間)した後、溶液を冷まし(室温)、 CH_2Cl_2 で抽出した(4回)。合わせた有機物をブラインで洗浄し、乾燥させ(MgSO_4)、濾過し、濃縮させ、更に処理することなく使用した。化合物509(88.9g、86%)を淡黄色油状物として得た。

【0603】

ステップ2 化合物510の調製

507(2.76g、7.1mmol)及び509(1.37g、7.8mmol)の1,2-ジクロロエタン溶液(40mL)を、 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (174mg、0.36mmol)で処理し、加熱した(85)。攪拌(2時間)した後、混合物を冷まし(RT)、TEA(4mL)の添加によってクエンチし、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、510(3.03g、85%)を淡黄色泡状物として得た。

20

【0604】

ステップ3 化合物511の調製

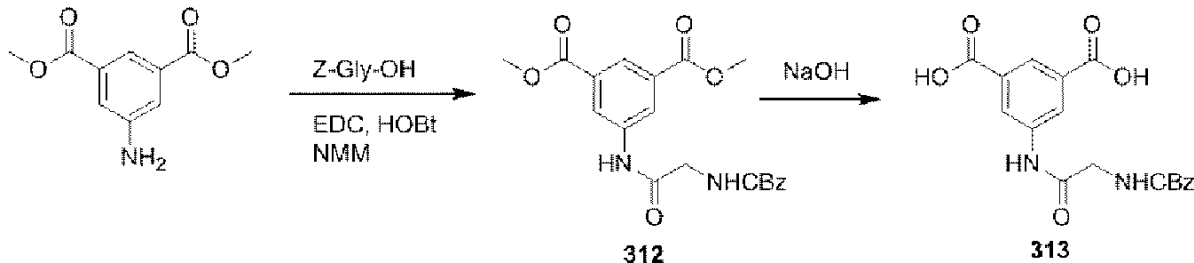
510(3.02g、5.99mmol)及びPd/C(300mg、10% Pd負荷-湿潤支持体)のEtOAc溶液(30mL)を、TFA(576 μL 、7.5mmol)で処理した。この反応混合物を水素ガスでパージし(45分間)、次いで窒素ガスでパージし(10分間)、次いでセライトで濾過した。この濾液を濃縮させ、次いでクロマトグラフィに供して、511(2.67g、75%)を褐色泡状物として得た。

30

【0605】

スキーム59 芳香族コアの合成

【化293】



40

【0606】

ステップ1. ジメチル5-(2-(2-オキシ-2-フェニル-1²-エチル)アミノ)アセトアミド)-イソフタレート(312)の調製

ジメチル5-アミノイソフタレート(5g、24mmol)、Z-Gly-OH(5g、24mmol)、EDC(5g、26.3mmol)、HOBT(3.6g、26.3mmol)、NMM(2.9mL、26.3mmol)のDMF溶液(50mL)を、室温で一晩攪拌した。完了次第、反応混合物を酢酸エチル(250mL)で希釈し、それぞれ1MのHCl(2 \times 100mL)、飽和炭酸水素ナトリウム(1 \times 100mL)、及び

50

ブライン (2 × 100 mL) で洗浄した。硫酸マグネシウムで乾燥させ、濾過し、濃縮乾燥させて、ジメチル 5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) - アセトアミド) イソフタレート を無色固体として得た (7.2 g、79%)。

【0607】

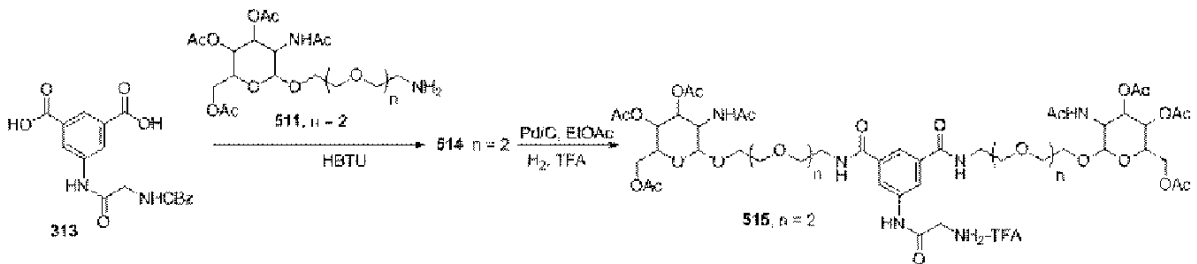
ステップ 2。5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタル酸 (313) の調製

メタノール (25 mL) 及び THF (25 mL) にメチル 5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) イソフタレート (7.2 g) を含む溶液に、1 M の NaOH (25 mL) を添加した。この溶液を室温で 2 時間攪拌し、次いで濃縮させて THF 及び MeOH を除去した。残った水溶液を水 (75 mL) で希釈し、氷水浴で冷却し、6 M の HCl で pH = 1 に酸性化した。この固体を濾過し、水 (3 × 100 mL) で洗浄した。この固体を凍結乾燥して、5 - (2 - ((2 - オキシ - 2 - フェニル - 1² - エチル) アミノ) アセトアミド) - イソフタル酸 を得た (6.9 g、定量的)。

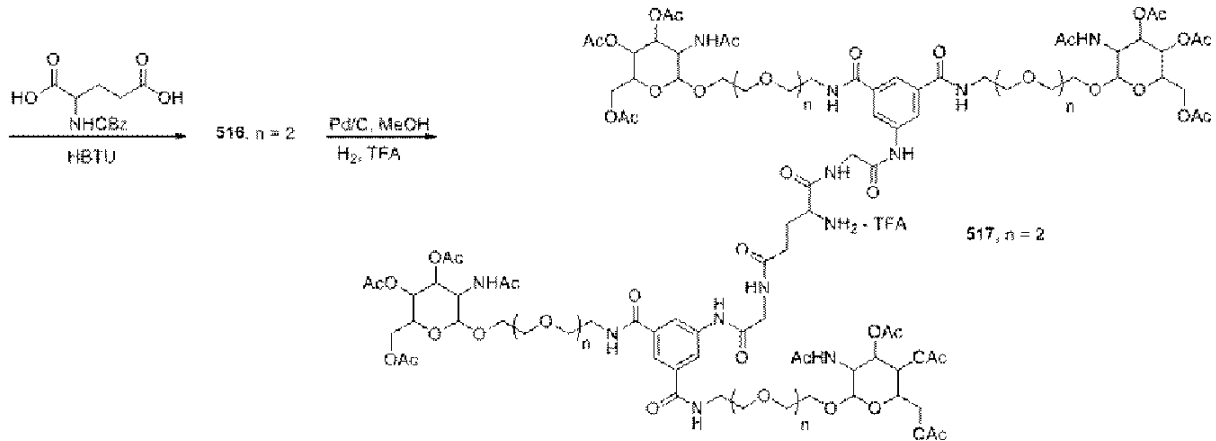
【0608】

スキーム 60 : 四量体の調製

【化 294】



【化 295】



【0609】

ステップ 1 化合物 514 の調製

313 (2.09 g、5.6 mmol) 及び 511 (8.34 g、14.07 mmol) の CH₂Cl₂ 溶液 (150 mL) を、HBTU (6.4 g、16.9 mmol) 及び ヒューニツヒ塩基 (7.35 mL、42.2 mmol) で処理した。攪拌 (一晚) した後、反応混合物を NaHCO₃ (飽和水溶液) に注ぎ、次いで水及びブラインで洗浄し、乾燥させ (MgSO₄)、濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィ (勾配 1 - 12% の CH₃OH - CH₂Cl₂) に供して、6 (3.97 g、55%) を淡黄色泡状物として得た。

【0610】

ステップ 2 化合物 515 の調製

化合物 514 (3.92 g、3.07 mmol)、Pd/C (400 mg、10% 負荷

10

20

30

40

50

- 湿潤支持体)、及びトリフルオロ酢酸(308 μ L、4 mmol)を、 H_2 でパージした。 H_2 下で(一晚)攪拌した後、混合物を N_2 でパージし(15~20分間)、次いでセライトで濾過し、濃縮させた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、7(3.36 g、86%)を白色からクリーム色の泡状物として得た。

【0611】

ステップ3 化合物516の調製

Z-グルタミン酸(306 mg、1.09 mmol)及び515(3.3 g、2.6 mmol)から、514と同じ様式で化合物516を調製した。収量1.66 g、60%。

【0612】

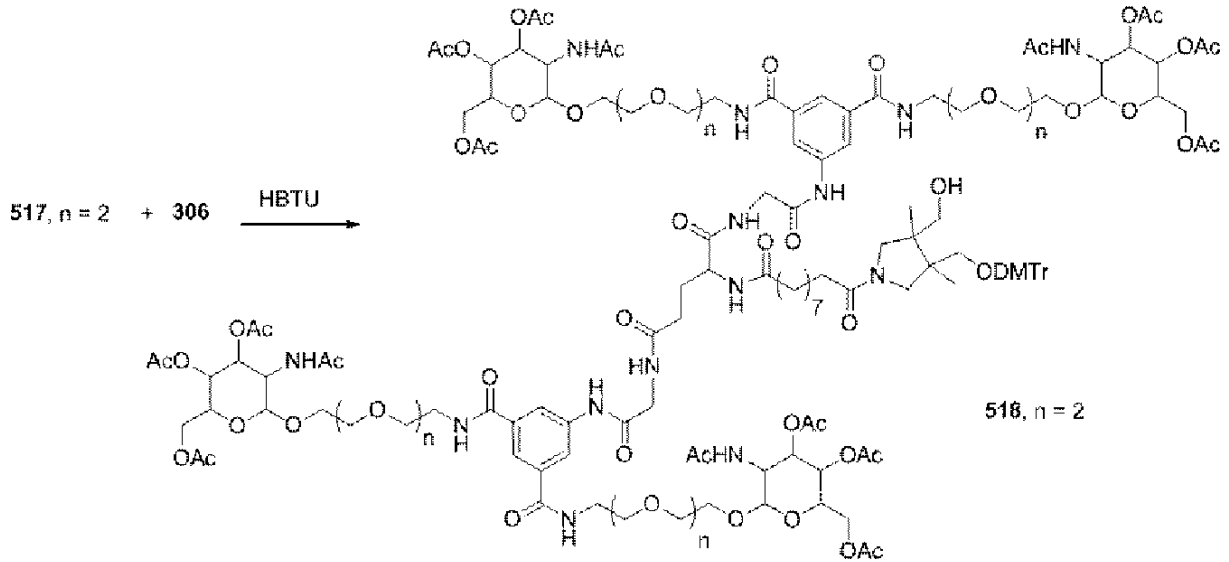
ステップ4 化合物517の調製

515と同じ様式で化合物517を調製した。収量1.65 g、定量的。

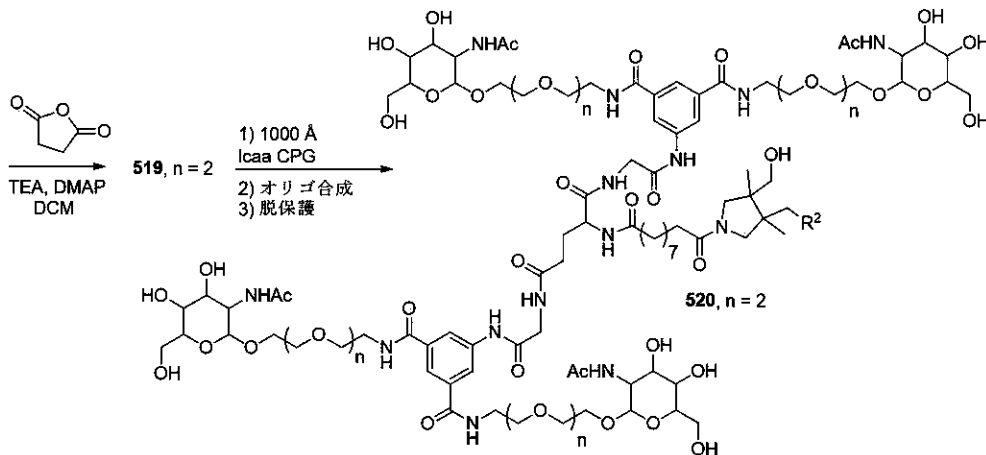
【0613】

スキーム61 完全なコンジュゲートの調製

【化296】



【化297】



【0614】

ステップ1 化合物518の調製

517(1.91 g、0.75 mmol)の CH_2Cl_2 溶液(100 mL)を、まずヒューニツヒ塩基(392 μ L、2.25 mmol)、次いで306(2つのシス-ジアステレオマーの混合物、509 mg、0.79 mmol)、続いてHBTU(356 mg、0.94 mmol)で処理した。攪拌(一晚)した後、溶液を $NaHCO_3$ (飽和水溶液)に注ぎ、次いで水及びブラインで洗浄し、乾燥させ($MgSO_4$)、濾過し、濃縮さ

10

20

30

40

50

せた。この粗物質をクロマトグラフィに供して、518 (1.19 g、52%) を白色泡状物として得た。

【0615】

ステップ2 化合物519の調製

518 (1.19 g、0.39 mmol) の1,2ジクロロエタン溶液 (100 mL) を、TEA (542 μ L、3.9 mmol)、DMA P (238 mg、1.95 mmol)、及び無水コハク酸 (195 mg、1.95 mmol) で処理し、加熱した (85)。攪拌 (2.5 時間) した後、溶液を熱源から離し、CH₃OH (10 mL) で処理し、攪拌させた (1 時間)。攪拌した後、混合物を NaHCO₃ (飽和水溶液) に注ぎ、次いでブラインで洗浄し、乾燥させ (MgSO₄)、濾過し、濃縮させた。得られた残渣を、更に処理することなく使用した。収量 = 1.4 g、定量的。

10

【0616】

ステップ3 コンジュゲート520の調製

標準的なアミドカップリング化学を使用し、サクシネート519を1000 LCA A (長鎖アミノアルキル) CPG (制御細孔ガラス) に負荷した。ジイソプロピルカルボジイミド (52.6 μ mol)、N-ヒドロキシサクシニミド (0.3 mg、2.6 μ mol)、及びピリジン (10 μ L) の無水アセトニトリル溶液 (0.3 mL) を、519 (20.6 mg、8 μ mol) を含む無水ジクロロメタン (0.2 mL) に添加した。この混合物をLCA A CPG (183 mg) に加えた。この懸濁液を室温で一晩穏やかに混合した。519が消失したら (HPLC)、反応混合物を濾過し、ジクロロメタン、アセトニトリル、5%無水酢酸 / 5%N-メチルイミダゾール / 5%ピリジンのTHF溶液、次いでTHF、アセトニトリル及びジクロロメタン各1 mLでCPGを洗浄した。次いで、CPGを高真空下で一晩乾燥させた。UV/Vis (504 nm) による標準的なDMTrアッセイによって、負荷を19 μ mol/gと判定した。結果として得られたGalNAcが負荷されたCPG固体支持体を、標準的な手順を使用した自動化オリゴヌクレオチド合成に用いた。ヌクレオチド脱保護の後に固体支持体からの除去を (ガラクトサミンアセテート脱保護と同時に) 行なうと、GalNAc-オリゴヌクレオチドコンジュゲート (520) が得られた。

20

【0617】

実施例28。TTR siRNAコンジュゲートのインビボ試験

TTRノックダウンの野生型マウスモデルにおけるインビボ活性について、化合物320 (式中、R²は、表3に記載の修飾されたTTR siRNAを含む) を試験した。本実施例において、化合物320 (式中、R²は、修飾されたTTR siRNAを含む) は、奇病であるTTR (トランスサイレチン) アミロイドーシスのための可能性のある処置として示される。この疾患の罹患者では、トランスサイレチンタンパク質のミスフォールディング及び凝集が疾患進行に関連している。このsiRNA-GalNAcコンジュゲートを使用することにより、患者におけるタンパク質のミスフォールディング/凝集の量を低減させることができ、疾患の進行を停止させる結果が伴う可能性もある。したがって、ある特定の実施形態は、化合物320 (式中、R²は、修飾されたTTR siRNAを含む)、及びトランスサイレチンアミロイドーシスを処置するためのその使用を提供する。

30

40

【表3】

表3。化学修飾されたTTR siRNA二重鎖

siRNA 番号	センス鎖 配列番号	センス鎖 5'-3'	アンチセンス 鎖配列番号	アンチセンス鎖 5'-3'
40	配列番号75	<u>AsasCaGuGuUCUuGcUcUaUaA</u>	配列番号76	<u>usUsaUaGaGcAagaAcAcUgUususu</u>

2' - O - メチルヌクレオチド = 小文字 ; 2' - フルオロヌクレオチド = 大文字下線付き、

50

ホスホオチオエートリンカー = s、未修飾 = 大文字

【0618】

TTR siRNA配列及び動物モデルはいずれも、Nair et al., J. Am. Chem. Soc., 36(49), 16958-16961 (2014)に記載されたものであった。動物関連の手技は全て、Canadian Council on Animal Care (CCAC) Guidelines on Good Animal Practicesに従う作業手順書に従って実施し、現地のInstitutional Animal Care and Use Committee (IACUC)によって認可された。

【0619】

siRNA処置：雌C57BL/6マウス(n=4)に、単回2mg/kg用量の化合物320(R²は、修飾されたTTR siRNAを含む)を、0日目に1回(動物1匹当たり1用量)、肩甲部への皮下注射によって投与した。ピヒクルのみ(PBS)を投与した1つの動物群を対照とした。

【0620】

収集：試験品投与後の所定の時点(2日目、4日目、7日目、9日目、14日目、及び21日目)に、全動物の試験採血を行なって、血漿TTRレベルの最大低下率及び薬理活性の持続時間を判定した。

【0621】

分析：Abnova Prealbumin(Mouse)ELISAキット(Cedar Lane、カタログ番号KA2070)を製造元の説明に従って使用し、血漿試料中のTTRタンパク質レベルを判定した。個々の血漿試料についてTTR血漿タンパク質値を計算し、各群の平均を求めた。これらの平均から、対照に対するTTRタンパク質レベル(PBS処置動物に対する%)を判定した。

【0622】

結果：試験結果を表4に提示する。値は、処置後2日目、4日目、7日目、9日目、14日目、及び21日目におけるTTRタンパク質レベルの(PBS対照に対する)パーセント(%)を表す。

【表4】

表4。表3のGalNAcコンジュゲートsiRNAの単回皮下投与(2mg/kg)後のマウスにおける血漿TTRタンパク質レベル。TTRタンパク質データは、PBS処置マウスの値に対するパーセントとして表す。

siRNA番号	リガンド化合物番号	2日目	4日目	7日目	9日目	14日目	21日目
40	320	36.6	15.7	17.2	17.7	36.9	59.2

【0623】

結論：化合物320(式中、R²は、表3に記載の修飾されたTTR siRNAを含む)で処置した動物は、標的mRNA及びタンパク質の顕著なノックダウンを呈し、TTRタンパク質の最大ノックダウンは、皮下注射後4日目から9日目の間に起こった。

【0624】

実施例29。HBV siRNAコンジュゲートのインビボ試験

GalNAcリガンドにコンジュゲートされた、実施例25の表1に記載の化学修飾されたHBV siRNAを、HBV感染の確立されたマウスモデルにおいて、インビボ活性について試験した。AAV-HBV1.2 C57BL/6マウスモデルでは、HBVのゲノム長を超える配列をコードするアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを注射した後、安定した持続的なHBV発現が達成され、HBV RNA及びタンパク質の肝臓における発現、ならびにウイルス粒子及びサブウイルス粒子の血中への分泌がもたらされる。

【0625】

これらの試験に使用したAAV-HBV1.2構築物は、Dion et al., Journal of Virology, 87(10), 5554-5563(2013)において提供される詳細に基づくものであった。動物関連の手技は全て、Canadian Council on Animal Care (CCAC) Guidelines on Good Animal Practicesに従う作業手順書に従って実施し、現地のInstitutional Animal Care and Use Committee (IACUC)によって認可された。

【0626】

各動物に、1E11ベクターゲノム(VG)のAAV-HBV1.2ベクターを接種した。処置前に、全ての動物の試験採血を行ない、確立されたHBV発現を確認するため、個々の動物の血清HBsAgレベルを判定した。

10

【0627】

siRNA処置：マウス群(典型的にはn=5)に、単回3mg/kg用量のHBV siRNAコンジュゲートを、0日目に1回(動物1匹当たり1用量)、肩甲部への皮下注射によって投与した。ビヒクルのみ(食塩水)を投与した1つの動物群を対照とした。

【0628】

収集：0日目、処置前、及び試験品投与後の所定の時点(例えば研究7日目、14日目、21日目、28日目、42日目、56日目、及び70日目)に、全マウスの試験採血を行なって、血清HBsAgレベルの最大低下率及び薬理活性の持続時間を判定した。

【0629】

分析：BioRad EIA GS HBsAg 3.0キット(BioRad、カタログ番号32591)を製造元の説明に従って使用し、血清試料中のHBsAgレベルを判定した。各処置群からプールされた血清を使用して、個々の時点における群平均HBsAgレベルを判定した。データを分析し、処置前ベースラインに対するHBsAgレベル(0日目に対する%)として表した。

20

【0630】

結果：表1に記載の化学修飾されたHBV siRNAのそれぞれを試験した結果を、表5に提示する。値は、処置後7日目、14日目、21日目、28日目、42日目、56日目、及び70日目におけるHBsAgレベルの(0日目ベースラインに対する)パーセント(%)を表す。

30

40

50

【表 5】

表 5。実施例 25 の表 1 の G a l N A c コンジュゲート s i R N A の単回皮下投与 (3 m g / k g) 後のマウスにおける血清 H B s A g レベル。 H B s A g データは、ベースライン (0 日目) の値に対するパーセントとして表す。

siRNA 番号	リガンド化合 物番号	7日目	14日目	21日目	28日目	42日目	56日目	70日目
2	194	7.0	4.1	4.2	5.6	10.1	17.2	29.5
3	194	5.8	2.4	1.8	2.3	4.6	10.6	12.9
3	191a	1.7	0.3	0.3	0.3	0.5	0.9	2.3
3	320	3.1	0.5	0.5	0.5	0.8	1.6	3.6
4	194	5.5	3.1	3.2	4.4	6.0	9.5	16.2
20	231	5.3	2.2	1.9	3.4	4.8	9.8	17.4
20	320	2.6	1.0	1.1	1.3	3.1	6.4	
25	191a	1.9	0.2	0.2	0.3	0.5	1.1	1.8
25	320	1.1	0.1	0.3	0.4	1.4	2.9	3.5
26	194	10.4	3.2	2.7	3.0	4.0	6.3	12.3
31	194	13.3	7.0	8.0	11.7	17.7	25.6	36.7
32	194	13.7	5.7	8.2	11.6	16.6	25.0	46.5
33	194	14.4	8.0	10.8	14.4	24.3	41.8	65.2

【 0 6 3 1 】

試験した 1 3 種の化合物はそれぞれ、単回用量の皮下投与と処置後に血清 H B V 表面抗原の低減をもたらし、最大効果は 1 4 日目または 2 1 日目に得られた。最も優れた低減を示した 4 種の化合物は、オリゴヌクレオチドが s i R N A 3 または 2 5 を含んだ化合物 1 9 1 a、及び R² が s i R N A 3 または 2 5 を含んだ化合物 3 2 0 であった。これら 4 種の化合物は、第 1 の時点 (7 日目) でより急速な低減 (9 7 % 以上)、より優れた最大低下率 (9 9 % 以上)、及びより持続的な低減効果 (5 6 日目、処置 8 週間後で依然として 9 7 % 以上) が顕著であった。

最後に、本発明の好ましい実施態様を項分け記載する。

[実施態様 1]

配列番号 1、配列番号 3、配列番号 5、配列番号 7、配列番号 9、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 5、配列番号 1 7、配列番号 1 9、配列番号 2 1、配列番号 2 3、配列番号 2 5、配列番号 2 7、配列番号 2 9、配列番号 3 1、配列番号 3 3、配列番号 3 5、配列番号 3 7、配列番号 3 9、配列番号 4 1、配列番号 4 3、配列番号 4 5、配列番号 4 7、配列番号 4 9、配列番号 5 1、配列番号 5 3、配列番号 5 5、配列番号 5 7、配列番号 5 9、配列番号 6 1、配列番号 6 3、配列番号 6 5、配列番号 6 7、配列番号 6 9、配列番号 7 1、及び配列番号 7 3 からなる群より選択される核酸分子。

[実施態様 2]

配列番号 2、配列番号 4、配列番号 6、配列番号 8、配列番号 1 0、配列番号 1 2、配列番号 1 4、配列番号 1 6、配列番号 1 8、配列番号 2 0、配列番号 2 2、配列番号 2 4、配列番号 2 6、配列番号 2 8、配列番号 3 0、配列番号 3 2、配列番号 3 4、配列番号 3 6、配列番号 3 8、配列番号 4 0、配列番号 4 2、配列番号 4 4、配列番号 4 6、配列番号 4 8、配列番号 5 0、配列番号 5 2、配列番号 5 4、配列番号 5 6、配列番号 5 8、配列番号 6 0、配列番号 6 2、配列番号 6 4、配列番号 6 6、配列番号 6 8、配列番号 7 0、配列番号 7 2、及び配列番号 7 4 からなる群より選択される核酸分子。

[実施態様 3]

実施態様 1 に記載の核酸分子、実施態様 2 に記載の核酸分子、またはそれらの組み合わせを含む、組成物。

[実施態様 4]

s i R N A 1 (配列番号 1 及び 2)、2 (配列番号 3 及び 4)、3 (配列番号 5 及び 6)、4 (配列番号 7 及び 8)、5 (配列番号 9 及び 10)、6 (配列番号 11 及び 12)、7 (配列番号 13 及び 14)、8 (配列番号 15 及び 16)、9 (配列番号 17 及び 18)、10 (配列番号 19 及び 20)、11 (配列番号 21 及び 22)、12 (配列番号 23 及び 24)、13 (配列番号 25 及び 26)、14 (配列番号 27 及び 28)、15 (配列番号 29 及び 30)、16 (配列番号 31 及び 32)、17 (配列番号 33 及び 34)、18 (配列番号 35 及び 36)、19 (配列番号 37 及び 38)、20 (配列番号 39 及び 40)、21 (配列番号 41 及び 42)、22 (配列番号 43 及び 44)、23 (配列番号 45 及び 46)、24 (配列番号 47 及び 48)、25 (配列番号 49 及び 50)、26 (配列番号 51 及び 52)、27 (配列番号 53 及び 54)、28 (配列番号 55 及び 56)、29 (配列番号 57 及び 58)、30 (配列番号 59 及び 60)、31 (配列番号 61 及び 62)、32 (配列番号 63 及び 64)、33 (配列番号 65 及び 66)、34 (配列番号 67 及び 68)、35 (配列番号 69 及び 70)、36 (配列番号 71 及び 72)、及び 37 (配列番号 73 及び 74) からなる群より選択される二本鎖 s i R N A 分子。

10

[実施態様 5]

実施態様 4 に記載の二本鎖 s i R N A 分子を含む組成物。

20

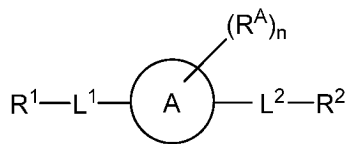
[実施態様 6]

薬学的に許容される担体を含む医薬組成物である、実施態様 3 または 5 に記載の組成物。

[実施態様 7]

式 (I) の化合物：

【化 298】



30

(I)

またはその塩であって、

式中、

R¹ は、標的化リガンドであり、

L¹ は、存在しないか、または結合基であり、

L² は、存在しないか、または結合基であり、

R² は、実施態様 4 に記載の二本鎖 s i R N A 分子から選択される二本鎖 s i R N A 分子であり、

40

環 A は、存在しないか、3 ~ 20 員シクロアルキル、5 ~ 20 員アリール、5 ~ 20 員ヘテロアリール、または 3 ~ 20 員ヘテロシクロアルキルであり、

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、-C₁₋₂アルキル-OR^B、C₁₋₁₀アルキルC₂₋₁₀アルケニル、及びC₂₋₁₀アルキニルからなる群より選択され、前記C₁₋₁₀アルキルC₂₋₁₀アルケニル、及びC₂₋₁₀アルキニルは、ハロ、ヒドロキシ、及びC₁₋₃アルコキシから独立して選択される 1 つ以上の基で場合により置換されており、

R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

50

n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である、
前記化合物またはその塩。

[実施態様 8]

R¹ は、標的化リガンドであり、

L¹ は、存在しないか、または結合基であり、

L² は、存在しないか、または結合基であり、

R² は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子であり、

環 A は、存在しないか、3 ~ 20 員シクロアルキル、5 ~ 20 員アリール、5 ~ 20 員ヘテロアリール、または 3 ~ 20 員ヘテロシクロアルキルであり、

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、-C_{1~2}アルキル-OR^B、ならびにハロ、ヒドロキシ、及び C_{1~3}アルコキシから独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている C_{1~8}アルキルからなる群より選択され、

R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である、

実施態様 7 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 9]

R¹ は、-C(H)_(3-p)(L³-糖類)_pであり、

式中、各 L³ は独立して結合基であり、

p は、1、2、または3であり、

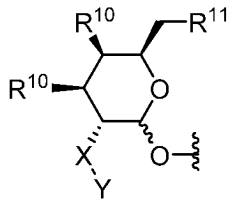
糖類は、単糖または二糖である、

実施態様 8 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 10]

前記糖類は、

【化 2 9 9】



であり、

式中、

X は NR³ であり、Y は、-(C=O)R⁴、-SO₂R⁵、及び -(C=O)NR⁶R⁷ から選択されるか、または X は -(C=O)- であり、Y は NR⁸R⁹ であり、

R³ は、水素または (C_{1~4}) アルキルであり、

R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、及び R⁹ は、それぞれ独立して、水素、(C_{1~8}) アルキル、(C_{1~8}) ハロアルキル、(C_{1~8}) アルコキシ、ならびにハロ、(C_{1~4}) アルキル、(C_{1~4}) ハロアルキル、(C_{1~4}) アルコキシ、及び (C_{1~4}) ハロアルコキシからなる群より独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている (C_{3~6}) シクロアルキルからなる群より選択され、

R¹⁰ は、-OH、-NR⁸R⁹、または -F であり、

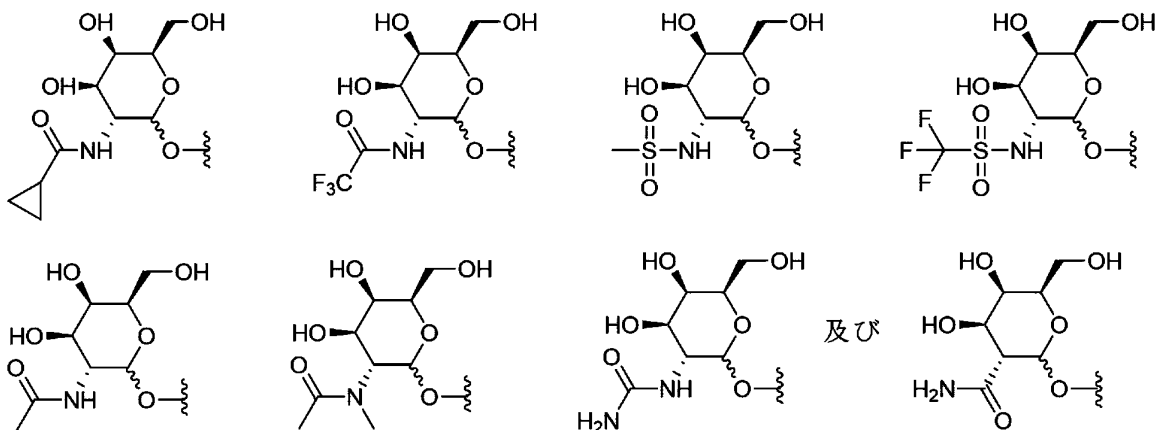
R¹¹ は、-OH、-NR⁸R⁹、-F、またはハロ、ヒドロキシル、カルボキシル、アミノ、(C_{1~4}) アルキル、(C_{1~4}) ハロアルキル、(C_{1~4}) アルコキシ、及び (C_{1~4}) ハロアルコキシからなる群より独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている 5 員複素環である、

実施態様 9 に記載の化合物またはその塩。

[実施態様 1 1]

前記糖類は、

【化 3 0 0】



10

またはそれらの塩からなる群より選択される、実施態様 9 または 1 0 に記載の化合物。

[実施態様 1 2]

前記糖類は、

【化 3 0 1】



N-アセチルガラクトサミン (GalNAc)

GalPro

20

30

である、実施態様 9 ~ 1 0 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 3]

各 L^3 は、独立して、0 ~ 50 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上 (例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個) は、 $-O-$ 、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 、または $-S-$ で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または $(C_1 \sim C_6)$ アルキルであり、前記炭化水素鎖は、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシ、 $(C_3 \sim C_6)$ シクロアルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルカノイル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルカノイルオキシ、 $(C_1 \sim C_6)$ アルコキシカルボニル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ ($=O$)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上 (例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ) の置換基で場合により置換されている、実施態様 9 ~ 1 2 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

40

[実施態様 1 4]

各 L^3 は、独立して、1 ~ 20 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上 (例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個) は、 $-O-$ 、 $-NR^X-$ 、 $-NR^X-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-NR^X-$ 、または $-S-$ で場合により置き換えられており、 R^X は、水

50

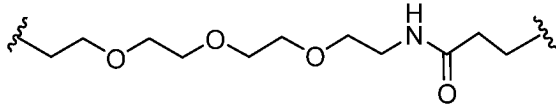
素または (C₁ ~ C₆) アルキルであり、前記炭化水素鎖は、(C₁ ~ C₆) アルコキシ、(C₃ ~ C₆) シクロアルキル、(C₁ ~ C₆) アルカノイル、(C₁ ~ C₆) アルカノイルオキシ、(C₁ ~ C₆) アルコキシカルボニル、(C₁ ~ C₆) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ (=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上(例えば1つ、2つ、3つ、または4つ)の置換基で場合により置換されている、実施態様9 ~ 13のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 15]

L³ は、

【化 3 0 2】

10



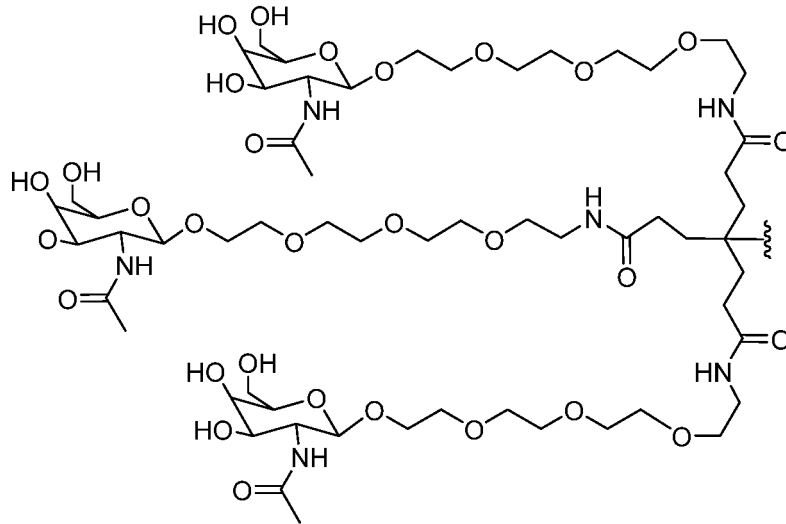
またはその塩である、実施態様9 ~ 14のいずれかに記載の化合物。

[実施態様 16]

R¹ は、

【化 3 0 3】

20



30

またはその塩である、実施態様8 ~ 15のいずれかに記載の化合物。

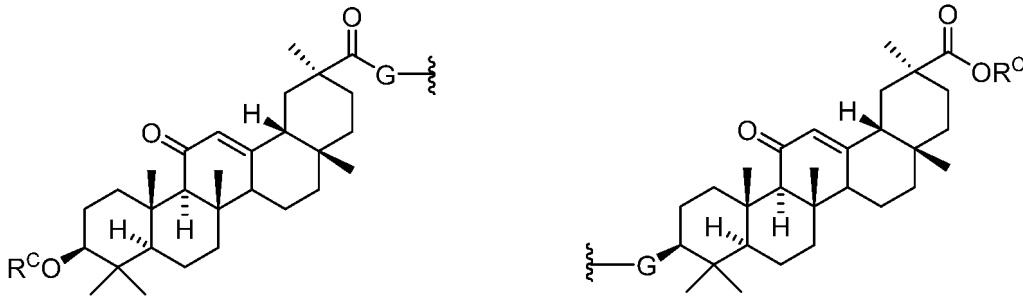
[実施態様 17]

R¹ は、

40

50

【化 3 0 4】



10

であり、

式中、

G は、 - NH - または - O - であり、

R^C は、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₁~C₈)ハロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₆)アルカノイル、(C₃~C₂₀)シクロアルキル、(C₃~C₂₀)複素環、アリール、ヘテロアリール、単糖、二糖、または三糖であり、前記シクロアルキル、複素環、アリール、ヘテロアリール、及び糖類は、ハロ、カルボキシル、ヒドロキシル、アミノ、(C₁~C₄)アルキル、(C₁~C₄)ハロアルキル、(C₁~C₄)アルコキシ、及び(C₁~C₄)ハロアルコキシからなる群より独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている、

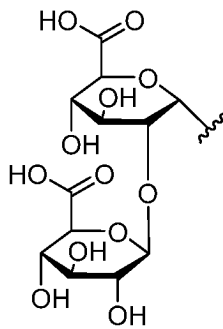
20

実施態様 8 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 8]

R^C は、

【化 3 0 5】



30

である、実施態様 1 7 に記載の化合物、またはその塩。

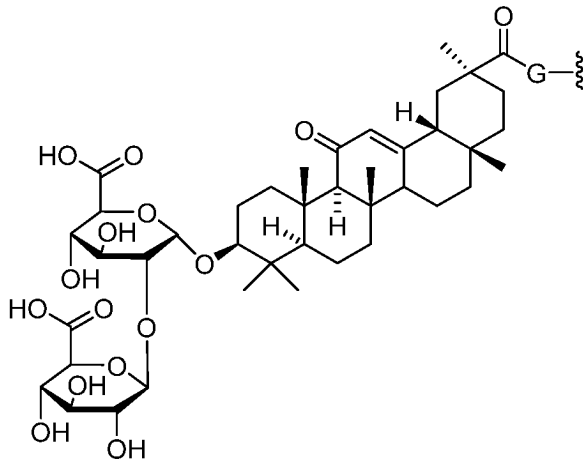
[実施態様 1 9]

R¹ は、

40

50

【化 3 0 6】



10

である、実施態様 8、17、及び 18 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 20]

R^Cは、

【化 3 0 7】

20



である、実施態様 17 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 21]

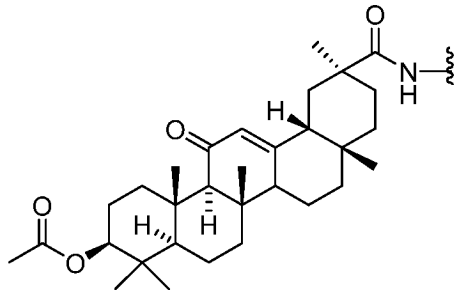
G は -NH- である、実施態様 17 ~ 20 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 22]

R¹は、

【化 3 0 8】

30



40

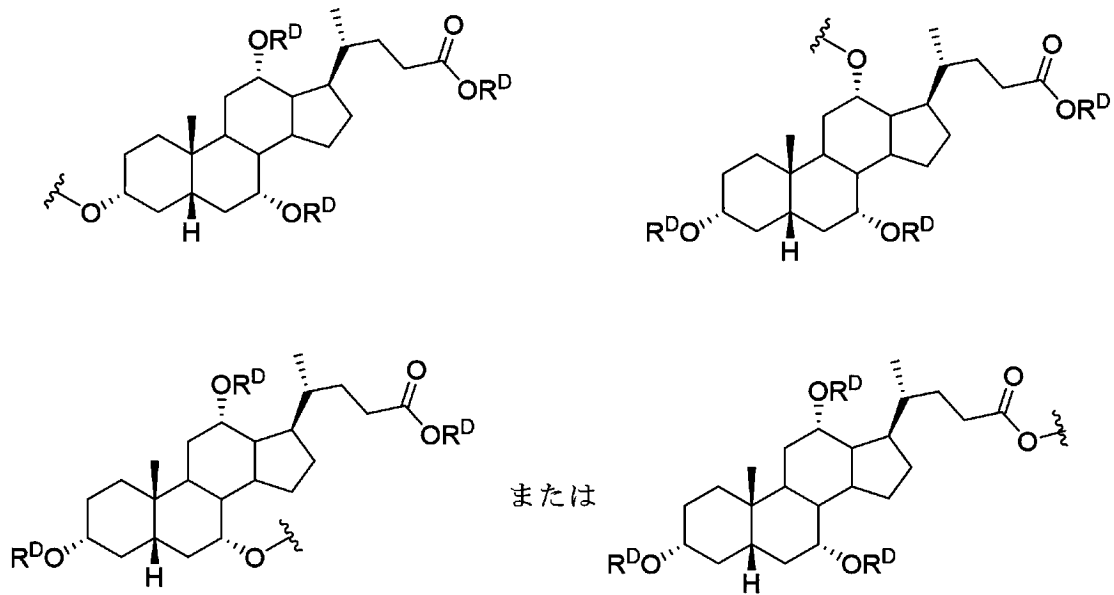
である、実施態様 8、17、20、及び 21 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 23]

R¹は、

50

【化 3 0 9】



10

20

であり、

式中、各 R^D は、独立して、水素、($C_1 \sim C_6$) アルキル、($C_9 \sim C_{20}$) アルキルシリル、(R^W)₃ Si -、($C_2 \sim C_6$) アルケニル、テトラヒドロピラニル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイル、ベンゾイル、アリール ($C_1 \sim C_3$) アルキル、T M T r (トリメトキシトリチル)、D M T r (ジメトキシトリチル)、M M T r (モノメトキシトリチル)、及び T r (トリチル) からなる群より選択され、

各 R^W は、独立して、($C_1 \sim C_4$) アルキル及びアリールからなる群より選択される) である、実施態様 8 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 2 4]

L^1 及び L^2 は、独立して、1 ~ 50 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上 (例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個) は、- O -、- N R^X -、- N R^X - C (= O) -、- C (= O) - N R^X -、または - S - で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または ($C_1 \sim C_6$) アルキルであり、前記炭化水素鎖は、($C_1 \sim C_6$) アルコキシ、($C_3 \sim C_6$) シクロアルキル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイルオキシ、($C_1 \sim C_6$) アルコキシカルボニル、($C_1 \sim C_6$) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ (= O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上 (例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ) の置換基で場合により置換されている、実施態様 8 ~ 23 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

30

40

[実施態様 2 5]

L^1 及び L^2 は、独立して、1 ~ 20 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上 (例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個) は、- O -、- N R^X -、- N R^X - C (= O) -、- C (= O) - N R^X -、または - S - で場合により置き換えられており、 R^X は、水素または ($C_1 \sim C_6$) アルキルであり、前記炭化水素鎖は、($C_1 \sim C_6$) アルコキシ、($C_3 \sim C_6$) シクロアルキル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイル、($C_1 \sim C_6$) アルカノイルオキシ、($C_1 \sim C_6$) アルコキシカルボニル、($C_1 \sim C_6$) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ (= O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上 (例

50

例えば1つ、2つ、3つ、または4つ)の置換基で場合により置換されている、実施態様8~24のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様26]

L¹及びL²は、独立して、1~14個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち1個以上(例えば1個、2個、3個、または4個)は、場合により置き換えられており、-O-、-NR^X-、-NR^X-C(=O)-、-C(=O)-NR^X-、または-S-であり、R^Xは、水素または(C₁~C₆)アルキルであり、前記炭化水素鎖は、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₃~C₆)シクロアルキル、(C₁~C₆)アルカノイル、(C₁~C₆)アルカノイルオキシ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニル、(C₁~C₆)アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリアル、アリアルオキシ、ヘテロアリアル、及びヘテロアリアルオキシから選択される1つ以上(例えば1つ、2つ、3つ、または4つ)の置換基で場合により置換されている、実施態様8~25のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

10

[実施態様27]

L¹は、-NH-、-O-、-S-、-(C=O)-、-(C=O)-NH-、-NH-(C=O)-、-(C=O)-O-、-NH-(C=O)-NH-、または-NH-(SO₂)-を介してR¹に結合している、実施態様8~26のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様28]

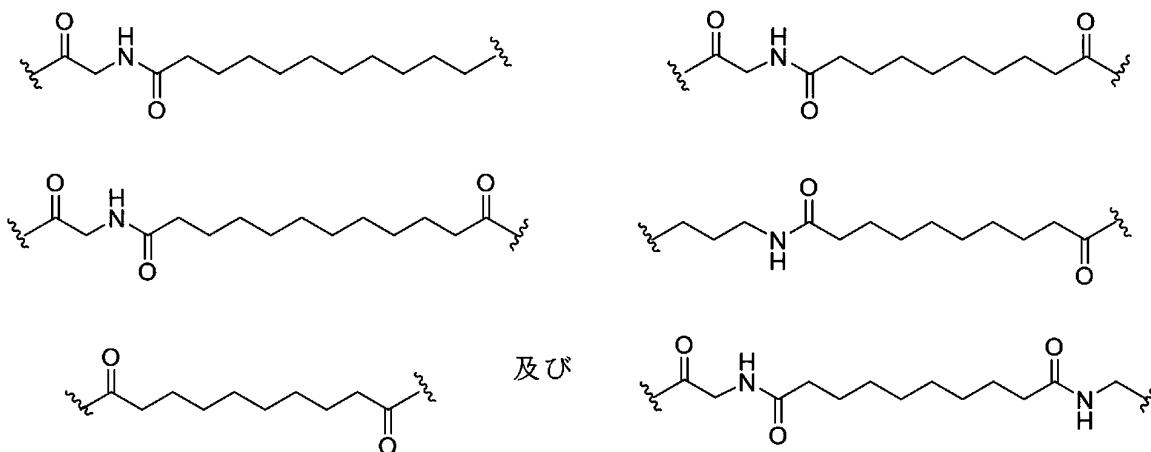
L²は、-O-を介してR²に結合している、実施態様8~27のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

20

[実施態様29]

L¹は、

【化310】



30

40

からなる群より選択される、実施態様8~28のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様30]

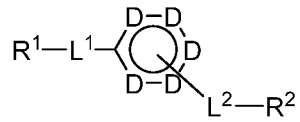
L²は、-CH₂-O-または-CH₂-CH₂-O-である、実施態様8~29のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様31]

式(Ia)の化合物:

50

【化 3 1 1】



(1a)

であって、

式中、

各 D は、独立して、

【化 3 1 2】



及び - N = からなる群より選択される、
実施態様 8 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 3 2]

10

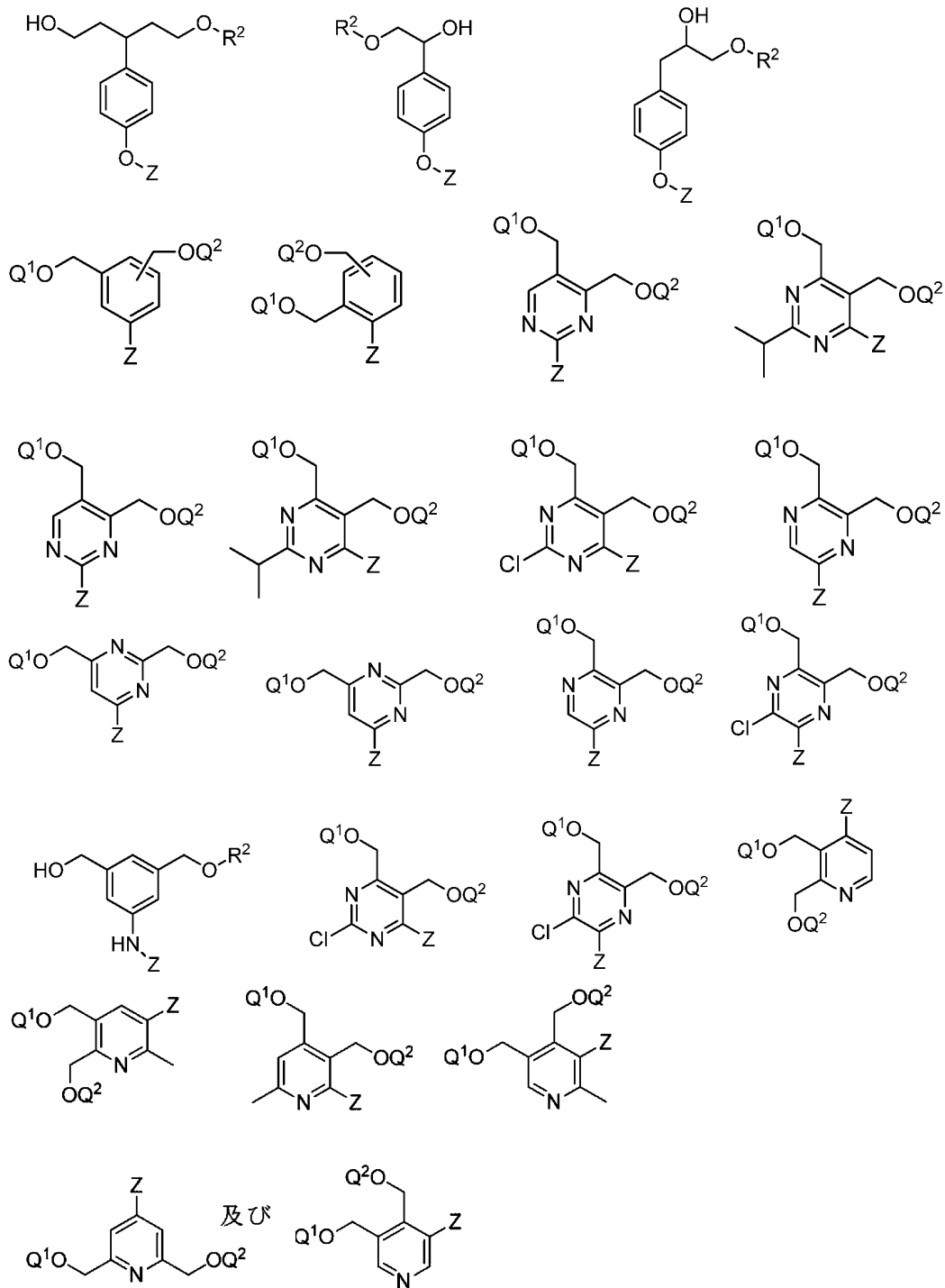
20

30

40

50

【化 3 1 3】



10

20

30

40

ならびにそれらの塩からなる群より選択され、

式中、

Q¹は水素であり、Q²はR²であるか、またはQ¹はR²であり、Q²は水素であり、
Zは-L¹-R¹である、

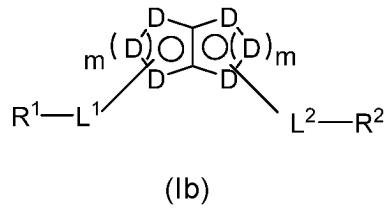
実施態様 8 または実施態様 3 1 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 3 3]

式 (I b) の化合物：

50

【化 3 1 4】



であって、

式中、

各 D は、独立して、

【化 3 1 5】



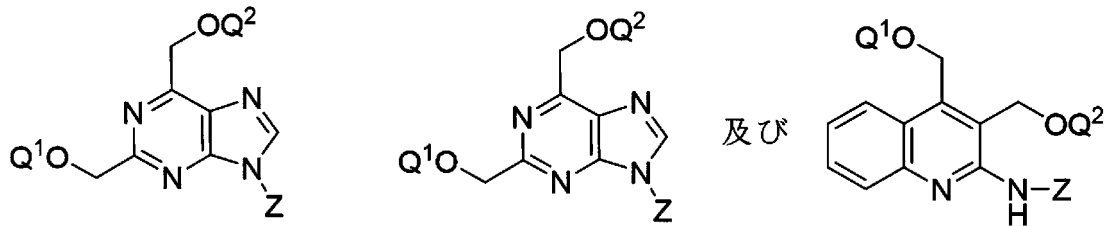
及び - N = からなる群より選択され、

各 m は、独立して、1 または 2 である、

実施態様 8 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 3 4]

【化 3 1 6】



ならびにそれらの塩からなる群より選択され、

式中、

Q¹ は水素であり、Q² は R² であるか、または Q¹ は R² であり、Q² は水素であり、Z は - L¹ - R¹ である、

実施態様 8 または実施態様 3 3 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 3 5]

式 (I c) の化合物：

10

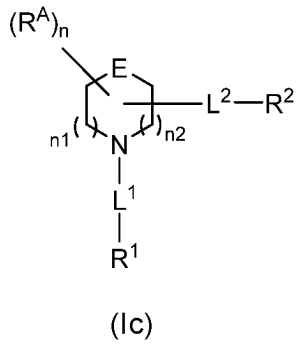
20

30

40

50

【化 3 1 7】



10

またはその塩であり、

式中、

E は、 $-O-$ または $-CH_2-$ であり、

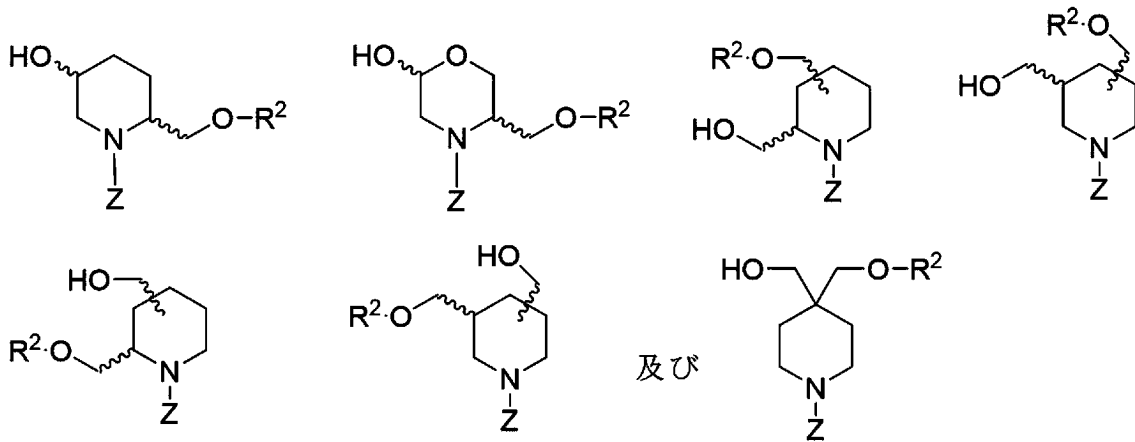
n は、0、1、2、3、及び 4 からなる群より選択され、

n1 及び n2 は、それぞれ独立して、0、1、2、及び 3 からなる群より選択される、
実施態様 8 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 3 6]

20

【化 3 1 8】



30

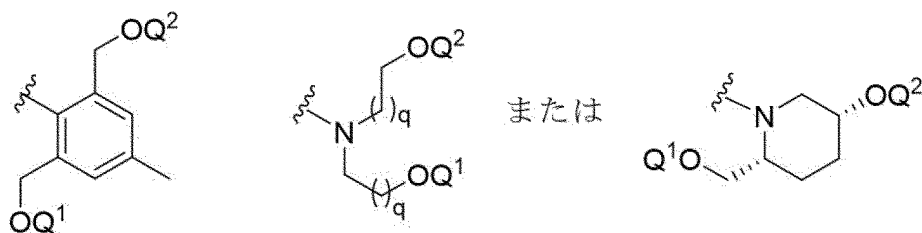
ならびにそれらの塩からなる群より選択され、式中、Z は $-L^1-R^1$ である)、
実施態様 8 または実施態様 3 5 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 3 7]

前記 $-A-L^2-R^2$ 部分は、

40

【化 3 1 9】



50

であり、

式中、

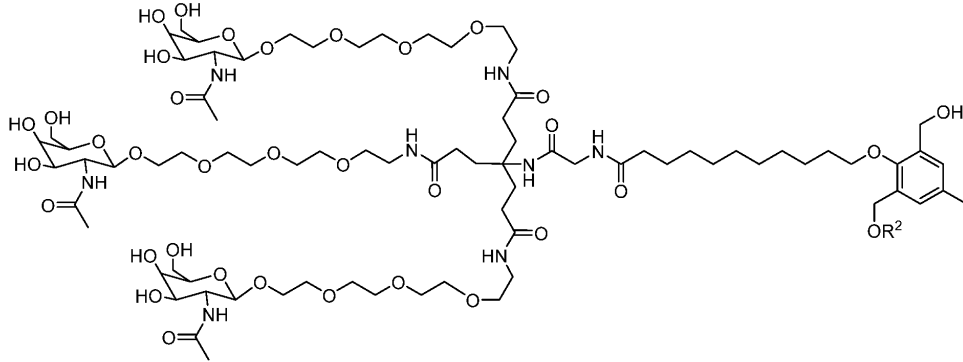
Q^1 は水素であり、 Q^2 は R^2 であるか、または Q^1 は R^2 であり、 Q^2 は水素であり、

各 q は、独立して、0、1、2、3、4、または5である、

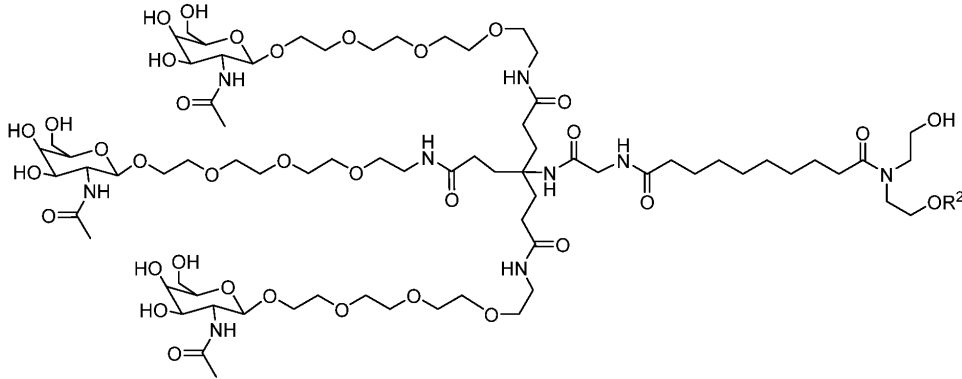
実施態様 8 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 3 8]

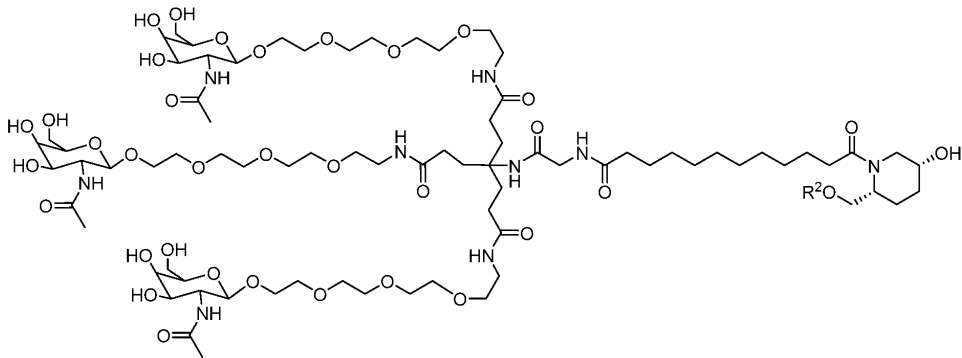
【 化 3 2 0 】



10

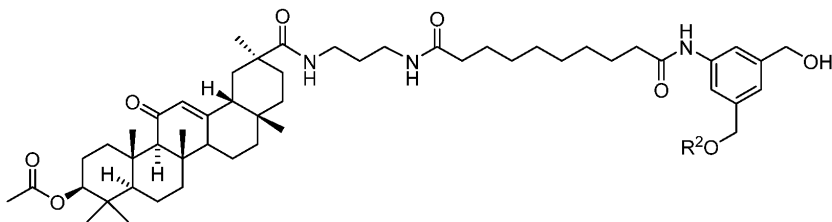


20



30

及び



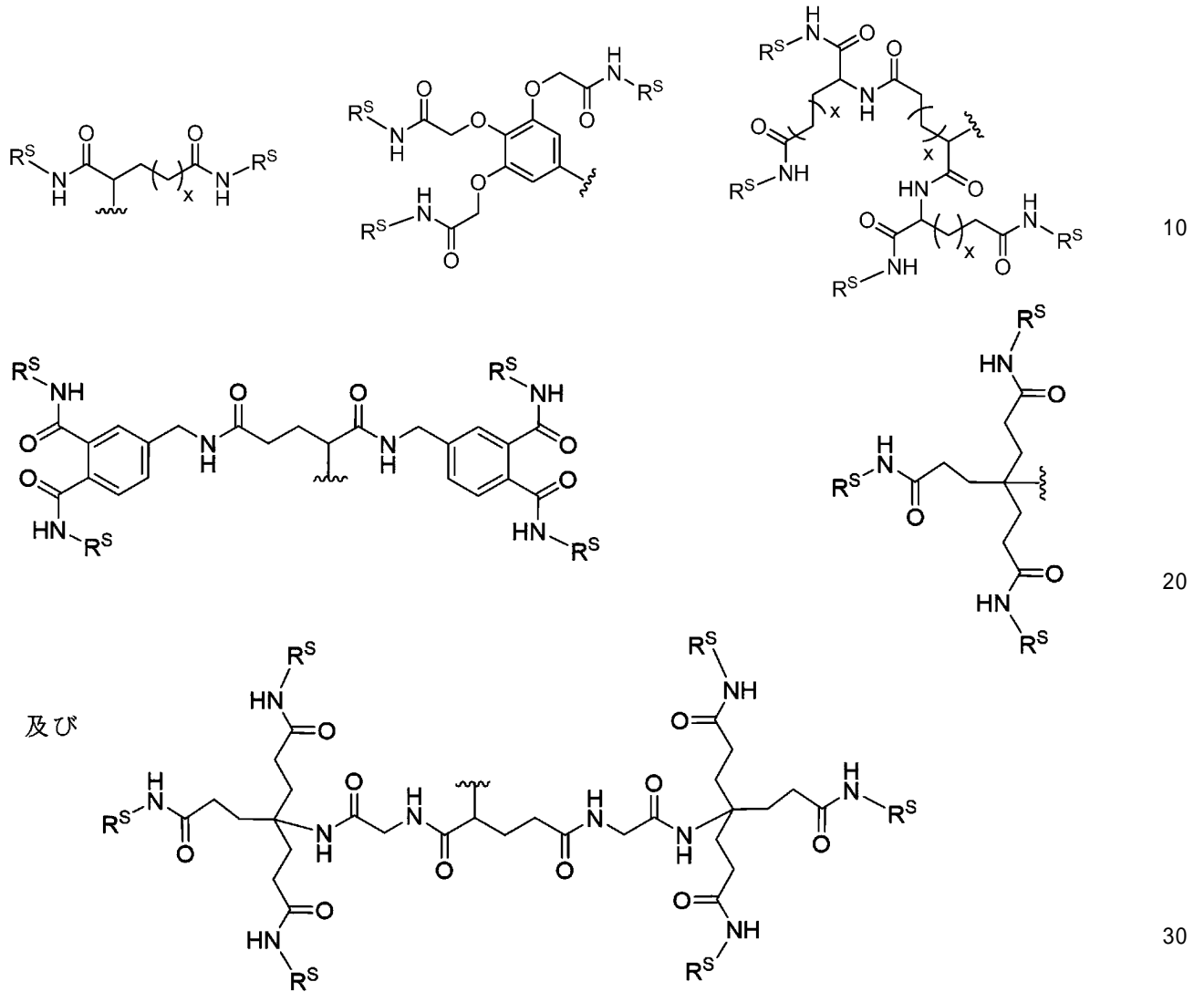
40

ならびにそれらの塩からなる群より選択される、実施態様 8 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 3 9]

50

R¹は、
【化321】

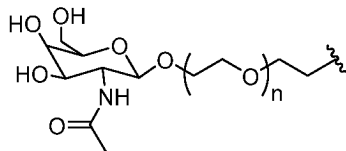


からなる群より選択され、

式中、

R^Sは、

【化322】



であり、

nは、2、3、または4であり、

xは、1または2である、

実施態様7に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様40]

L¹は、

10

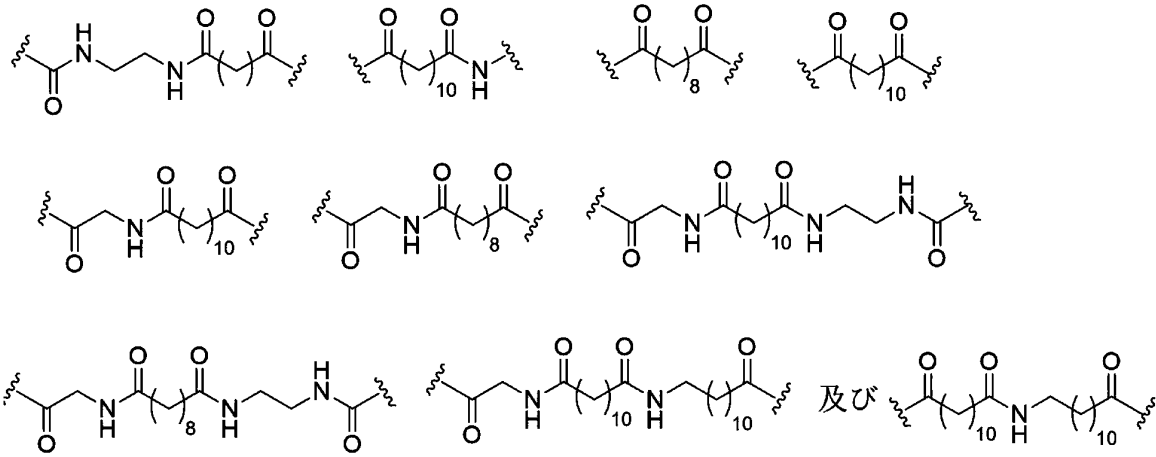
20

30

40

50

【化 3 2 3】



10

からなる群より選択される、実施態様 7 または 3 9 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 4 1]

A は、存在しないか、フェニル、ピロリジニル、またはシクロペンチルである、実施態様 7、3 9、及び 4 0 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

20

[実施態様 4 2]

L² は、ヒドロキシで場合により置換されている C₁~4 アルキレン - O - である、実施態様 7 及び 3 9 ~ 4 1 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 4 3]

L² は、-CH₂O-、-CH₂CH₂O-、または -CH(OH)CH₂O- である、実施態様 7 及び 3 9 ~ 4 2 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 4 4]

各 R^A は、独立して、ヒドロキシ、またはヒドロキシルで場合により置換されている C₁~8 アルキルである、実施態様 7 及び 3 9 ~ 4 3 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

30

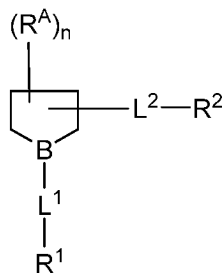
[実施態様 4 5]

各 R^A は、独立して、ヒドロキシ、メチル、及び -CH₂OH からなる群より選択される、実施態様 7 及び 3 9 ~ 4 4 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 4 6]

式 (I g) の化合物：

【化 3 2 4】



40

(I g)

またはその塩であり、

式中、

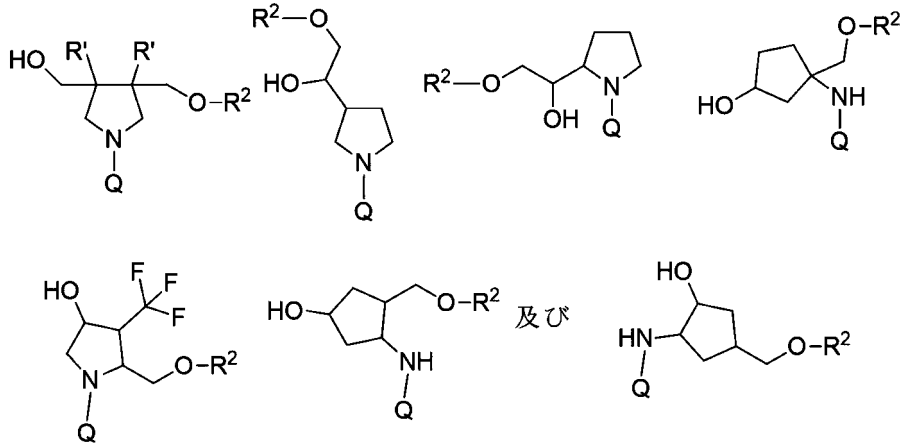
50

B は、 - N - または - CH - であり、
 L^2 は、ヒドロキシルまたはハロで場合により置換されている $C_1 \sim 4$ アルキレン - O -
 であり、

n は、 0、 1、 2、 3、 4、 5、 6、 または 7 である、
 実施態様 7 に記載の化合物、 またはその塩。

[実施態様 4 7]

【 化 3 2 5 】



10

20

ならびにそれらの塩からなる群より選択され、

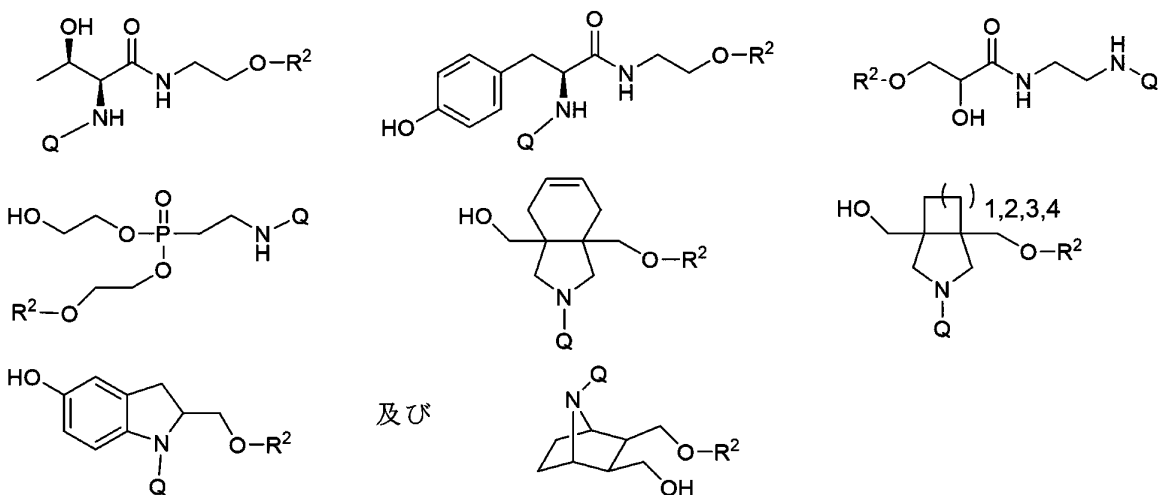
式中、 Q は - L^1 - R^1 であり、

R^1 は、 $C_1 \sim 9$ アルキル、 $C_2 \sim 9$ アルケニル、 または $C_2 \sim 9$ アルキニルであり、 前記
 $C_1 \sim 9$ アルキル、 $C_2 \sim 9$ アルケニル、 または $C_2 \sim 9$ アルキニルは、 ハロまたはヒドロ
 キシルで場合により置換されている、

実施態様 7 または 4 6 に記載の化合物、 またはその塩。

[実施態様 4 8]

【 化 3 2 6 】



30

40

ならびにそれらの塩からなる群より選択され、

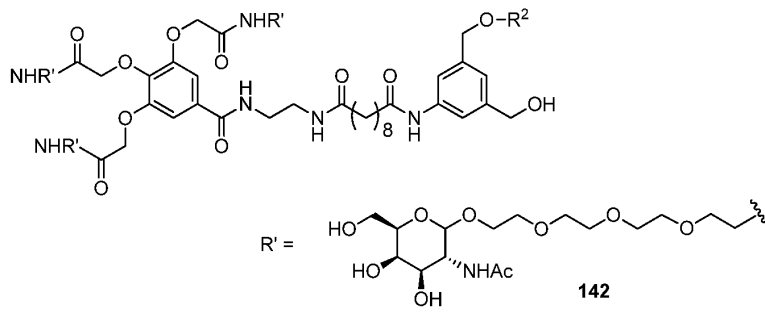
式中、 Q は - L^1 - R^1 である、

実施態様 7 に記載の化合物、 またはその塩。

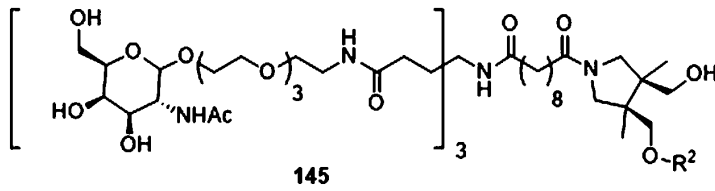
[実施態様 4 9]

50

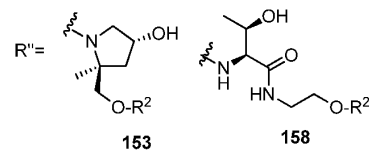
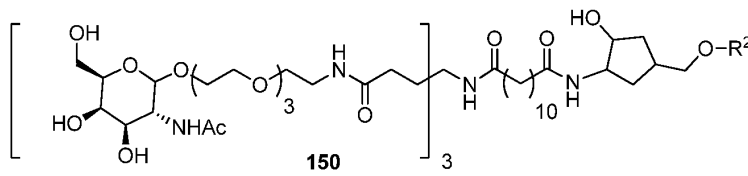
【化 3 2 7 - 1】



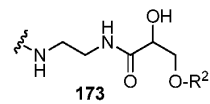
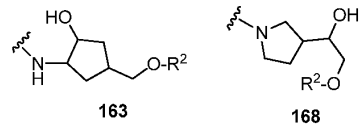
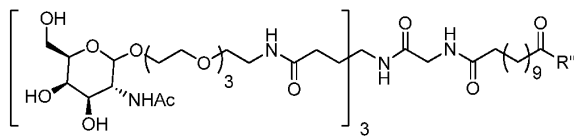
10



20



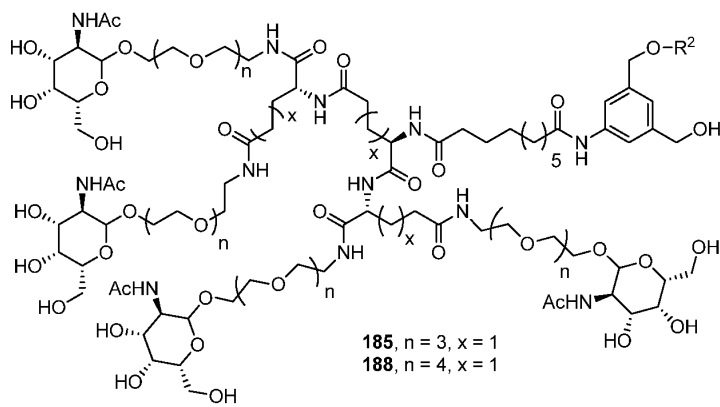
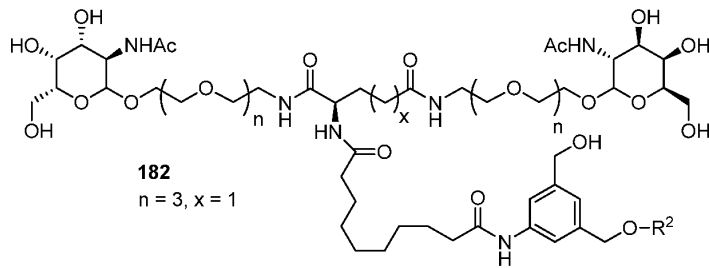
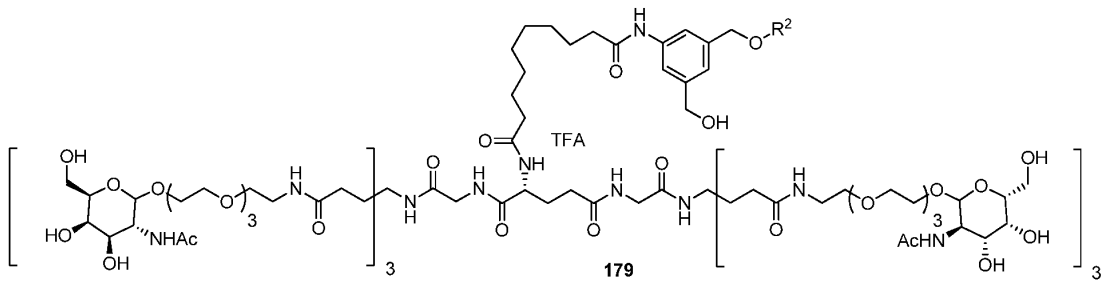
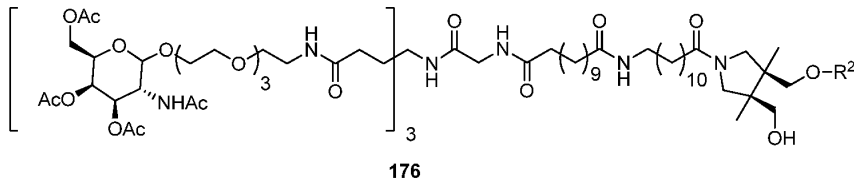
30



40

50

【化 3 2 7 - 2】



10

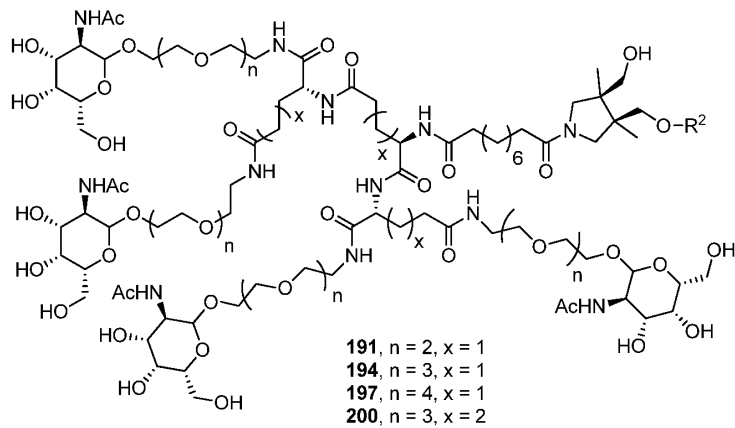
20

30

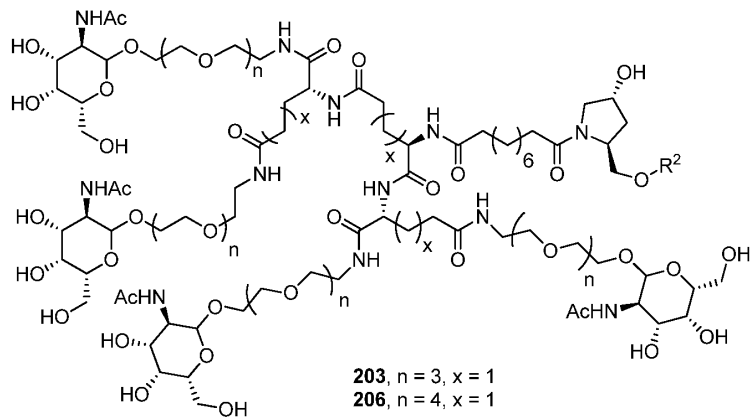
40

50

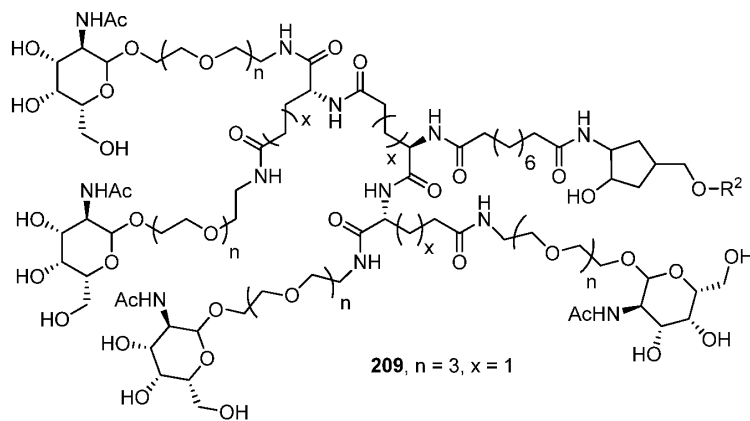
【化 3 2 7 - 3】



10



20

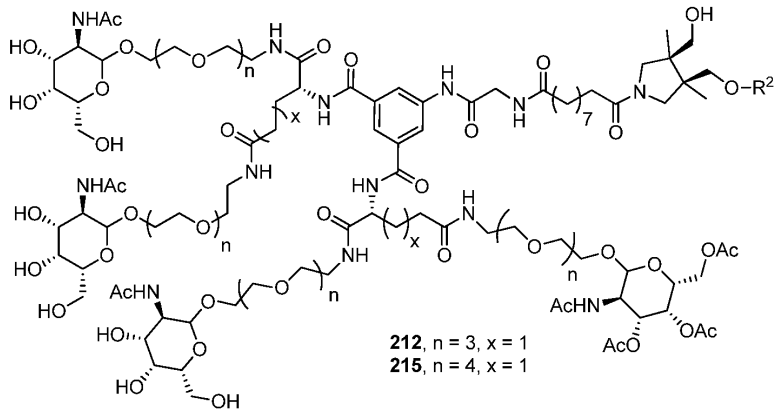


30

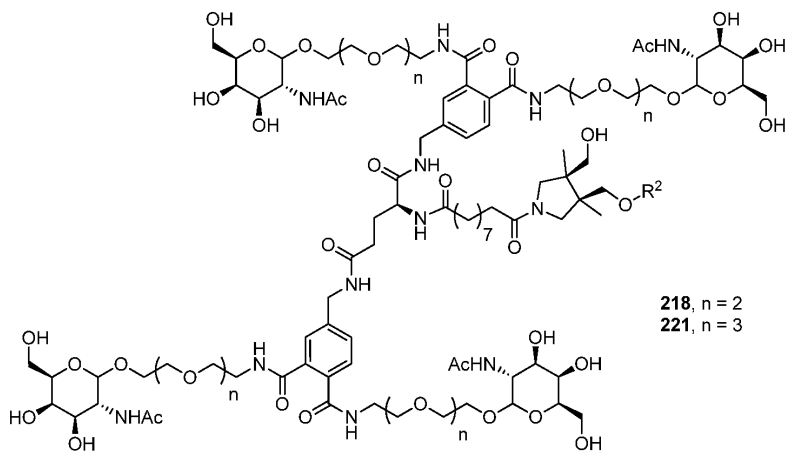
40

50

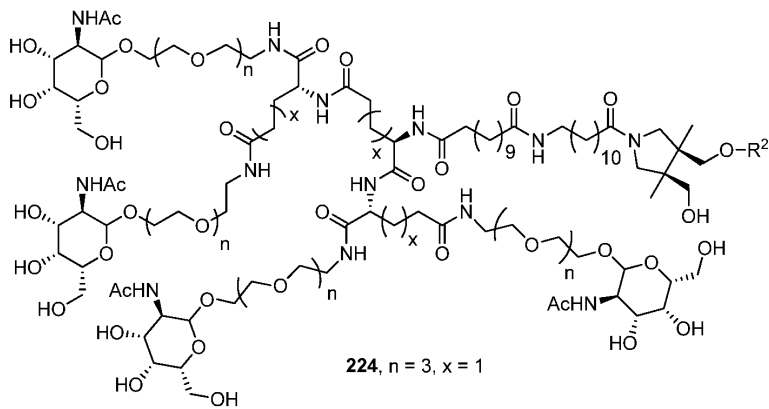
【化 3 2 7 - 4】



10



20



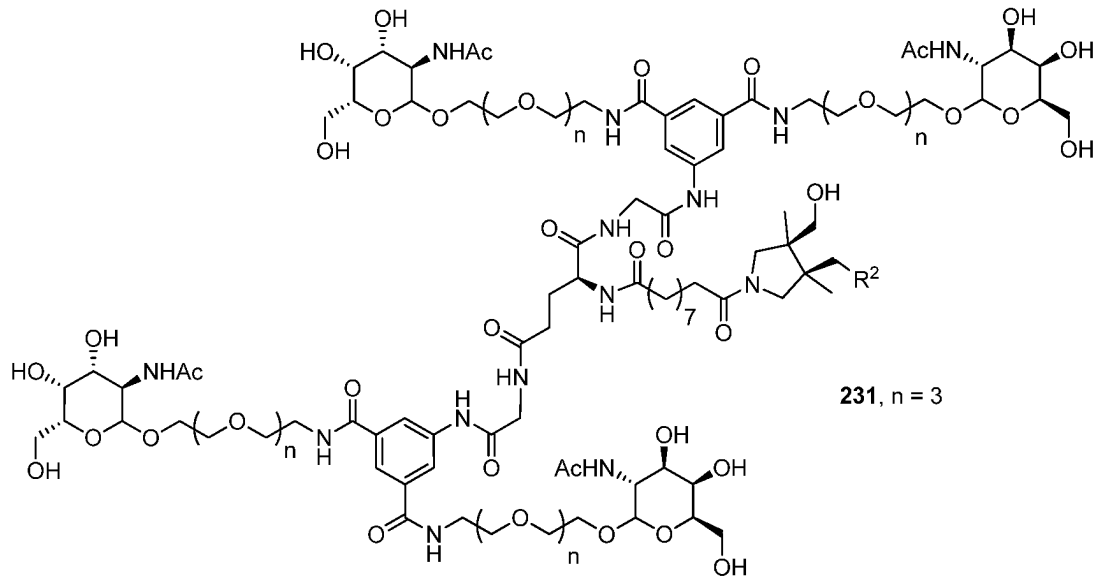
30

及び

40

50

【化 3 2 7 - 5】



10

ならびにそれらの薬学的に許容される塩からなる群より選択され、式中、 R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、実施態様 7 に記載の化合物、またはその塩。

20

[実施態様 50]

実施態様 1 ~ 49 のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

[実施態様 51]

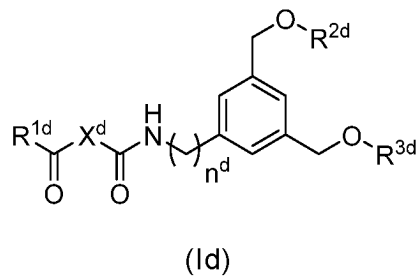
動物の肝臓に siRNA を送達する方法であって、実施態様 1 ~ 49 のいずれかに記載の式 I の化合物またはその薬学的に許容される塩を前記動物に投与することを含む、前記方法。

[実施態様 52]

式 (I d) の化合物：

30

【化 3 2 8】



40

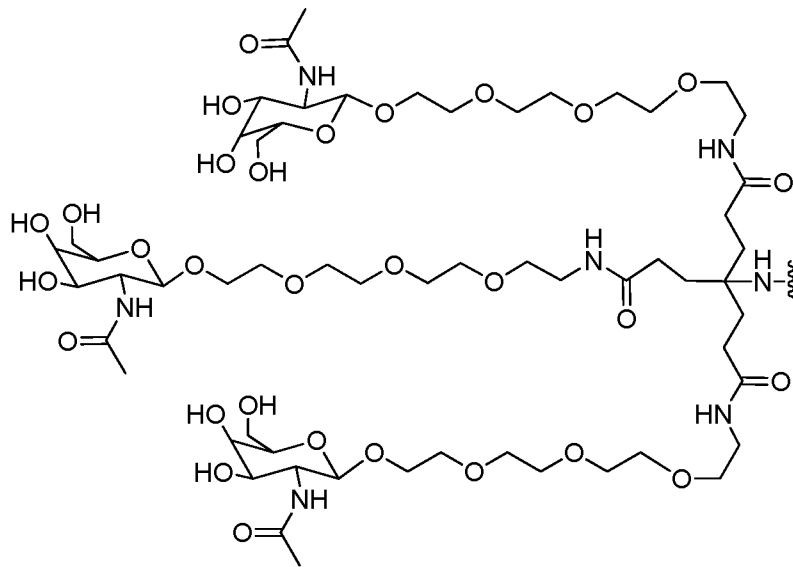
またはその塩であり、

式中、

R^{1d} は、

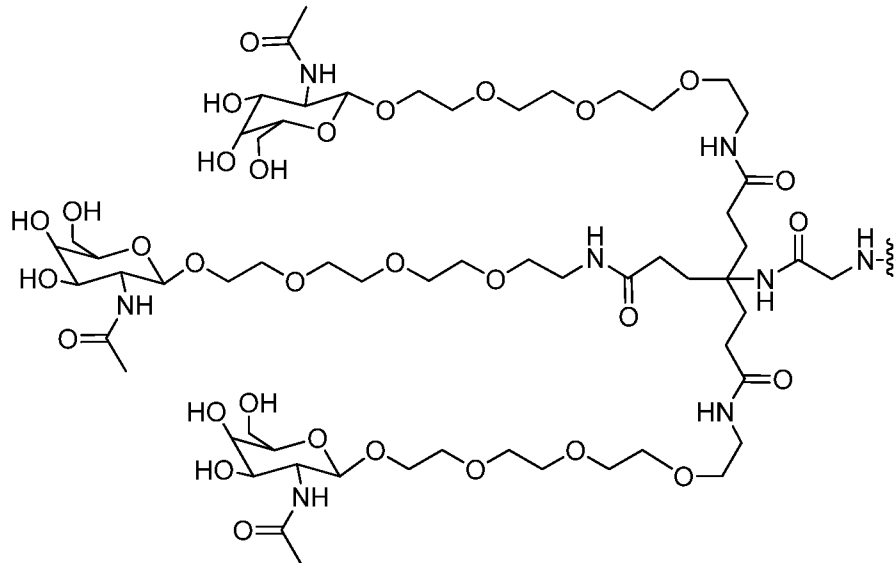
50

【化 3 2 9】



10

及び



20

30

から選択され、

 X^d は、 $C_2 \sim 10$ アルキレンであり、 n^d は、0 または 1 であり、 R^{2d} は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子であり、

40

 R^{3d} は、H、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合である、

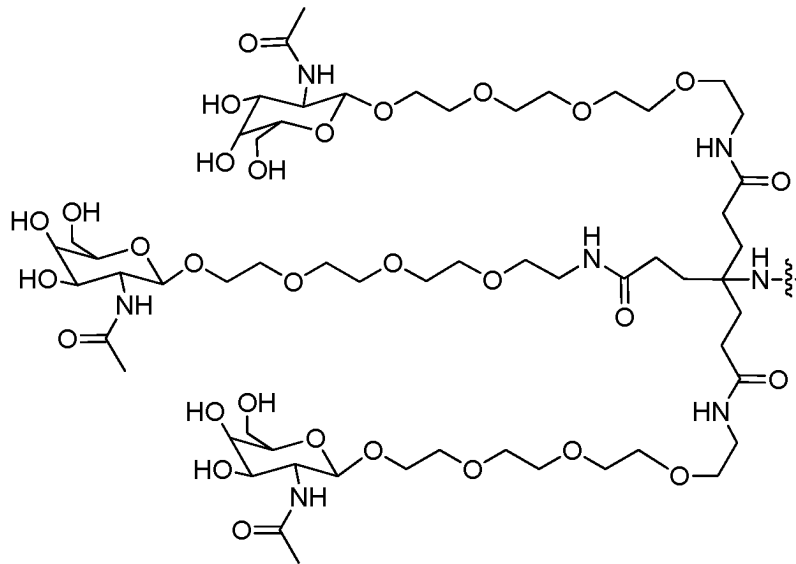
実施態様 8 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 5 3]

 R^{1d} は、

50

【化 3 3 0】



10

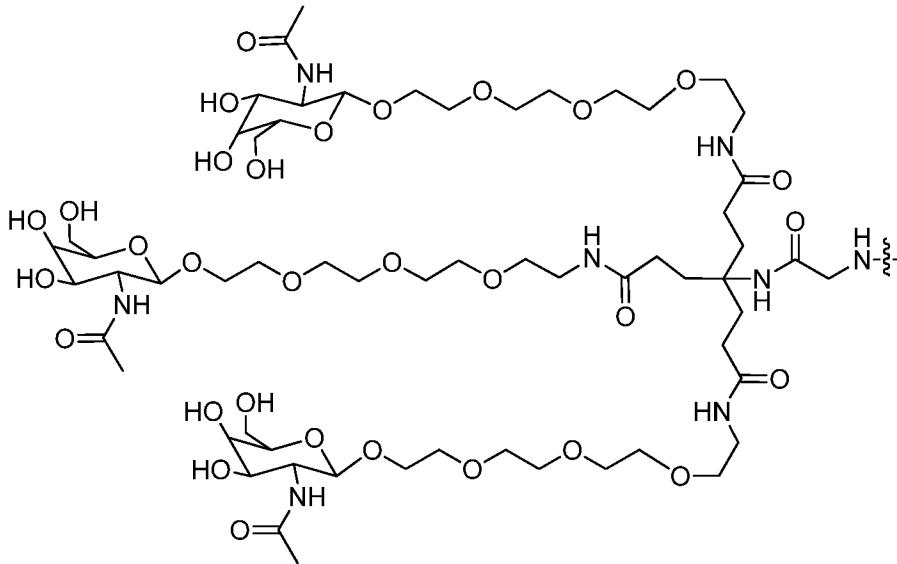
である、実施態様 5 2 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 5 4]

20

R^{1d} は、

【化 3 3 1】



30

である、実施態様 5 2 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 5 5]

X^d は、 C_8 アルキレンである、実施態様 5 2 ~ 5 4 のいずれかに記載の化合物または塩。

[実施態様 5 6]

n^d は、0 である、実施態様 5 2 ~ 5 4 のいずれかに記載の化合物または塩。

[実施態様 5 7]

R^{3d} は、H である、実施態様 5 2 ~ 5 6 のいずれかに記載の化合物または塩。

[実施態様 5 8]

R^{3d} は、固体支持体への共有結合である、実施態様 5 2 ~ 5 6 のいずれかに記載の化

50

合物または塩。

[実施態様59]

R^{3d} は、固体支持体に結合した結合基への結合であり、前記結合基は、2~15個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭素原子のうち1個以上(例えば1個、2個、3個、または4個)は、(-O-)または(-N(H)-)で場合により置き換えられており、前記鎖は、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₃~C₆)シクロアルキル、(C₁~C₆)アルカノイル、(C₁~C₆)アルカノイルオキシ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニル、(C₁~C₆)アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上(例えば1つ、2つ、3つ、または4つ)の置換基で炭素が場合により置換されている、実施態様52~56のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

10

[実施態様60]

R^{3d} は、固体支持体に結合した結合基への結合であり、前記結合基は、2~10個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭素原子のうち1個以上(例えば1個、2個、3個、または4個)は、(-O-)または(-N(H)-)で場合により置き換えられており、前記鎖は、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₃~C₆)シクロアルキル、(C₁~C₆)アルカノイル、(C₁~C₆)アルカノイルオキシ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニル、(C₁~C₆)アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上(例えば1つ、2つ、3つ、または4つ)の置換基で炭素が場合により置換されている、実施態様52~56のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

20

[実施態様61]

R^{3d} は、固体支持体に結合した結合基への結合であり、前記結合基は、-C(=O)CH₂CH₂C(=O)N(H)-である、実施態様52~56のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様62]

実施態様52~61のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

30

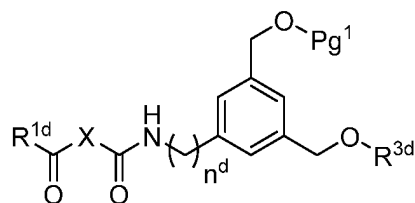
[実施態様63]

動物の肝臓にsiRNAを送達する方法であって、実施態様52~61のいずれかに記載の式Idの化合物またはその薬学的に許容される塩を前記動物に投与することを含む、前記方法。

[実施態様64]

実施態様48に記載の式(Id)の化合物、またはその塩を調製する方法であって、対応する式(Ie)の化合物：

【化332】



(Ie)

40

(式中、

X^d は、C₂~8アルキレンであり、

50

n^d は、0 または 1 であり、

Pg^1 は、H であり、

R^{3d} は、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合である) を、固相核酸合成条件に供し、対応する式 I d の化合物 (式中、 R^{2d} は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である) をもたらし、前記方法。

[実施態様 6 5]

前記化合物を前記固体支持体から除去して、 R^{3d} が H である対応する式 I d の化合物をもたらし、前記方法を更に含む、実施態様 6 4 に記載の方法。

[実施態様 6 6]

10

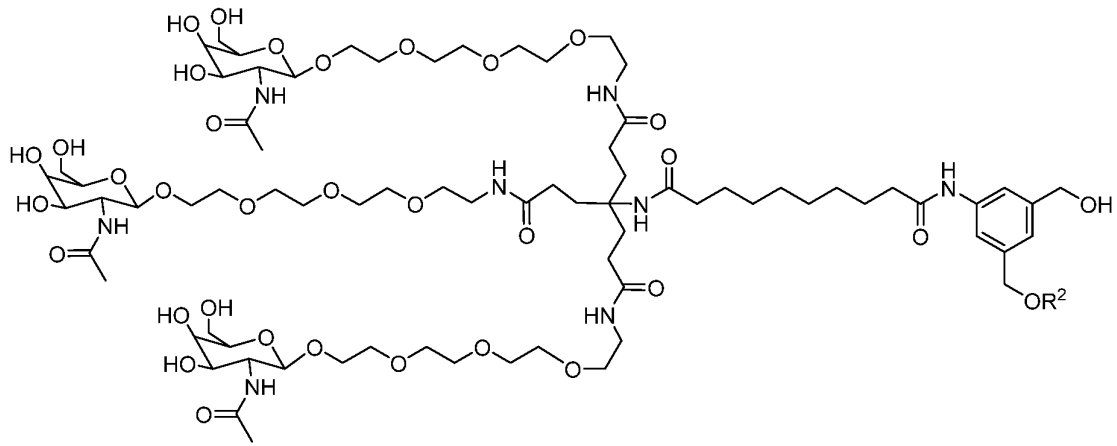
20

30

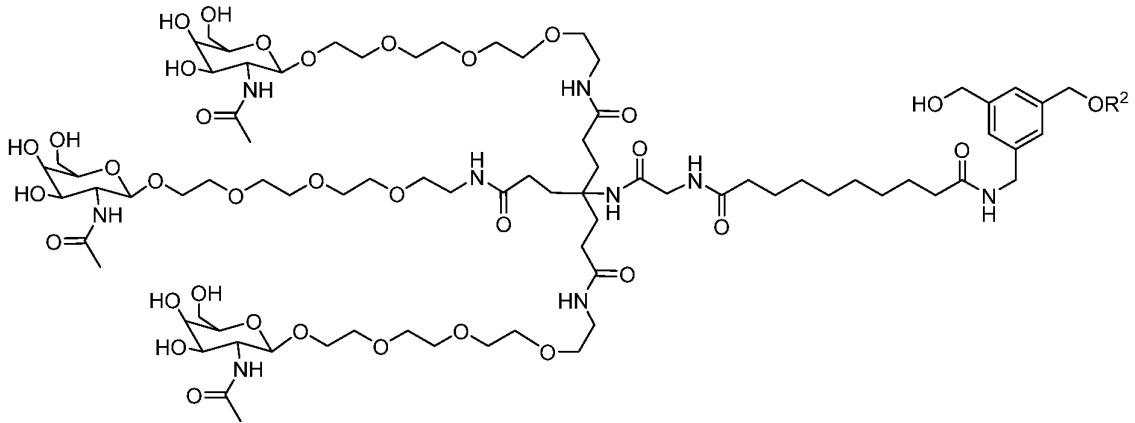
40

50

【化 3 3 3】

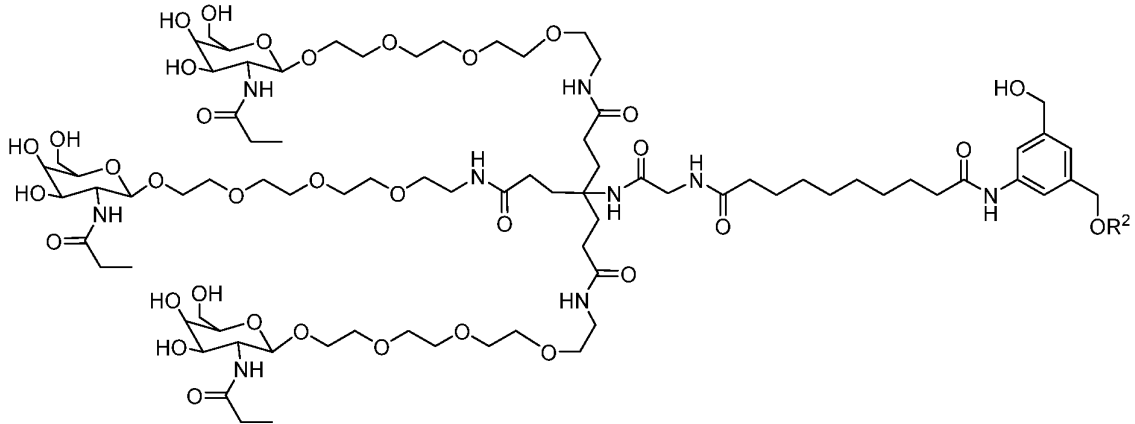


10



20

及び



30

40

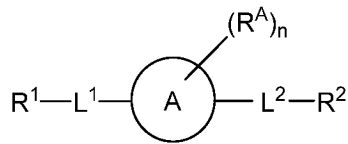
ならびにそれらの塩からなる群より選択される、実施態様 5 2 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 6 7]

式 (I) の化合物 :

50

【化 3 3 4】



(I)

10

またはその塩であって、

式中、

R^1 は、H または合成活性化基であり、

L^1 は、存在しないか、または結合基であり、

L^2 は、存在しないか、または結合基であり、

R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子であり、

環 A は、存在しないか、3 ~ 20 員シクロアルキル、5 ~ 20 員アリール、5 ~ 20 員ヘテロアリール、または 3 ~ 20 員ヘテロシクロアルキルであり、

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$ アルキル-OR^B、 C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルからなる群より選択され、前記 C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルは、ハロ、ヒドロキシ、及び C_{1-3} アルコキシから独立して選択される 1 つ以上の基で場合により置換されており、

20

R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 である、

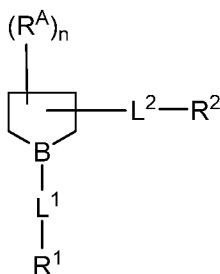
前記化合物、またはその塩。

[実施態様 6 8]

式 (I g) の化合物 :

30

【化 3 3 5】



(Ig)

40

またはその塩であり、

式中、

B は、 $-N-$ または $-CH-$ であり、

L^2 は、ヒドロキシルまたはハロで場合により置換されている C_{1-4} アルキレン- $O-$ であり、

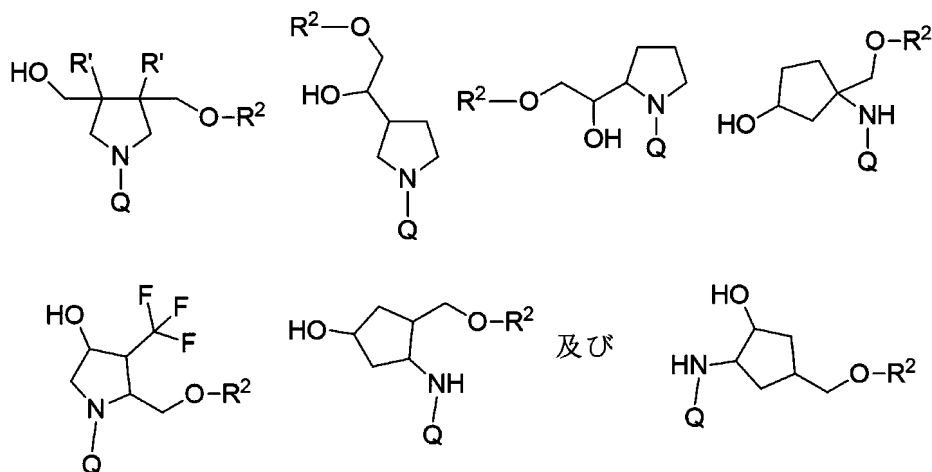
n は、0、1、2、3、4、5、6、または 7 である、

実施態様 6 7 に記載の化合物、またはその塩。

50

[実施態様 6 9]

【化 3 3 6】



10

ならびにそれらの塩からなる群より選択され、

式中、

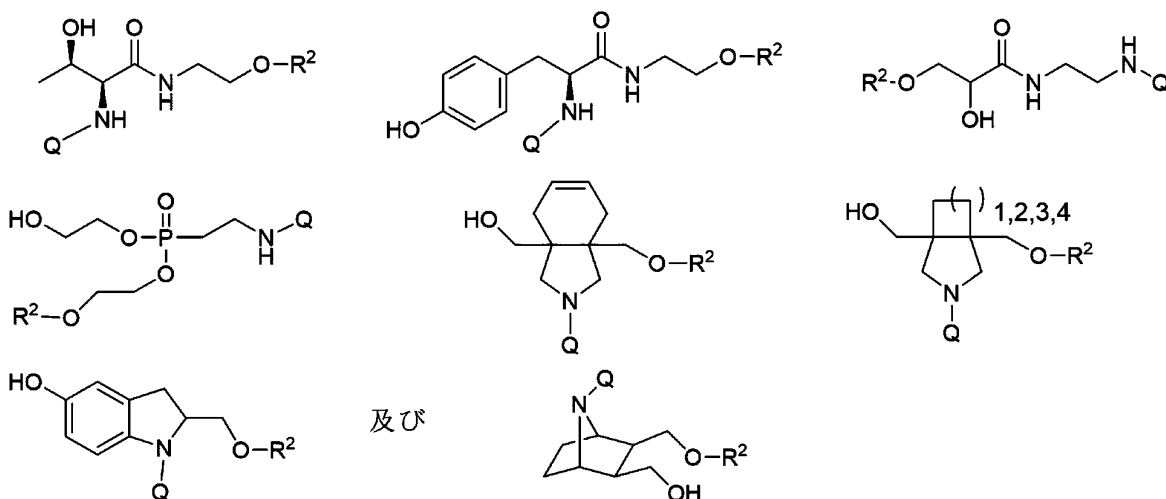
Q は $-L^1 - R^1$ であり、

R^1 は、 $C_1 \sim 9$ アルキル、 $C_2 \sim 9$ アルケニル、または $C_2 \sim 9$ アルキニルであり、前記 $C_1 \sim 9$ アルキル、 $C_2 \sim 9$ アルケニル、または $C_2 \sim 9$ アルキニルは、ハロまたはヒドロキシルで場合により置換されている、

実施態様 6 7 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 7 0]

【化 3 3 7】



30

ならびにそれらの塩からなる群より選択され、

式中、Q は $-L^1 - R^1$ である、実施態様 6 7 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 7 1]

R^1 は、H、または DCC、HOBt、EDC、BOP、PyBOP、もしくは HBTU から誘導できる合成活性化基である、実施態様 6 6 ~ 7 3 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 7 2]

R^1 は、DCC、HOBt、EDC、BOP、PyBOP、または HBTU から誘導で

50

きる合成活性化基である、実施態様 66 ~ 73 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 73]

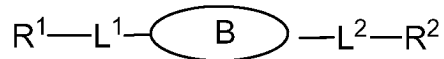
L¹ は、5 ~ 20 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、場合により置き換えられており、- O -、- NH -、- NH - C(=O) -、- C(=O) - NH -、または - S - である、実施態様 66 ~ 77 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 74]

式 (XX) の化合物：

【化 338】

10



(XX)

またはその塩であって、

式中、

R¹ は、標的化リガンドであり、

20

L¹ は、存在しないか、または結合基であり、

L² は、存在しないか、または結合基であり、

R² は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子であり、

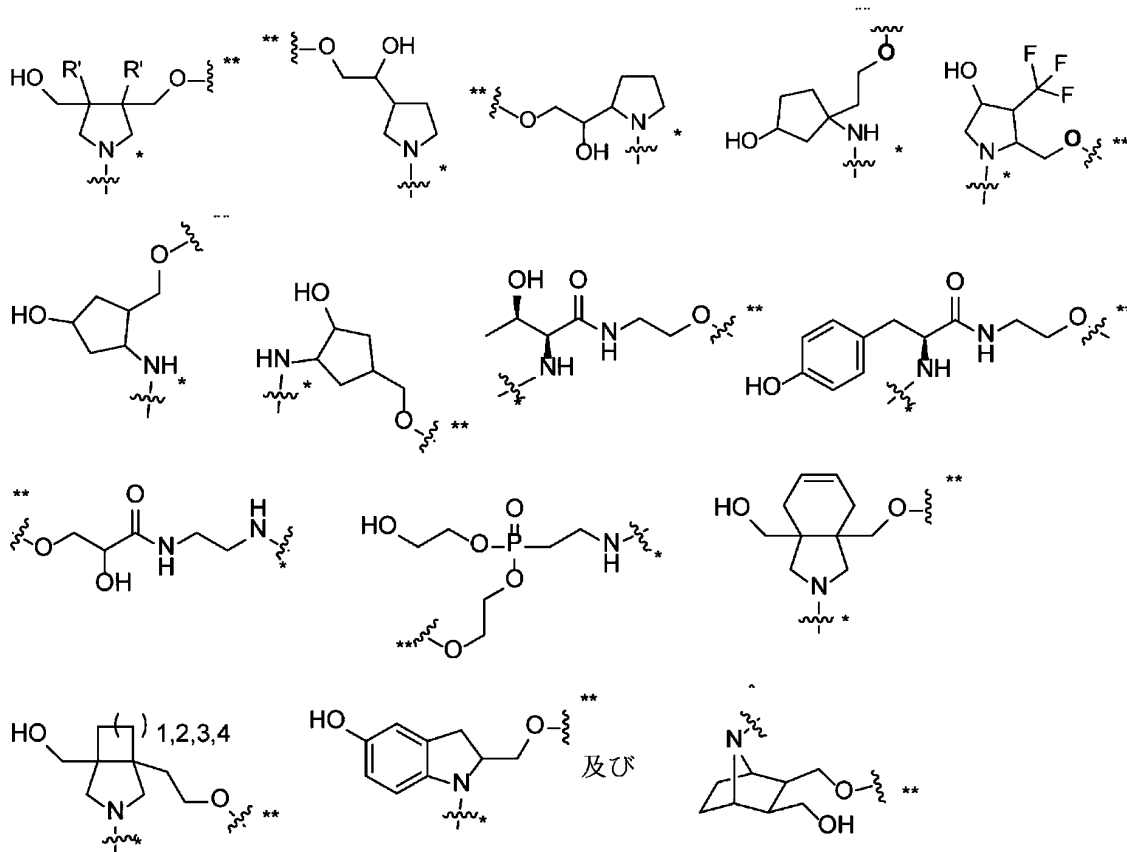
B は、二価であり、かつ、

30

40

50

【化 3 3 9】



10

20

からなる群より選択され、ここで、

各 R' は、独立して、C₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルであり、前記C₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルは、ハロまたはヒドロキシルで場合により置換されており、

30

* が付いた原子価は、L¹に結合しているか、またはL¹が存在しない場合はR¹に結合しており、

** が付いた原子価は、L²に結合しているか、またはL²が存在しない場合はR²に結合している、

前記化合物、またはその塩。

[実施態様 7 5]

前記標的化リガンドR¹は、2~8の糖類を含む、実施態様74に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 7 6]

前記標的化リガンドR¹は、2~4の糖類を含む、実施態様74に記載の化合物、またはその塩。

40

[実施態様 7 7]

前記標的化リガンドR¹は、3~8の糖類を含む、実施態様74に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 7 8]

前記標的化リガンドR¹は、3~6の糖類を含む、実施態様74に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 7 9]

前記標的化リガンドR¹は、3~4の糖類を含む、実施態様74に記載の化合物、またはその塩。

50

[実施態様 8 0]

前記標的化リガンド R^1 は、3つの糖類を含む、実施態様 7 4 に記載の化合物、またはその塩。

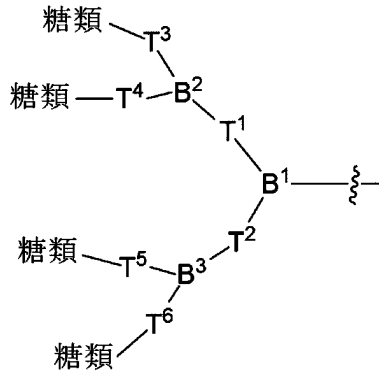
[実施態様 8 1]

前記標的化リガンド R^1 は、4つの糖類を含む、実施態様 7 4 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 8 2]

前記標的化部分 R^1 は、次式：

【化 3 4 0】



10

20

を有し、

式中、

B^1 は、約 1 個 ~ 約 2 0 個の原子を含む三価基であり、 L^1 、 T^1 、及び T^2 に共有結合しており、

B^2 は、約 1 個 ~ 約 2 0 個の原子を含む三価基であり、 T^1 、 T^3 、及び T^4 に共有結合しており、

B^3 は、約 1 個 ~ 約 2 0 個の原子を含む三価基であり、 T^2 、 T^5 、及び T^6 に共有結合しており、

30

T^1 は、存在しないか、または結合基であり、

T^2 は、存在しないか、または結合基であり、

T^3 は、存在しないか、または結合基であり、

T^4 は、存在しないか、または結合基であり、

T^5 は、存在しないか、または結合基であり、

T^6 は、存在しないか、または結合基である、

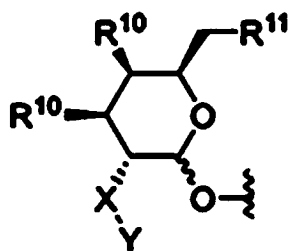
実施態様 7 ~ 8、3 1 ~ 3 6、3 8 ~ 3 9、4 0 ~ 4 4、4 6 ~ 4 8、6 7 ~ 6 9、及び 7 4 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 8 3]

各糖類は、独立して、

40

【化 3 4 1】



50

から選択され、

式中、

XはNR³であり、Yは、-(C=O)R⁴、-SO₂R⁵、及び-(C=O)NR⁶R⁷から選択されるか、またはXは-(C=O)-であり、YはNR⁸R⁹であり、

R³は、水素または(C₁~C₄)アルキルであり、

R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、及びR⁹は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₁~C₈)ハロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、ならびにハロ、(C₁~C₄)アルキル、(C₁~C₄)ハロアルキル、(C₁~C₄)アルコキシ、及び(C₁~C₄)ハロアルコキシからなる群より独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている(C₃~C₆)シクロアルキルからなる群より選択され、

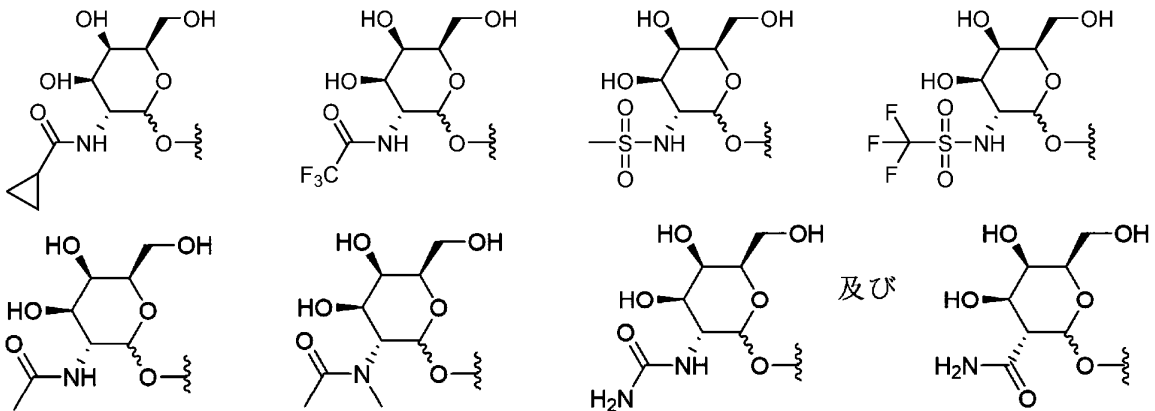
R¹⁰は、-OH、-NR⁸R⁹、または-Fであり、

R¹¹は、-OH、-NR⁸R⁹、-F、またはハロ、ヒドロキシル、カルボキシル、アミノ、(C₁~C₄)アルキル、(C₁~C₄)ハロアルキル、(C₁~C₄)アルコキシ、及び(C₁~C₄)ハロアルコキシからなる群より独立して選択される1つ以上の基で場合により置換されている5員複素環である、実施態様82に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様84]

前記糖類のそれぞれは、独立して、

【化342】



からなる群より選択される、実施態様82に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様85]

各糖類は、独立して、

【化343】



である、実施態様82に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様86]

T¹及びT²のうちの一方は存在しない、実施態様82~85のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 87]

T¹ 及び T² はいずれも存在しない、実施態様 82 ~ 85 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 88]

T¹、T²、T³、T⁴、T⁵、及び T⁶ のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 50 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、- O -、- NR^X -、- NR^X - C(=O) -、- C(=O) - NR^X -、または - S - で場合により置き換えられており、R^X は、水素または (C1 ~ C6) アルキルであり、前記炭化水素鎖は、(C1 ~ C6) アルコキシ、(C3 ~ C6) シクロアルキル、(C1 ~ C6) アルカノイル、(C1 ~ C6) アルカノイルオキシ、(C1 ~ C6) アルコキシカルボニル、(C1 ~ C6) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上（例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の置換基で場合により置換されている、実施態様 82 ~ 85 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

10

[実施態様 89]

T¹、T²、T³、T⁴、T⁵、及び T⁶ のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 20 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、- O -、- NR^X -、- NR^X - C(=O) -、- C(=O) - NR^X -、または - S - で場合により置き換えられており、R^X は、水素または (C1 ~ C6) アルキルであり、前記炭化水素鎖は、(C1 ~ C6) アルコキシ、(C3 ~ C6) シクロアルキル、(C1 ~ C6) アルカノイル、(C1 ~ C6) アルカノイルオキシ、(C1 ~ C6) アルコキシカルボニル、(C1 ~ C6) アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される 1 つ以上（例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の置換基で場合により置換されている、実施態様 82 ~ 85 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

20

[実施態様 90]

T¹、T²、T³、T⁴、T⁵、及び T⁶ のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 50 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは不飽和の炭化水素鎖、またはその塩であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、- O - または - NR^X - で場合により置き換えられており、R^X は、水素または (C1 ~ C6) アルキルであり、前記炭化水素鎖は、ハロ、ヒドロキシ、及びオキソ(=O) から選択される 1 つ以上（例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の置換基で場合により置換されている、実施態様 82 ~ 85 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

30

[実施態様 91]

T¹、T²、T³、T⁴、T⁵、及び T⁶ のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 20 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは非飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、- O - で場合により置き換えられており、前記炭化水素鎖は、ハロ、ヒドロキシ、及びオキソ(=O) から選択される 1 つ以上（例えば 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つ）の置換基で場合により置換されている、実施態様 82 ~ 85 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

40

[実施態様 92]

T¹、T²、T³、T⁴、T⁵、及び T⁶ のそれぞれは、独立して、存在しないか、または 1 ~ 20 個の炭素原子を有する分枝状もしくは非分枝状、飽和もしくは非飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、ま

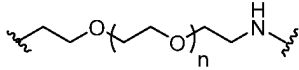
50

たは4個)は、-O-で場合により置き換えられており、前記炭化水素鎖は、八口、ヒドロキシ、及びオキソ(=O)から選択される1つ以上(例えば1つ、2つ、3つ、または4つ)の置換基で場合により置換されている、実施態様82~85のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様93]

T³、T⁴、T⁵、及びT⁶のうち少なくとも1つは、

【化344】



10

であり、

式中、

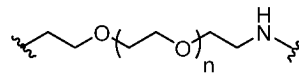
n = 1、2、3である、

実施態様82~85のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様94]

T³、T⁴、T⁵、及びT⁶のそれぞれは、独立して、

【化345】



20

からなる群より選択され、

式中、

n = 1、2、3である、

実施態様82~85のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様95]

T¹及びT²のうち少なくとも1つはグリシンである、実施態様82~85のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

30

[実施態様96]

T¹及びT²のそれぞれはグリシンである、実施態様82~85のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様97]

B¹は、1~15個の原子を含む三価基であり、L¹、T¹、及びT²に共有結合している、実施態様82~96のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様98]

B¹は、1~10個の原子を含む三価基であり、L¹、T¹、及びT²に共有結合している、実施態様82~96のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

40

[実施態様99]

B¹は(C₁~C₆)アルキルを含む、実施態様82~96のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様100]

B¹はC₃~₈シクロアルキルを含む、実施態様82~96のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様101]

B¹はシリル基を含む、実施態様82~96のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様102]

B¹はD-アミノ酸またはL-アミノ酸を含む、実施態様82~96のいずれかに記載

50

の化合物、またはその塩。

[実施態様 103]

B¹ は糖類を含む、実施態様 82 ~ 96 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 104]

B¹ はリン酸基を含む、実施態様 82 ~ 96 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 105]

B¹ はホスホン酸基を含む、実施態様 82 ~ 96 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 106]

B¹ はアリールを含む、実施態様 82 ~ 96 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

10

[実施態様 107]

B¹ はフェニル環を含む、実施態様 82 ~ 96 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 108]

B¹ はフェニル環である、実施態様 82 ~ 96 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 109]

B¹ は CH である、実施態様 82 ~ 96 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 110]

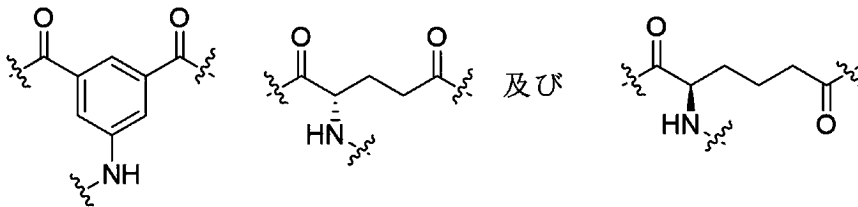
B¹ はヘテロアリールを含む、実施態様 82 ~ 96 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

20

[実施態様 111]

B¹ は、

【化 346】



30

である、実施態様 82 ~ 96 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 112]

B² は、1 ~ 15 個の原子を含む三価基であり、L¹、T¹、及び T² に共有結合している、実施態様 82 ~ 111 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 113]

B² は、1 ~ 10 個の原子を含む三価基であり、L¹、T¹、及び T² に共有結合している、実施態様 82 ~ 111 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

40

[実施態様 114]

B² は (C₁ ~ C₆) アルキルを含む、実施態様 82 ~ 111 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 115]

B² は C₃ ~ 8 シクロアルキルを含む、実施態様 82 ~ 111 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 116]

B² はシリル基を含む、実施態様 82 ~ 111 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 117]

50

B²はD-アミノ酸またはL-アミノ酸を含む、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様118]

B²は糖類を含む、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様119]

B²はリン酸基を含む、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様120]

B²はホスホン酸基を含む、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様121]

B²はアリールを含む、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様122]

B²はフェニル環を含む、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様123]

B²はフェニル環である、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様124]

B²はCHである、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

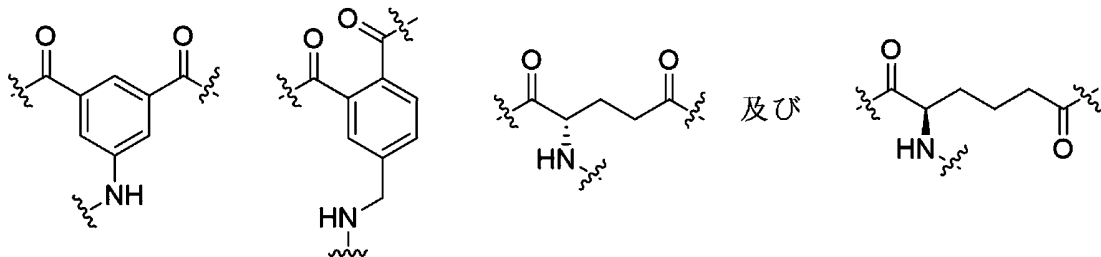
[実施態様125]

B²はヘテロアリールを含む、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様126]

B²は、

【化347】



からなる群より選択される、実施態様82~111のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様127]

B³は、1~15個の原子を含む三価基であり、L¹、T¹、及びT²に共有結合している、実施態様82~126のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様128]

B³は、1~10個の原子を含む三価基であり、L¹、T¹、及びT²に共有結合している、実施態様82~126のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様129]

B³は(C₁~C₆)アルキルを含む、実施態様82~126のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様130]

B³はC₃~8シクロアルキルを含む、実施態様82~126のいずれかに記載の化合物

10

20

30

40

50

、またはその塩。

[実施態様 1 3 1]

B³ はシリル基を含む、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 3 2]

B³ は D - アミノ酸または L - アミノ酸を含む、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 3 3]

B³ は糖類を含む、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 3 4]

B³ はリン酸基を含む、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 3 5]

B³ はホスホン酸基を含む、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 3 6]

B³ はアリールを含む、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 3 7]

B³ はフェニル環を含む、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 3 8]

B³ はフェニル環である、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 3 9]

B³ は CH である、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

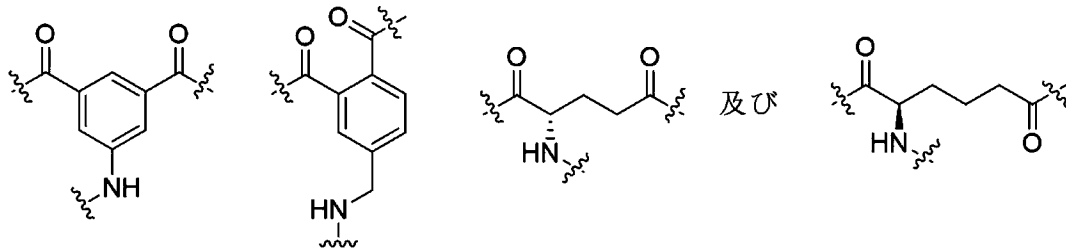
[実施態様 1 4 0]

B³ はヘテロアリールを含む、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 4 1]

B³ は、

【化 3 4 8】



またはそれらの塩からなる群より選択される、実施態様 8 2 ~ 1 2 6 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 4 2]

L¹ 及び L² は、独立して、1 ~ 50 個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち 1 個以上（例えば 1 個、2 個、3 個、または 4 個）は、- O -、- NR^X -、- NR^X - C (= O) -、- C (= O) - NR^X -、または - S - で場合により置き換えられており、R^X は、水素または (C 1 ~ C 6) アルキルであり、前記炭化水素鎖は、(C 1 ~ C 6) アル

10

20

30

40

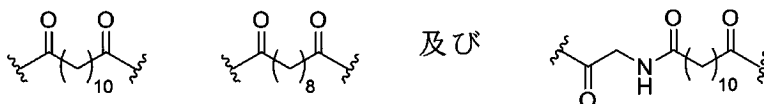
50

コキシ、(C₃~C₆)シクロアルキル、(C₁~C₆)アルカノイル、(C₁~C₆)アルカノイルオキシ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニル、(C₁~C₆)アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上の置換基で場合により置換されている、実施態様87~146のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様143]

L¹は、

【化349】



10

またはそれらの塩からなる群より選択される、実施態様82~141のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様144]

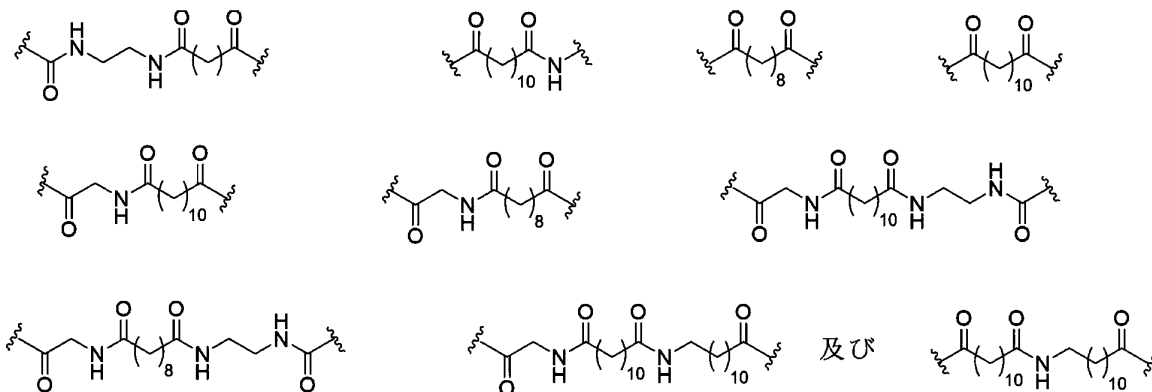
L¹は、-O-、-S-、-(C=O)-、-(C=O)-NH-、-NH-(C=O)、-(C=O)-O-、-NH-(C=O)-NH-、または-NH-(SO₂)-からなる群より選択される結合を介してB¹に結合している、実施態様82~141のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

20

[実施態様145]

L¹は、

【化350】



30

からなる群より選択される、実施態様87~141のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

40

[実施態様146]

L²は、-O-を介してR²に結合している、実施態様82~145のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

[実施態様147]

L²は、ヒドロキシで場合により置換されているC₁~4アルキレン-O-である、実施態様82~145のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

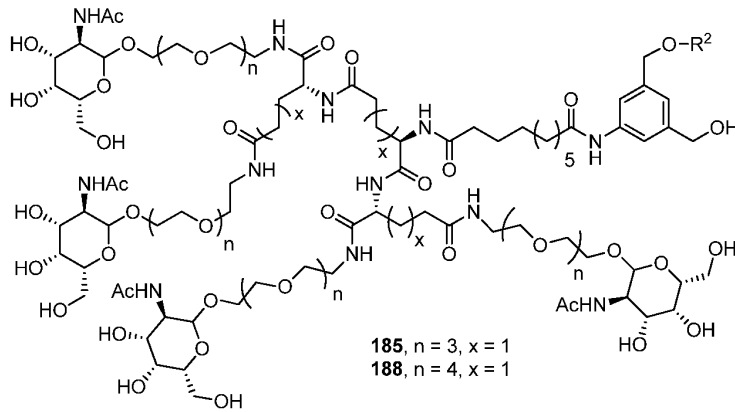
[実施態様148]

L²は、-O-を介してR²に結合している、実施態様82~145のいずれかに記載の化合物、またはその塩。

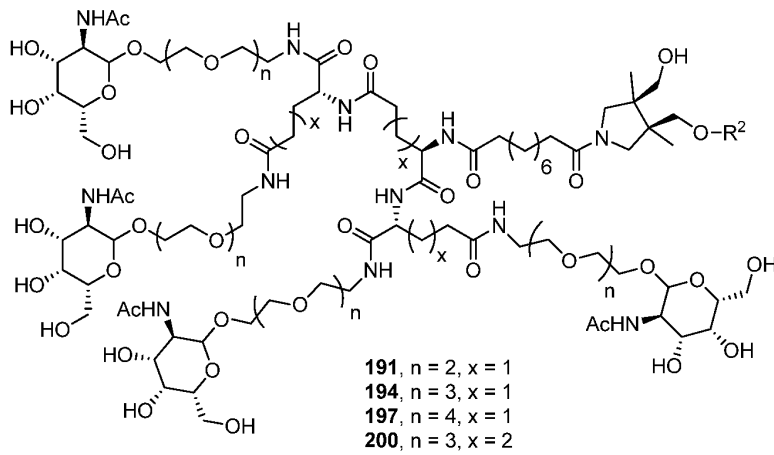
[実施態様149]

50

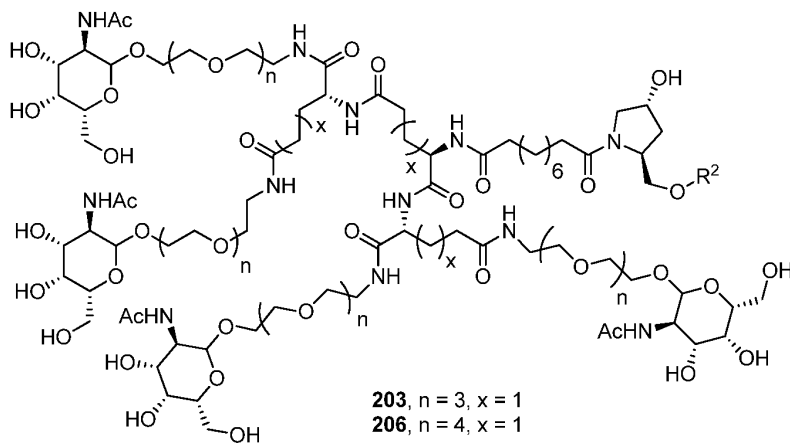
L²は存在しない、実施態様 8 2 ~ 1 4 5 のいずれかに記載の化合物、またはその塩。
 [実施態様 1 5 0]
 【化 3 5 1 - 1】



10



20

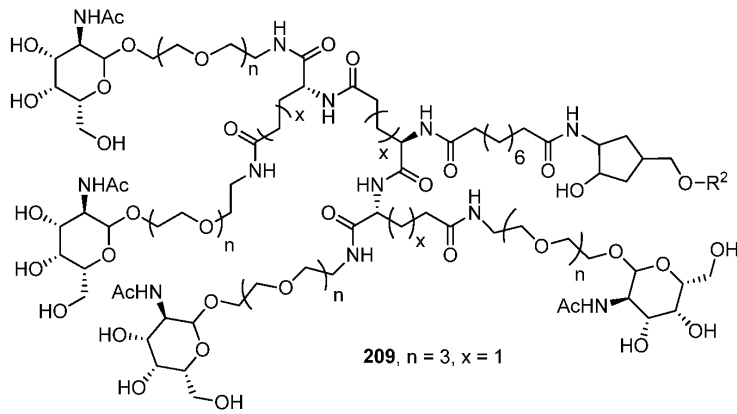


30

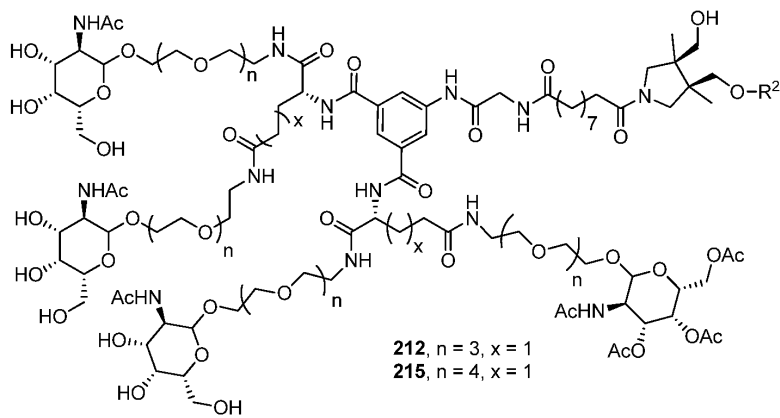
40

50

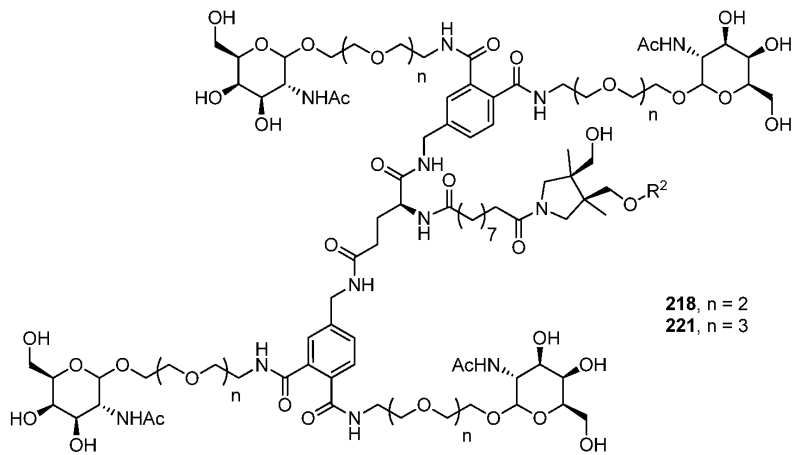
【化 3 5 1 - 2】



10



20

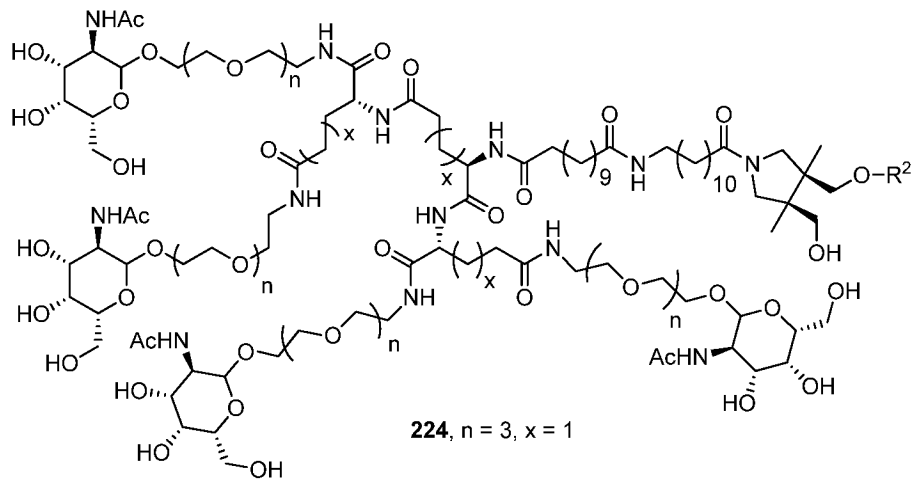


30

40

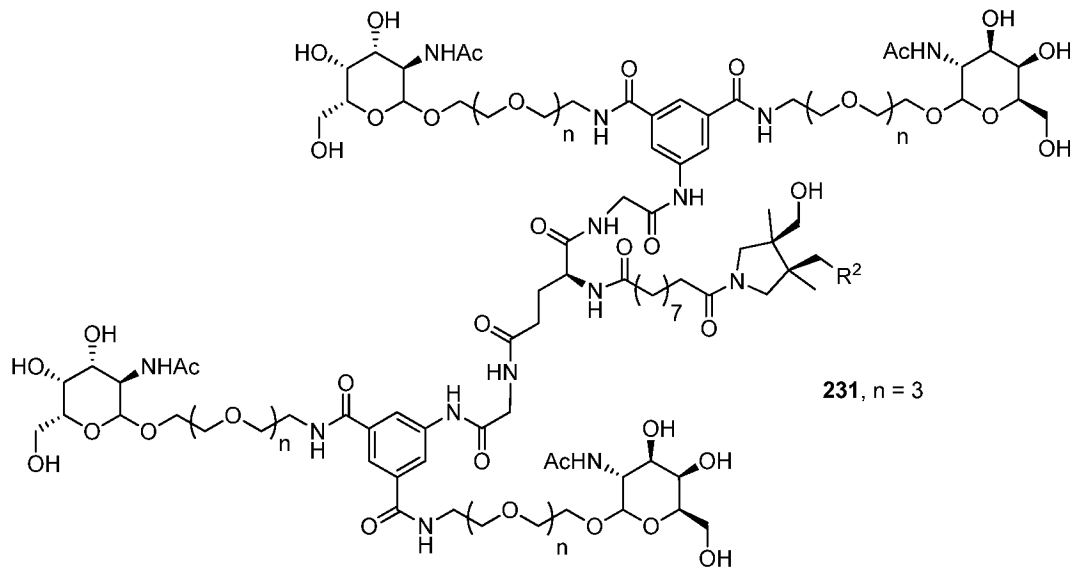
50

【化 3 5 1 - 3】



10

及び



20

30

ならびにそれらの薬学的に許容される塩からなる群より選択され、式中、 R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、実施態様 8 7 に記載の化合物、またはその塩。

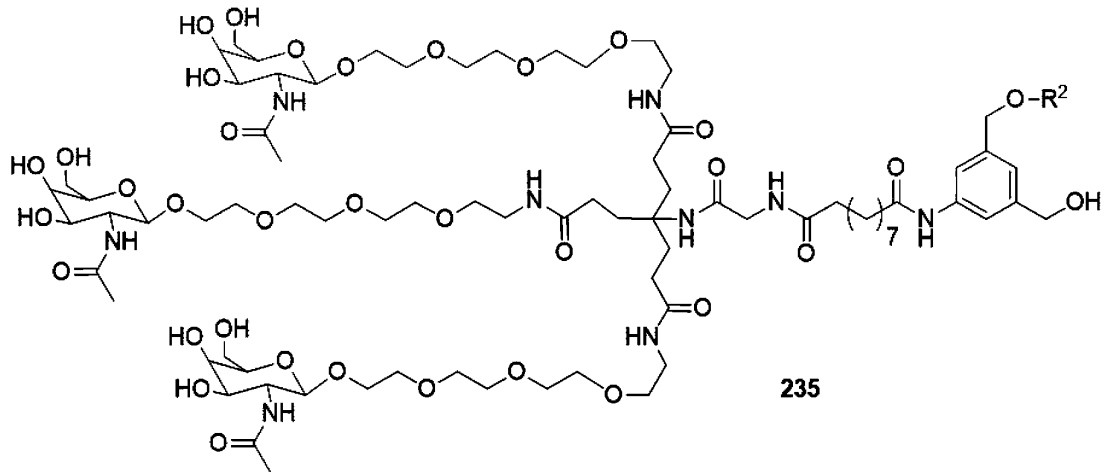
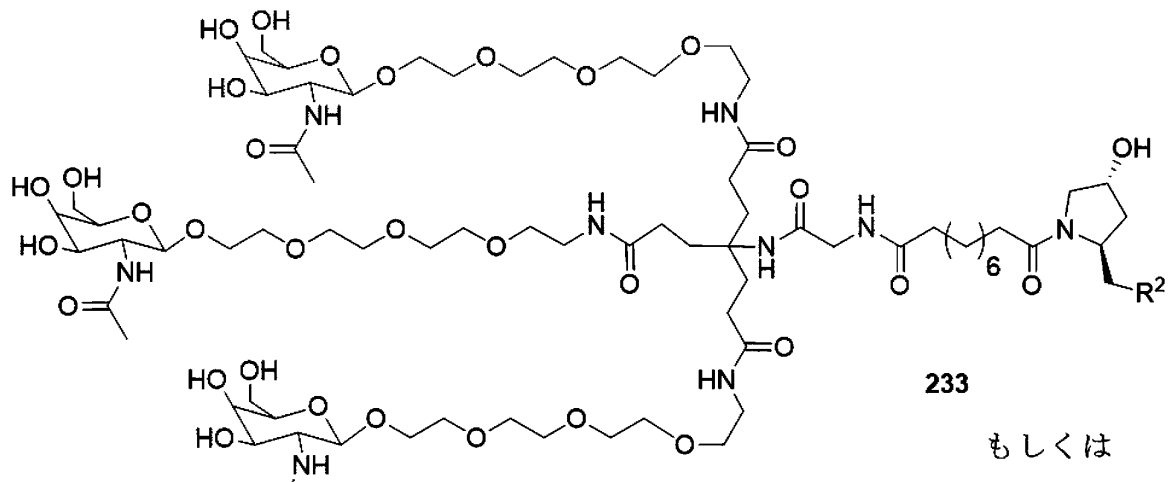
[実施態様 1 5 1]

化合物

40

50

【化 3 5 2】



またはその塩であって、式中、 R^2 は、実施態様4に記載の二本鎖siRNA分子から選択される二本鎖siRNA分子である、前記化合物またはその塩。

【実施態様152】

式XのGalNAcコンジュゲート：

A - B - C

(X)

であって、

式中、Aは標的化リガンドであり、

Bは、任意選択のリンカーであり、

Cは、実施態様4に記載のsiRNA分子である、

前記GalNAcコンジュゲート。

【実施態様153】

次式の化合物：

10

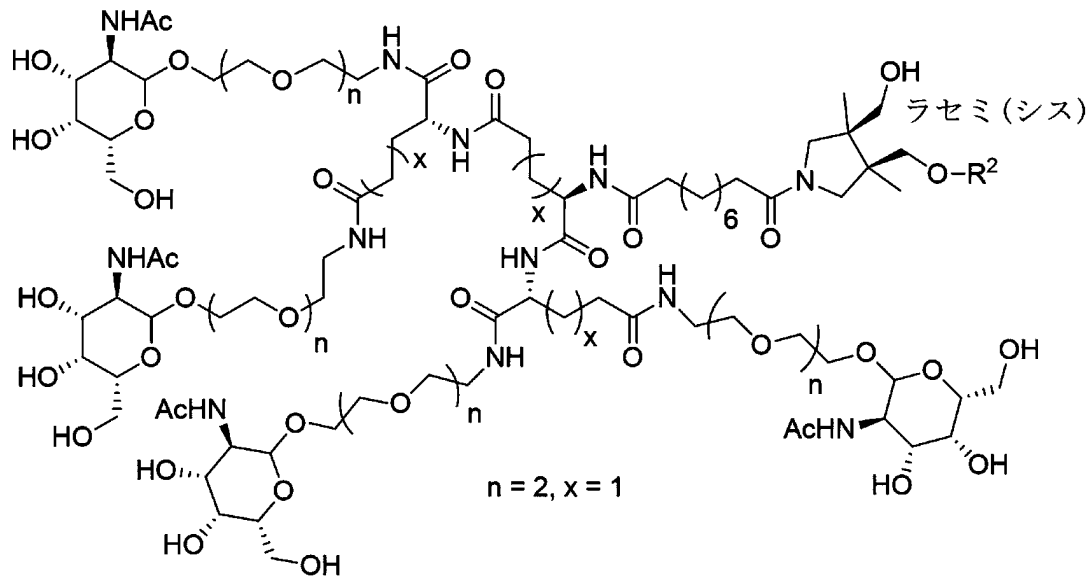
20

30

40

50

【化 3 5 3】



10

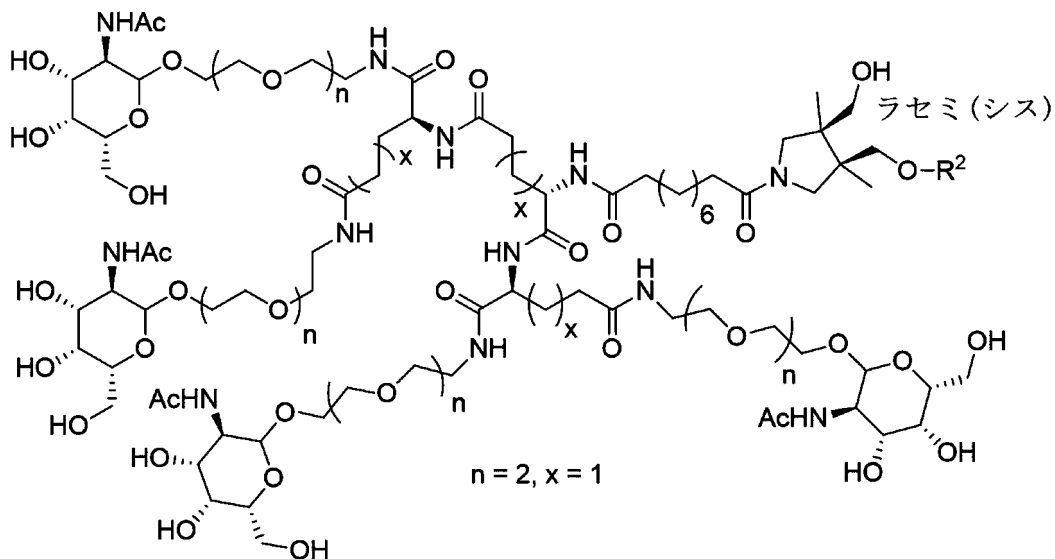
またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様4に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

20

[実施態様 1 5 4]

次式の化合物：

【化 3 5 4】



30

またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様4に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である)、前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

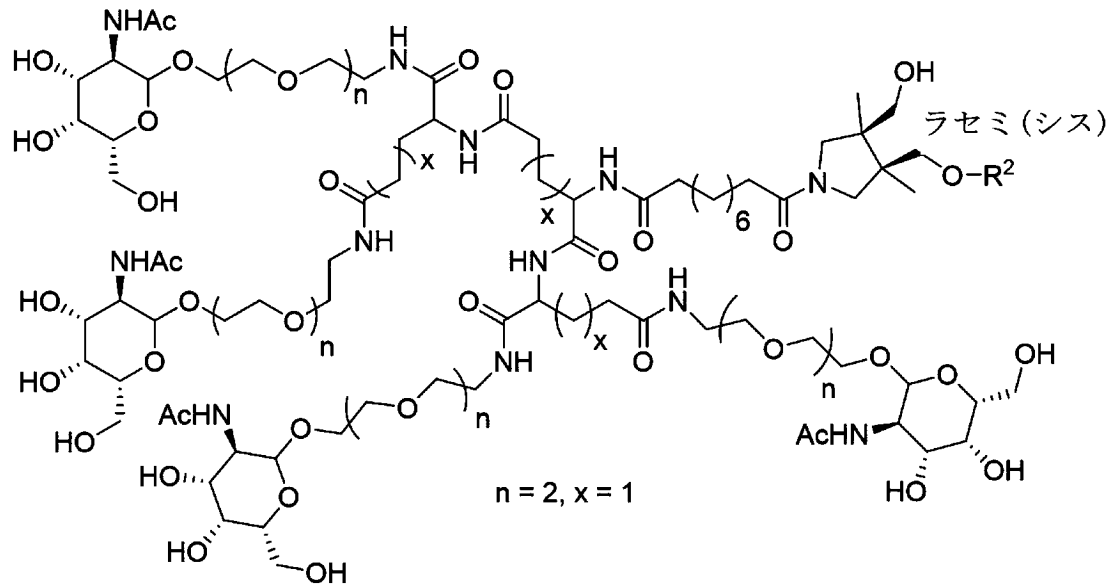
[実施態様 1 5 5]

次式の化合物：

40

50

【化 3 5 5】



10

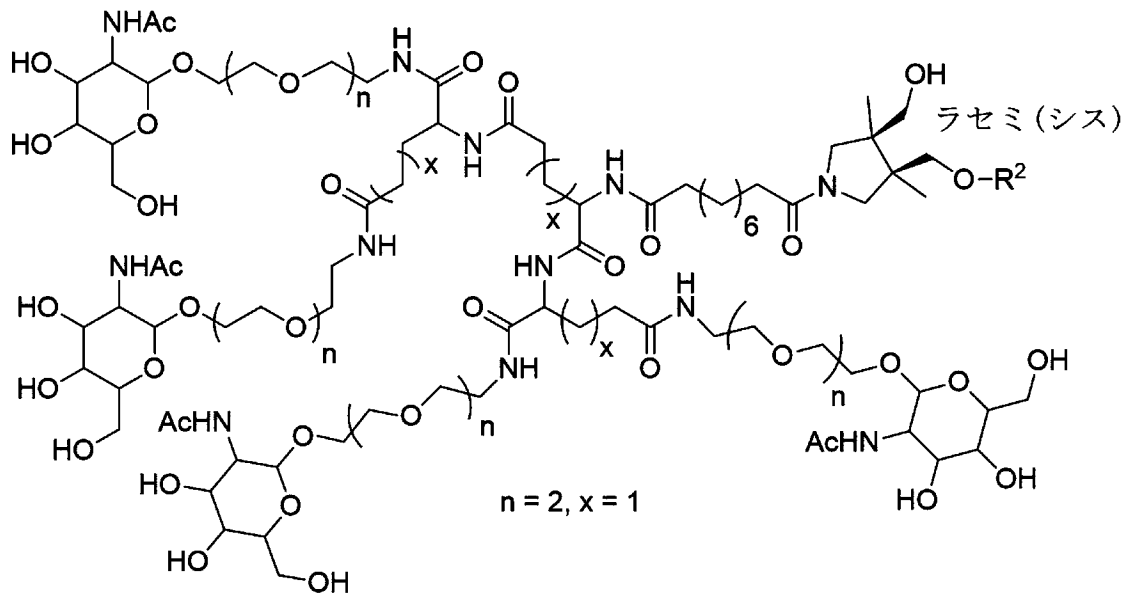
またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様4に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である）、前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

20

【実施態様 1 5 6】

次式の化合物：

【化 3 5 6】



30

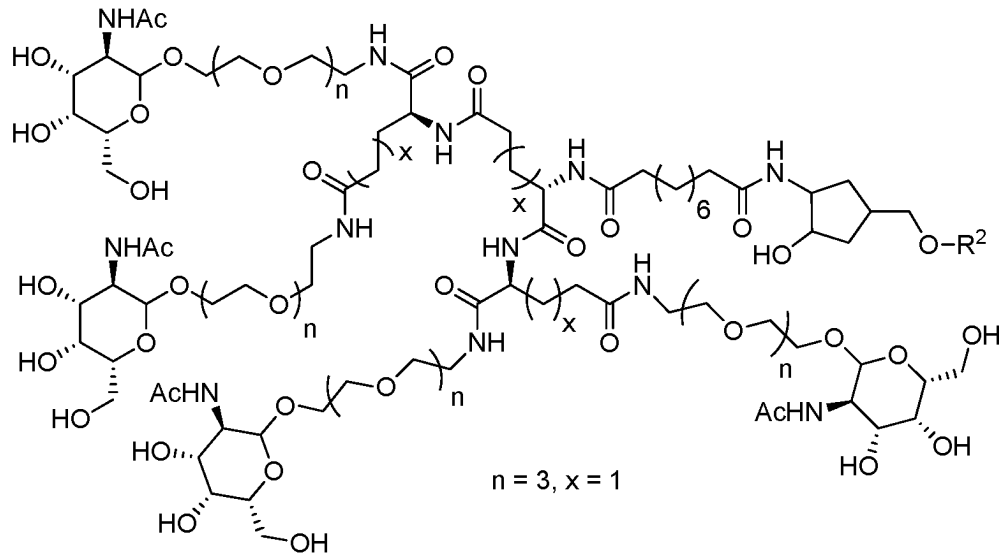
またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様4に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【実施態様 1 5 7】

次式の化合物：

50

【化 3 5 7】



10

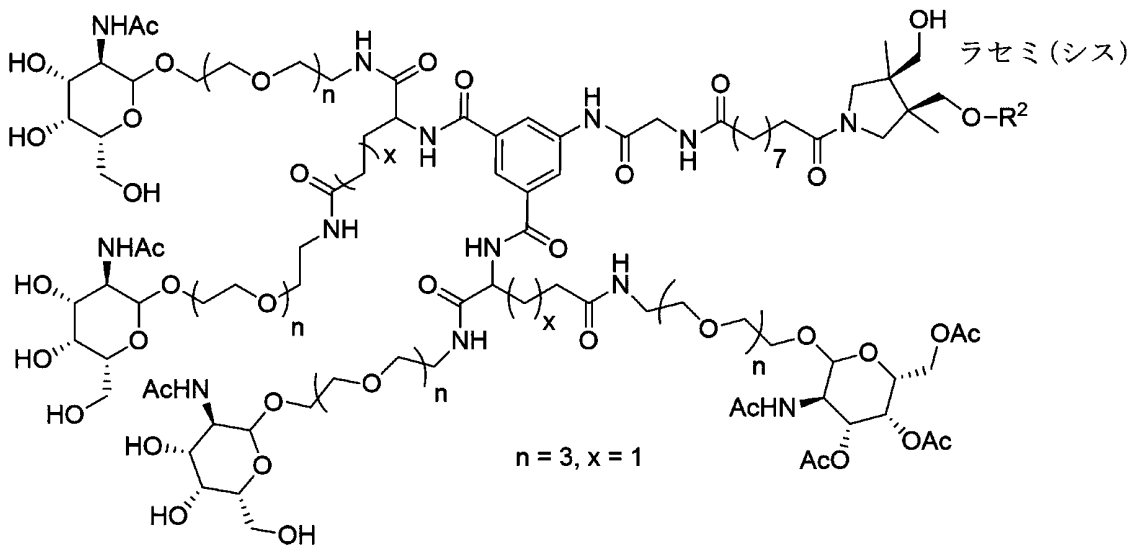
またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、
前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

20

[実施態様 1 5 8]

次式の化合物：

【化 3 5 8】



30

またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、
前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

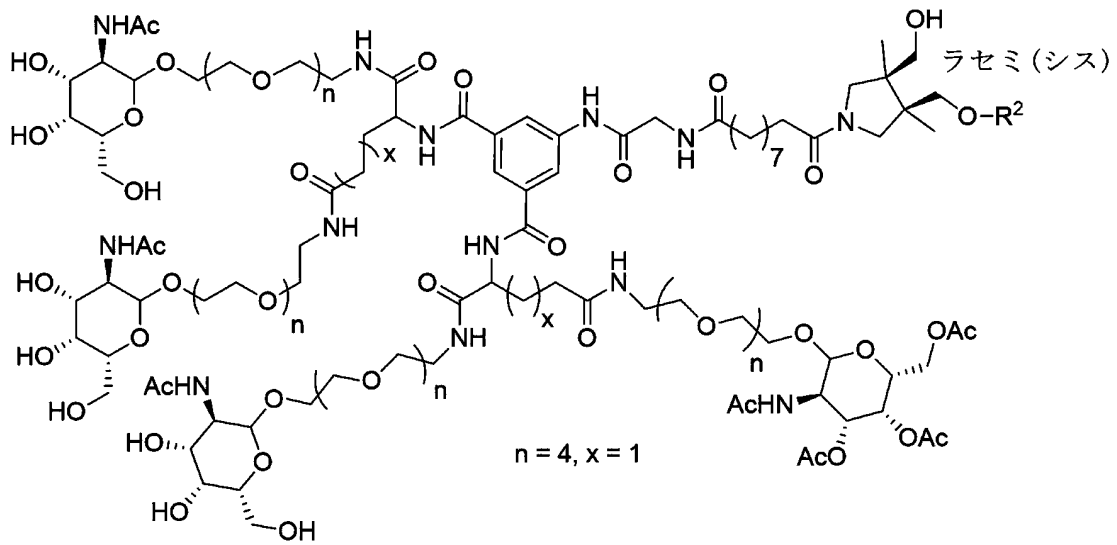
[実施態様 1 5 9]

次式の化合物：

40

50

【化 3 5 9】



10

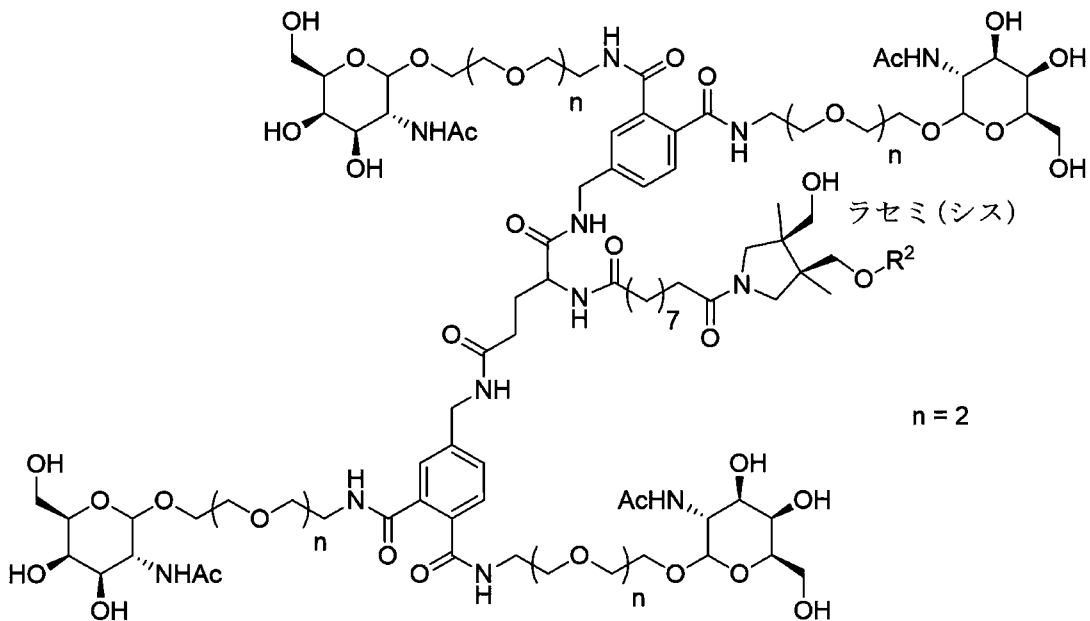
またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 *siRNA* 分子から選択される二本鎖 *siRNA* 分子である、
前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

20

[実施態様 1 6 0]

次式の化合物：

【化 3 6 0】



30

またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 *siRNA* 分子から選択される二本鎖 *siRNA* 分子である、
前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

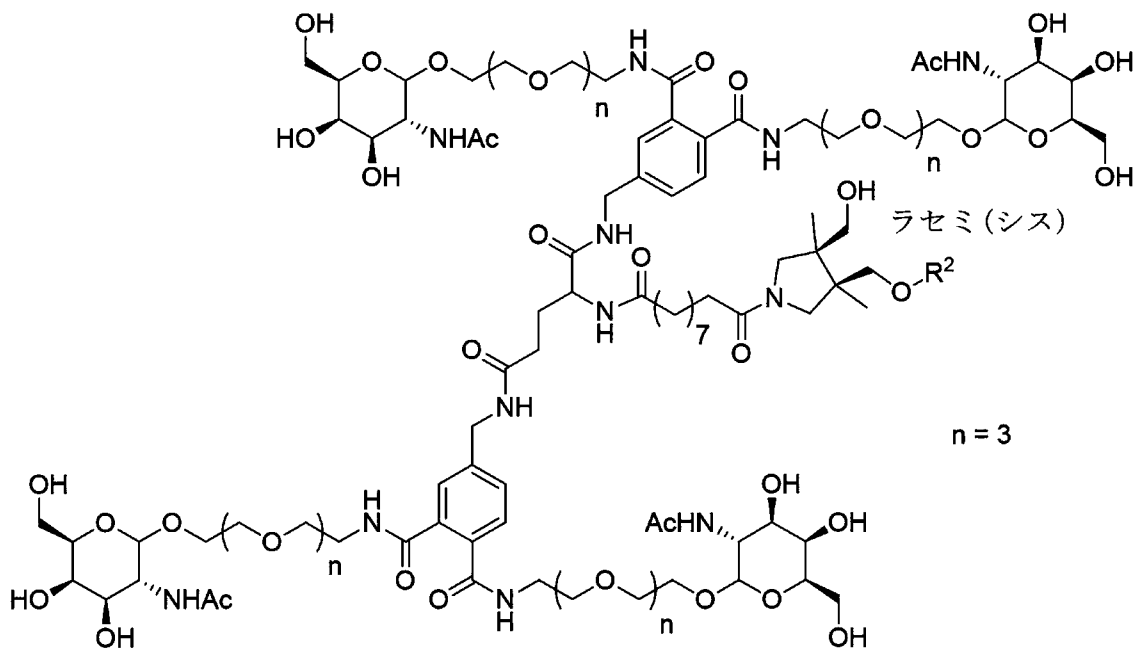
40

[実施態様 1 6 1]

次式の化合物：

50

【化 3 6 1】

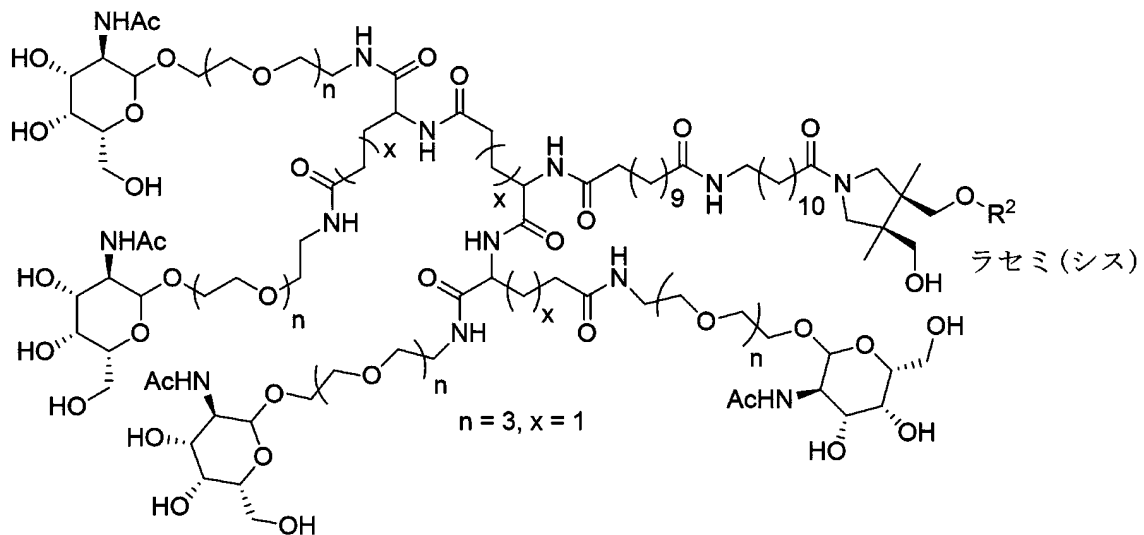


またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様4に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 6 2]

次式の化合物：

【化 3 6 2】

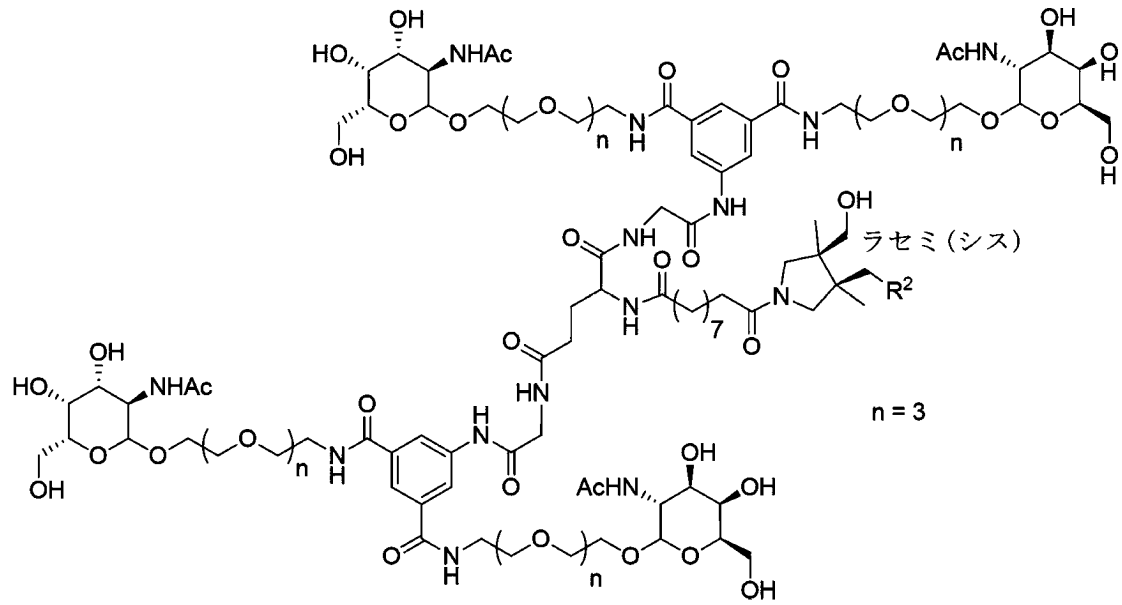


またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様4に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 6 3]

次式の化合物：

【化 3 6 3】

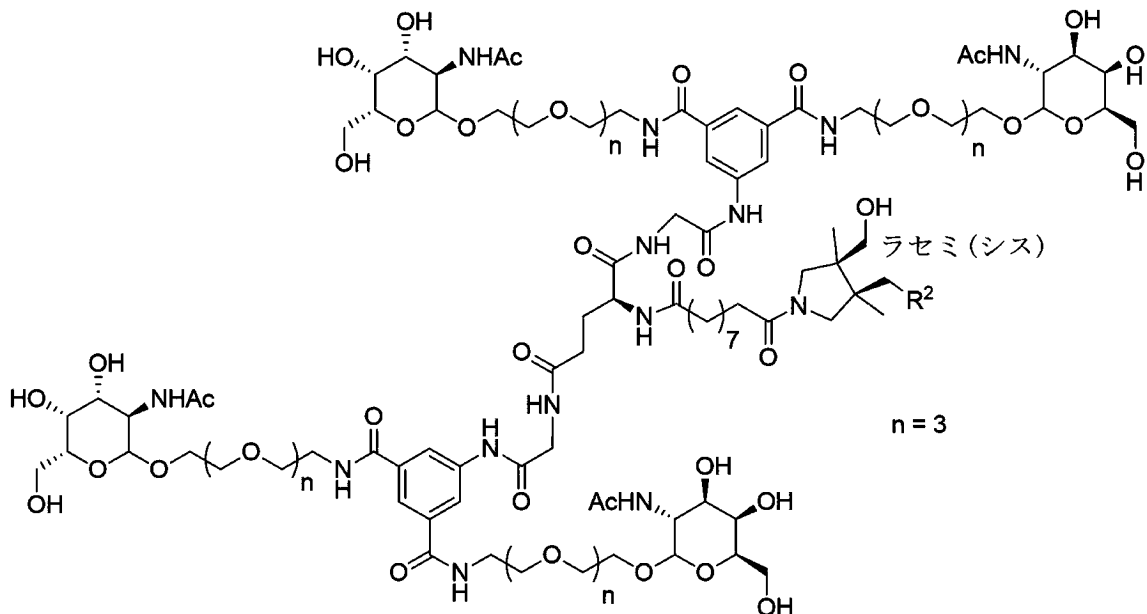


またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 *siRNA* 分子から選択される二本鎖 *siRNA* 分子である、前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 6 4]

次式の化合物：

【化 3 6 4】

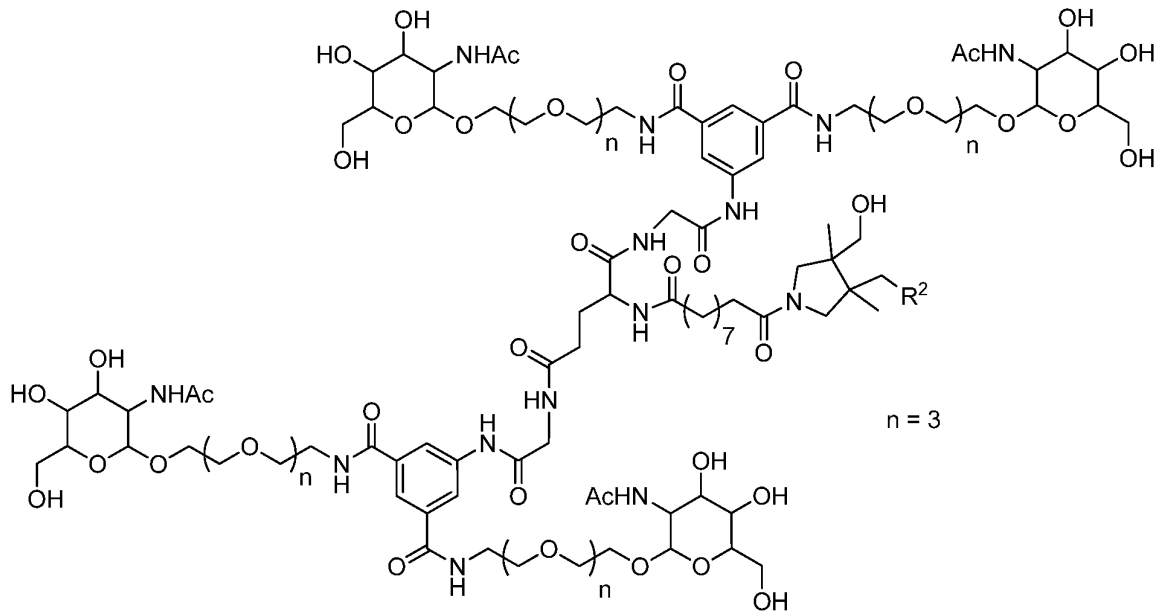


またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 *siRNA* 分子から選択される二本鎖 *siRNA* 分子である、前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 6 5]

次式の化合物：

【化 3 6 5】



またはその薬学的に許容される塩であって、式中、 R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、前記化合物、またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 6 6]

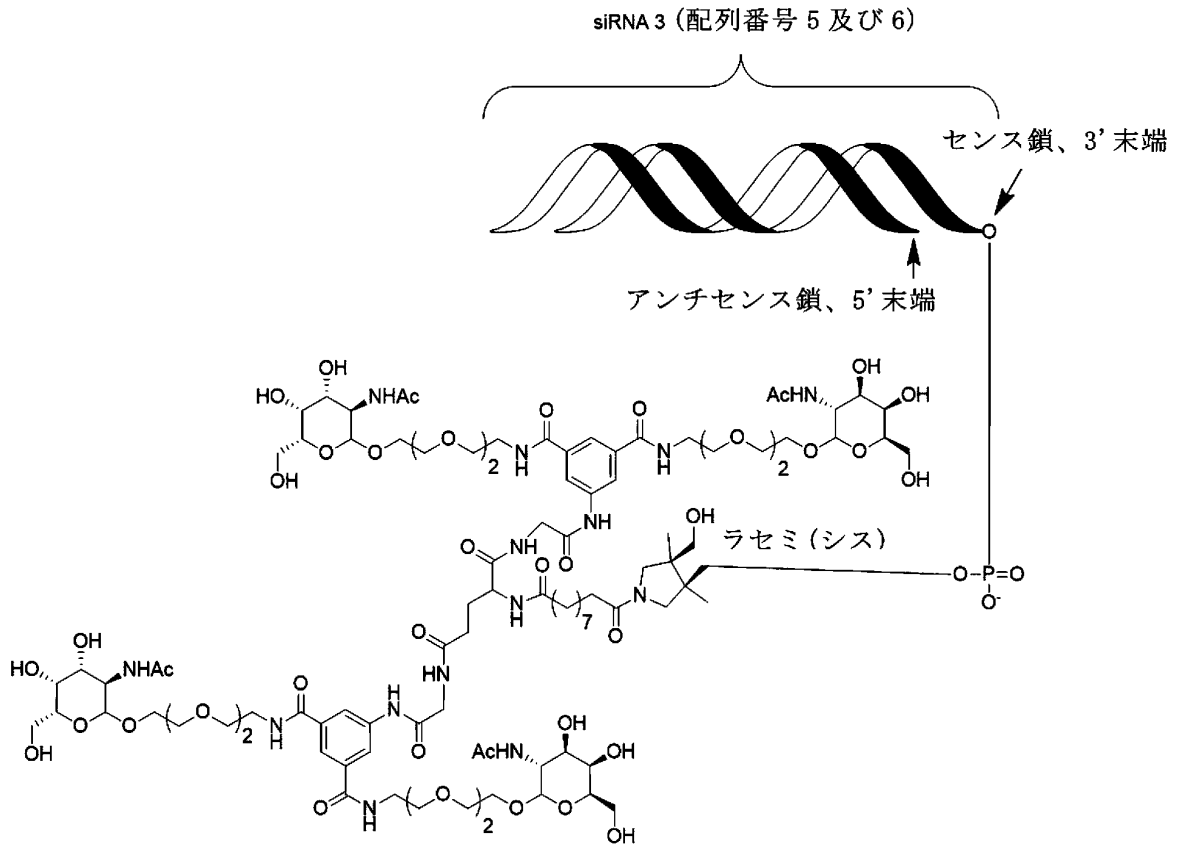
次式の化合物：

30

40

50

【化 3 6 6】



10

20

またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 6 7]

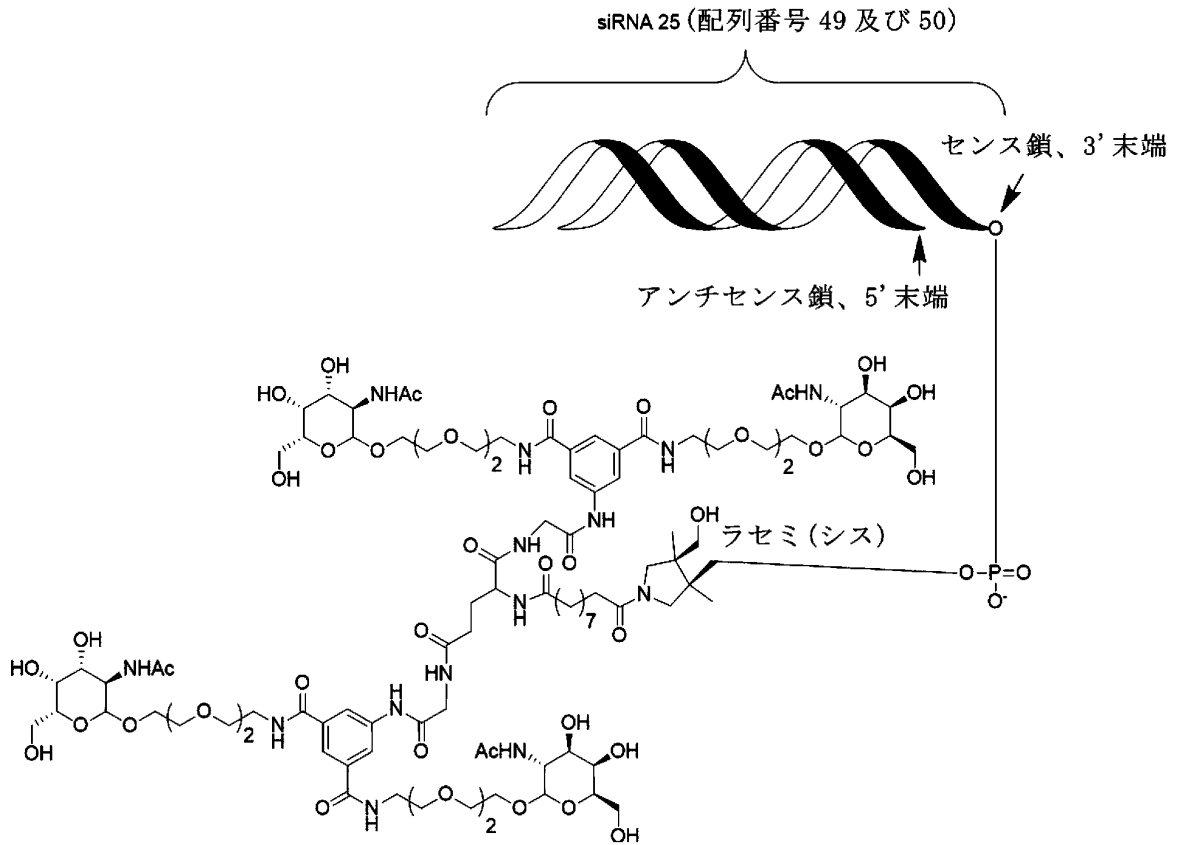
次式の化合物：

30

40

50

【化 3 6 7】



10

20

またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 6 8]

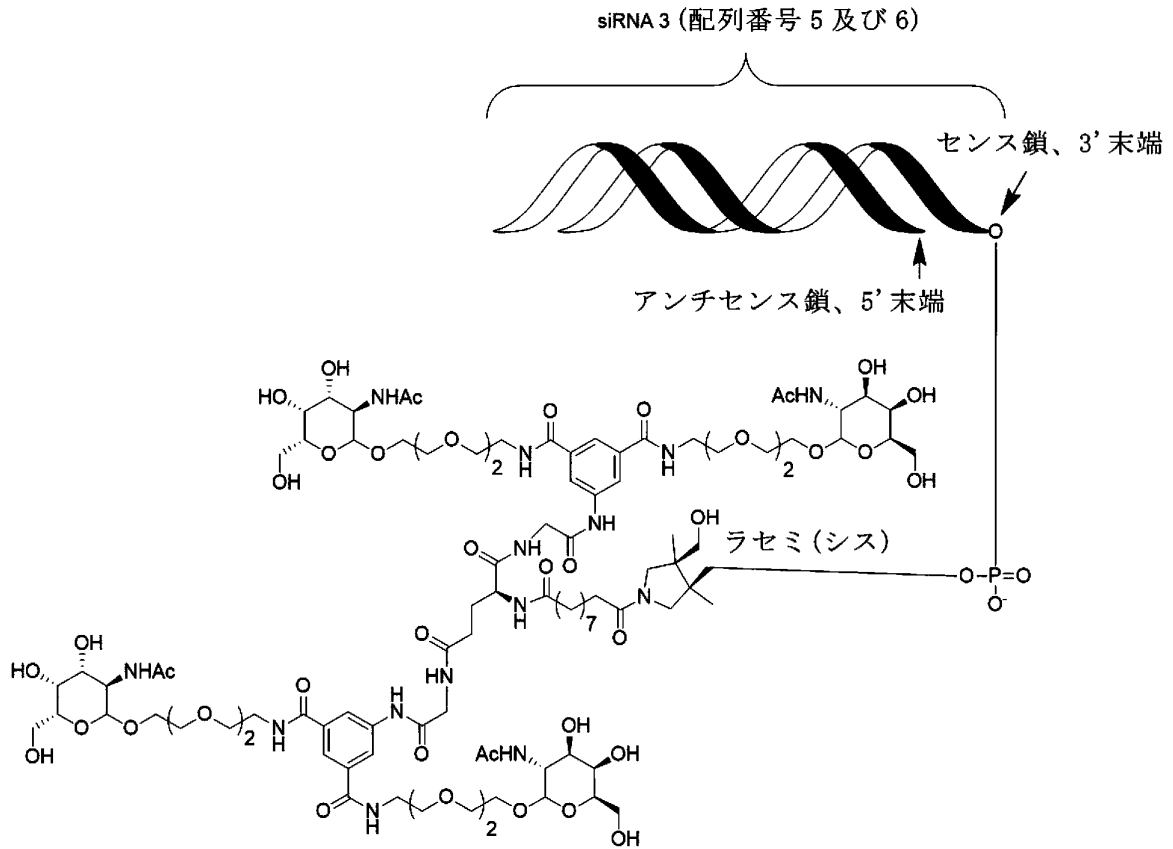
次式の化合物：

30

40

50

【化 3 6 8】



10

20

またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 6 9]

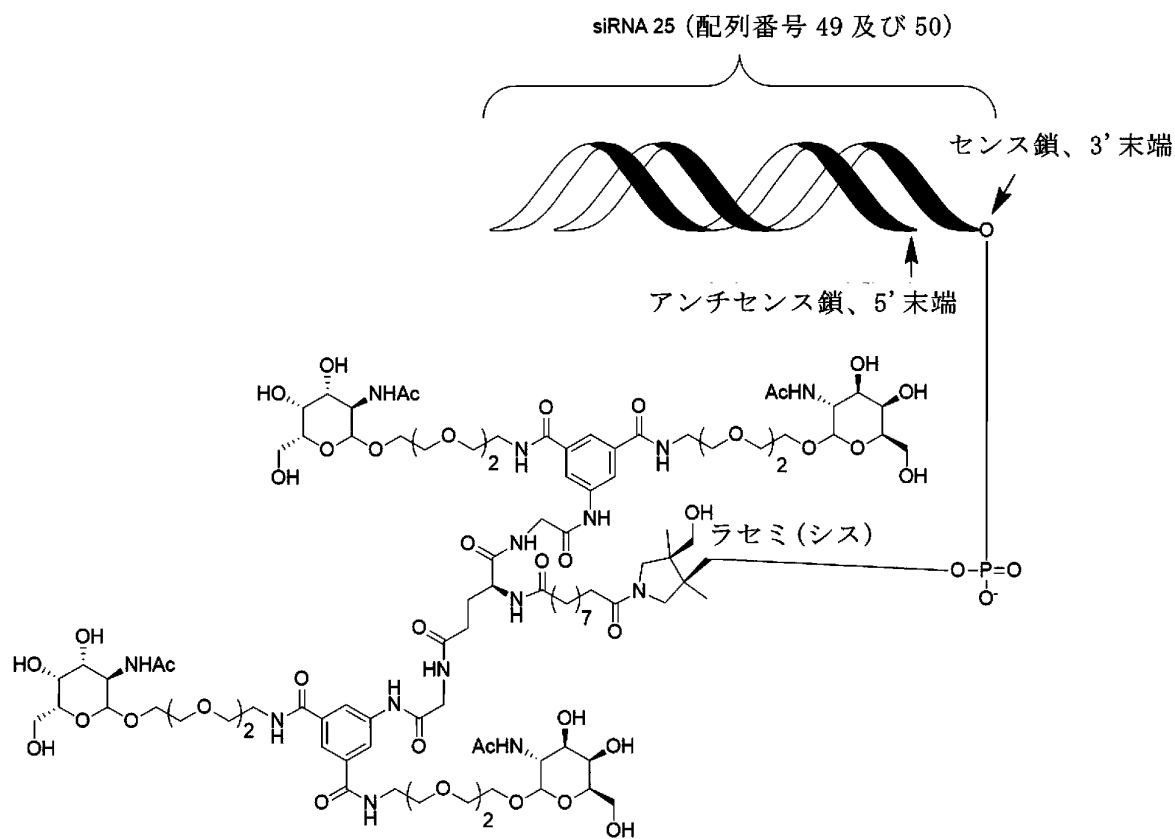
次式の化合物：

30

40

50

【化 3 6 9】



10

20

またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 7 0]

次式の化合物 :

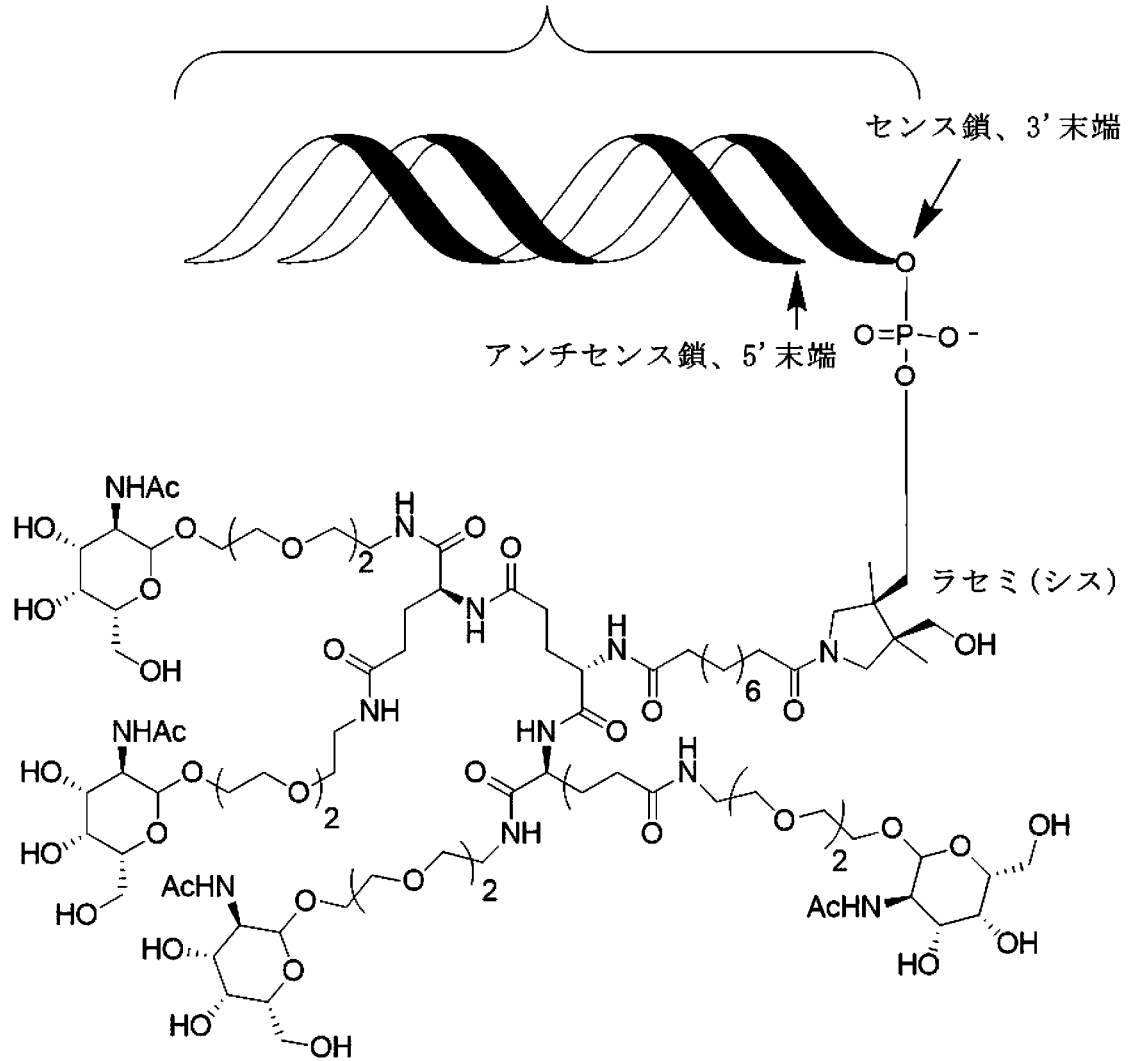
30

40

50

【化 3 7 0】

siRNA 3 (配列番号 5 及び 6)



またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 7 1]

次式の化合物：

10

20

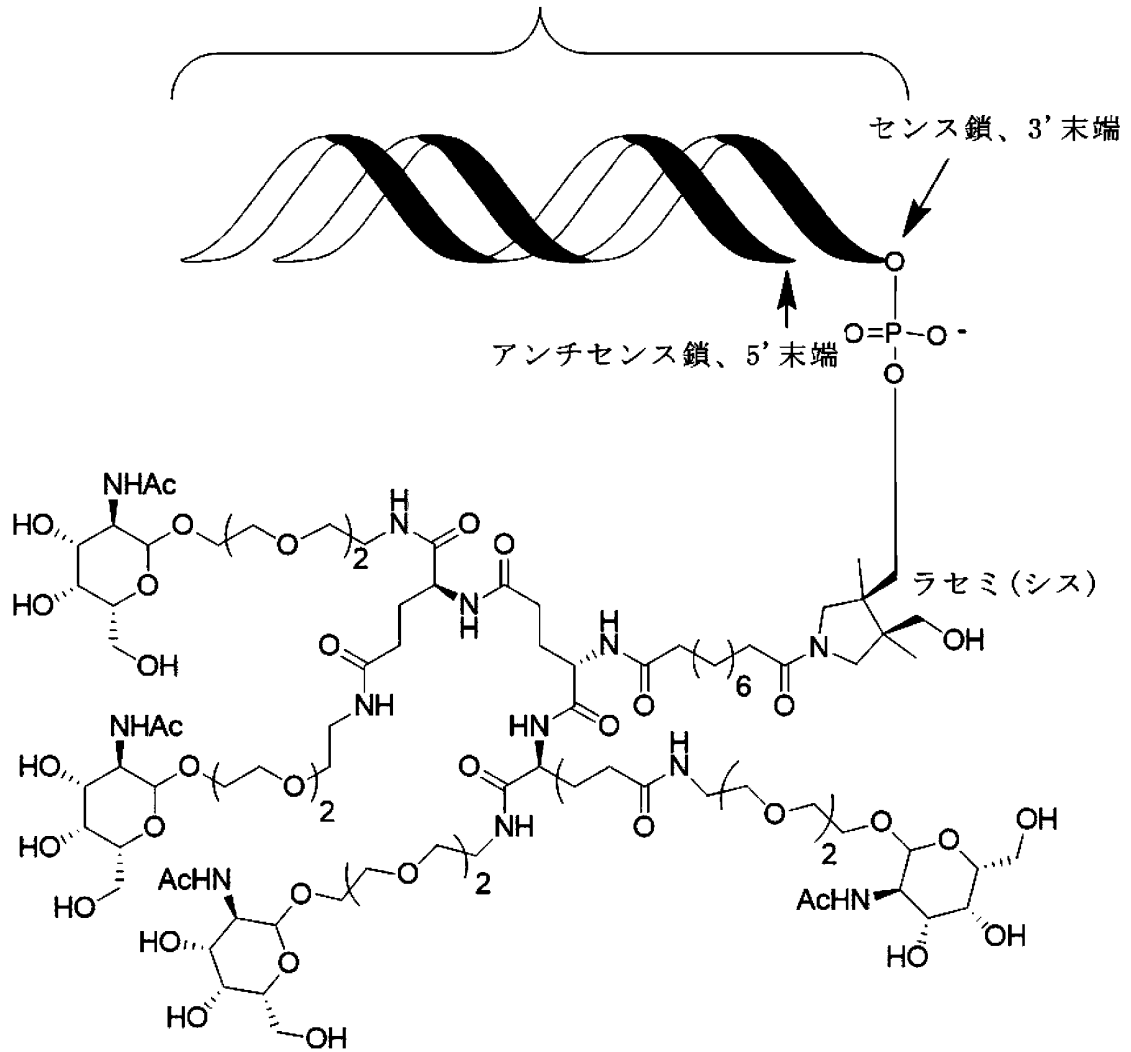
30

40

50

【化 3 7 1】

siRNA 25 (配列番号 49 及び 50)



またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 7 2]

次式の化合物：

10

20

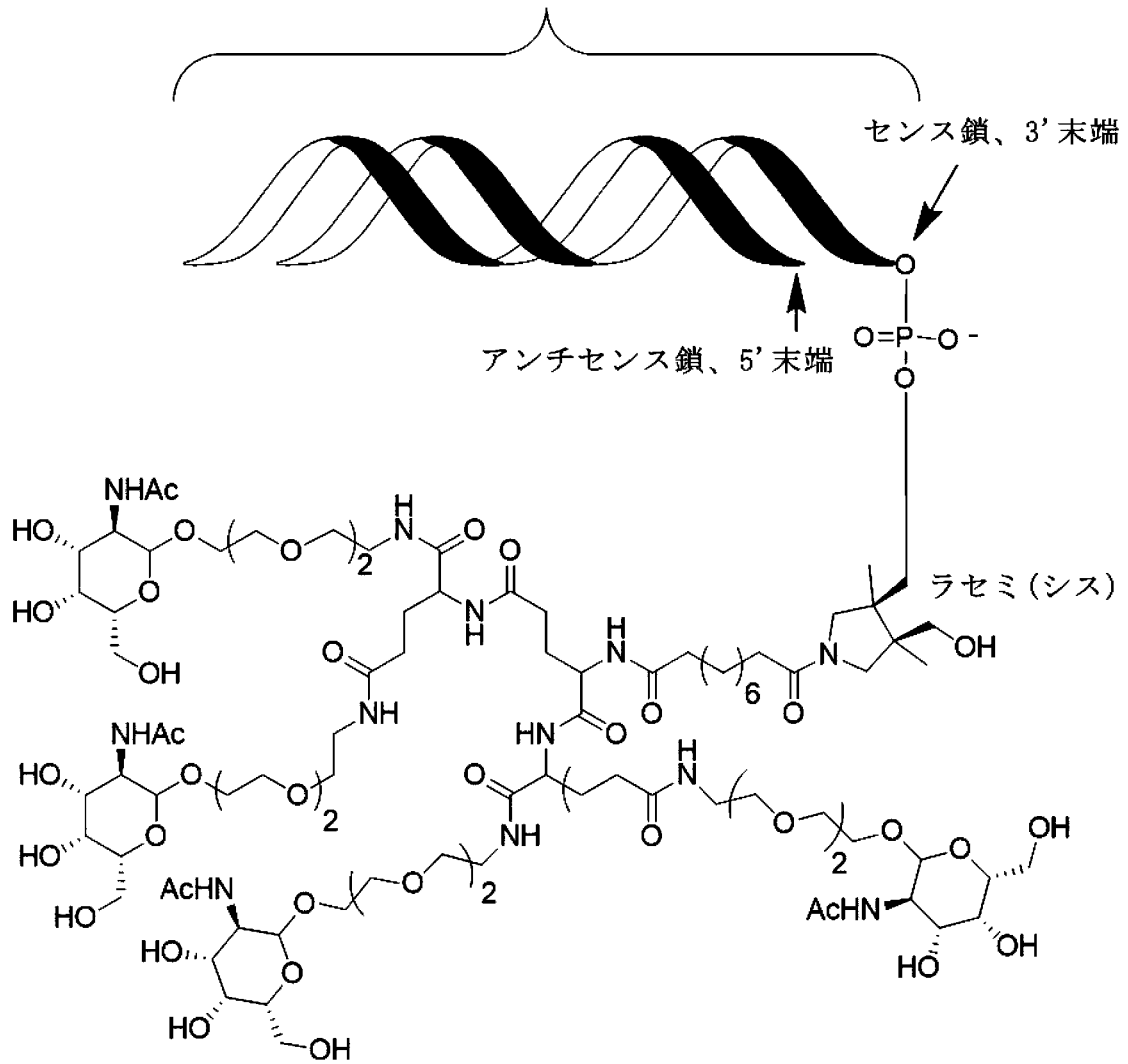
30

40

50

【化 3 7 2】

siRNA 3 (配列番号 5 及び 6)



またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 7 3]

次式の化合物：

10

20

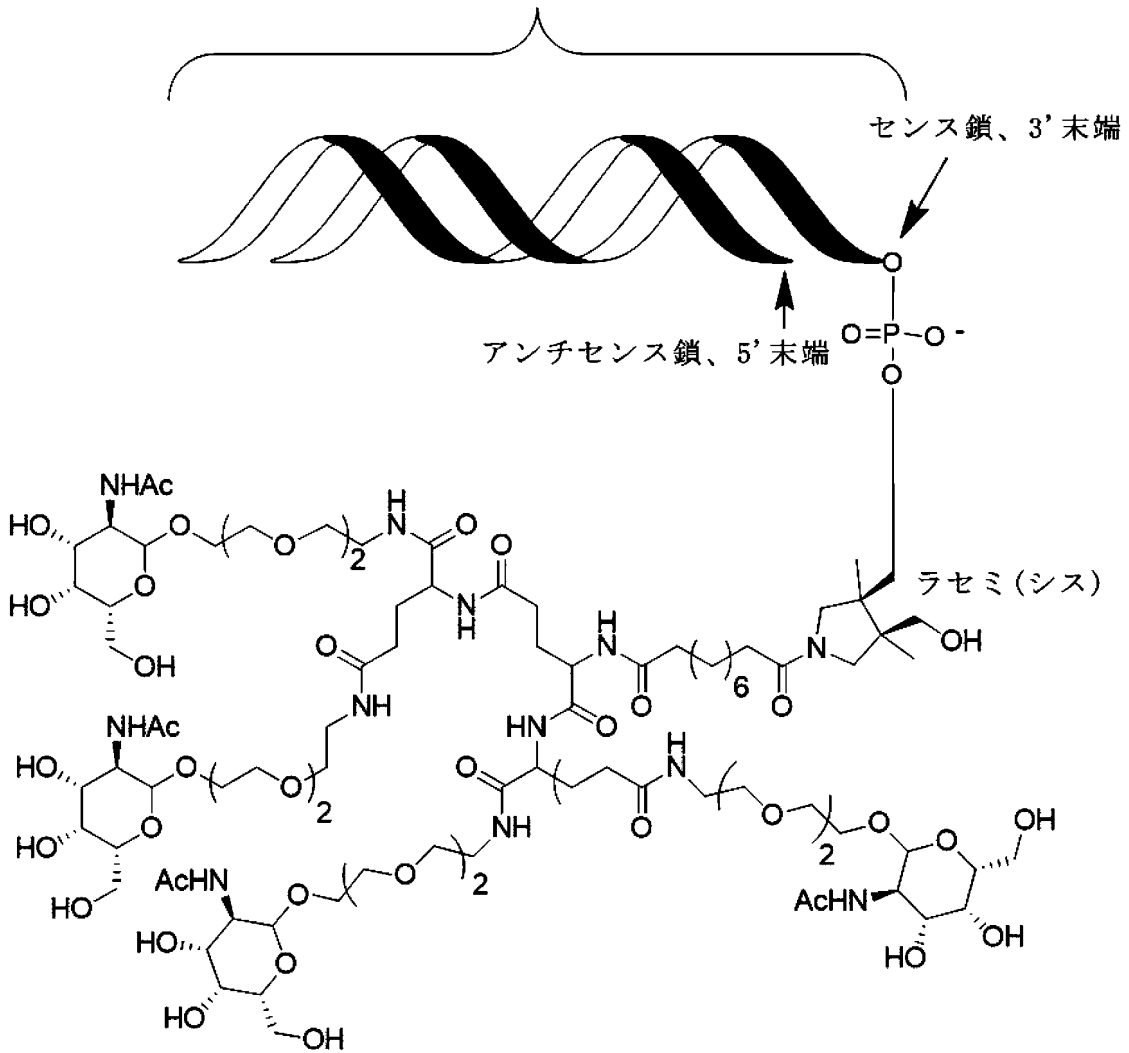
30

40

50

【化 3 7 3】

siRNA 25 (配列番号 49 及び 50)



またはその薬学的に許容される塩。

[実施態様 1 7 4]

式 (I) の化合物 :

10

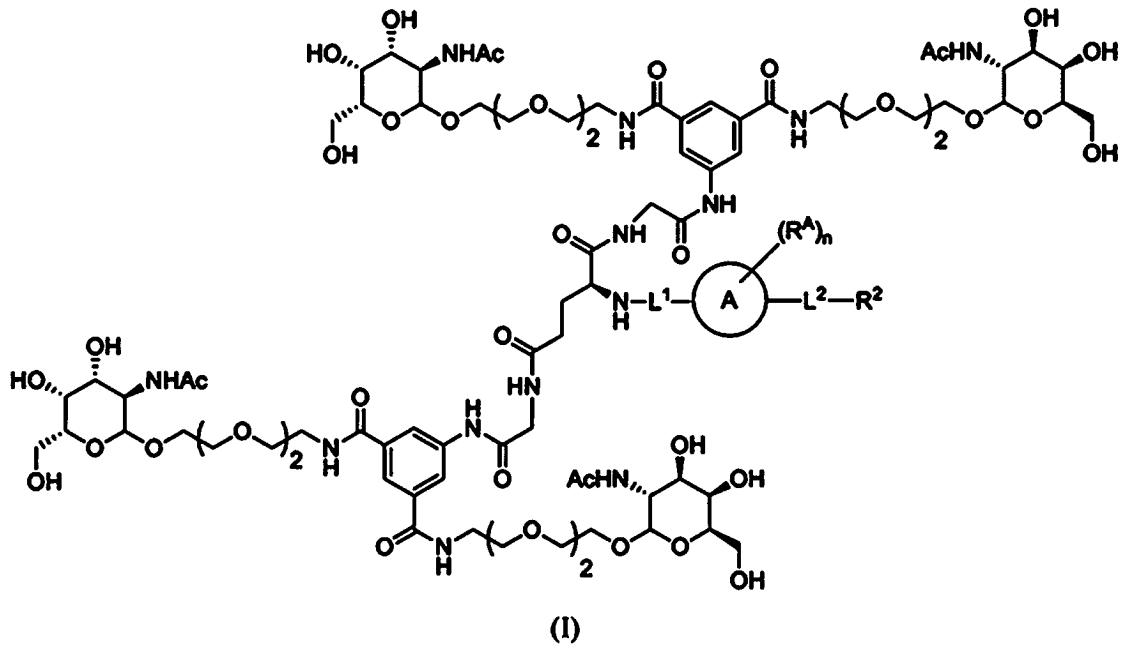
20

30

40

50

【化 3 7 4】



10

20

またはその塩であって、

式中、

L^1 は、存在しないか、または結合基であり、

L^2 は、存在しないか、または結合基であり、

R^2 は、核酸であり、

環 A は、存在しないか、3 ~ 20 員シクロアルキル、5 ~ 20 員アリール、5 ~ 20 員ヘテロアリール、または 3 ~ 20 員ヘテロシクロアルキルであり、

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$ アルキル-OR^B、 C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルからなる群より選択され、前記 C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルは、ハロ、ヒドロキシ、及び C_{1-3} アルコキシから独立して選択される 1 つ以上の基で場合により置換されており、

30

R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 である、

前記化合物、またはその塩。

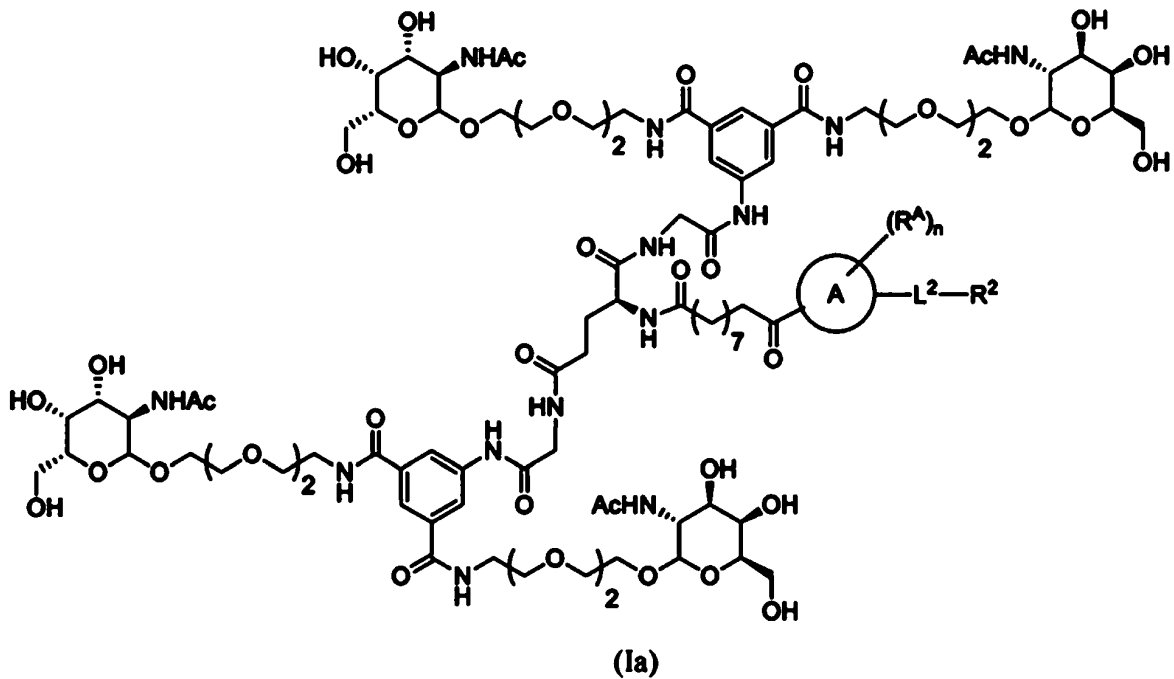
[実施態様 175]

式 (Ia) の化合物：

40

50

【化 3 7 5】



10

20

またはその塩であって、

式中、

L^2 は、存在しないか、または結合基であり、

R^2 は、核酸であり、

環 A は、存在しないか、3 ~ 20 員シクロアルキル、5 ~ 20 員アリール、5 ~ 20 員ヘテロアリール、または 3 ~ 20 員ヘテロシクロアルキルであり、

各 R^A は、独立して、水素、ヒドロキシ、CN、F、Cl、Br、I、 $-C_{1-2}$ アルキル- OR^B 、 C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルからなる群より選択され、前記 C_{1-10} アルキル C_{2-10} アルケニル、及び C_{2-10} アルキニルは、ハロ、ヒドロキシ、及び C_{1-3} アルコキシから独立して選択される 1 つ以上の基で場合により置換されており、

30

R^B は、水素、保護基、固体支持体への共有結合、または固体支持体に結合した結合基への結合であり、

n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 である、

前記化合物、またはその塩。

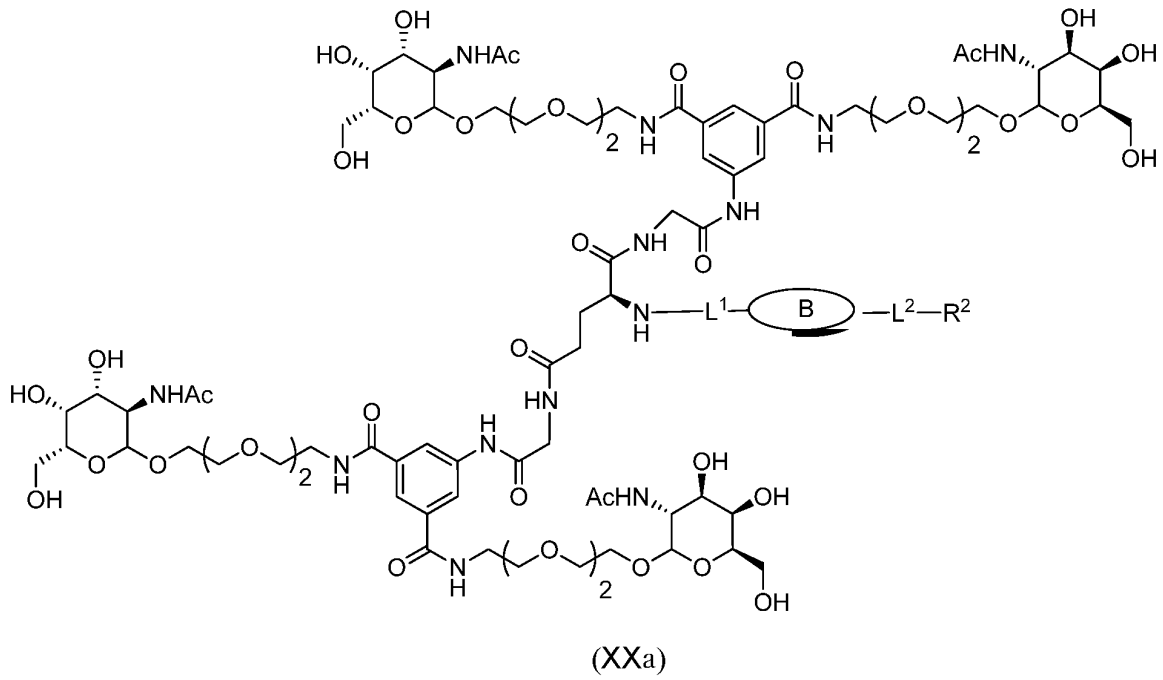
[実施態様 176]

式 (XXa) の化合物：

40

50

【化 3 7 6】



またはその塩であって、

式中、

L^1 は、存在しないか、または結合基であり、

L^2 は、存在しないか、または結合基であり、

R^2 は、核酸であり、

B は、二価であり、かつ、

10

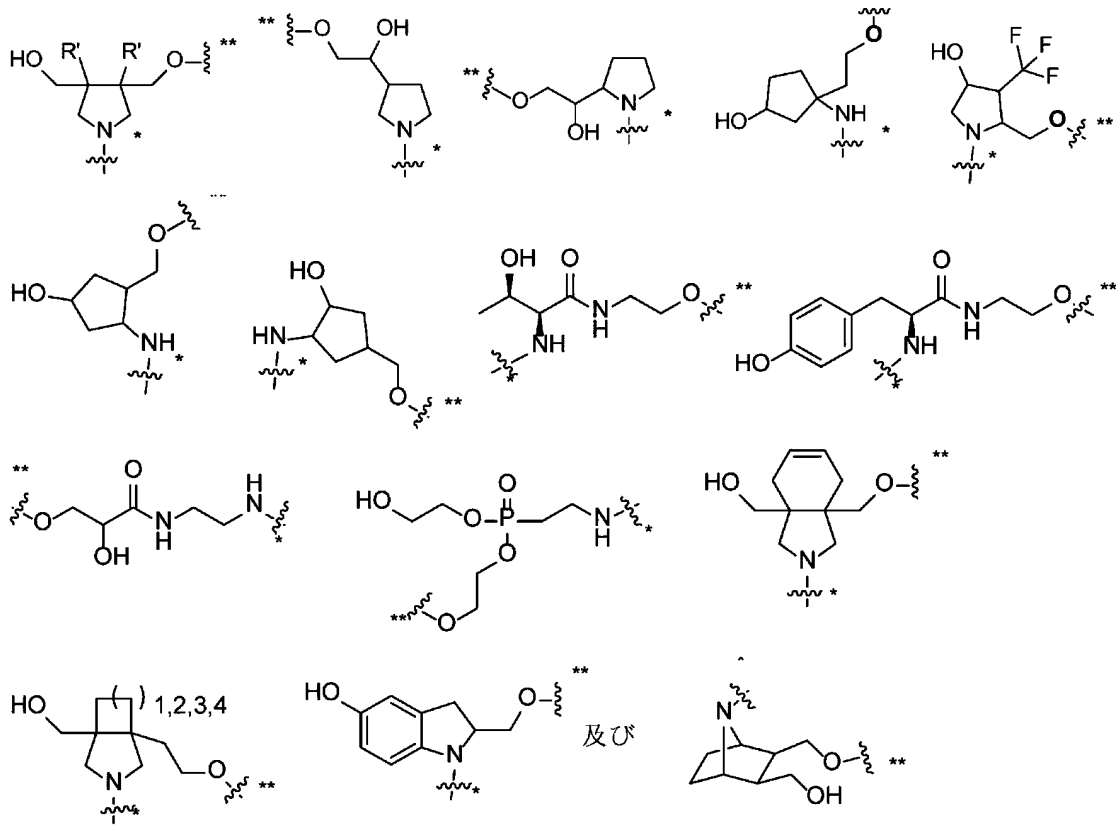
20

30

40

50

【化 3 7 7】



10

20

からなる群より選択され、ここで、

各 R' は、独立して、C₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルであり、前記C₁~9アルキル、C₂~9アルケニル、またはC₂~9アルキニルは、ハロまたはヒドロキシルで場合により置換されており、

* が付いた原子価は、L¹に結合しているか、またはL¹が存在しない場合はR¹に結合しており、

30

** が付いた原子価は、L²に結合しているか、またはL²が存在しない場合はR²に結合している、

前記化合物、またはその塩。

[実施態様 177]

L¹ 及び L² は、独立して、1~50個の炭素原子を有する二価の、分枝状または非分枝状、飽和または不飽和の炭化水素鎖であり、前記炭化水素鎖中の炭素原子のうち1個以上(例えば1個、2個、3個、または4個)は、-O-、-NR^X-、-NR^X-C(=O)-、-C(=O)-NR^X-、または-S-で場合により置き換えられており、R^X は、水素または(C₁~C₆)アルキルであり、前記炭化水素鎖は、(C₁~C₆)アルコキシ、(C₃~C₆)シクロアルキル、(C₁~C₆)アルカノイル、(C₁~C₆)アルカノイルオキシ、(C₁~C₆)アルコキシカルボニル、(C₁~C₆)アルキルチオ、アジド、シアノ、ニトロ、ハロ、ヒドロキシ、オキソ(=O)、カルボキシ、アリール、アリールオキシ、ヘテロアリール、及びヘテロアリールオキシから選択される1つ以上の置換基で場合により置換されている、実施態様 175に記載の化合物、またはその塩。

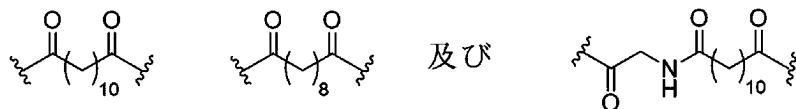
40

[実施態様 178]

L¹ は、

50

【化 3 7 8】



またはそれらの塩からなる群より選択される、実施態様 1 7 6 に記載の化合物、またはその塩。

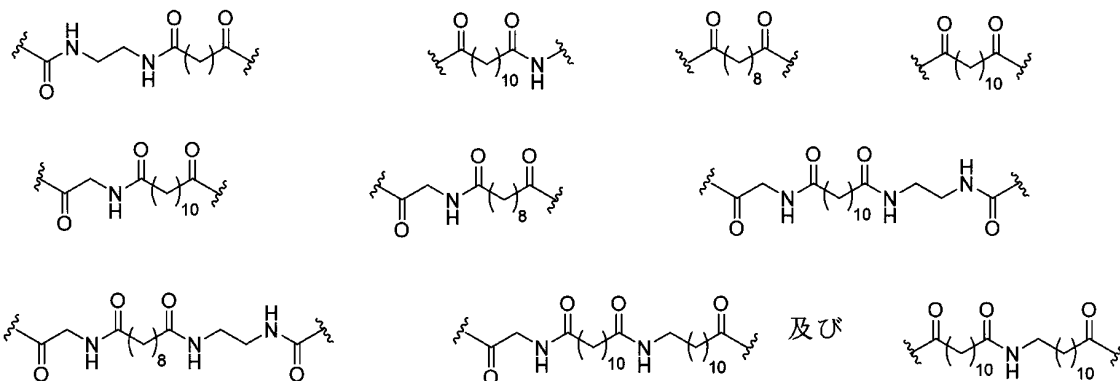
[実施態様 1 7 9]

L^1 は、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{NH}-$ 、 $-\text{NH}-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-\text{O}-$ 、 $-\text{NH}-(\text{C}=\text{O})-\text{NH}-$ 、または $-\text{NH}-(\text{SO}_2)-$ からなる群より選択される結合を介して B^1 に結合している、実施態様 1 7 6 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 8 0]

L^1 は、

【化 3 7 9】



からなる群より選択される、実施態様 1 7 6 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 8 1]

L^2 は、 $-\text{O}-$ を介して R^2 に結合している、実施態様 1 7 6 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 8 2]

L^2 は、ヒドロキシで場合により置換されている C_{1-4} アルキレン $-\text{O}-$ である、実施態様 1 7 6 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 8 3]

L^2 は存在しない、実施態様 1 7 6 に記載の化合物、またはその塩。

[実施態様 1 8 4]

化合物

10

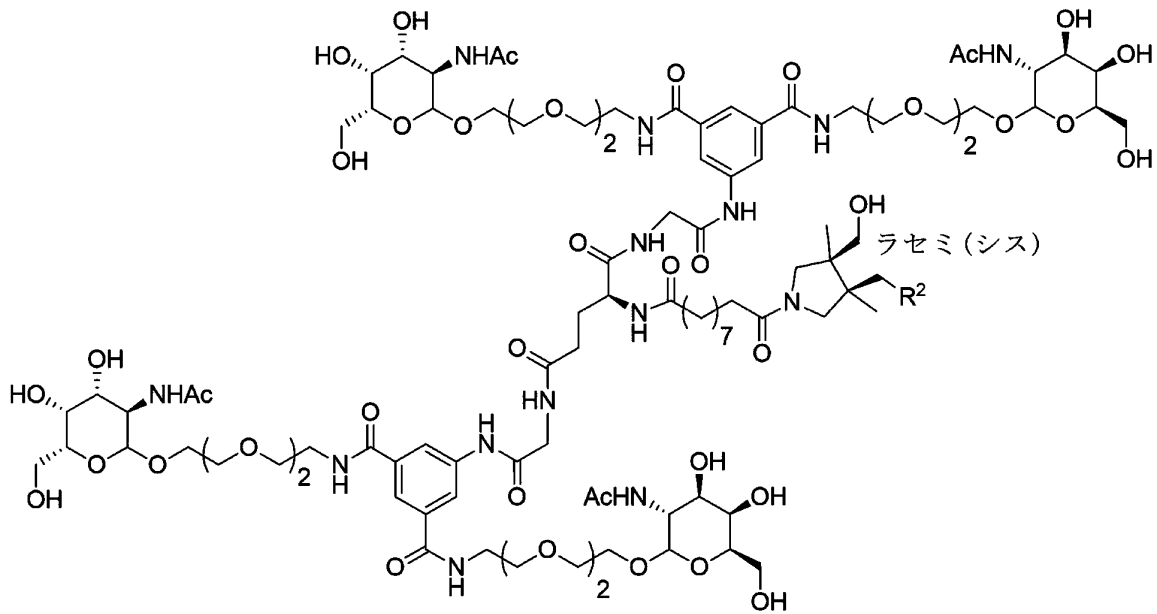
20

30

40

50

【化 3 8 0】



10

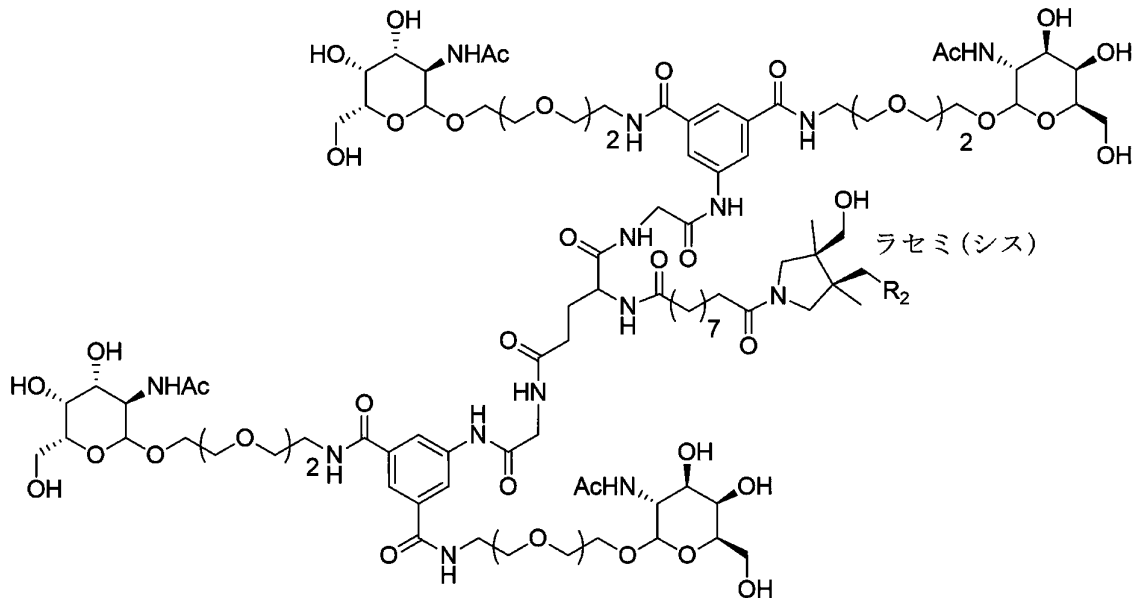
20

またはその塩であって、式中、R²は核酸である、
前記化合物、またはその塩。

[実施態様 185]

化合物

【化 3 8 1】



30

40

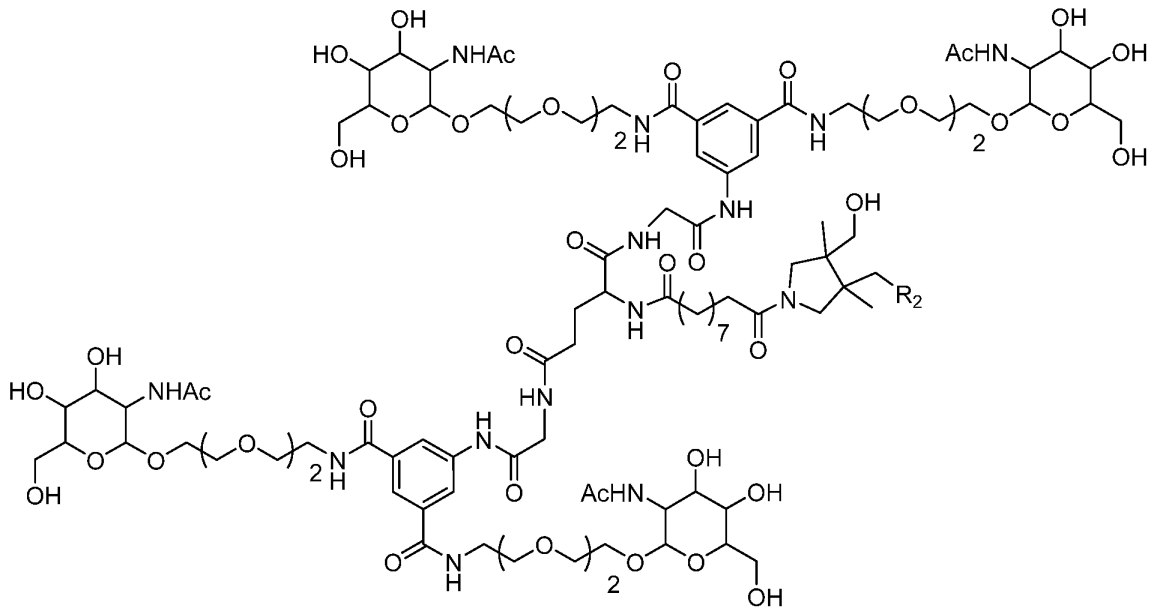
またはその塩であって、式中、R²は核酸である、
前記化合物、またはその塩。

[実施態様 186]

化合物

50

【化 3 8 2】



10

20

またはその塩であって、式中、 R^2 は核酸である、
前記化合物、またはその塩。

【実施態様 187】

R^2 は、実施態様 4 に記載の二本鎖 siRNA 分子から選択される二本鎖 siRNA 分子である、実施態様 174 ~ 186 のいずれかに記載の化合物。

【実施態様 188】

実施態様 174 ~ 186 のいずれかに記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩、及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物。

【実施態様 189】

動物の肝臓に siRNA を送達する方法であって、実施態様 174 ~ 186 のいずれかに記載の式 I の化合物またはその薬学的に許容される塩を前記動物に投与することを含む、前記方法。

30

【実施態様 190】

動物の B 型肝炎ウイルス感染を処置する方法であって、実施態様 1 ~ 49、52 ~ 61、または 174 ~ 186 のいずれかに記載の式 I もしくは I d の化合物またはその薬学的に許容される塩を、有効量で前記動物に投与することを含む、前記方法。

【実施態様 191】

式 I もしくは I d の前記化合物またはその薬学的に許容される塩が皮下投与される、実施態様 190 に記載の方法。

【実施態様 192】

医学療法に使用するための、実施態様 1 ~ 49、52 ~ 61、または 174 ~ 186 のいずれかに記載の式 I もしくは I d の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

40

【実施態様 193】

動物の B 型肝炎ウイルス感染の予防処置または治療処置のための、実施態様 1 ~ 49、52 ~ 61、または 174 ~ 186 のいずれかに記載の式 I もしくは I d の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【実施態様 194】

動物の B 型肝炎ウイルス感染を処置するための薬物を調製するための、実施態様 1 ~ 49、52 ~ 61、または 174 ~ 186 のいずれかに記載の式 I もしくは I d の化合物、またはその薬学的に許容される塩の使用。

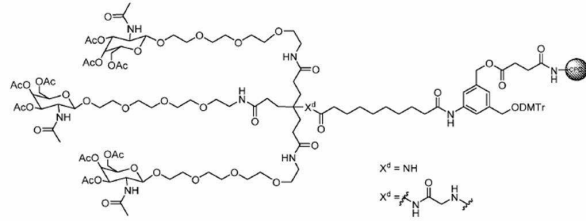
50

[実施態様 195]

前記動物はヒトである、実施態様 190 ~ 194 のいずれかに記載の方法、化合物、または使用。

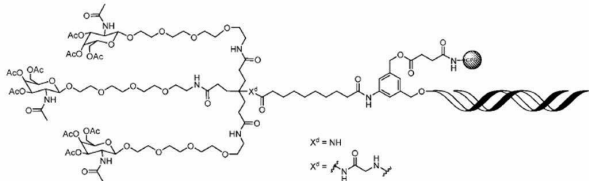
【 図面 】

【 図 1 】



標的化リガンド／リンカーが固相支持体に結合しており、P g 1が保護基DMTrである、式 I e の中間体化合物。

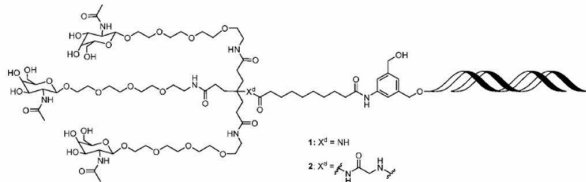
【 図 2 】



標的化リガンドが固相支持体に結合しており、オリゴヌクレオチドが共有結合した、式 I d の代表的な化合物。

10

【 図 3 】



標的化リガンドーオリゴヌクレオチドコンジュゲートが固相支持体から切断され、脱保護されている、式 I d の代表的な化合物。

20

【 配列表 】

0007564173000001.xml

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 48/00

米国(US)

- (72)発明者 リチャード ジェイ . ホランド
カナダ国 ブイ5ジェイ 5ジェイ8 , プリティッシュコロombia , バーナビー , グレンヨン
パークウェイ 8900 - 100
- (72)発明者 アダム ジャッジ
カナダ国 ブイ5ジェイ 5ジェイ8 , プリティッシュコロombia , バーナビー , グレンヨン
パークウェイ 8900 - 100
- (72)発明者 エイミー シー . エイチ . リー
カナダ国 ブイ5ジェイ 5ジェイ8 , プリティッシュコロombia , バーナビー , グレンヨン
パークウェイ 8900 - 100
- (72)発明者 アラン ディー . マーティン
カナダ国 ブイ5ジェイ 5ジェイ8 , プリティッシュコロombia , バーナビー , グレンヨン
パークウェイ 8900 - 100
- (72)発明者 ニコラス マイケル スニード
カナダ国 ブイ5ジェイ 5ジェイ8 , プリティッシュコロombia , バーナビー , グレンヨン
パークウェイ 8900 - 100
- (72)発明者 エミリー ピー . ティー
カナダ国 ブイ5ジェイ 5ジェイ8 , プリティッシュコロombia , バーナビー , グレンヨン
パークウェイ 8900 - 100
- (72)発明者 マーク ウッド
カナダ国 ブイ5ジェイ 5ジェイ8 , プリティッシュコロombia , バーナビー , グレンヨン
パークウェイ 8900 - 100
- (72)発明者 シン イェ
カナダ国 ブイ5ジェイ 5ジェイ8 , プリティッシュコロombia , バーナビー , グレンヨン
パークウェイ 8900 - 100

審査官 野村 英雄

- (56)参考文献 国際公開第2016/077321 (WO, A1)
特表2016-501195 (JP, A)
国際公開第2005/021751 (WO, A1)
国際公開第2016/179342 (WO, A1)
国際公開第2016/057893 (WO, A1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 15/00 - 15/90
C12Q 1/00 - 3/00
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
GenBank/EMBL/DBJ/GenSeq
PubMed