

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7022079号
(P7022079)

(45)発行日 令和4年2月17日(2022.2.17)

(24)登録日 令和4年2月8日(2022.2.8)

(51)国際特許分類

F I

C 0 8 G 79/02 (2016.01)

C 0 8 G 79/02

C 0 7 F 9/6558(2006.01)

C 0 7 F 9/6558

C S P

C 0 7 H 21/00 (2006.01)

C 0 7 H 21/00

A 6 1 K 31/712 (2006.01)

A 6 1 K 31/712

A 6 1 P 21/04 (2006.01)

A 6 1 P 21/04

請求項の数 22 (全215頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-562079(P2018-562079)

(86)(22)出願日 平成29年6月30日(2017.6.30)

(65)公表番号 特表2019-518748(P2019-518748
A)

(43)公表日 令和1年7月4日(2019.7.4)

(86)国際出願番号 PCT/US2017/040311

(87)国際公開番号 WO2017/205879

(87)国際公開日 平成29年11月30日(2017.11.30)

審査請求日 令和2年6月23日(2020.6.23)

(31)優先権主張番号 62/508,256

(32)優先日 平成29年5月18日(2017.5.18)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/357,153

(32)優先日 平成28年6月30日(2016.6.30)

最終頁に続く

(73)特許権者 501237039

サレプタ セラピューティクス, インコ
ーポレイテッドアメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
1 4 2, ケンブリッジ, ファースト
ストリート 2 1 5

(74)代理人 100078282

弁理士 山本 秀策

(74)代理人 100113413

弁理士 森下 夏樹

(72)発明者 カイ, パオ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
1 4 2, ケンブリッジ, ファースト
ストリート 2 1 5, サレプタ セラピ
ューティクス, インコーポレイテッド

最終頁に続く

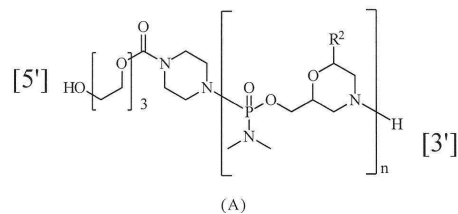
(54)【発明の名称】 ホスホロジアミダートモルホリノオリゴマーを調製するためのプロセス

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(A) :

【化301】

(式中、nは22であり、R₂は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【表 3 2】

5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²
1	C	11	C	21	T
2	A	12	T	22	G
3	A	13	G		
4	T	14	G		
5	G	15	A		
6	C	16	G		
7	C	17	T		
8	A	18	T		
9	T	19	C		
10	C	20	C		

であり、

式 (A) のオリゴマー化合物は式 (C) の化合物

10

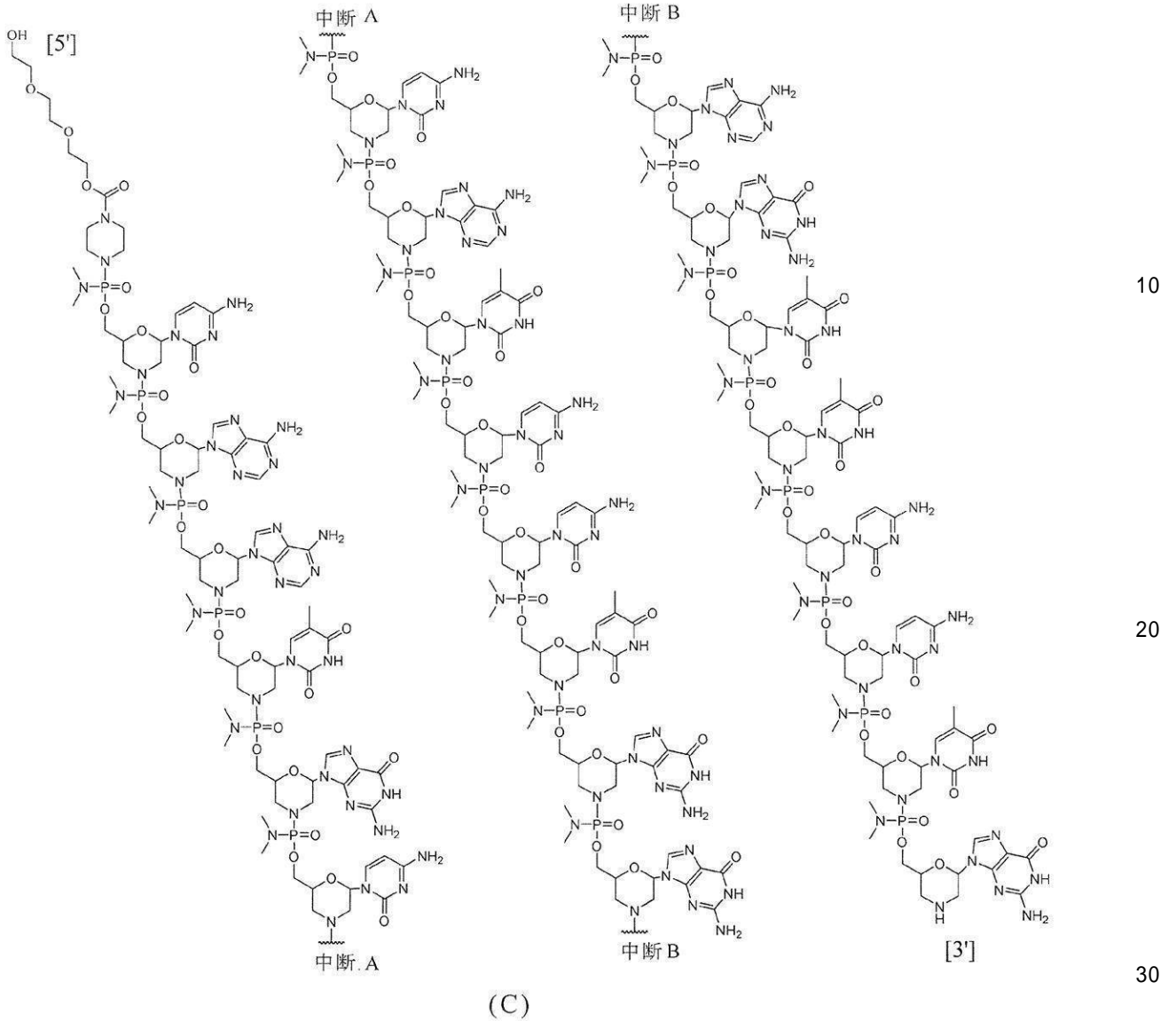
20

30

40

50

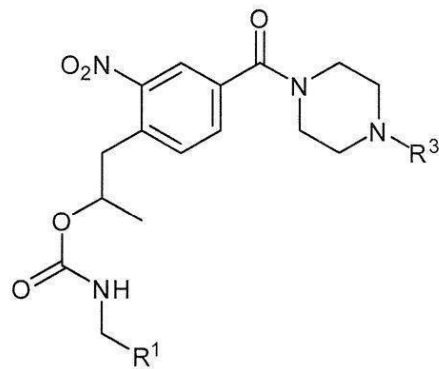
【化 3 0 2】



またはその医薬的に許容される塩である) のオリゴマー化合物を調製するためのプロセスであって、前記プロセスは、以下の連続したステップ：

(a) 式 (A 1) :

【化 3 0 3】



(A1)

(式中、 R 1 は支持媒体であり、 R 3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される) の化合物を脱ブロッキング

10

20

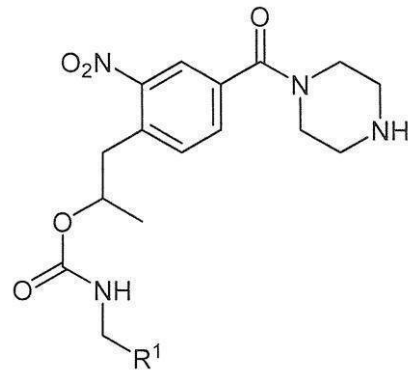
30

40

50

グ剤と接触させて式 (I I) :

【化 3 0 4】



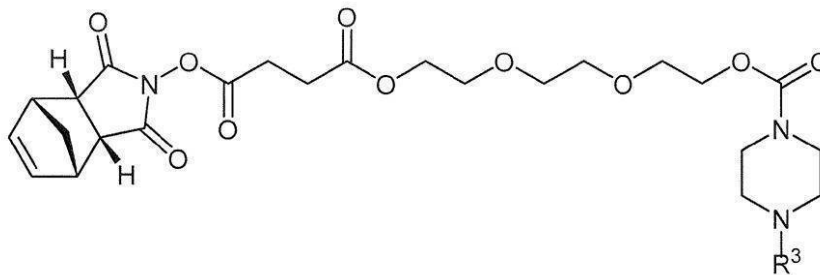
(II)

10

(式中、R¹ は支持媒体である) の化合物を形成するステップ ;

(b) 式 (I I) の化合物を式 (A 2) :

【化 3 0 5】

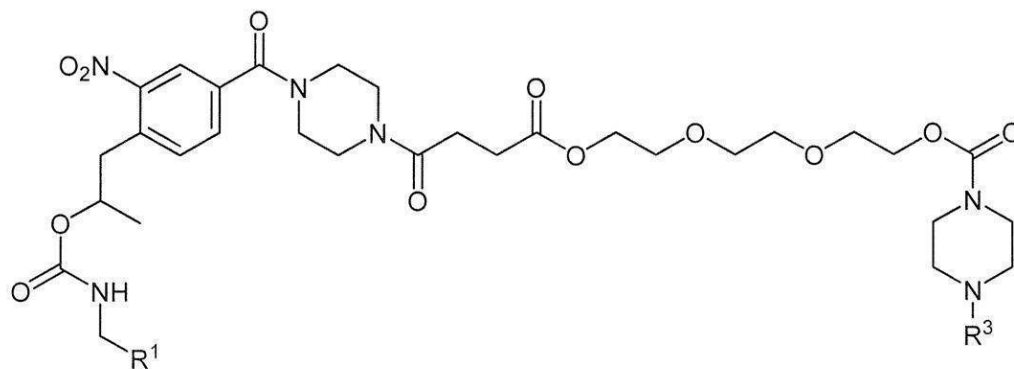


(A2)

20

(式中、R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される) の化合物と接触させて式 (A 3) :

【化 3 0 6】



(A3)

30

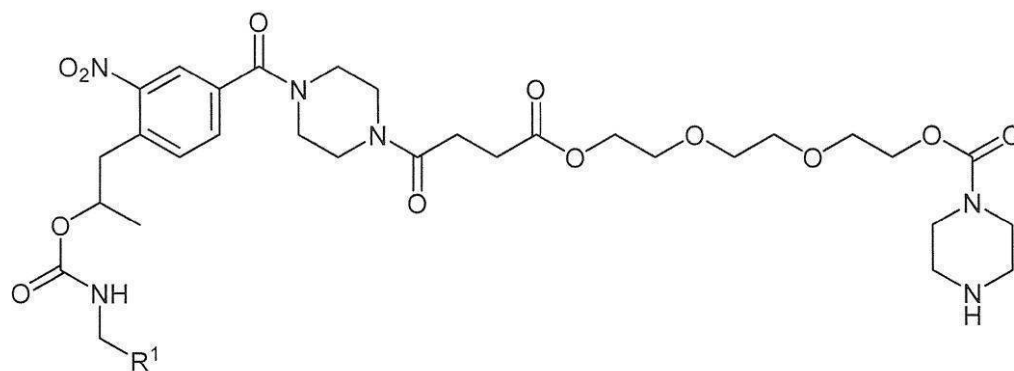
40

(式中、R¹ は支持媒体であり、R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される) の化合物を形成するステップ ;

(c) 式 (A 3) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (I V) :

50

【化 3 0 7】



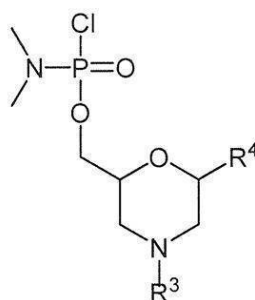
10

(IV)

(式中、R¹は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(d)式(I V)の化合物を式(A 4)：

【化 3 0 8】

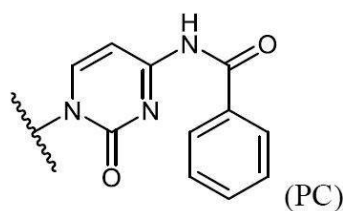


20

(A4)

(式中、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

【化 3 0 9】



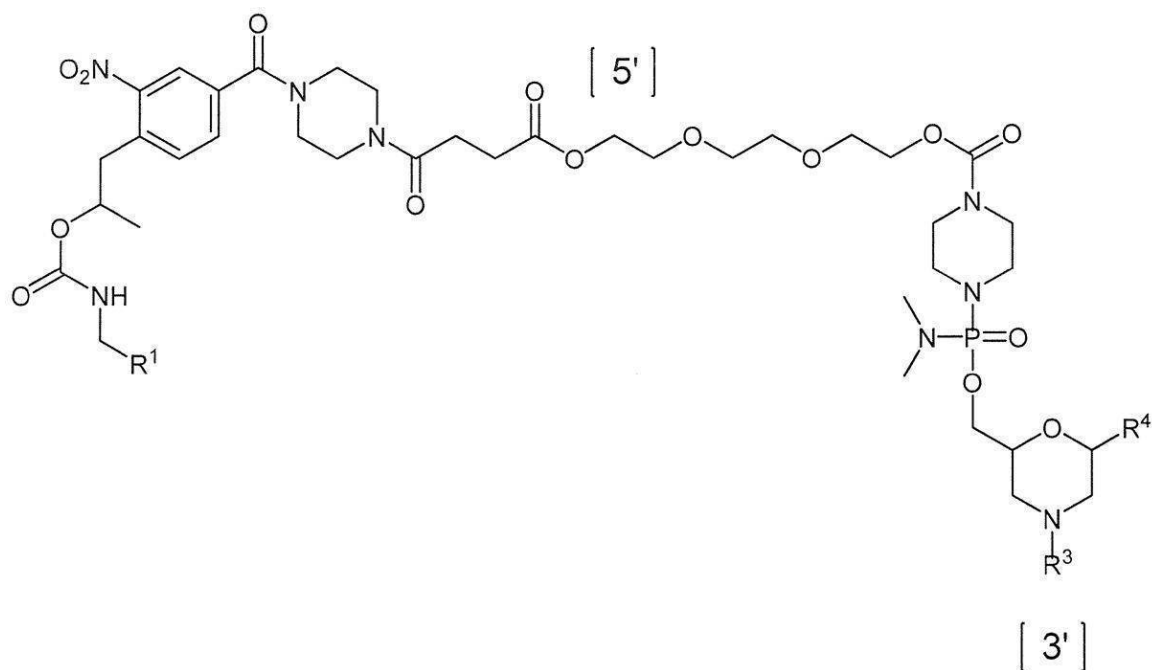
30

である)の化合物と接触させて式(A 5)：

40

50

【化 3 1 0】



10

(A5)

20

(式中、R¹は支持媒体であり、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

【化 3 1 1】



30

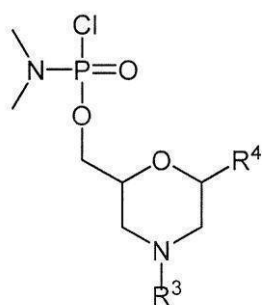
である)の化合物を形成するステップ；

(e)以下の連続したステップ：

(e1)直前のステップによって形成された生成物を脱プロッキング剤と接触させるステップ、および

(e2)直前のステップによって形成された化合物を式(A8)：

【化 3 1 2】



40

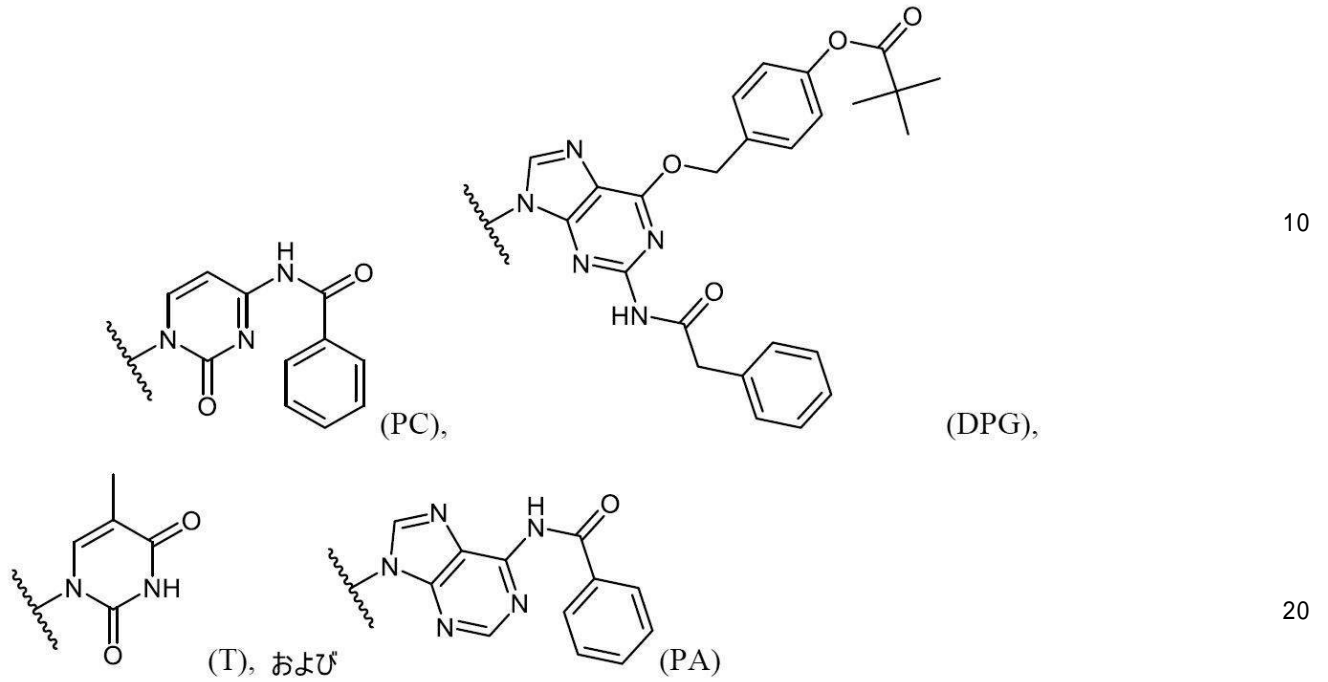
(A8)

(式中、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキ

50

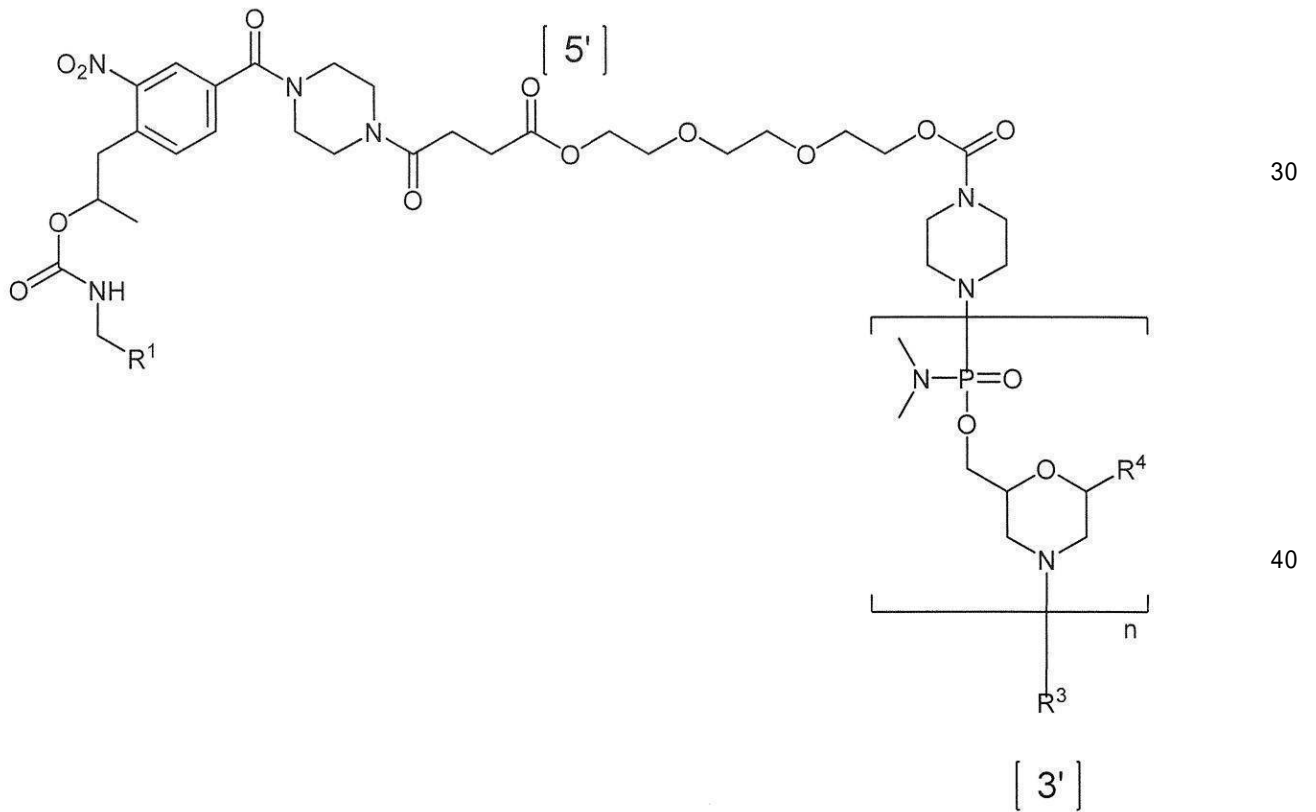
シトリチルからなる群から選択され、 R^4 は、式 (A 8) の各化合物について独立して、以下：

【化 3 1 3】



からなる群から選択される) の化合物と接触させて式 (A 9) :

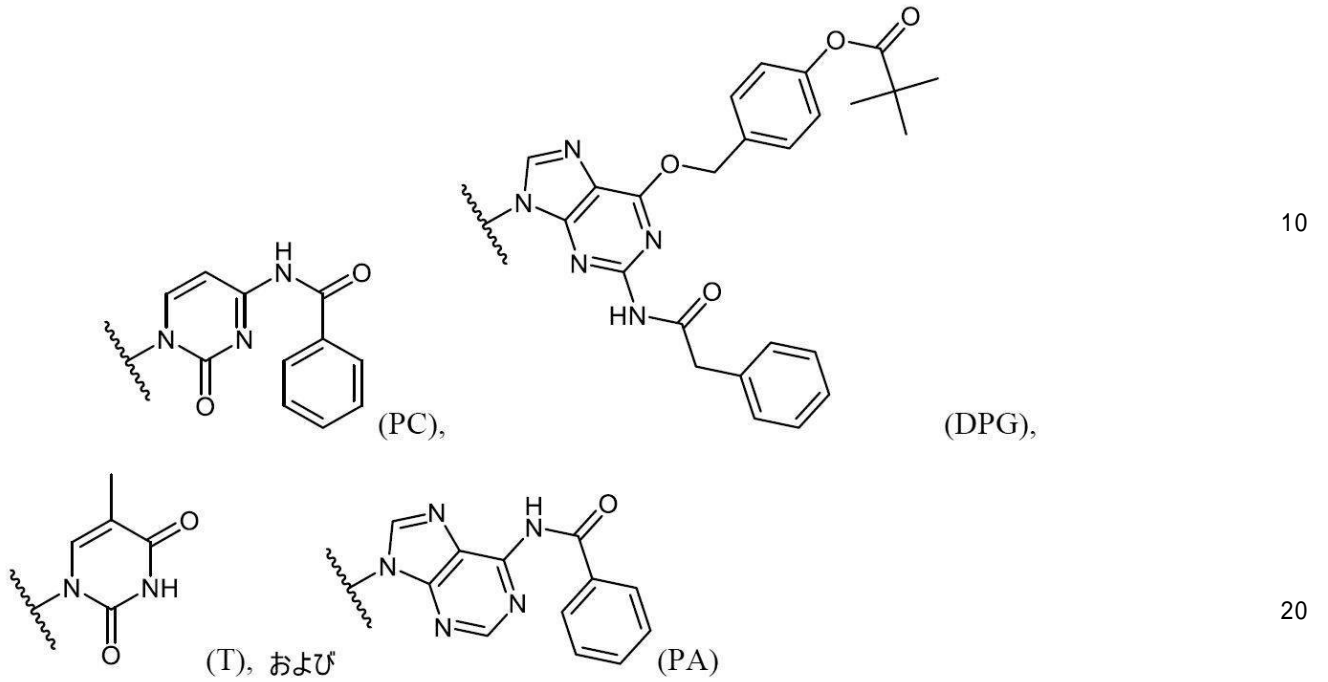
【化 3 1 4】



(式中、 n は 2 であり、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチ

ル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は、各出現について独立して、以下：

【化315】

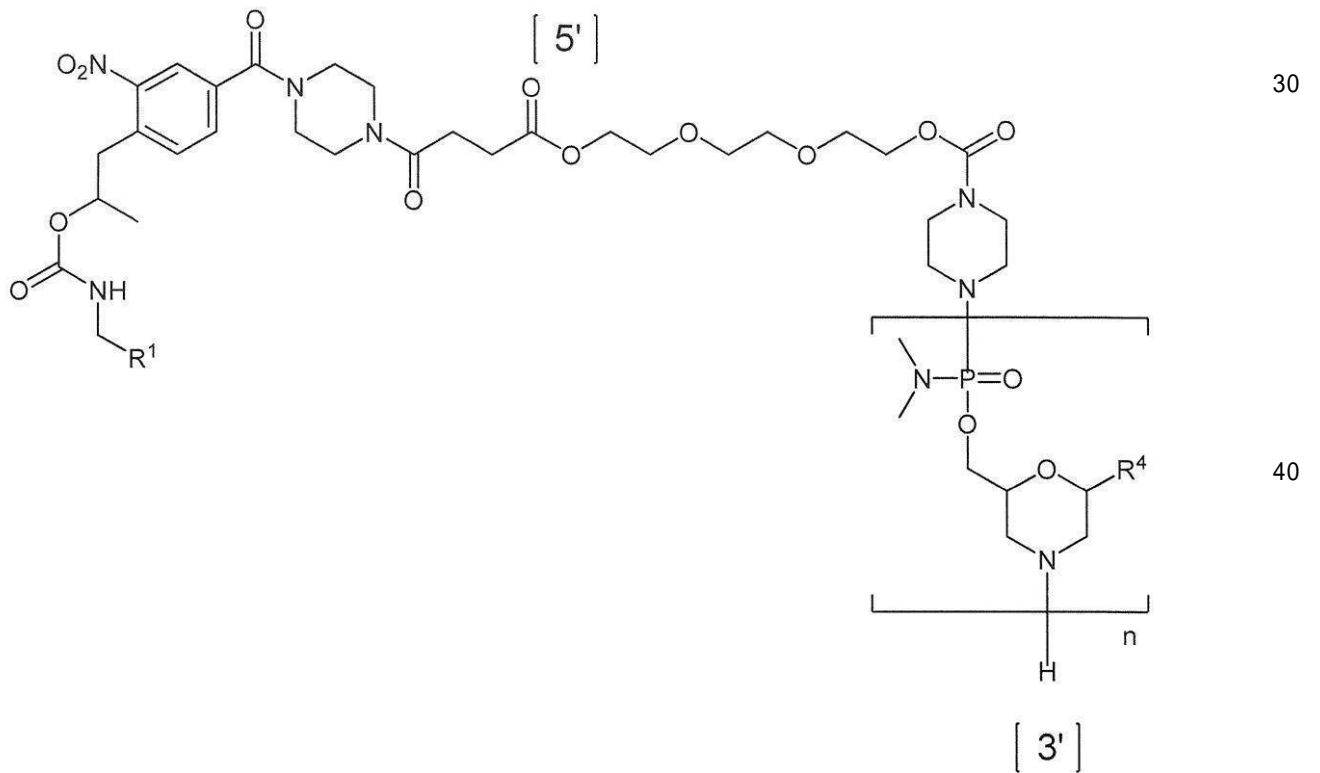


からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ

のn-1回の反復を実施するステップ；

(f)式(A9)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(A10)：

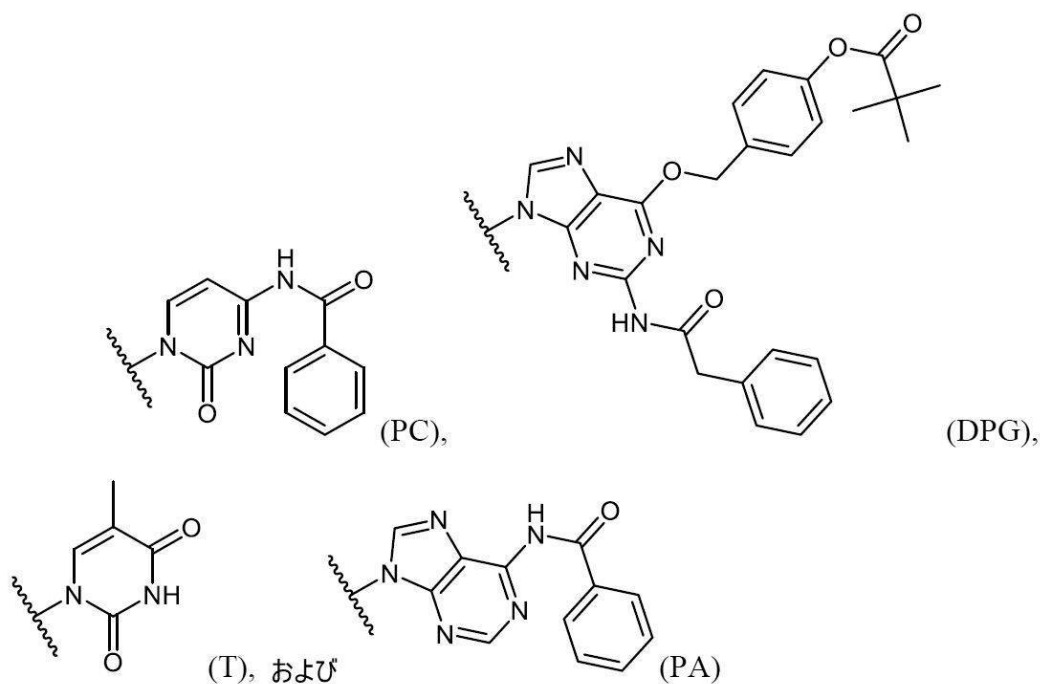
【化316】



(A10)

(式中、 n は2であり、 R^1 は支持媒体であり、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

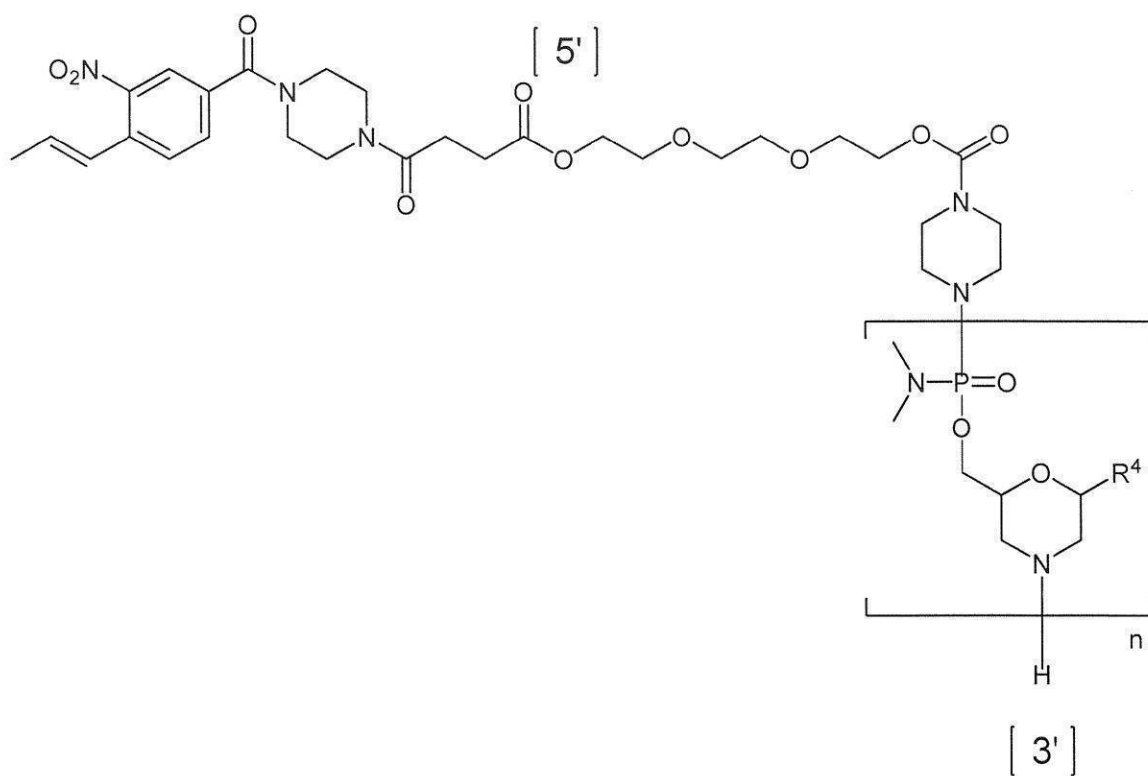
【化317】



からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ；

(g)式(A10)の化合物を切断剤と接触させて式(A11)：

【化318】



(式中、 n は2であり、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

10

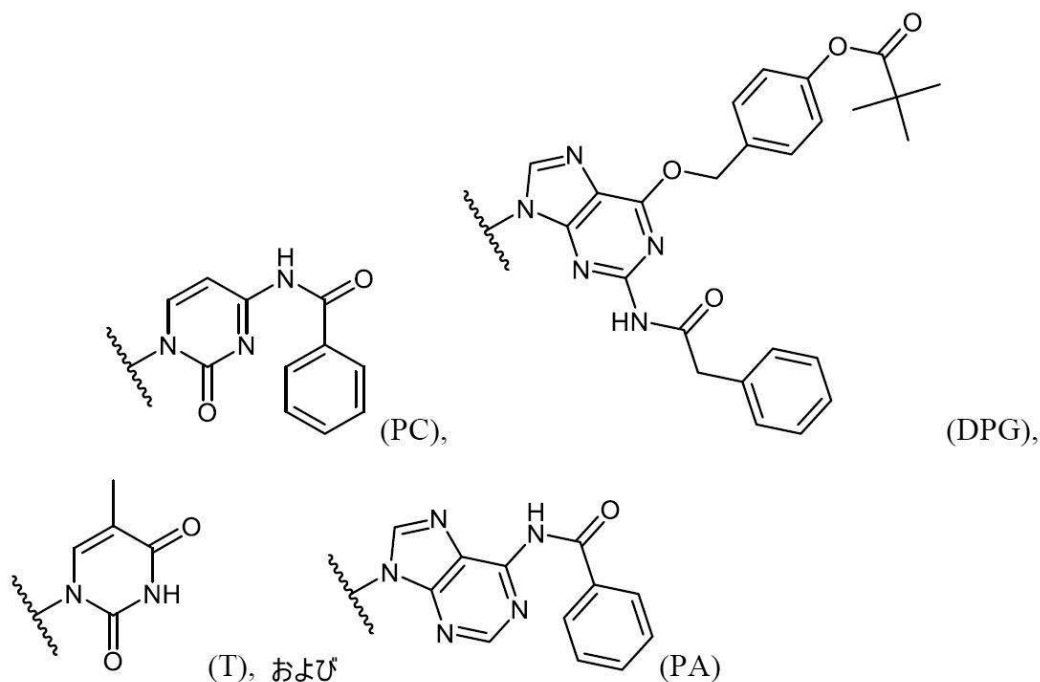
20

30

40

50

【化 3 1 9】



10

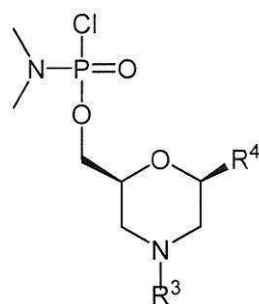
20

からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ;ならびに
 (h)式(A11)の化合物を脱保護剤と接触させて式(A)のオリゴマー化合物を形成
 するステップ
 を含むプロセス。

【請求項2】

式(A4)の化合物が式(A4a):

【化320】



(A4a)

30

の化合物であり、式中、

R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチ
 ルからなる群から選択され、

R⁴は、以下:

【化321】



40

50

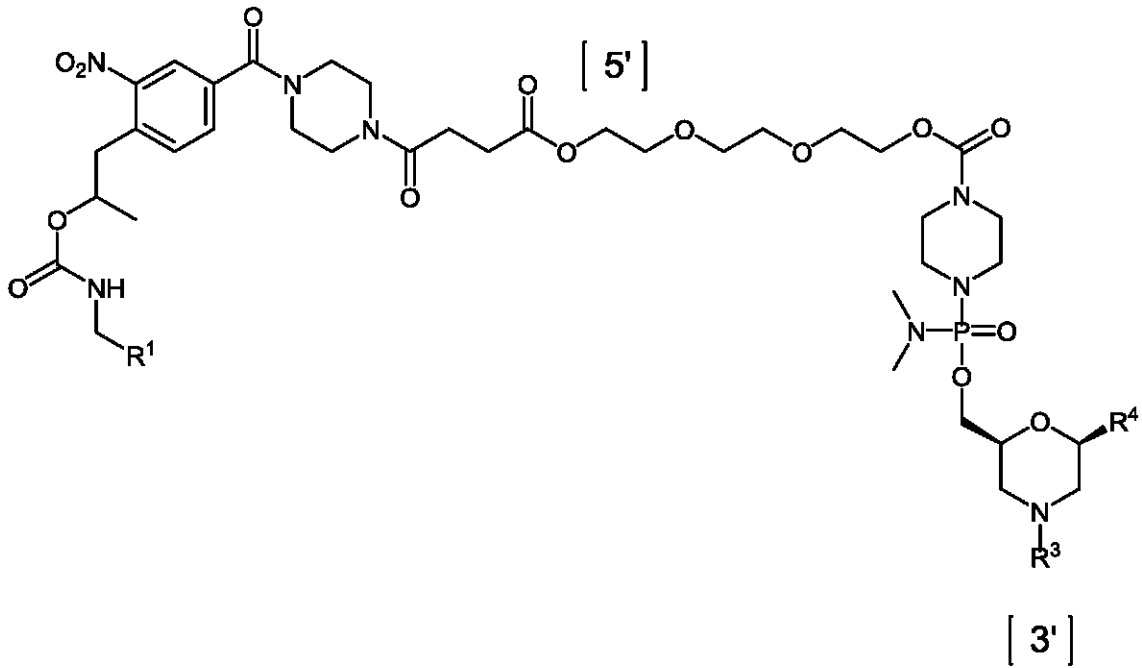
である、

請求項 1 に記載のプロセス。

【請求項 3】

式 (A 5) の化合物が式 (A 5 a) :

【化 3 2 2】



(A5a)

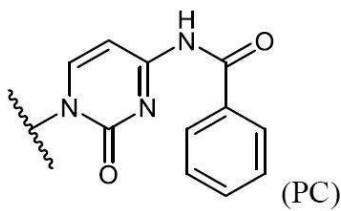
の化合物であり、式中、

R¹ は支持媒体であり、

R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴ は、以下：

【化 3 2 3】



である、

請求項 1 または 2 に記載のプロセス。

【請求項 4】

式 (A 8) の化合物が式 (A 8 a) :

10

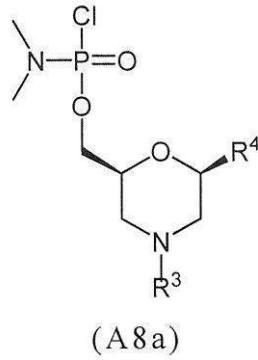
20

30

40

50

【化 3 2 4】



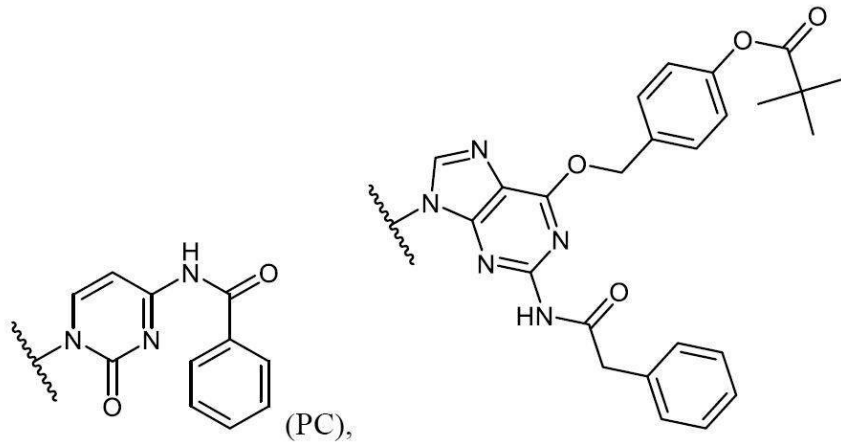
10

の化合物であり、式中、

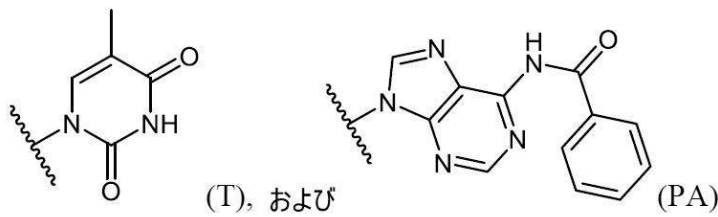
R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴ は、式 (A 8 a) の化合物の各出現で独立して、以下：

【化 3 2 5】



20



30

からなる群から選択される、

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のプロセス。

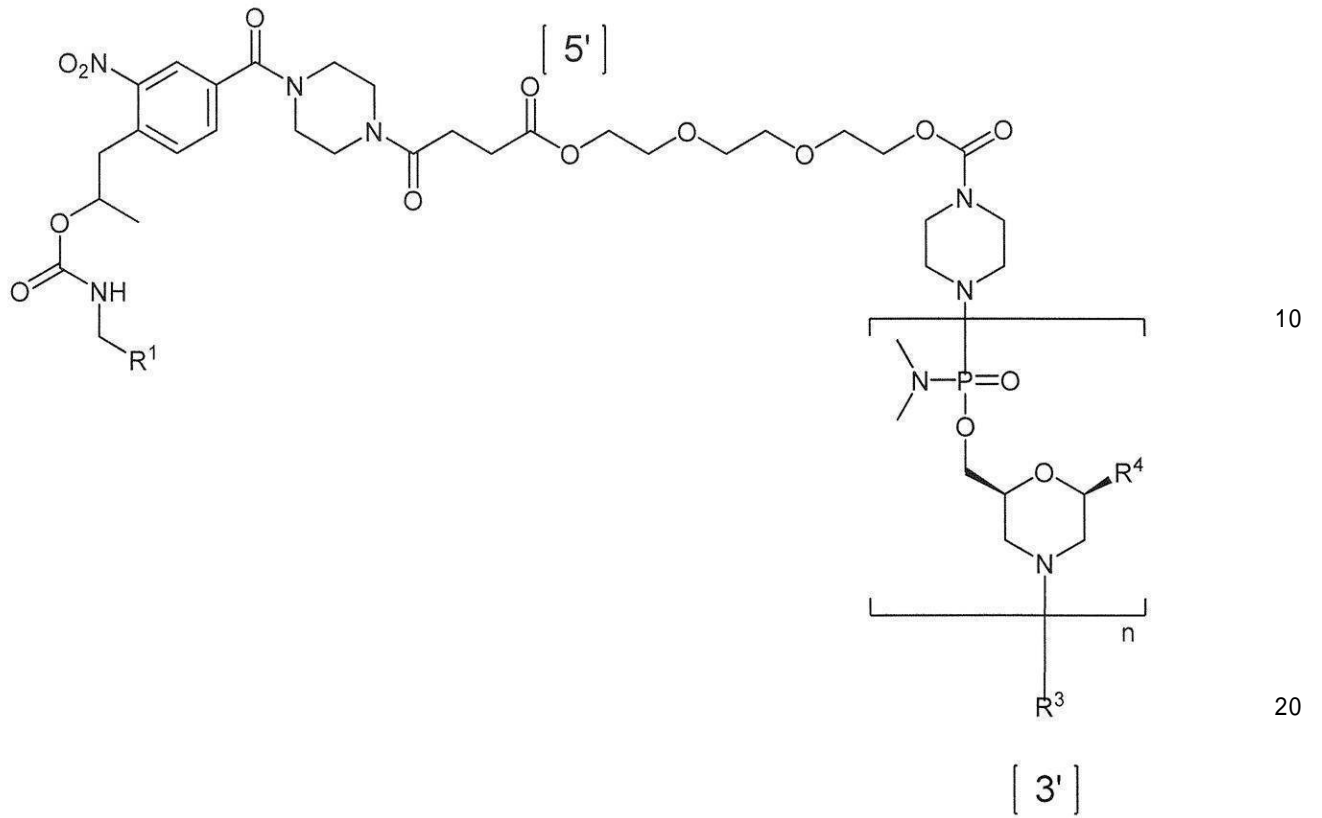
【請求項 5】

式 (A 9) の化合物が式 (A 9 a) :

40

50

【化 3 2 6】



(A9a)

の化合物であり、式中、

n は 2 であり、

R¹ は支持媒体であり、

R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴ は、各出現について独立して、以下：

10

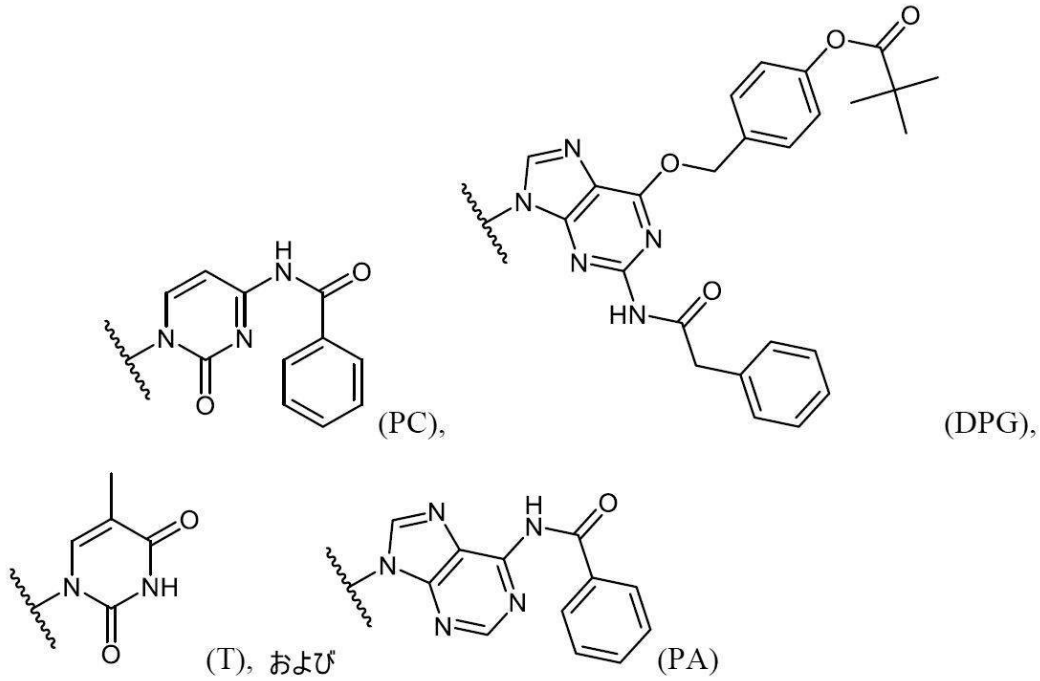
20

30

40

50

【化 3 2 7】



10

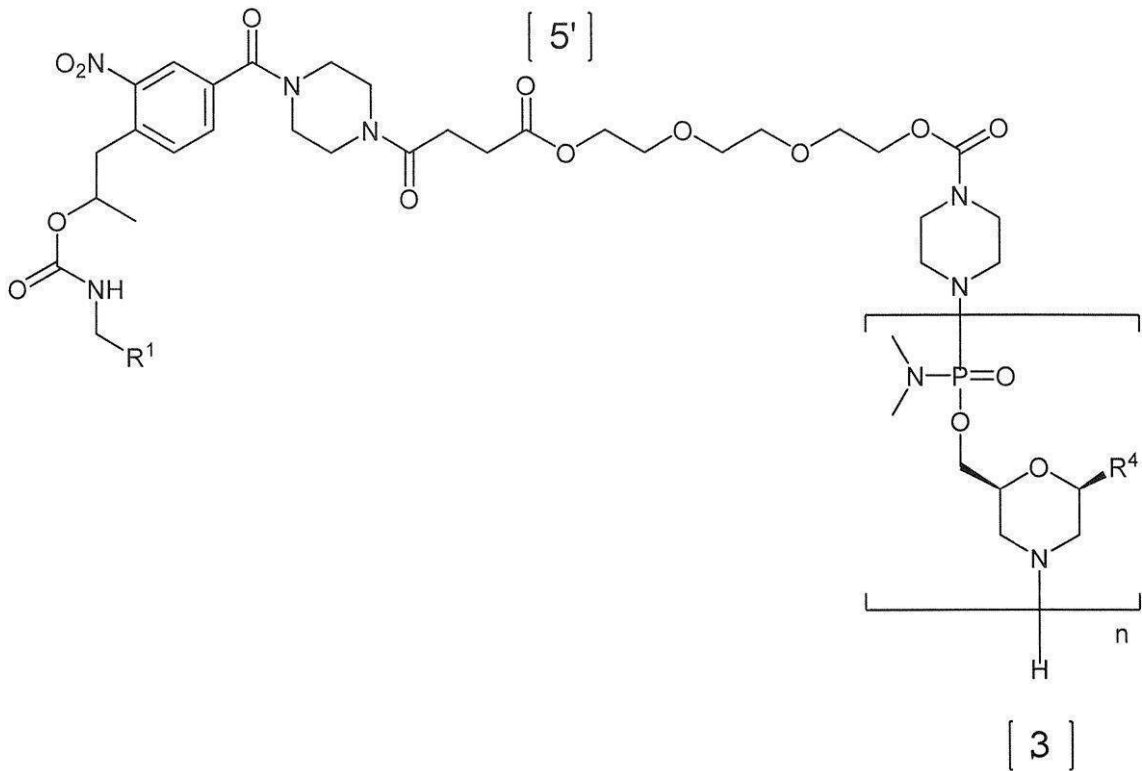
20

からなる群から選択される、
請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のプロセス。

【請求項 6】

式 (A 1 0) の化合物が式 (A 1 0 a) :

【化 3 2 8】



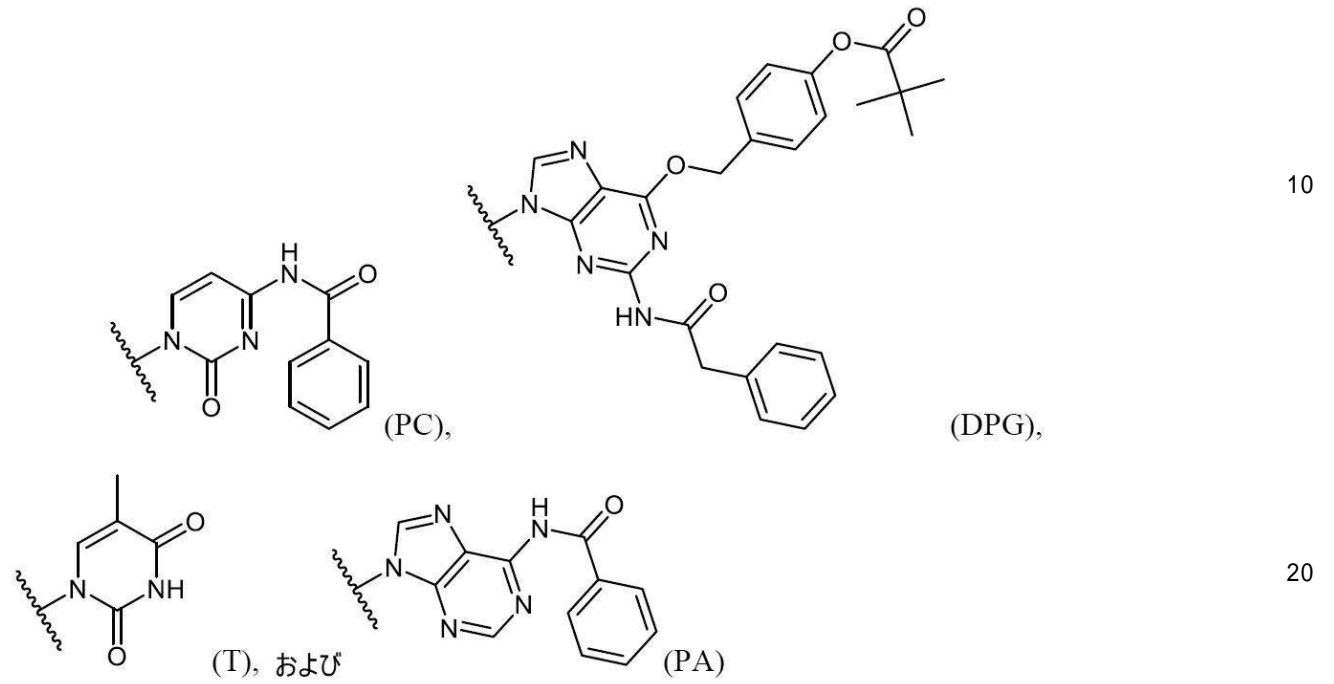
30

40

の化合物であり、式中、

50

n は 2 2 であり、
 R 1 は支持媒体であり、
 R 4 は、各出現について独立して、以下：
 【化 3 2 9】



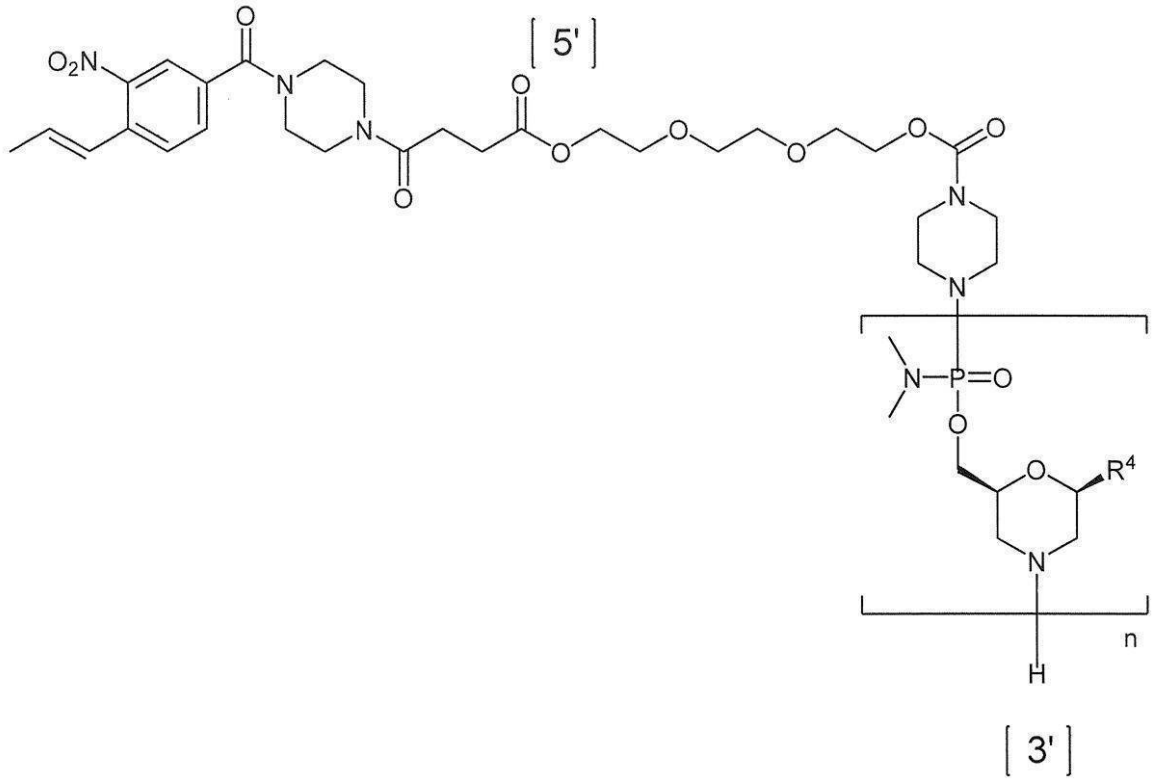
からなる群から選択される、
 請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のプロセス。
 【請求項 7】
 式 (A 1 1) の化合物が式 (A 1 1 a) :

30

40

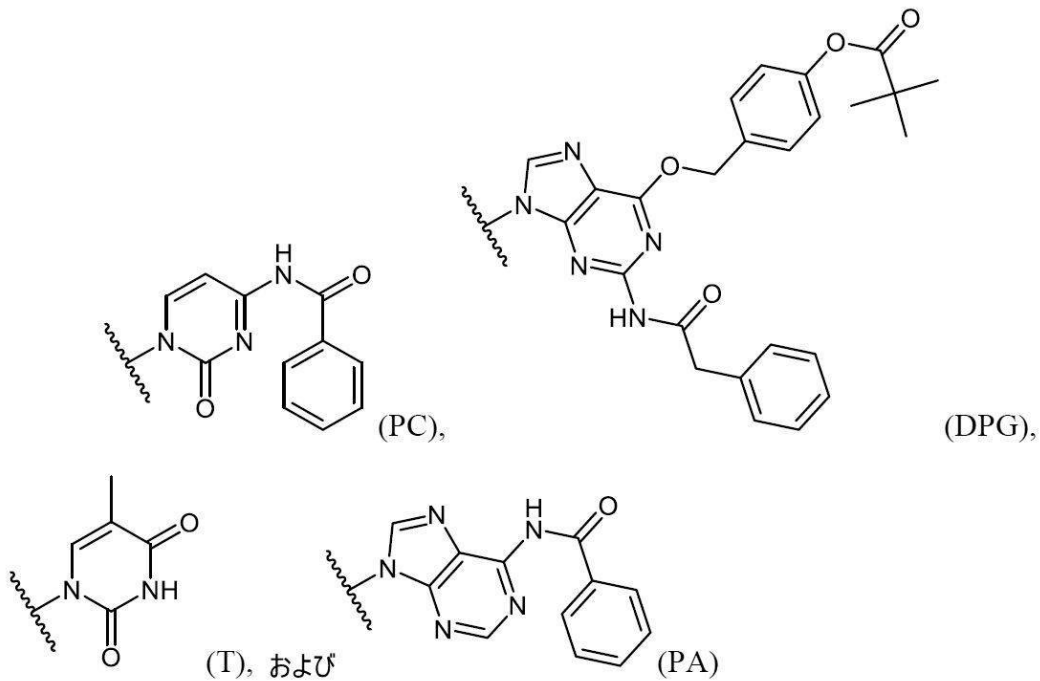
50

【化 3 3 0】



(A11a)

の化合物であり、式中、
 n は 2 であり、
 R⁴ は、各出現について独立して、以下：
 【化 3 3 1】



からなる群から選択される、

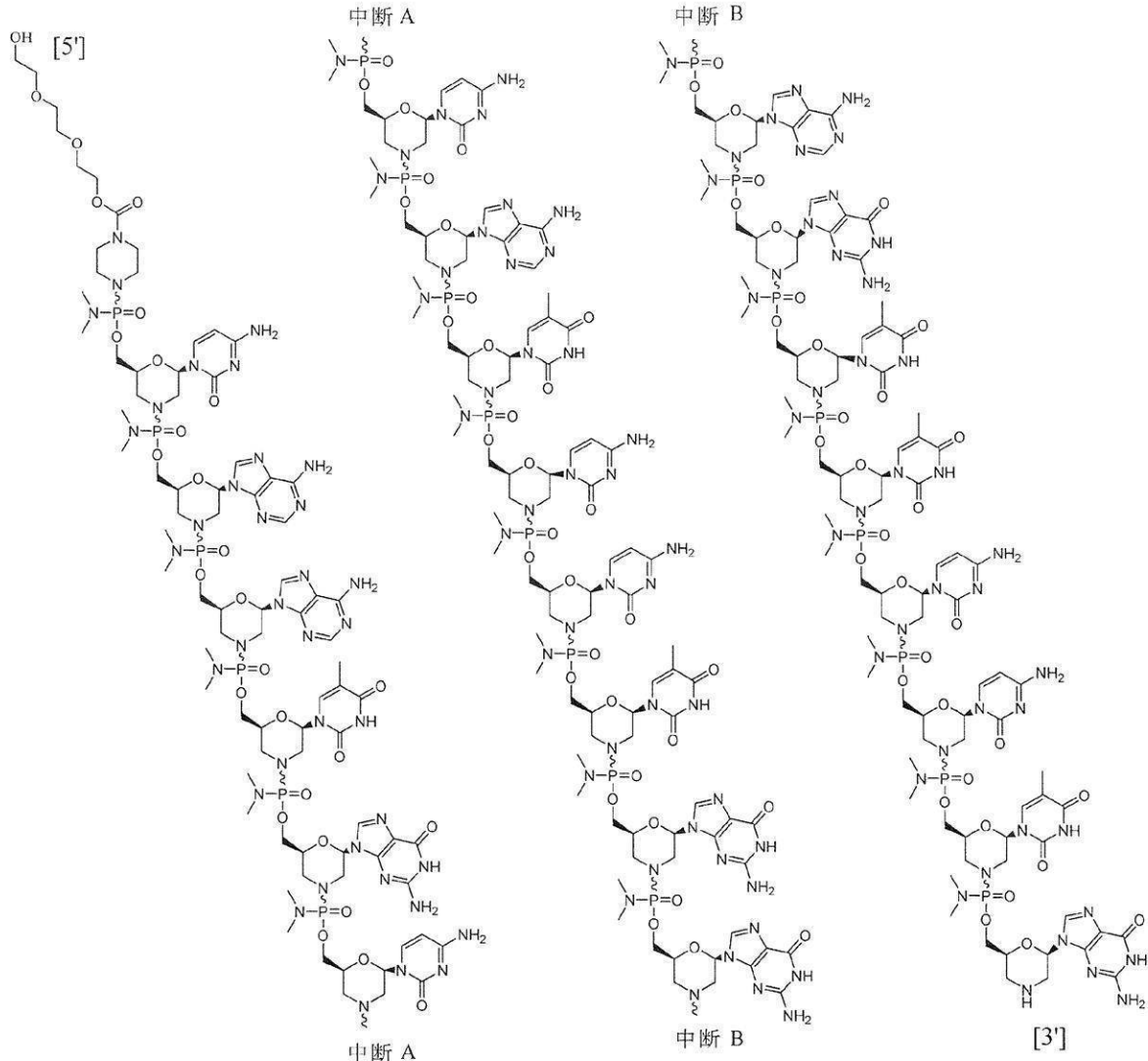
50

請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のプロセス。

【請求項 8】

式 (C) のオリゴマー化合物は式 (X I I) :

【化 3 3 2】



10

20

30

(XII)

のオリゴマー化合物、またはその医薬的に許容される塩である、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のプロセス。

【請求項 9】

R³ は、各出現でトリチルである、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載のプロセス。

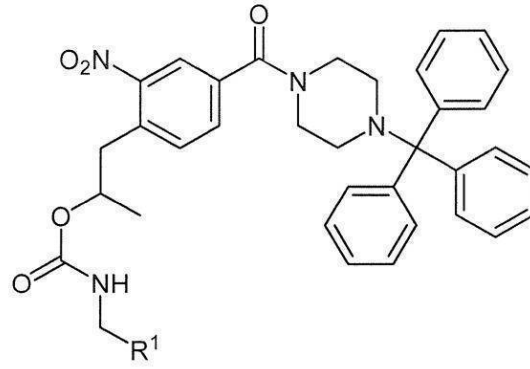
【請求項 10】

以下の連続したステップ:

(a) 式 (I) :

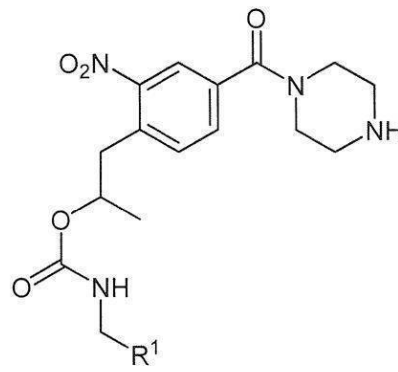
40

【化 3 3 3】



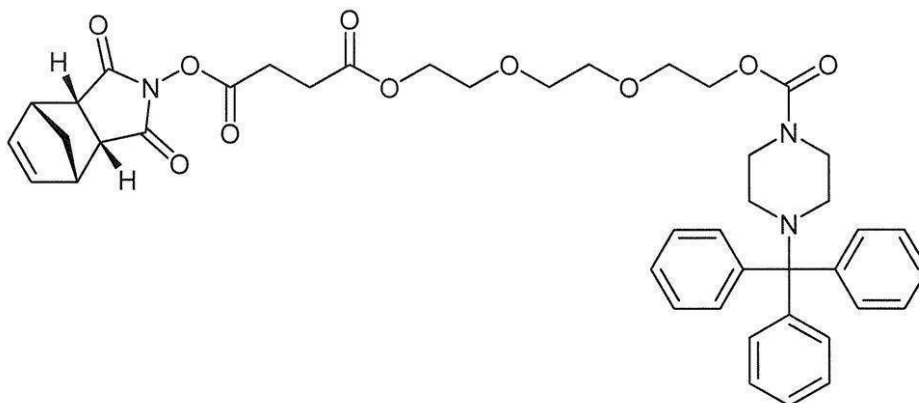
(I)

(式中、R¹ は支持媒体である) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (II) :
【化 3 3 4】



(II)

(式中、R¹ は支持媒体である) の化合物を形成するステップ ;
(b) 式 (II) の化合物を化合物 (B) :
【化 3 3 5】



(B)

と接触させて式 (III) :

10

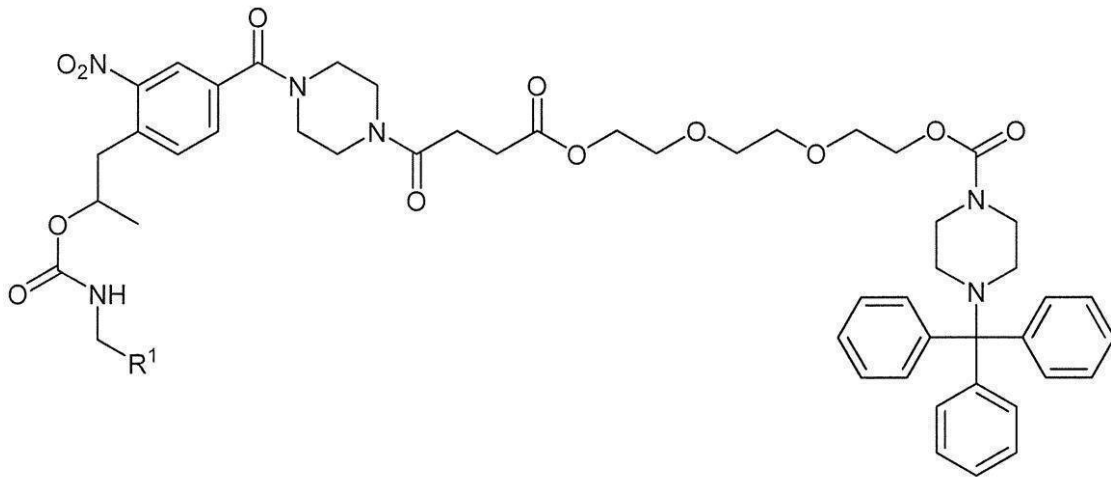
20

30

40

50

【化 3 3 6】



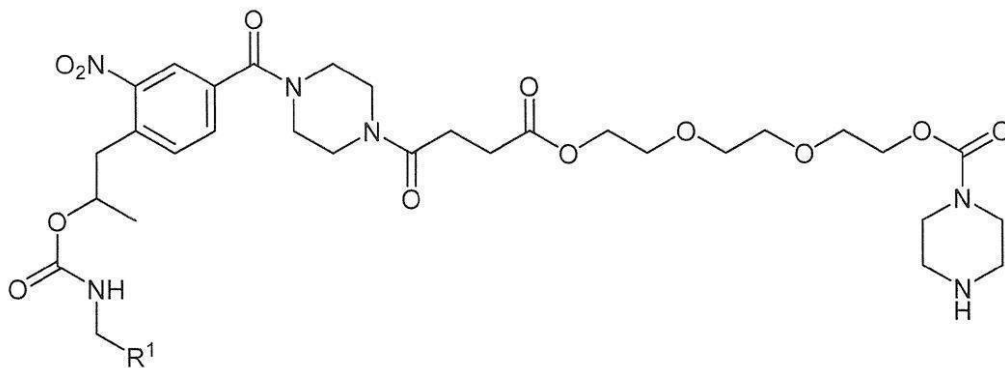
10

(III)

(式中、 R^1 は支持媒体である) の化合物を形成するステップ；

(c) 式 (III) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (IV)：

【化 3 3 7】



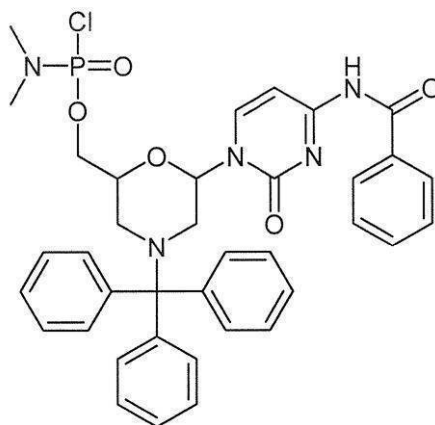
20

(IV)

(式中、 R^1 は支持媒体である) の化合物を形成するステップ；

(d) 式 (IV) の化合物を式 (D)：

【化 3 3 8】



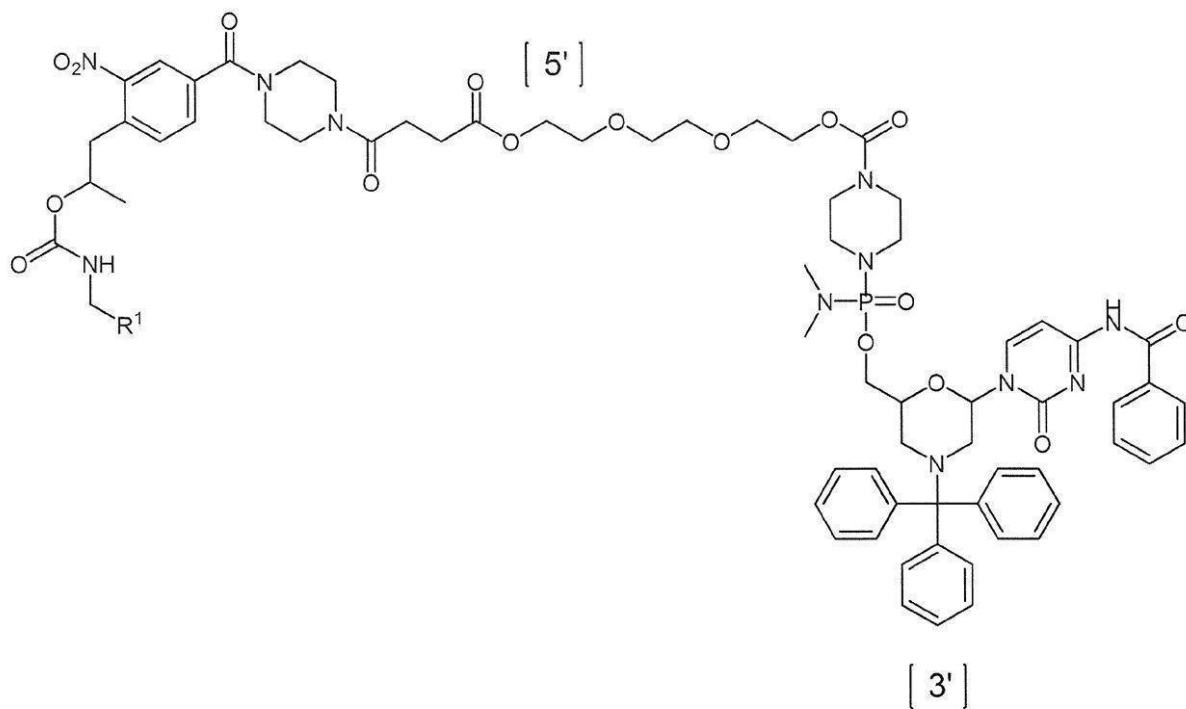
40

(D)

の化合物と接触させて式 (V)：

50

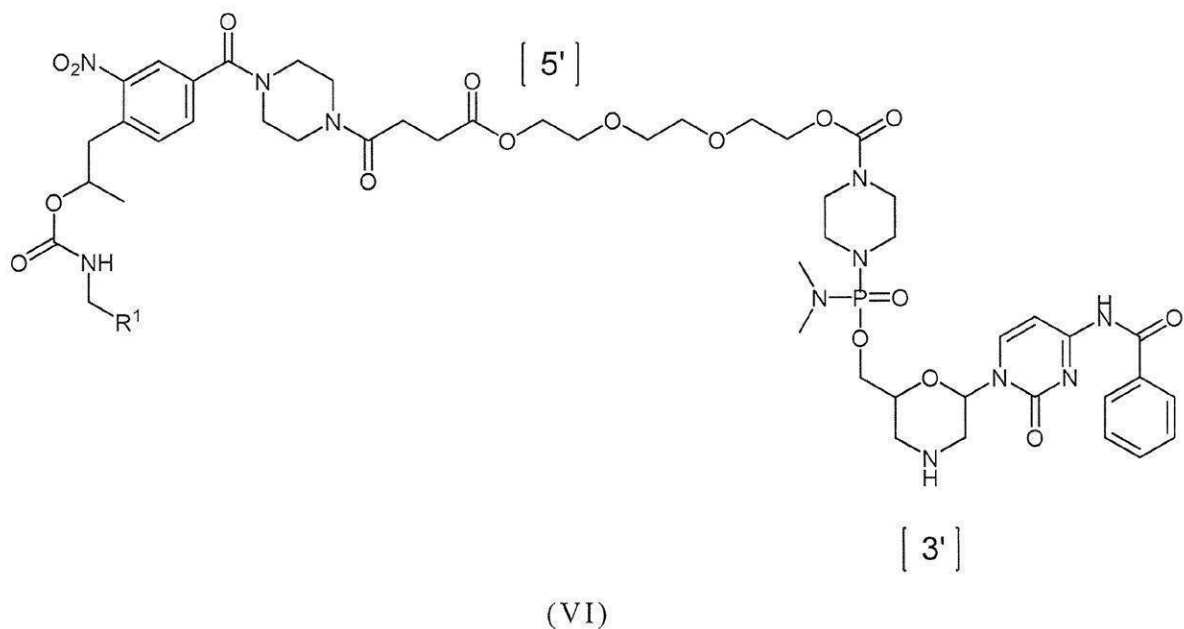
【化 3 3 9】



(式中、R¹ は支持媒体である) の化合物を形成するステップ；

(e) 式 (V) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (VI)：

【化 3 4 0】



(式中、R¹ は支持媒体である) の化合物を形成するステップ；

(f) 式 (VI) の化合物を式 (F)：

10

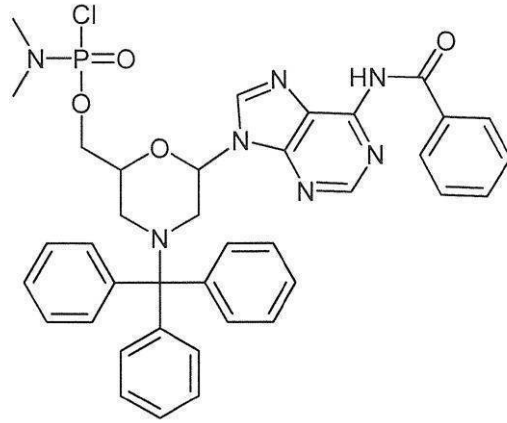
20

30

40

50

【化 3 4 1】

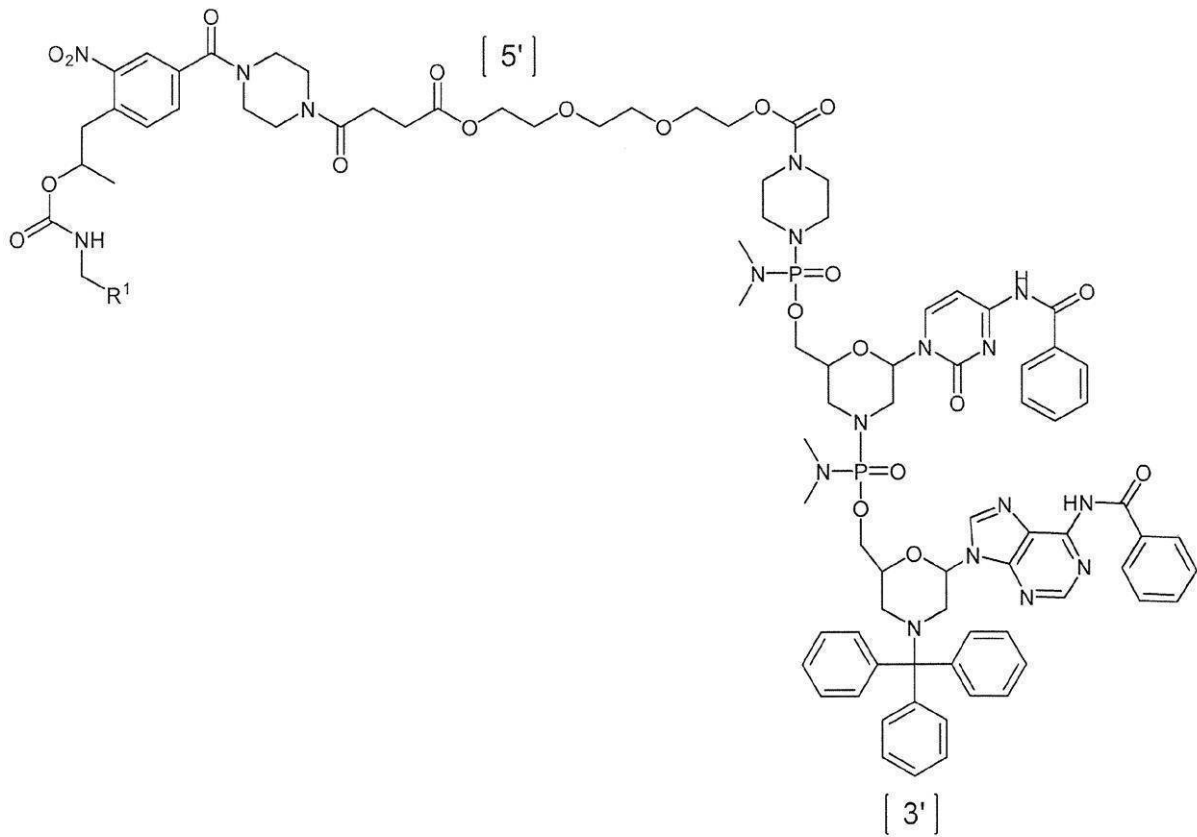


(F)

10

の化合物と接触させて式 (VII) :

【化 3 4 2】



(VII)

20

30

40

(式中、R¹ は支持媒体である) の化合物を形成するステップ ;

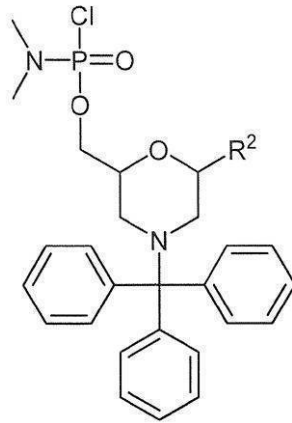
(g) 以下の連続したステップ :

(g1) 直前のステップによって形成された生成物を脱ブロッキング剤と接触させるステップ、および

(g2) 直前のステップによって形成された化合物を式 (VIII) :

50

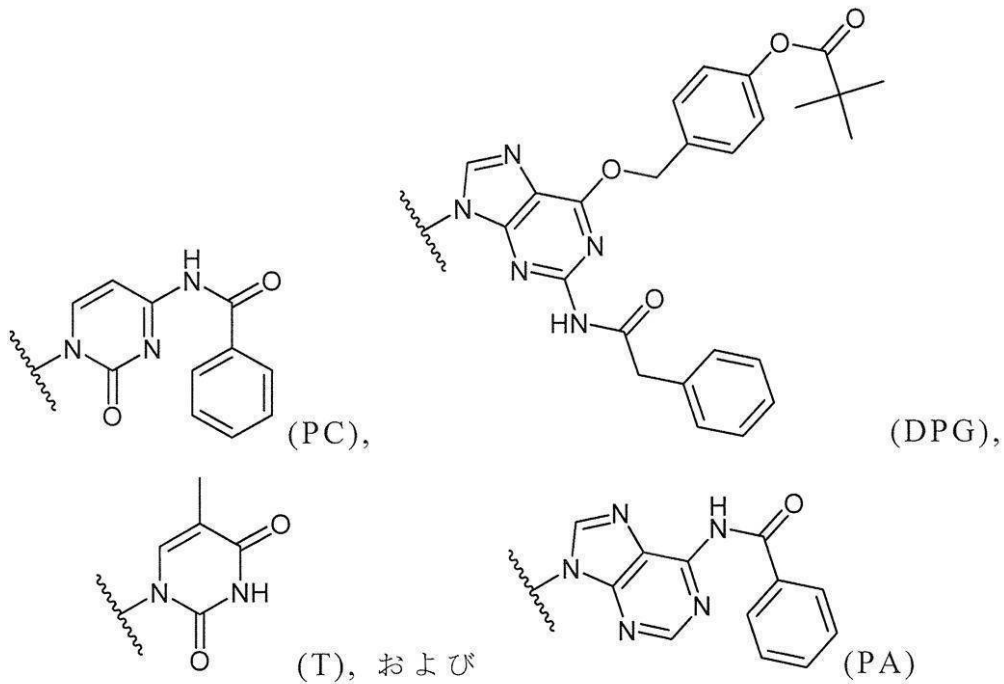
【化 3 4 3】



(VIII)

(式中、 R^2 は、式 (VIII) の各化合物について独立して、以下：

【化 3 4 4】



からなる群から選択され、各反復 1 ~ 20 について、 R^2 は、以下：

10

20

30

40

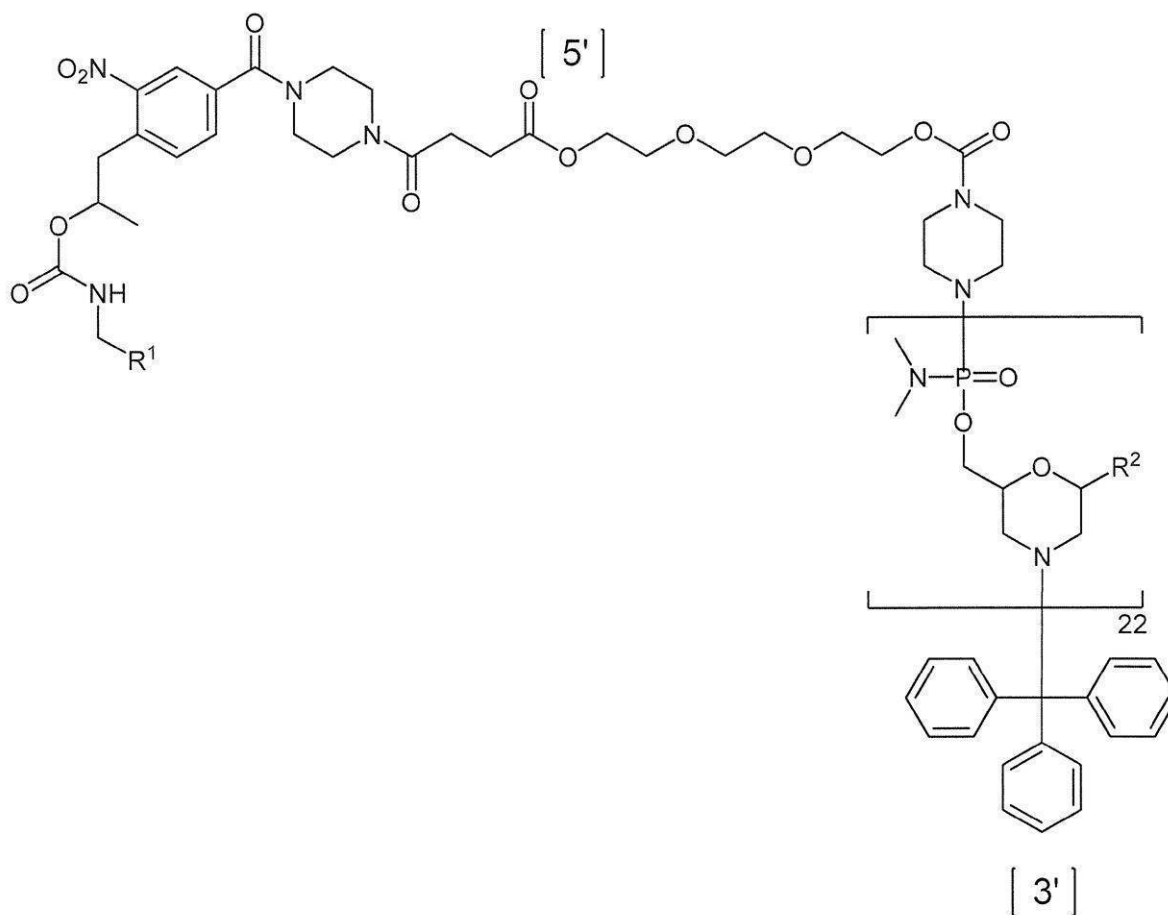
50

【表 3 3】

反復番号	R ²	反復番号	R ²
1	PA	11	DPG
2	T	12	DPG
3	DPG	13	PA
4	PC	14	DPG
5	PC	15	T
6	PA	16	T
7	T	17	PC
8	PC	18	PC
9	PC	19	T
10	T	20	DPG

である)の化合物と接触させて式(IX) :

【化 3 4 5】



(IX)

(式中、

R¹ は支持媒体であり、

R² は、各出現について独立して、以下 :

10

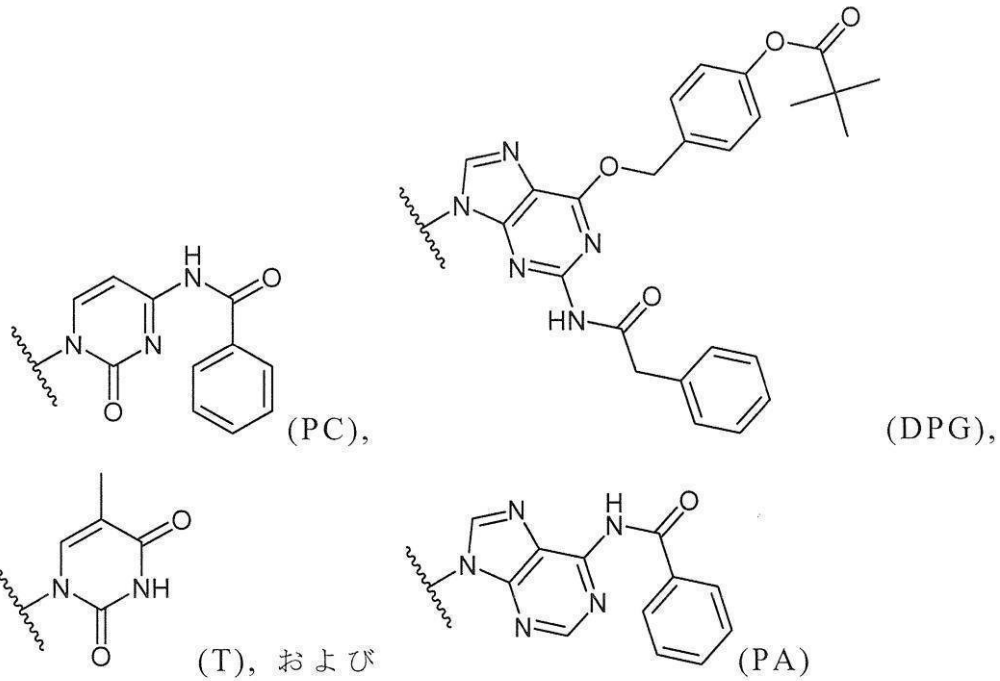
20

30

40

50

【化 3 4 6】



10

20

からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 3 4】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

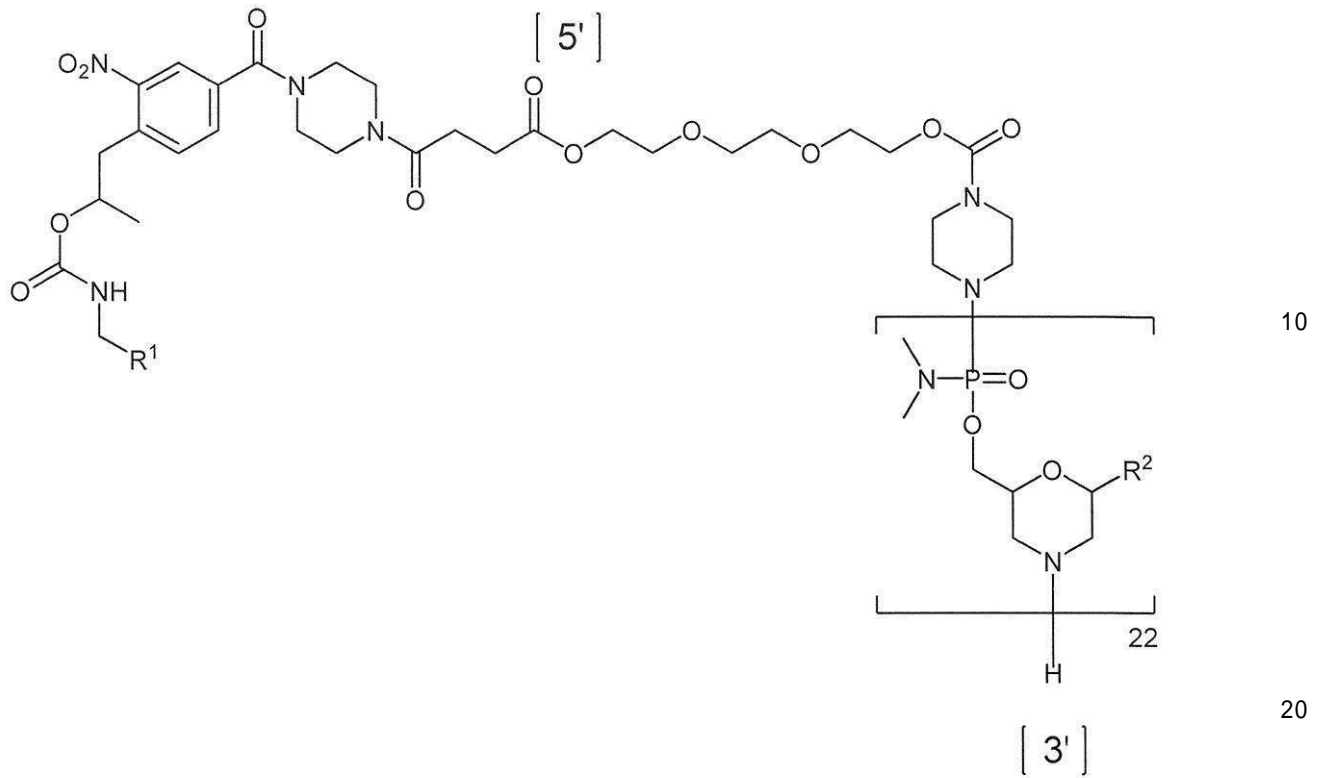
である)の化合物を形成するステップ

の20回の反復を実施するステップ；

(h) 式(I X)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(X)：

50

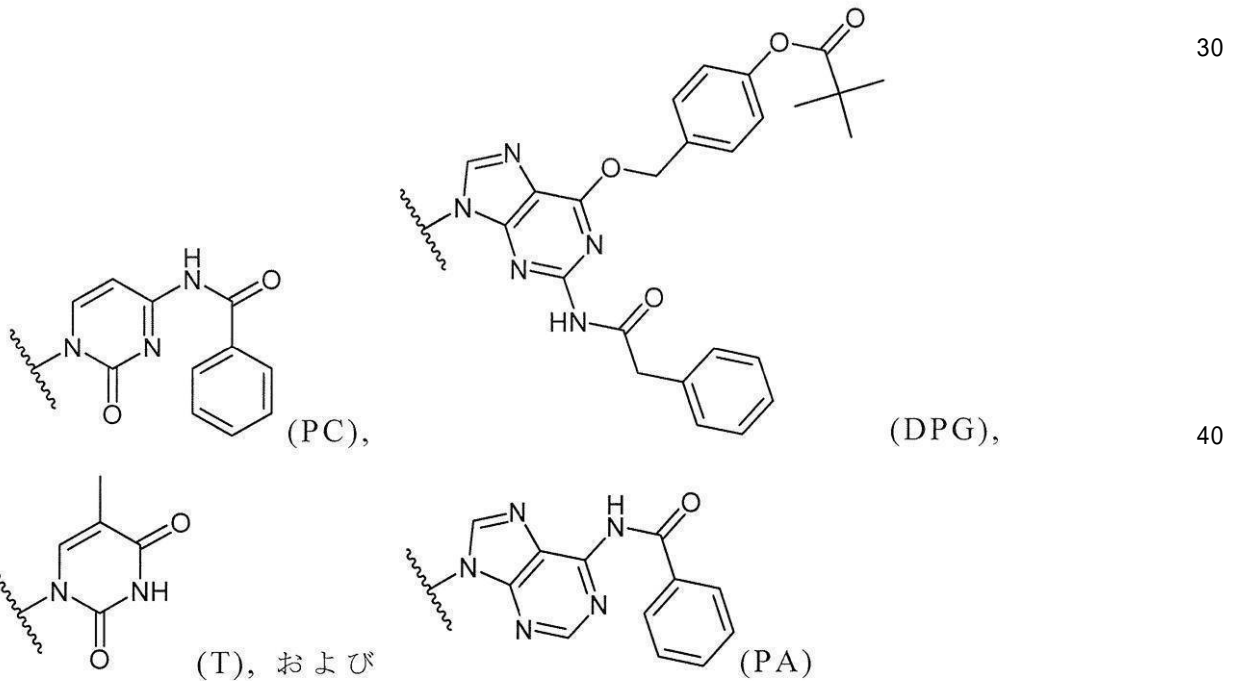
【化 3 4 7】



(式中、

R¹ は支持媒体であり、R² は、各出現について独立して、以下：

【化 3 4 8】



からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

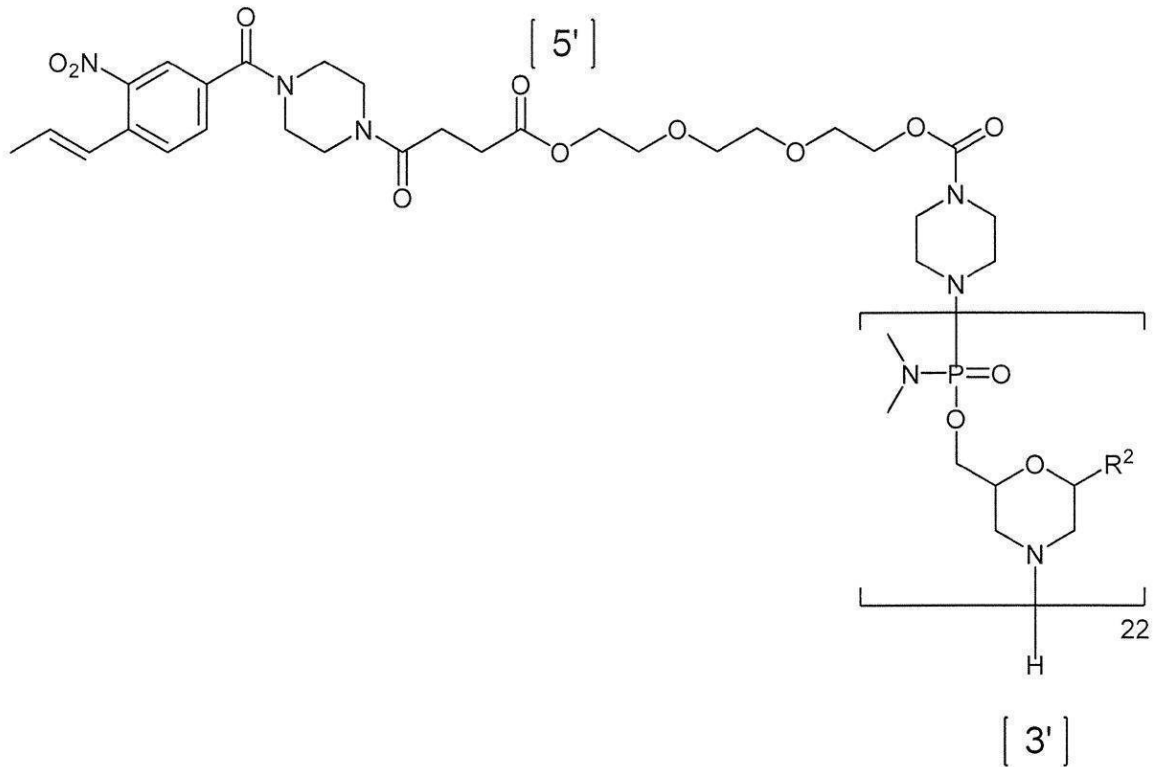
【表 3 5】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である)の化合物を形成するステップ;

(i) 式(X)の化合物を切断剤と接触させて式(XI):

【化 3 4 9】



(XI)

(式中、R²は、各出現について独立して、以下:

10

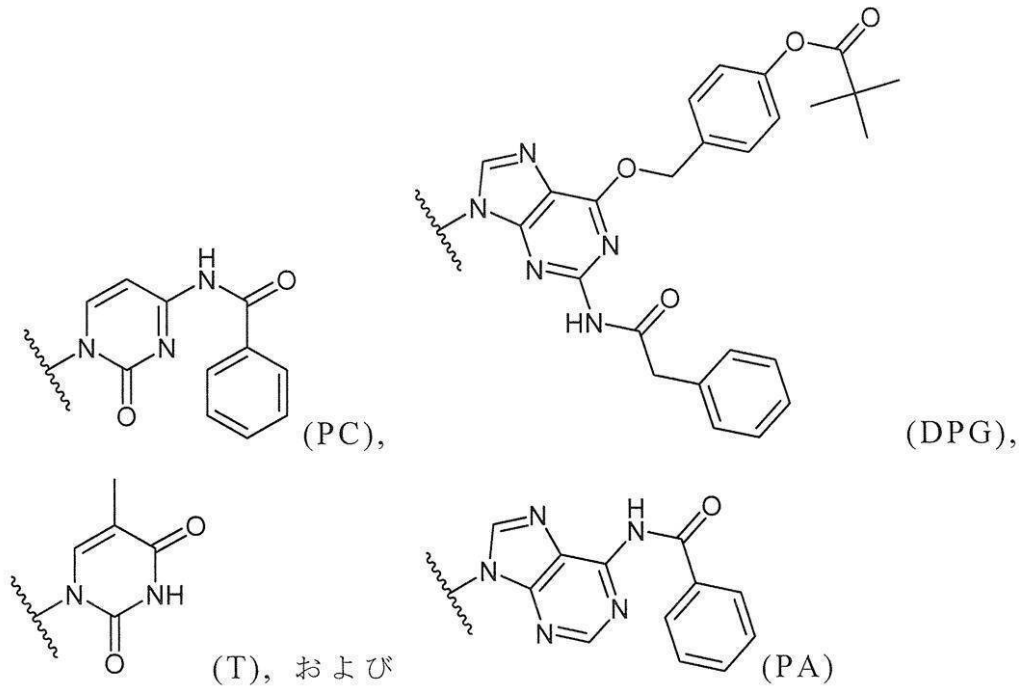
20

30

40

50

【化 3 5 0】



10

20

からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 3 6】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

である)の化合物を形成するステップ；ならびに

(j)式(XI)の化合物を脱保護剤と接触させて式(C)のオリゴマー化合物を形成するステップ

を含む、請求項1に記載のプロセス。

【請求項11】

ステップ(d)、ステップ(f)またはステップ(g2)が、それぞれ式(IV)の化合物、式(VI)の化合物または前記直前のステップによって形成された前記化合物を、キャッピング剤と接触させることをさらに含む、請求項1~10のいずれか一項に記載のプ

50

ロセス。

【請求項 1 2】

各ステップで使用される前記脱ブロッキング剤は、ハロゲン化酸またはシアノ酢酸である、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載のプロセス。

【請求項 1 3】

前記ハロゲン化酸は、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、フルオロ酢酸、ジフルオロ酢酸、およびトリフルオロ酢酸からなる群から選択される、請求項 1 2 に記載のプロセス。

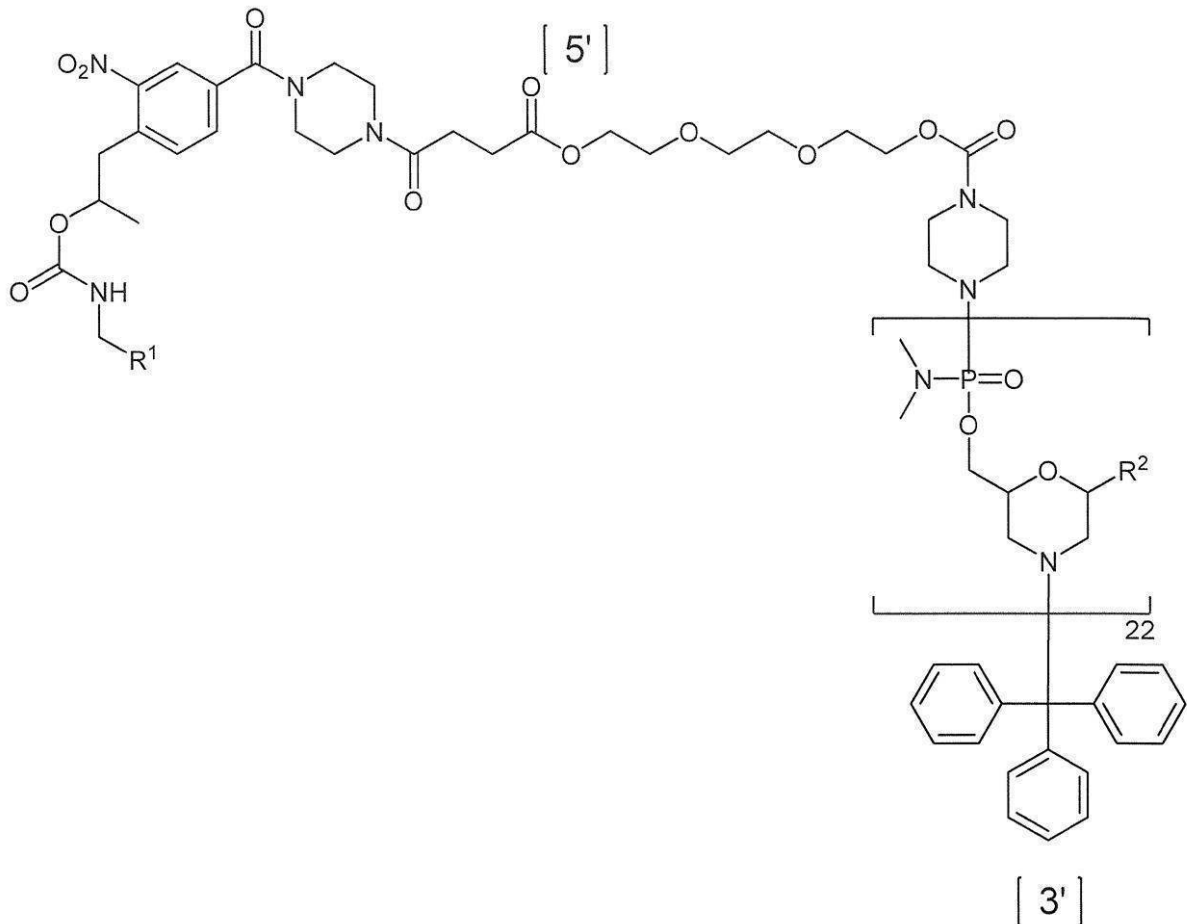
【請求項 1 4】

前記支持媒体は、ガラス、修飾または官能化ガラス、プラスチック（アクリル、ポリスチレン、スチレンと他の材料とのコポリマー、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリブチレン、ポリウレタン、およびポリテトラフルオロエチレンを含む）、多糖類、ナイロンまたはニトロセルロース、セラミックス、樹脂、シリカまたはシリカ系材料（シリコンおよび修飾シリコンを含む）、炭素、金属、ならびに光ファイバ束からなる群から選択される材料を含む、請求項 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載のプロセス。

【請求項 1 5】

(式 IX) :

【化 3 5 1】



(IX)

の化合物であって、式中、

R¹ は支持媒体であり、

R² は、各出現で独立して、以下：

10

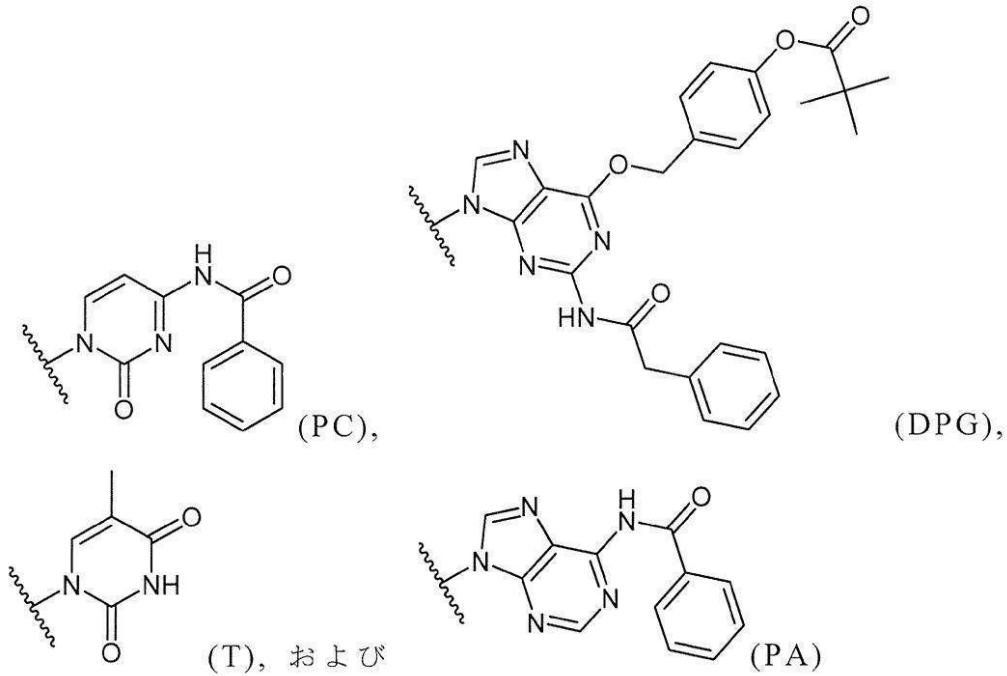
20

30

40

50

【化 3 5 2】



10

20

からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 3 7】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

である、

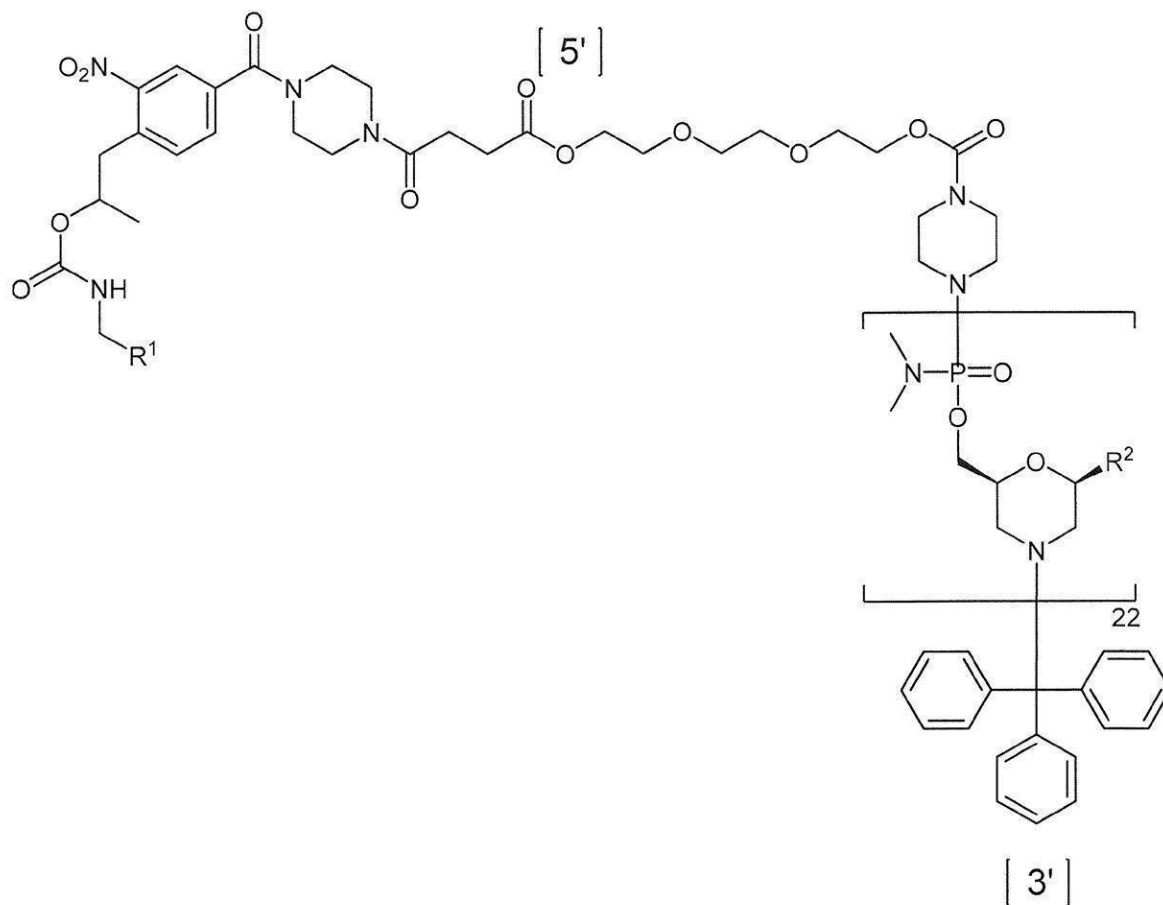
化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【請求項 16】

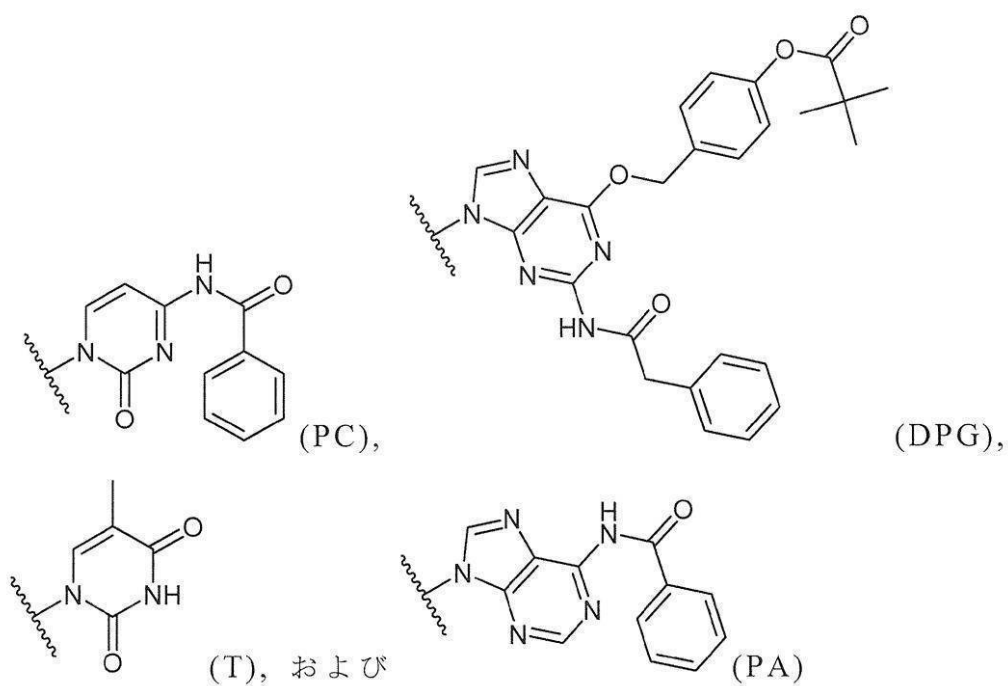
式 (IX) の化合物が式 (IX a) :

50

【化 3 5 3】



の化合物であり、式中、
 R¹ は支持媒体であり、
 R² は、各出現で独立して、以下：
 【化 3 5 4】



10

20

30

40

50

からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 3 8】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

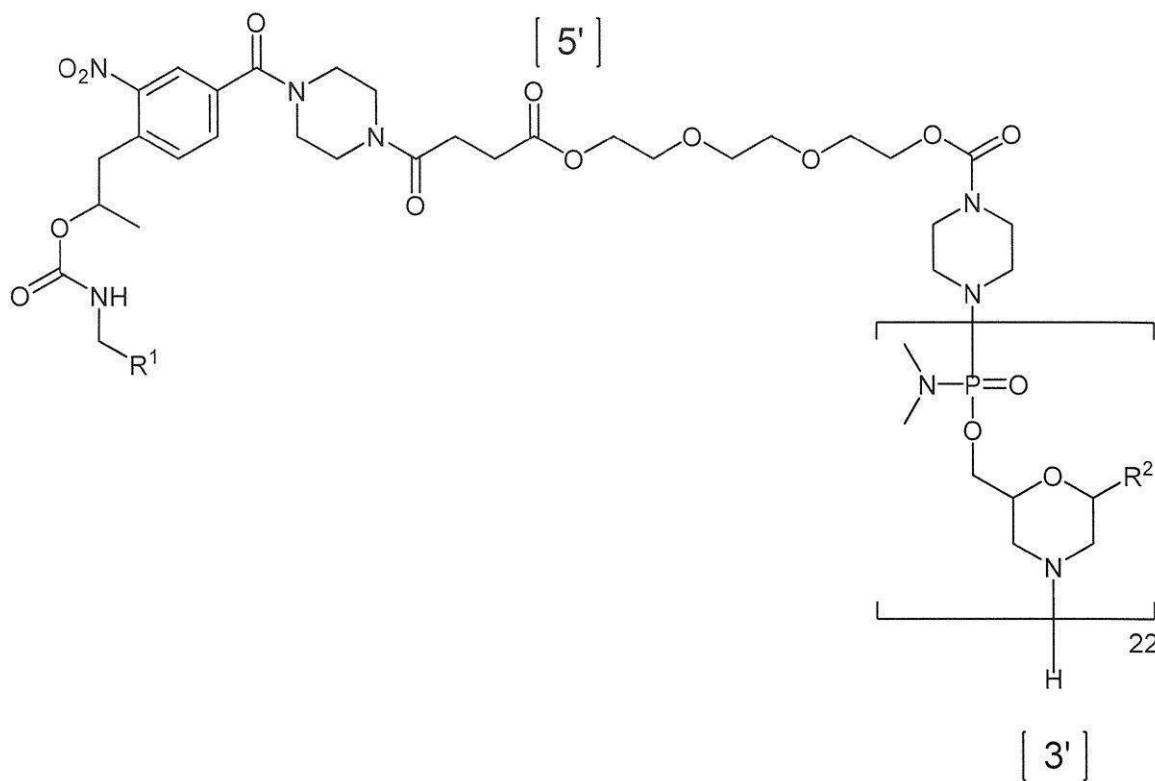
である、

請求項 1 5 に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【請求項 1 7】

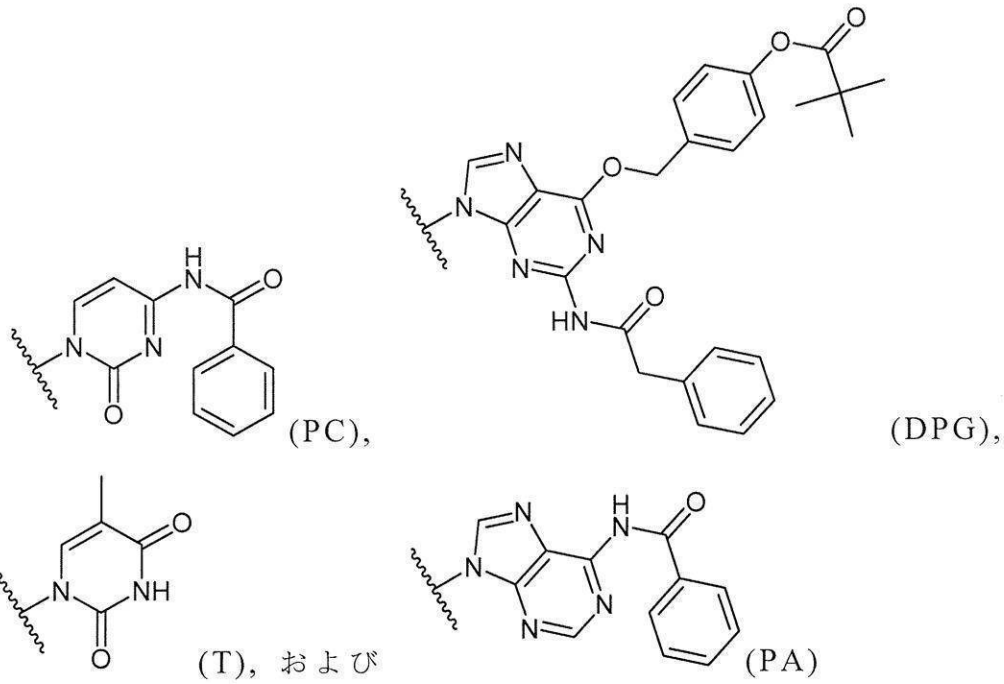
(式 X)：

【化 3 5 5】



(X)

の化合物であって、式中、
 R¹ は支持媒体であり、
 R² は、各出現で独立して、以下：
 【化 3 5 6】



10

20

からなる群から選択され、
 R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：
 【表 3 9】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

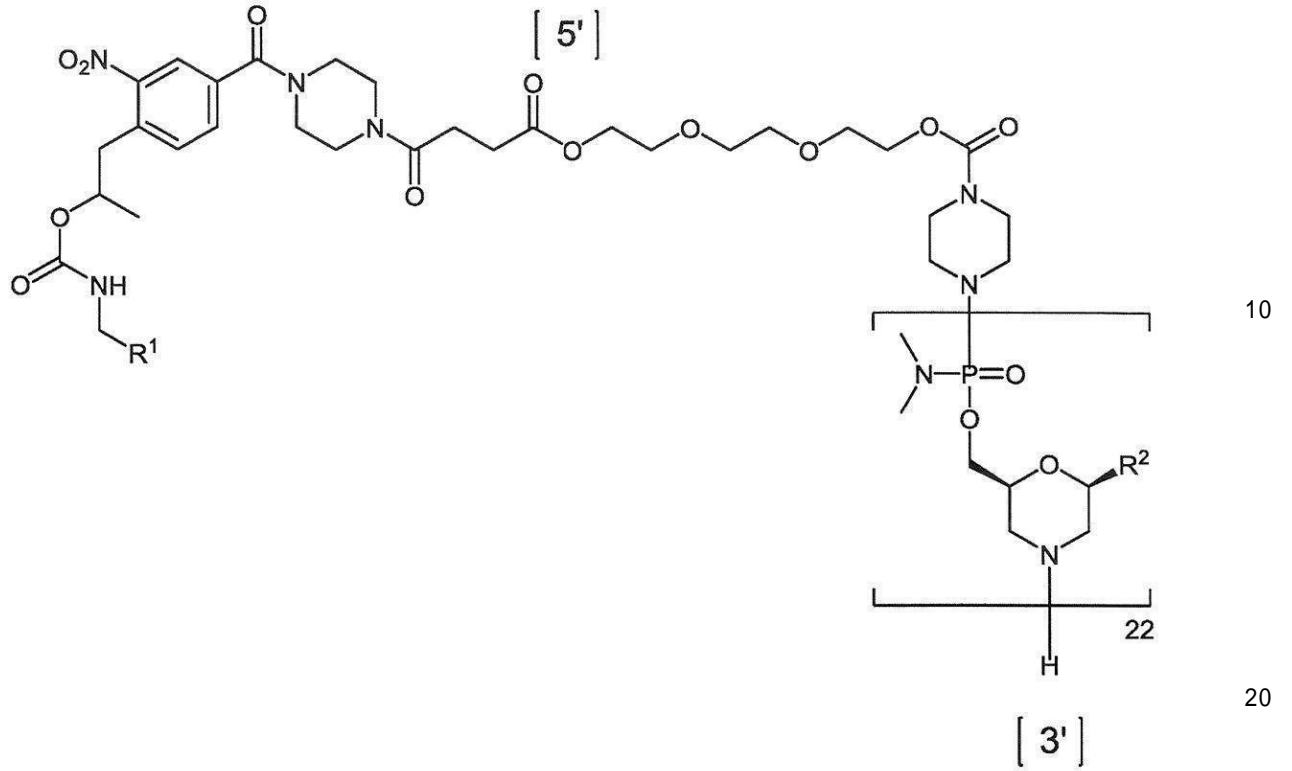
である、
 化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【請求項 1 8】

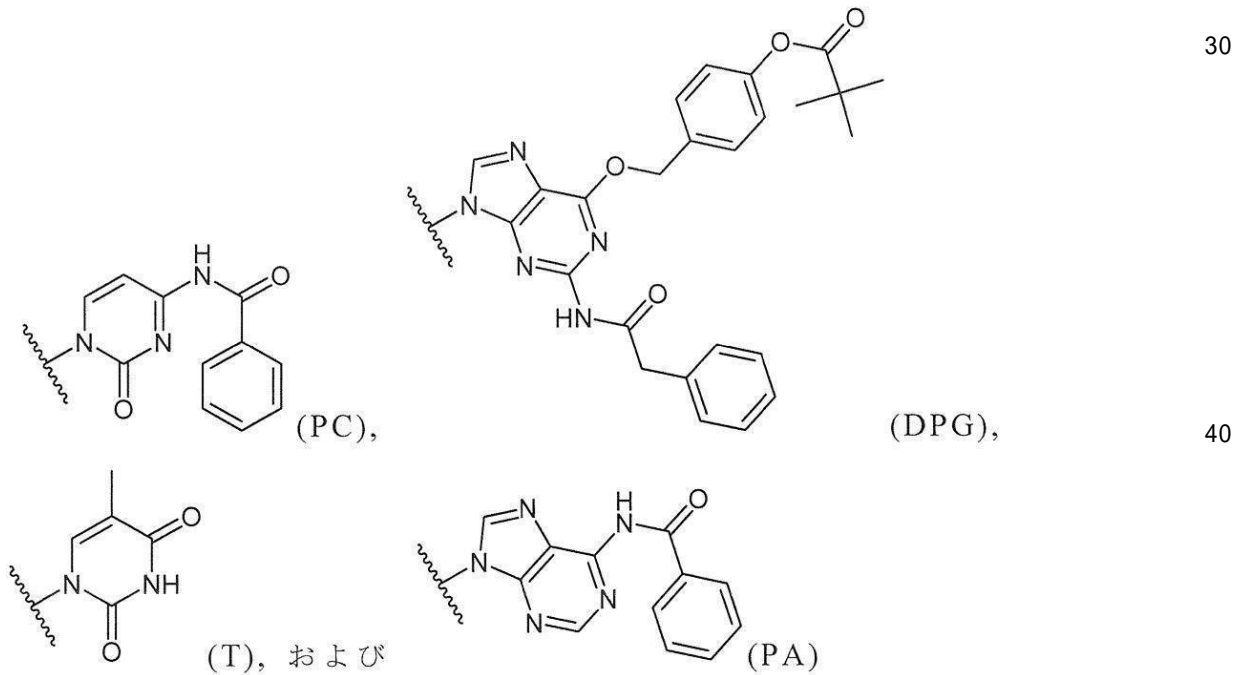
式 (X) の化合物が式 (X a) :

50

【化 3 5 7】



の化合物であり、式中、
 R¹ は支持媒体であり、
 R² は、各出現で独立して、以下：
 【化 3 5 8】



からなる群から選択され、
 R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 4 0】

5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である、

請求項 1 7 に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【請求項 1 9】

前記支持媒体が 1 % ジビニルベンゼン架橋ポリスチレンを含む、請求項 1 5 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 2 0】

(式 X I) :

10

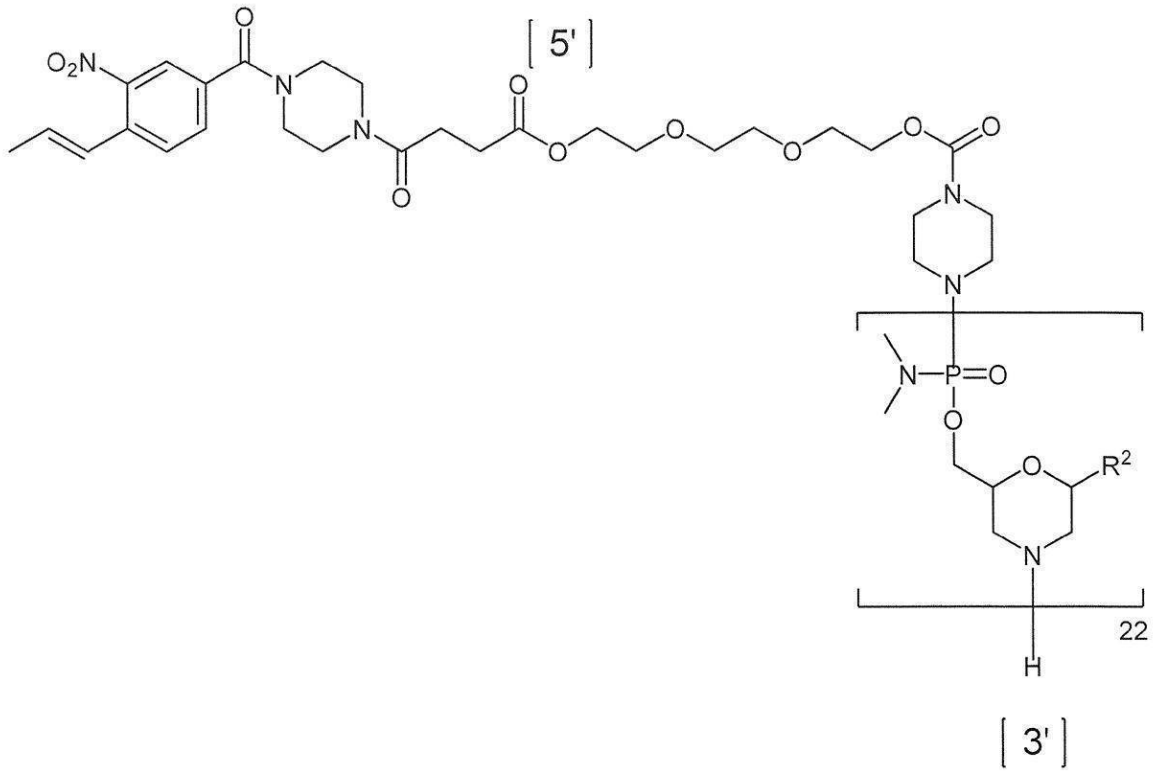
20

30

40

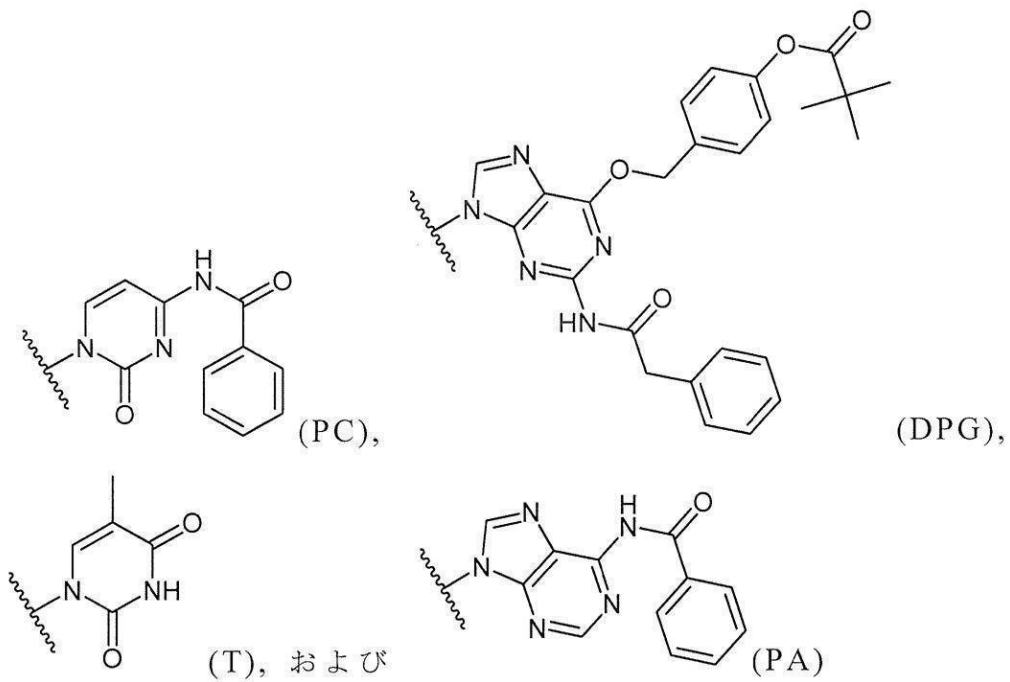
50

【化 3 5 9】



(XI)

の化合物であって、式中、
 R^2 は、各出現で独立して、以下：
 【化 3 6 0】



からなる群から選択され、
 R^2 は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 4 1】

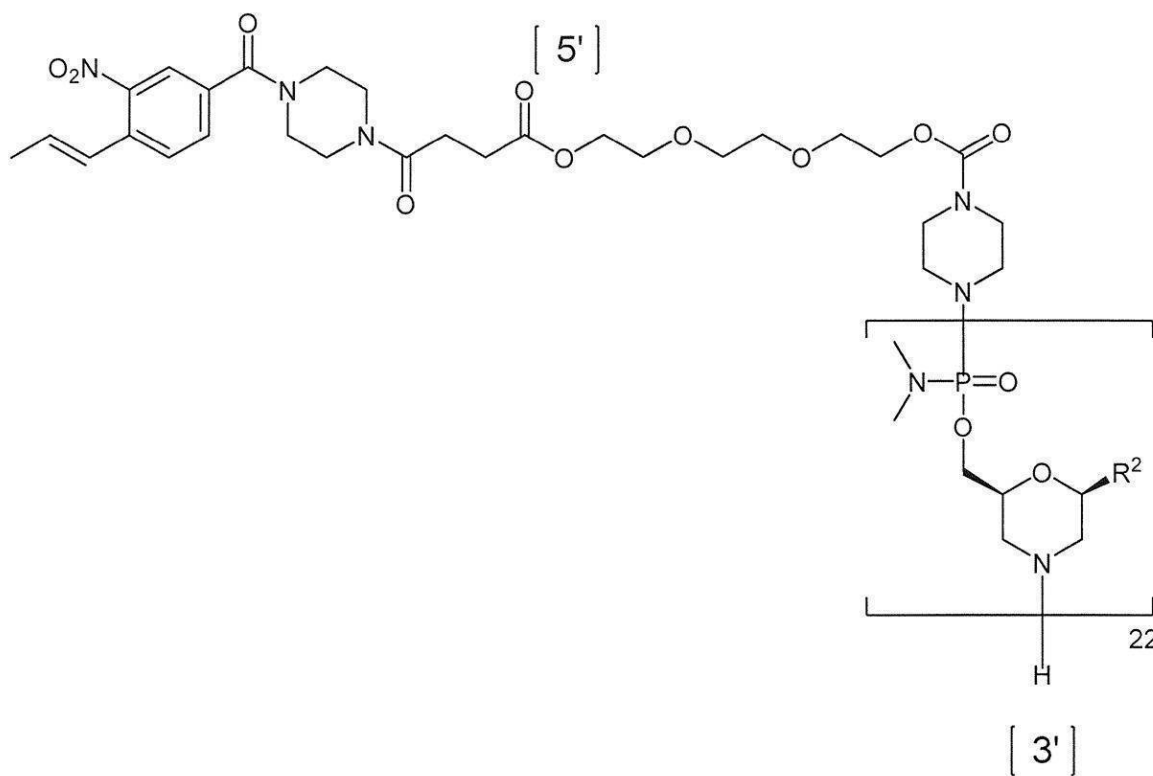
5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である、
化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【請求項 2 1】

式 (X I) の化合物が式 (X I a) :

【化 3 6 1】



(XIa)

の化合物であり、式中、
R² は、各出現で独立して、以下 :

10

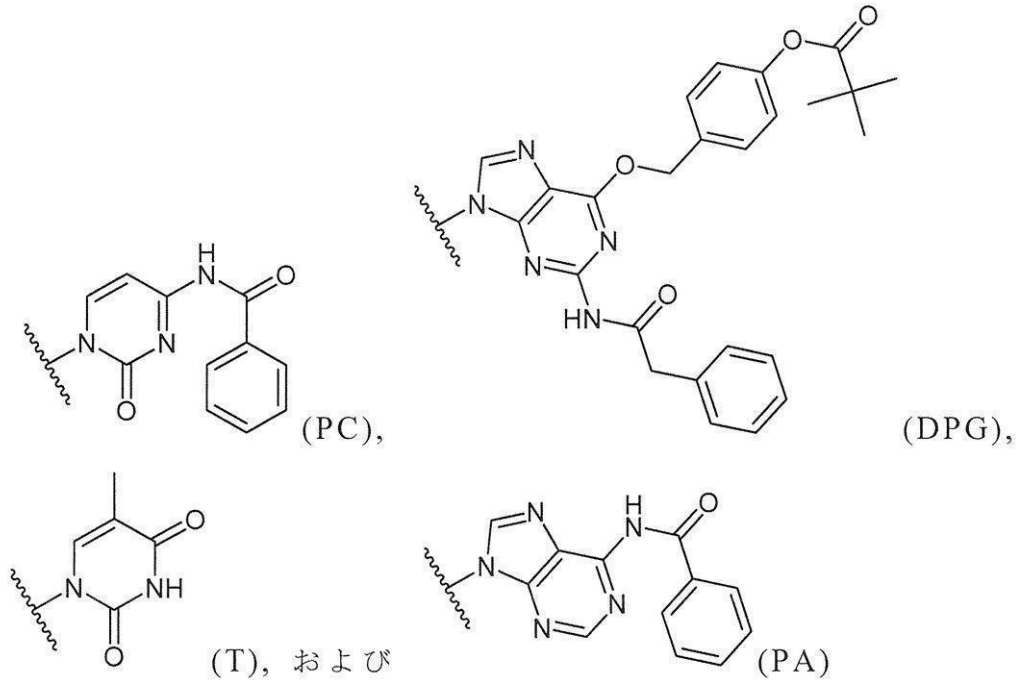
20

30

40

50

【化 3 6 2】



10

20

からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 4 2】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

である、

請求項 2 0 に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

【請求項 2 2】

前記ポリスチレンが、1%ジビニルベンゼン架橋ポリスチレンである、請求項 1 4 に記載のプロセス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

50

関連出願

本特許出願は、2017年5月18日に出願された米国仮特許出願第62/508,256号、2016年5月24日に出願された米国仮特許出願第62/341,049号、2016年5月24日に出願された米国仮特許出願第62/340,953号、2016年6月30日に出願された米国仮特許出願第62/357,134号、および2016年6月30日に出願された米国仮特許出願第62/357,153号の利益を主張する。上記参照の仮特許出願の内容全体は参照により本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

アンチセンス技術は、選択的スプライシング産物を含む1つまたは複数の特定の遺伝子産物の発現を調節するための手段を提供し、多くの治療、診断および研究用途において非常に有用である。アンチセンス技術の背後にある原理は、標的核酸にハイブリダイズするアンチセンス化合物、例えばオリゴヌクレオチドが、いくつかのアンチセンス機構のいずれか1つを通して転写、スプライシングまたは翻訳などの遺伝子発現活性を調節することである。アンチセンス化合物の配列特異性のため、それらは、標的評価および遺伝子機能化のためのツールとして、ならびに疾患に關与する遺伝子の発現を選択的に調節するための治療薬として魅力的である。

10

【0003】

デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は、タンパク質ジストロフィンの発現の欠陥によって引き起こされる。このタンパク質をコードする遺伝子は、DNAの200万を超えるヌクレオチドに広がった79のエクソンを含有する。エクソンの読み枠を変化させる、もしくは停止コドンを導入する、もしくはアウトオブフレームエクソン(単数もしくは複数)全体の除去によって特徴付けられる任意のエクソンの変異、または1つもしくは複数のエクソンの重複は、機能性ジストロフィンの産生を妨げる可能性を有し、結果としてDMDとなる。

20

【0004】

DMDの治療のためのスプライススイッチングオリゴヌクレオチド(SSO)の安全性および有効性を試験する最近の臨床試験は、スプライソソームの立体封鎖によるプレmRNAの選択的スプライシングを誘導するSSO技術に基づいている(Cirak et al., 2011; Goemans et al., 2011; Kinali et al., 2009; van Deutekom et al., 2007)。しかしながら、これらの成功にもかかわらず、DMDの治療に利用可能な薬理的選択肢は限られている。

30

【0005】

Casimersenは、読み枠を修復し、ジストロフィタンパク質の機能的により短い形態を産生するための、エクソン45スキップを適用可能なDMDの患者のヒトジストロフィン遺伝子のエクソン45をスキップするように設計されたホスホロジアミダートモルホリノオリゴマー(PMO)である。

【0006】

アンチセンス技術の分野において著しい進歩がなされているが、改善されたアンチセンスまたはアンチジーン性能を有するホスホロジアミダートモルホリノオリゴマーを調製する方法が、当該技術分野において依然として必要とされている。

40

【発明の概要】

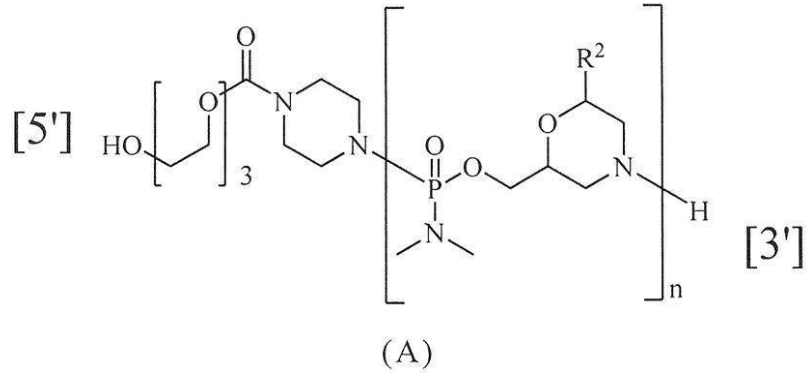
【0007】

ホスホロジアミダートモルホリノオリゴマー(PMO)を調製するためのプロセスが本明細書に提供される。本明細書に記載の合成プロセスは、全体の収率および合成されるPMOの純度を維持しながら、PMO合成のスケールアップを可能にする。

【0008】

したがって、一態様では、式(A)：

【化 1】



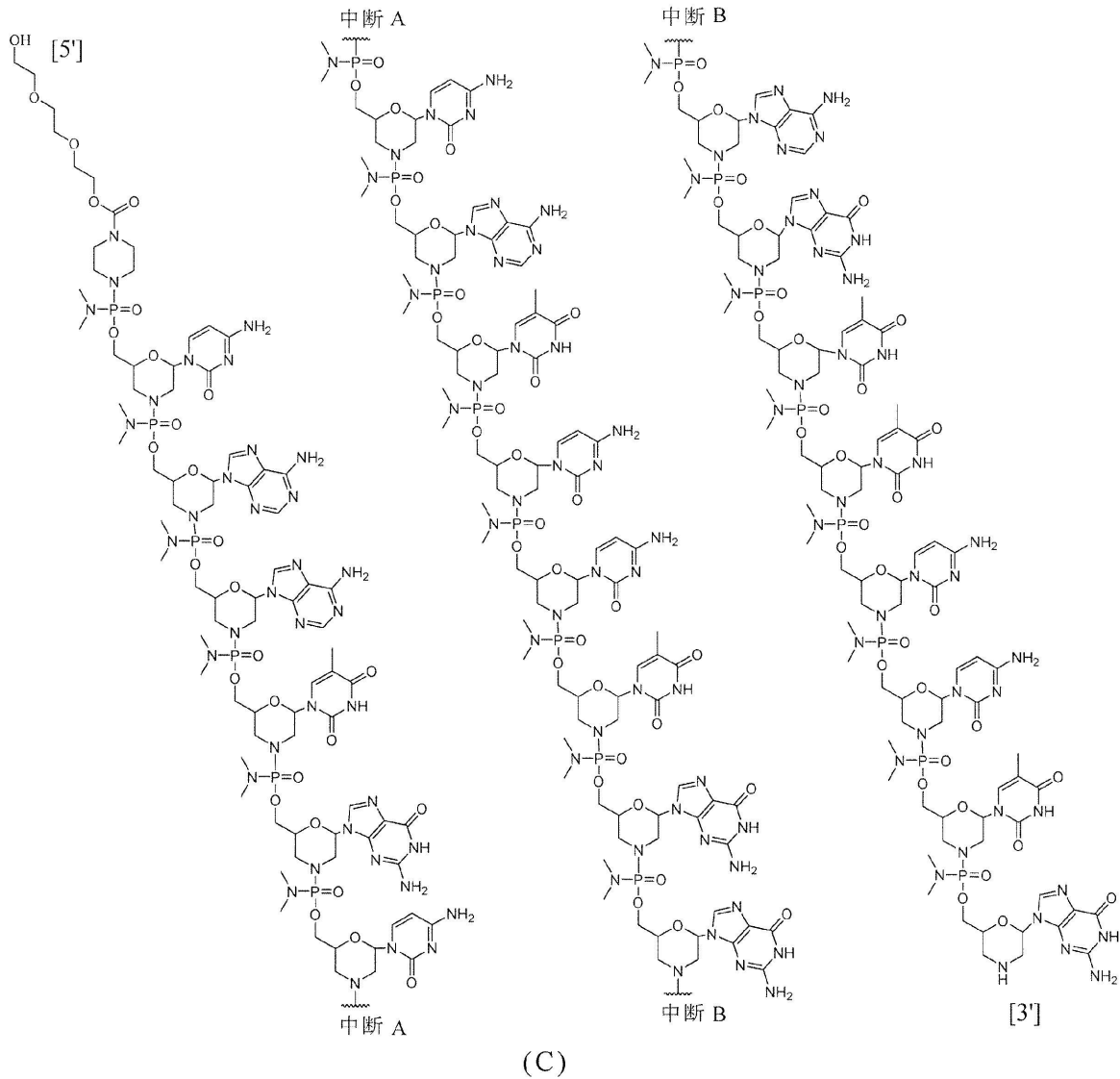
10

のオリゴマー化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供される。

【 0 0 0 9】

ある実施形態では、式 (C) :

【化 2】



20

30

40

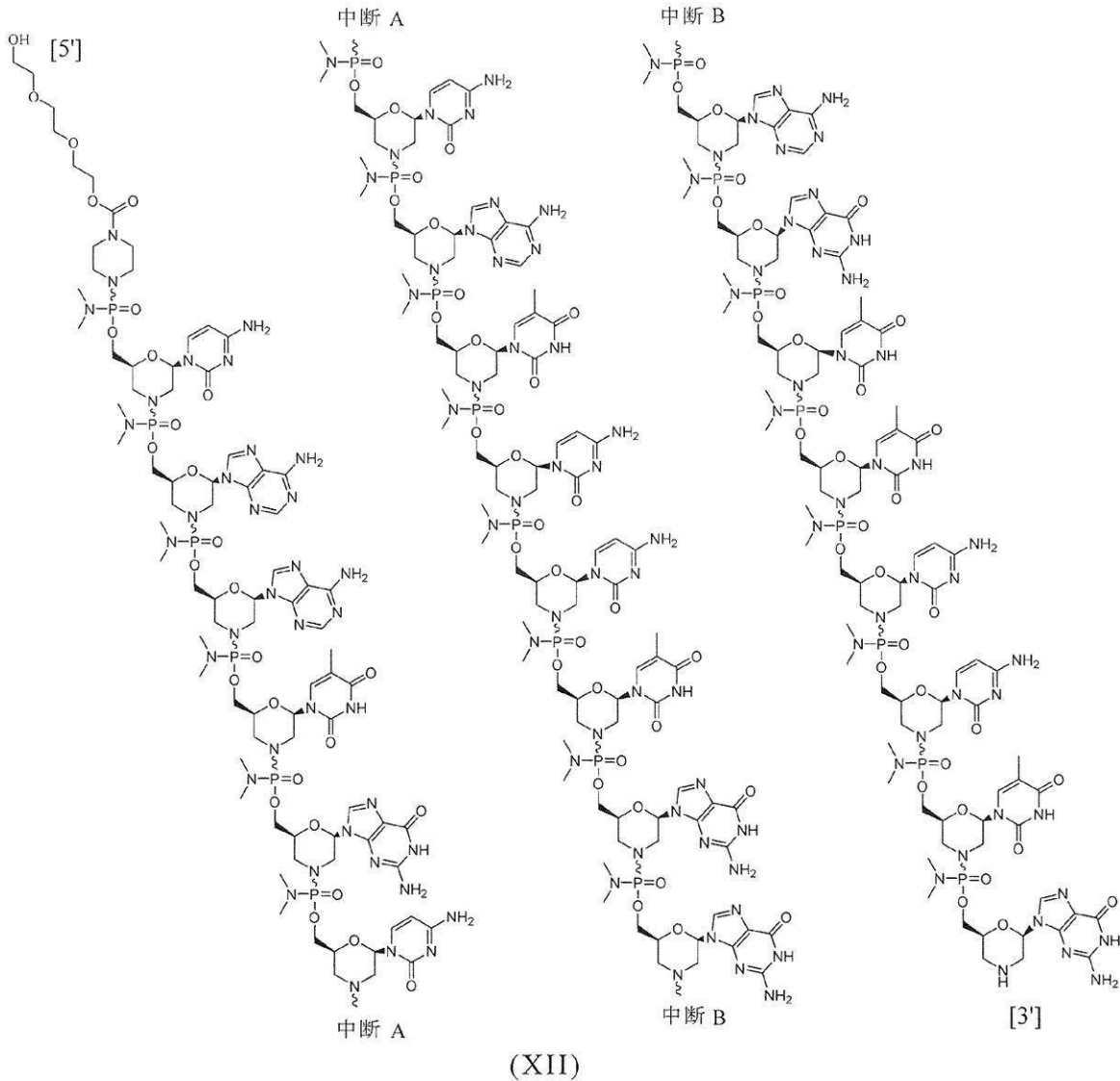
のオリゴマー化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供される。

【 0 0 1 0】

さらに別の実施形態では、例えば、式 (C) のオリゴマー化合物のいくつかの実施形態を含む本開示のオリゴマー化合物は、式 (X I I) :

50

【化 3】



10

20

30

のオリゴマー化合物である。

【 0 0 1 1】

明確にするために、例えば、式 (C) のオリゴマー化合物および式 (XII) で表される Casimersen を含む構造式は、5' から 3' への連続した構造式であり、式全体を上記の構造式に小さくまとめた形で図示する便宜上、出願人は、「中断 A」および「中断 B」とラベル付けされた様々な図示の中断を含めている。当業者に理解されるであろうように、例えば、「中断 A」の各表示は、これらの点で構造式の図が連続することを示す。当業者は、Casimersen を含む上記の構造式中の「中断 B」の各場合についても同じであることを理解する。しかしながら、図の中断は、Casimersen を含む上記の構造式の実際の不連続を示すことを意図するものではなく、当業者がそれらを意味すると理解するものでもない。

40

【図面の簡単な説明】

【 0 0 1 2】

【図 1】図 1 および図 2 は、合成および脱保護された Casimersen (SRP-4045) 粗原薬 (実施例 4 参照) の代表的な分析高速液体クロマトグラフィー (HPLC) クロマトグラムを示す。

【図 2】図 1 および図 2 は、合成および脱保護された Casimersen (SRP-4045) 粗原薬 (実施例 4 参照) の代表的な分析高速液体クロマトグラフィー (HPLC) クロマトグラムを示す。

50

【図3】図3および図4は、精製されたCasimersen原薬溶液（実施例5参照）の代表的な分析HPLCクロマトグラムを示す。

【図4】図3および図4は、精製されたCasimersen原薬溶液（実施例5参照）の代表的な分析HPLCクロマトグラムを示す。

【図5】図5および図6は、脱塩および凍結乾燥されたCasimersen原薬（実施例5参照）の代表的な分析HPLCクロマトグラムを示す。

【図6】図5および図6は、脱塩および凍結乾燥されたCasimersen原薬（実施例5参照）の代表的な分析HPLCクロマトグラムを示す。

【発明を実施するための形態】

【0013】

10
モルホリノオリゴマーを調製するためのプロセスが本明細書に提供される。本明細書に記載のモルホリノオリゴマーは、天然または未修飾のオリゴヌクレオチドに対して、配列選択性を損なうことなくDNAおよびRNAへのより強い親和性を示す。いくつかの実施形態では、本開示のモルホリノオリゴマーは、RNase Hによる切断を最小化するか、または防ぐ。いくつかの実施形態では、本開示のモルホリノオリゴマーは、RNase Hを活性化しない。

【0014】

20
本明細書に記載のプロセスは、工業スケールのプロセスに有利であり、高収率および高スケール（例えば、約1kg、約1~10kg、約2~10kg、約5~20kg、約10~20kg、または約10~50kg）で多量のモルホリノオリゴマーを調製するのに適用され得る。

【0015】

定義

本開示の記載に使用された様々な用語の定義を以下に列挙する。これらの定義は、特定の場場合に、個別にまたはより大きな群の一部として、別段の限定がない限り、本明細書および特許請求の範囲を通して使用される用語に適用される。

【0016】

30
「塩基保護された」または「塩基保護」は、モルホリノサブユニット上の塩基対形成基、例えばプリンまたはピリミジン塩基を、段階的オリゴマー合成中に塩基対形成基の反応または干渉を防ぐのに適した保護基で保護することを指す。塩基保護されたモルホリノサブユニットの例は、以下に示すシトシンアミノ基上にCBZ保護基を有する活性化Cサブユニット化合物（C）である。

【0017】

「活性化ホスホロアミダート基」は、典型的には、オリゴマー中の最終的なホスホロジアミダート連結に望ましい窒素での置換を有する、クロロホスホロアミダート基である。例は、（ジメチルアミノ）クロロホスホロアミダート、すなわち、-O-P(=O)(NMe₂)Clである。

【0018】

用語「支持体に結合した」は、支持媒体に共有結合的に連結した化学物質を指す。

【0019】

40
用語「支持媒体」は、例えば、その上にオリゴマーが付着もしくは合成され得るか、またはオリゴマーの付着もしくは合成のために修飾され得る任意の粒子、ビーズ、または表面を含む任意の材料を指す。代表的な基材としては、ガラスおよび修飾または官能化ガラス、プラスチック（アクリル、ポリスチレンおよびスチレンと他の材料とのコポリマー、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリブチレン、ポリウレタン、テフロン（登録商標）などを含む）、多糖類、ナイロンまたはニトロセルロース、セラミックス、樹脂、シリコンおよび修飾シリコンを含むシリカまたはシリカ系材料、炭素、金属、無機ガラス、プラスチック、光ファイバ束、ならびに様々な他のポリマーなどの無機支持体ならびに有機支持体が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態に特に有用な支持媒体および固体表面はフローセル装置内に位置する。本明細書に記載のプロセスのいくつかの実施

10

20

30

40

50

形態では、支持媒体は、1%ジビニルベンゼン架橋ポリスチレンを含む。

【0020】

いくつかの実施形態では、代表的な支持媒体は、オリゴマーの付着または合成のための少なくとも1つの反応部位を含む。例えば、いくつかの実施形態では、本開示の支持媒体は、オリゴマーを付着または合成するために、入ってくるサブユニットまたは他の活性化された基と化学結合を形成することができる1つまたは複数の末端アミノまたはヒドロキシル基を含む。

【0021】

本明細書に記載のプロセスに適しているいくつかの代表的な支持媒体としては、以下：コントロールドポアガラス (controlled pore glass) (CPG)、オキサリルコントロールドポアガラス (例えば、Alul, et al., Nucleic Acids Research 1991, 19, 1527を参照)、トリクロロ-[3-(4-クロロメチル)フェニル]プロピルシランと多孔質ガラスビーズとの反応によって形成されるもののような、多孔質ガラスビーズおよびシリカゲルなどのシリカ含有粒子 (Parr and Grohmann, Angew. Chem. International Ed. 1972, 11, 314を参照、商標「PORASILE」で Waters Associates, Framingham, Mass., USA により販売)、1,4-ジヒドロキシメチルベンゼンとシリカとのモノエステル (Bayer and Jung, Tetrahedron Lett., 1970, 4503を参照、商標「BIOPAK」で Waters Associates により販売)、TENTAGEL (例えば、Wright, et al., Tetrahedron Lett. 1993, 34, 3373を参照)、架橋スチレン/ジビニルベンゼンコポリマービーズマトリックス、またはPOROS、ポリスチレン/ジビニルベンゼンのコポリマー (Perseptive Biosystemsから入手可能)、ポリエチレングリコール PEGのような可溶性支持媒体 (Bonora et al., Organic Process Research & Development, 2000, 4, 225-231を参照)、ペンダント長鎖ポリスチレン (PS) グラフトを有するポリエチレン (PE) フィルムであるPEPS支持体 (Berg, et al., J. Am. Chem. Soc., 1989, 111, 8024および国際特許出願公開 WO 1990/02749を参照)、既知の量のN-tert-ブトキシカルボニル-ベータ-アラニル-N'-アクリロイルヘキサメチレンジアミンを含む、N、N'-ビスアクリロイルエチレンジアミンと架橋したジメチルアクリルアミドのコポリマー (Ahterton, et al., J. Am. Chem. Soc., 1975, 97, 6584, Bioorg. Chem. 1979, 8, 351, およびJ. C. S. Perkin I 538 (1981)を参照)、疎水性架橋スチレンポリマーで被覆されたガラス粒子 (Scott, et al., J. Chrom. Sci., 1971, 9, 577を参照)、ポリスチレンをグラフトされたフッ化エチレンポリマー (Kent and Merrifield, Israel J. Chem. 1978, 17, 243, およびvan Rietschoten in Peptides 1974, Y. Wolman, Ed., Wiley and Sons, New York, 1975, pp. 113-116を参照)、ヒドロキシプロピルアクリレート被覆ポリプロピレン膜 (Daniels, et al., Tetrahedron Lett. 1989, 4345)、アクリル酸グラフトポリエチレンロッド (Geysen, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1984, 81, 3998)、伝統的に使用されているポリマービーズを含有する「ティーバッグ」 (Houghten, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1985, 82, 5131)、ならびにそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【0022】

用語「フローセル装置」は、1つまたは複数の流体試薬 (例えば、液体もしくは気体) を

10

20

30

40

50

流すことができる表面（例えば、固体表面）を含むチャンバを指す。

【0023】

用語「脱ブロッキング剤」は、保護基を除去するための化学酸または化学酸の組み合わせを含む組成物（例えば、溶液）を指す。脱ブロッキング剤に使用される例示的な化学酸としては、ハロゲン化酸、例えば、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、フルオロ酢酸、ジフルオロ酢酸、およびトリフルオロ酢酸が挙げられる。いくつかの実施形態では、脱ブロッキング剤は、例えば、オリゴマー、支持体に結合したオリゴマー、支持体に結合したサブユニット、または他の保護された窒素もしくは酸素部分から、1つまたは複数のトリチル基を除去する。

【0024】

用語「ハロゲン」および「ハロ」は、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素からなる群から選択される原子を指す。

【0025】

用語「キャッピング剤」は、例えば、入ってくるサブユニットまたは他の活性化された基と化学結合を形成する支持媒体の、反応部位をブロックするのに有用な酸無水物（例えば、無水安息香酸、無水酢酸、フェノキシ酢酸無水物など）を含む組成物（例えば、溶液）を指す。

【0026】

用語「切断剤」は、例えば、支持体に結合したオリゴマーを支持媒体から切断するのに有用な化学塩基（アンモニアもしくは1, 8 - ジアザビシクロウンデカ - 7 - エン）または化学塩基の組み合わせを含む組成物（例えば、液体溶液もしくは気体混合物）を指す。

【0027】

用語「脱保護剤」は、保護基を除去するのに有用な化学塩基（アンモニア、1, 8 - ジアザビシクロウンデカ - 7 - エンもしくは炭酸カリウム）または化学塩基の組み合わせを含む組成物（例えば、液体溶液もしくは気体混合物）を指す。例えば、脱保護剤は、いくつかの実施形態では、例えばモルホリノサブユニット、モルホリノオリゴマーのモルホリノサブユニット、またはそれらの支持体に結合した形から塩基保護を除去し得る。

【0028】

用語「溶媒」は、溶質がその中に溶解される溶液または混合物の成分を指す。溶媒は、無機または有機溶媒（例えば、酢酸、アセトン、アセトニトリル、アセチルアセトン、2 - アミノエタノール、アニリン、アニソール、ベンゼン、ベンゾニトリル、ベンジルアルコール、1 - ブタノール、2 - ブタノール、i - ブタノール、2 - ブタノン、t - ブチルアルコール、二硫化炭素、四塩化炭素、クロロベンゼン、クロロホルム、シクロヘキサン、シクロヘキサノール、シクロヘキサノン、フタル酸ジ - n - ブチル、1, 1 - ジクロロエタン、1, 2 - ジクロロエタン、ジエチルアミン、ジエチレングリコール、ジグリム、ジメトキシエタン（グリム）、N, N - ジメチルアニリン、ジメチルホルムアミド、ジメチルフタレート、ジメチルスルホキシド、ジオキサン、エタノール、エーテル、酢酸エチル、アセト酢酸エチル、安息香酸エチル、エチレングリコール、グリセリン、ヘプタン、1 - ヘプタノール、ヘキサン、1 - ヘキサノール、メタノール、酢酸メチル、メチルt - ブチルエーテル、塩化メチレン、1 - オクタノール、ペンタン、1 - ペンタノール、2 - ペンタノール、3 - ペンタノール、2 - ペンタノン、3 - ペンタノン、1 - プロパノール、2 - プロパノール、ピリジン、テトラヒドロフラン、トルエン、水、p - キシレン）であってよい。

【0029】

用語「モルホリノ」、「モルホリノオリゴマー」、または「PMO」（ホスホロアミダートもしくはホスホロジアミダートモルホリノオリゴマー）は以下の一般構造：

10

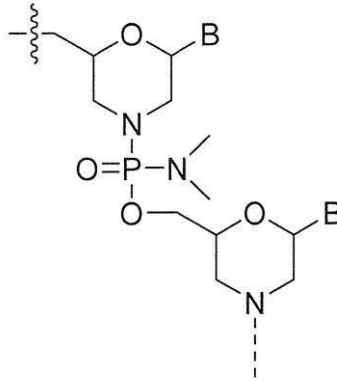
20

30

40

50

【化4】



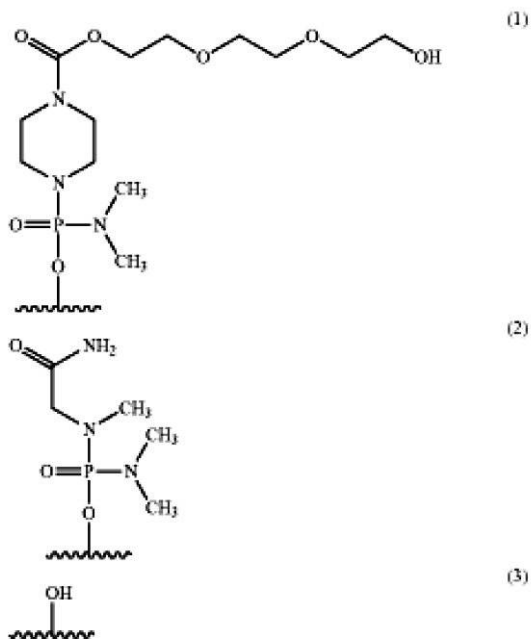
B = 核酸塩基

のホスホロジアミダートモルホリノオリゴマーであり、Summerton, J., et al., *Antisense & Nucleic Acid Drug Development*, 7: 187-195 (1997)の図2に記載されるようなものを指す。本明細書に記載されるようなモルホリノは、前述の一般構造のすべての立体異性体および立体配置を網羅することが意図される。モルホリノオリゴマーの合成、構造、および結合特性は米国特許第5,698,685号、第5,217,866号、第5,142,047号、第5,034,506号、第5,166,315号、第5,521,063号、第5,506,337号、第8,076,476号、および第8,299,206号に記載されており、それらのすべては参照により本明細書に組み込まれる。

【0030】

ある実施形態では、モルホリノは、オリゴマーの5'末端または3'末端で「テール」部分とコンジュゲートしてその安定性および/または溶解性を上げている。例示的なテールとしては、

【化5】

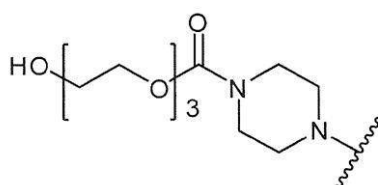


が挙げられる。

【0031】

用語「EG3テール」は、例えば、その3'末端または5'末端でオリゴマーにコンジュゲートしたトリエチレングリコール部分を指す。例えば、いくつかの実施形態では、オリゴ

マーの 3' 末端にコンジュゲートした「EG3 テール」は、構造：
【化 6】



のものであり得る。

【0032】

用語「約 (about)」または「およそ (approximately)」は、関連する対象領域の有識者によって一般に理解されるが、ある状況では、所与の値または範囲の $\pm 10\%$ 以内または $\pm 5\%$ 以内を意味し得る。

【0033】

モルホリノオリゴマーを調製するためのプロセス

合成は一般に、本明細書に記載されているように、支持媒体上で実施される。一般に、第 1 のシント (例えば、モルホリノサブユニットのようなモノマー) をまず支持媒体に付着させ、その後、支持体に結合したシントにサブユニットを連続的にカップリングすることによってオリゴマーを合成する。この反復伸長は、最終的に最終オリゴマー化合物をもたらす。好適な支持媒体は、可溶性もしくは不溶性であり得、または成長している支持体結合ポリマーが、所望のように溶液中もしくは溶液外のいずれかに存在できるように、異なる溶媒中で変化する溶解度を有してもよい。伝統的な支持媒体は大部分が不溶性であり、オリゴマーが目標の長さに達するまで、試薬および溶媒が成長鎖と反応および/または成長鎖を洗浄し、その後、このオリゴマーが支持体から切断され、必要に応じてさらに加工されて最終ポリマー化合物が生成される間、常に反応容器中に置かれる。より最近のアプローチは、可溶性ポリマー支持体を含む可溶性支持体を導入し、反復合成された生成物を合成の所望の点で沈殿および溶解させることができる (Gravert et al., Chem. Rev., 1997, 97, 489 - 510)。

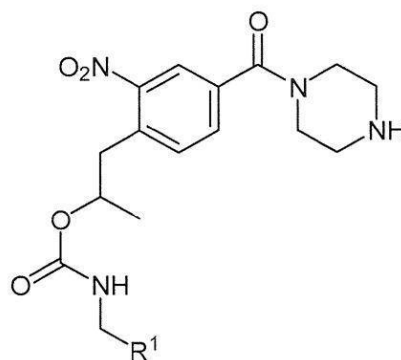
【0034】

モルホリノオリゴマーを調製するためのプロセスが本明細書に提供される)。

【0035】

したがって、一態様では、式 (II) :

【化 7】



(II)

(式中、 R^1 は支持媒体である) の化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、

プロセスは、式 (A1) :

10

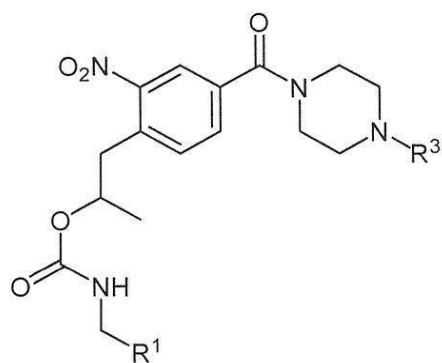
20

30

40

50

【化 8】



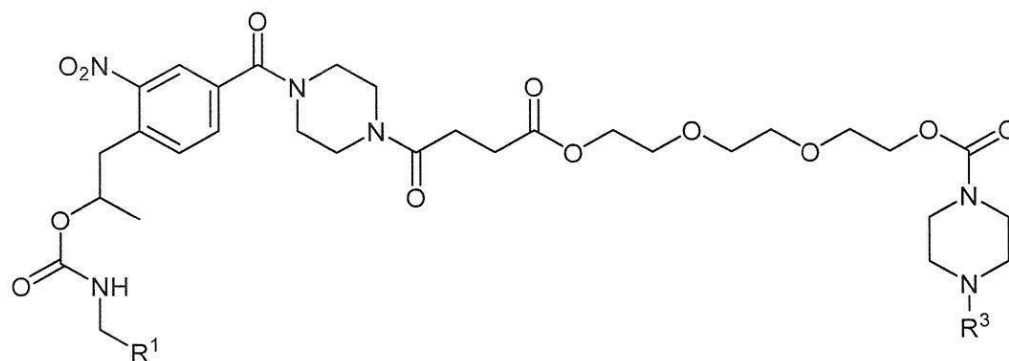
(A1)

(式中、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (I I) の化合物を形成することを含む。

【0036】

別の態様では、式 (A 3) :

【化 9】

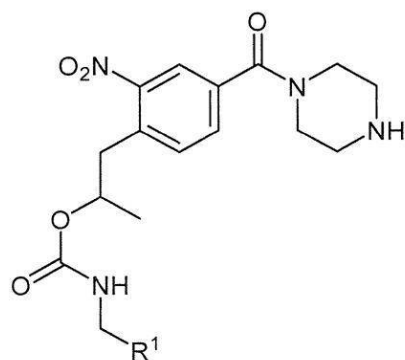


(A3)

(式中、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される) の化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、

プロセスは、式 (I I) :

【化 10】



(II)

(式中、 R^1 は支持媒体である) の化合物を式 (A 2) :

10

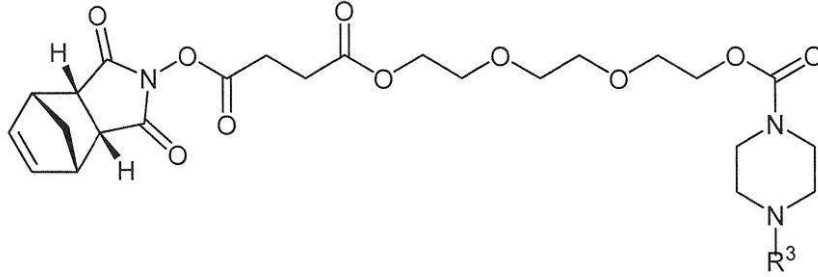
20

30

40

50

【化 1 1】



(A2)

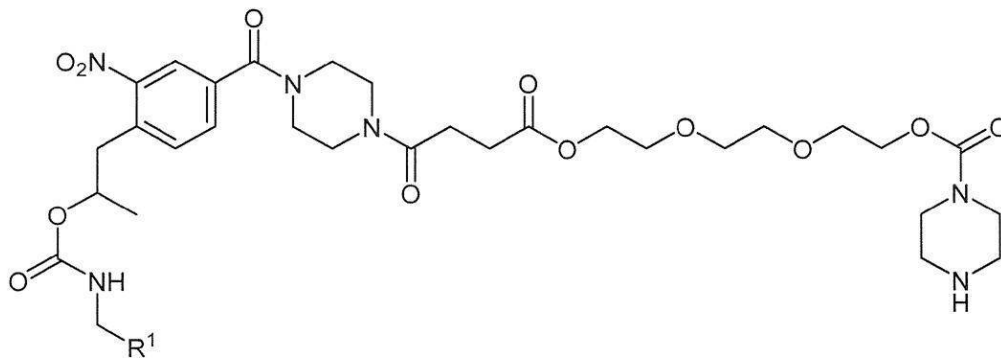
10

(式中、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される) の化合物と接触させて式 (A3) の化合物を形成することを含む。

【0037】

さらに別の態様では、式 (IV) :

【化 1 2】



(IV)

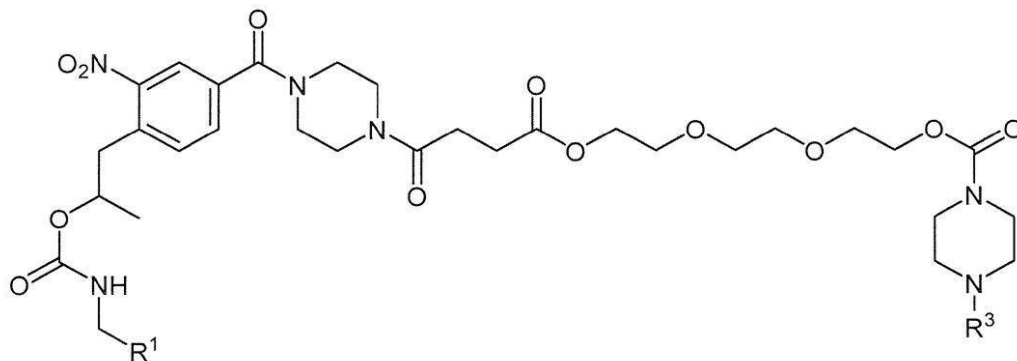
20

(式中、 R^1 は支持媒体である) の化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、

30

プロセスは、式 (A3) :

【化 1 3】



(A3)

40

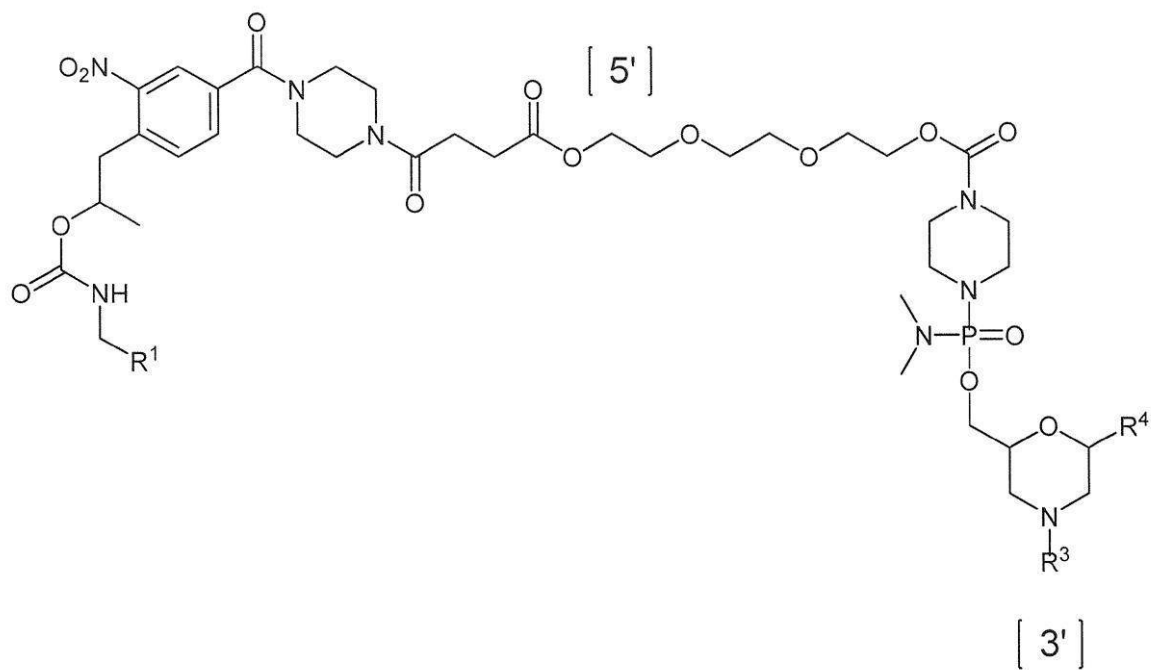
(式中、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (IV) の化合物を形成することを含む。

【0038】

さらに別の態様では、式 (A5) :

50

【化 1 4】



(A5)

(式中、R¹は支持媒体であり、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

10

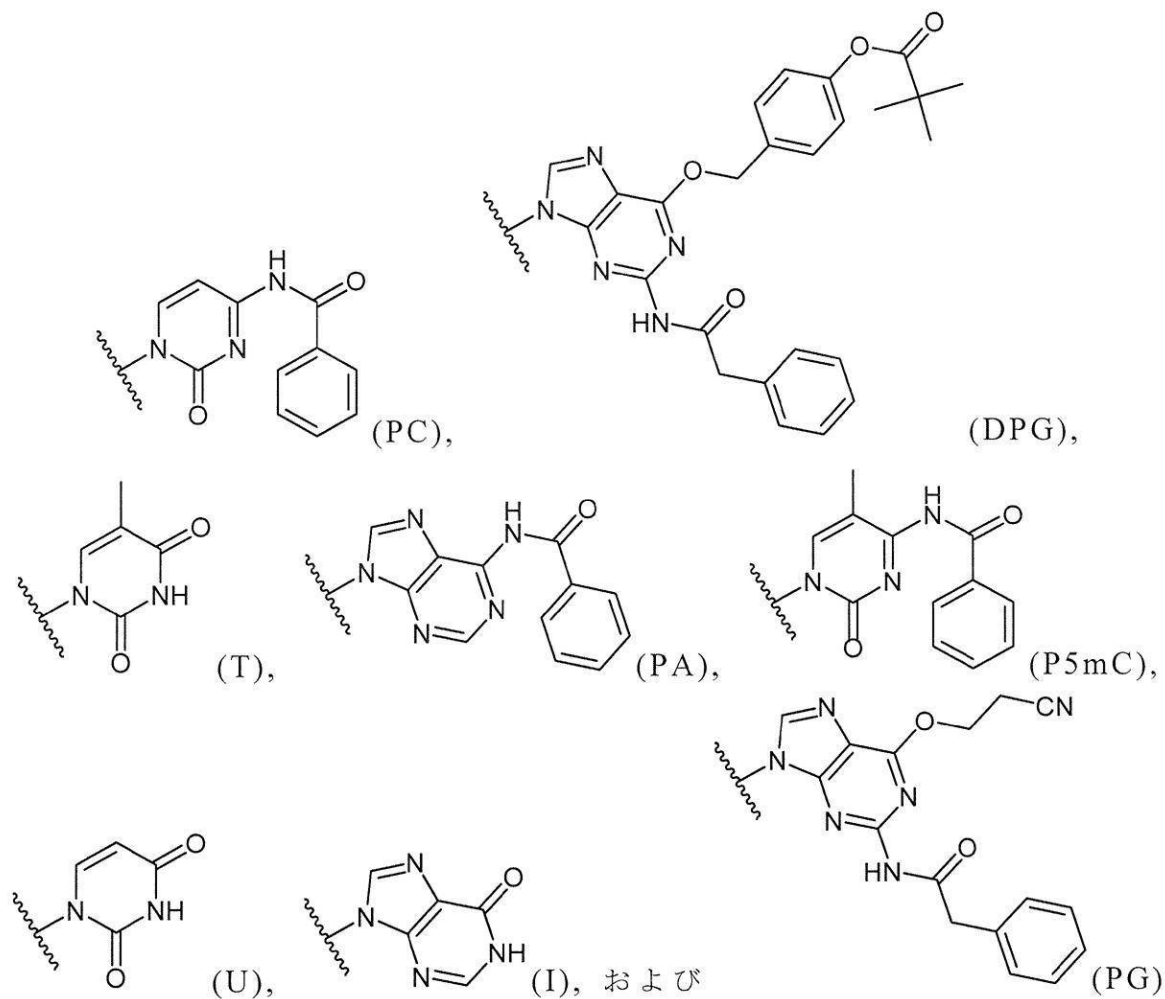
20

30

40

50

【化 1 5】



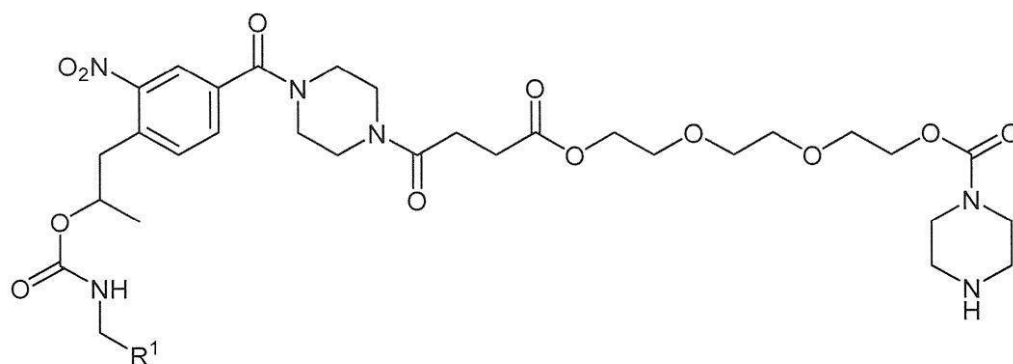
10

20

からなる群から選択される)の化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、プロセスは、式(IV)：

30

【化 1 6】



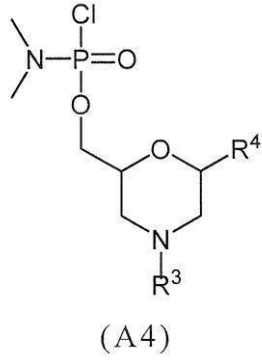
(IV)

40

(式中、 R^1 は支持媒体である)の化合物を式(A4)：

50

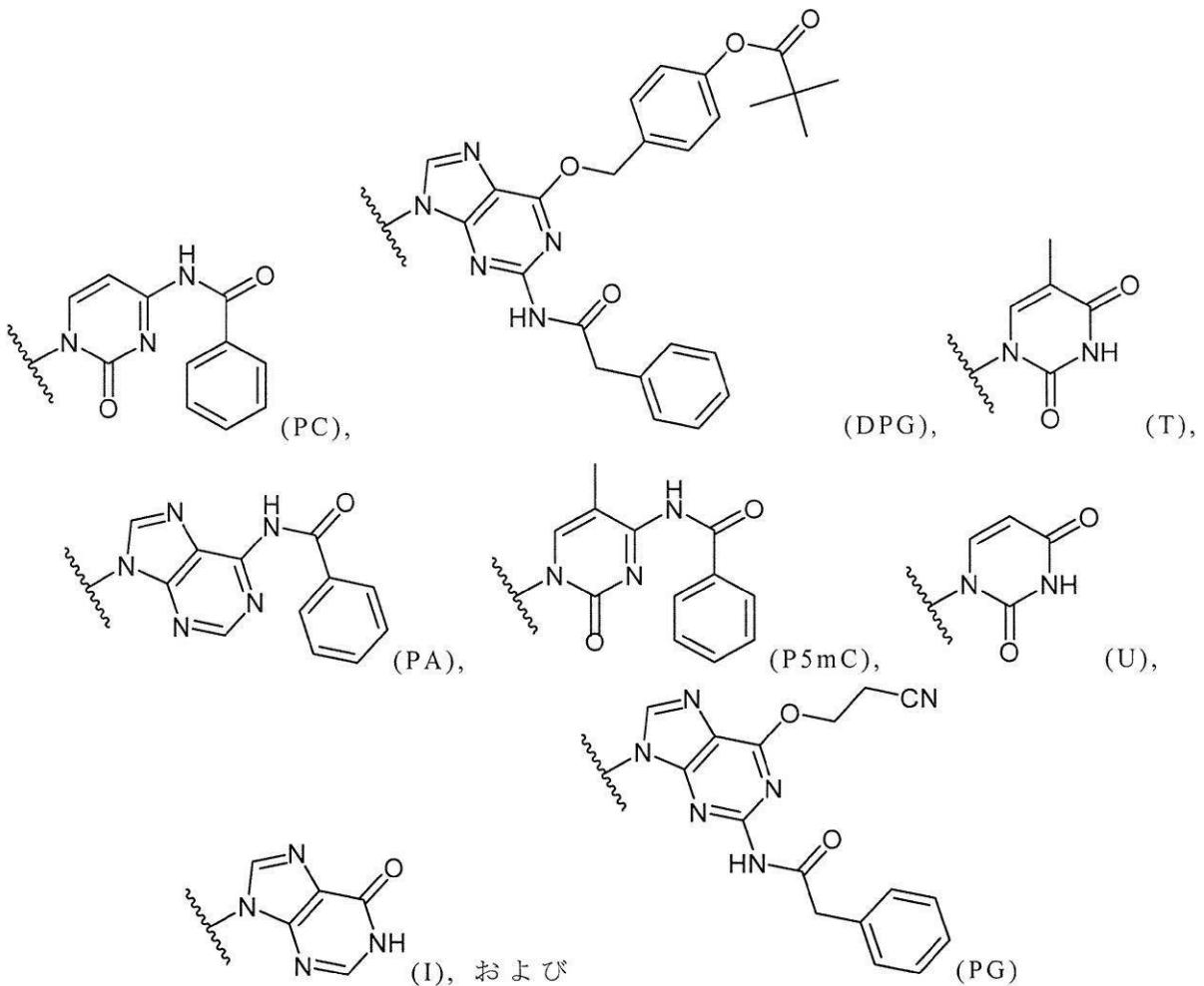
【化17】



10

(式中、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

【化18】



20

30

40

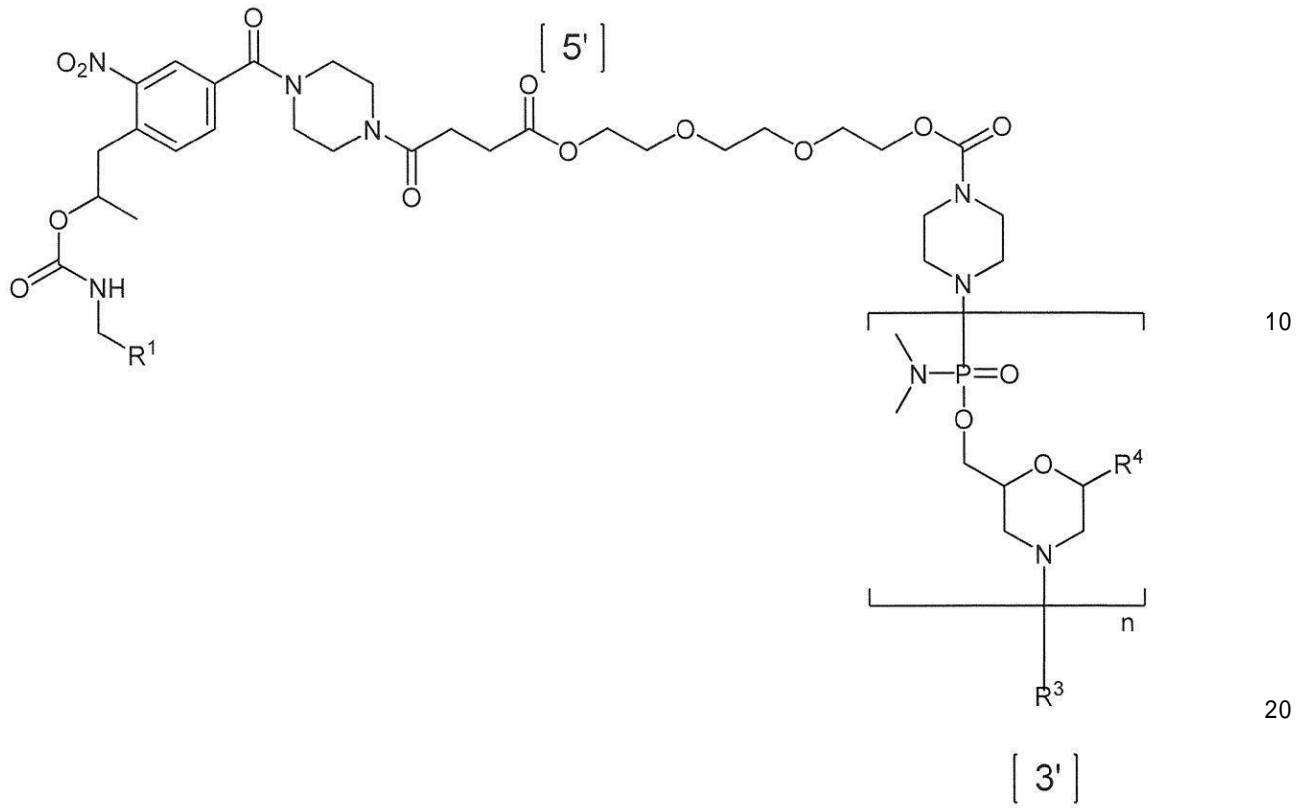
からなる群から選択される)の化合物と接触させて式(A5)の化合物を形成することを
含む。

【0039】

別の態様では、式(A9)：

50

【化 1 9】



(A9)

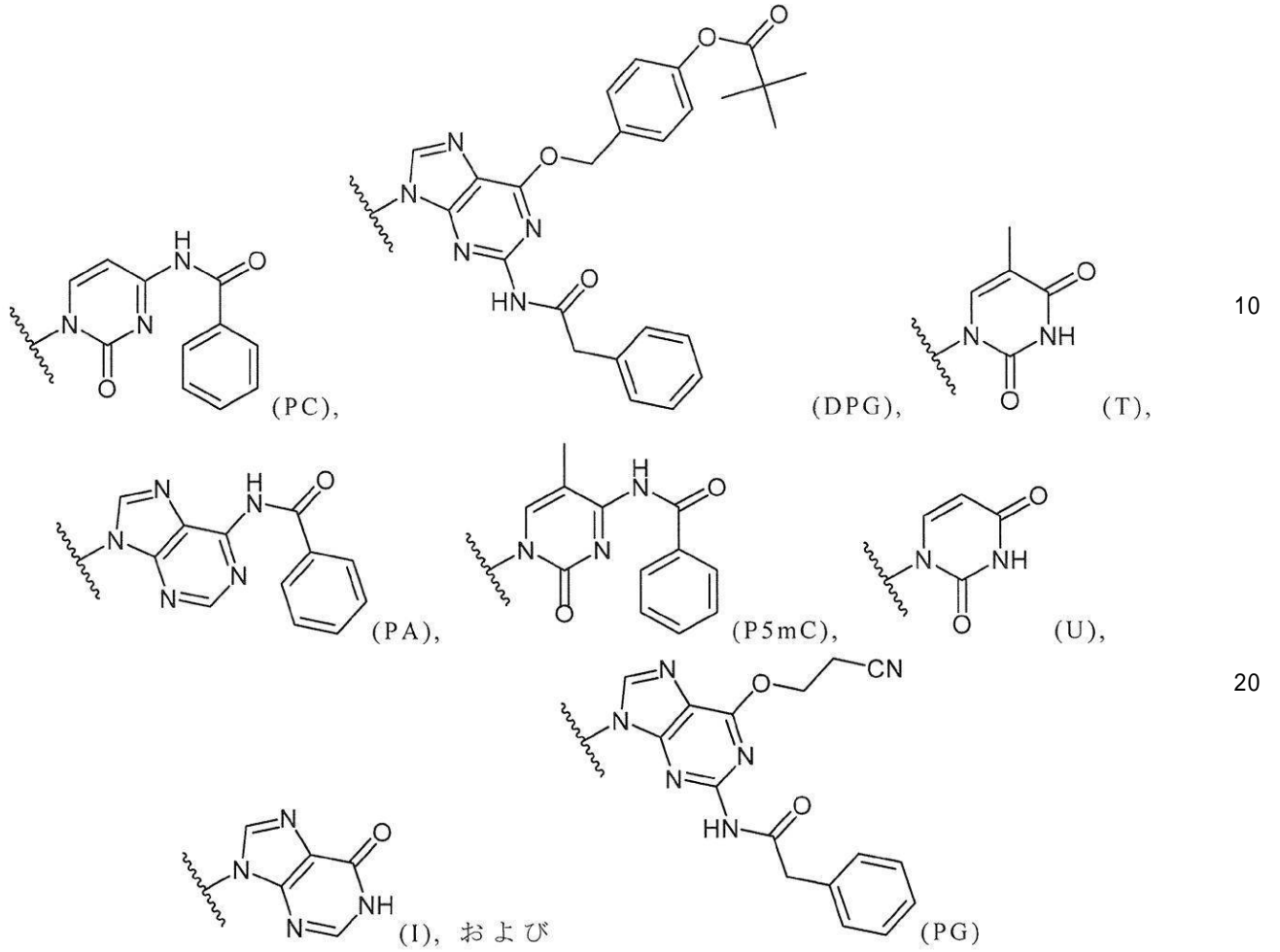
(式中、 n は10～40の整数であり、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

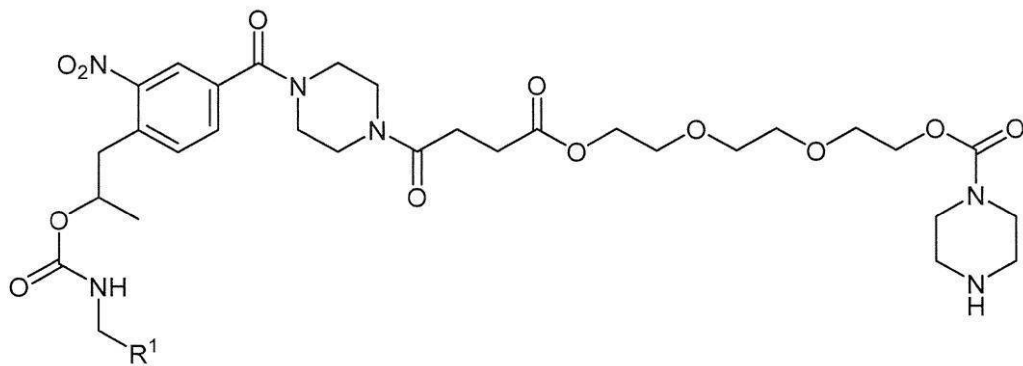
【化 2 0】



からなる群から選択される)の化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、
プロセスは、

(a) 式 (IV) :

【化 2 1】



(IV)

(式中、 R^1 は支持媒体である)の化合物を式 (A 4) :

10

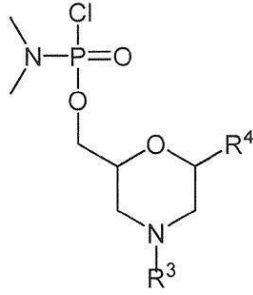
20

30

40

50

【化 2 2】

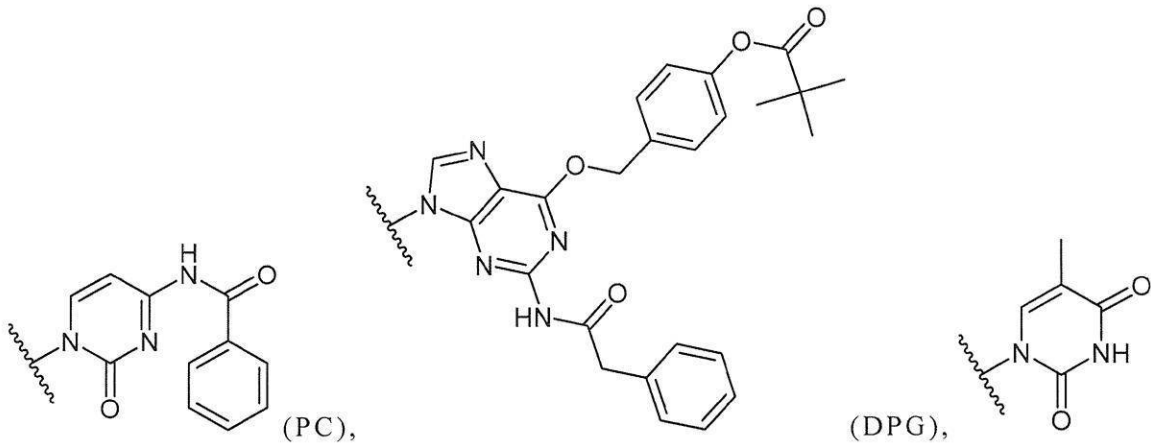


(A4)

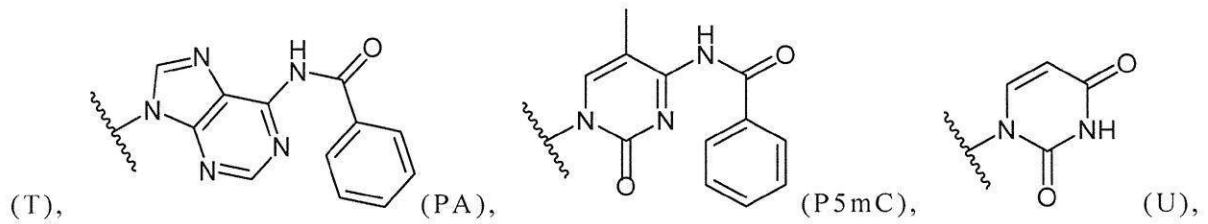
10

(式中、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

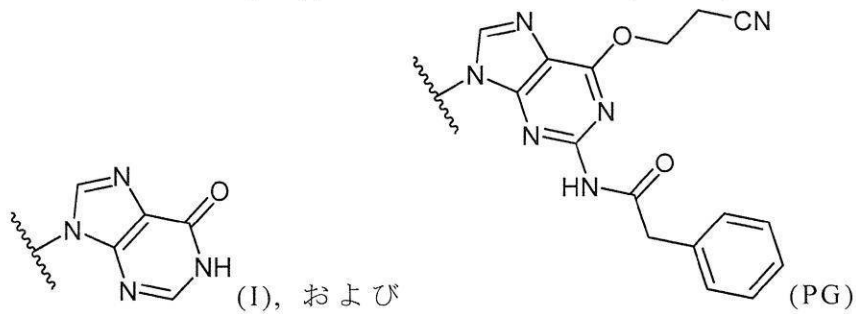
【化 2 3】



20



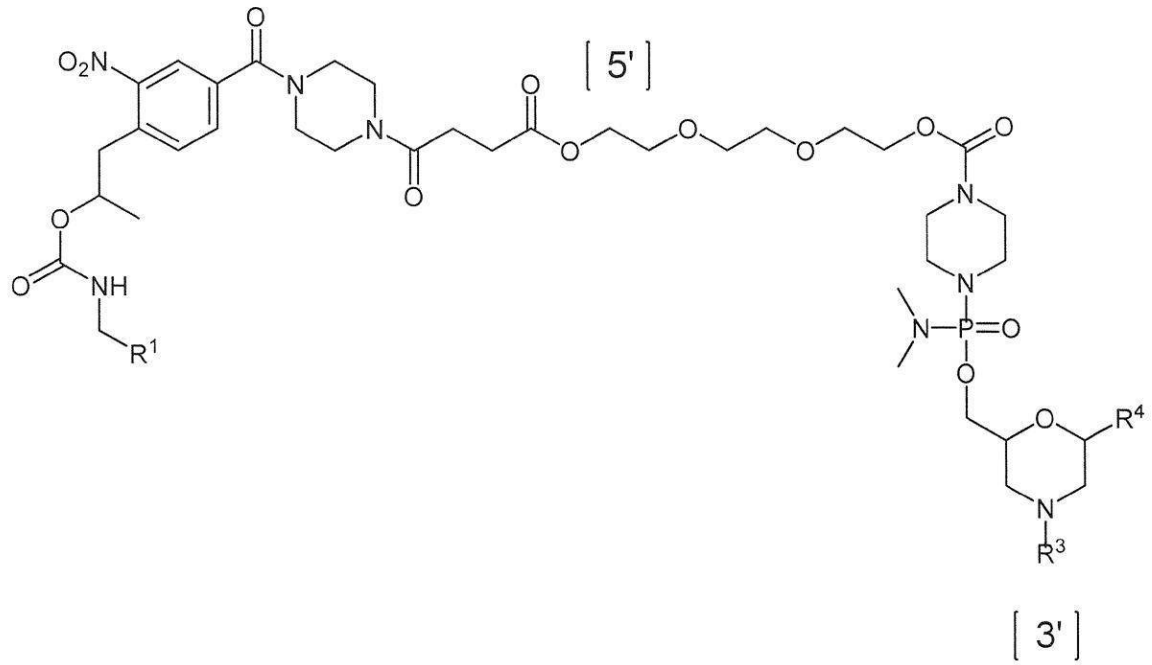
30



40

からなる群から選択される)の化合物と接触させて式(A5)：

【化 2 4】



(A5)

(式中、R¹は支持媒体であり、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

10

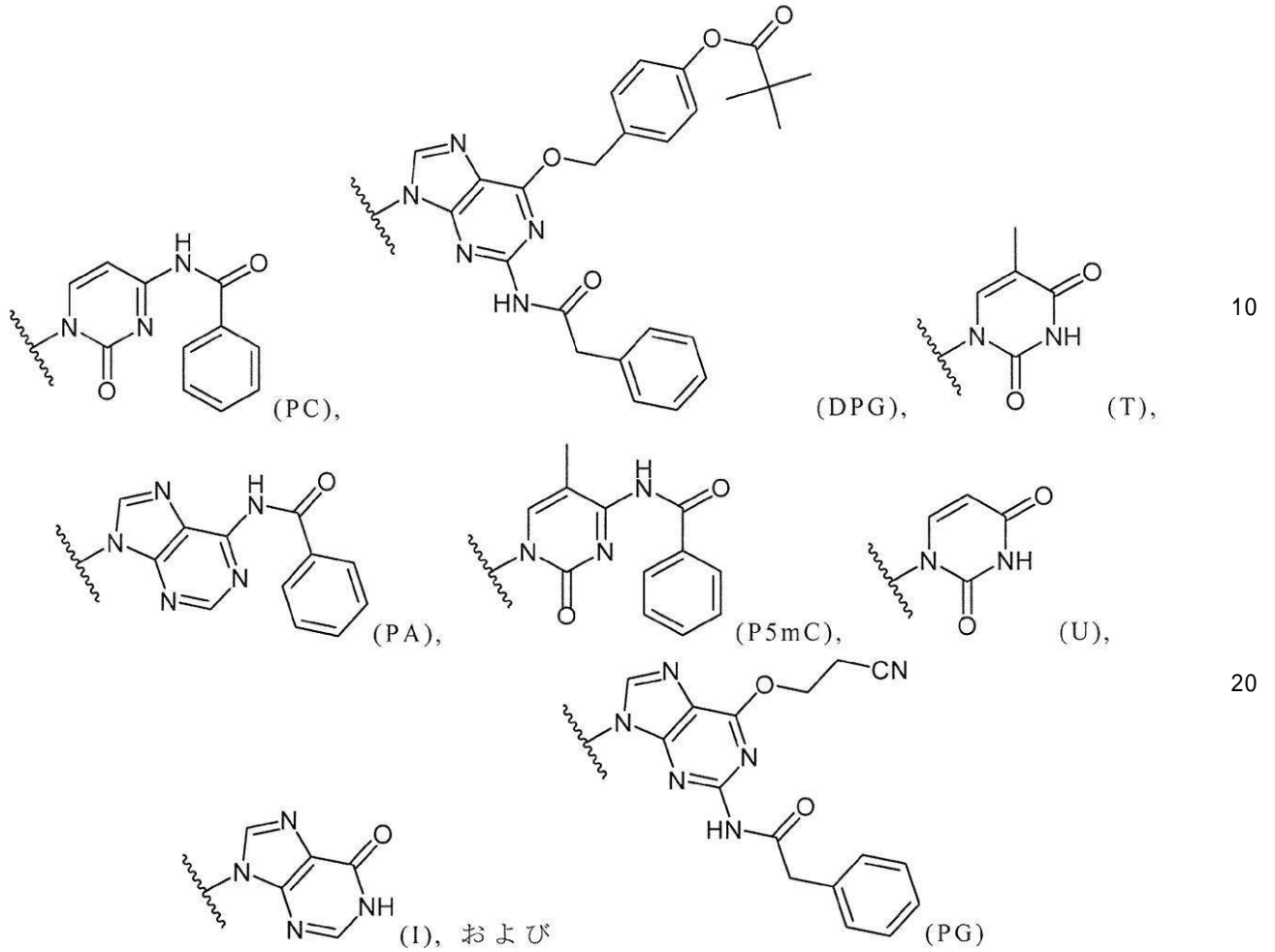
20

30

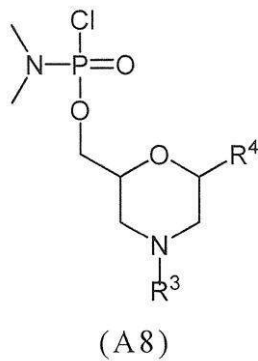
40

50

【化 2 5】



からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ、ならびに
 (b) 以下の連続したステップの $n - 1$ 回の反復を実施するステップであって、
 (b1) 直前のステップによって形成された生成物を脱ブロッキング剤と接触させるステップ、および
 (b2) 直前のステップによって形成された化合物を式(A8)：
 【化 2 6】



(式中、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、 R^4 は、以下：

10

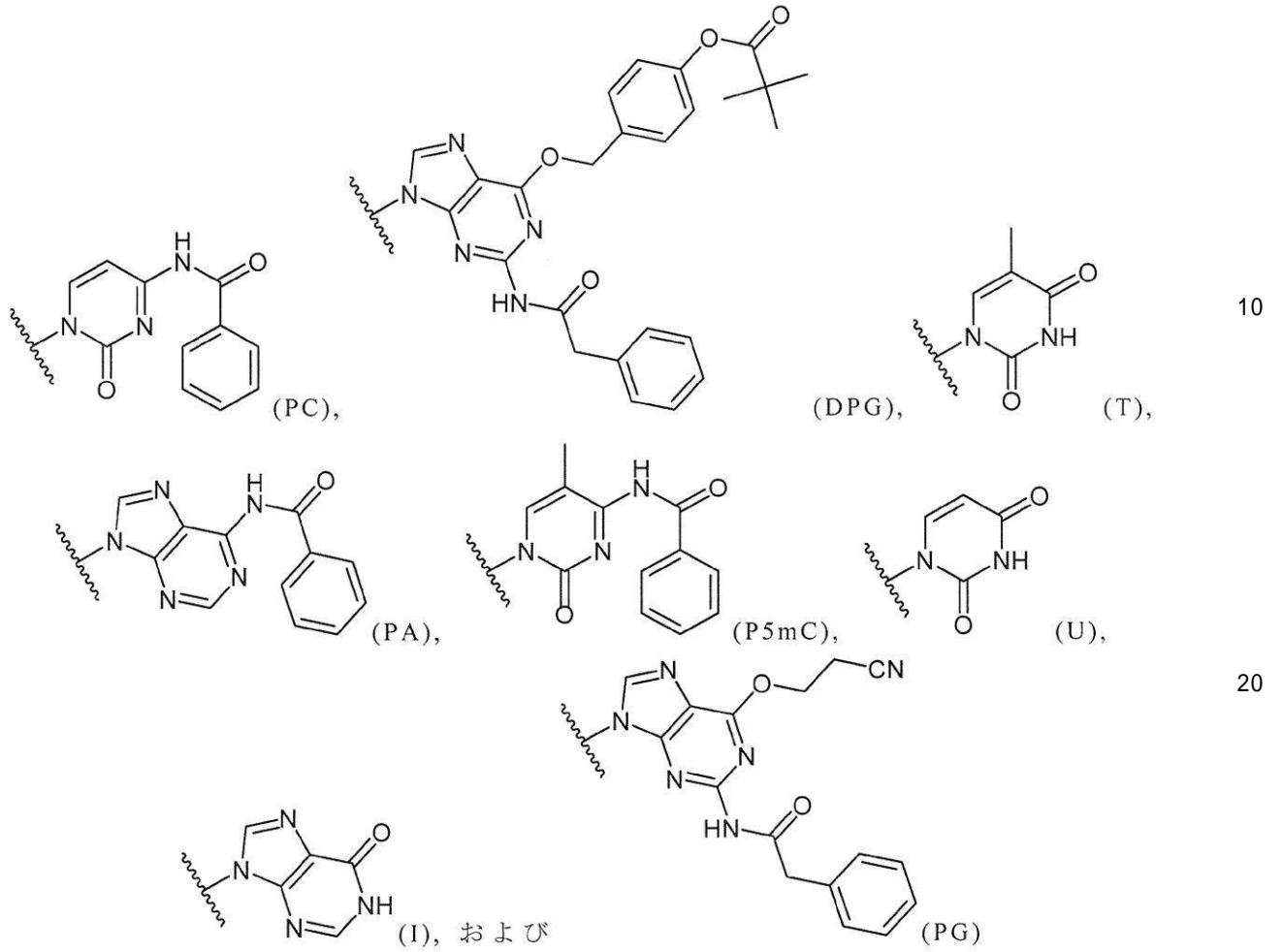
20

30

40

50

【化 2 7】



からなる群から選択される)の化合物と接触させて式(A9)の化合物を形成するステップの連続したステップのn-1回の反復を実施するステップの連続したステップを含む。

【0040】

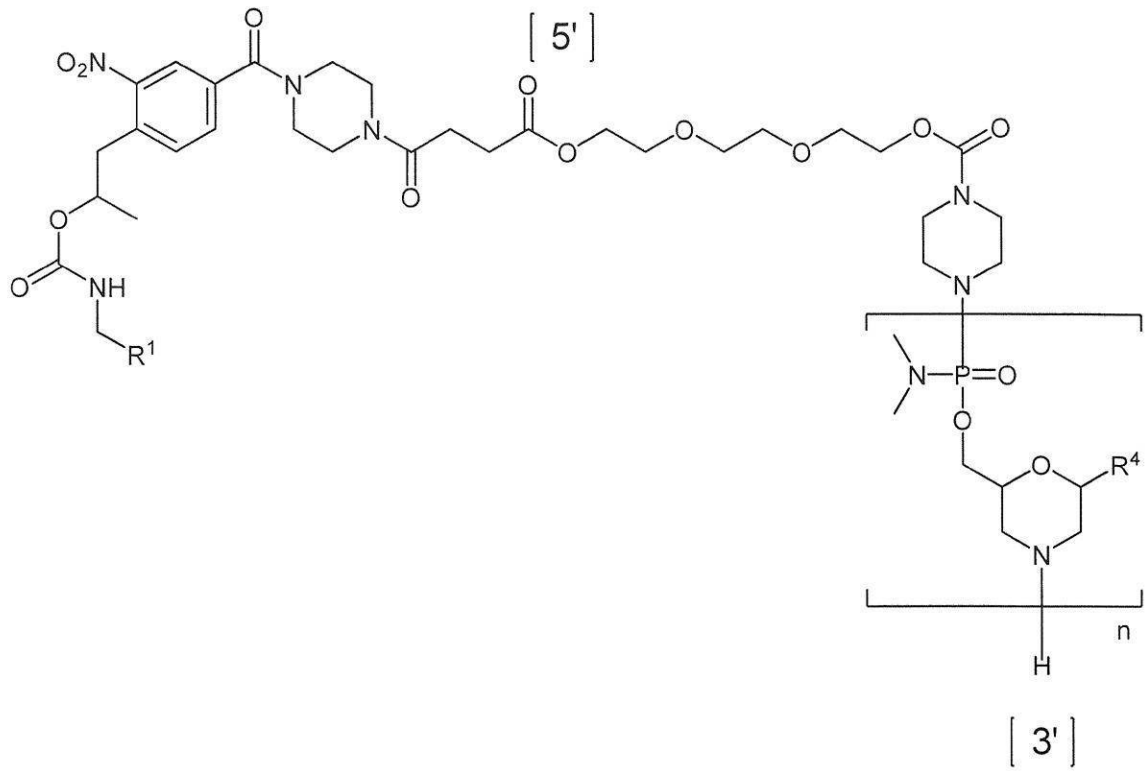
さらに別の態様では、式(A10)：

30

40

50

【化 2 8】



(A10)

(式中、 n は10～40の整数であり、 R^1 は支持媒体であり、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

10

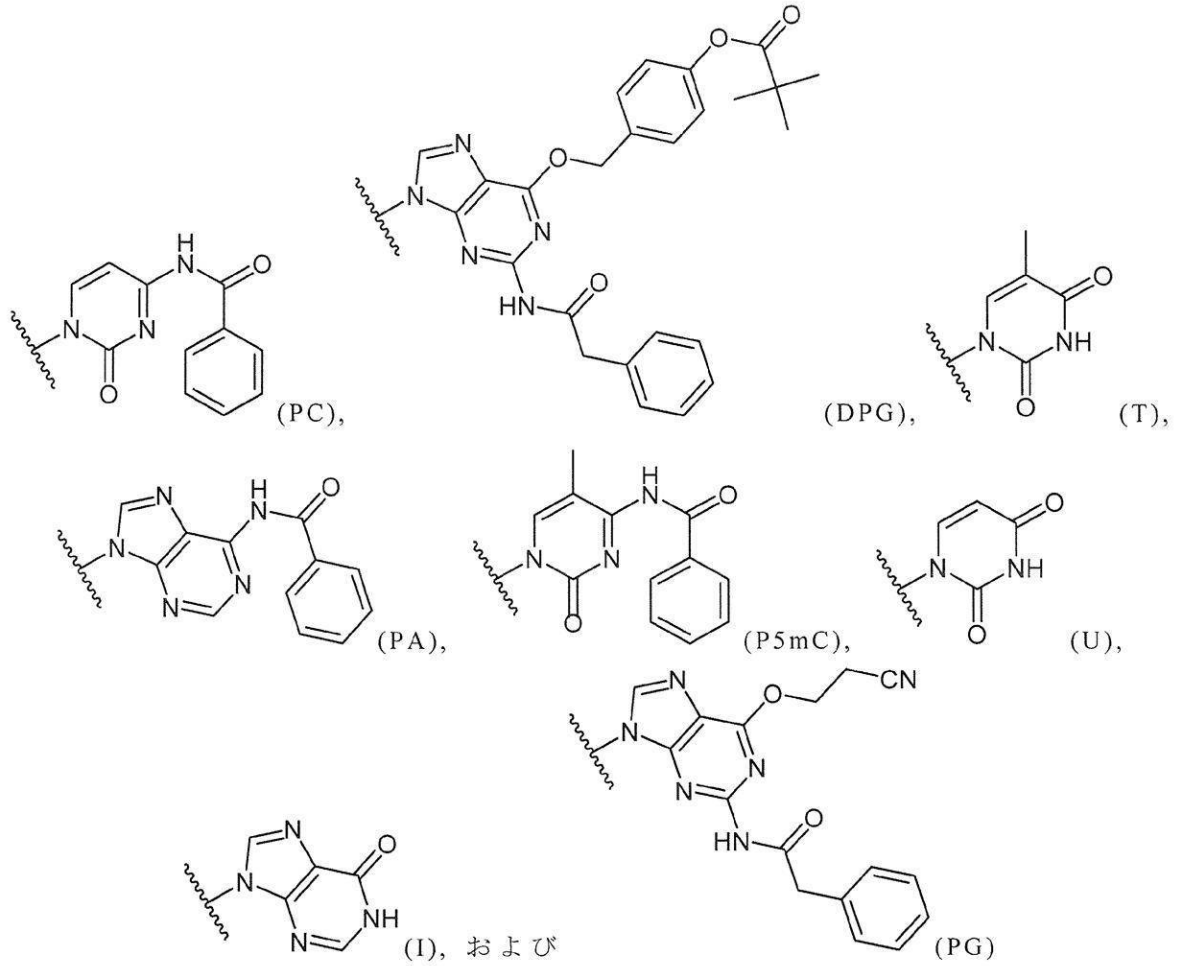
20

30

40

50

【化 2 9】



10

20

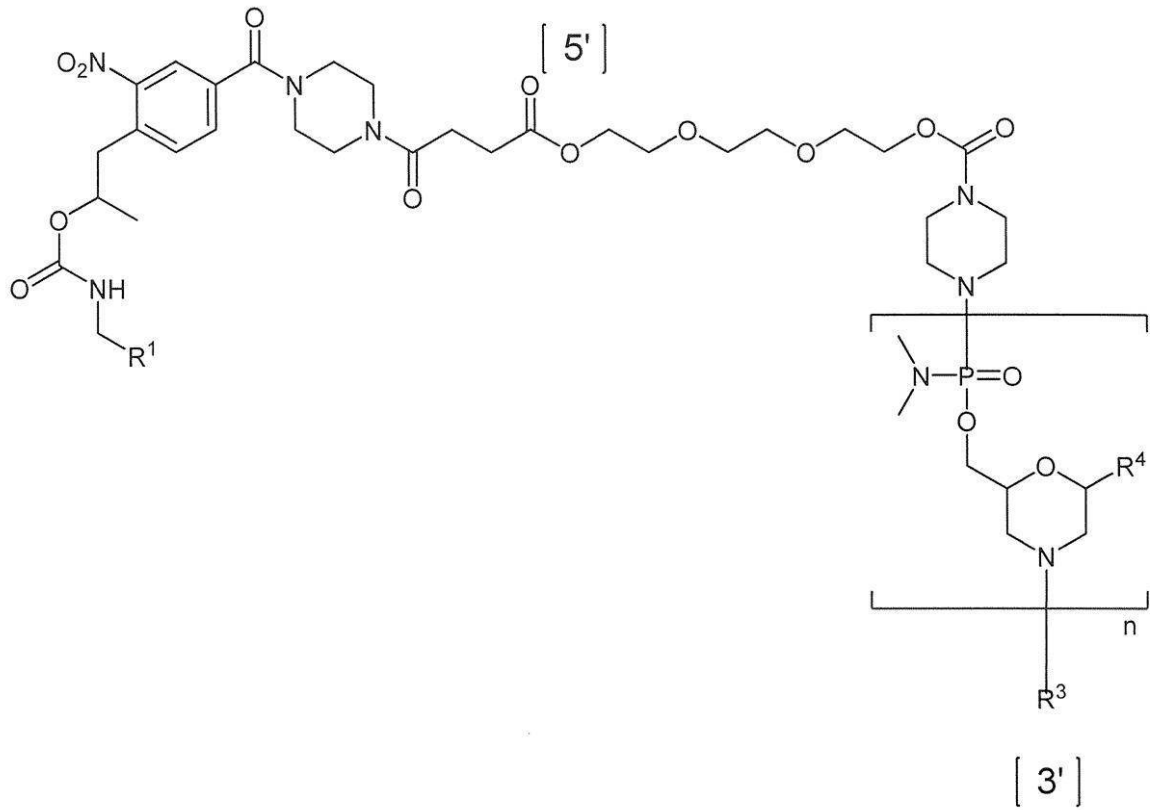
からなる群から選択される)の化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、プロセスは、式(A9)：

30

40

50

【化 3 0】



(A9)

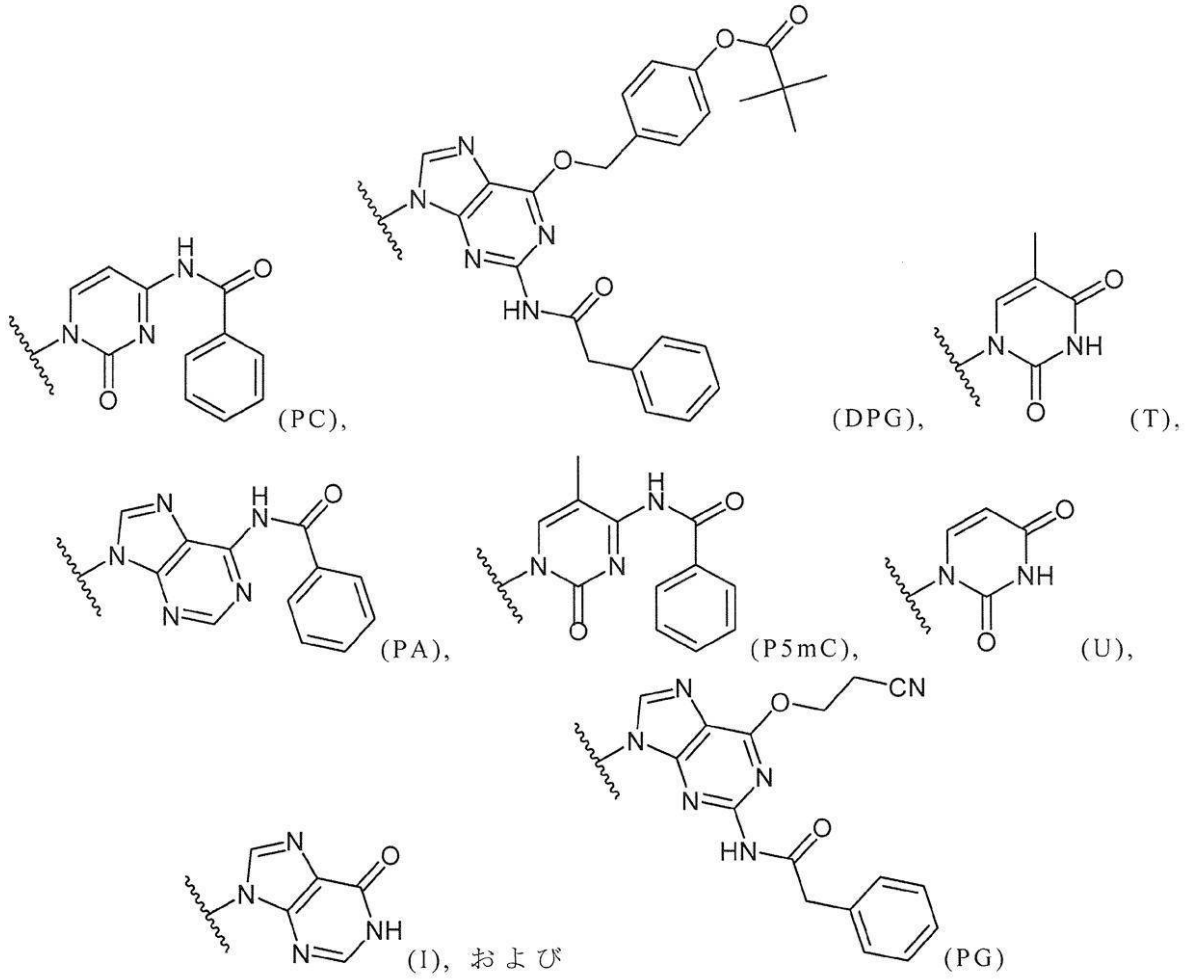
(式中、 n は10～40の整数であり、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 3 1】



10

20

からなる群から選択される)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(A10)の化合物を形成することを含む。

30

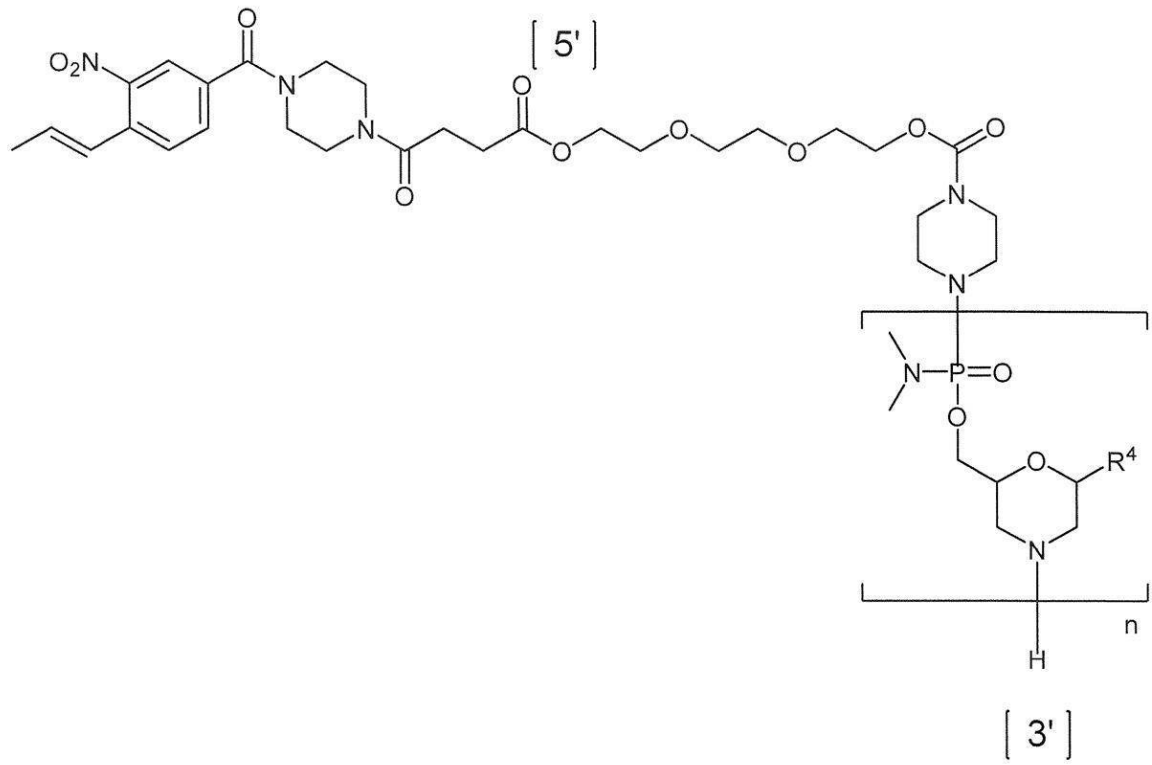
【0041】

さらに別の態様では、式(A11)：

40

50

【化 3 2】



10

20

(A11)

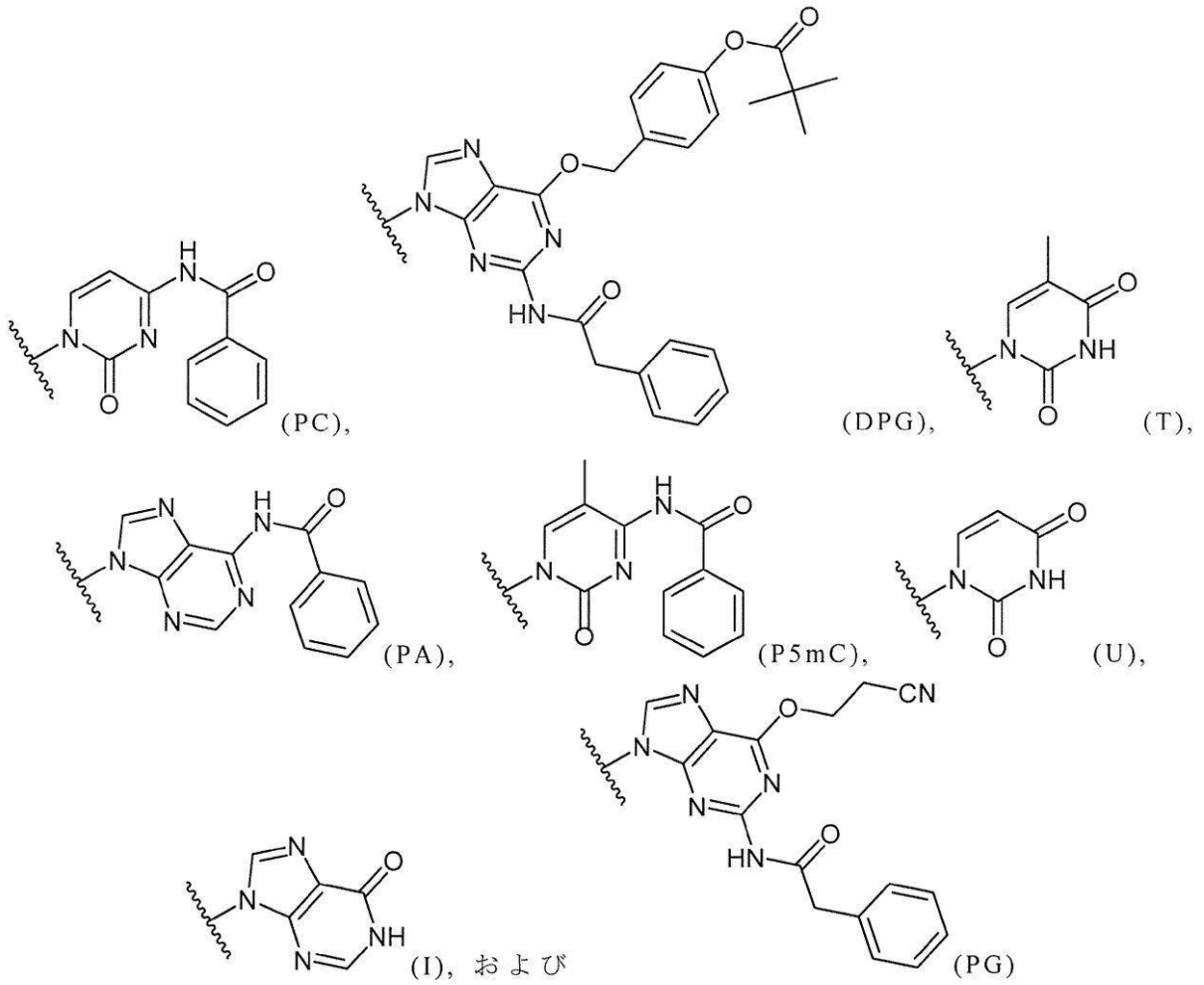
(式中、 n は10～40の整数であり、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 3 3】



10

20

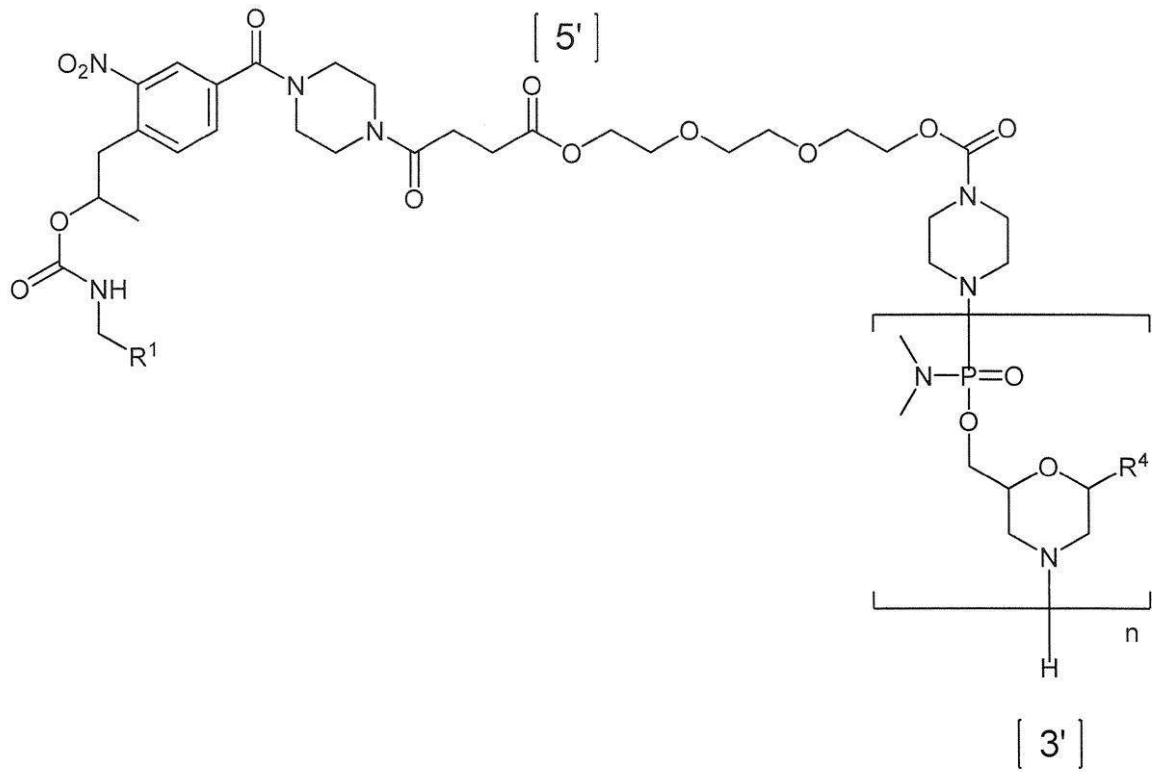
からなる群から選択される)の化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、
プロセスは、式(A10)：

30

40

50

【化 3 4】



(A10)

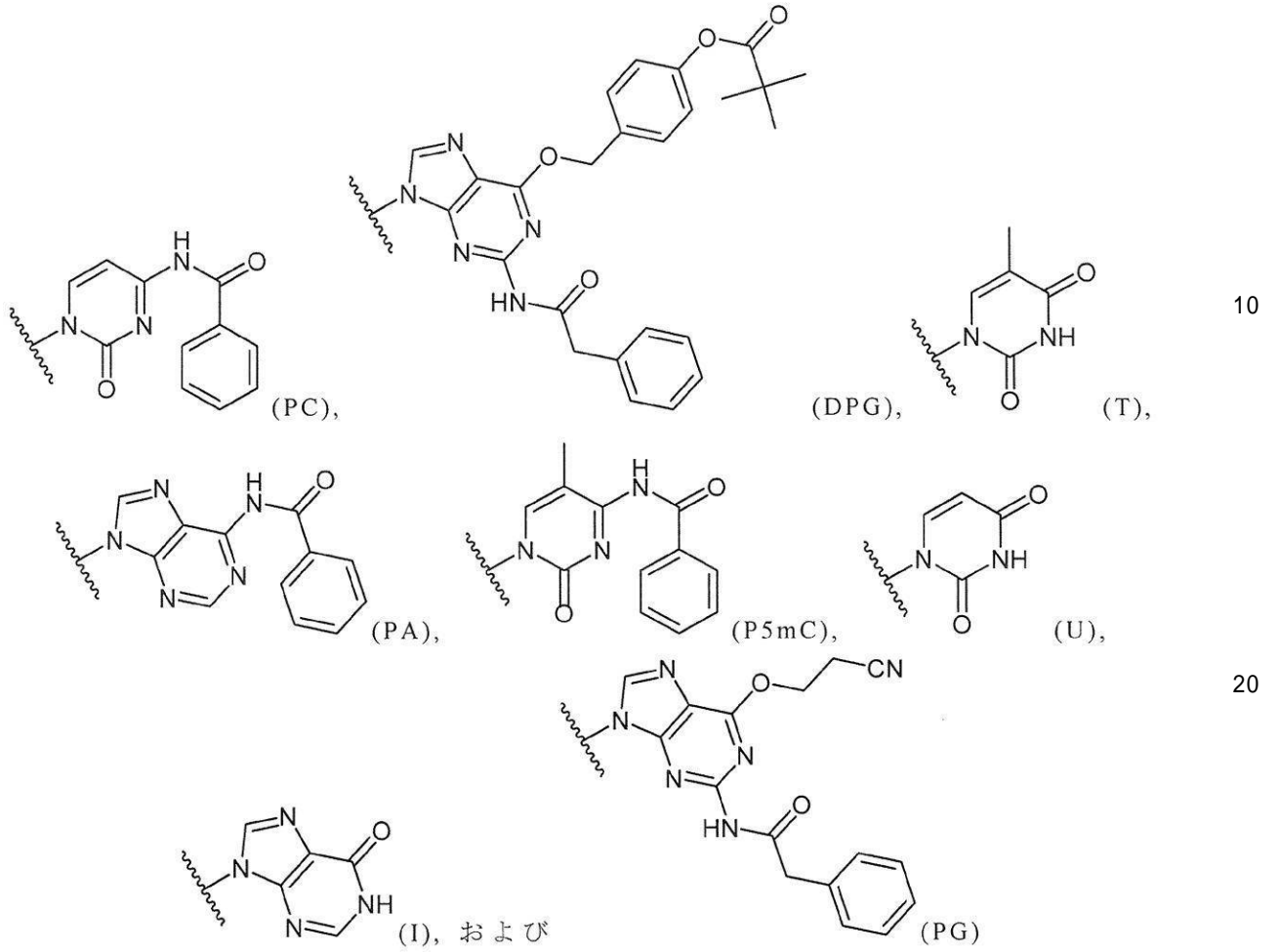
(式中、 n は10～40の整数であり、 R^1 は支持媒体であり、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 3 5】

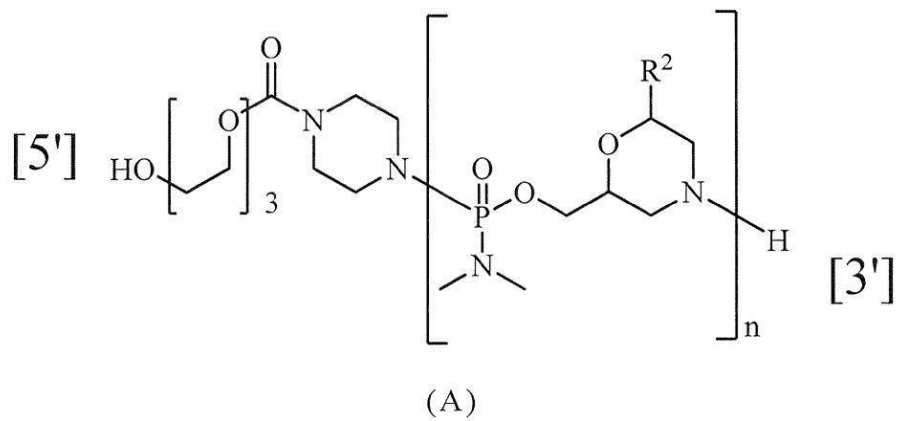


からなる群から選択される)の化合物を切断剤と接触させて式(A11)の化合物を形成することを含む。

【0042】

別の態様では、式(A)：

【化 3 6】



(式中、nは10~40の整数であり、各R²は、各出現について独立して、以下：

10

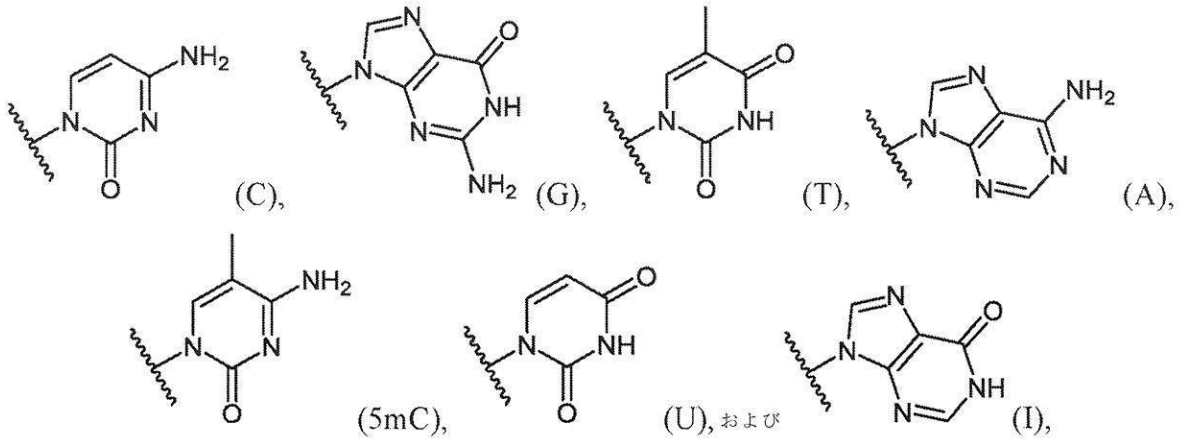
20

30

40

50

【化 3 7】

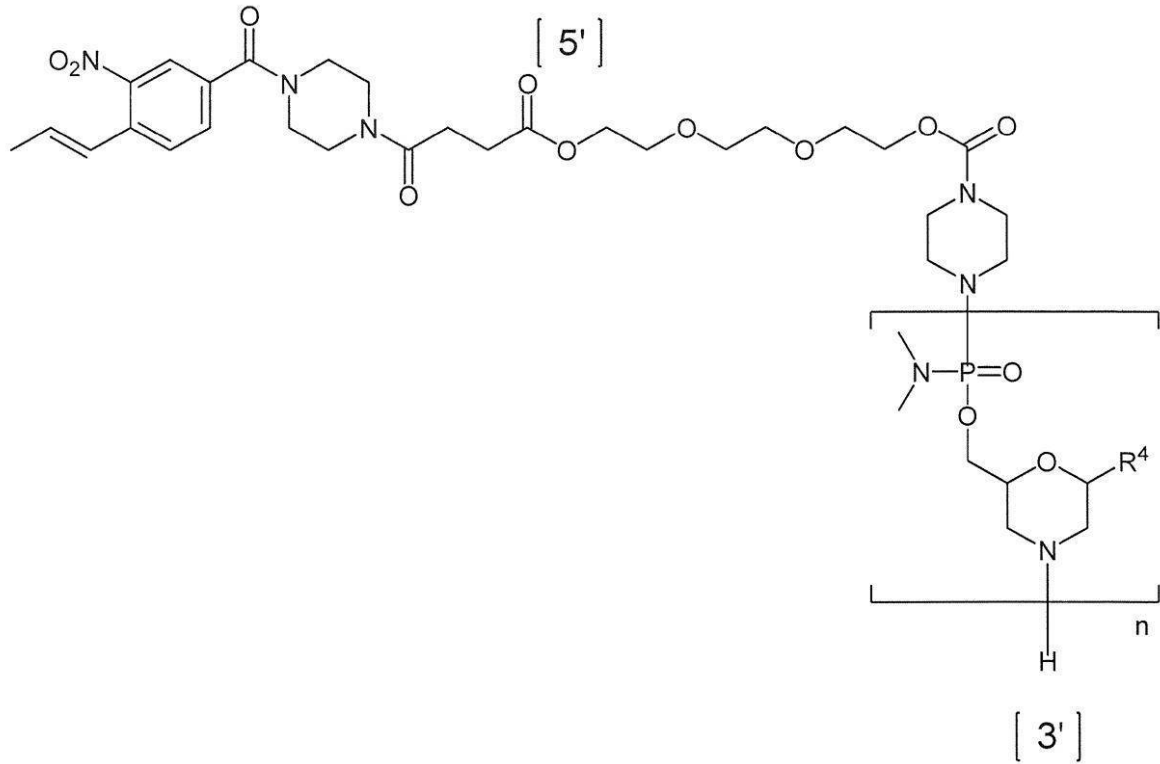


10

からなる群から選択される) のオリゴマー化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、

プロセスは、式 (A 1 1) :

【化 3 8】



20

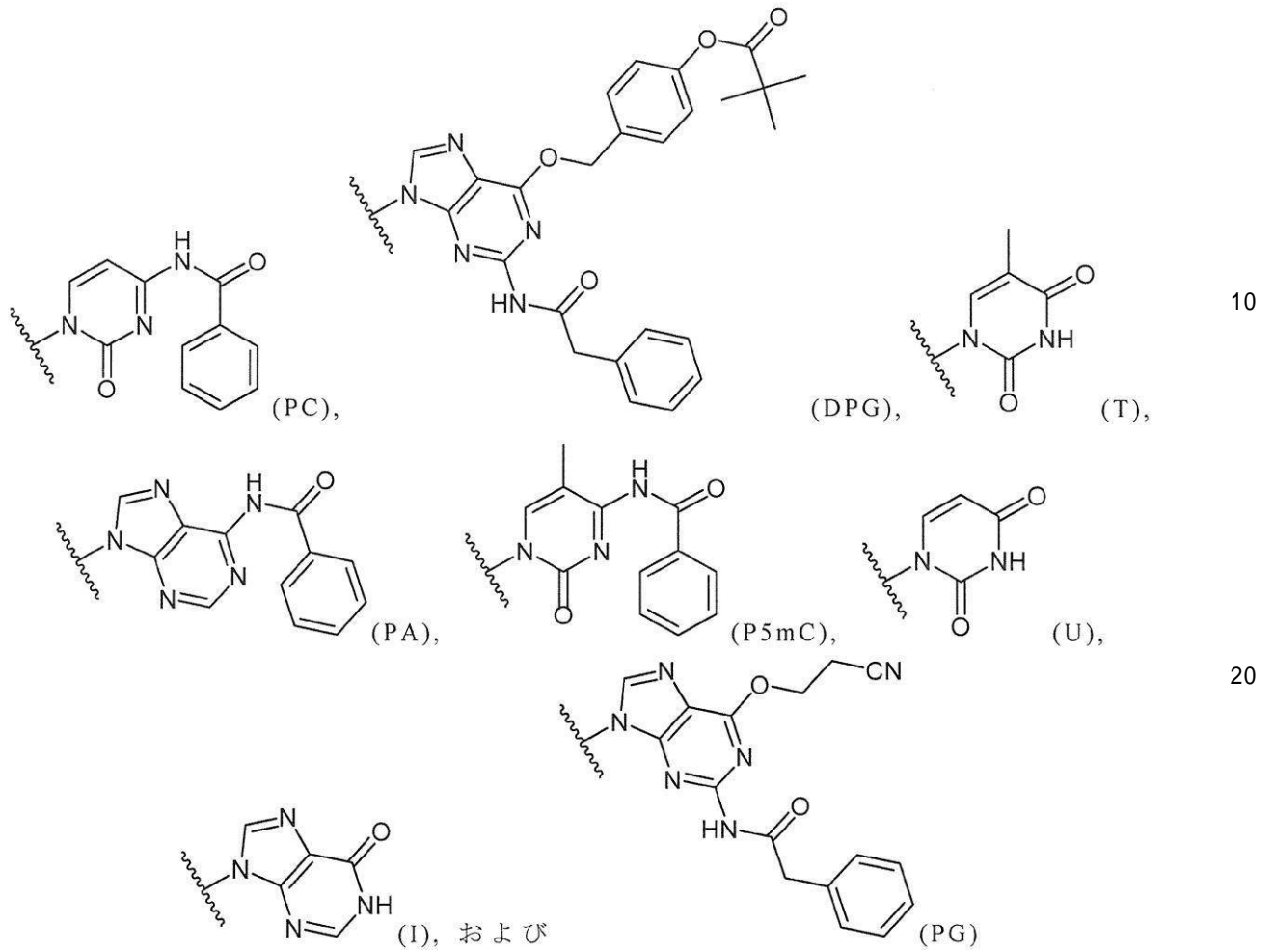
30

40

(式中、 n は 10 ~ 40 の整数であり、 R^4 は、各出現について独立して、以下 :

50

【化 3 9】

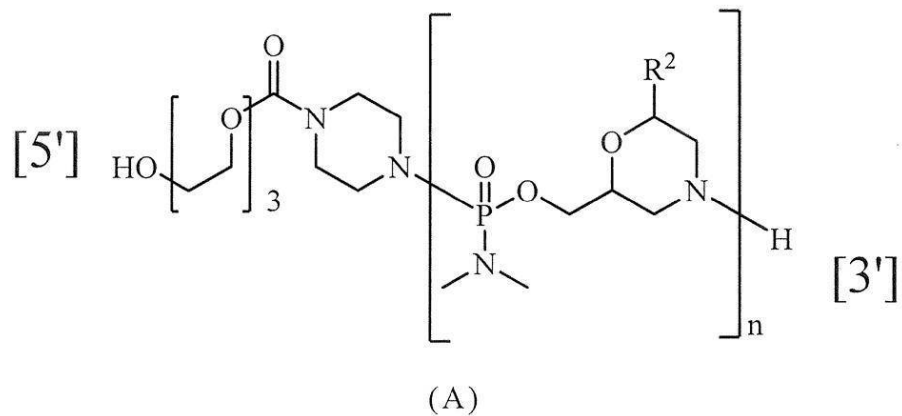


からなる群から選択される)の化合物を脱保護剤と接触させて式(A)のオリゴマー化合物を形成することを含む。

【0043】

別の態様では、式(A)：

【化 4 0】



(式中、nは10~40の整数であり、各R²は、各出現について独立して、以下：

10

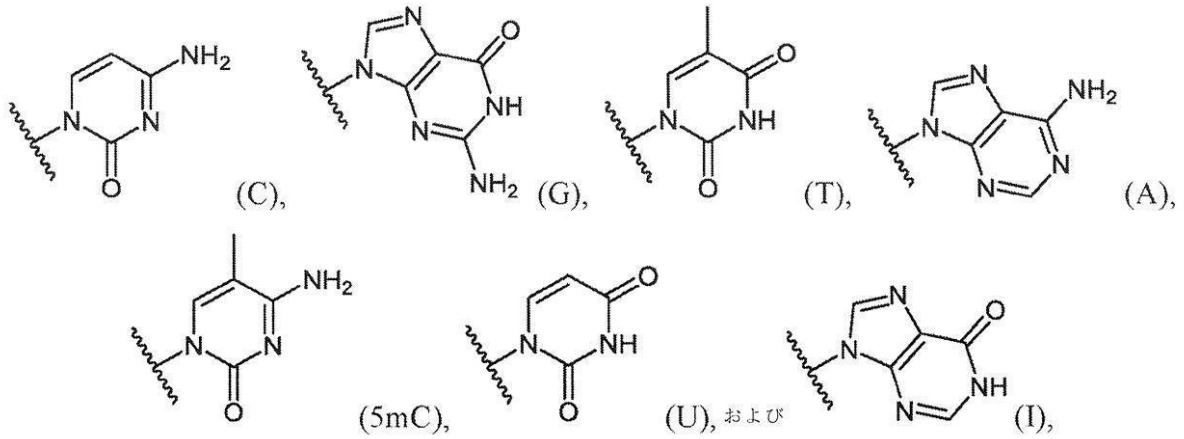
20

30

40

50

【化 4 1】

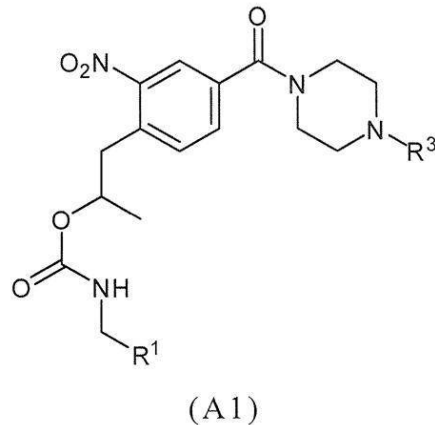


10

からなる群から選択される) のオリゴマー化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、プロセスは、

(a) 式 (A 1) :

【化 4 2】

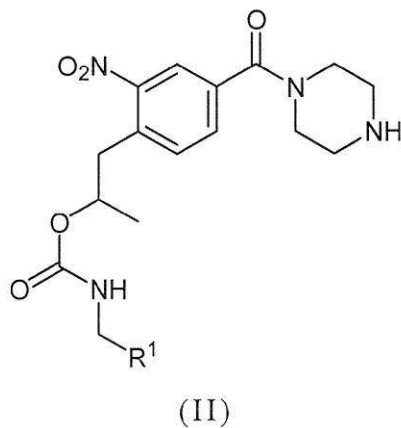


20

30

(式中、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (II) :

【化 4 3】



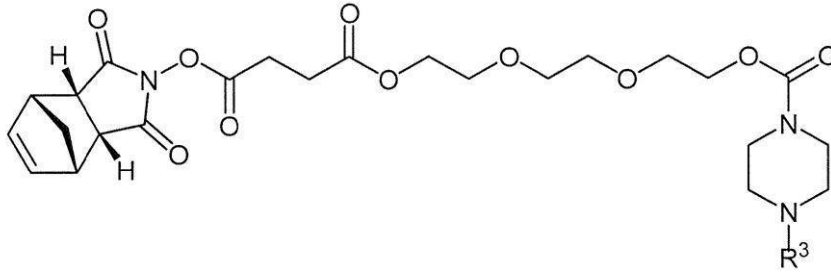
40

(式中、 R^1 は支持媒体である) の化合物を形成するステップ ;

(b) 式 (II) の化合物を式 (A 2) :

50

【化 4 4】

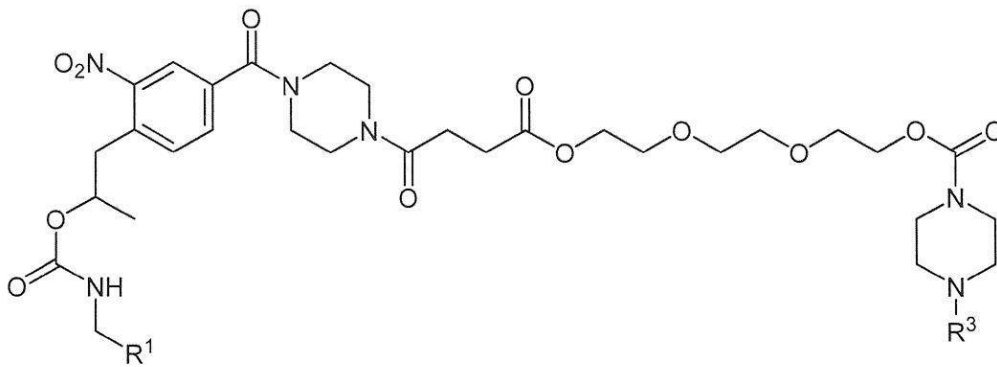


(A2)

10

(式中、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される)の化合物と接触させて式(A3)：

【化 4 5】



(A3)

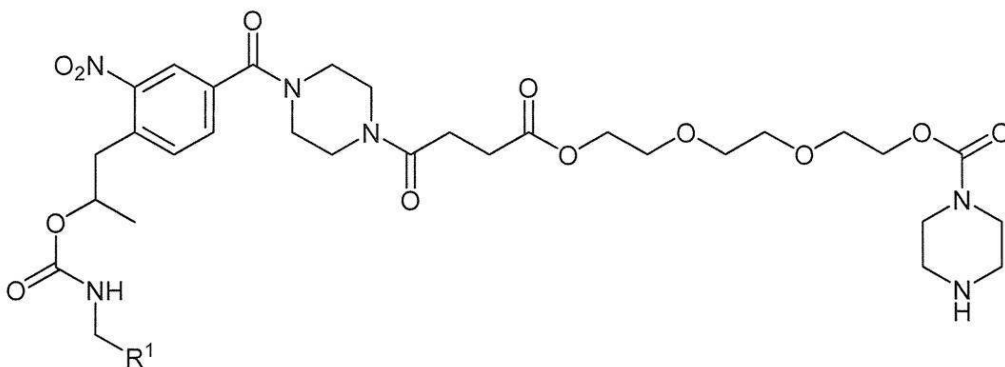
20

(式中、R¹は支持媒体であり、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される)の化合物を形成するステップ；

(c) 式(A3)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(IV)：

30

【化 4 6】



(IV)

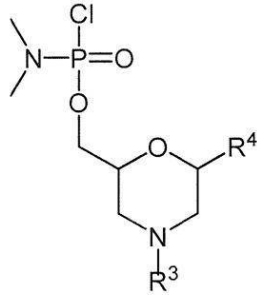
40

(式中、R¹は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(d) 式(IV)の化合物を式(A4)：

50

【化 4 7】

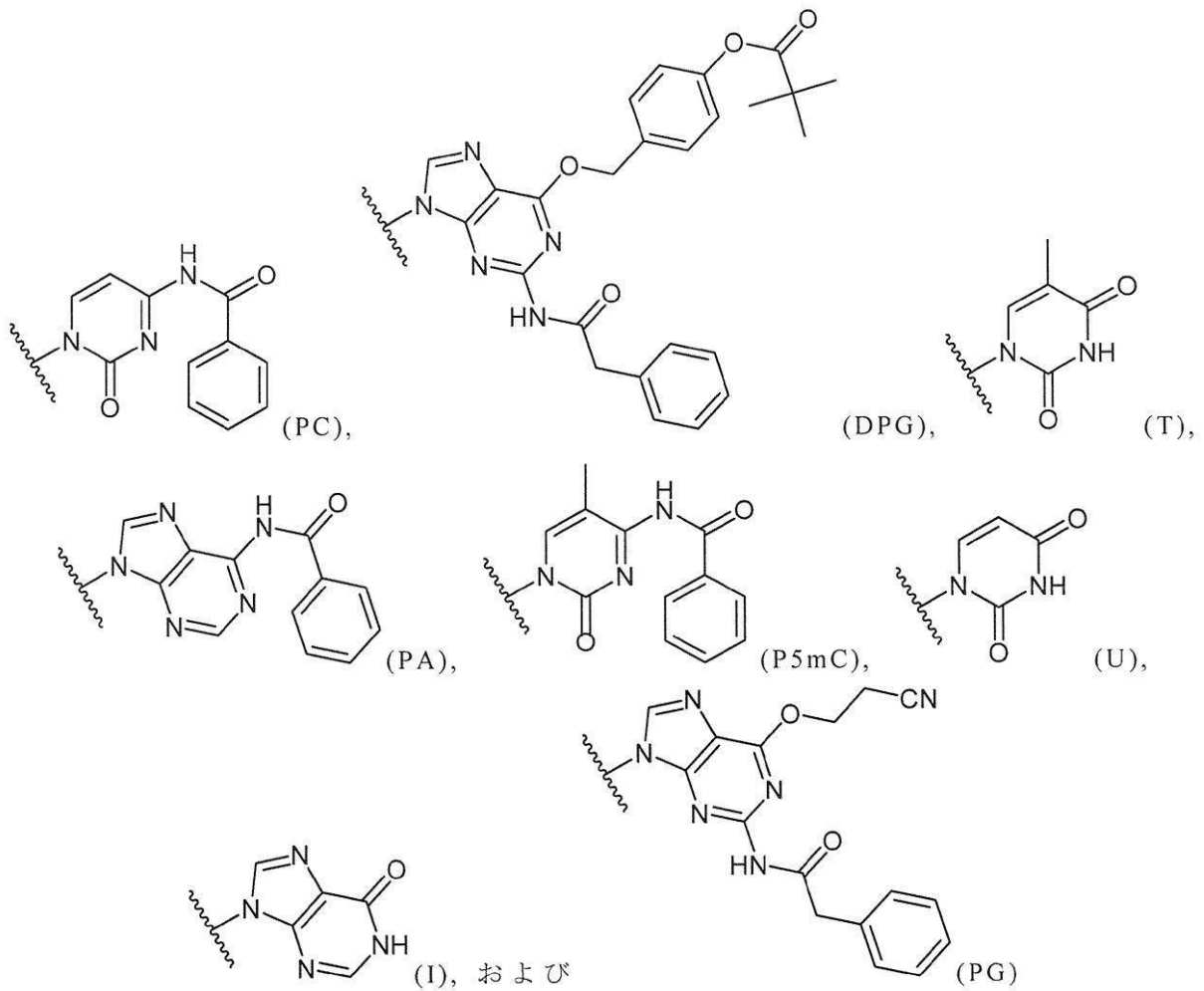


(A4)

10

(式中、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

【化 4 8】



20

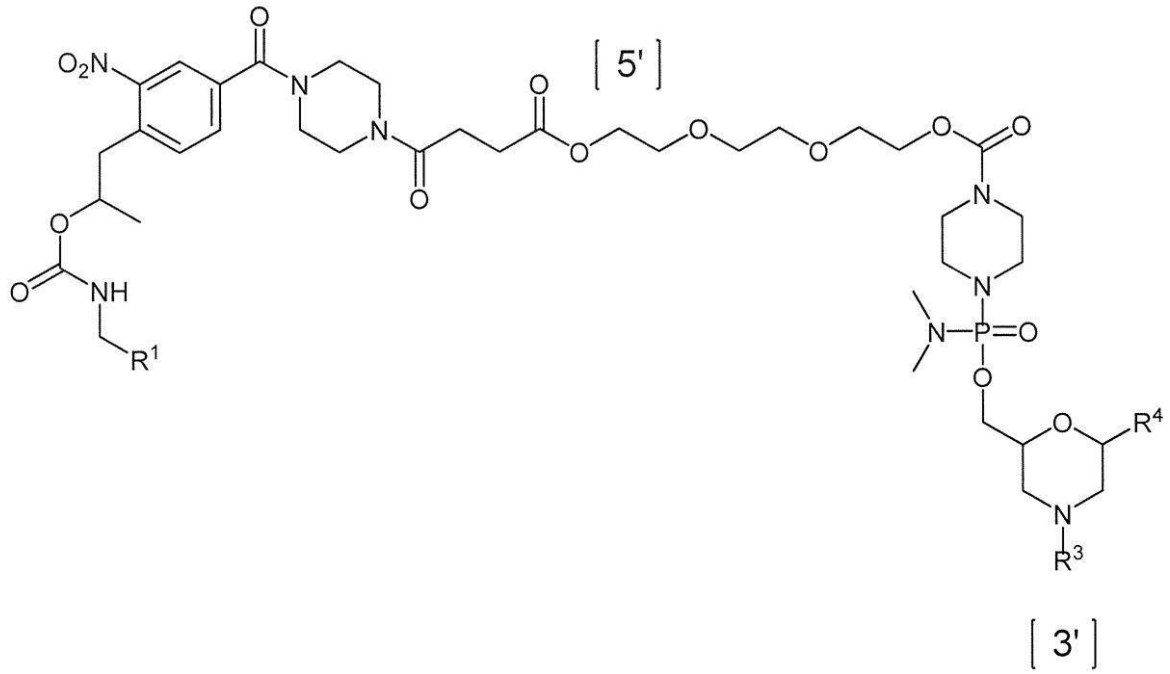
30

40

からなる群から選択される)の化合物と接触させて式(A5)：

50

【化 4 9】



(A5);

(式中、R¹は支持媒体であり、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

10

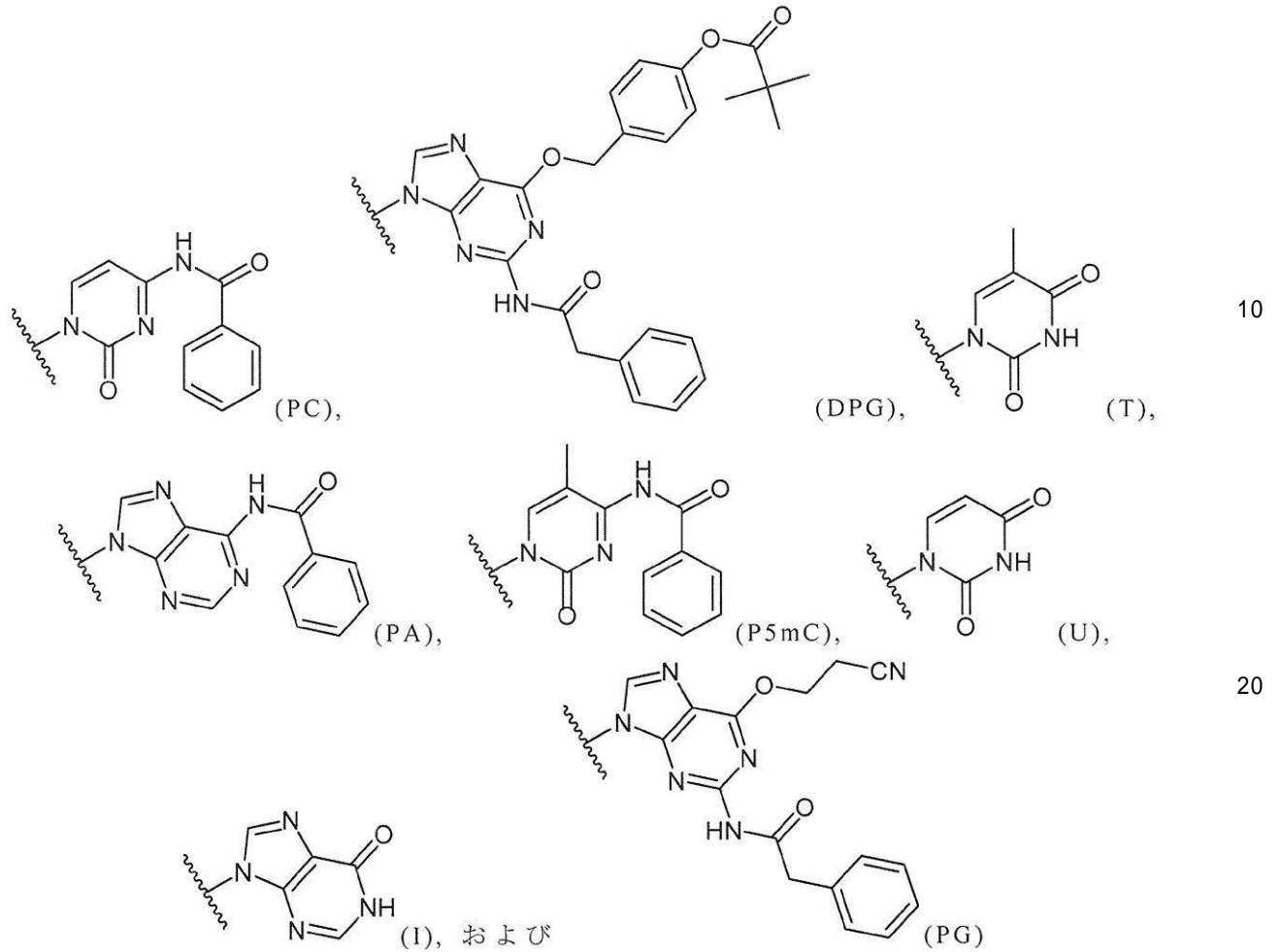
20

30

40

50

【化 5 0】

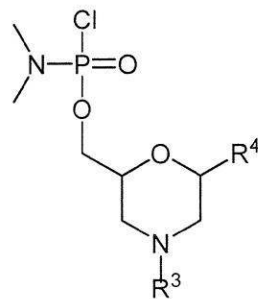


からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ;

(e) 以下の連続したステップの $n - 1$ 回の反復を実施するステップであって、
 (e1) 直前のステップによって形成された生成物を脱ブロッキング剤と接触させるステップ、および

(e2) 直前のステップによって形成された化合物を式(A8):

【化 5 1】



(A8)

(式中、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、 R^4 は、式(A8)の各化合物について独立して、以下:

10

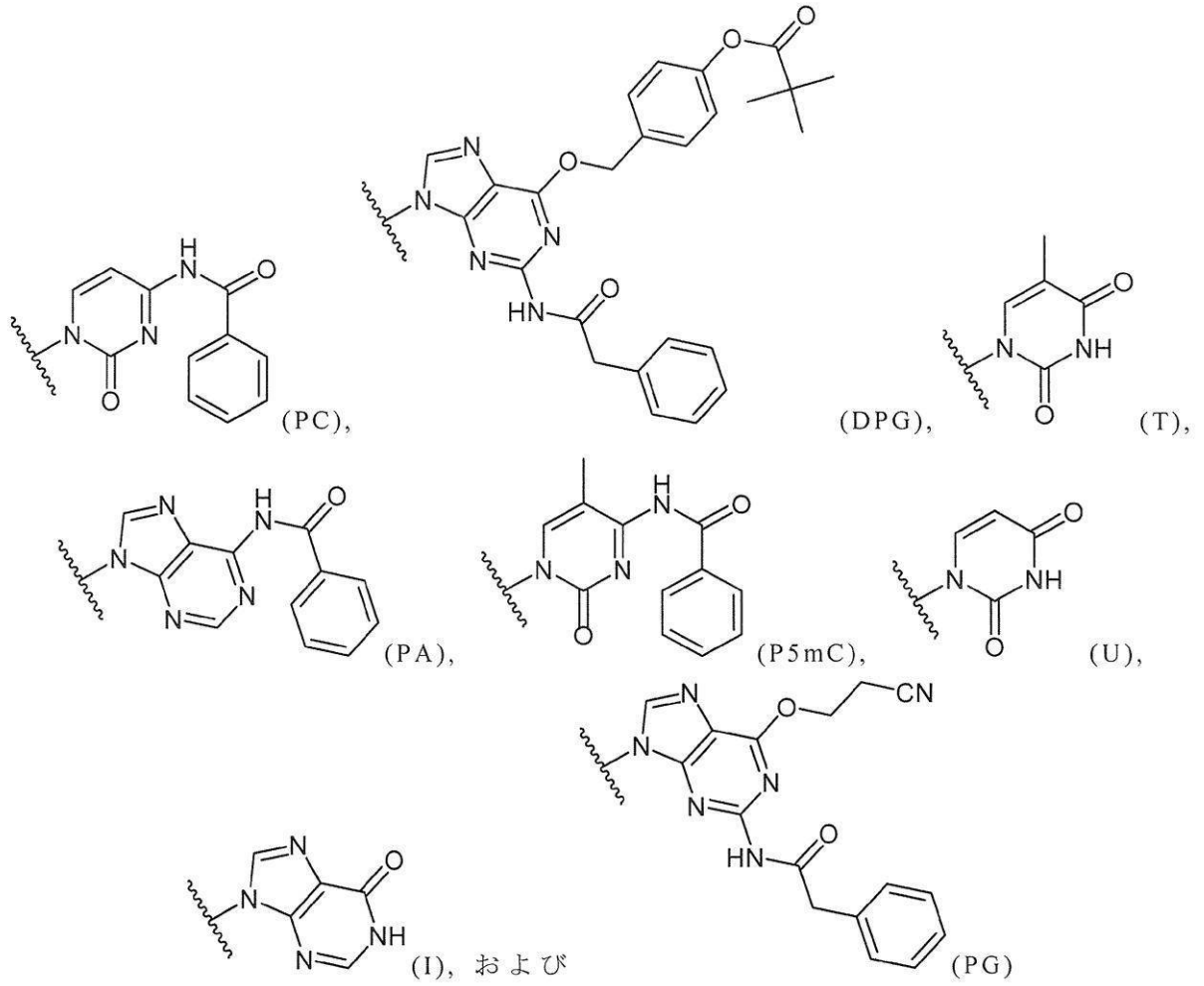
20

30

40

50

【化 5 2】



10

20

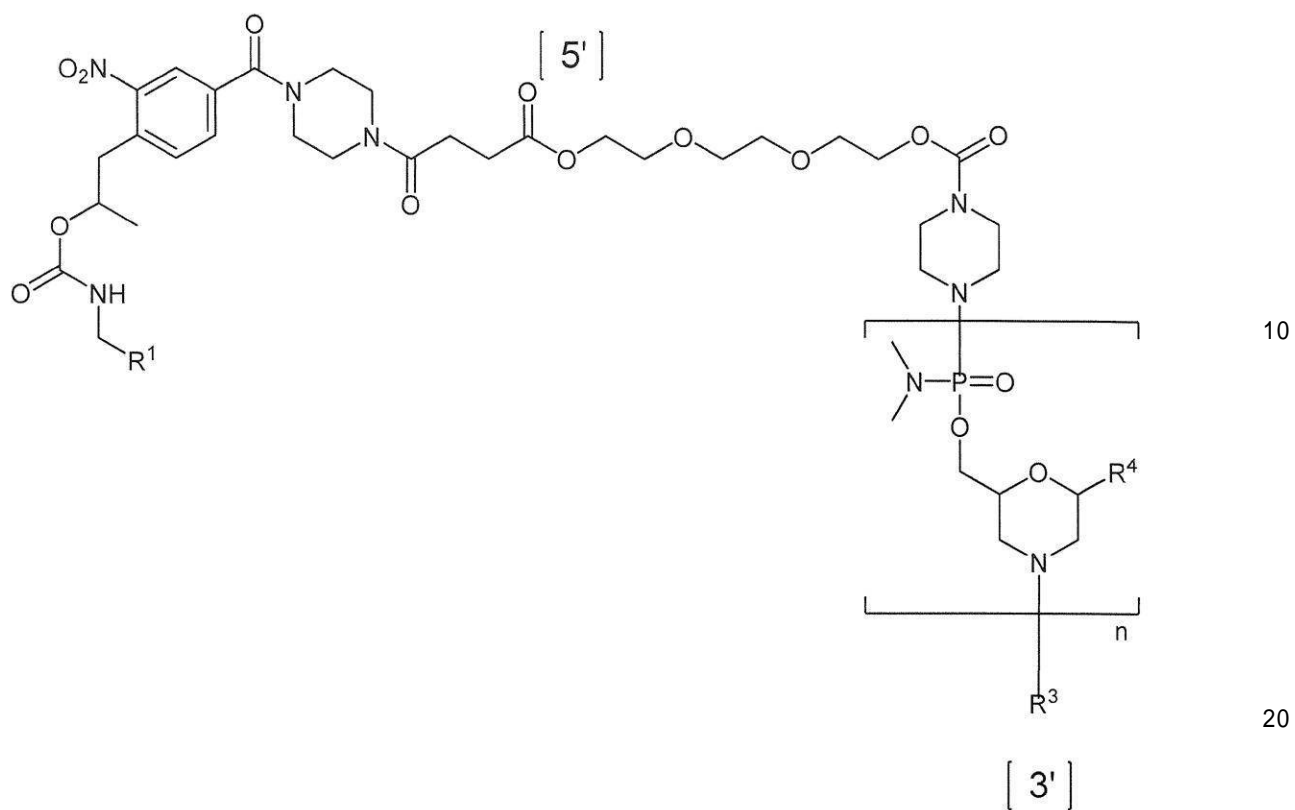
からなる群から選択される)の化合物と接触させて式(A9) :

30

40

50

【化 5 3】



(A9)

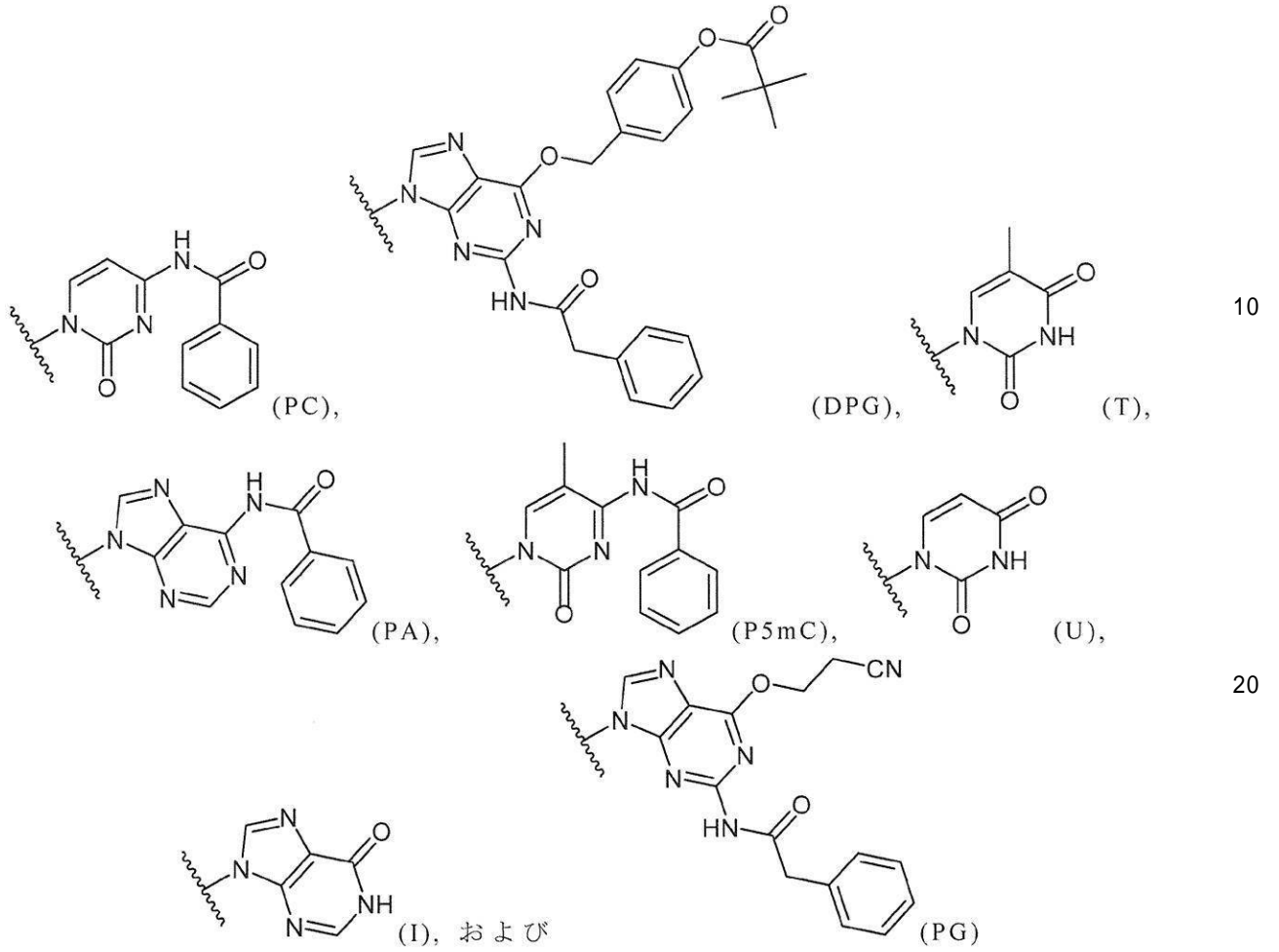
(式中、 n は10～40の整数であり、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 5 4】



からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ
 の連続したステップの $n - 1$ 回の反復を実施するステップ; ならびに
 (f) 式 (A 9) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (A 1 0) :

10

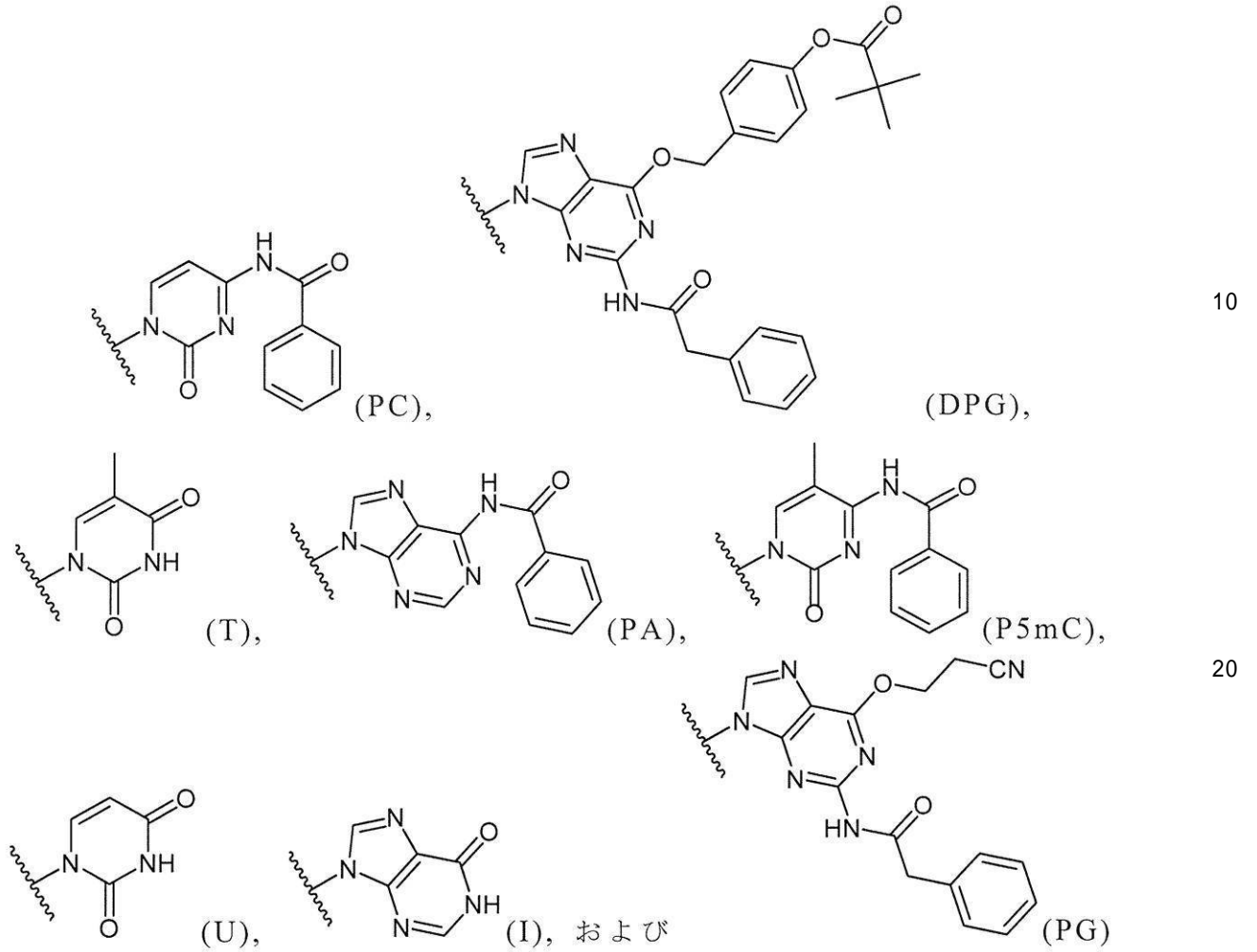
20

30

40

50

【化 5 6】



からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ;

(g) 式(A10)の化合物を切断剤と接触させて式(A11):

10

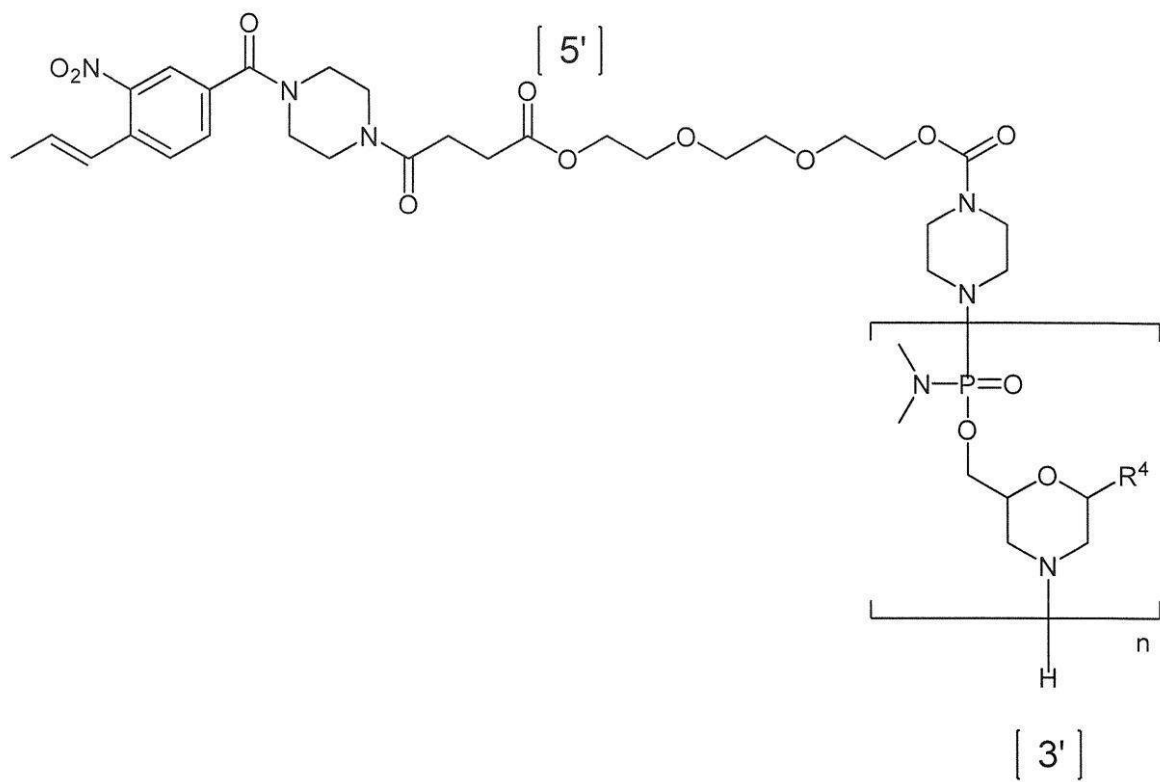
20

30

40

50

【化 5 7】



(A11)

(式中、 n は10～40の整数であり、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

10

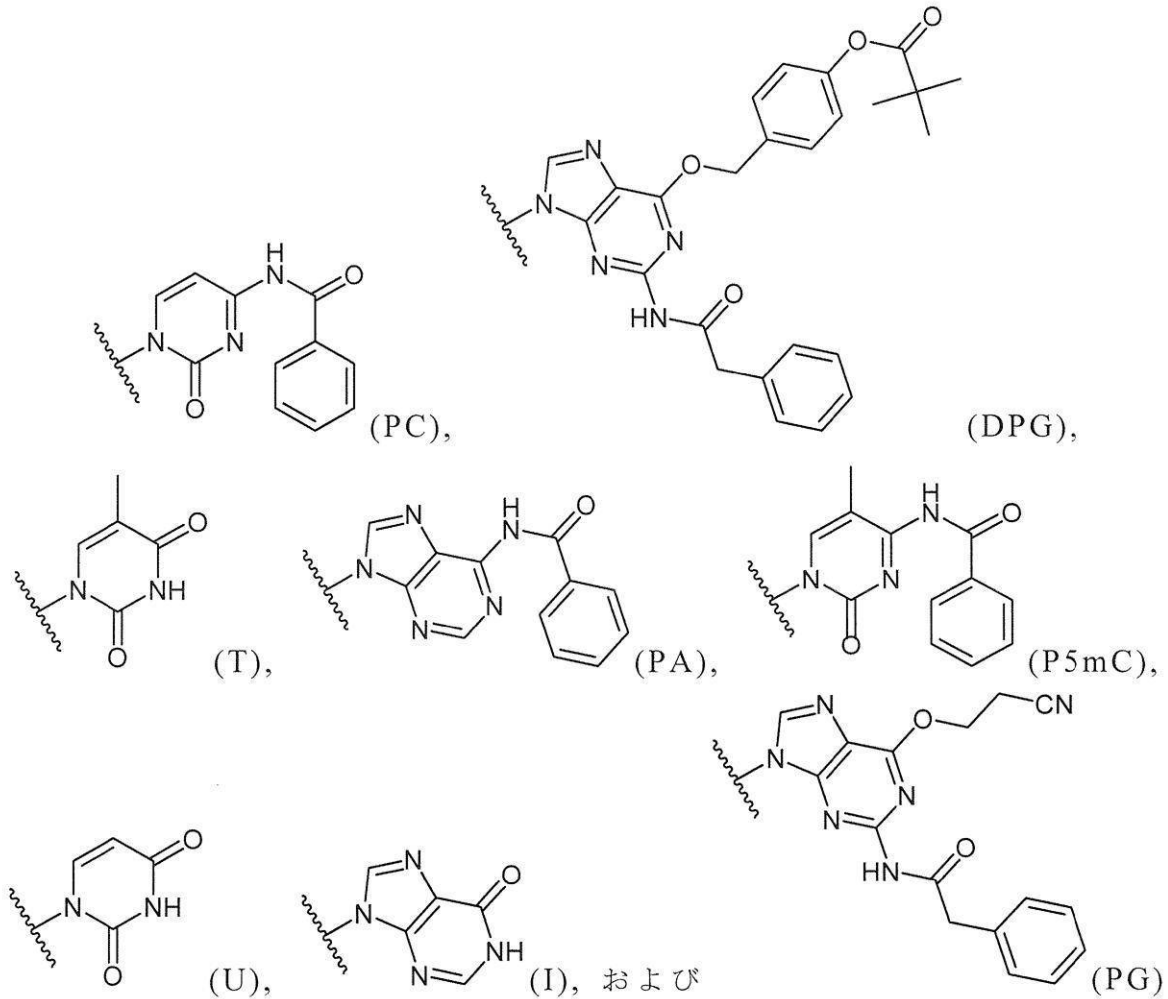
20

30

40

50

【化 5 8】



10

20

からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ;ならびに (h)式(A11)の化合物を脱保護剤と接触させて式(A)のオリゴマー化合物を形成するステップの連続したステップを含む。

30

【0044】

一実施形態では、ステップ(d)またはステップ(e2)は、それぞれ式(IV)の化合物または直前のステップによって形成された化合物を、キャッピング剤と接触させることをさらに含む。

【0045】

別の実施形態では、各ステップは少なくとも1つの溶媒の存在下で実施される。

【0046】

さらに別の実施形態では、各ステップで使用される脱ブロッキング剤は、ハロゲン化酸を含む溶液である。

40

【0047】

さらに別の実施形態では、各ステップで使用される脱ブロッキング剤は、シアノ酢酸である。

【0048】

別の実施形態では、ハロゲン化酸は、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、フルオロ酢酸、ジフルオロ酢酸、およびトリフルオロ酢酸からなる群から選択される。

【0049】

別の実施形態では、ハロゲン化酸は、トリフルオロ酢酸である。

【0050】

50

さらに別の実施形態では、ステップ (a)、(c)、(e 1) および (f) の少なくとも 1 つは、各ステップの脱ブロックされた化合物を中和剤と接触させるステップをさらに含む。

【 0 0 5 1 】

さらに別の実施形態では、ステップ (a)、(c)、(e 1) および (f) の各々は、各ステップの脱ブロックされた化合物を中和剤と接触させるステップをさらに含む。

【 0 0 5 2 】

別の実施形態では、中和剤はジクロロメタンおよびイソプロピルアルコールを含む溶液中に存在する。

【 0 0 5 3 】

さらに別の実施形態では、中和剤はモノアルキル、ジアルキル、またはトリアルキルアミンである。

【 0 0 5 4 】

さらに別の実施形態では、中和剤は N , N - ジイソプロピルエチルアミンである。

【 0 0 5 5 】

別の実施形態では、各ステップで使用される脱ブロッキング剤は、4 - シアノピリジン、ジクロロメタン、トリフルオロ酢酸、トリフルオロエタノール、および水を含む溶液である。

【 0 0 5 6 】

さらに別の実施形態では、キャッピング剤は、エチルモルホリンおよびメチルピロリジンを含む溶液中に存在する。

【 0 0 5 7 】

さらに別の実施形態では、キャッピング剤は酸無水物である。

【 0 0 5 8 】

別の実施形態では、酸無水物は無水安息香酸である。

【 0 0 5 9 】

別の実施形態では、式 (A 4) および式 (A 8) の化合物は、各々独立して、エチルモルホリンおよびジメチルイミダゾリジンを含む溶液中に存在する。

【 0 0 6 0 】

別の実施形態では、切断剤は、ジチオトレイトールおよび 1 , 8 - ジアザビシクロ [5 . 4 . 0] ウンデカ - 7 - エンを含む。

【 0 0 6 1 】

さらに別の実施形態では、切断剤は、N - メチル - 2 - ピロリドンを含む溶液中に存在する。

【 0 0 6 2 】

さらに別の実施形態では、脱保護剤は NH₃ を含む。

【 0 0 6 3 】

さらに別の実施形態では、脱保護剤は水溶液中に存在する。

【 0 0 6 4 】

さらに別の実施形態では、支持媒体は、1 % ジビニルベンゼン架橋ポリスチレンを含む。

【 0 0 6 5 】

別の実施形態では、式 (A 4) の化合物は式 (A 4 a) :

10

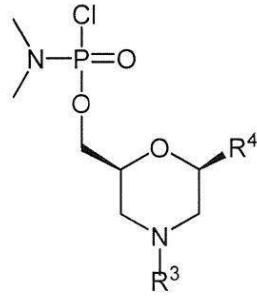
20

30

40

50

【化59】



(A4a)

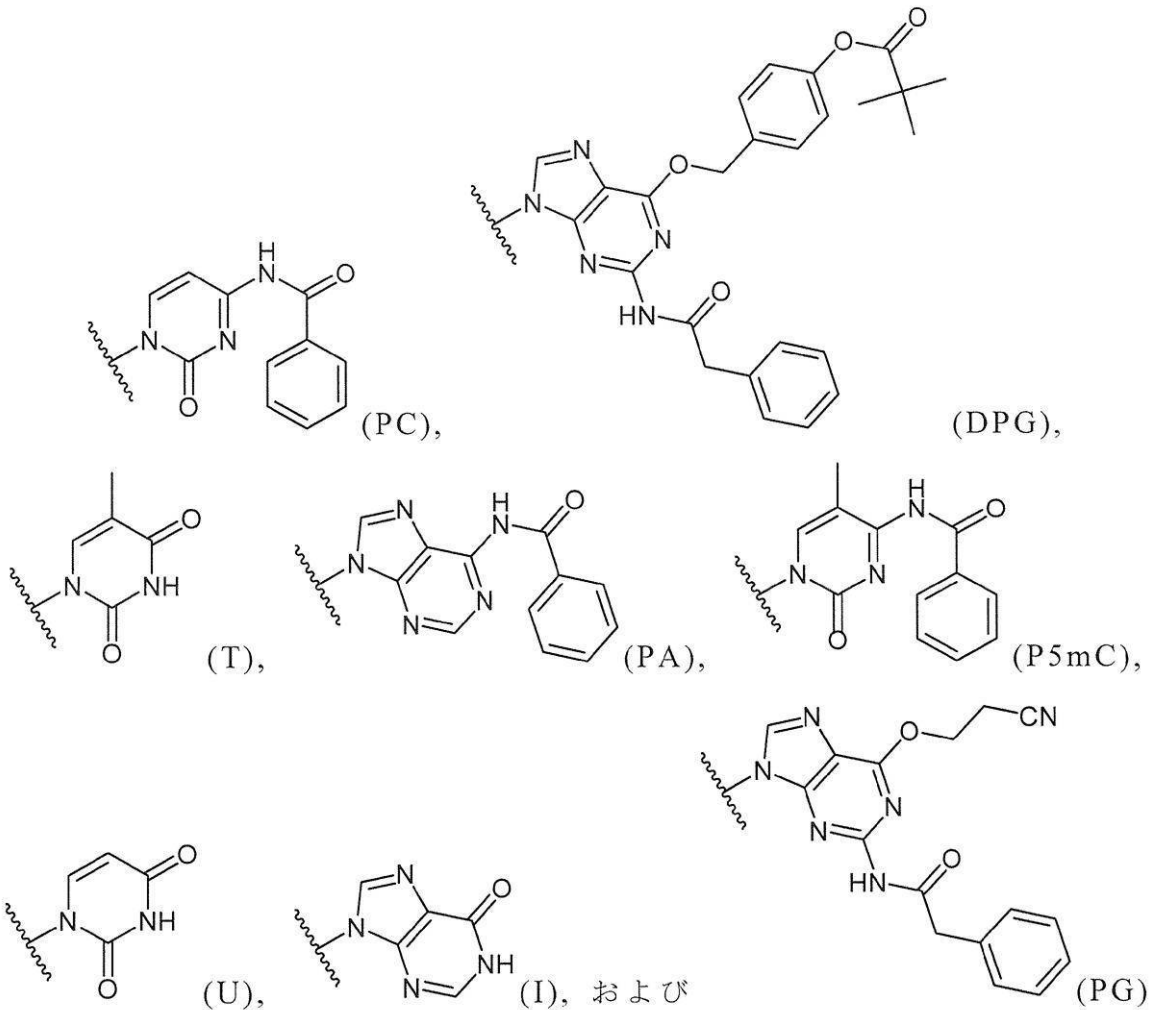
10

の化合物であり、式中、

R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴ は、以下：

【化60】



20

30

40

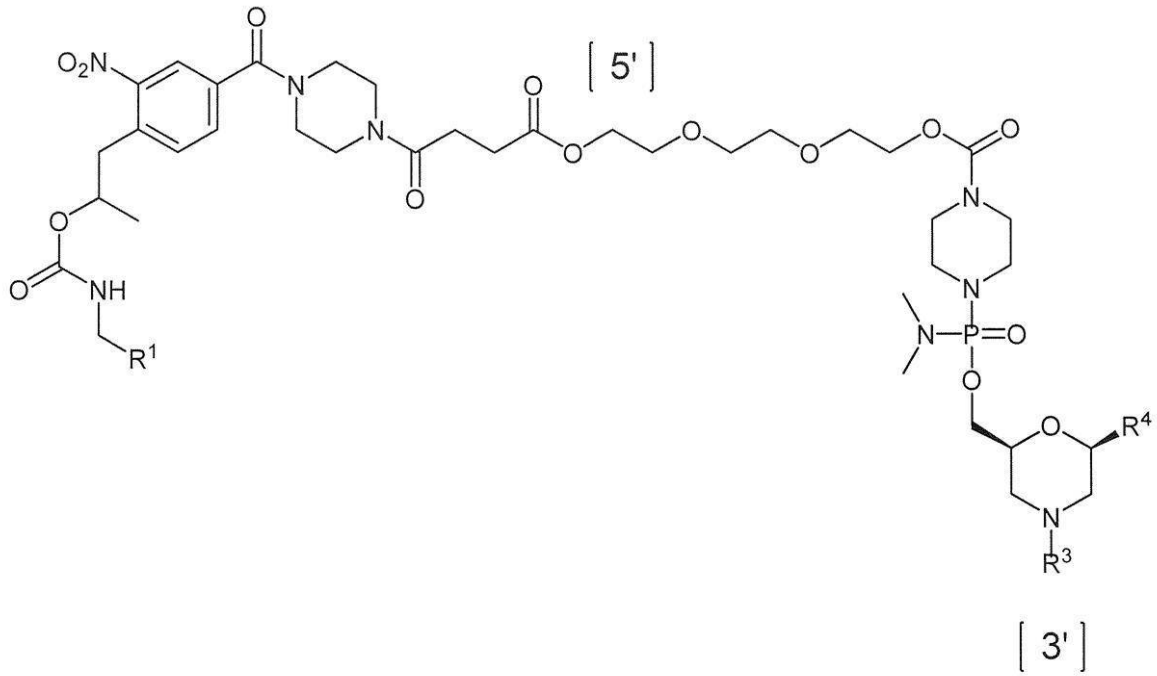
から選択される。

【0066】

別の実施形態では、式(A5)の化合物は式(A5a)：

50

【化 6 1】



(A5a)

の化合物であり、式中、

R¹ は支持媒体であり、

R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴ は、以下：

10

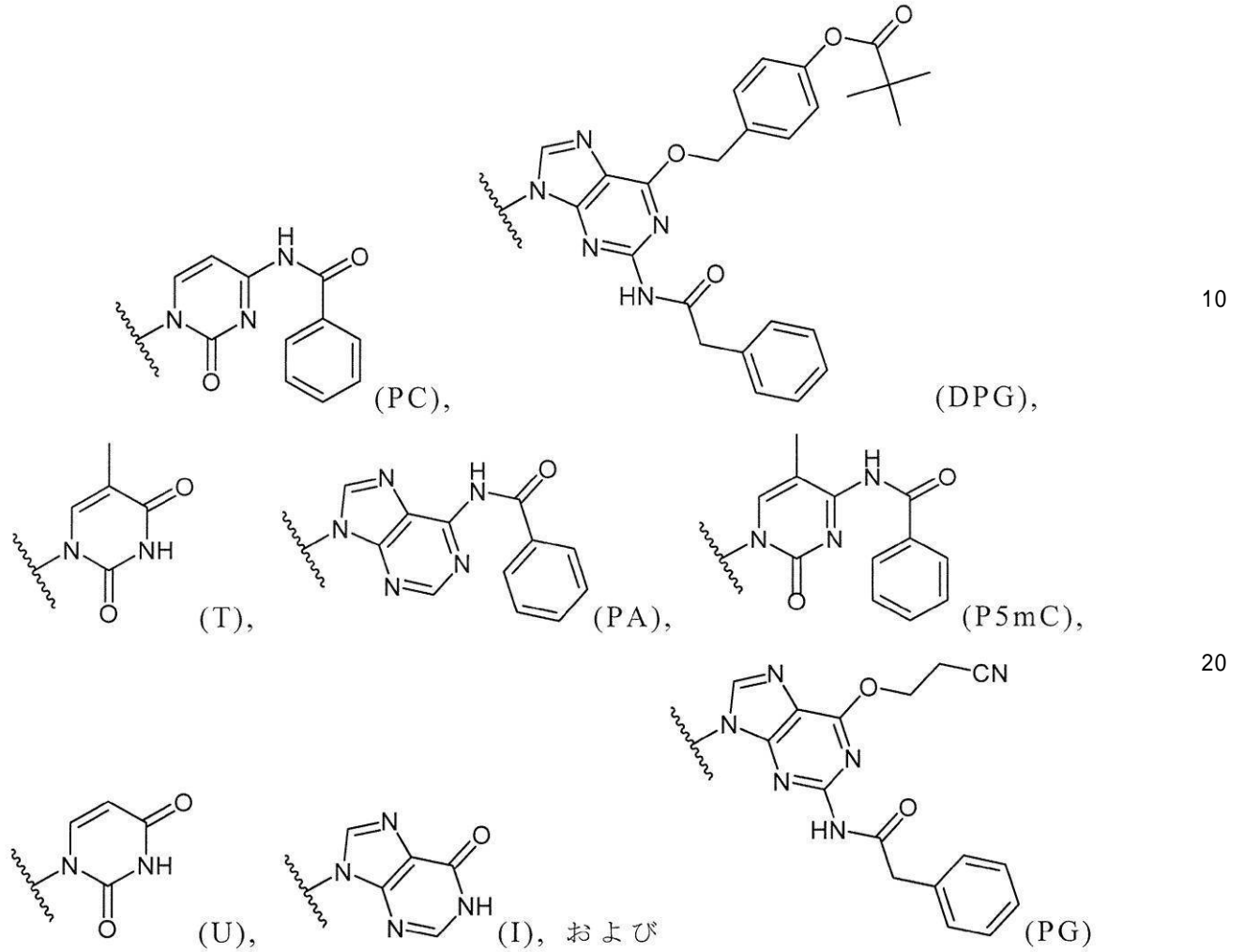
20

30

40

50

【化 6 2】

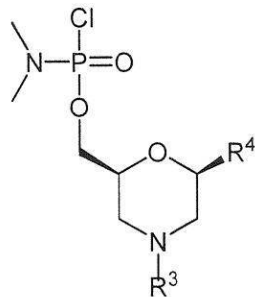


から選択される。

【 0 0 6 7】

さらに別の実施形態では、式 (A 8) の化合物は式 (A 8 a) :

【化 6 3】



(A8a)

の化合物であり、式中、

R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴ は、式 (A 8 a) の化合物の各出現で独立して、以下 :

10

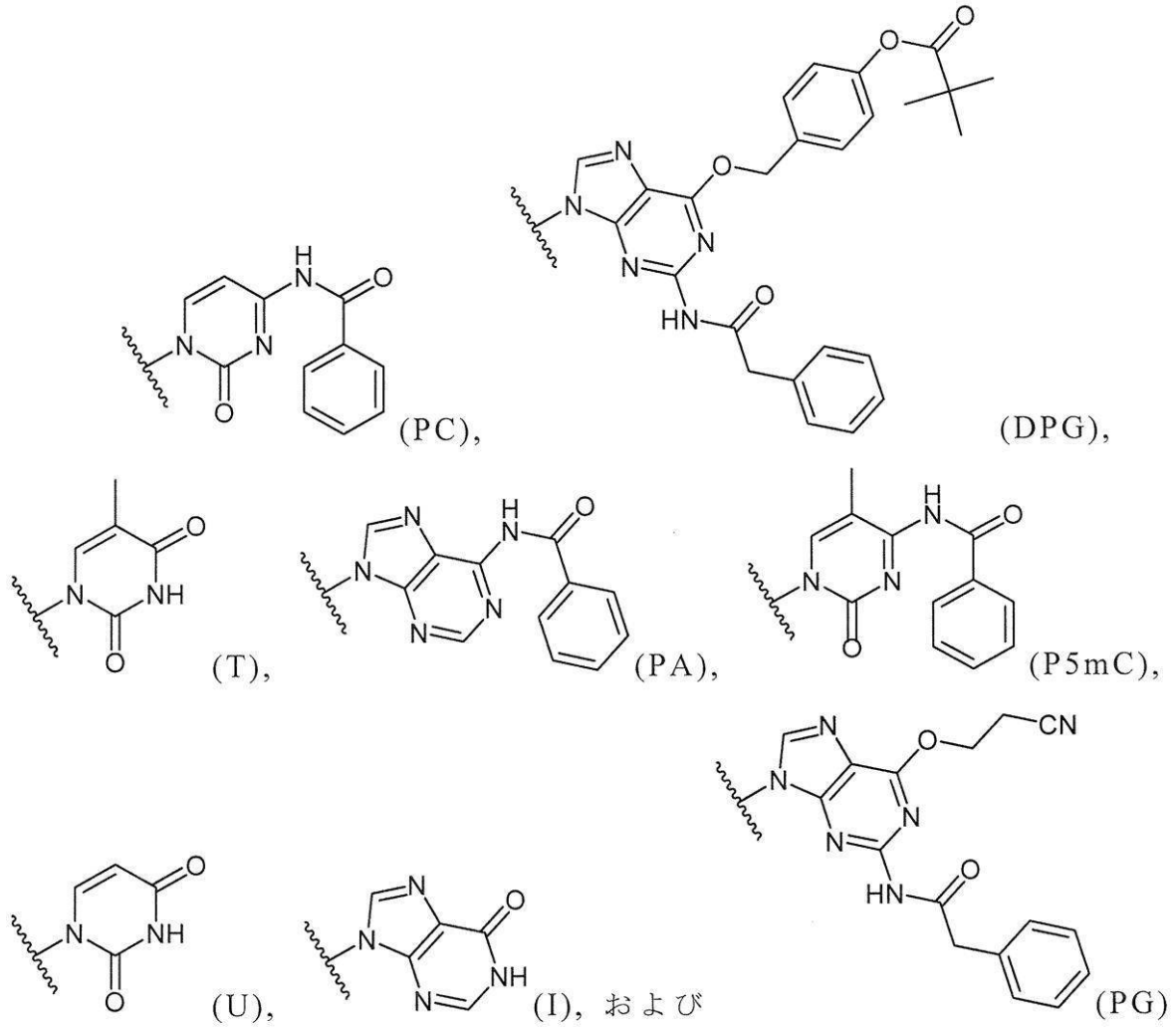
20

30

40

50

【化 6 4】



10

20

からなる群から選択される。

30

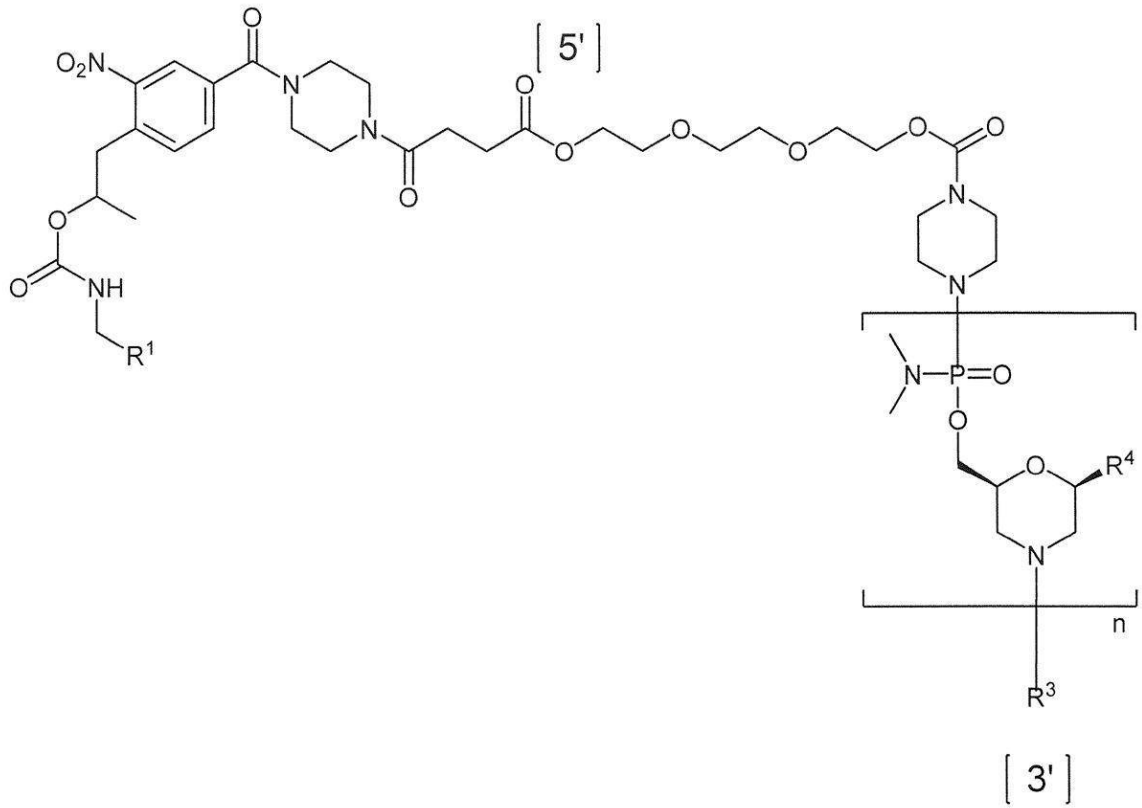
【 0 0 6 8】

さらに別の実施形態では、式 (A 9) の化合物は式 (A 9 a) :

40

50

【化 6 5】



(A9a)

の化合物であり、式中、

n は 10 ~ 40 の整数であり、

R¹ は支持媒体であり、

R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴ は、各出現について独立して、以下：

10

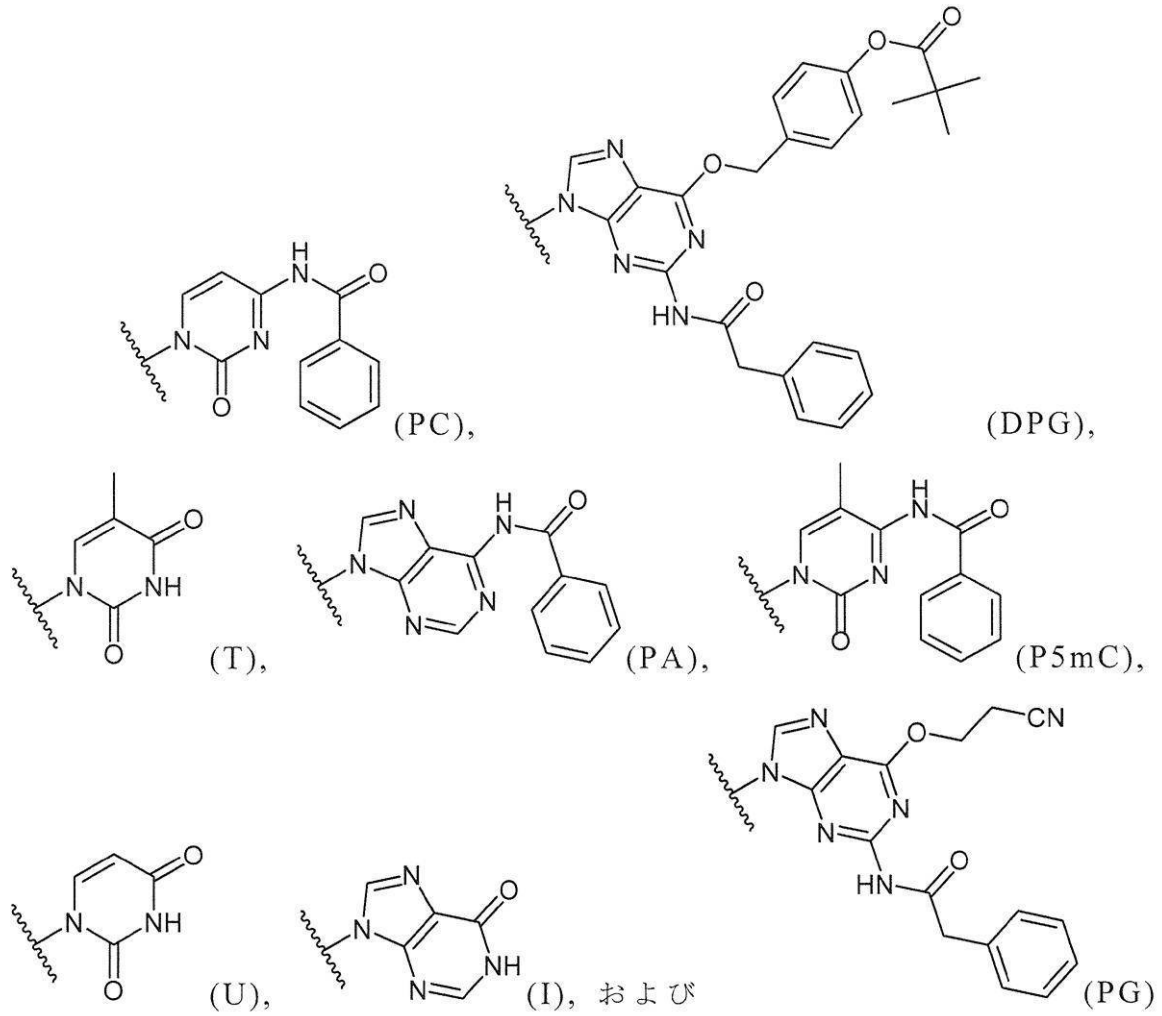
20

30

40

50

【化 6 6】



10

20

からなる群から選択される。

30

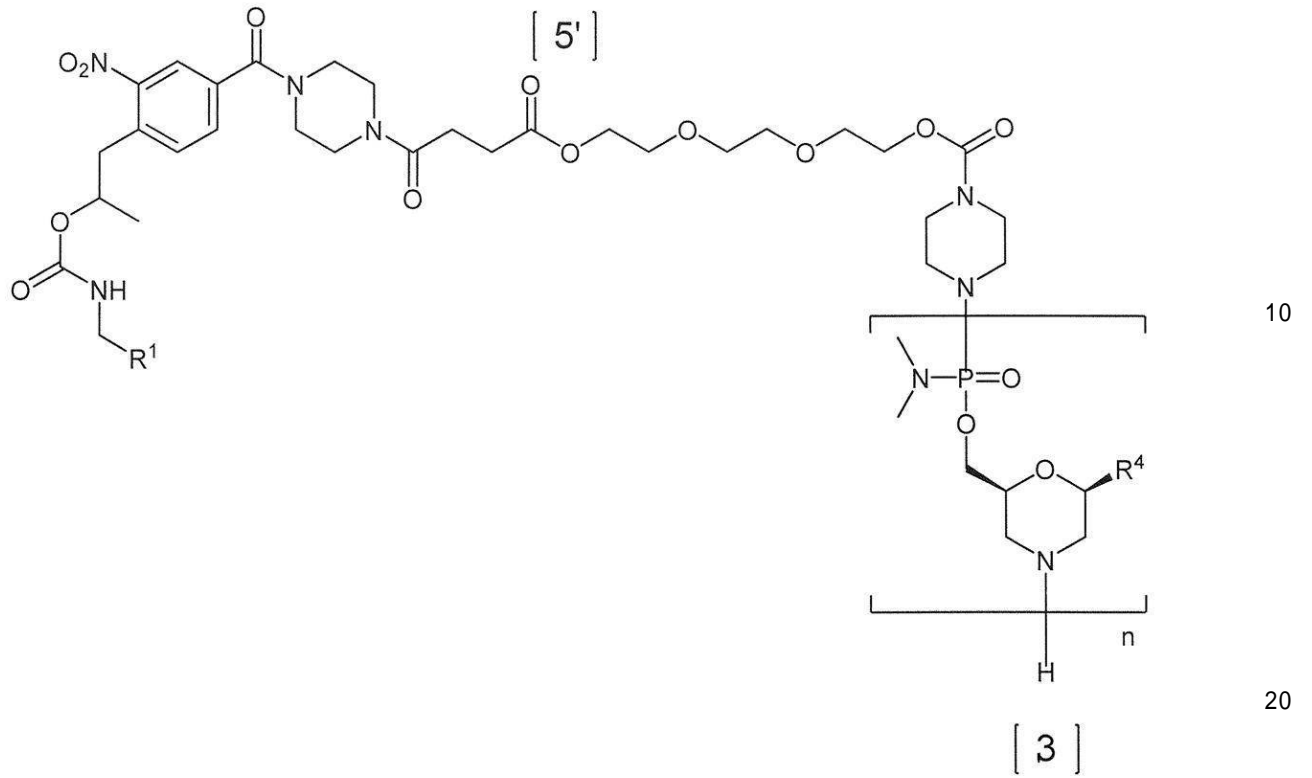
【 0 0 6 9】

別の実施形態では、式 (A 1 0) の化合物は式 (A 1 0 a) :

40

50

【化 6 7】



(A10a)

の化合物であり、式中、
 n は 10 ~ 40 の整数であり、
 R^1 は支持媒体であり、
 R^4 は、各出現について独立して、以下：

10

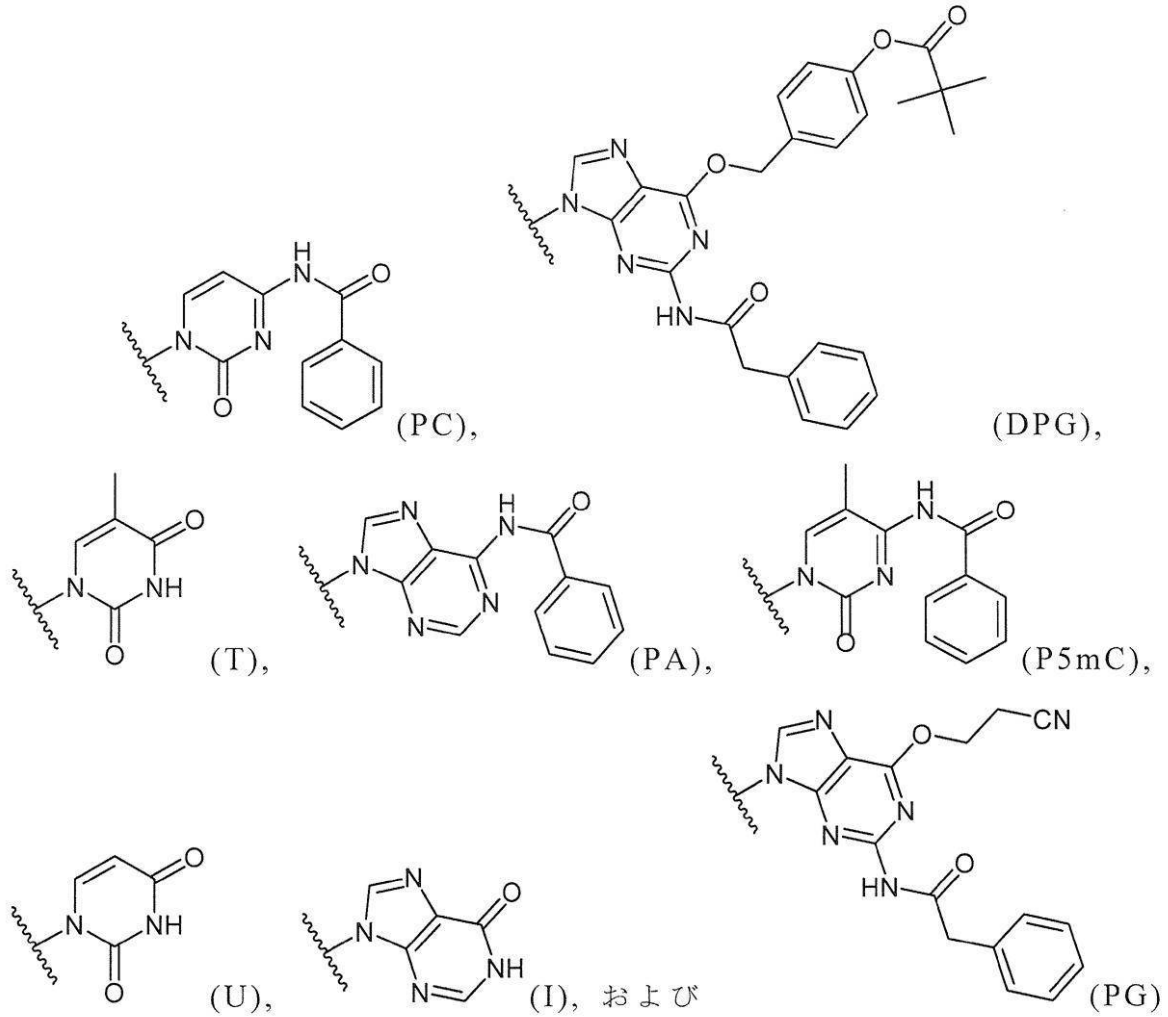
20

30

40

50

【化 6 8】



10

20

からなる群から選択される。

30

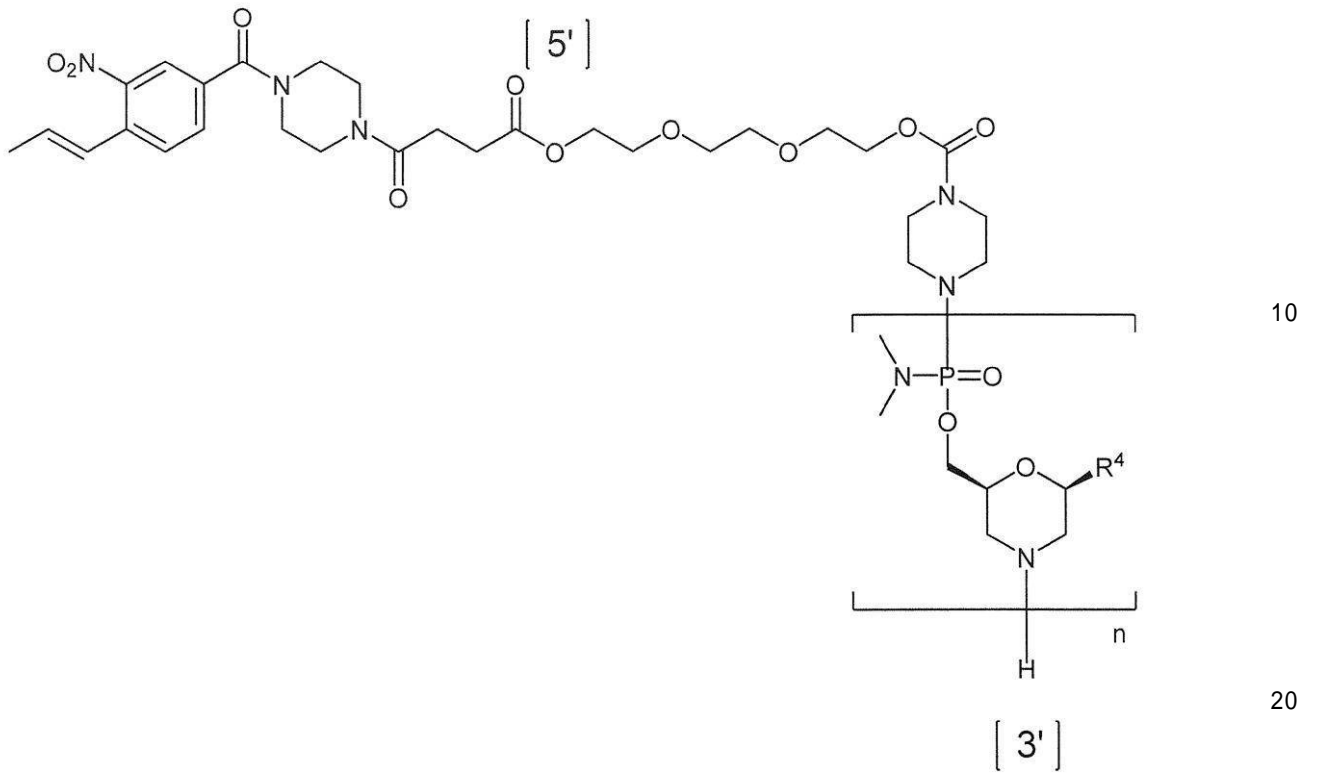
【0070】

別の実施形態では、式(A11)の化合物は式(A11a)：

40

50

【化 6 9】



(A11a)

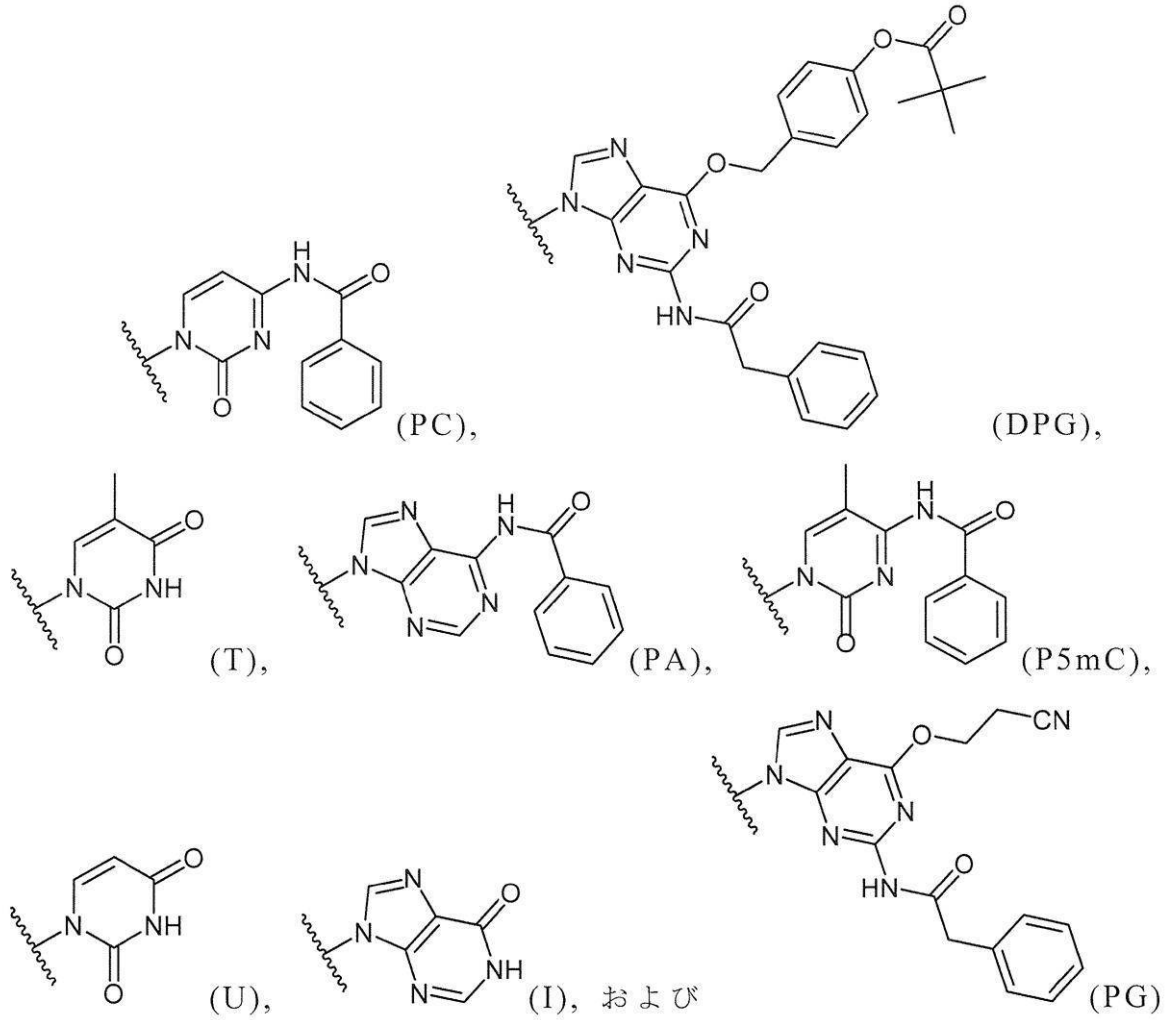
の化合物であり、式中、
 n は 10 ~ 40 の整数であり、
 R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 7 0】



10

20

からなる群から選択される。

30

【0071】

式(A)のオリゴマー化合物の実施形態では、 n は22であり、 R^2 は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

40

50

【表 6】

5'から 3'への位 置番号	R ²	5'から 3'への位 置番号	R ²	5'から 3'への位 置番号	R ²
1	C	11	C	21	T
2	A	12	T	22	G
3	A	13	G		
4	T	14	G		
5	G	15	A		
6	C	16	G		
7	C	17	T		
8	A	18	T		
9	T	19	C		
10	C	20	C		

であり、

式 (A) のオリゴマー化合物は式 (C) :

10

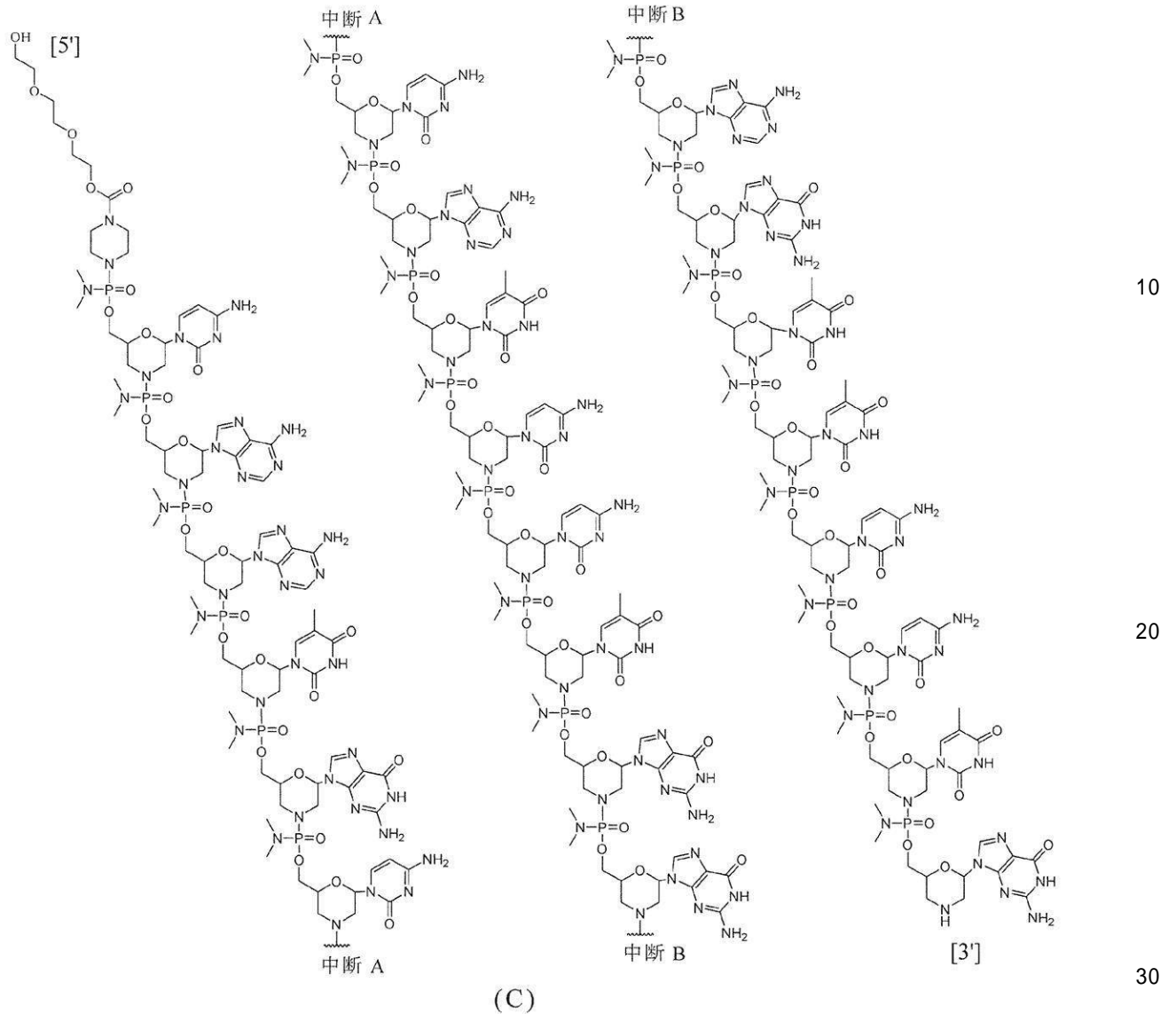
20

30

40

50

【化 7 1】



の化合物、またはその医薬的に許容される塩である。

【0072】

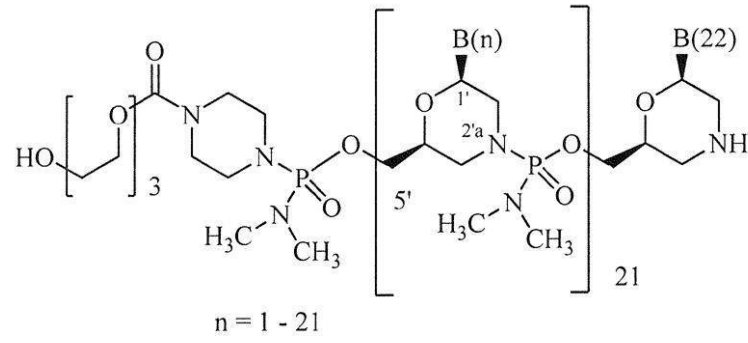
「Casimersen」は、以前はそのコード名「SPR-4045」で知られており、5'-CAATGCCATCCTGGAGTTCCTG-3' (配列番号1) の塩基配列を有するPMOである。Casimersenは、CAS登録番号1422958-19-7で登録されている。化学名としては、all-P-ambo-[P, 2', 3'-トリデオキシ-P-(ジメチルアミノ)-2', 3'-イミノ-2', 3'-セコ](2' a 5')

(C-A-A-T-G-C-C-A-T-C-C-T-G-G-A-G-T-T-C-C-T-G) 5'-[4-({ 2-[2-(2-ヒドロキシエトキシ)エトキシ]エトキシ } カルボニル)-N,N-ジメチルピペラジン-1-ホスホンアミダート]が挙げられる。

【0073】

Casimersenは以下の化学構造：

【化 7 2】



B(1-22):

C-A-A-T-G-C-C-A-T-C-C-T-G-G-A-G-T-T-C-C-T-G

を有し、以下の化学構造：

10

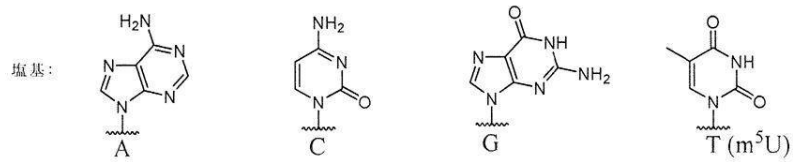
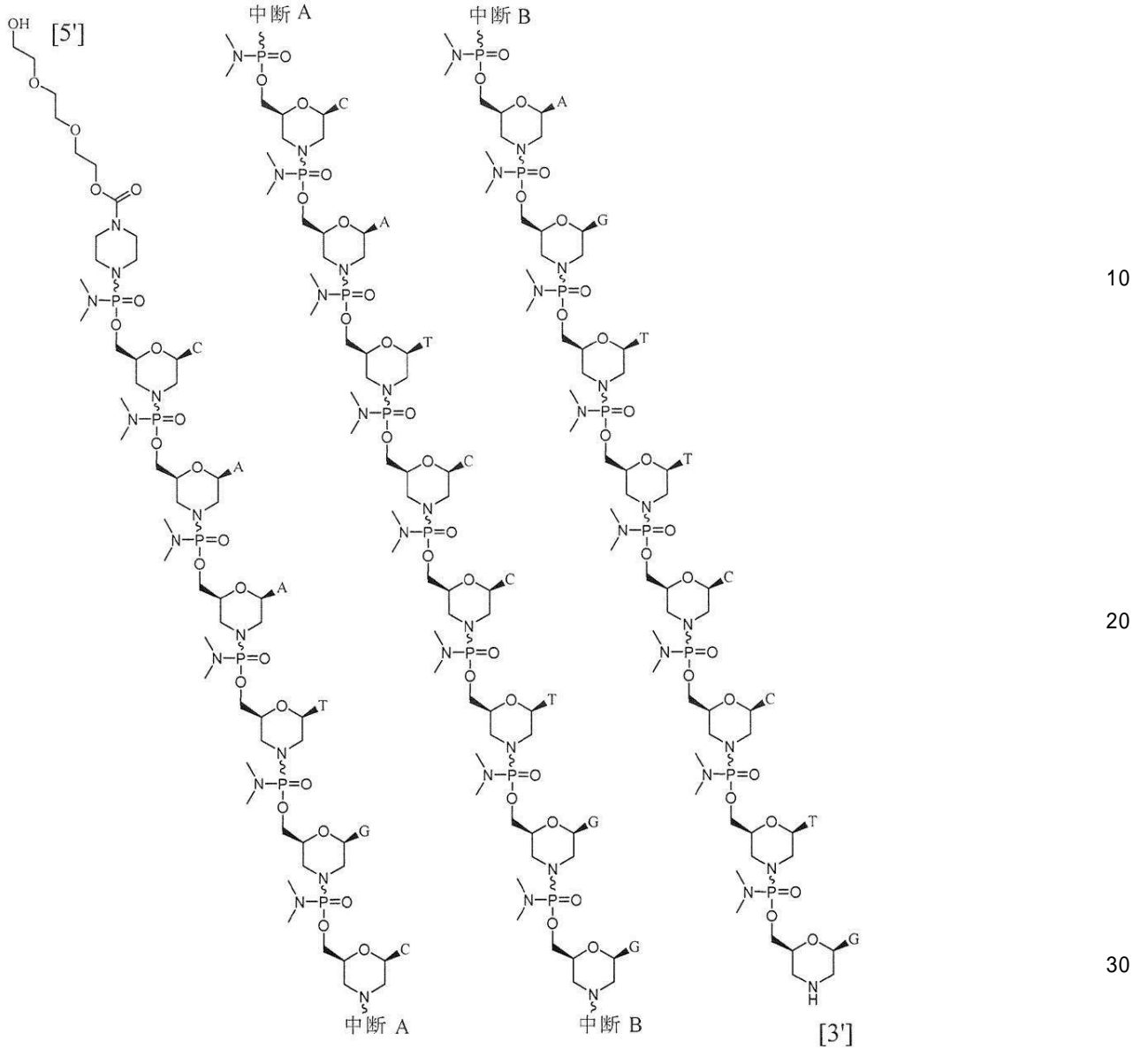
20

30

40

50

【化 7 3】



5' 末端から 3' 末端への塩基配列：
CAATGCCATCCTGGAGTTCCTG

によっても表される。

【 0 0 7 4】

Casimersen は式 (XII) :

10

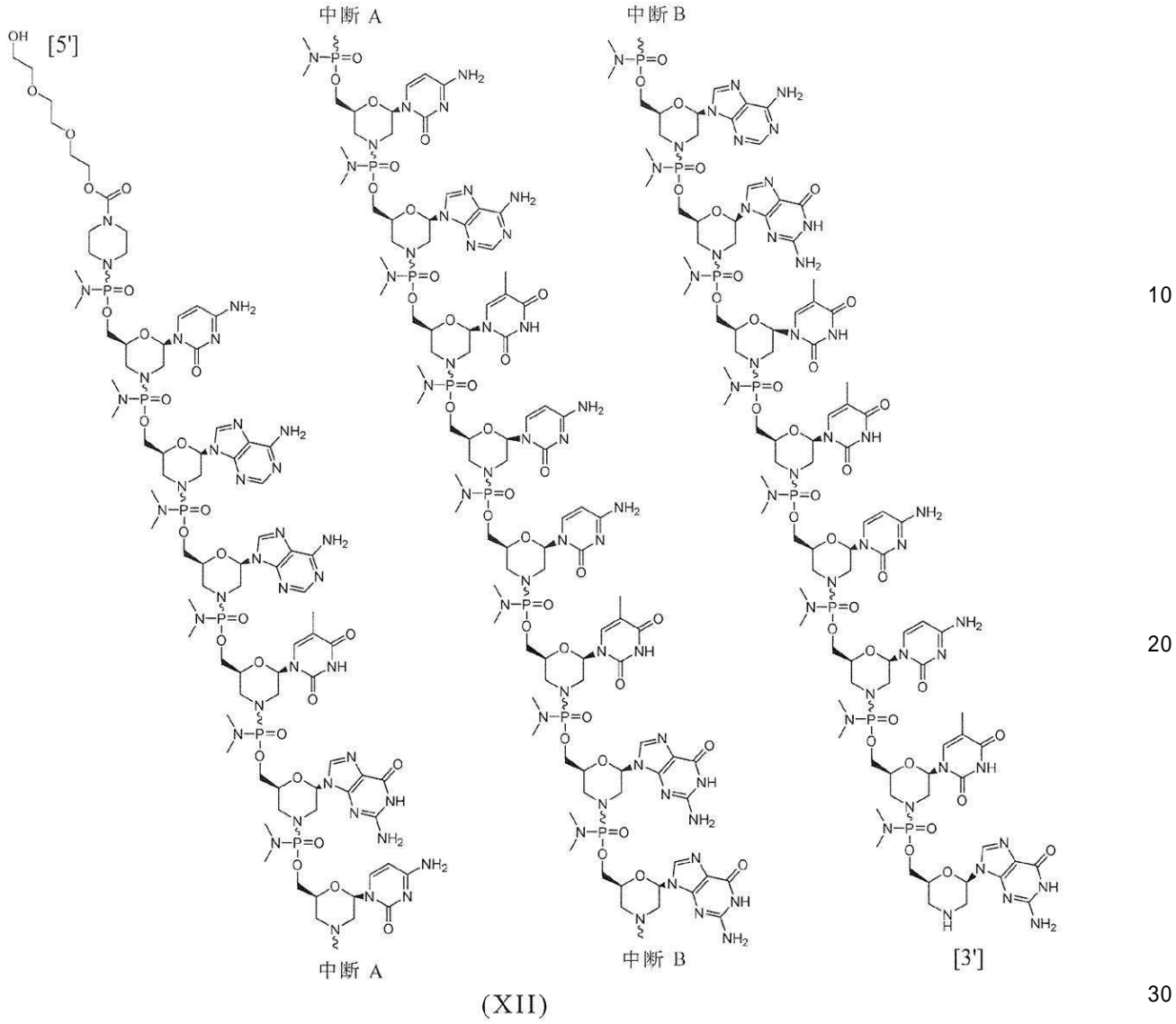
20

30

40

50

【化 7 4】



の構造によっても表され得る。

【 0 0 7 5】

したがって、上記のプロセスの一実施形態では、式 (A) のオリゴマー化合物は式 (C) :

10

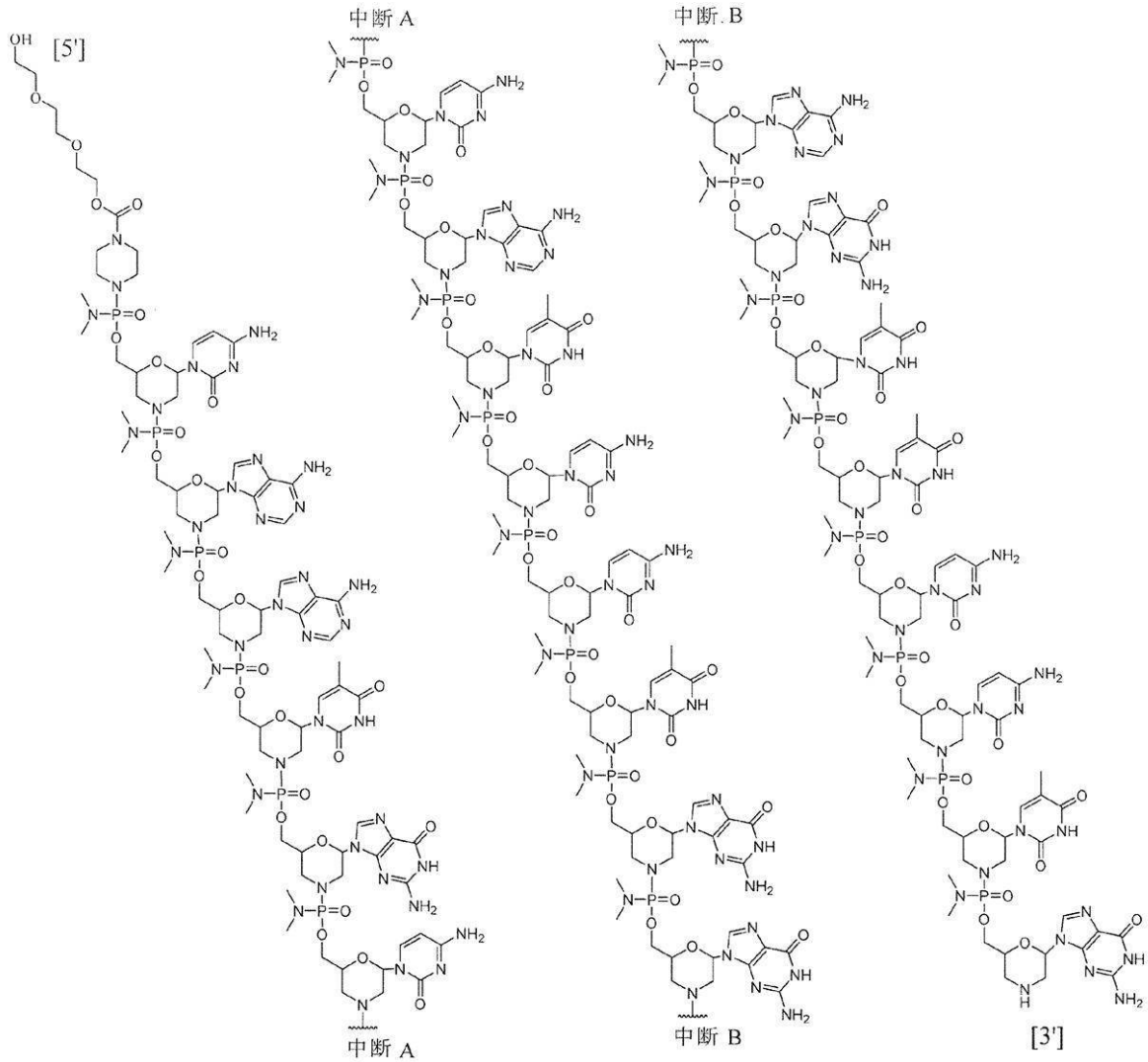
20

30

40

50

【化 7 5】



10

20

30

の化合物、またはその医薬的に許容される塩である。

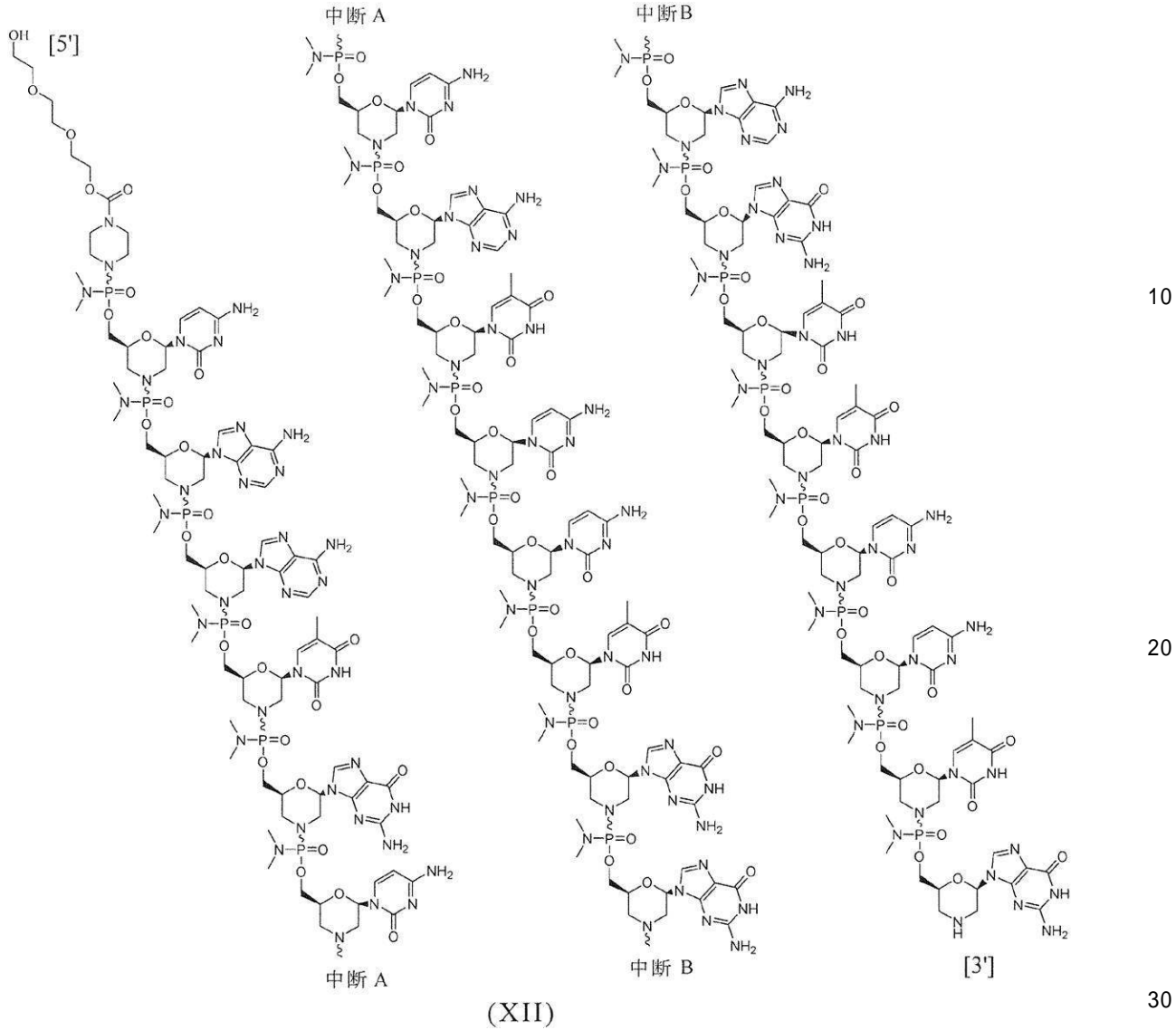
【 0 0 7 6】

さらに別の実施形態では、式 (C) のオリゴマー化合物は式 (X I I) :

40

50

【化 7 6】



のオリゴマー化合物、またはその医薬的に許容される塩である。

【0077】

Casimersenを調製するためのプロセス

Casimersenを調製するためのプロセスが本明細書に提供される。

【0078】

別の態様では、式(C)：

10

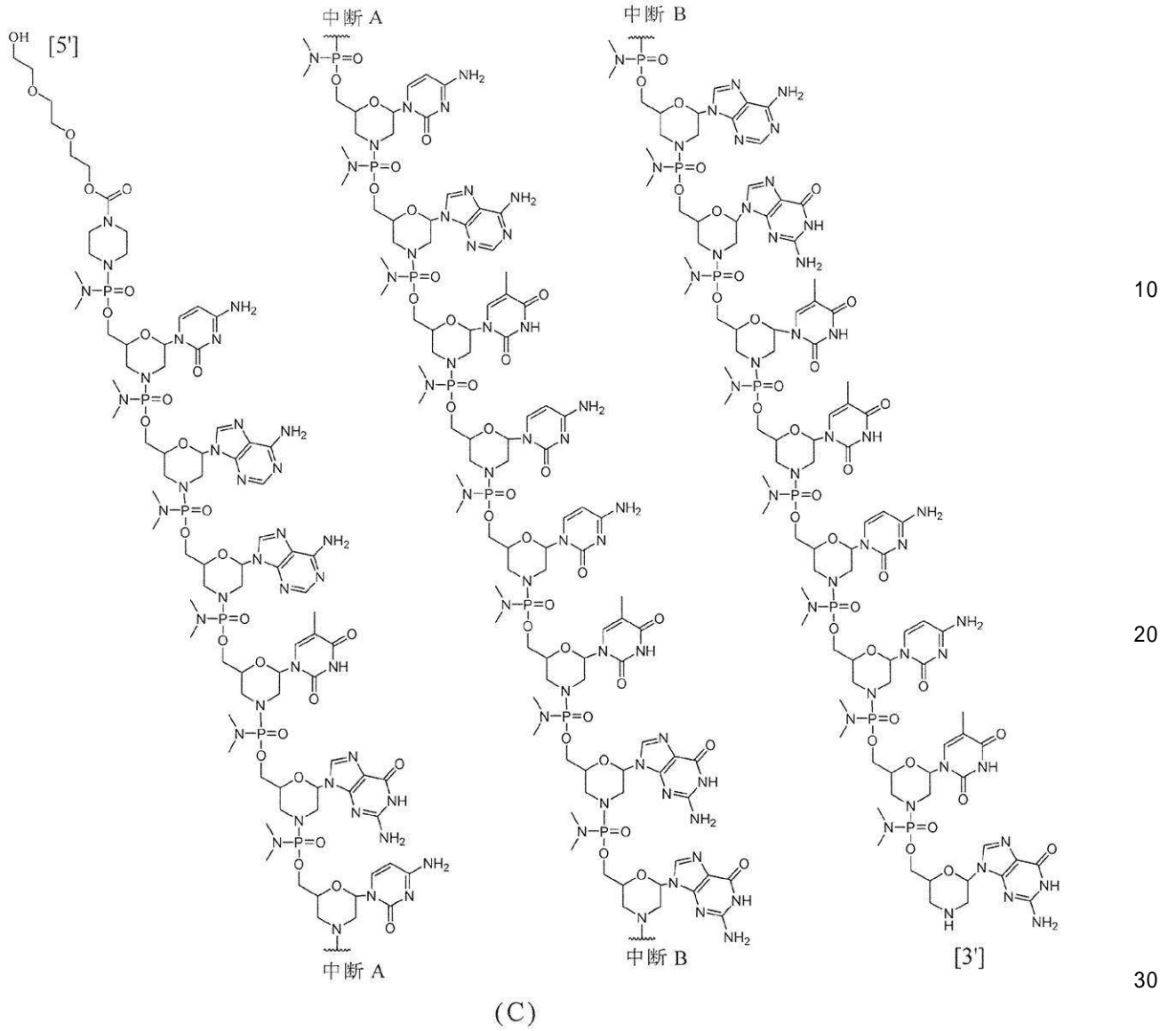
20

30

40

50

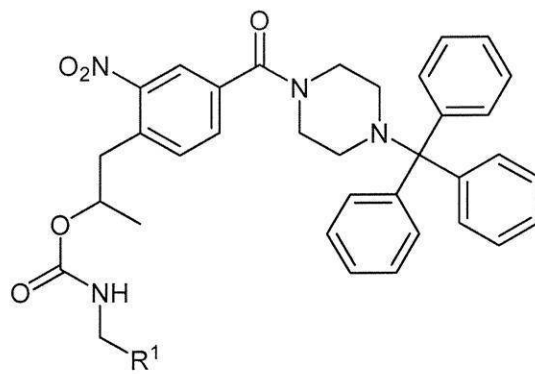
【化 7 7】



のオリゴマー化合物を調製するためのプロセスが本明細書に提供され、
プロセスは、

(a) 式 (I) :

【化 7 8】



(I)

(式中、 R ¹ は支持媒体である) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (I I) :

10

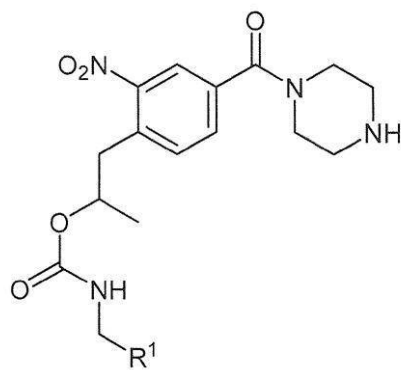
20

30

40

50

【化 7 9】

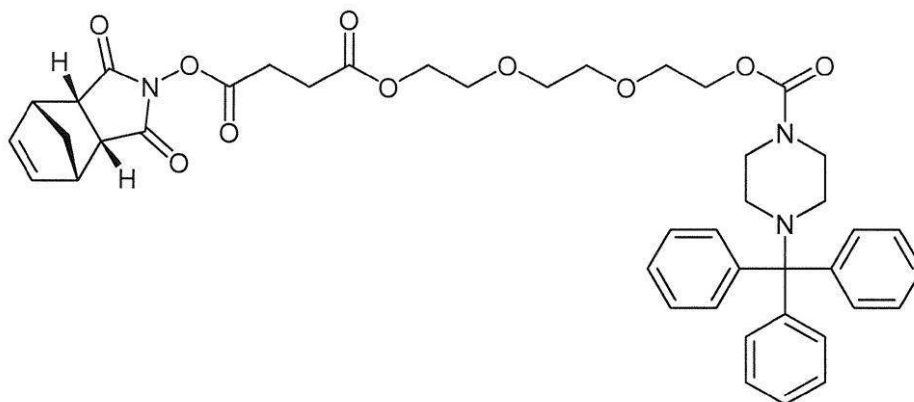


(II)

(式中、R¹は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(b)式(II)の化合物を化合物(B)；

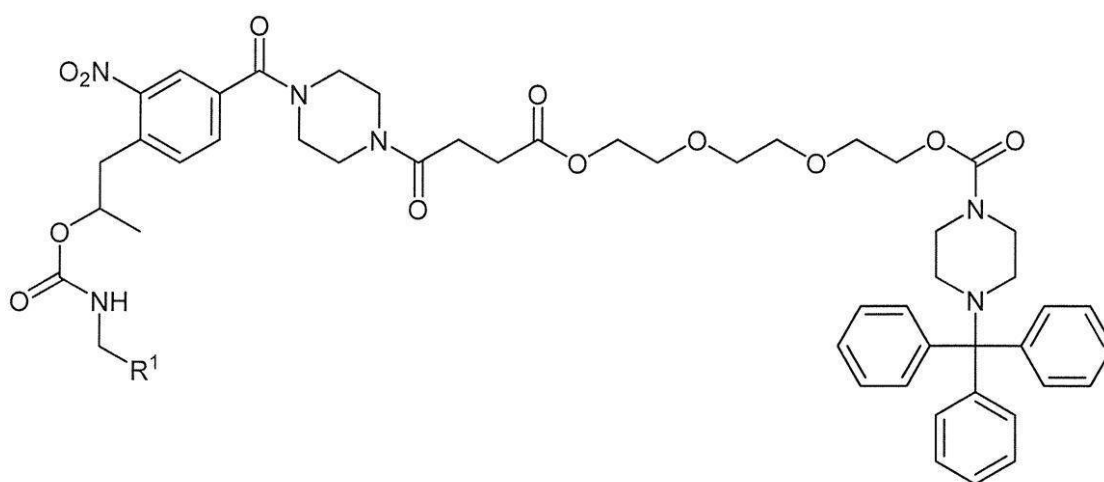
【化 8 0】



(B)

と接触させて式(III)；

【化 8 1】



(III)

(式中、R¹は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(c)式(III)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(IV)；

10

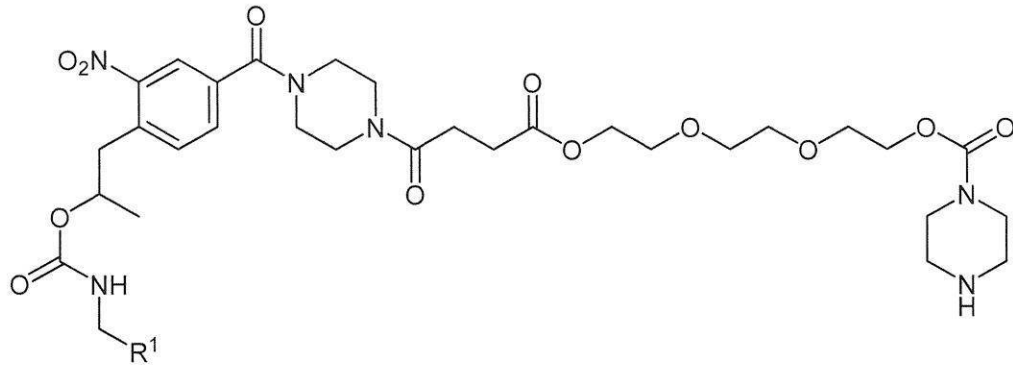
20

30

40

50

【化 8 2】



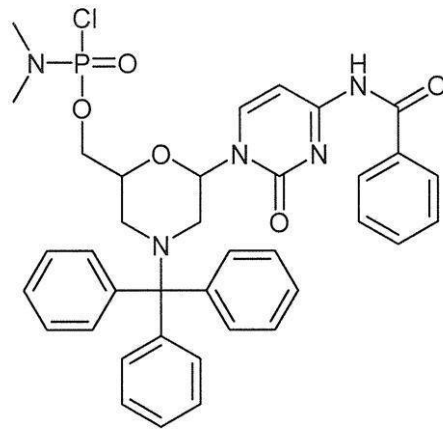
10

(IV)

(式中、R¹は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(d)式(I V)の化合物を式(D)：

【化 8 3】



20

(D)

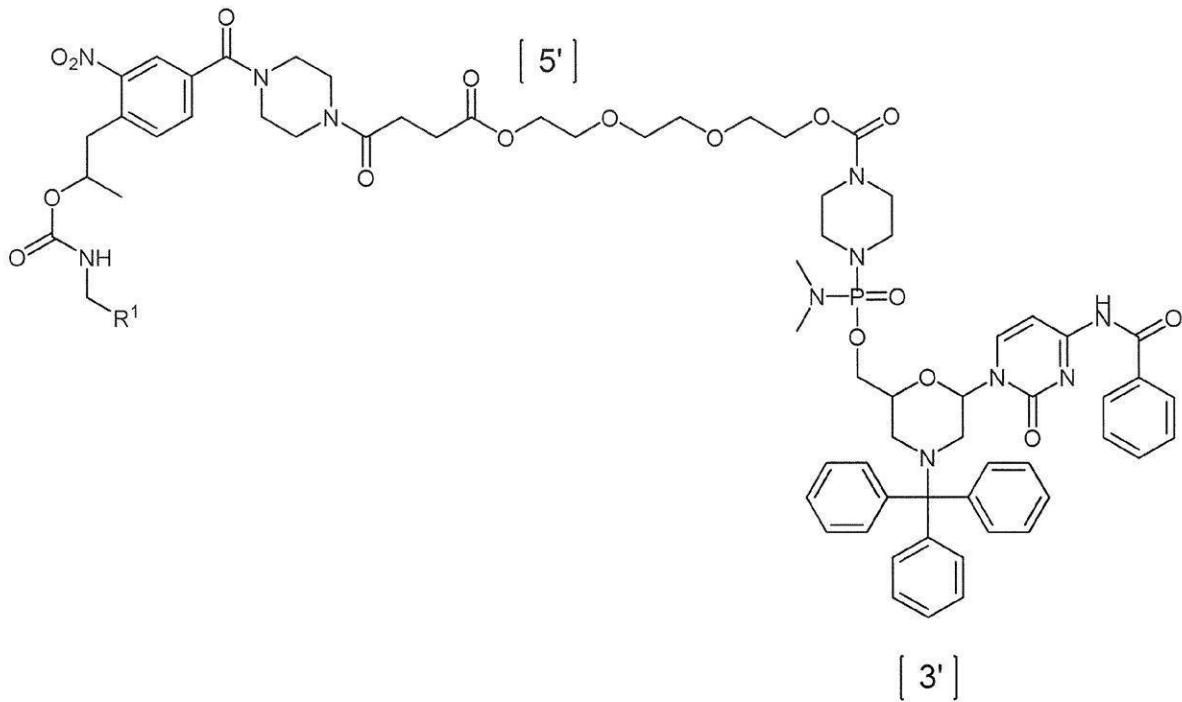
30

の化合物と接触させて式(V)：

40

50

【化 8 4】

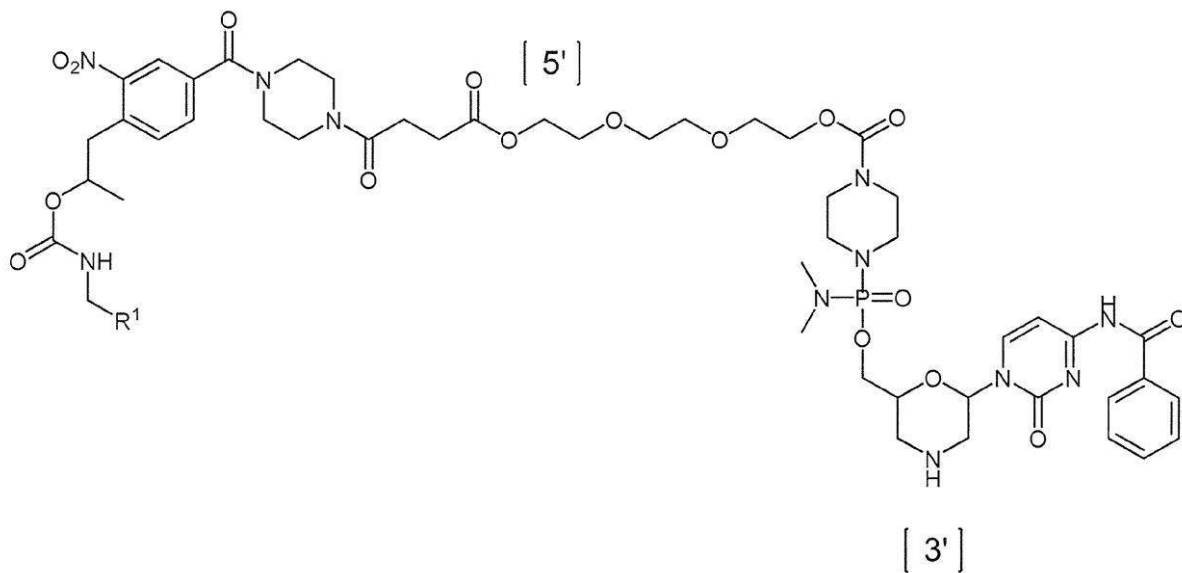


(V)

(式中、R¹ は支持媒体である) の化合物を形成するステップ ;

(e) 式 (V) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (V I) :

【化 8 5】



(VI)

(式中、R¹ は支持媒体である) の化合物を形成するステップ ;

(f) 式 (V I) の化合物を式 (F) :

10

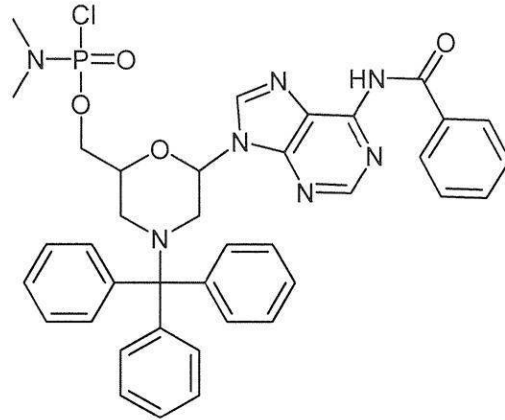
20

30

40

50

【化 8 6】

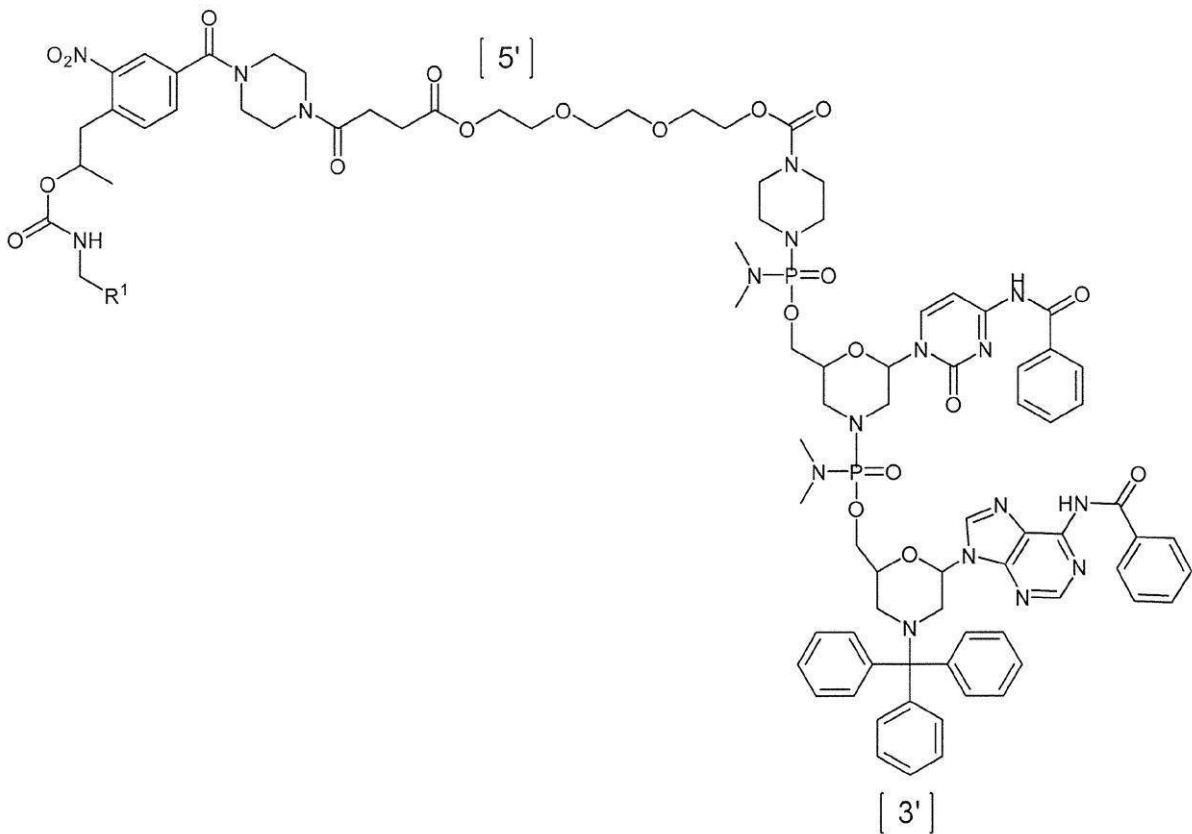


(F)

10

の化合物と接触させて式 (VII) :

【化 8 7】



(VII)

20

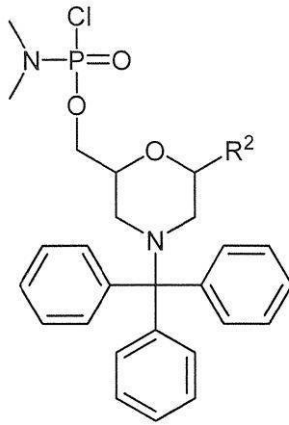
30

40

- (式中、 R^1 は支持媒体である) の化合物を形成するステップ ;
 (g) 以下の連続したステップの 20 回の反復を実施するステップであって、
 (g1) 直前のステップによって形成された生成物を脱ブロッキング剤と接触させるステップ、および
 (g2) 直前のステップによって形成された化合物を式 (VIII) :

50

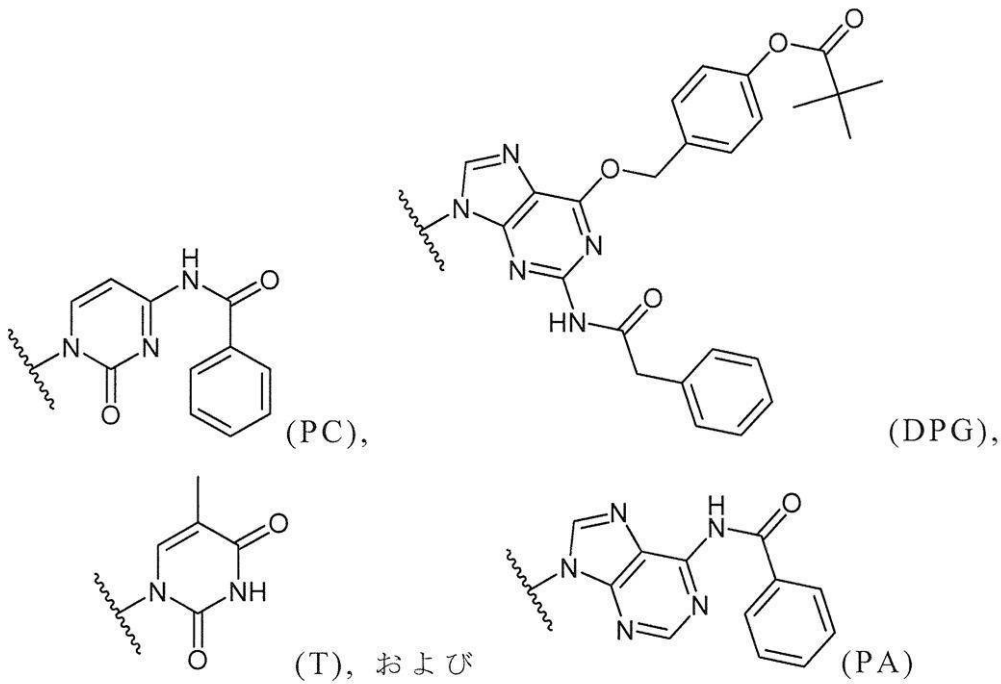
【化 8 8】



(VIII)

(式中、 R^2 は、式 (VIII) の各化合物について独立して、以下：

【化 8 9】



からなる群から選択され、各反復 1 ~ 20 について、 R^2 は、以下：

10

20

30

40

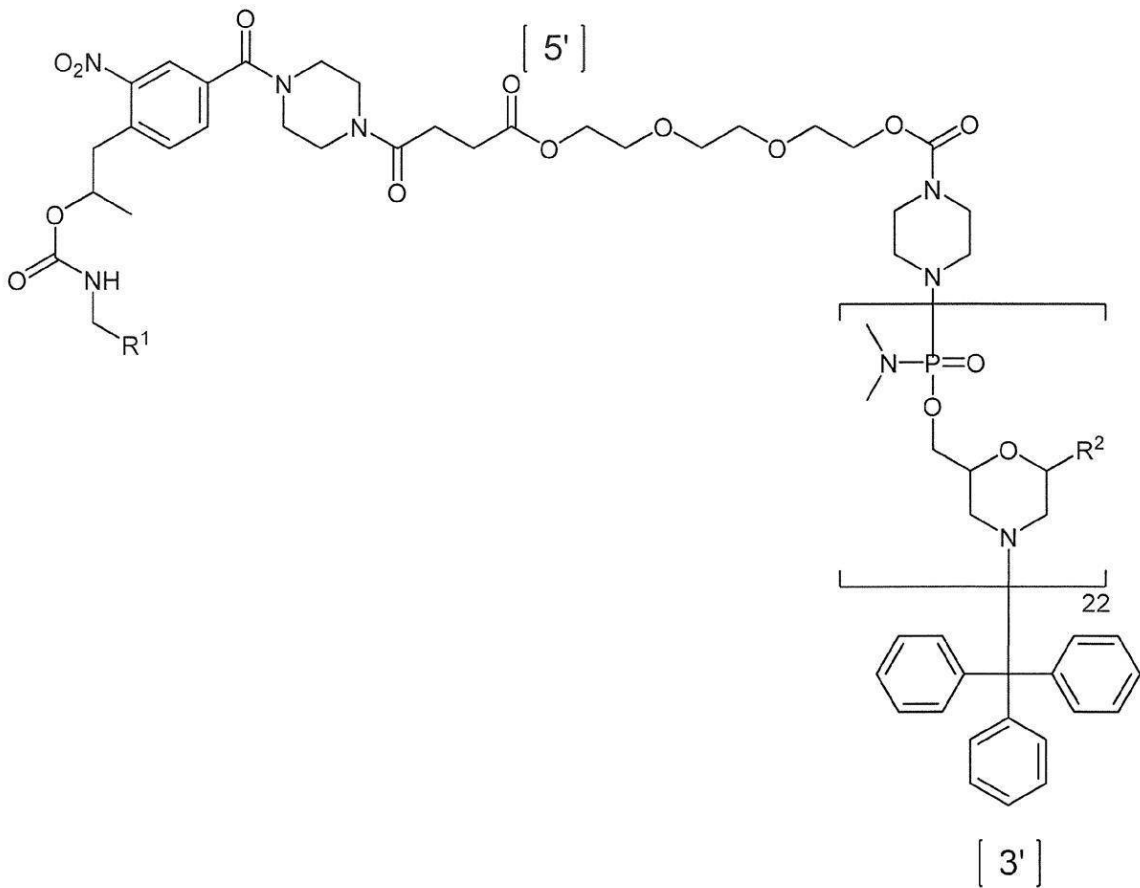
50

【表 7】

反復番号	R ²	反復番号	R ²
1	PA	11	DPG
2	T	12	DPG
3	DPG	13	PA
4	PC	14	DPG
5	PC	15	T
6	PA	16	T
7	T	17	PC
8	PC	18	PC
9	PC	19	T
10	T	20	DPG

である)の化合物と接触させて式(IX) :

【化90】



(IX)

(式中、

R¹ は支持媒体であり、

R² は、各出現について独立して、以下 :

10

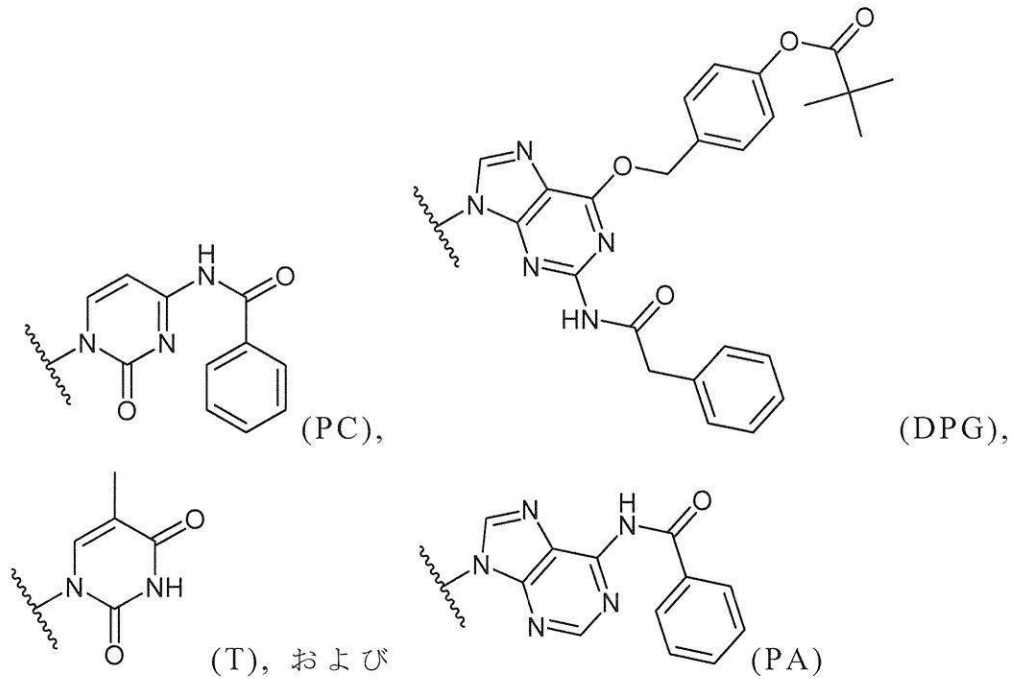
20

30

40

50

【化 9 1】



10

20

からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 8】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

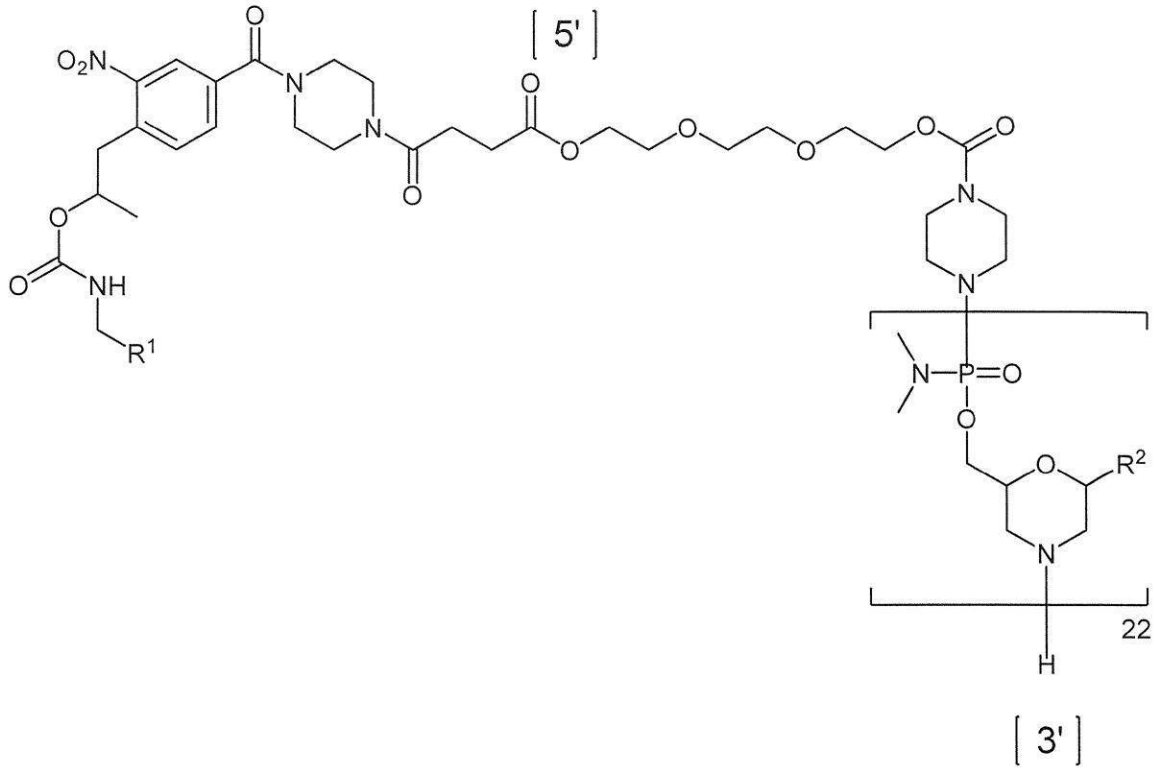
である)の化合物を形成するステップ

の連続したステップの20回の反復を実施するステップ；

(h) 式(I X)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(X)：

50

【化 9 2】

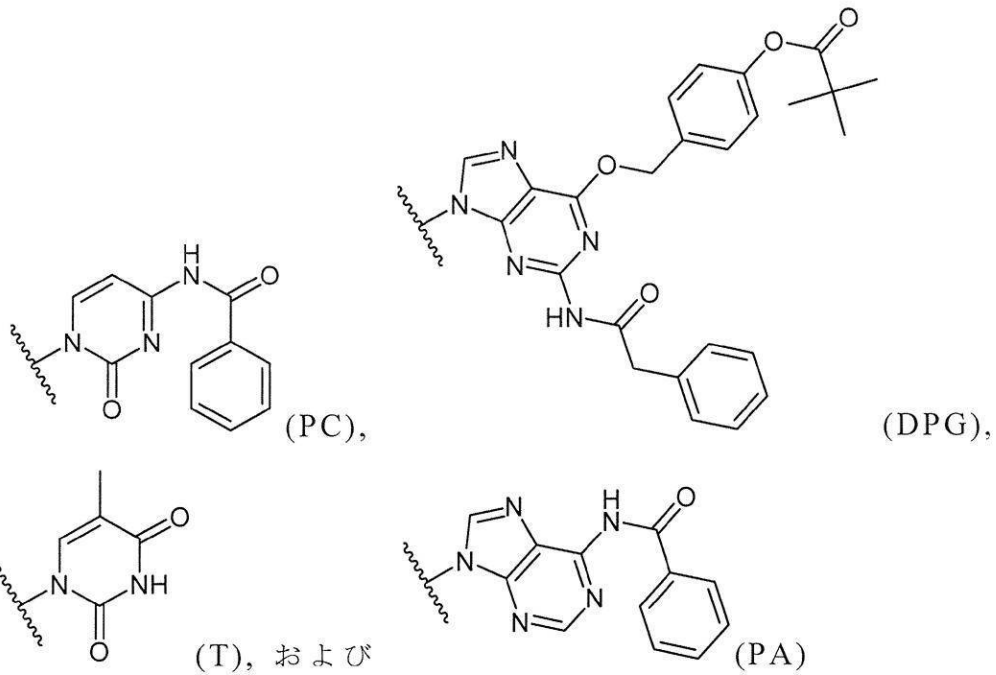


(式中、

R¹ は支持媒体であり、

R² は、各出現について独立して、以下：

【化 9 3】



からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

10

20

30

40

50

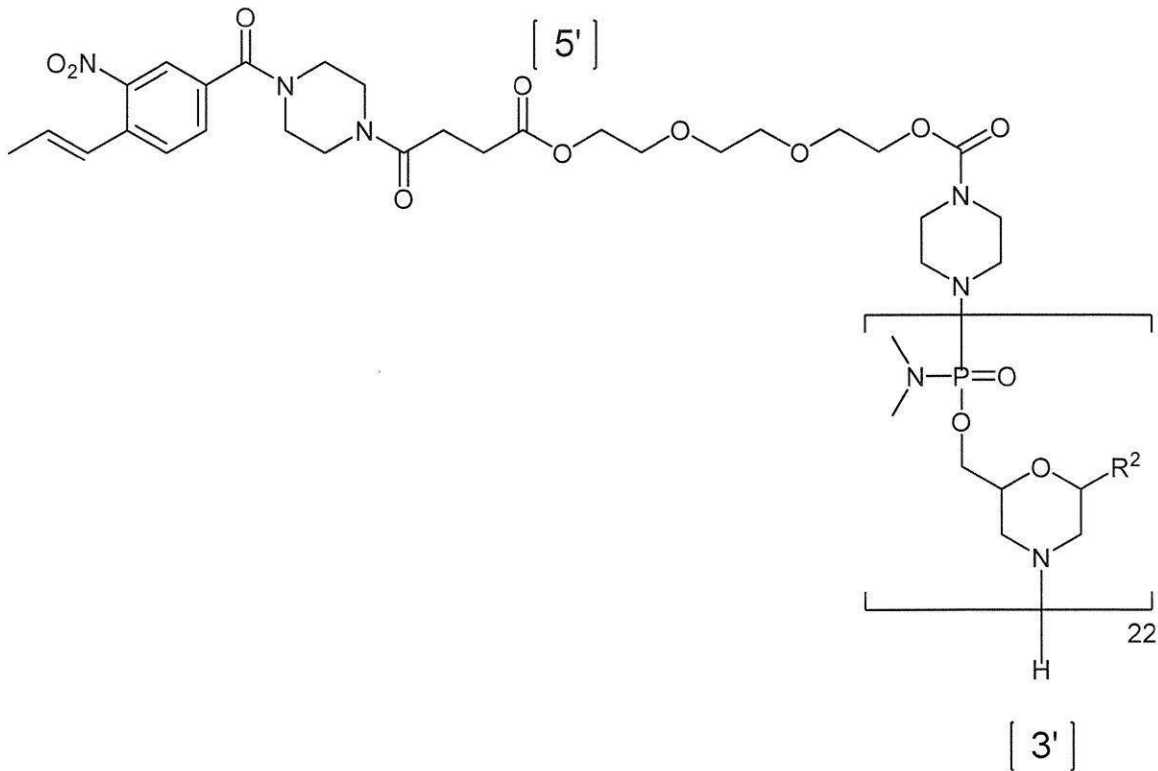
【表 9】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である)の化合物を形成するステップ;

(i) 式(X)の化合物を切断剤と接触させて式(XI):

【化94】



(式中、R²は、各出現について独立して、以下:

10

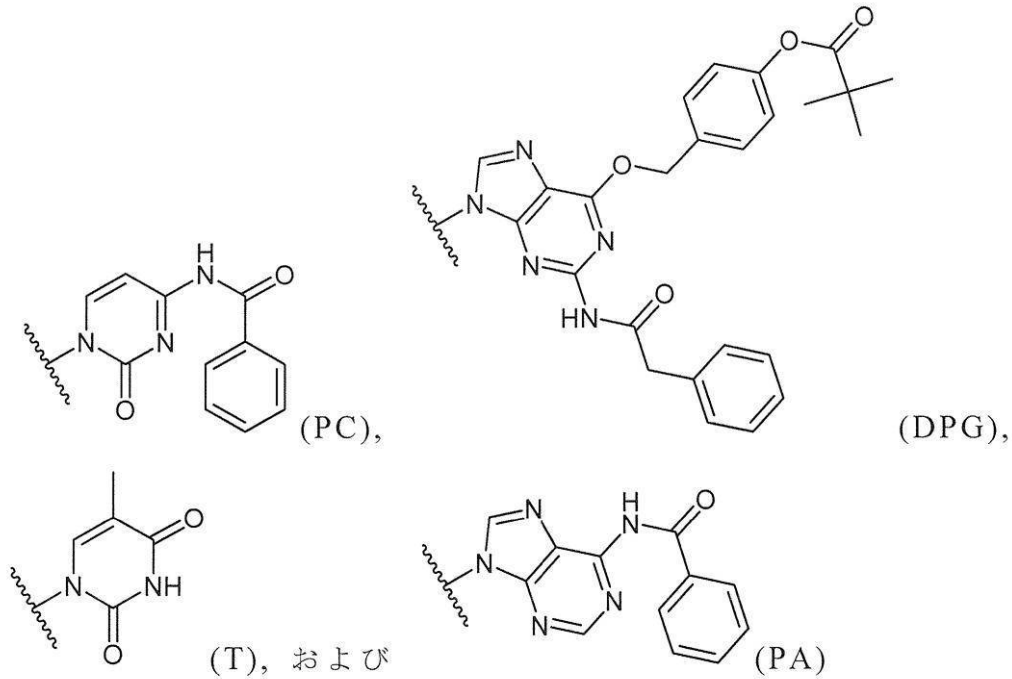
20

30

40

50

【化 9 5】



10

20

からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 10】

5' から 3' への位置 番号	R ²	5' から 3' への位置 番号	R ²	5' から 3' への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

である) の化合物を形成するステップ；ならびに

(j) 式 (XI) の化合物を脱保護剤と接触させて式 (C) のオリゴマー化合物を形成するステップ

の連続したステップを含む。

【0079】

一実施形態では、ステップ (d)、ステップ (f)、ステップ (g2) またはそれらの組み合わせは、それぞれ式 (IV) の化合物、式 (VI) の化合物または直前のステップによって形成された化合物を、キャッピング剤と接触させることをさらに含む。

50

【 0 0 8 0 】

ある実施形態では、ステップ (d)、ステップ (f)、ステップ (g 2) の各々は、それぞれ式 (I V) の化合物、式 (V I) の化合物または直前のステップによって形成された化合物を、キャッピング剤と接触させることをさらに含む。

【 0 0 8 1 】

別の実施形態では、各ステップは少なくとも 1 つの溶媒の存在下で実施される。

【 0 0 8 2 】

さらに別の実施形態では、各ステップで使用される脱ブロッキング剤は、ハロゲン化酸を含む溶液である。

【 0 0 8 3 】

さらに別の実施形態では、各ステップで使用される脱ブロッキング剤は、シアノ酢酸である。

【 0 0 8 4 】

別の実施形態では、ハロゲン化酸は、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、フルオロ酢酸、ジフルオロ酢酸、およびトリフルオロ酢酸からなる群から選択される。

【 0 0 8 5 】

さらに別の実施形態では、ハロゲン化酸は、トリフルオロ酢酸である。

【 0 0 8 6 】

さらに別の実施形態では、ステップ (c)、(e) および (g 1) の少なくとも 1 つは、各ステップの脱ブロックされた化合物を中和剤と接触させるステップをさらに含む。

【 0 0 8 7 】

別の実施形態では、ステップ (c)、(e) および (g 1) の各々は、各ステップの脱ブロックされた化合物を中和剤と接触させるステップをさらに含む。

【 0 0 8 8 】

さらに別の実施形態では、中和剤はジクロロメタンおよびイソプロピルアルコールを含む溶液中に存在する。

【 0 0 8 9 】

さらに別の実施形態では、中和剤はモノアルキル、ジアルキル、またはトリアルキルアミンである。

【 0 0 9 0 】

別の実施形態では、中和剤は N , N - ジイソプロピルエチルアミンである。

【 0 0 9 1 】

さらに別の実施形態では、各ステップで使用される脱ブロッキング剤は、4 - シアノピリジン、ジクロロメタン、トリフルオロ酢酸、トリフルオロエタノール、および水を含む溶液である。

【 0 0 9 2 】

さらに別の実施形態では、キャッピング剤は、エチルモルホリンおよびメチルピロリジンを含む溶液中に存在する。

【 0 0 9 3 】

別の実施形態では、キャッピング剤は酸無水物である。

【 0 0 9 4 】

さらに別の実施形態では、酸無水物は無水安息香酸である。

【 0 0 9 5 】

さらに別の実施形態では、式 (V I I I)、式 (D) および式 (F) の化合物は、各々独立して、エチルモルホリンおよびジメチルイミダゾリジンを含む溶液中に存在する。

【 0 0 9 6 】

別の実施形態では、切断剤は、ジチオトレイトールおよび 1 , 8 - ジアザビシクロ [5 . 4 . 0] ウンデカ - 7 - エンを含む。

【 0 0 9 7 】

さらに別の実施形態では、切断剤は、N - メチル - 2 - ピロリドンを含む溶液中に存在す

10

20

30

40

50

る。

【 0 0 9 8 】

さらに別の実施形態では、脱保護剤は NH_3 を含む。

【 0 0 9 9 】

別の実施形態では、脱保護剤は水溶液中に存在する。

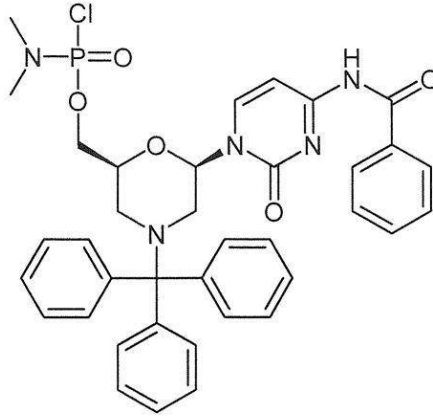
【 0 1 0 0 】

さらに別の実施形態では、支持媒体は、1%ジビニルベンゼン架橋ポリスチレンを含む。

【 0 1 0 1 】

別の実施形態では、式(D)の化合物は式(D1)の化合物である。

【化96】

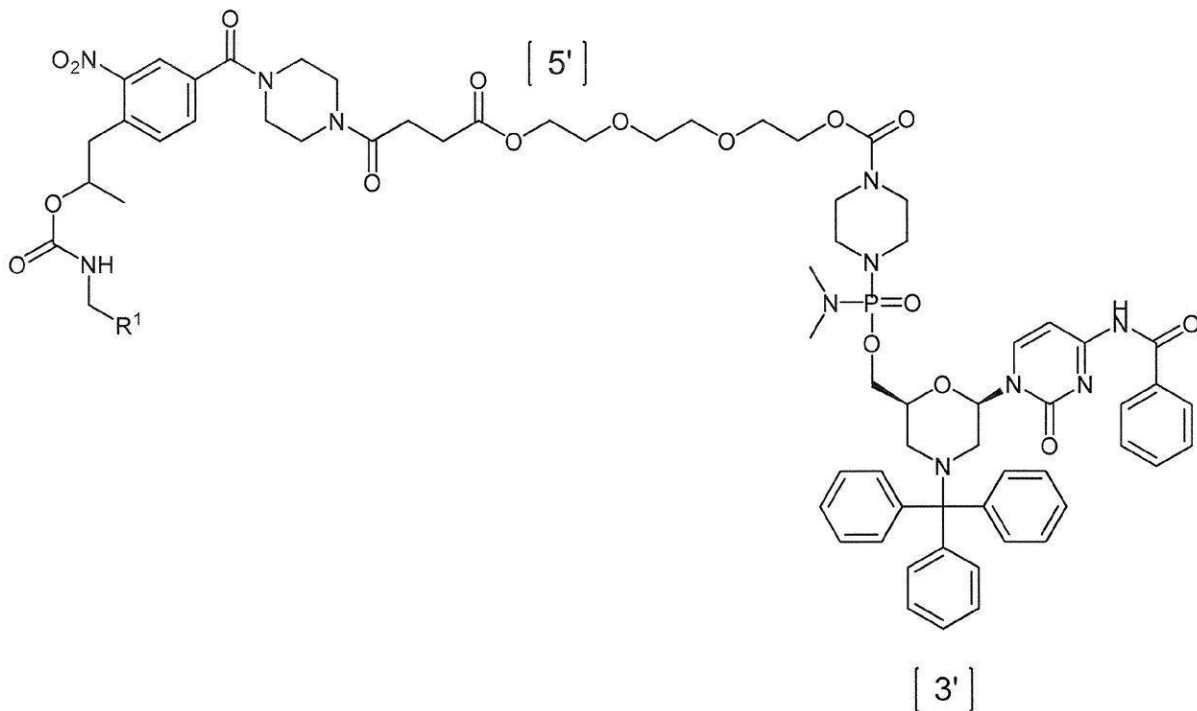


(D1)

【 0 1 0 2 】

別の実施形態では、式(V)の化合物は式(Va)：

【化97】



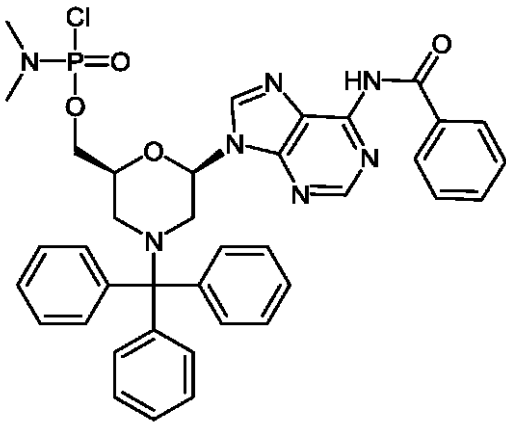
(Va)

(式中、 R^1 は支持媒体である) の化合物である。

【0103】

別の実施形態では、式(F)の化合物は式(F1)の化合物である。

【化98】



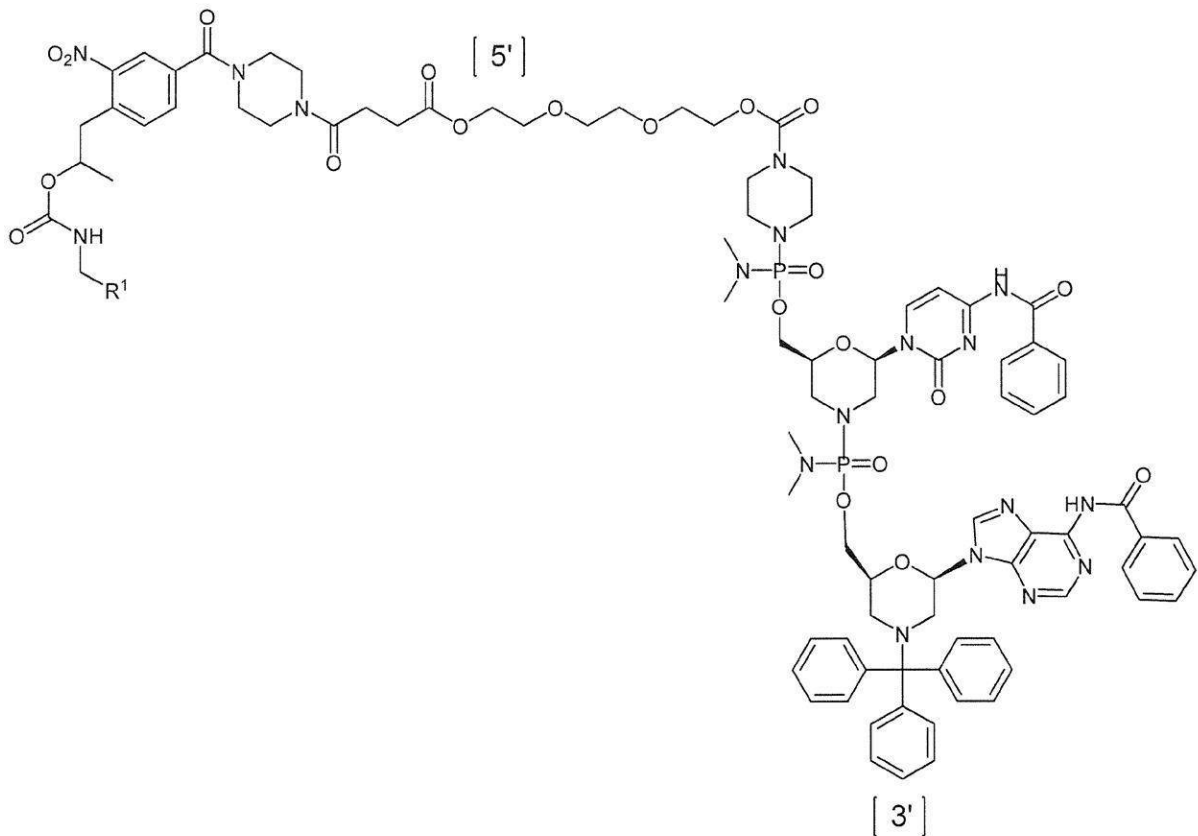
(F1)

10

【0104】

別の実施形態では、式(VII)の化合物は式(VIIa)：

【化99】



(VIIa)

20

30

40

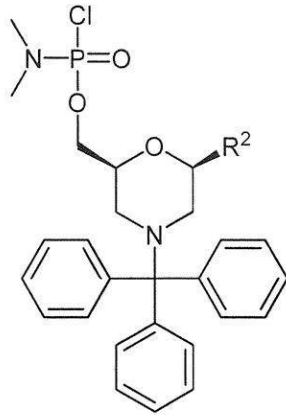
(式中、R¹は支持媒体である)の化合物である。

【0105】

別の実施形態では、式(VIII)の化合物は式(VIIIa)：

50

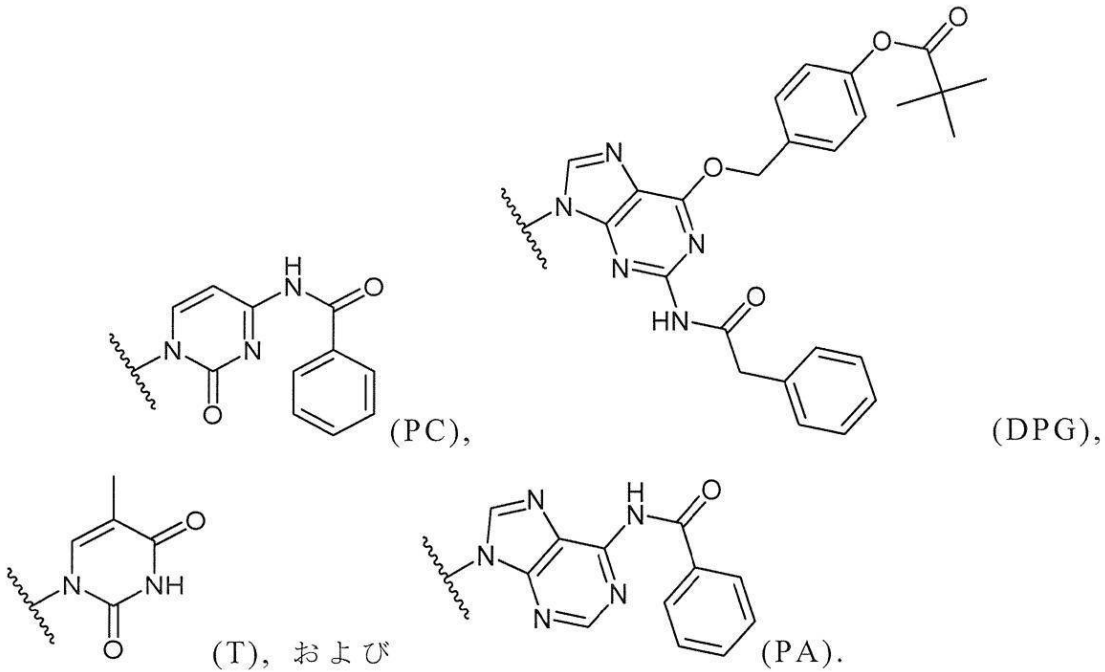
【化100】



(VIIIa)

(式中、R²は、式(VIIIa)の各化合物について独立して、以下：

【化101】



からなる群から選択される)の化合物である。

【0106】

別の実施形態では、式(IX)の化合物は式(IXa)：

10

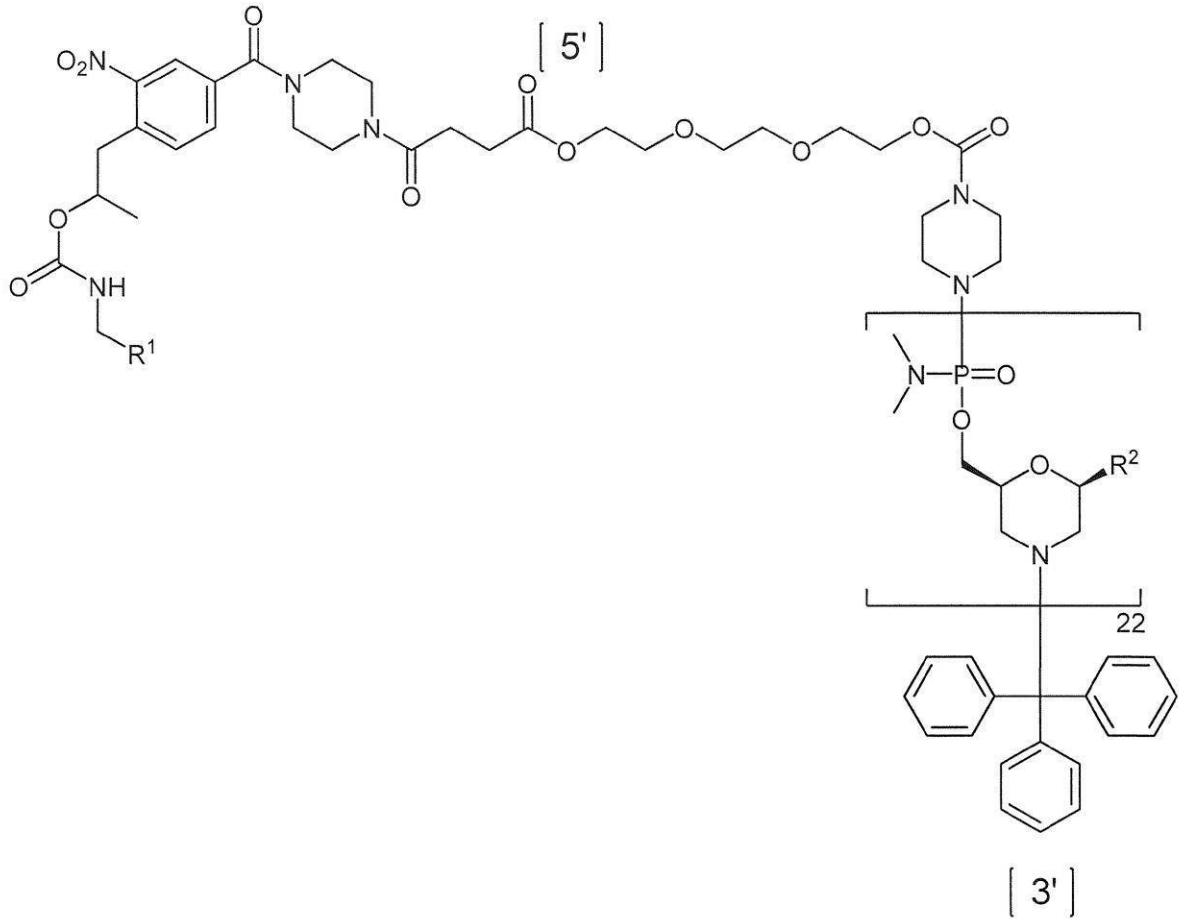
20

30

40

50

【化102】



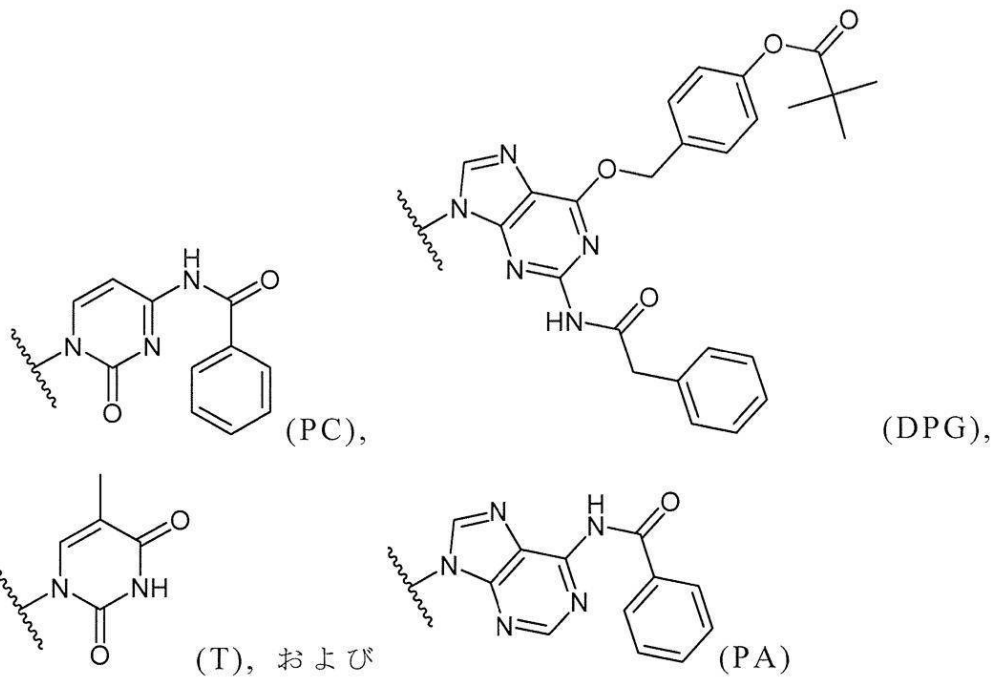
(IXa)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、

R^1 は支持媒体であり、

R^2 は、各出現で独立して、以下：

【化103】



(T), および

(PA)

10

20

30

40

50

からなる群から選択され、

R²は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【表11】

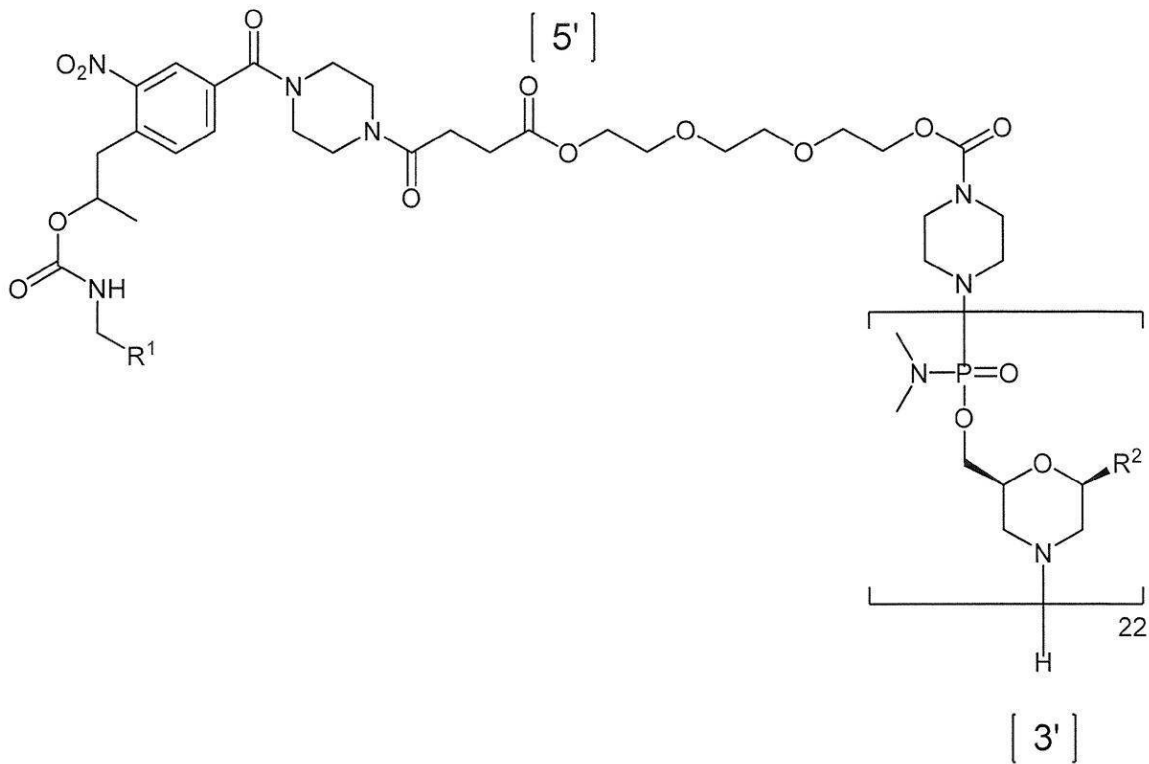
5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である。

【0107】

別の実施形態では、式(X)の化合物は式(Xa)：

【化104】



の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、

10

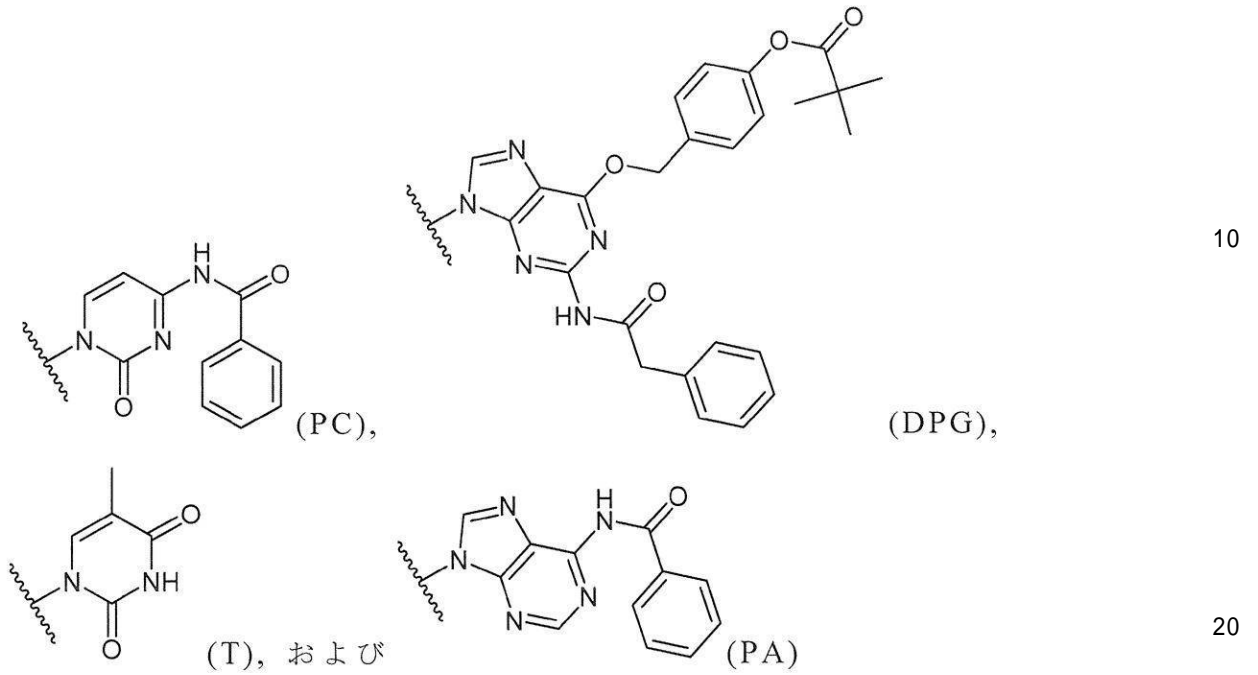
20

30

40

50

R¹ は支持媒体であり、
R² は、各出現で独立して、以下：
【化 1 0 5】



からなる群から選択され、
R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：
【表 1 2】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である。

【0108】

別の実施形態では、式 (X I) の化合物は式 (X I a) :

10

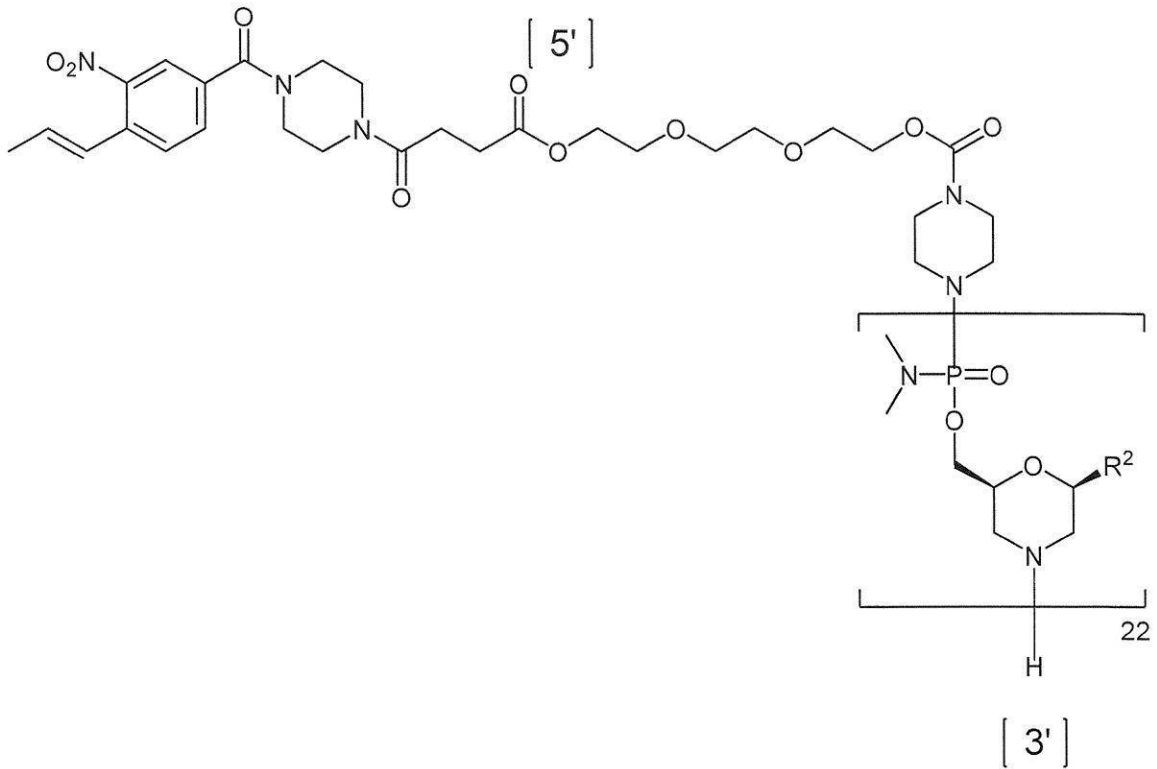
20

30

40

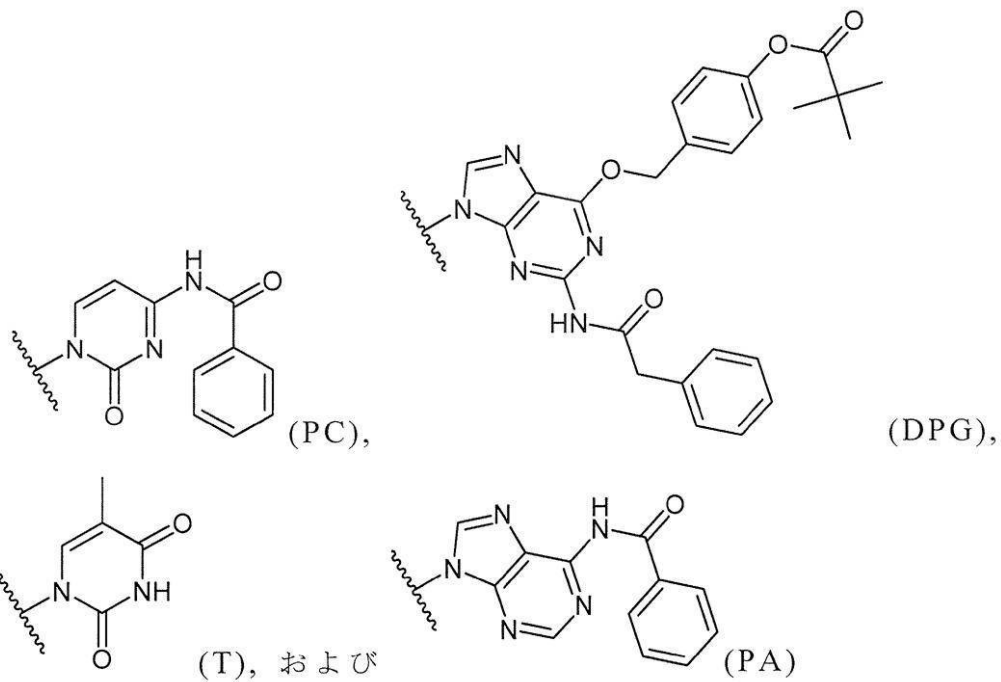
50

【化 1 0 6】



の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、
R² は、各出現で独立して、以下：

【化 1 0 7】



からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

10

20

30

40

50

【表 1 3】

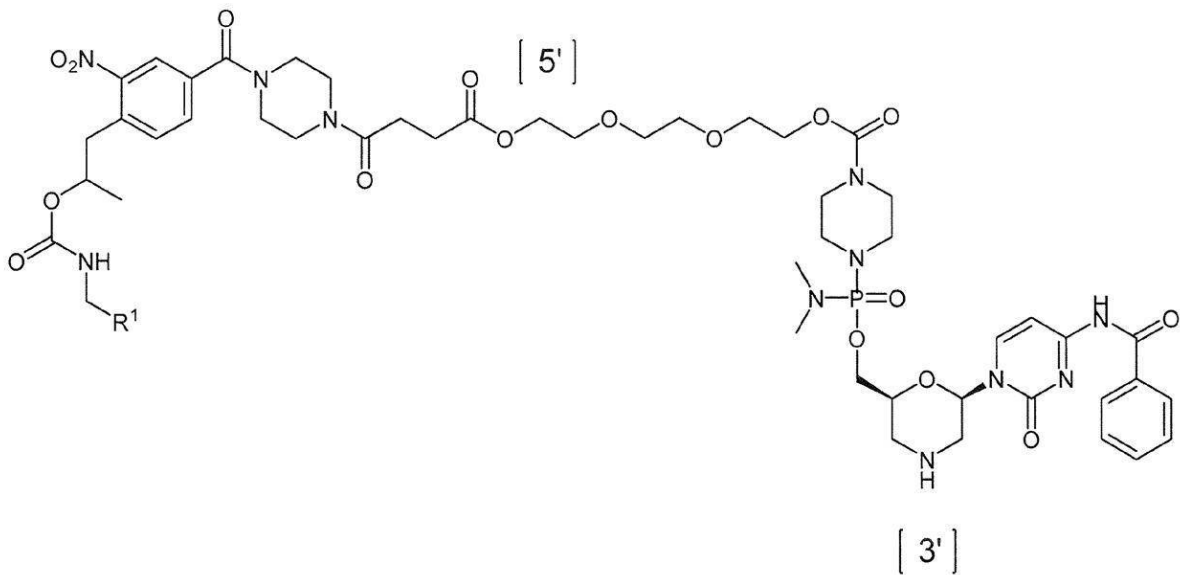
5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である。

【 0 1 0 9 】

別の実施形態では、式 (V I) の化合物は式 (V I a) :

【 化 1 0 8 】



(式中、R¹ は支持媒体である) の化合物である。

【 0 1 1 0 】

さらに別の実施形態では、式 (C) のオリゴマー化合物は式 (X I I) のオリゴマー化合物である。

10

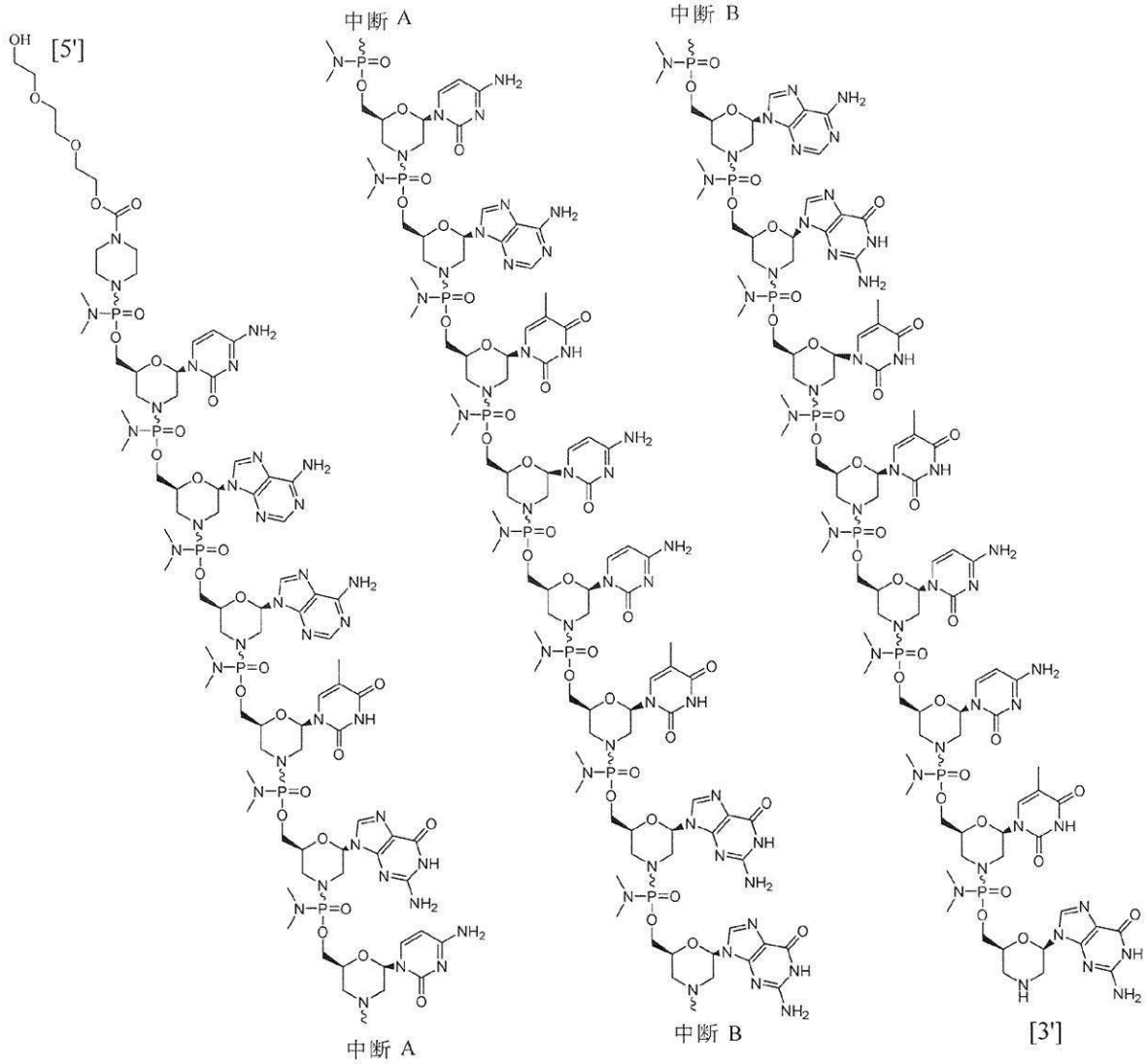
20

30

40

50

【化 1 0 9】



(XII)

【 0 1 1 1】

別の態様では、式 (V) :

10

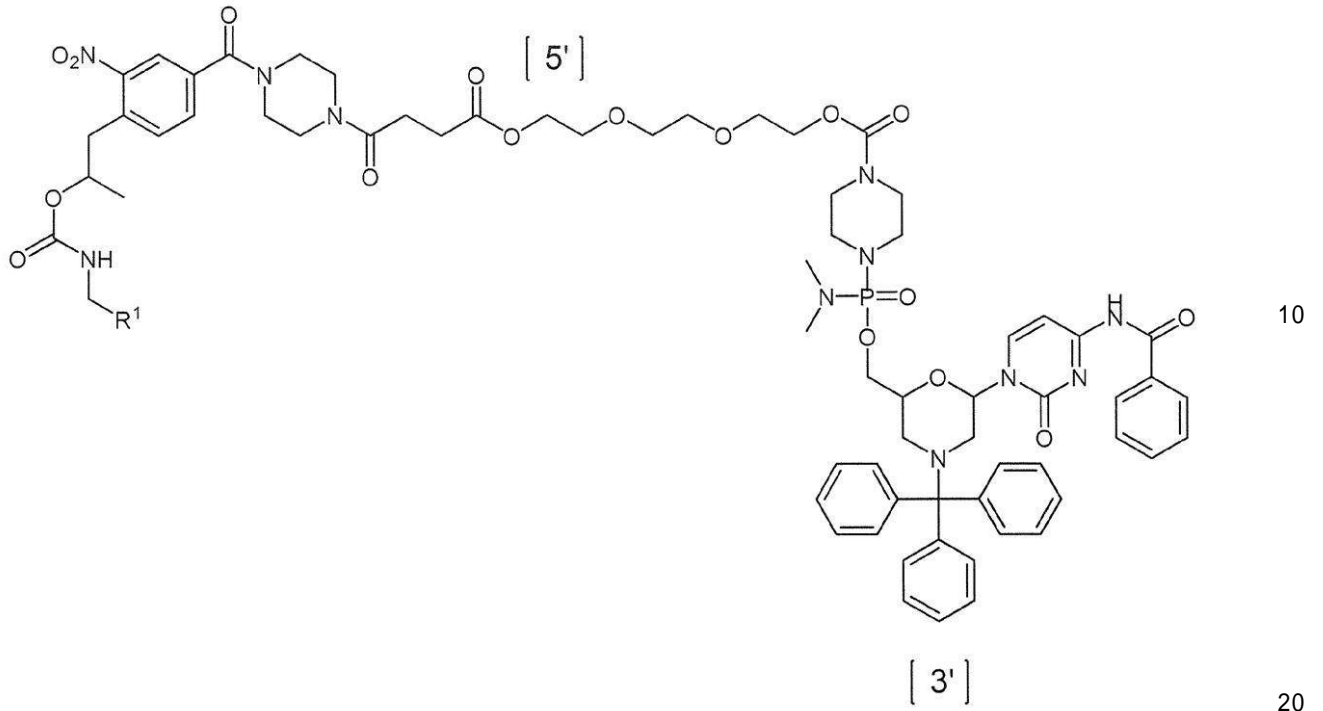
20

30

40

50

【化 1 1 0】



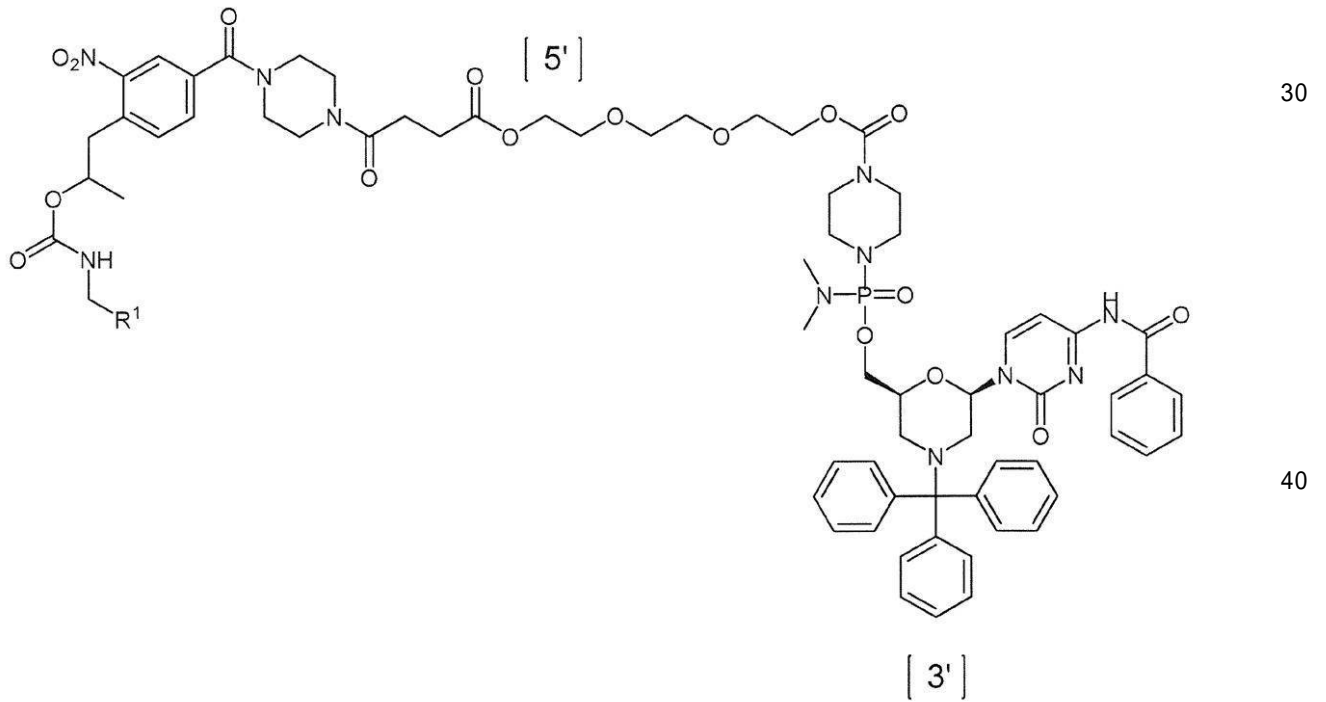
(V)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩が本明細書に提供され、式中、R¹は支持媒体である。

【0 1 1 2】

一実施形態では、式(V)の化合物は式(Va)：

【化 1 1 1】



(Va)

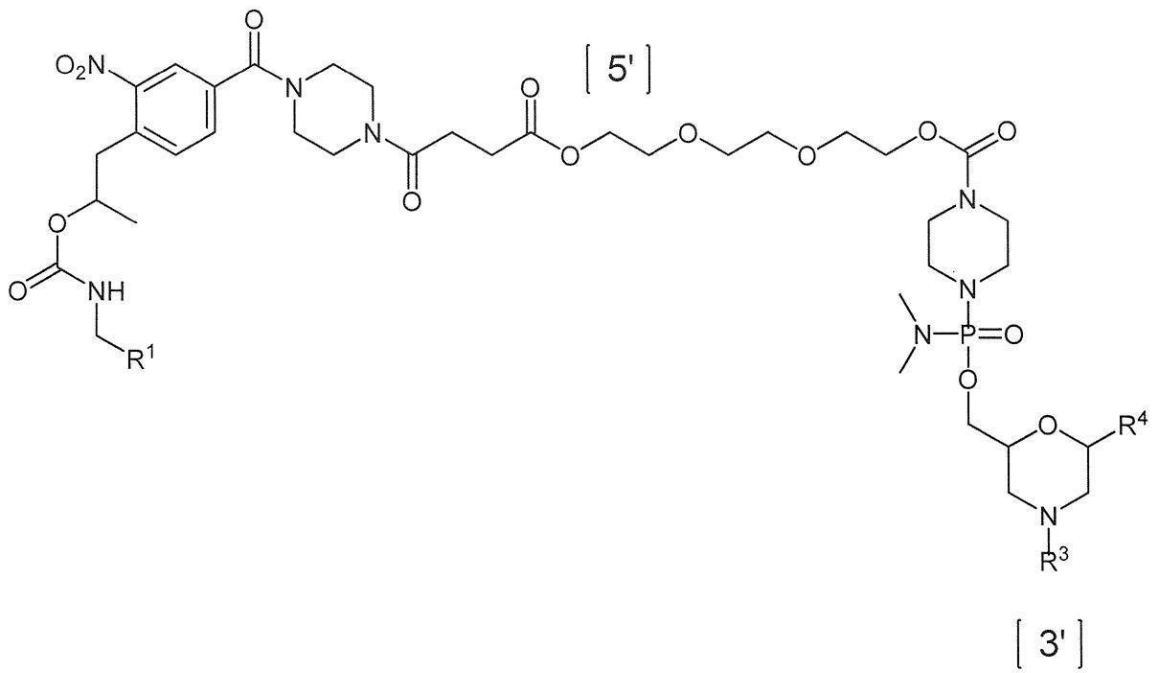
の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、R¹は支持媒体である。

【0 1 1 3】

50

別の態様では、式 (A 5) :

【化 1 1 2】



(A5)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩が本明細書に提供され、式中、R¹は支持媒体であり、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

10

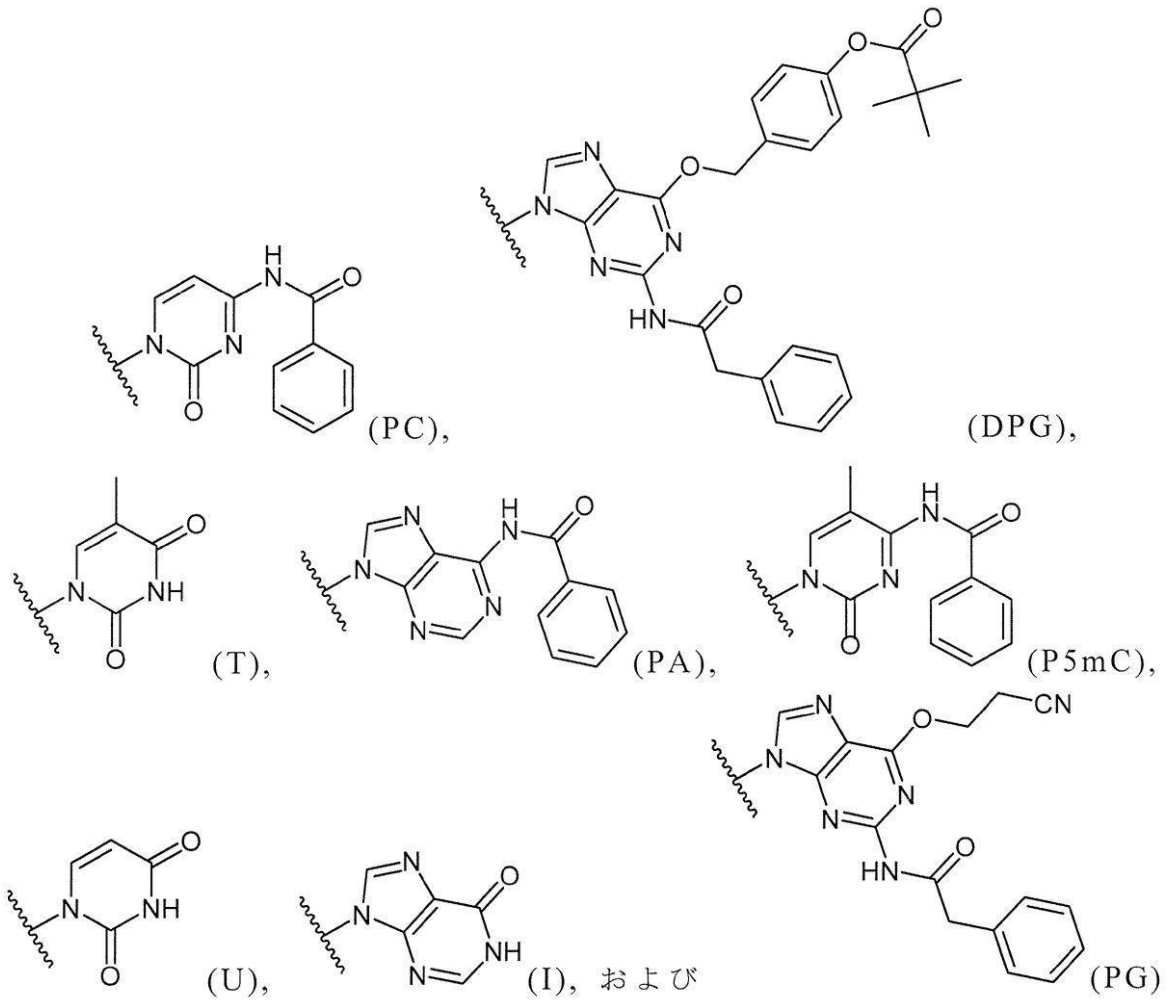
20

30

40

50

【化 1 1 3】



10

20

から選択される。

【 0 1 1 4】

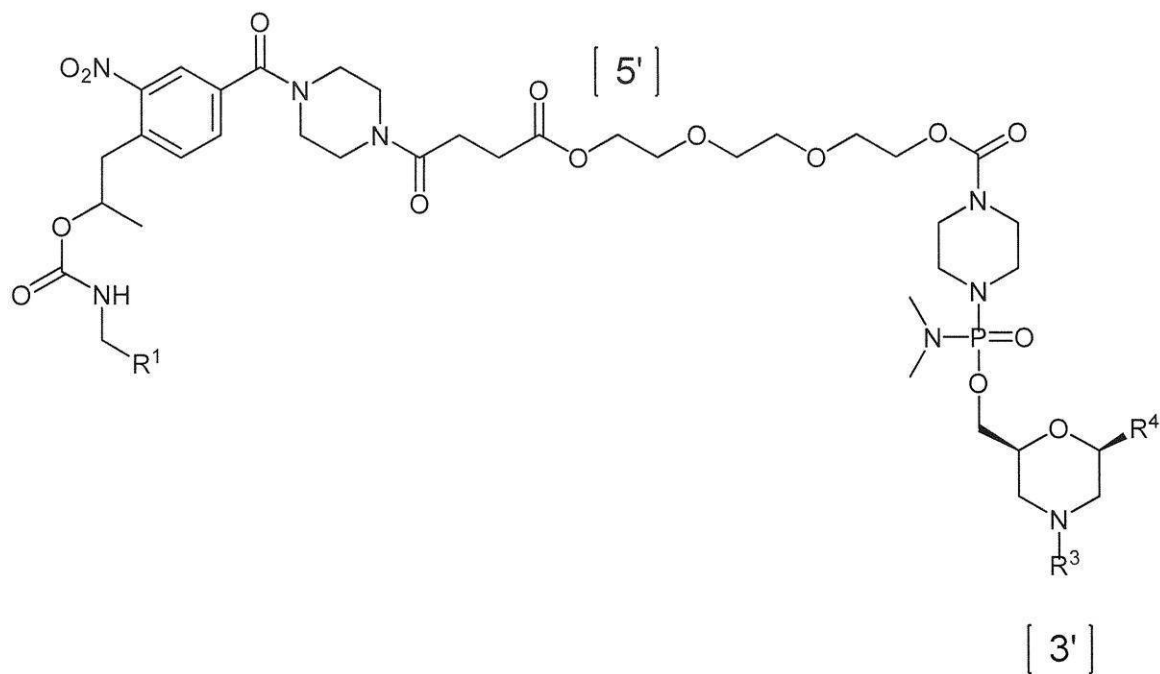
一実施形態では、式 (A 5) の化合物は式 (A 5 a) :

30

40

50

【化 1 1 4】



(A5a)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、R¹は支持媒体であり、R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R⁴は以下：

10

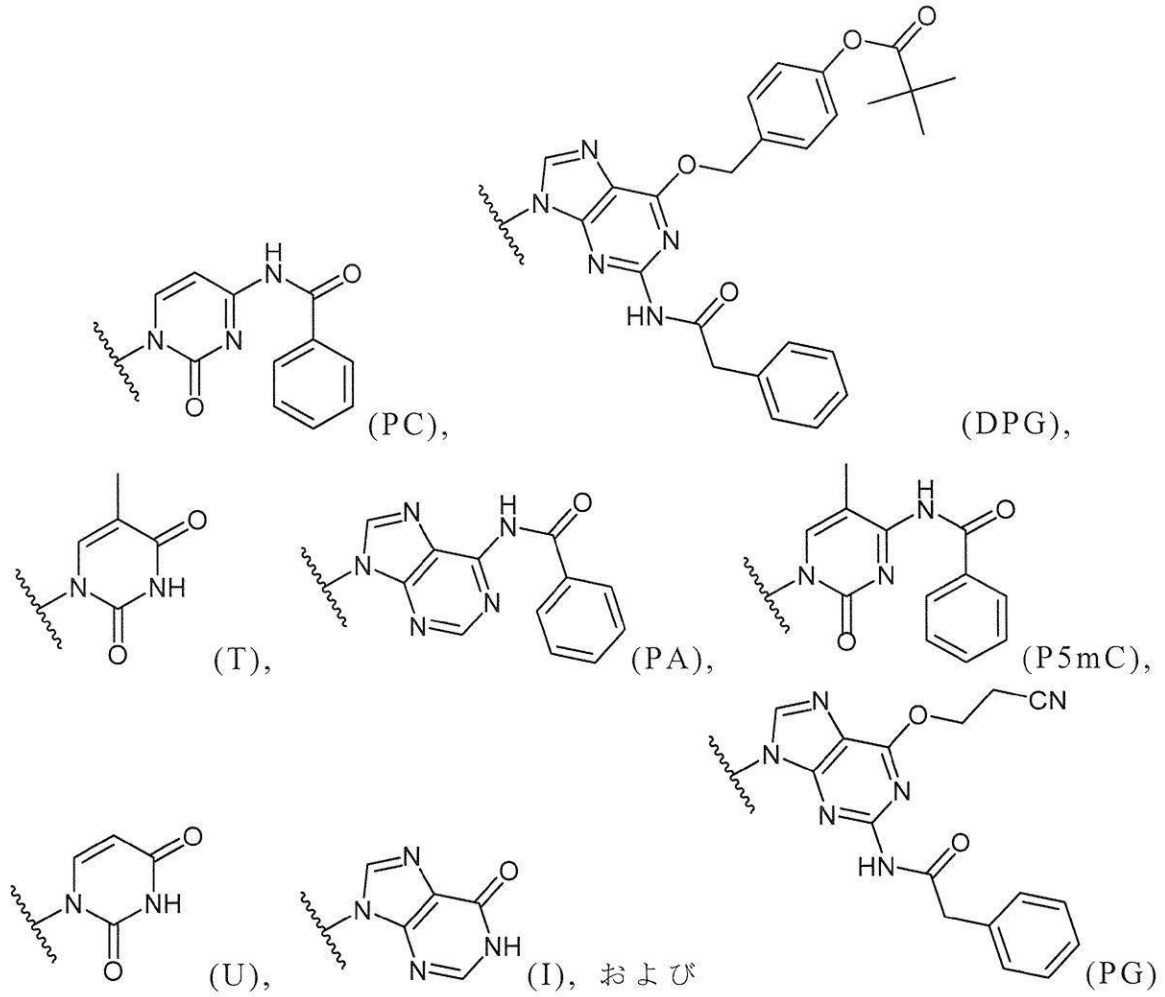
20

30

40

50

【化 1 1 5】



10

20

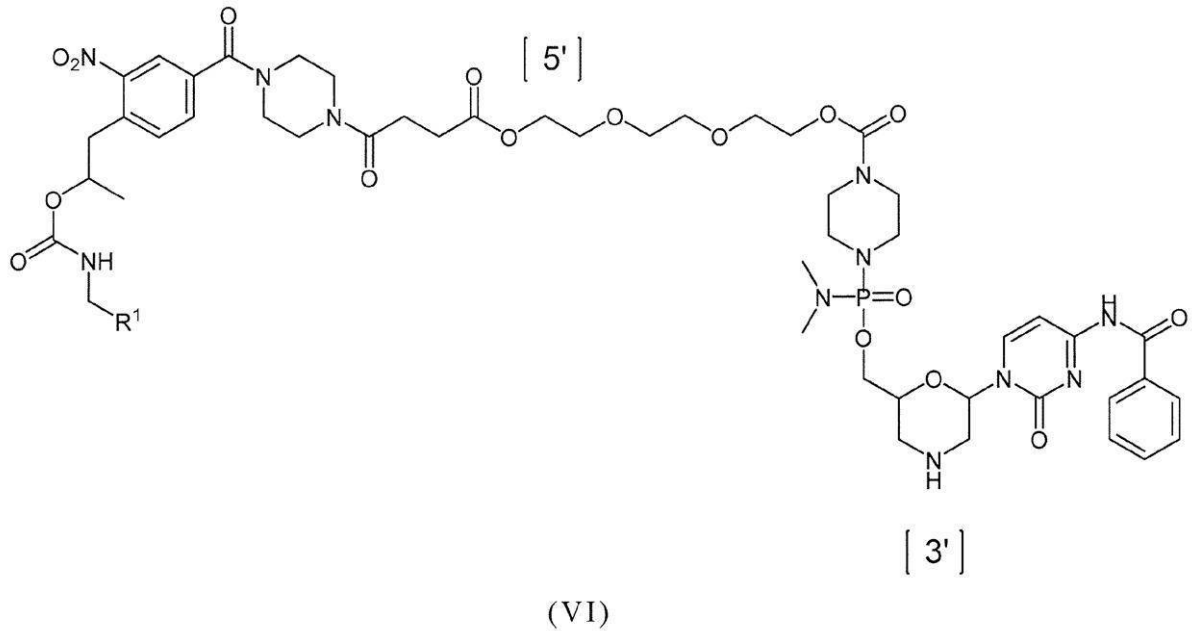
から選択される。

30

【 0 1 1 5】

別の態様では、式 (VI) :

【化 1 1 6】



40

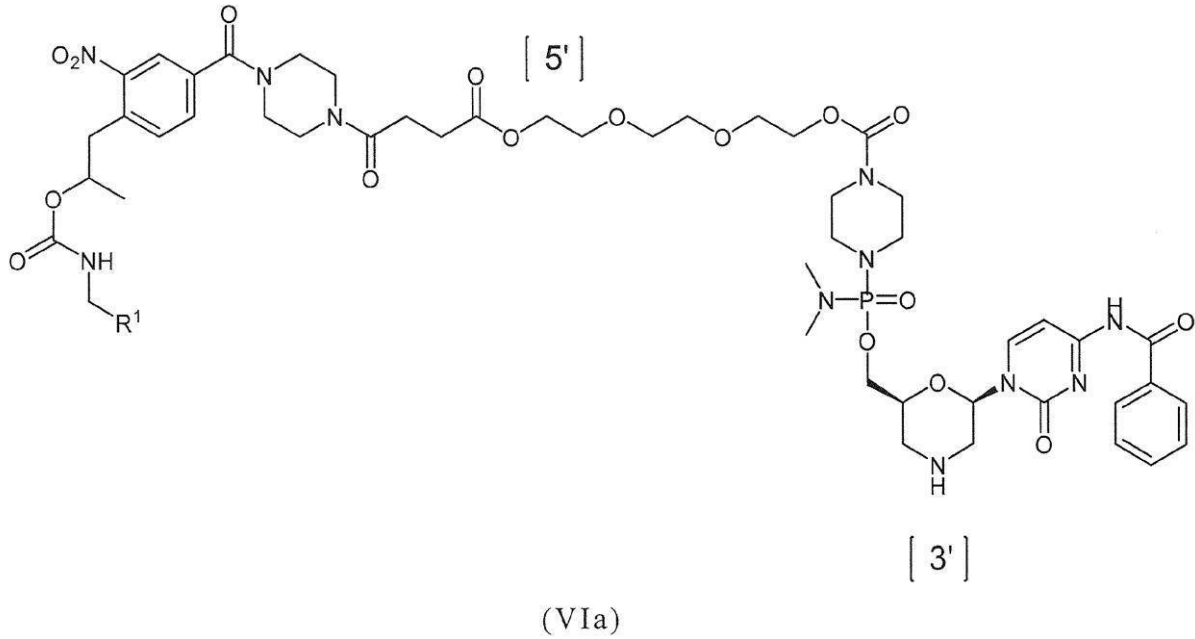
50

の化合物、またはその医薬的に許容される塩が本明細書に提供され、式中、R¹は支持媒体である。

【0116】

一実施形態では、式(VI)の化合物は式(VIa)：

【化117】



の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、R¹は支持媒体である。

【0117】

別の態様では、式(VII)：

10

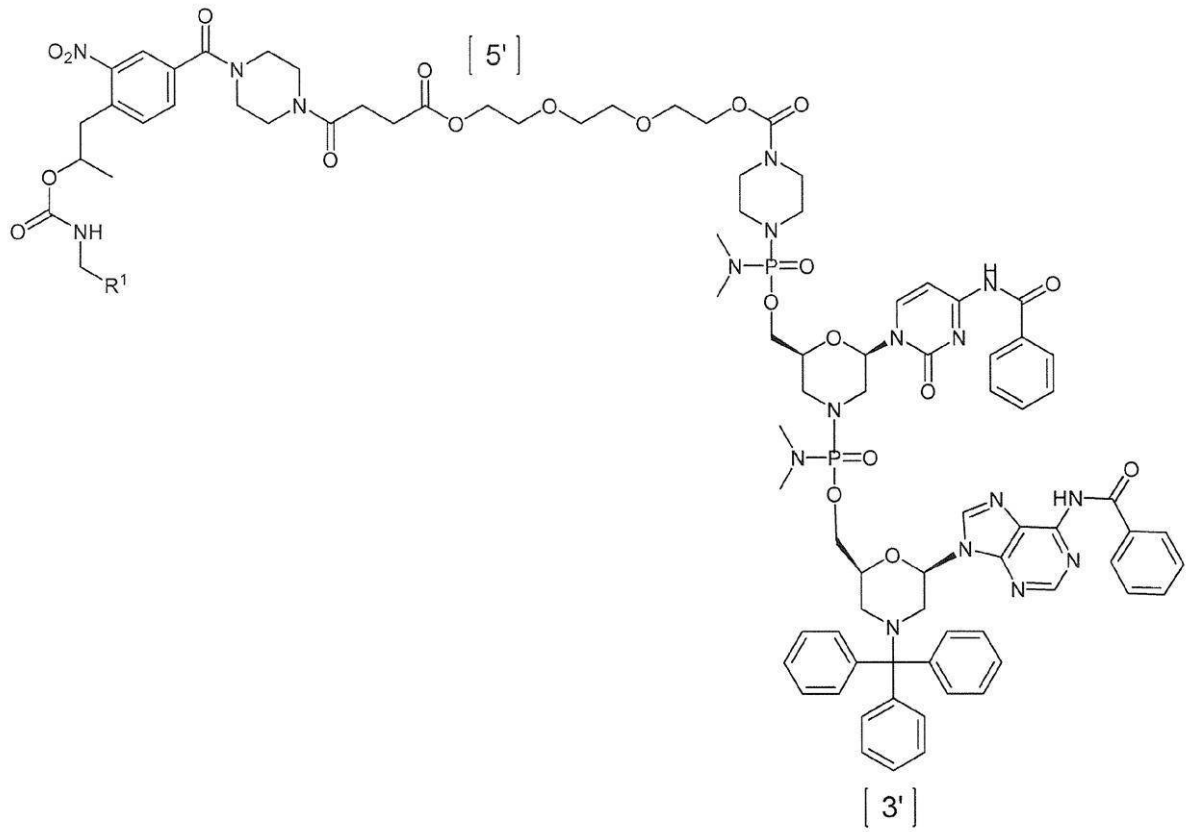
20

30

40

50

【化 1 1 9】



(VIIa)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、 R^1 は支持媒体である。

【 0 1 1 9】

別の態様では、式 (I X) :

10

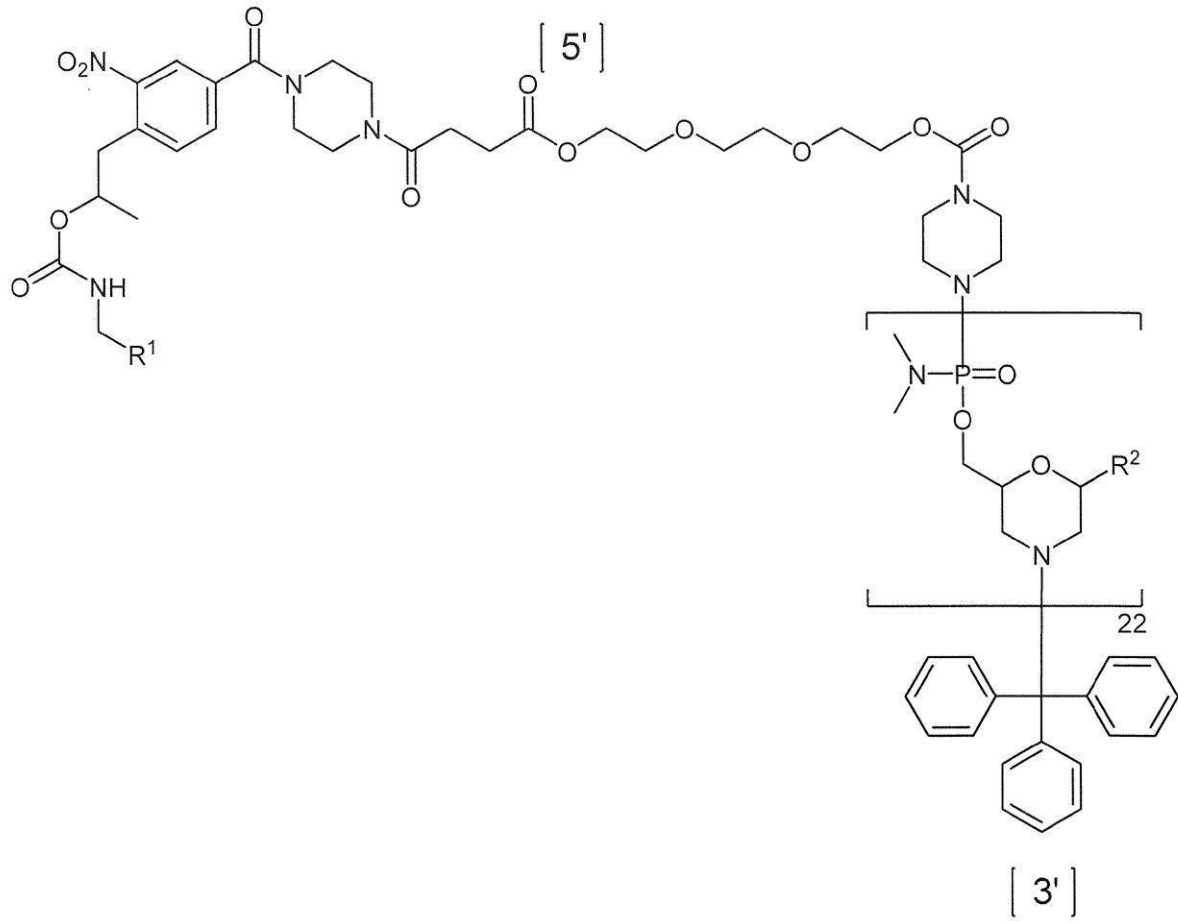
20

30

40

50

【化 1 2 0】

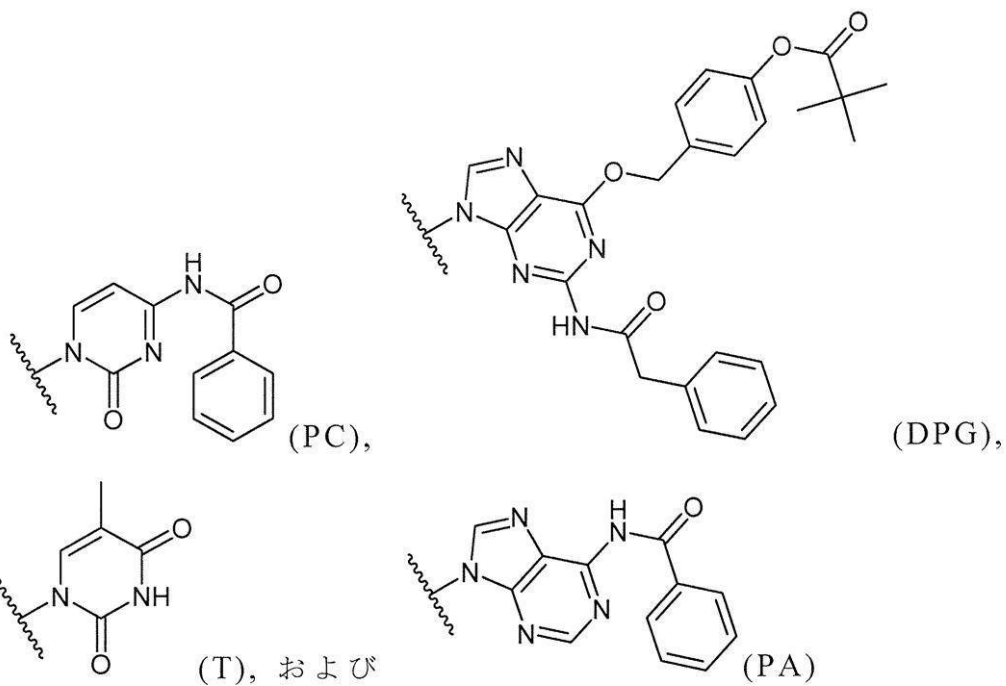


の化合物、またはその医薬的に許容される塩が本明細書に提供され、式中、

R¹ は支持媒体であり、

R² は、各出現で独立して、以下：

【化 1 2 1】



10

20

30

40

50

からなる群から選択され、

R²は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【表14】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である。

【0120】

一実施形態では、式(I X)の化合物は式(I X a)：

10

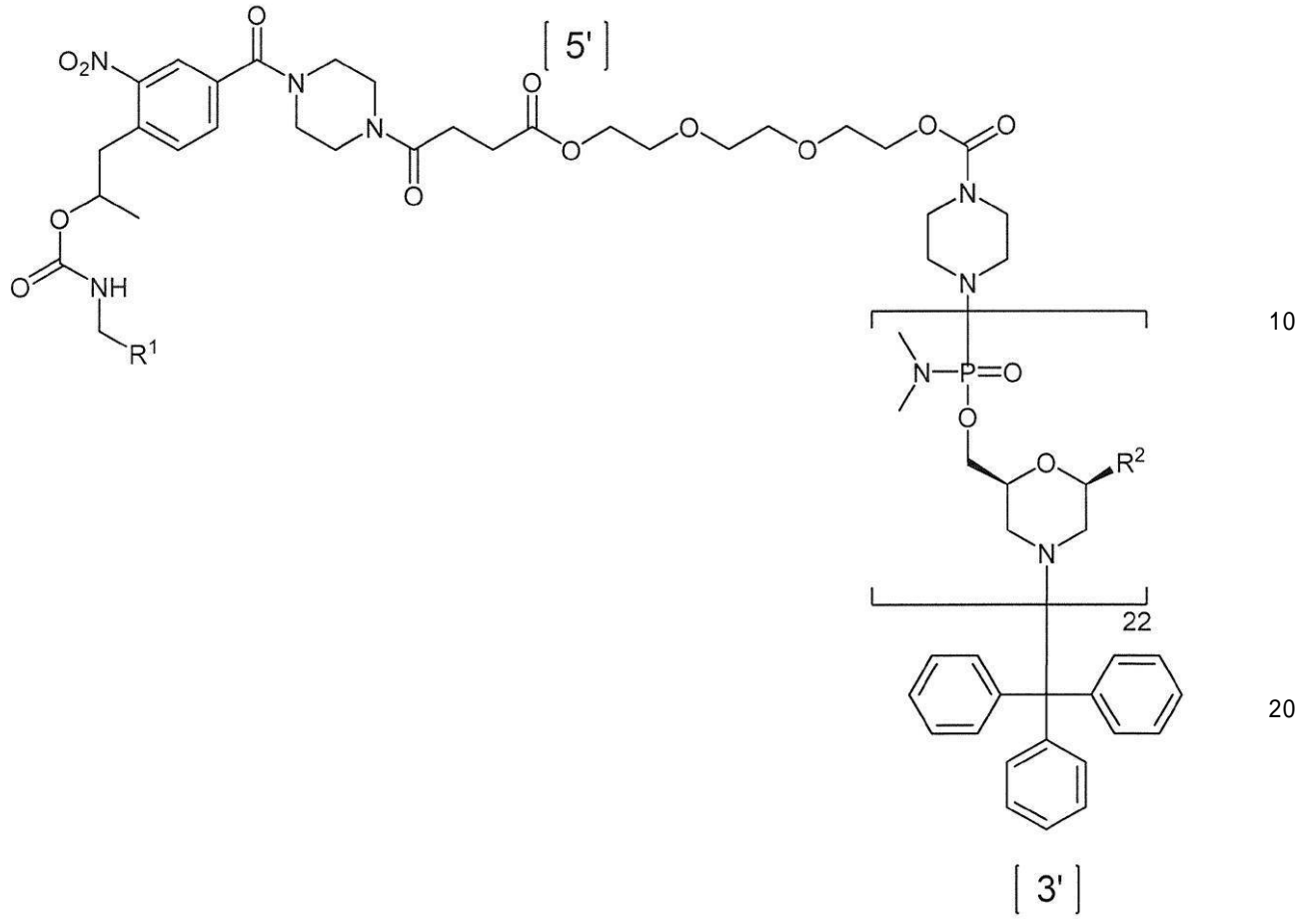
20

30

40

50

【化 1 2 2】

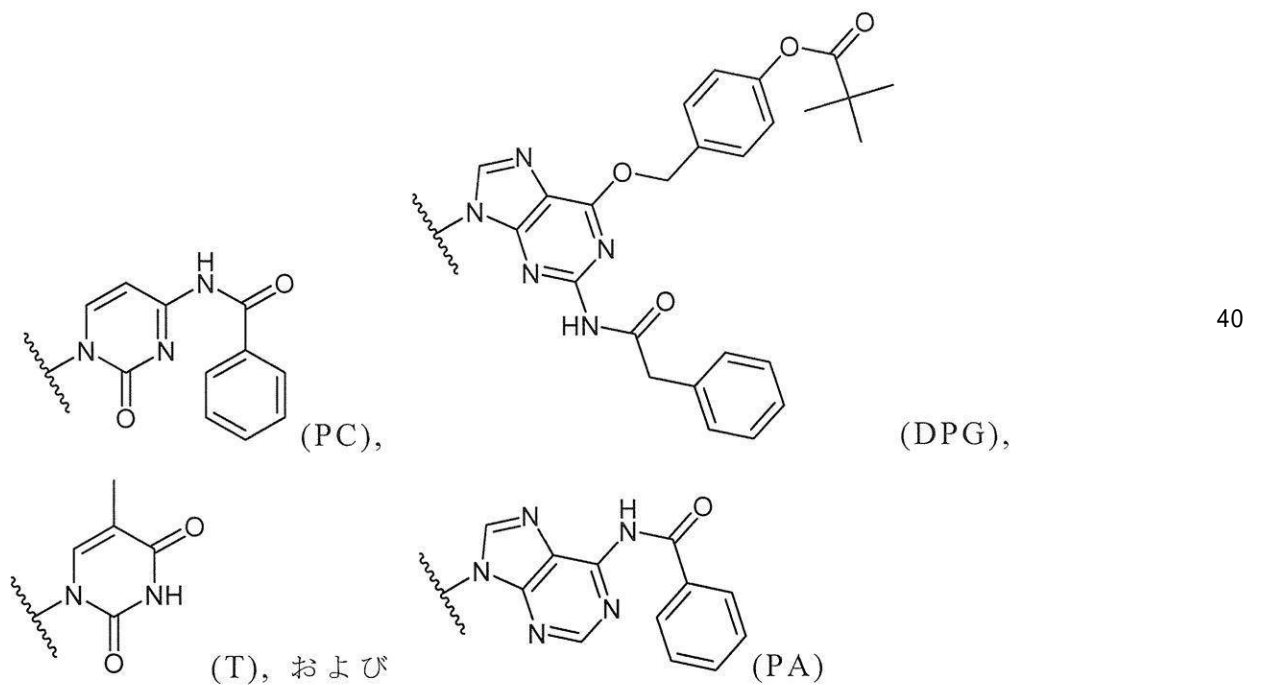


の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、

R¹ は支持媒体であり、

R² は、各出現で独立して、以下：

【化 1 2 3】



からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 15】

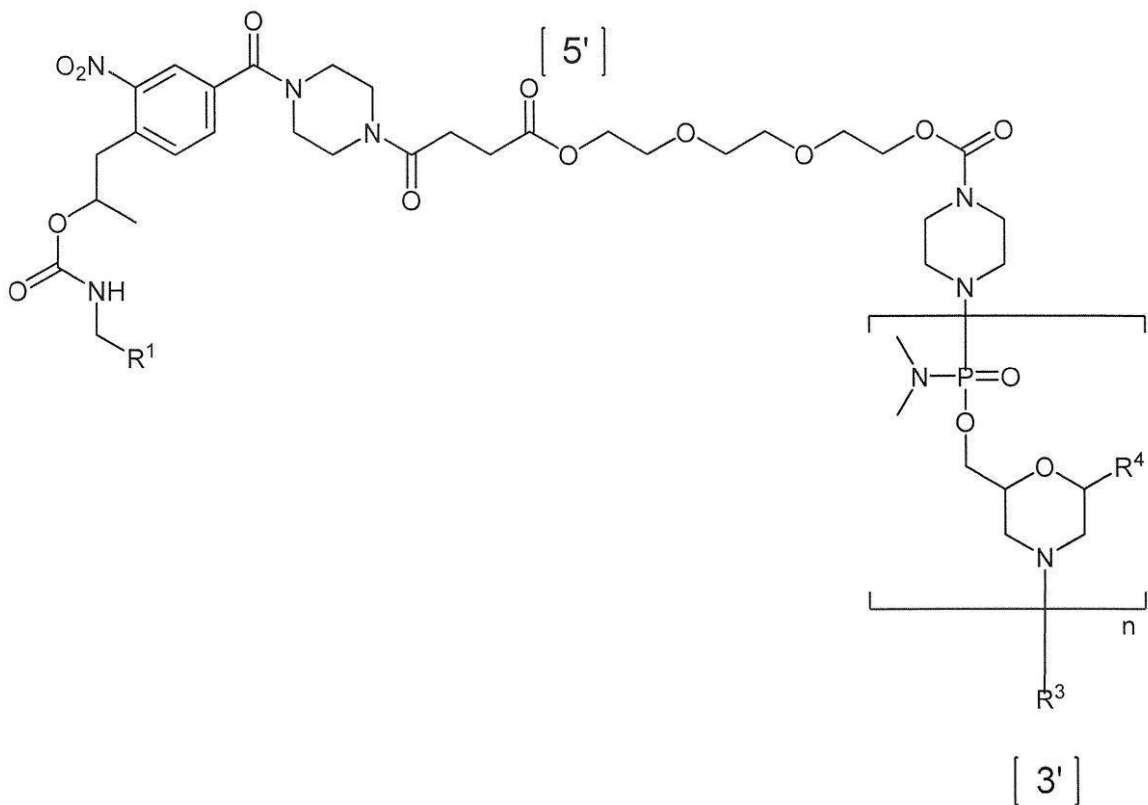
5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である。

【0121】

別の態様では、式(A9)：

【化124】



(A9)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩が本明細書に提供され、式中、

10

20

30

40

50

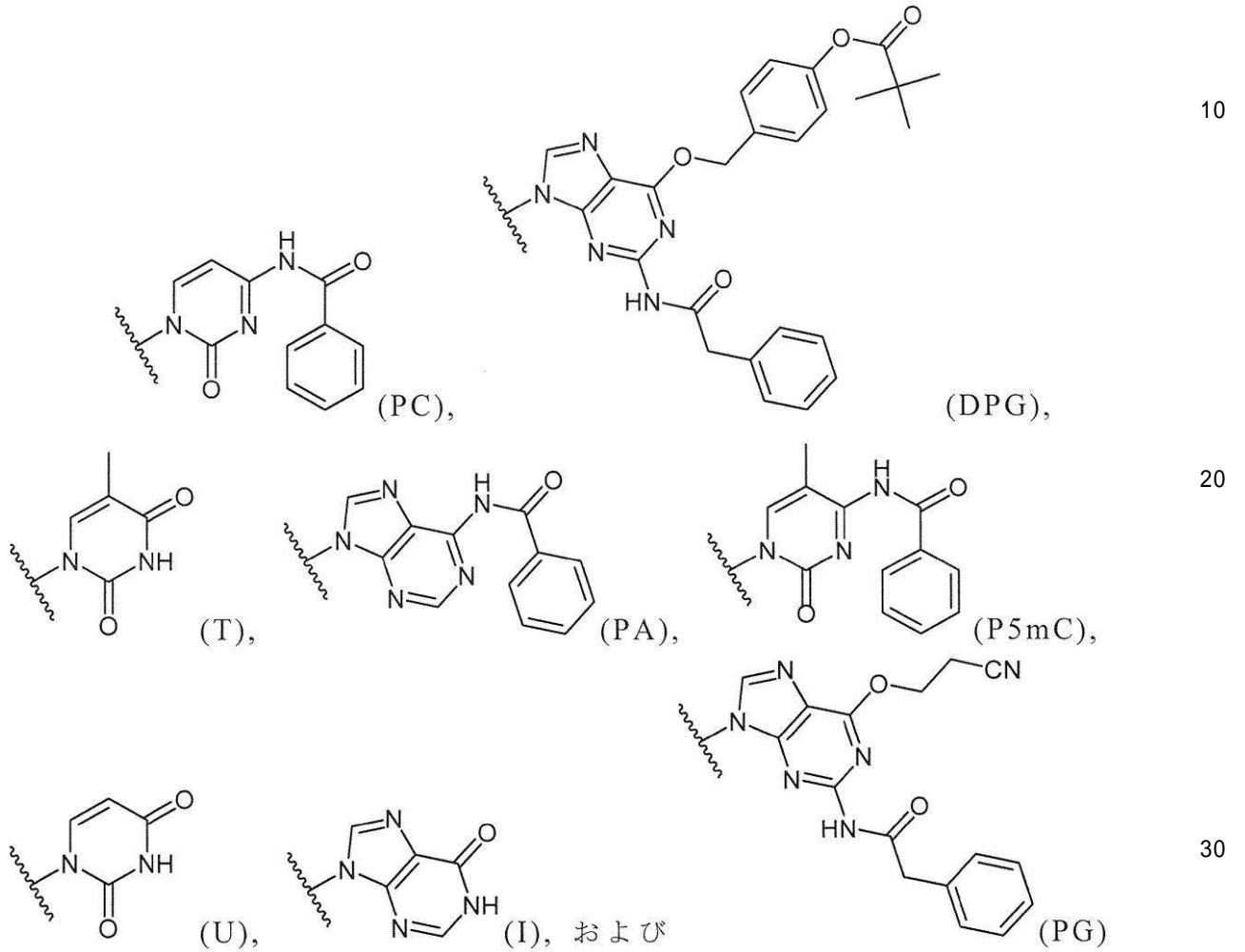
n は 10 ~ 40 の整数であり、

R¹ は支持媒体であり、

R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴ は、各出現で独立して、以下：

【化 1 2 5】



からなる群から選択される。

【 0 1 2 2】

一実施形態では、式 (A 9) の化合物は式 (A 9 a) :

10

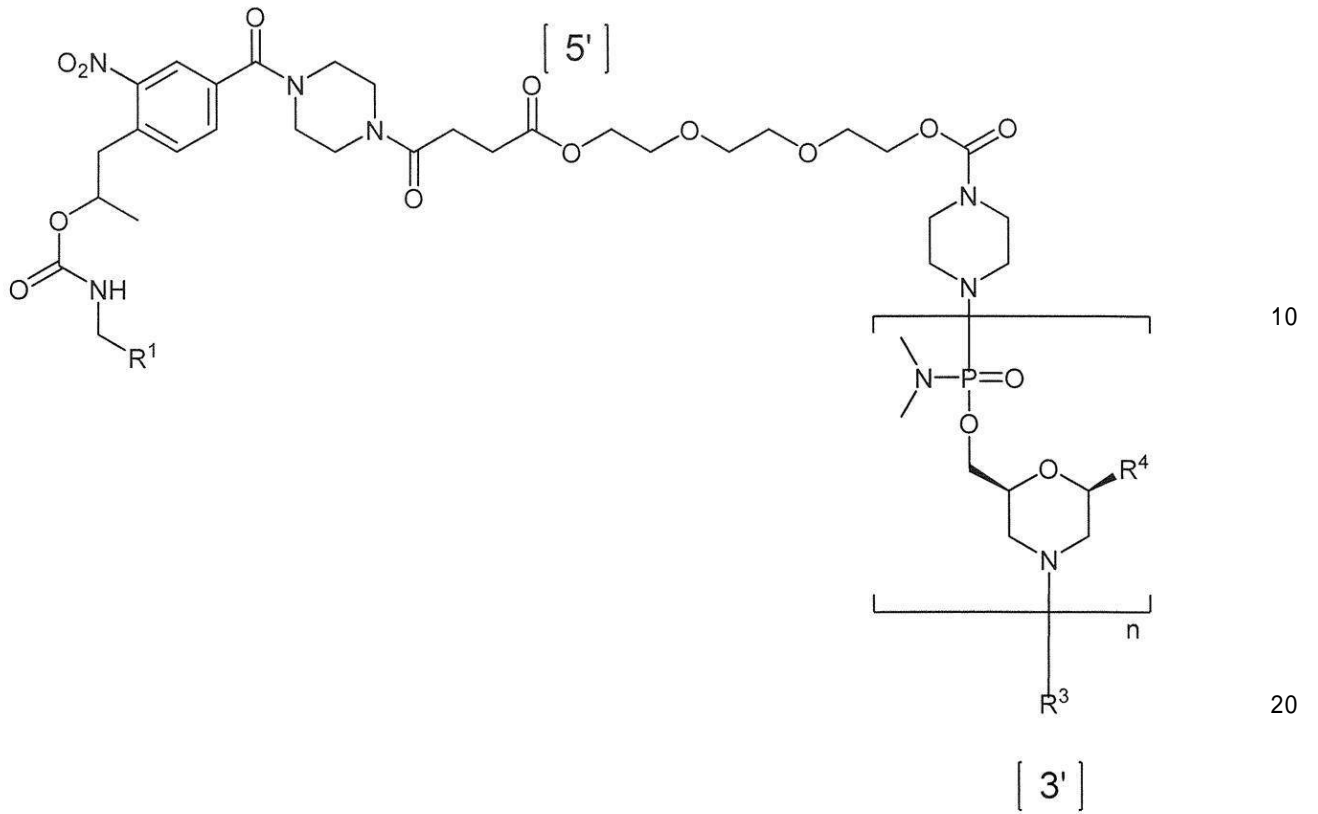
20

30

40

50

【化 1 2 6】



(A9a)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、

n は 10 ~ 40 の整数であり、

R¹ は支持媒体であり、

R³ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴ は、各出現で独立して、以下：

10

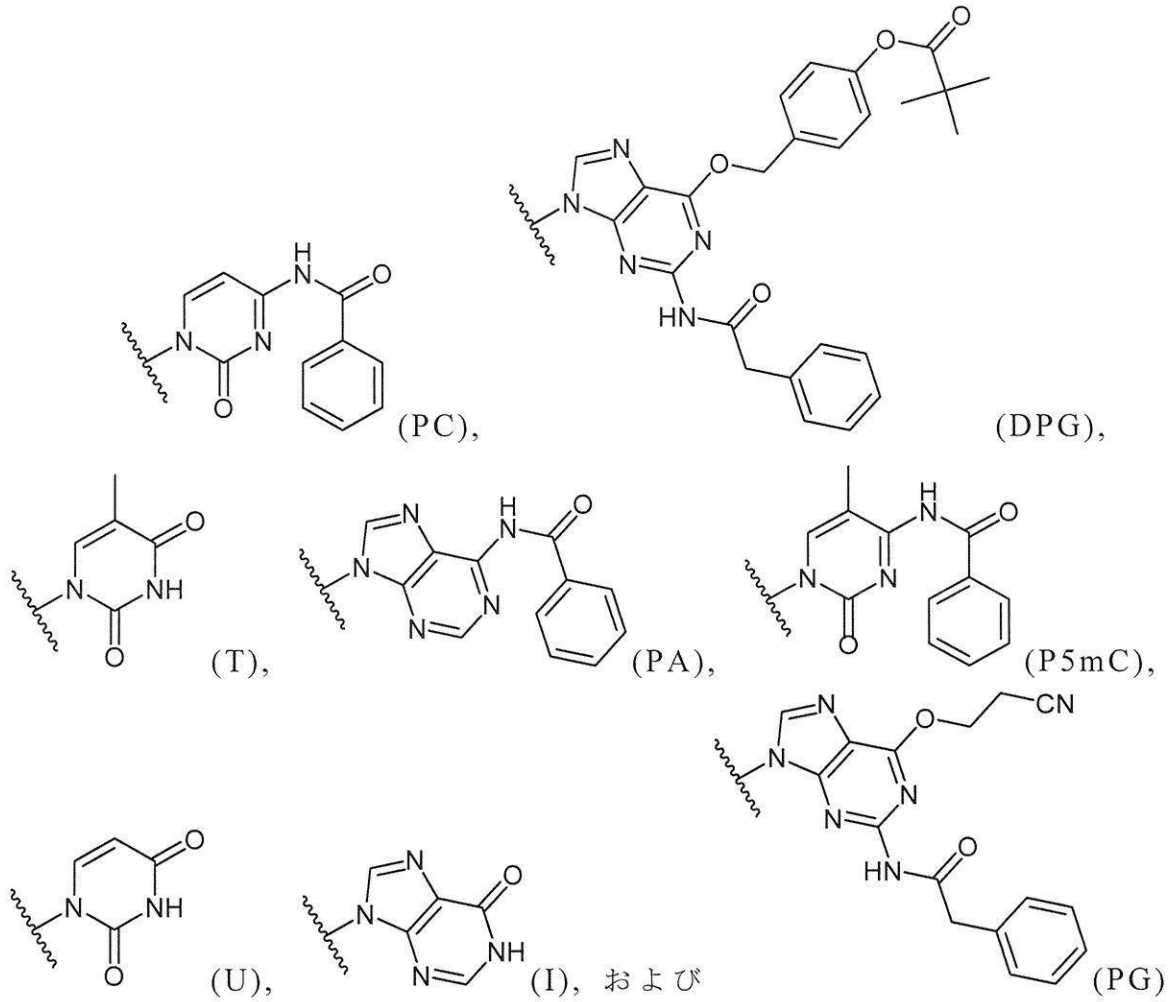
20

30

40

50

【化 1 2 7】



10

20

からなる群から選択される。

【 0 1 2 3】

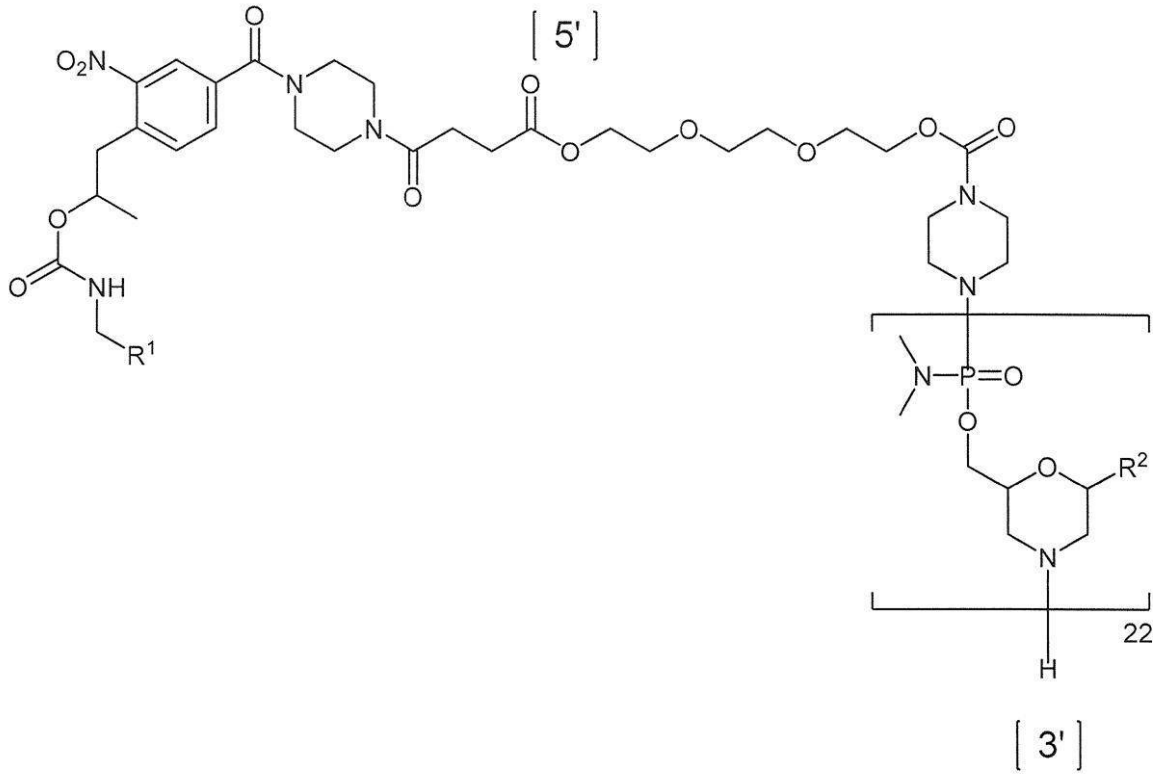
別の態様では、式 (X) :

30

40

50

【化 1 2 8】



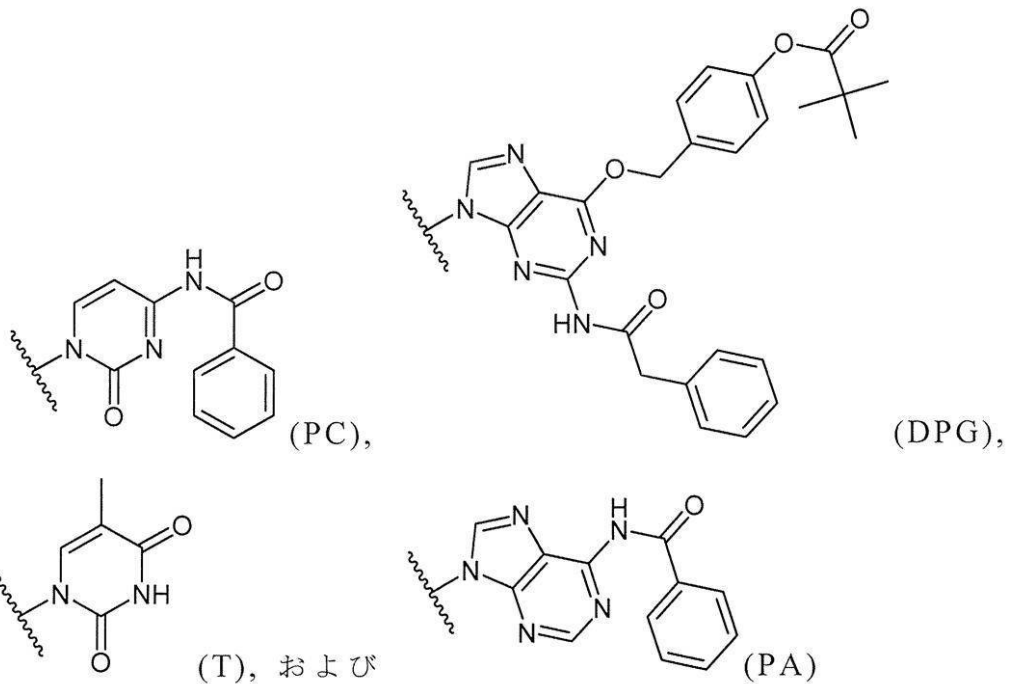
(X)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩が本明細書に提供され、式中、

R¹ は支持媒体であり、

R² は、各出現で独立して、以下：

【化 1 2 9】



からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

10

20

30

40

50

【表 1 6】

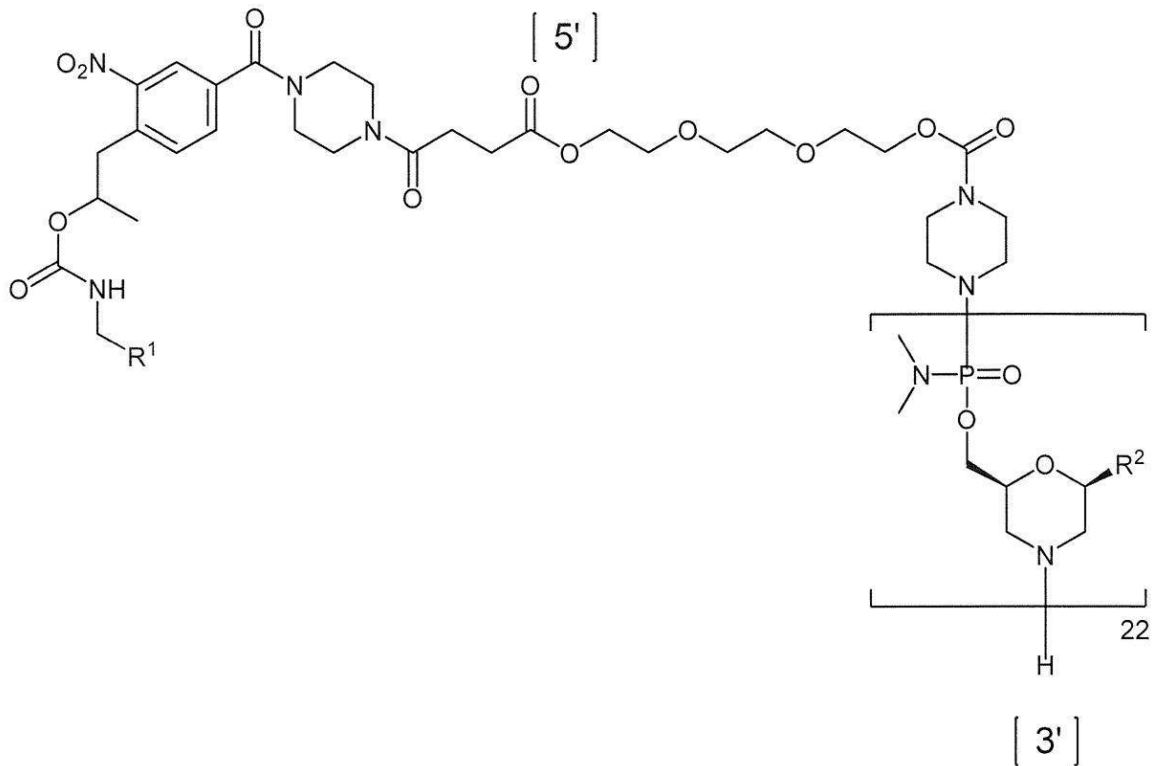
5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である。

【 0 1 2 4】

一実施形態では、式 (X) の化合物は式 (X a) :

【化 1 3 0】



の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、
R¹ は支持媒体であり、
R² は、各出現で独立して、以下：

10

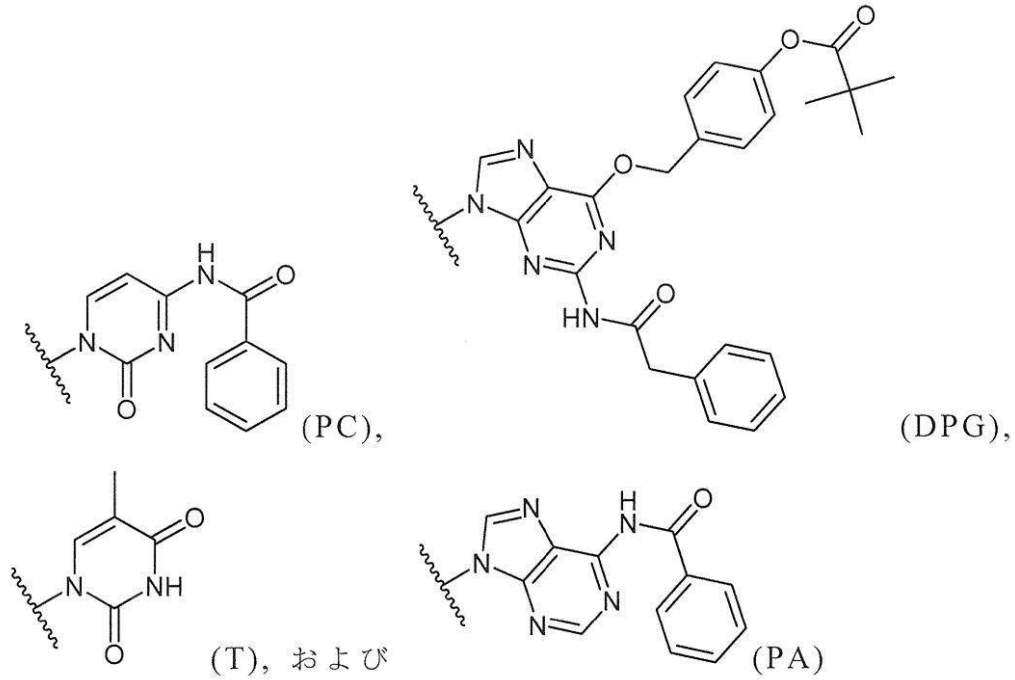
20

30

40

50

【化 1 3 1】



10

20

からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 1 7】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

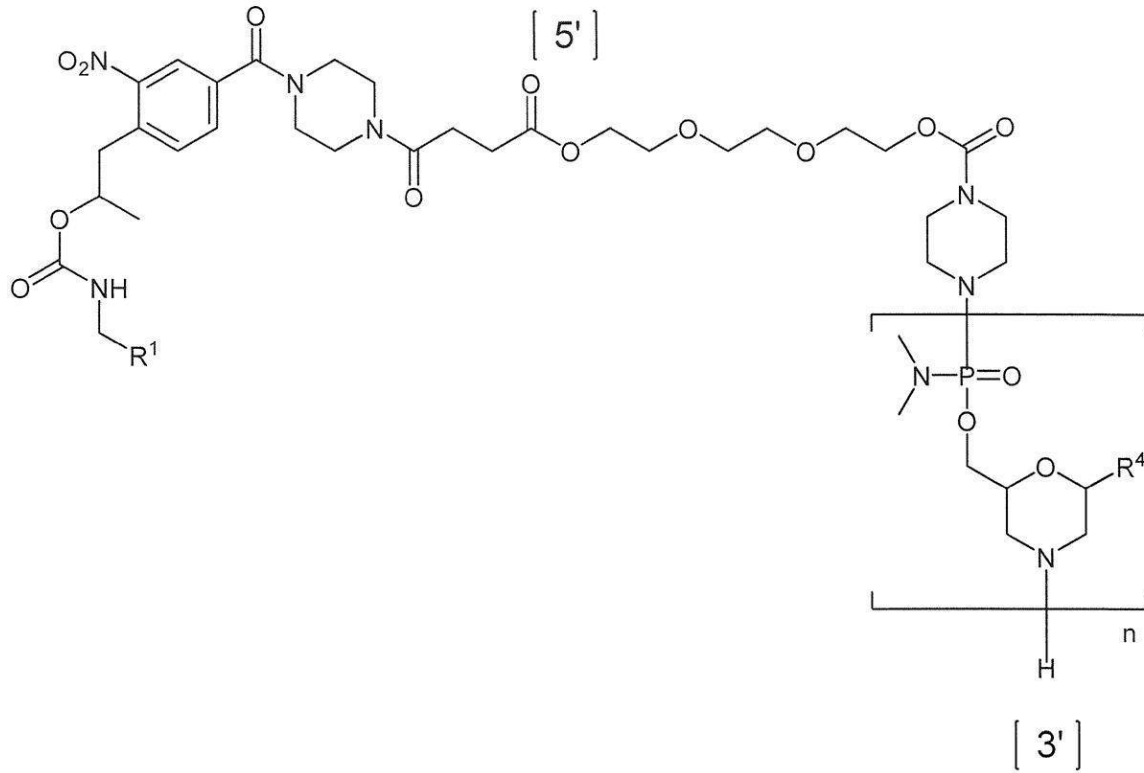
である。

【0 1 2 5】

別の態様では、式(A 1 0)：

50

【化 1 3 2】



10

20

(A10)

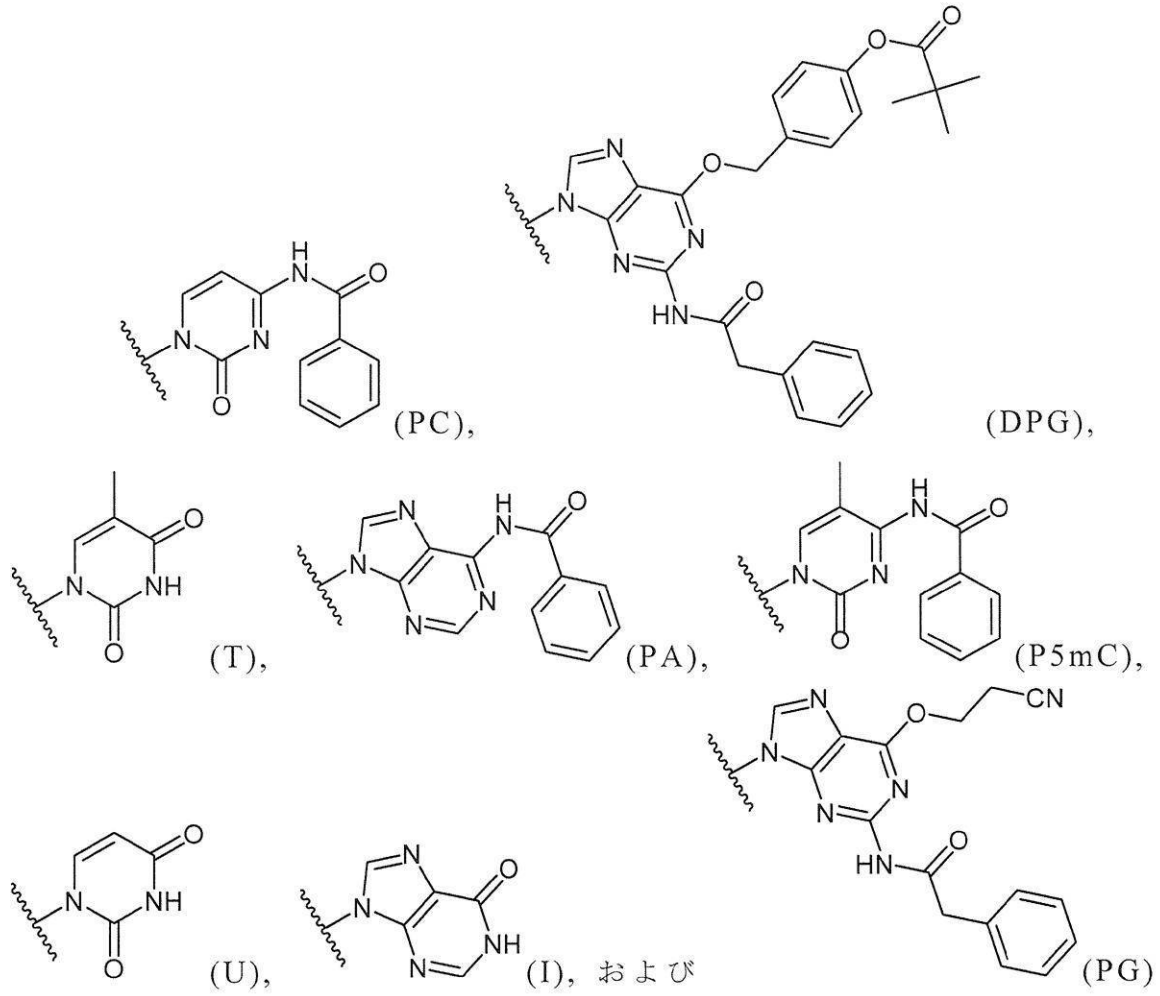
の化合物、またはその医薬的に許容される塩が本明細書に提供され、式中、
 n は 10 ~ 40 の整数であり、
 R^1 は支持媒体であり、
 R^4 は、各出現で独立して、以下：

30

40

50

【化 1 3 3】



10

20

からなる群から選択される。

【 0 1 2 6】

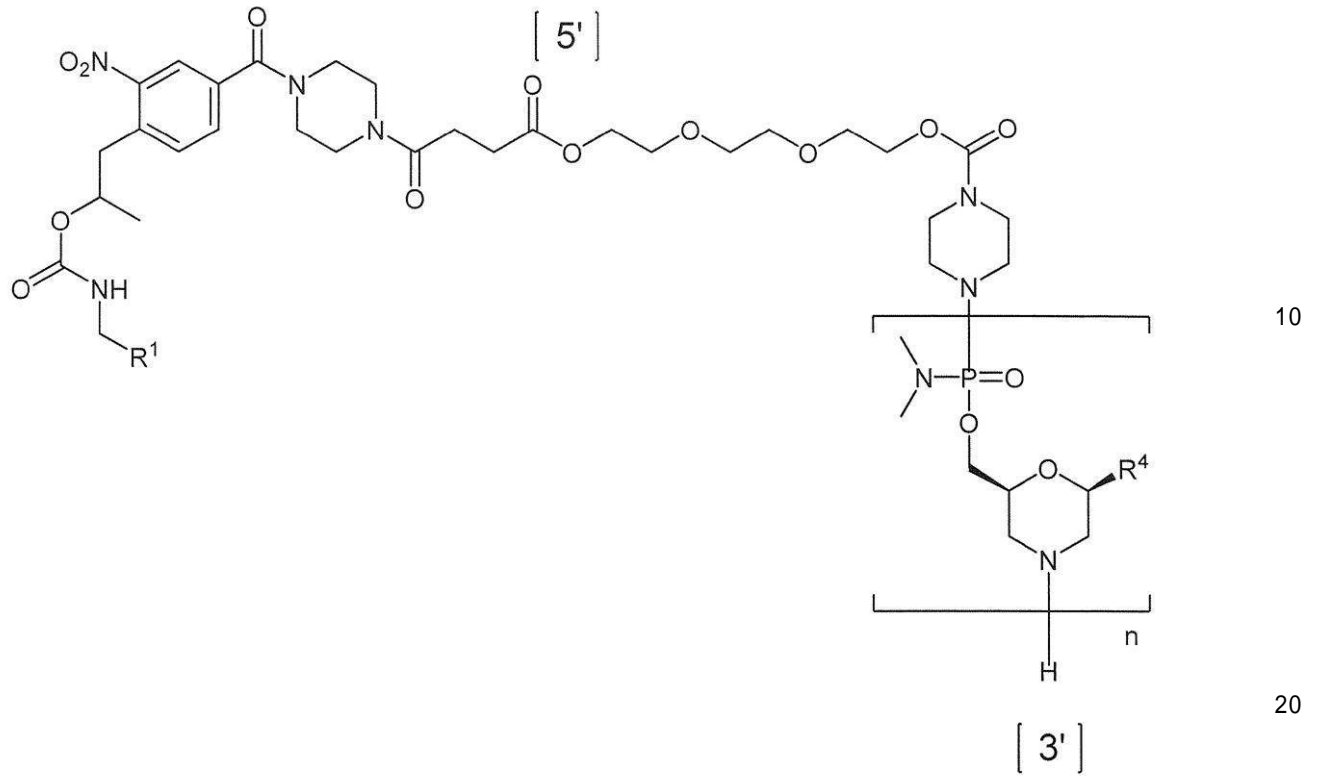
一実施形態では、式 (A 1 0) の化合物は式 (A 1 0 a) :

30

40

50

【化 1 3 4】



(A10a)

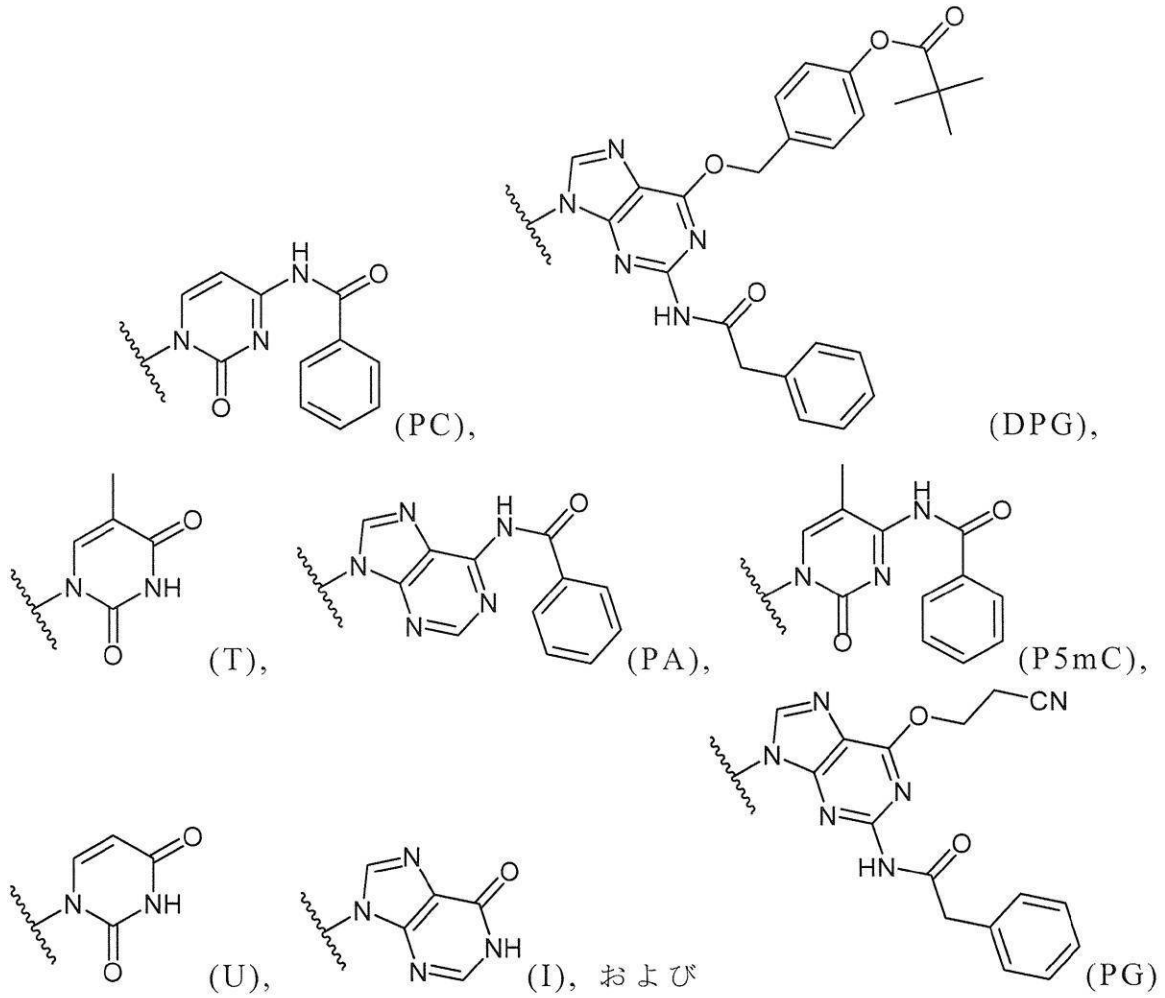
の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、
 n は 10 ~ 40 の整数であり、
 R^1 は支持媒体であり、
 R^4 は、各出現で独立して、以下：

30

40

50

【化 1 3 5】



10

20

からなる群から選択される。

【 0 1 2 7】

これらの化合物の別の実施形態では、支持媒体は、1%ジビニルベンゼン架橋ポリスチレンを含む。

【 0 1 2 8】

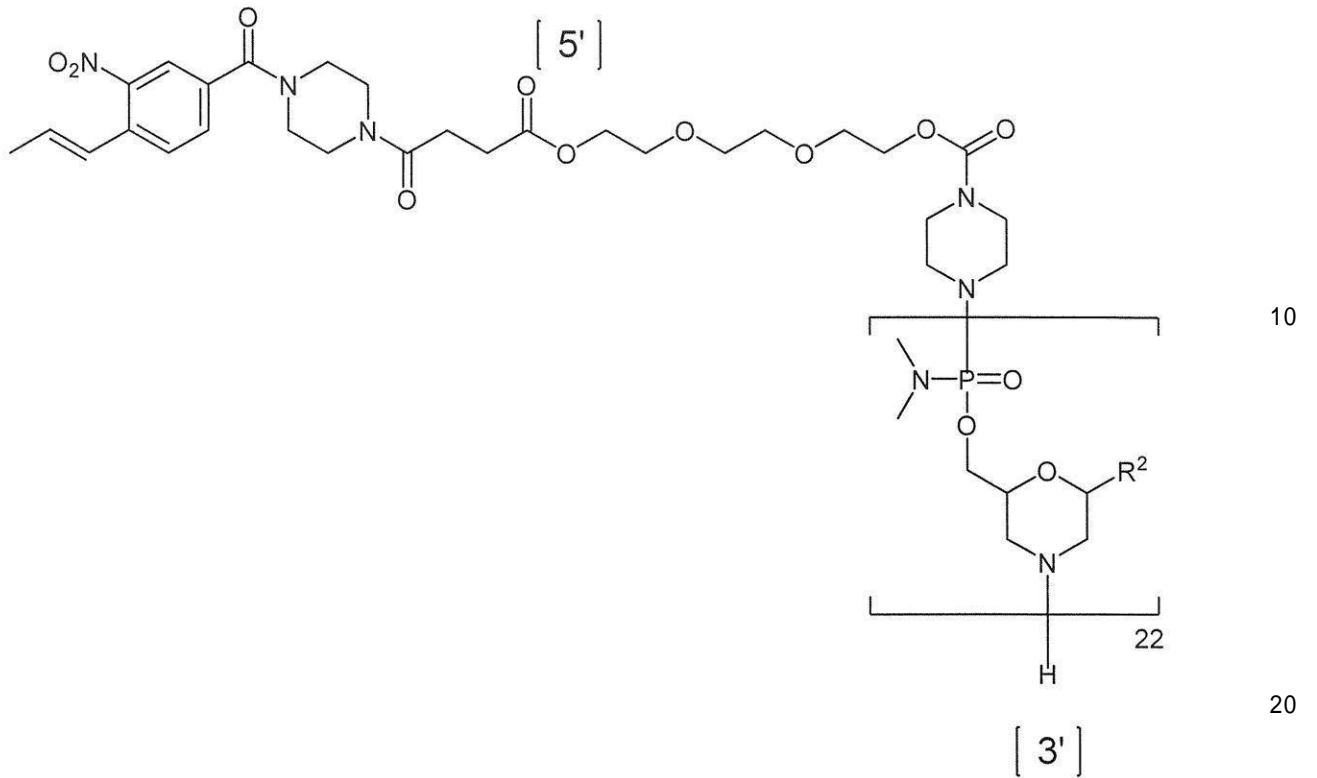
別の態様では、式(XI)：

30

40

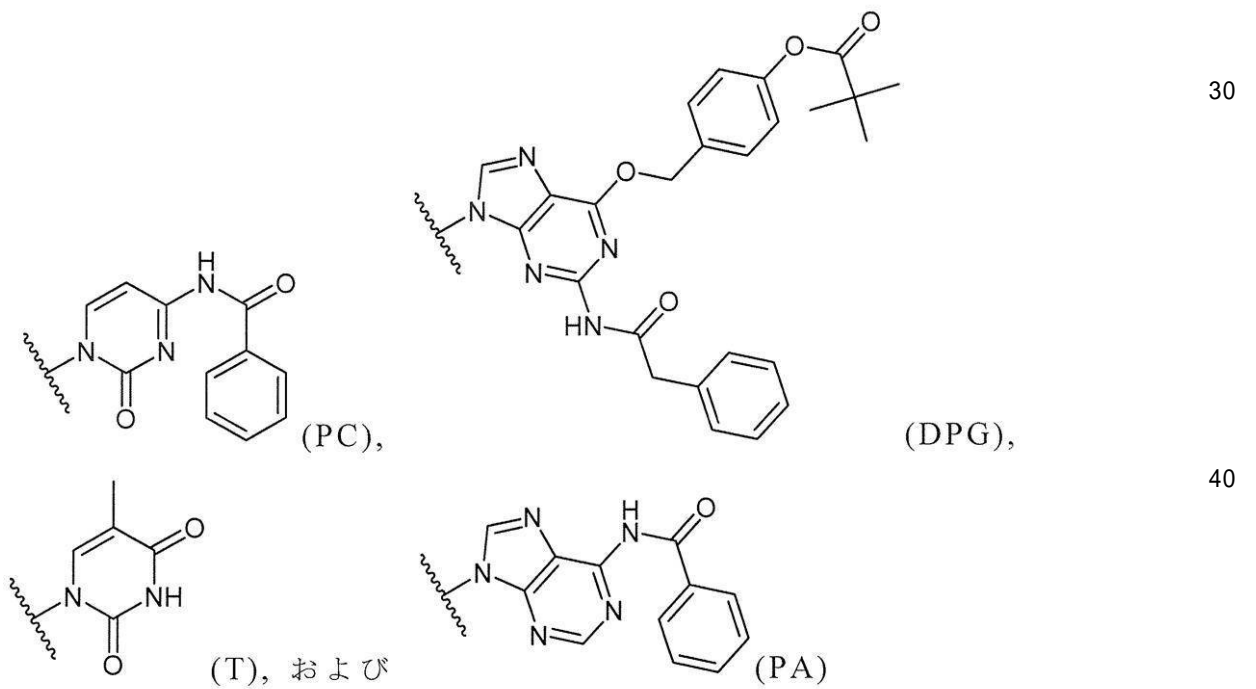
50

【化 1 3 6】



の化合物、またはその医薬的に許容される塩が本明細書に提供され、式中、 R^2 は、各出現で独立して、以下：

【化 1 3 7】



からなる群から選択され、

R^2 は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 18】

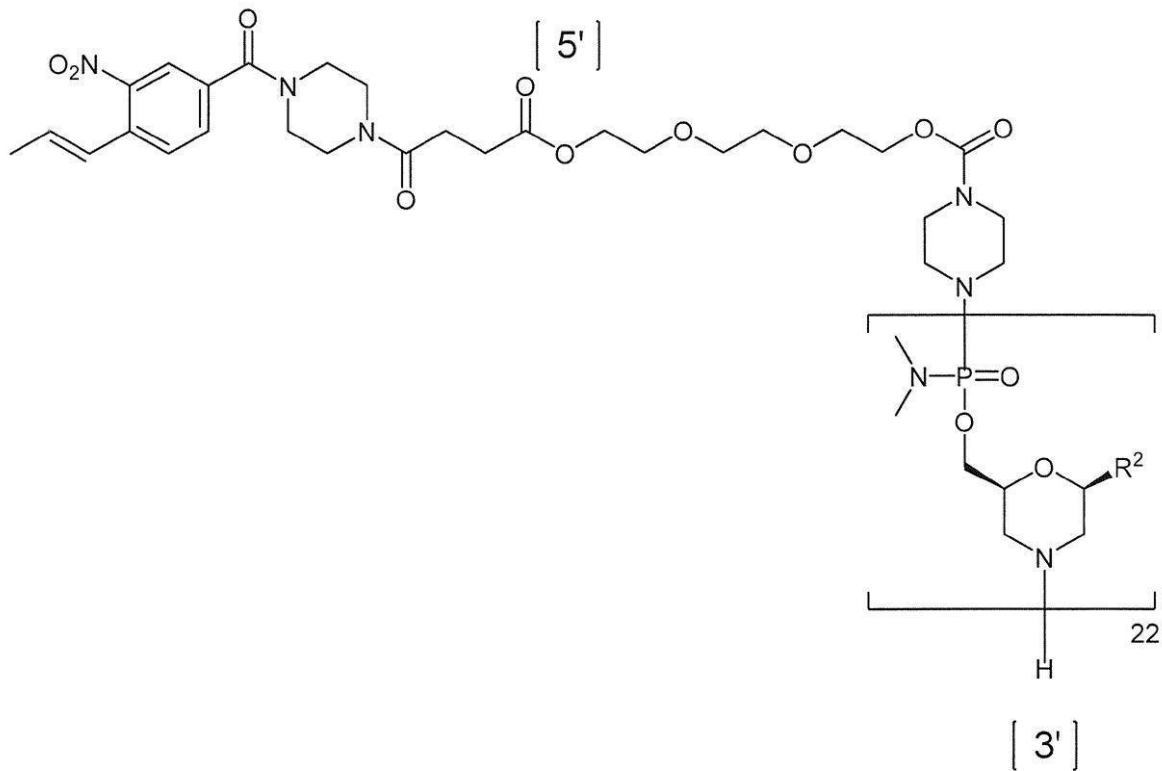
5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である。

【0129】

一実施形態では、式(XI)の化合物は式(XIa)：

【化138】



(XIa)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、R²は、各出現で独立して、以下：

10

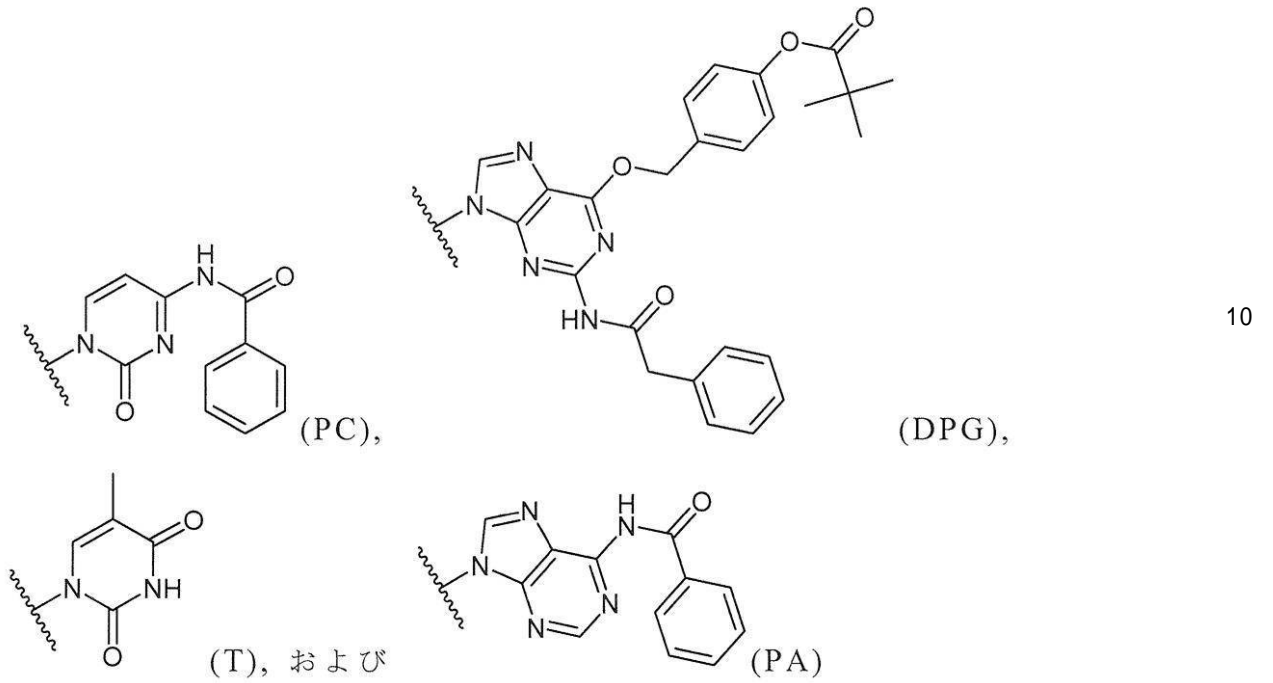
20

30

40

50

【化 1 3 9】



からなる群から選択され、

R² は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 1 9】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である。

【0 1 3 0】

別の態様では、式 (A 1 1)：

10

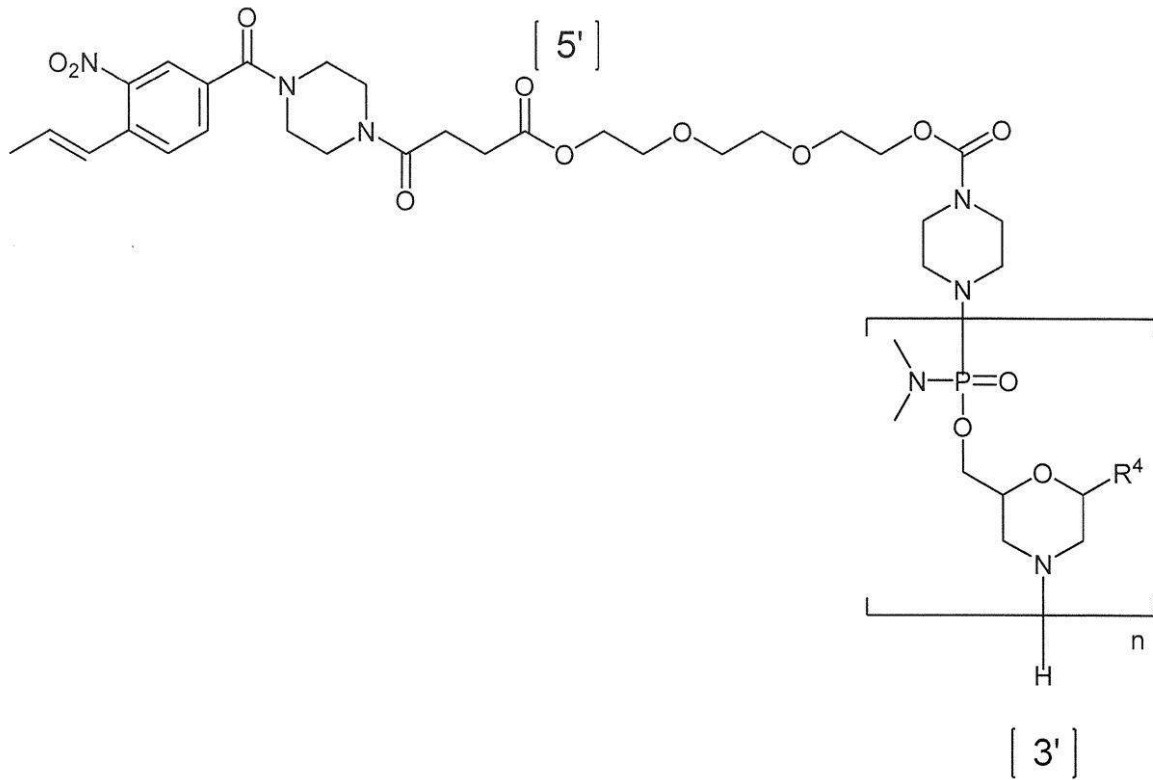
20

30

40

50

【化 1 4 0】



10

20

(A11),

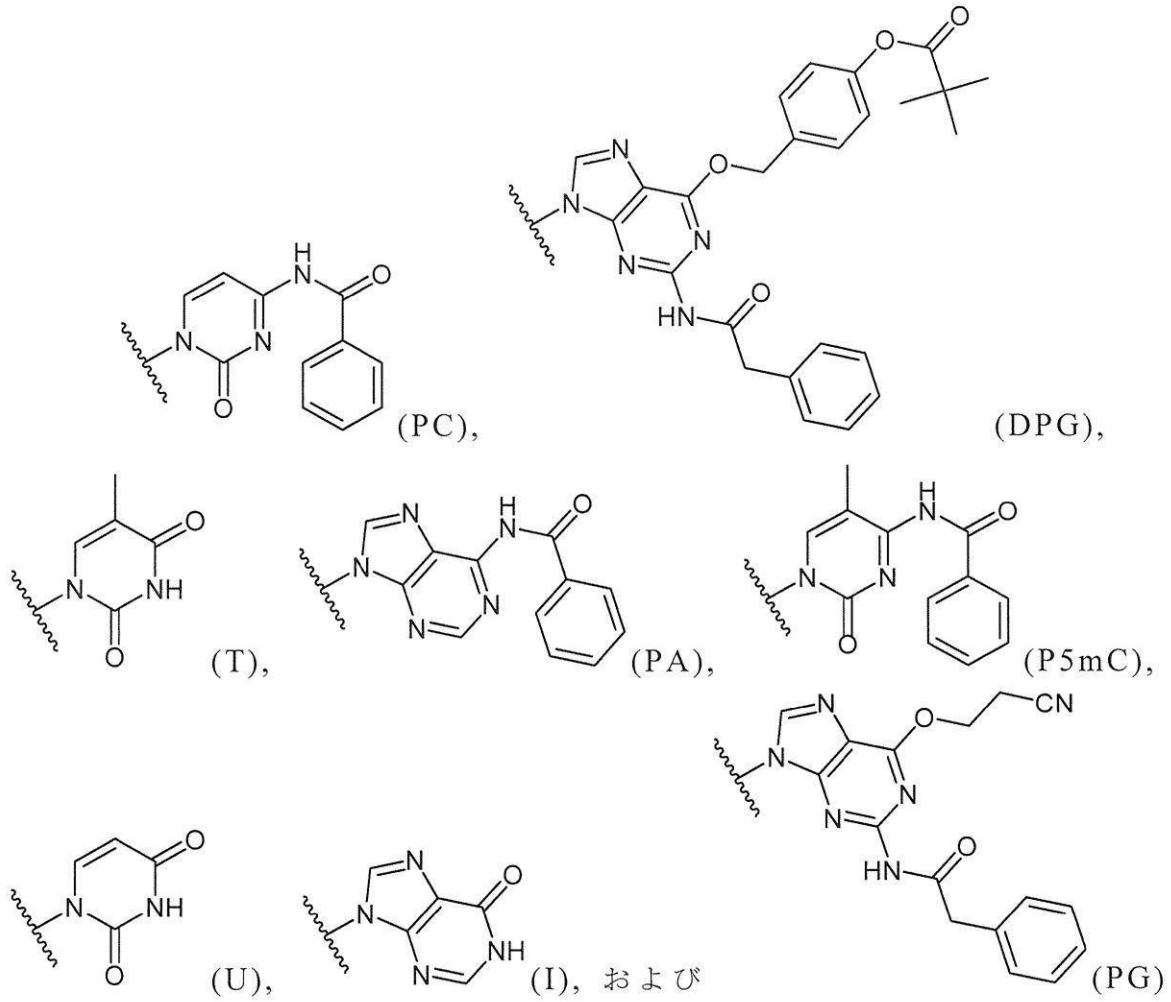
の化合物、またはその医薬的に許容される塩が本明細書に提供され、式中、
 n は 10 ~ 40 の整数であり、
 R^4 は、各出現で独立して、以下：

30

40

50

【化 1 4 1】



10

20

からなる群から選択される。

30

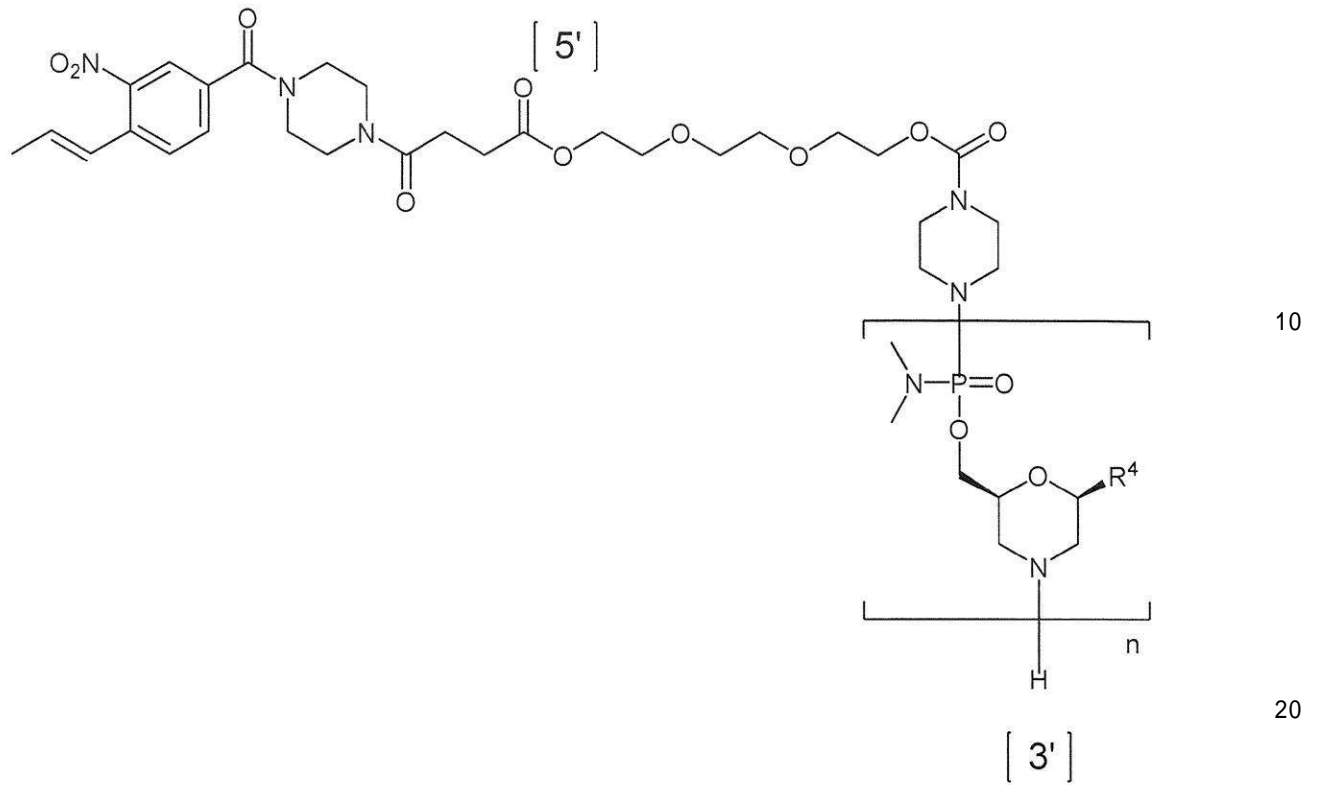
【0 1 3 1】

一実施形態では、式 (A 1 1) の化合物は式 (A 1 1 a) :

40

50

【化 1 4 2】



(A11a)

の化合物、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、
 n は 10 ~ 40 の整数であり、
 R^4 は、各出現で独立して、以下：

10

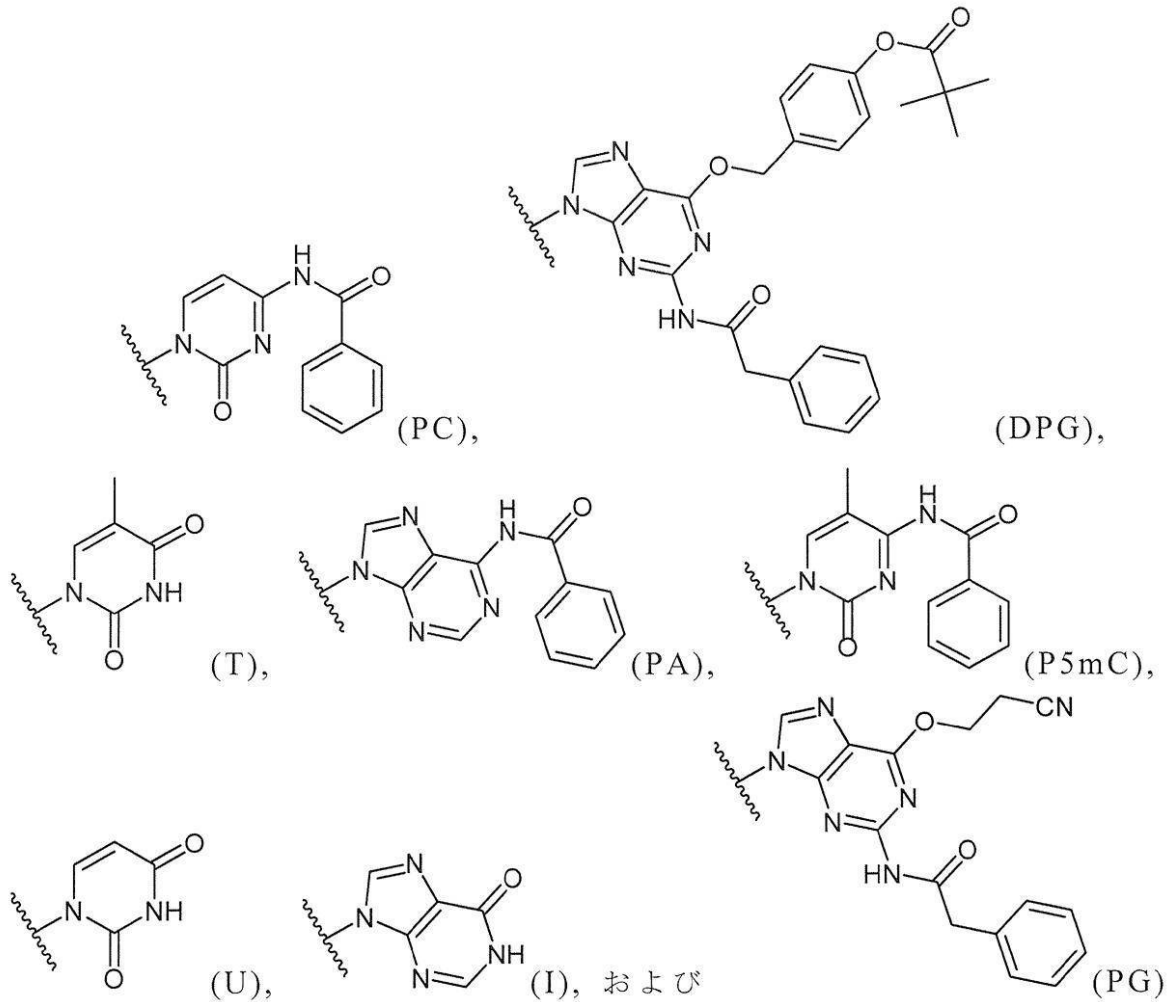
20

30

40

50

【化 1 4 3】



10

20

からなる群から選択される。

【0132】

オリゴマー

モルホリノベースのサブユニットの重要な特性としては、1) 安定な、非荷電、または正に帯電した骨格連結によってオリゴマー形態で連結する能力；2) 形成されたポリマーが標的RNAを含む相補塩基標的核酸とハイブリダイズすることができるようにヌクレオチド塩基（例えば、アデニン、シトシン、グアニン、チミジン、ウラシル、5-メチル-シトシン、およびヒポキサンチン）を支持する能力；3) オリゴマーが哺乳類細胞中に能動的または受動的に輸送される能力；ならびに4) オリゴマーおよびオリゴマー：RNAヘテロ二本鎖のRNaseおよびRNase H分解にそれぞれ耐える能力が挙げられる。

30

【0133】

いくつかの実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、塩基修飾または置換を含有する。例えば、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーの結合親和性を増加させるために、特定の核酸塩基が選択されてもよい。5-メチルシトシン置換は、核酸二本鎖の安定性を0.6~1.2 上昇させることが示されており、本明細書に記載のアンチセンスオリゴマーに組み込まれてもよい。一実施形態では、オリゴマーの少なくとも1つのピリミジン塩基は、5-置換ピリミジン塩基を含み、ピリミジン塩基は、シトシン、チミンおよびウラシルからなる群から選択される。一実施形態では、5-置換ピリミジン塩基は5-メチルシトシンである。別の実施形態では、オリゴマーの少なくとも1つのプリン塩基は、ヒポキサンチンを含む。

40

【0134】

モルホリノベースのオリゴマー（アンチセンスオリゴマーを含む）は、例えば、米国特許

50

第5,698,685号、第5,217,866号、第5,142,047号、第5,034,506号、第5,166,315号、第5,185,444号、第5,521,063号、第5,506,337号、第8,299,206号および第8,076,476号、国際特許出願公開WO/2009/064471およびWO/2012/043730、ならびにSummerton et al. (1997、Antisense and Nucleic Acid Drug Development, 7, 187-195)に詳述されており、これらの各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

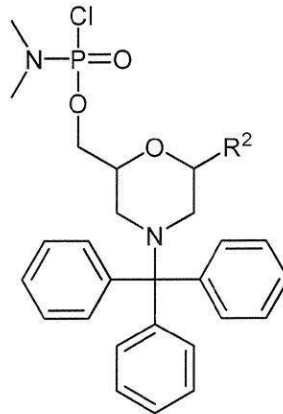
【0135】

本開示のオリゴマー化合物は、不斉中心、キラル軸、およびキラル面を有してもよく（例えば、E. L. Eliel and S. H. Wilen, Stereo-chemistry of Carbon Compounds, John Wiley & Sons, New York, 1994, pages 1119-1190、およびMarch, J., , Advanced Organic Chemistry, 3d. Ed., Chap. 4, John Wiley & Sons, New York (1985)に記載されているような）、光学異性体を含むすべての可能な異性体およびそれらの混合物に関して、ラセミ体、ラセミ混合物として、および個々のジアステレオマーとして、生じてよい。その立体化学のいかなる指示もなく本明細書に具体的に述べられた本開示のオリゴマー化合物は、すべての可能な異性体およびそれらの混合物を表すことを意図している。

【0136】

具体的には、いかなる特定の理論にも縛られることを望むものではないが、本開示のオリゴマー化合物は、本明細書に記載されるように、式(VIII)：

【化144】



(VIII)

の化合物のような非限定的な例などを含む活性化モルホリノサブユニットから調製され、式中、R²は、式(VIII)の各化合物について独立して、以下：

10

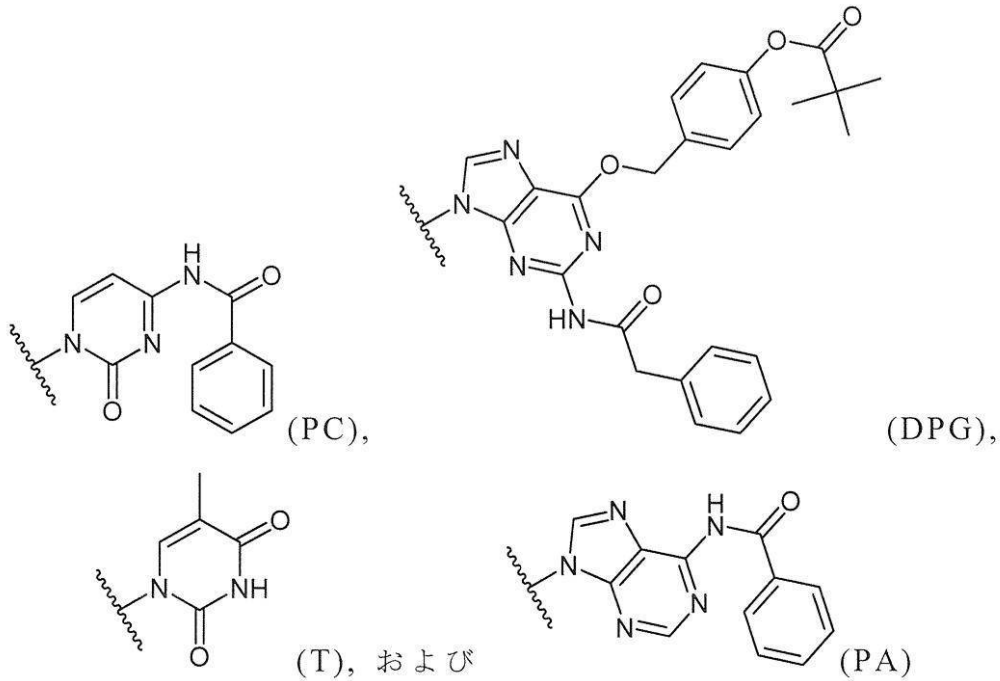
20

30

40

50

【化 1 4 5】



10

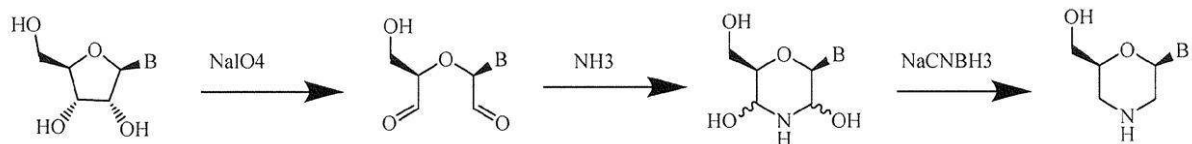
20

からなる群から選択される。

【0137】

上述の式(VIII)の化合物の各々は、例えば、以下に示すような対応するベータ-D-リボフラノシルから調製されてもよい。

【化 1 4 6】



30

Summerton et al., *Antisense & Nucleic Acid Drug Dev.* 7:187-195 (1997)を参照されたい。いかなる特定の理論にも縛られることなく、2つのキラル炭素の立体化学は、例えば、アルファ-L-リボフラノシル、アルファ-D-リボフラノシル、ベータ-L-リボフラノシル、またはベータ-D-リボフラノシル出発物質の選択に基づいて、各モルホリノサブユニットの多くの可能な立体異性体が生成され得るように、合成条件下で保持される。

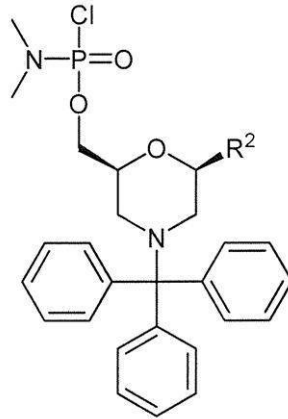
【0138】

例えば、いくつかの実施形態では、本開示の式(VIII)の化合物は、式(VIIIa)：

40

50

【化 1 4 7】

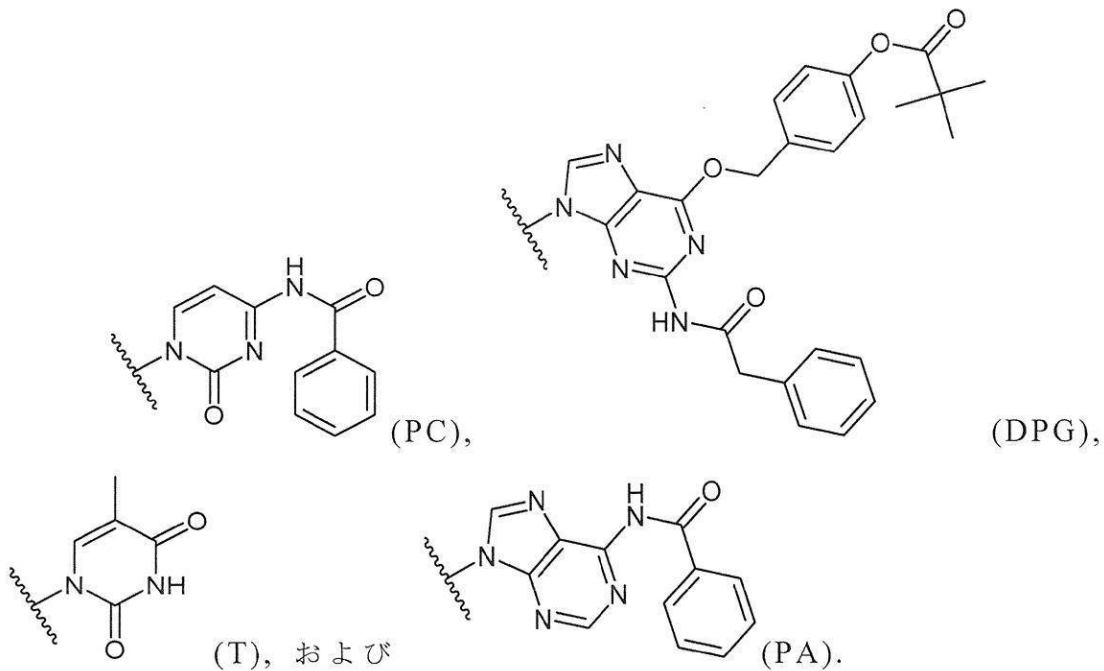


(VIIIa)

10

の化合物であってもよく、式中、 R^2 は、式 (VIIIa) の各化合物について独立して、以下：

【化 1 4 8】



20

30

からなる群から選択される。

【0 1 3 9】

いかなる特定の理論にも縛られることを望むものではないが、10 ~ 40 個の式 (VII I) の化合物の、例えば本開示のオリゴマー化合物中への組み込みは、多数の可能な立体異性体をもたらす得る。

40

【0 1 4 0】

いかなる特定の理論にも縛られることを望むものではないが、本開示のオリゴマー化合物は1つまたは複数のリン含有サブユニット間を含み、それは各リンでキラル中心を作り出し、その各々は、当該技術分野で理解されているように、「 S_p 」または「 R_p 」立体配置と名付けられる。いかなる特定の理論にも縛られることを望むものではないが、このキラリティは、同一の化学組成を有するが、それらの原子の3次元配置が異なる立体異性体を作り出す。

【0 1 4 1】

50

いかなる特定の理論にも縛られることを望むものではないが、各リンサブユニット間連結の立体配置は、例えば、本開示のオリゴマー化合物の合成中にランダムに生じる。いかなる特定の理論にも縛られることを望むものではないが、本開示のオリゴマー化合物は、多数のリンサブユニット間連結で構成され、各リンサブユニット間連結はランダムなキラル立体配置を有するため、合成プロセスは、本開示のオリゴマー化合物の指数関数的に多くの立体異性体を生み出す。具体的には、いかなる特定の理論にも縛られることを望むものではないが、付加されるモルホリノサブユニットの各サブユニット間連結は、生成物の立体異性体の数を2倍にするので、本開示のオリゴマー化合物の従来通りの調製物は、実際は、 2^N 個の立体異性体（ N はリンサブユニット間連結の数を表す）の非常に不均一な混合物である。

10

【0142】

したがって、別段の指示がない限り、例えば、1つまたは複数の立体中心からの1つまたは複数の結合が、当該技術分野で理解されるであろうように、「-」または「~~」または等価物で示されるような場合、ジアステレオマーおよびエナンチオマーの混合物、ならびに純粋なエナンチオマーおよびジアステレオマーを含む、すべてのそのような異性体が含まれる。

【0143】

表1は、本明細書に記載のプロセスで提供されるモルホリノサブユニットの様々な実施形態を示す。

20

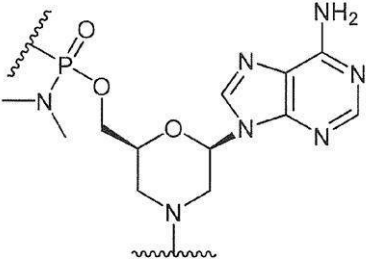
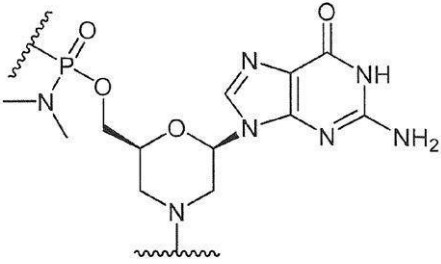
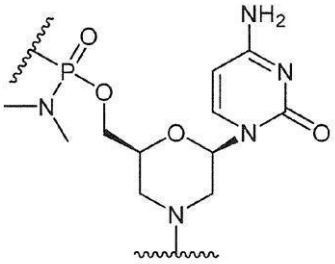
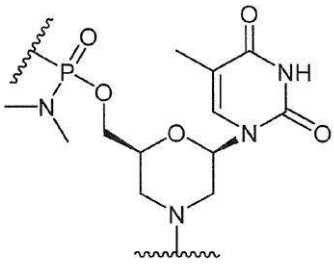
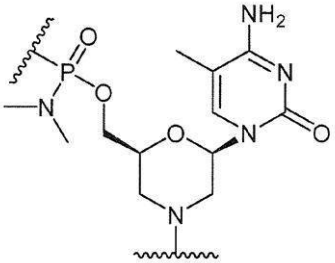
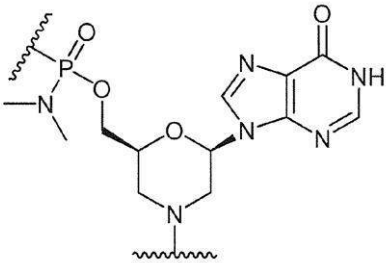
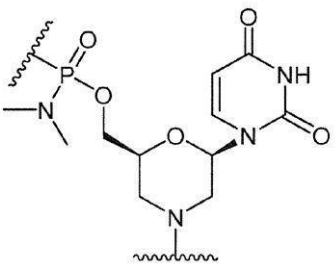
30

40

50

【表 1】

表 1：モルホリノサブユニットの様々な実施形態

<p>A =</p> 	<p>G =</p> 	10
<p>C =</p> 	<p>T =</p> 	20
<p>5-Me-C =</p> 	<p>I =</p> 	30
<p>U =</p> 		

【実施例】

【0144】

実施例

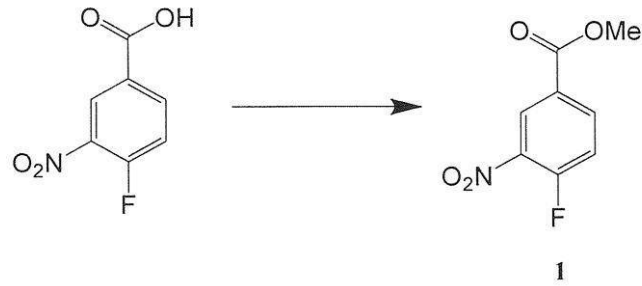
実施例は、例示の目的のために、および本開示のある特定の実施形態を説明するために、以下に記載されている。しかしながら、特許請求の範囲は、本明細書に記載された実施例によって何ら限定されるものではない。開示された実施形態に対する様々な変更および修正は当業者には明らかであり、本開示の化学構造、置換基、誘導体、配合物または方法に関するものを含むがこれらに限定されないそのような変更および修正が、本開示の趣旨および添付の特許請求の範囲から逸脱することなくなされてもよい。本明細書のスキーム中の構造における変数の定義は、本明細書に提示される式中の対応する位置のものに一致する。

【0145】

実施例 1：NCP2 アンカー合成

1. 4-フルオロ-3-ニトロ安息香酸メチル(1)の調製

【化149】



10

100 L フラスコに 12.7 kg の 4 - フルオロ - 3 - ニトロ安息香酸を入れ、40 kg のメタノールおよび 2.82 kg の濃硫酸を加えた。混合物を還流 (65) しながら 36 時間攪拌した。反応混合物を 0 に冷却した。38 で結晶が生じた。混合物を 0 で 4 時間保持し、その後、窒素下で濾過した。100 L フラスコを洗浄し、0 に冷却された 10 kg のメタノールで濾過ケーキを洗浄した。固体濾過ケーキを漏斗上で 1 時間乾燥し、トレーに移し、真空オーブンで室温にて一定重量まで乾燥して 13.695 kg の 4 - フルオロ - 3 - ニトロ安息香酸メチルとした (100% 収率、HPLC 99%)。

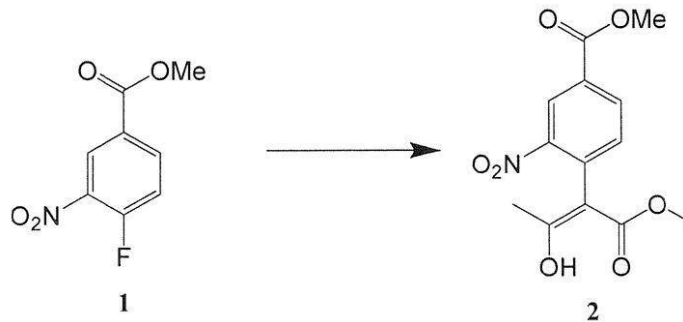
【0146】

2. 3 - ニトロ - 4 - (2 - オキソプロピル) 安息香酸の調製

A. (Z) - メチル 4 - (3 - ヒドロキシ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタ - 2 - エン - 2 - イル) - 3 - ニトロベンゾエート (2)

20

【化150】



30

100 L フラスコに、前のステップからの 3.98 kg の 4 - フルオロ - 3 - ニトロ安息香酸メチル (1)、9.8 kg の DMF、2.81 kg のアセト酢酸メチルを入れた。混合物を攪拌し、0 に冷却した。これに 3.66 kg の DBU を、温度を 5 以下に維持しながら約 4 時間かけて加えた。混合物をさらに 1 時間攪拌した。反応温度を 15 以下に維持しながら、反応フラスコに 37.5 kg の精製水中の 8.15 kg のクエン酸の溶液を加えた。加えた後、反応混合物をさらに 30 分間攪拌し、その後、窒素下で濾過した。ウェット濾過ケーキを 14.8 kg の精製水と共に 100 L フラスコに戻した。スラリーを 10 分間攪拌し、その後濾過した。ウェットケーキを再度 100 L フラスコに戻し、14.8 kg の精製水で 10 分間スラリー化し、濾過して、粗 (Z) - メチル 4 - (3 - ヒドロキシ - 1 - メトキシ - 1 - オキソブタ - 2 - エン - 2 - イル) - 3 - ニトロベンゾエートとした。

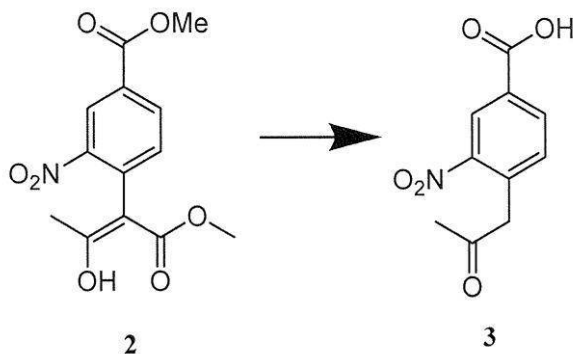
40

【0147】

B. 3 - ニトロ - 4 - (2 - オキソプロピル) 安息香酸

50

【化 1 5 1】



10

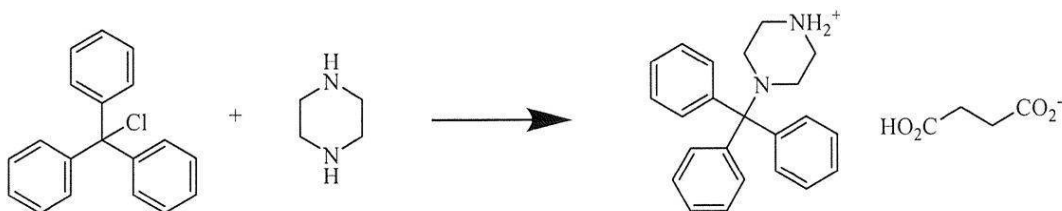
粗 (Z) - メチル 4 - (3 - ヒドロキシ - 1 - メトキシ - 1 - オキソプロタ - 2 - エン - 2 - イル) - 3 - ニトロベンゾエートを窒素下で 100 L 反応フラスコに入れた。これに 14.2 kg の 1,4 - ジオキサンを加え、攪拌した。混合物に 16.655 kg の濃塩酸および 13.33 kg の精製水の溶液 (6 M HCl) を、反応混合物の温度を 15 未満に維持しながら 2 時間かけて加えた。加え終わったら、反応混合物を還流 (80) しながら 24 時間加熱し、室温まで冷却して、窒素下で濾過した。固体濾過ケーキを 14.8 kg の精製水で粉砕し、濾過し、14.8 kg の精製水で再度粉砕し、濾過した。固体を 39.9 kg の DCM と共に 100 L フラスコに戻し、1 時間攪拌しながら還流した。1.5 kg の精製水を残っている固体を溶解するために加えた。下層の有機層を予熱した 7.2 L フラスコに分け、その後清浄な乾燥した 100 L フラスコに戻した。溶液を 0 に冷却し、1 時間保持し、その後濾過した。固体濾過ケーキを 2 回、それぞれ 9.8 kg の DCM および 5 kg のヘプタンの溶液で洗浄し、その後、漏斗上で乾燥した。固体をトレーに移し、一定重量まで乾燥して 1.855 kg の 3 - ニトロ - 4 - (2 - オキソプロピル) 安息香酸とした。化合物 1 からの全体の収率 42 %。HPLC 99.45 %。

20

【 0 1 4 8 】

3. N - トリチルピペラジンコハク酸塩 (NTP) の調製

【化 1 5 2】



30

7.2 L ジャケット付きフラスコに窒素下で 1.805 kg の塩化トリフェニルメチルおよび 8.3 kg のトルエンを入れた (TPC 溶液)。混合物を固体が溶解するまで攪拌した。100 L ジャケット付き反応フラスコに窒素下で 5.61 kg のピペラジン、19.9 kg のトルエン、および 3.72 kg のメタノールを加えた。混合物を攪拌し、0 に冷却した。これに TPC 溶液を少しずつ、反応温度を 10 以下に維持しながら 4 時間かけてゆっくりと加えた。混合物を 10 で 1.5 時間攪拌し、その後、14 に昇温させた。32.6 kg の精製水を 7.2 L フラスコに入れ、その後、内部バッチ温度を 20 ± 5 に維持しながら 100 L フラスコに移した。層を分かれさせ、下層の水層を分離および保存した。有機層を 3 回、各 3.2 kg の精製水で抽出し、水層を分離し、保存しておいた水溶液と合わせた。

40

【 0 1 4 9 】

残っている有機層を 18 に冷却し、10.87 kg 精製水中の 8.47 g のコハク酸の溶液を有機層に少しずつゆっくりと加えた。混合物を 20 ± 5 で 1.75 時間攪拌した。混合物を濾過し、固体を 2 kg の TBME および 2 kg のアセトンで洗浄し、その後、漏

50

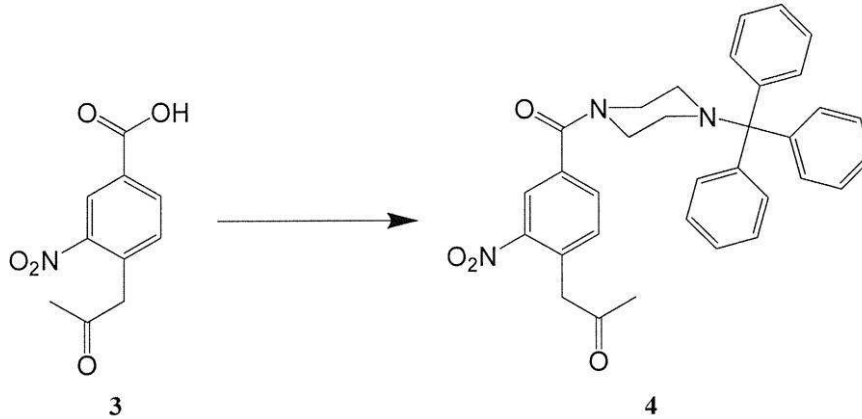
斗上で乾燥した。濾過ケーキを2回、各5.7kgのアセトンで粉碎し、粉碎と粉碎の間に濾過し、1kgのアセトンで洗浄した。固体を漏斗上で乾燥し、その後、トレーに移し、真空オーブンで室温にて一定重量まで乾燥して2.32kgのNTPとした。収率80%。

【0150】

4. (4-(2-ヒドロキシプロピル)-3-ニトロフェニル)(4-トリチルピペラジン-1-イル)メタノンの調製

A. 1-(2-ニトロ-4-(4-トリチルピペラジン-1-カルボニル)フェニル)プロパン-2-オンの調製

【化153】



100Lジャケット付きフラスコに窒素下で2kgの3-ニトロ-4-(2-オキソプロピル)安息香酸(3)、18.3kgのDCM、1.845kgのN-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド塩酸塩(EDC·HCl)を入れた。均一な混合物が形成されるまで溶液を撹拌した。3.048kgのNTPを30分かけて室温で加え、8時間撹拌した。5.44kgの精製水を反応混合物に加え、30分間撹拌した。層を分離させ、生成物を含む下層の有機層を排出および保存した。水層を5.65kgのDCMで2回抽出した。合わせた有機層を4.08kgの精製水中の1.08kgの塩化ナトリウムの溶液で洗浄した。有機層を1.068kgの硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過した。硫酸ナトリウムを1.3kgのDCMで洗浄した。合わせた有機層を252gのシリカゲルでスラリー化し、252gのシリカゲルのベッドを含む濾過用漏斗を通して濾過した。シリカゲルベッドを2kgのDCMで洗浄した。合わせた有機層をロータリーエバポレータで留去した。4.8kgのTHFを残留物に加え、その後、THF中の粗1-(2-ニトロ-4-(4-トリチルピペラジン-1-カルボニル)フェニル)プロパン-2-オンが2.5倍量に達するまでロータリーエバポレータで留去した。

【0151】

B. (4-(2-ヒドロキシプロピル)-3-ニトロフェニル)(4-トリチルピペラジン-1-イル)メタノン(5)の調製

10

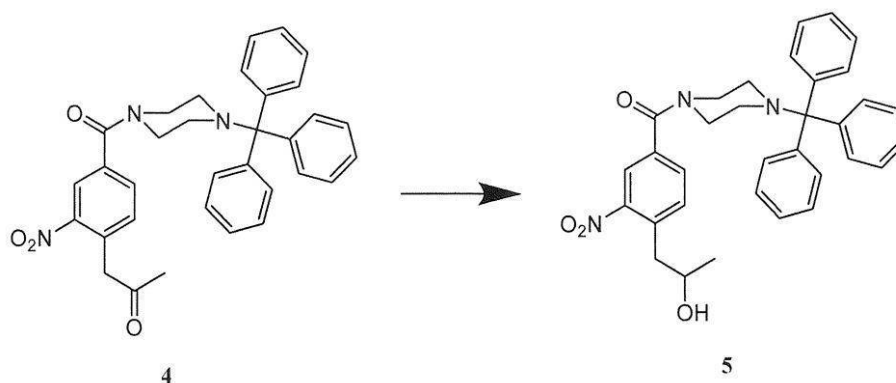
20

30

40

50

【化 1 5 4】



10

100 L ジャケット付きフラスコに窒素下で前のステップからの 3600 g の 4 および 9800 g の THF を入れた。攪拌した溶液を 5 以下に冷却した。溶液を 11525 g のエタノールで希釈し、194 g の水素化ホウ素ナトリウムを 5 以下で約 2 時間かけて加えた。反応混合物を 5 以下でさらに 2 時間攪拌した。約 3 kg の水中の約 1.1 kg の塩化アンモニウムの溶液を、温度を 10 以下に維持するためにゆっくりと加えることにより、反応をクエンチした。反応混合物をさらに 30 分間攪拌し、濾過して無機物を除去し、100 L ジャケット付きフラスコに再び入れ、23 kg の DCM で抽出した。有機層を分離し、水層をさらに 2 回、各 4.7 kg の DCM で抽出した。合わせた有機層を、約 3 kg の水中の約 800 g の塩化ナトリウムの溶液で洗浄し、その後 2.7 kg の硫酸ナトリウムで乾燥した。懸濁液を濾過し、濾過ケーキを 2 kg の DCM で洗浄した。合わせた濾液を 2.0 倍量に濃縮し、360 g の酢酸エチルで希釈し、留去した。粗生成物を、窒素下で DCM で充填した 4 kg のシリカのシリカゲルカラムにかけ、7.2 kg の DCM 中の 2.3 kg の酢酸エチルで溶出した。合わせた画分を留去し、残留物を 11.7 kg のトルエンに取り入れた。トルエン溶液を濾過し、濾過ケーキを 2 回、各 2 kg のトルエンで洗浄した。濾過ケーキを一定重量まで乾燥して 2.275 kg の化合物 5 とした (化合物 3 からの収率 46%)、HPLC 96.99%。

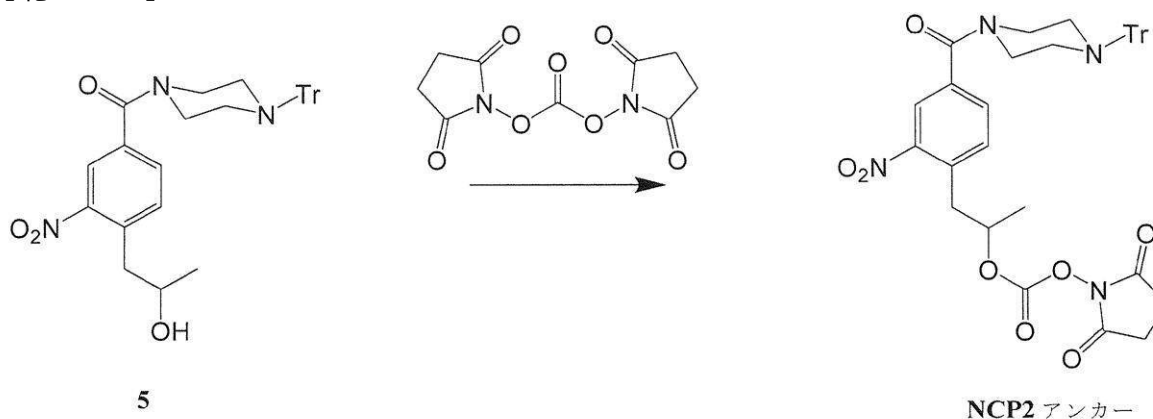
20

【0152】

5. 炭酸 2,5-ジオキソピロリジン-1-イル(1-(2-ニトロ-4-(4-トリフェニルメチルピペラジン-1-カルボニル)フェニル)プロパン-2-イル)(NCP2 アンカー)の調製

30

【化 1 5 5】



40

100 L ジャケット付きフラスコに窒素下で 4.3 kg の化合物 5 (重量は ^1H NMR による残留トルエンに基づいて調整され、この後のすべての試薬はそれにしたがってスケールを合わせた) および 12.7 kg のピリジンを入れた。これに 3.160 kg の DSC (^1H NMR で 78.91 重量%) を、内部温度を 35 以下に維持しながら入れた。反応混合物を周囲条件で約 22 時間熟成させ、その後濾過した。濾過ケーキを 200 g

50

のピリジンで洗浄した。濾液体積の1/2を各々含む2つのバッチで、約50kgの水中の約11kgのクエン酸の溶液を含有する100Lジャケット付きフラスコに濾液をゆっくりと入れ、30分間攪拌して固体を沈殿させた。固体を濾過用漏斗で回収し、1回の洗浄につき4.3kgの水で2回洗浄し、濾過用漏斗上で真空乾燥した。

【0153】

合わせた固体を100Lジャケット付きフラスコに入れ、28kgのDCM中に溶解させ、4.3kgの水中の900gの炭酸カリウムの溶液で洗浄した。1時間後、層を分離させ、水層を除去した。有機層を10kgの水で洗浄し、分離し、3.5kgの硫酸ナトリウムで乾燥した。DCMを濾過し、留去し、真空乾燥して6.16kgのNCP2アンカーとした(114%収率)。

【0154】

実施例2：アンカー担持樹脂合成

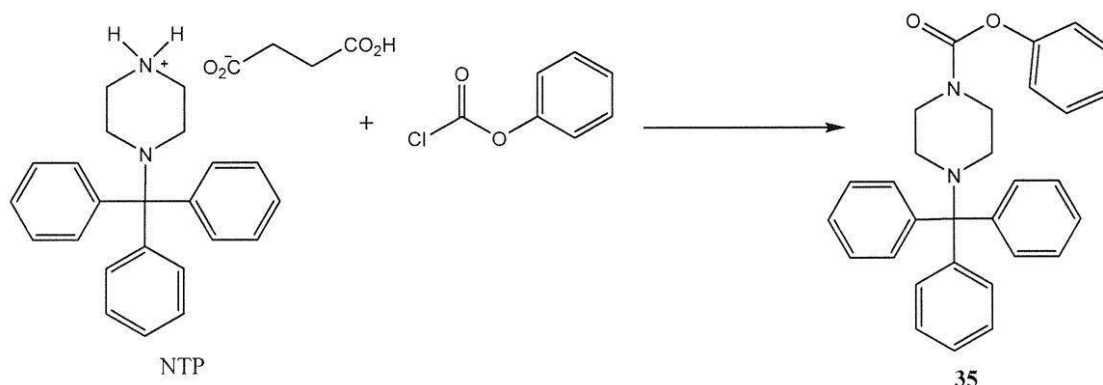
75L固相合成反応器に、約52LのNMPおよび2600gのアミノメチルポリスチレン樹脂を入れた。樹脂をNMP中で攪拌し、約2時間膨潤させ、その後排出した。樹脂を1回の洗浄につき約39LのDCMで2回洗浄し、その後1回の洗浄につき39Lの中和溶液で2回洗浄し、その後1回の洗浄につき39LのDCMで2回洗浄した。攪拌中の樹脂溶液にNCP2アンカー溶液をゆっくりと加え、室温で24時間攪拌し、排出した。樹脂を1回の洗浄につき39LのNMPで4回洗浄し、1回の洗浄につき39LのDCMで6回洗浄した。樹脂をDEDCキャッピング溶液の1/2で30分間処理および攪拌し、排出し、2回目の1/2のDEDCキャッピング溶液で30分間処理および攪拌し、排出した。樹脂を1回の洗浄につき39LのDCMで6回洗浄し、その後オーブンで一定重量まで乾燥して3573.71gのアンカー担持樹脂とした。

【0155】

実施例3：活性化EG3テルの調製

1. トリチルピペラジンフェニルカルバメート(35)の調製

【化156】



冷却したジクロロメタン(6mL/g NTP)中のNTPの懸濁液に、水(4mL/g炭酸カリウム)中の炭酸カリウム(3.2等量)の溶液を加えた。この2相混合物に、ジクロロメタン(2g/gクロロギ酸フェニル)中のクロロギ酸フェニル(1.03等量)の溶液をゆっくりと加えた。反応混合物を20℃に加熱した。反応が完了したら(1~2時間)、層を分離した。有機層を水洗し、無水炭酸カリウムで乾燥した。生成物35をアセトニトリルからの結晶化により単離した。収率=80%。

【0156】

2. カルバメートアルコール(36)の調製

10

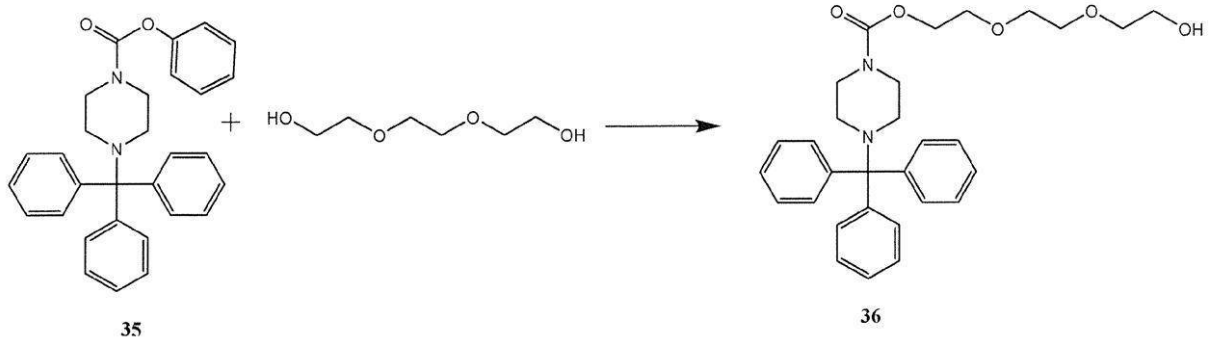
20

30

40

50

【化 1 5 7】



10

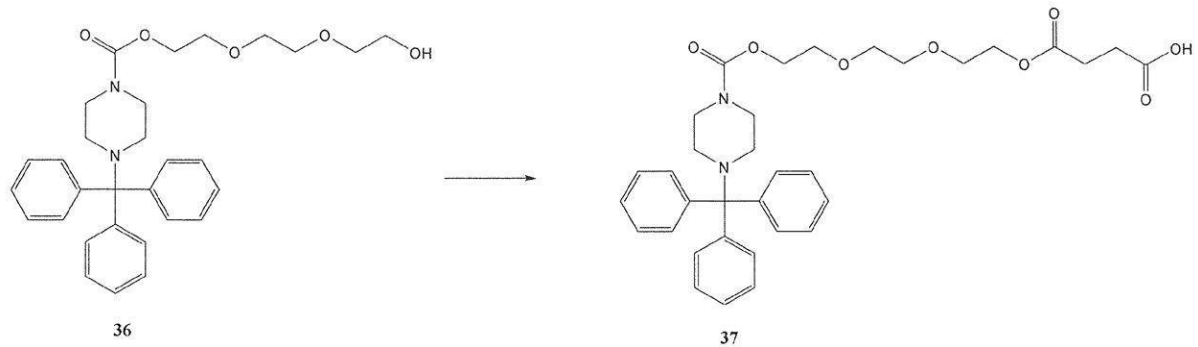
水素化ナトリウム（1.2 等量）を 1 - メチル - 2 - ピロリドン（32 mL / g 水素化ナトリウム）中に懸濁させた。この懸濁液にトリエチレングリコール（10.0 等量）および化合物 35（1.0 等量）を加えた。結果として生じるスラリーを 95 に加熱した。反応が完了したら（1 ~ 2 時間）、混合物を 20 に冷却した。この混合物に 30% ジクロロメタン / メチル *tert* - ブチルエーテル（v : v）および水を加えた。生成物含有有機層を NaOH 水溶液、コハク酸水溶液、および飽和塩化ナトリウム水溶液で連続して洗浄した。生成物 36 をジクロロメタン / メチル *tert* - ブチルエーテル / ヘプタンからの結晶化により単離した。収率 = 90%。

【 0 1 5 7】

20

3. EG3 テール酸（37）の調製

【化 1 5 8】



30

テトラヒドロフラン（7 mL / g 36）中の化合物 36 の溶液に、無水コハク酸（2.0 等量）および DMA P（0.5 等量）を加えた。混合物を 50 に加熱した。反応が完了したら（5 時間）、混合物を 20 に冷却し、NaHCO₃ 水溶液で pH 8.5 に調整した。メチル *tert* - ブチルエーテルを加え、生成物を水層に抽出した。ジクロロメタンを加え、混合物をクエン酸水溶液で pH 3 に調整した。生成物含有有機層を pH = 3 のクエン酸緩衝液と飽和塩化ナトリウム水溶液との混合物で洗浄した。この 37 のジクロロメタン溶液を、化合物 38 の調製に単離せずに使用した。

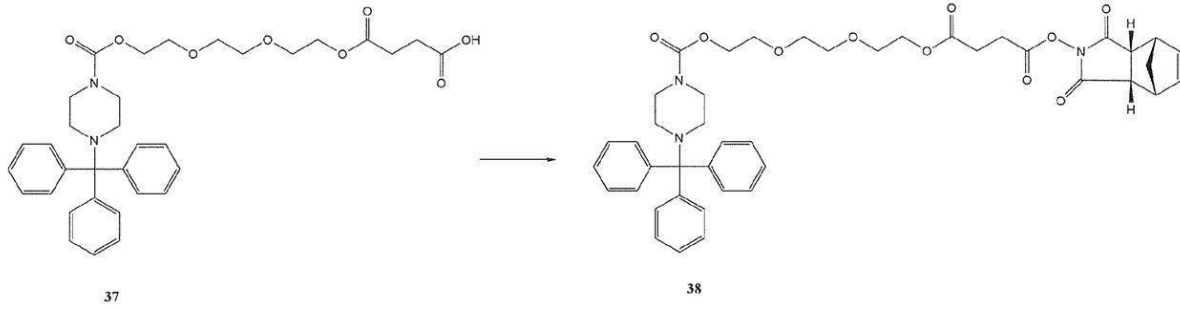
【 0 1 5 8】

40

4. 活性化 EG3 テール（38）の調製

50

【化 1 5 9】



化合物 37 の溶液に、N - ヒドロキシ - 5 - ノルボルネン - 2 , 3 - ジカルボン酸イミド (HONB) (1.02 当量)、4 - ジメチルアミノピリジン (DMAP) (0.34 当量)、およびその後 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - N' - エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDC) (1.1 当量) を加えた。混合物を 55 に加熱した。反応が完了したら (4 ~ 5 時間)、混合物を 20 に冷却し、1 : 1 の 0.2 M クエン酸 / ブラインおよびブラインで連続して洗浄した。ジクロロメタン溶液をアセトン、およびその後 N, N - ジメチルホルムアミドに溶媒交換し、生成物をアセトン / N, N - ジメチルホルムアミドから飽和塩化ナトリウム水溶液への沈殿により単離した。粗生成物を水中で数回再スラリー化して残留 N, N - ジメチルホルムアミドおよび塩を除去した。化合物 36 から活性化 EG3 テール 38 の収率 = 70 %。

【0 1 5 9】

実施例 4 : Casimersen [オリゴマー化合物 (XII)] 粗原薬の 50 L 固相合成
1. 材料

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2：出発物質

物質名	化学名	C A S 番号	化学式	分子量
活性化 A サブユニット	ホスホロアミドクロリド酸, N, N-ジメチル-, [6-[6-(ベンゾイルアミノ)-9H-プリン-9-イル]-4-(トリフェニルメチル)-2-モルホリニル]メチルエステル	1155373-30-0	C ₃₈ H ₃₇ ClN ₇ O ₄ P	722.2
活性化 C サブユニット	ホスホロアミドクロリド酸, N, N-ジメチル-, [6-[4-(ベンゾイルアミノ)-2-オキソ-1(2H)-ピリミジニル]-4-(トリフェニルメチル)-2-モルホリニル]メチルエステル	1155373-31-1	C ₃₇ H ₃₇ ClN ₅ O ₅ P	698.2
活性化 D P G サブユニット	プロパン酸, 2, 2-ジメチル-, 4-[[[9-[6-[[[クロロ(ジメチルアミノ)ホスフィンニル]オキシ]メチル]-4-(トリフェニルメチル)-2-モルホリニル]-2-[(2-フェニルアセチル)アミノ]-9H-プリン-6-イル]オキシ]メチル]フェニルエステル	1155309-89-9	C ₅₁ H ₅₃ ClN ₇ O ₇ P	942.2
活性化 T サブユニット	ホスホロアミドクロリド酸, N, N-ジメチル-, [6-(3, 4-ジヒドロ-5-メチル-2, 4-ジオキソ-1(2H)-ピリミジニル)]-4-(トリフェニルメチル)-2-モルホリニル]メチルエステル	1155373-34-4	C ₃₁ H ₃₄ ClN ₄ O ₅ P	609.1
活性化 E G 3 テール	ブタン二酸, 1-[3 a R, 4 S, 7 R, 7 a S)-1, 3, 3 a, 4, 7, 7 a-ヘキサヒドロ-1, 3-ジオキソ-4, 7-メタノ-2H-イソインドール-2-イル] 4-[2-[2-[2-[[[4-(トリフェニルメチル)-1-ピペラジニル]カルボニル]オキシ]エトキシ]エトキシ]エチル]エステル	1380600-06-5	C ₄₃ H ₄₇ N ₃ O ₁₀	765.9

10

20

30

40

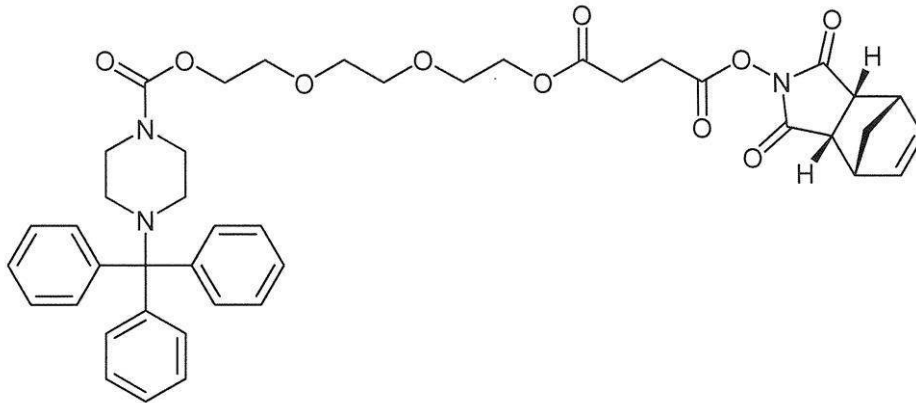
【 0 1 6 0 】

出発物質の化学構造：

A . 活性化 E G 3 テール

50

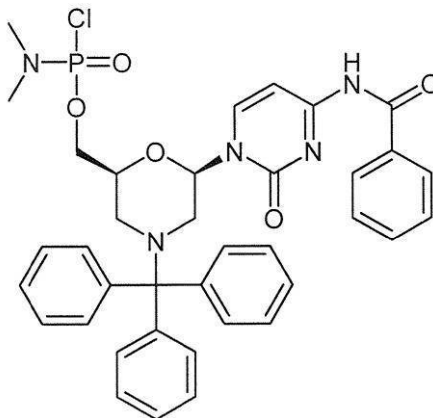
【化 1 6 0】



10

化合物 (B)

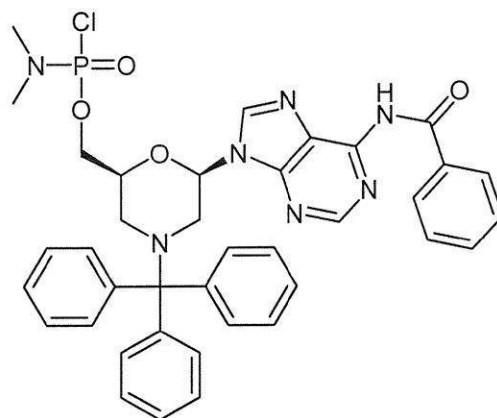
B . 活性化 C サブユニット (調製については、米国特許第 8 , 0 6 7 , 5 7 1 号を参照)
【化 1 6 1】



20

式 (D 1) の化合物

C . 活性化 A サブユニット (調製については、米国特許第 8 , 0 6 7 , 5 7 1 号を参照)
【化 1 6 2】



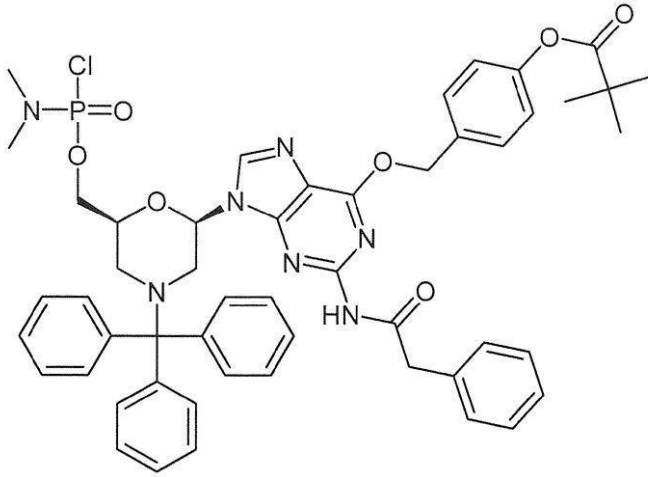
40

式 (F 1) の化合物

D . 活性化 D P G サブユニット (調製については、WO 2 0 0 9 / 0 6 4 4 7 1 を参照)

50

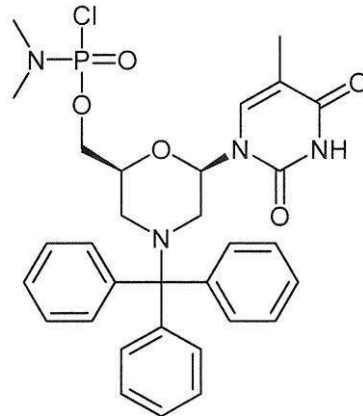
【化 1 6 3】



化合物 (E 1)

E . 活性化Tサブユニット (調製については、WO 2 0 1 3 / 0 8 2 5 5 1を参照)

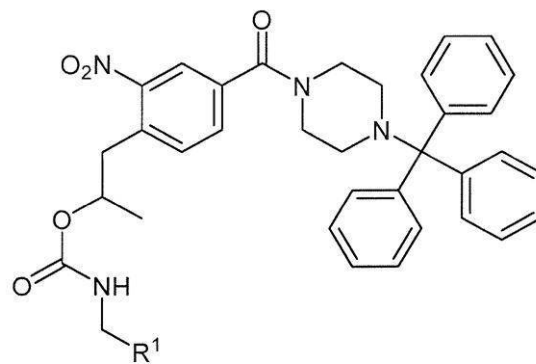
【化 1 6 4】



化合物 (G 1)

F . アンカー担持樹脂

【化 1 6 5】



式 (I)

式中、R¹は支持媒体である。

【0 1 6 1】

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3 : Casimersen 粗原薬の固相オリゴマー合成のための溶液の説明

溶液名	溶液組成
NCP2 アンカー溶液	37.5L NMP および 1292g NCP2 アンカー
DEDC キャッピング溶液	4.16L 二炭酸ジエチル(DEDC)、3.64L NEM、および 33.8L DCM
CYTFA 溶液	2.02kg 4-シアノピリジン、158L DCM、1.42L TFA、39L TFE、および 2L 精製水
中和溶液	35.3L IPA、7.5L DIPEA、および 106.5L DCM
切断溶液	1,530.04g DTT、6.96L NMP、および 2.98L DBU

10

【0162】

2. Casimersen 粗原薬の合成

A. 樹脂膨潤

750 g のアンカー担持樹脂および 10.5 L の NMP を 50 L のシラン処理した反応器に入れ、3 時間攪拌した。NMP を排出し、アンカー担持樹脂を各 5.5 L の DCM で 2 回、各 5.5 L の 30% TFE / DCM で 2 回洗浄した。

【0163】

B. サイクル 0 : EG3 テールカップリング

アンカー担持樹脂を各 5.5 L の 30% TFE / DCM で 3 回洗浄し、排出し、5.5 L の CYTFA 溶液で 15 分間洗浄し、排出し、再度 5.5 L の CYTFA 溶液で 15 分間洗浄し、排出せずに 122 mL の 1 : 1 NEM / DCM を入れ、懸濁液を 2 分間攪拌し、排出した。樹脂を 5.5 L の中和溶液で 10 分間 1 回洗浄し、排出し、5.5 L の中和溶液で 5 分間 2 回洗浄し、排出し、その後各 5.5 L の DCM で 2 回洗浄し、排出した。3 L の DMI 中の 706.2 g の活性化 EG3 テール (MW 765.85) および 234 mL の NEM の溶液を樹脂に入れ、室温で 3 時間攪拌し、排出した。樹脂を 5.5 L の中和溶液で 10 分間 1 回洗浄し、排出し、5.5 L の中和溶液で 5 分間 1 回洗浄し、排出し、5.5 L の DCM で 1 回洗浄し、排出した。2680 mL の NMP 中の 374.8 g の無水安息香酸および 195 mL の NEM の溶液を入れ、15 分間攪拌し、排出した。樹脂を 5.5 L の中和溶液で 10 分間 1 回洗浄し、排出し、5.5 L の中和溶液で 5 分間 1 回洗浄し、排出し、5.5 L の DCM で 1 回洗浄し、排出し、各 5.5 L の 30% TFE / DCM で 2 回洗浄した。樹脂を 5.5 L の 30% TFE / DCM 中に懸濁させ、14 時間保持した。

20

【0164】

C. サブユニットカップリングサイクル 1 ~ 22

i. カップリング前処理

表 4 に記載されているような各カップリングサイクルの前に、樹脂を：1) 30% TFE / DCM で洗浄し、2) a) CYTFA 溶液で 15 分間処理し、排出し、b) CYTFA 溶液で 15 分間処理して 1 : 1 NEM / DCM を加え、攪拌し、排出し、3) 中和溶液で 3 回攪拌し、4) DCM で 2 回洗浄した。表 4 を参照。

40

【0165】

ii. カップリング後処理

各サブユニット溶液を表 4 に記載されているように排出した後、樹脂を：1) DCM で洗浄し、2) 30% TFE / DCM で 3 回洗浄した。樹脂を次のカップリングサイクルの前にある時間保持する場合、第 3 の TFE / DCM 洗浄液を排出せず、樹脂を前述の TFE / DCM 洗浄溶液中に保持した。表 4 を参照。

【0166】

iii. 活性化サブユニットカップリングサイクル

カップリングサイクルを、表 4 に記載されているように実施した。

50

【 0 1 6 7 】

i v . 最終 I P A 洗淨

最終カップリングステップを表 4 に記載されているように実施した後、樹脂を各 1 9 . 5 L の I P A で 8 回洗淨し、室温で約 6 3 . 5 時間、乾燥重量 4 5 2 3 g まで真空乾燥した。

【 0 1 6 8 】

D . 切断

上記樹脂結合 C a s i m e r s e n 粗原薬を 2 つのロットに分け、各ロットを以下のように処理した。2 つの 2 2 6 1 . 5 g のロットの樹脂を各々：1) 1 0 L の N M P と共に 2 時間攪拌し、その後 N M P を排出し、2) 各 1 0 L の 3 0 % T F E / D C M で 3 回洗淨し、3) 1 0 L の C Y T F A 溶液で 1 5 分間処理し、4) その後、1 5 分間 1 0 L の C Y T F A 溶液に 1 3 0 m l の 1 : 1 N E M / D C M を加え、2 分間攪拌し、排出した。樹脂を各 1 0 L の中和溶液で 3 回処理し、1 0 L の D C M で 6 回、各 1 0 L の N M P で 8 回洗淨した。樹脂を 1 5 3 0 . 4 g の D T T の切断溶液および 6 . 9 6 L の N M P 中の 2 9 8 0 D B U で 2 時間処理して樹脂から C a s i m e r s e n 粗原薬を取り外した。切断溶液を排出し、別の容器に保持した。反応器および樹脂を、4 . 9 7 L の N M P で洗淨し、それを切断溶液と合わせた。

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 4

サイクル番号： サブユニット (SU)	カップリング前処理				カップリングサイクル		カップリング後処理	
	1	2	3	4			1	2
	30% TFE/DCM 洗浄液	CYTFA 溶液 ¹	中和 溶液	DCM 洗浄液	量 SU (g) NEM (L) DMI (L)	室温カッ プリング 時間 (時間)	DCM 洗浄液	30% TFE/DCM 洗浄液
1:C	5.5L	a) 5.5L b) 5.5L, 122ml	3x5.5L	5.5L	584g; 195 ml NEM; 3.2L DMI	5	5.5L	3x5.5L
2:A	7.0L	a) 7L b) 7L, 158ml	3x7L	2x7L	592.2g および 195ml NEM 3.2L DMI	4.25	7L	3x7L
3:A	8L	a) 8L b) 8L, 182ml	3x8L	2x8L	592.2g; 195ml NEM; 3.4L DMI	4.25	8L	3x8L
4:T	9L	a) 9L b) 9L, 206ml	3x9L	2x9L	514.2g; 195ml NEM; 3.6L DMI	4.25	9L	3x9L
5:G	9.5L	a) 9.5L b) 9.5L, 220ml	3x9.5L	2x9.5L	755.5g; 195ml NEM; 3.4L DMI	4.25	9.5L	3x9.5L
6:C	10L	a) 10L b) 10L, 232ml	3x10L	2x10L	584.4g; 195ml NEM; 3.45L DMI	4.25	10L	3x10L
7:C	11L	a) 11L b) 11L, 256ml	3x11L	2x11L	584.5g; 195ml NEM; 3.57L DMI	4.25	11L	3x11L
8:A	11L	a) 11L b) 11L, 256ml	3x11L	2x11L	592.5g; 195ml NEM; 3.64L DMI	4.25	11L	3x11L
9:T	11.5L	a) 11.5L b) 11.5L 268ml	3x11.5L	2x 11.5L	514.5g; 195ml NEM; 3.72L DMI	4.25	11.5L	3x11.5L

¹ ml は 1 : 1 NEM/DCMの量を示す

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

サイクル番号： サブユニット (SU)	カップリング前処理				カップリングサイクル		カップリング後処理	
	1	2	3	4			1	2
	30% TFE/DCM 洗浄液	CYTFA 溶液 ¹	中和溶液	DCM 洗浄液	量 SU (g) NEM (L) DMI (L)	室温カップリング 時間 (時間)	DCM 洗浄液	30% TFE/DCM 洗浄液
10:C	12L	a) 12L b) 12L, 280ml	3x12L	2x12L	338.5g; 195ml NEM; 3.96L DMI	4.25	12L	3x12L
11:C	13.5L	a) 13.5L b) 13.5L, 204ml	3x13.5L	2x 13.5L	770.4g; 253ml NEM; 4.02L DMI	4.25	13.5L	3x13.5L
12:T	13.5L	a) 13.5L b) 13.5L, 204ml	3x13.5L	2x 13.5L	668.7g; 253ml NEM; 4.02L DMI	4.25	13.5L	3x13.5L
13:DPG	14L	a) 14L b) 14L, 216ml	3x14L	2x14L	982.3g; 253ml NEM; 4.02L DMI	4.25	14L	3x14L
14:DPG	14.5L	a) 14.5L b) 14.5L, 228ml	3x14.5L	2x 14.5L	982.3g; 253ml NEM; 4.1L DMI	4.25	14.5L	3x14.5L
15:A	15.5L	a) 15.5L b) 15.5L, 254ml	3x15.5L	2x 15.5L	770.1g; 253ml NEM; 4.26L DMI	4.25	15.5L	3x15.5L
16:DPG	15.5L	a) 15.5L b) 15.5L, 254ml	3x15.5L	2x 15.5L	982.4g; 253ml NEM; 4.26L DMI	4.25	15.5L	3x15.5L
17:T	16L	a) 16L b) 16L, 366ml	3x16L	2x16L	549.6g; 253ml NEM; 4.4L DMI	4.75	16L	3x16L
18:T	16.5L	a) 16.5L b) 16.5L, 378ml	3x16.5L	2x 16.5L	630.7g; 253ml NEM; 4.4L DMI	4.25	16.5L	3x16.5L
19:C	16.5L	a) 16.5L b) 16.5L, 378ml	3x16.5L	2x 16.5L	770.4g; 253ml NEM; 4.57L DMI	4.25	16.5L	3x16.5L
20:C	17L	a) 17L b) 17L, 390ml	3x17L	2x17L	770.4g; 253ml NEM; 4.57L DMI	4.75	17L	3x17L
21:T	17L	a) 17L b) 17L, 390ml	3x17L	2x17L	776.4g; 311ml NEM; 4.72L DMI	4.25	17L	3x17L
22:DPG	17.5L	a) 17.5L b) 17.5L, 402ml	3x17.5L	2x 17.5L	1208.7g; 311ml NEM; 4.72L DMI	4.75	17.5L	3x17.5L

【 0 1 6 9 】

E . 脱保護

切断溶液とNMP洗浄とを合わせたものを圧力容器に移し、冷凍庫で - 10 ~ - 25 の温度に冷やした39.8LのNH₄OH (NH₃・H₂O)を加えた。圧力容器を密閉し、45 に16時間加熱し、その後25 に冷却させた。このCasimersen粗原薬を含有する脱保護溶液を溶媒除去の前に精製水で3:1に希釈した。溶媒除去の間、脱保護溶液を2Mリン酸でpH 3.0に調整し、その後NH₄OHでpH 8.03に調整した。HPLC: C18 80.93% (図1) およびSCX-10 84.4% (図2)。

【 0 1 7 0 】

10

20

30

40

50

実施例 5 : Casimersen 粗原薬の精製

Casimersen 粗原薬を含有する実施例 4 のパート E からの脱保護溶液を、Toyo Pearl Super-Q 650S 陰イオン交換樹脂 (Tosoh Bioscience) のカラムに充填し、17 カラム容積にわたって 0 ~ 35 % B の勾配で溶出し (緩衝液 A : 10 mM 水酸化ナトリウム ; 緩衝液 B : 10 mM 水酸化ナトリウム中の 1 M 塩化ナトリウム)、許容される純度の画分 (C18 および SCX HPLC) を貯めて精製された薬物生成物溶液とした。HPLC : 97.74 % (C18 ; 図 3) 94.58 % (SCX ; 図 4)。

【0171】

精製された原薬溶液を脱塩および凍結乾燥して 1477.82 g の精製された Casimersen 原薬とした。収率 63.37 % ; HPLC : 96.045 % (図 5 ; C18) 96.346 % (図 6 ; SCX)。

【表 5】

表 5. 頭字語

頭字語	名称
DBU	1, 8-ジアザビシクロウンデカ-7-エン
DCM	ジクロロメタン
DIPEA	N, N-ジイソプロピルエチルアミン
DMI	1, 3-ジメチル-2-イミダゾリジノン
DTT	ジチオトレイトール
IPA	イソプロピルアルコール
MW	分子量
NEM	N-エチルモルホリン
NMP	N-メチル-2-ピロリドン
RT	室温
TFA	2, 2, 2-トリフルオロ酢酸
TFE	2, 2, 2-トリフルオロエタノール

【0172】

参照による組み込み

本出願を通じて引用されるすべての参考文献の内容 (文献参照、発行された特許、公開特許出願、および同時係属中の特許出願を含む) は、その全体が本明細書に明示的に組み込まれる。別段の定義がない限り、本明細書で使用されるすべての技術的および科学的用語は、当業者に一般に知られている意味と一致する。

【0173】

均等物

当業者は、本明細書に記載された開示の特定の実施形態の多くの均等物を、認識するか、または所定の実験方法だけを用いて確認することができるであろう。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲によって包含されることが意図される。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

式 (A) :

10

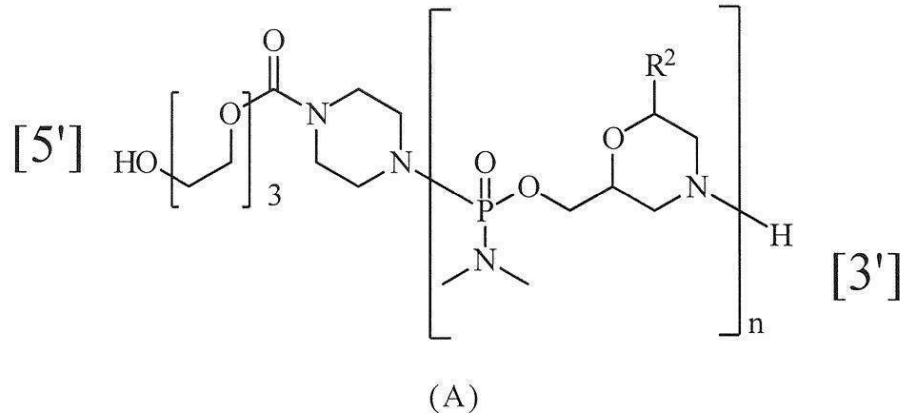
20

30

40

50

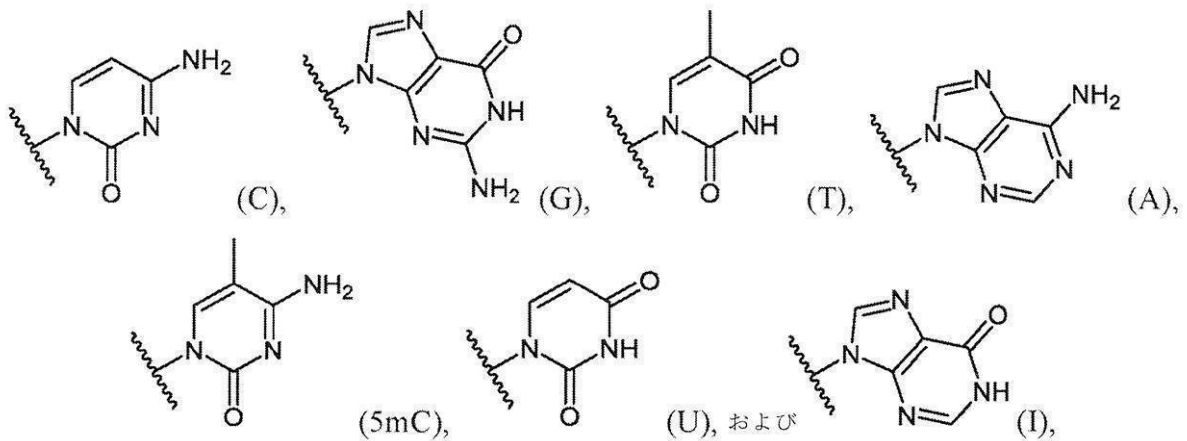
【化201】



10

(式中、 n は10～40の整数であり、各 R^2 は、各出現について独立して、以下：

【化202】



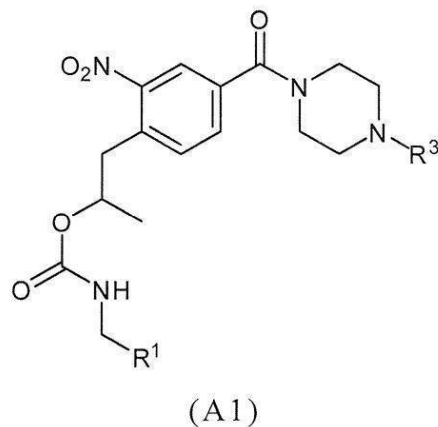
20

からなる群から選択される)のオリゴマー化合物を調製するためのプロセスであって、前記プロセスは、以下の連続したステップ：

30

(a)式(A1)：

【化203】

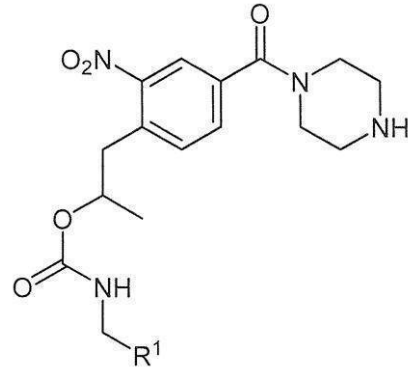


40

(式中、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(II)：

50

【化 2 0 4】



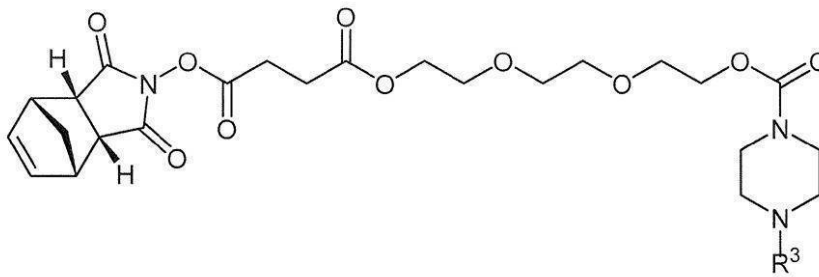
(II)

10

(式中、 R_1 は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(b)式(I I)の化合物を式(A 2)；

【化 2 0 5】

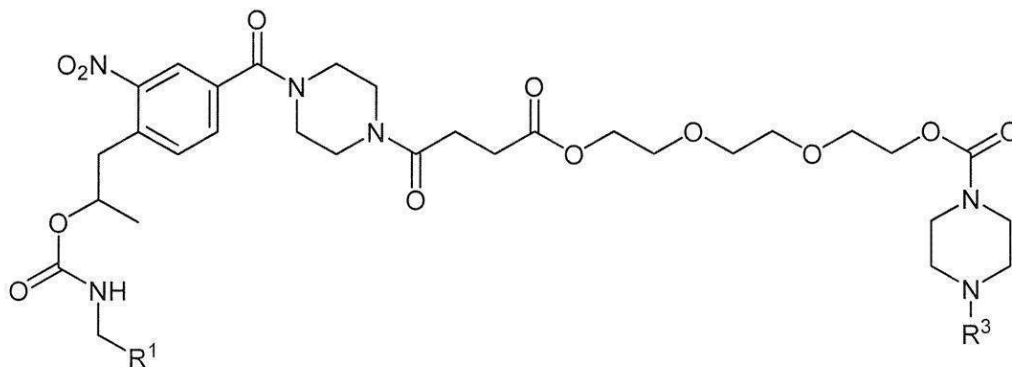


(A2)

20

(式中、 R_3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される)の化合物と接触させて式(A 3)；

【化 2 0 6】



(A3)

30

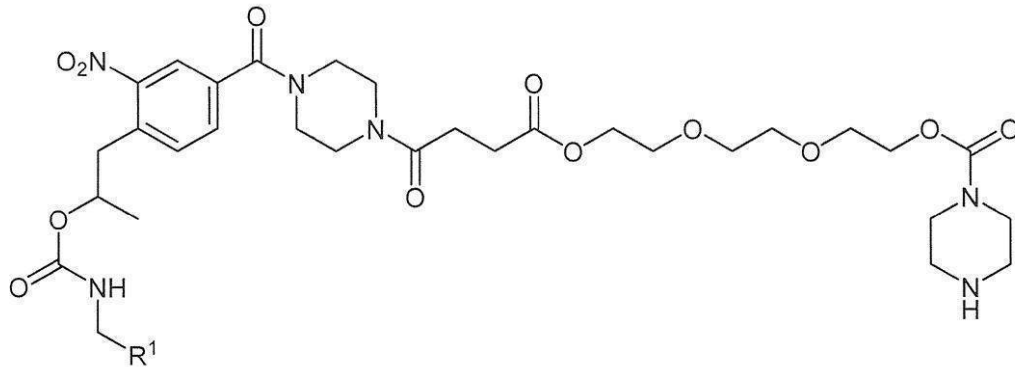
(式中、 R_1 は支持媒体であり、 R_3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択される)の化合物を形成するステップ；

(c)式(A 3)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(I V)；

40

50

【化 2 0 7】



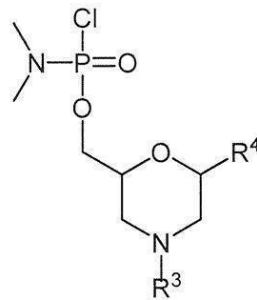
10

(IV)

(式中、R₁は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(d)式(IV)の化合物を式(A4)；

【化 2 0 8】



20

(A4)

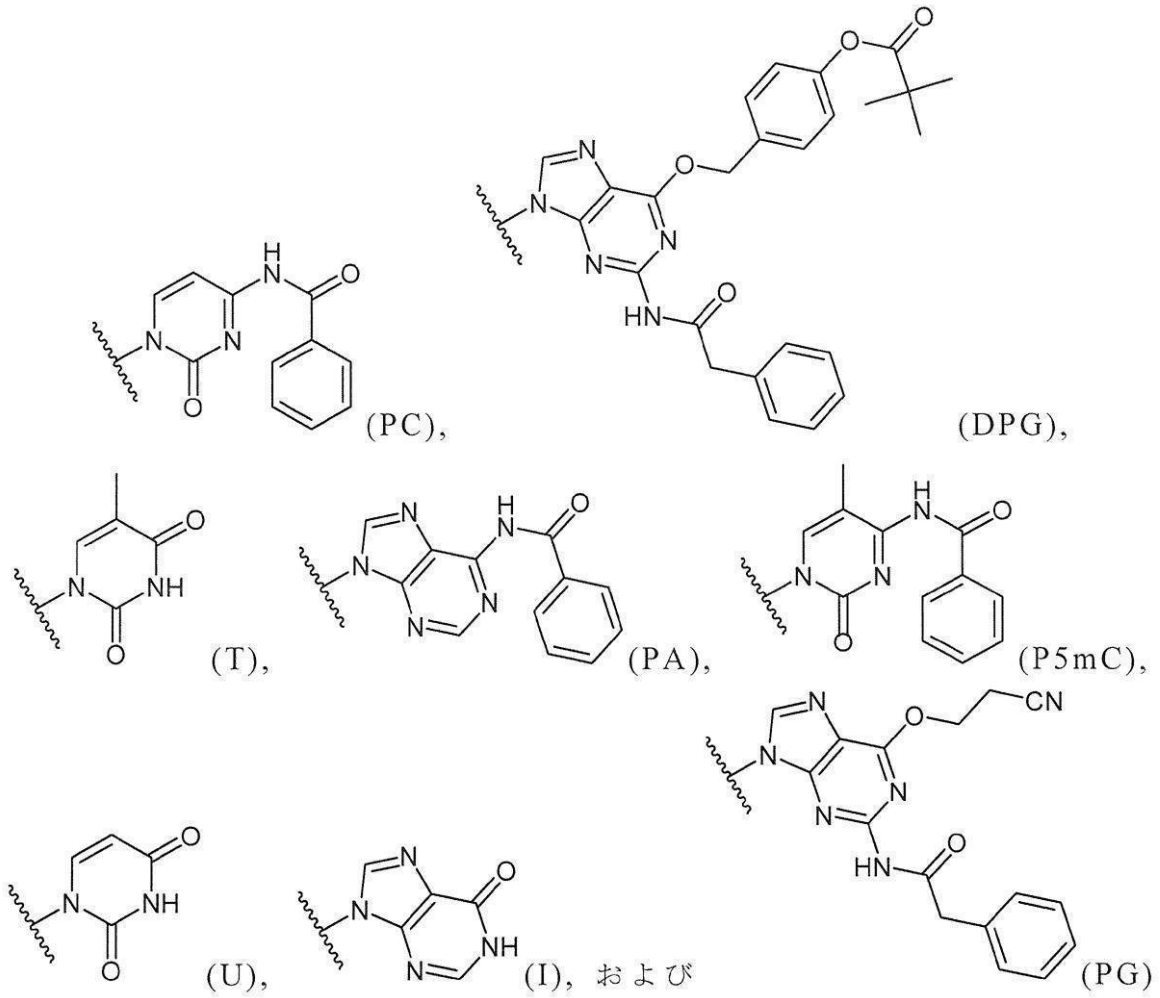
(式中、R₃はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、R₄は以下；

30

40

50

【化209】

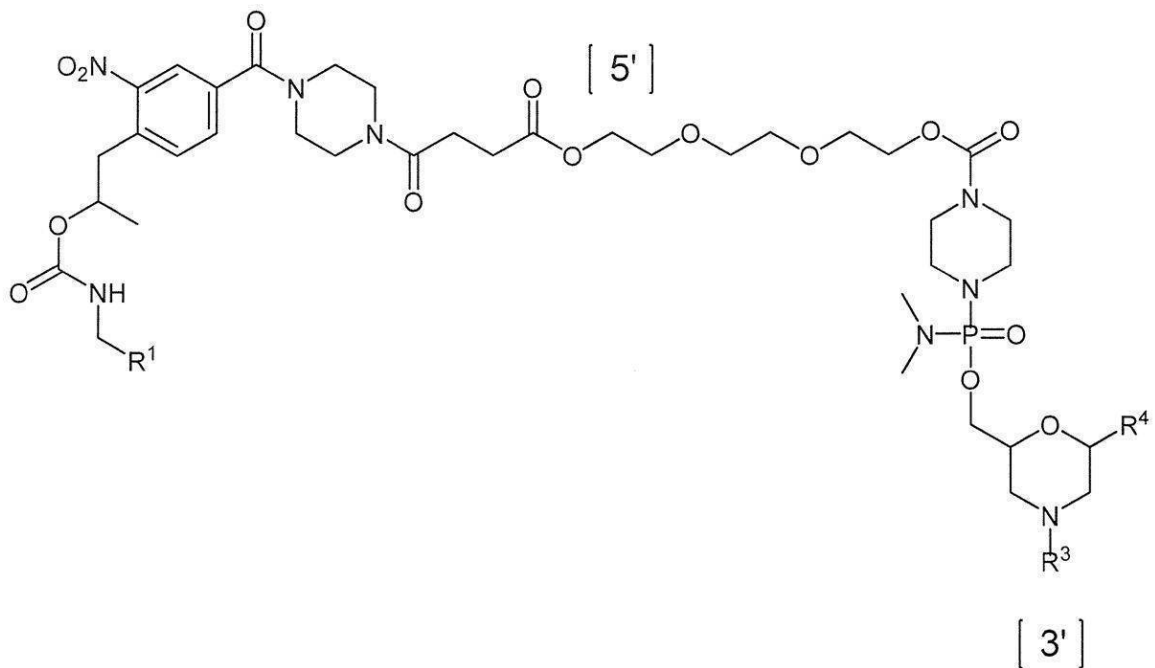


10

20

からなる群から選択される)の化合物と接触させて式(A5) :

【化210】



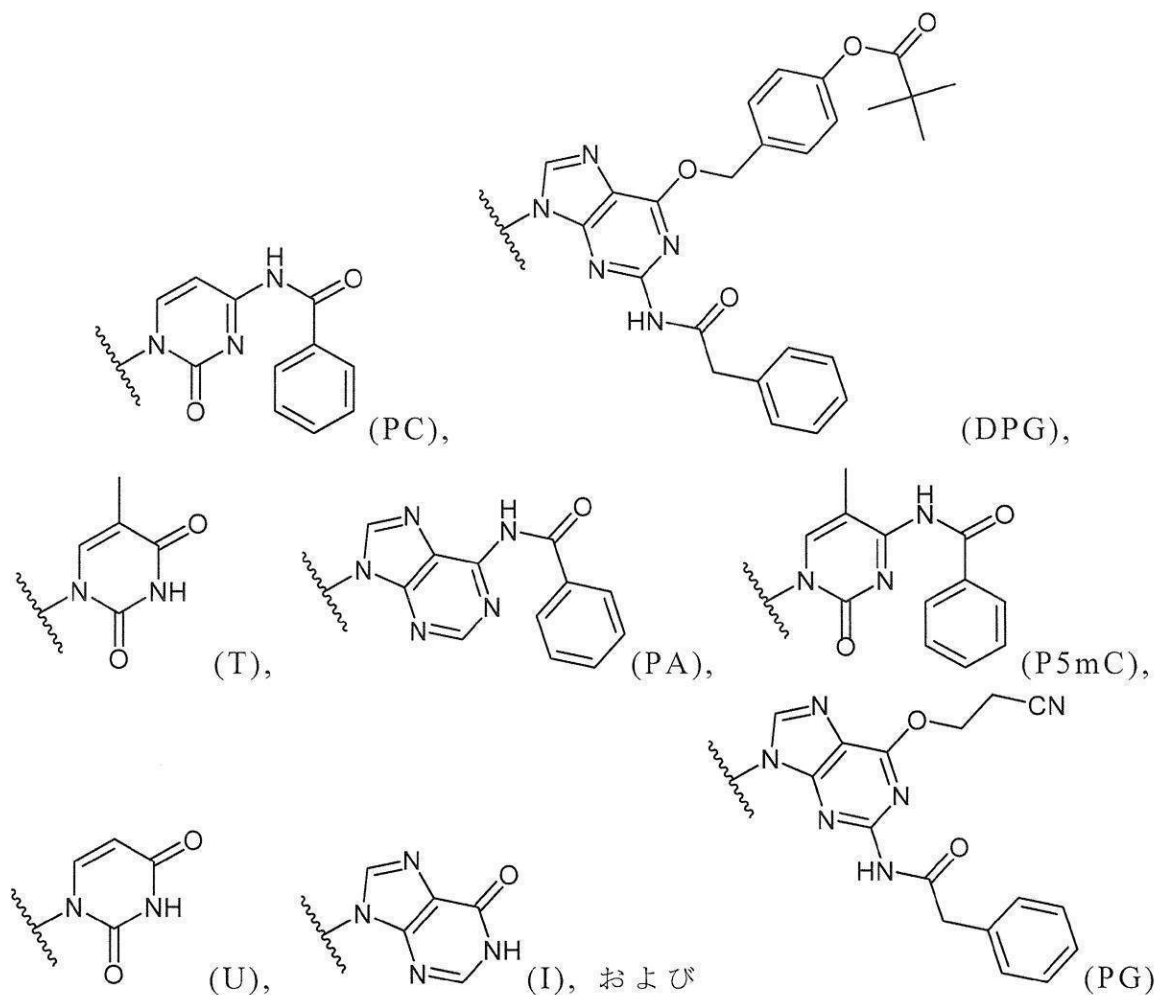
30

40

50

(式中、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、 R^4 は以下：

【化211】



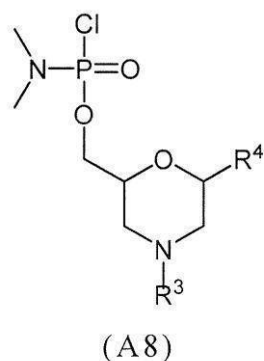
から選択される)の化合物を形成するステップ；

(e)以下の連続したステップ；

(e1)直前のステップによって形成された生成物を脱ブロッキング剤と接触させるステップ、および

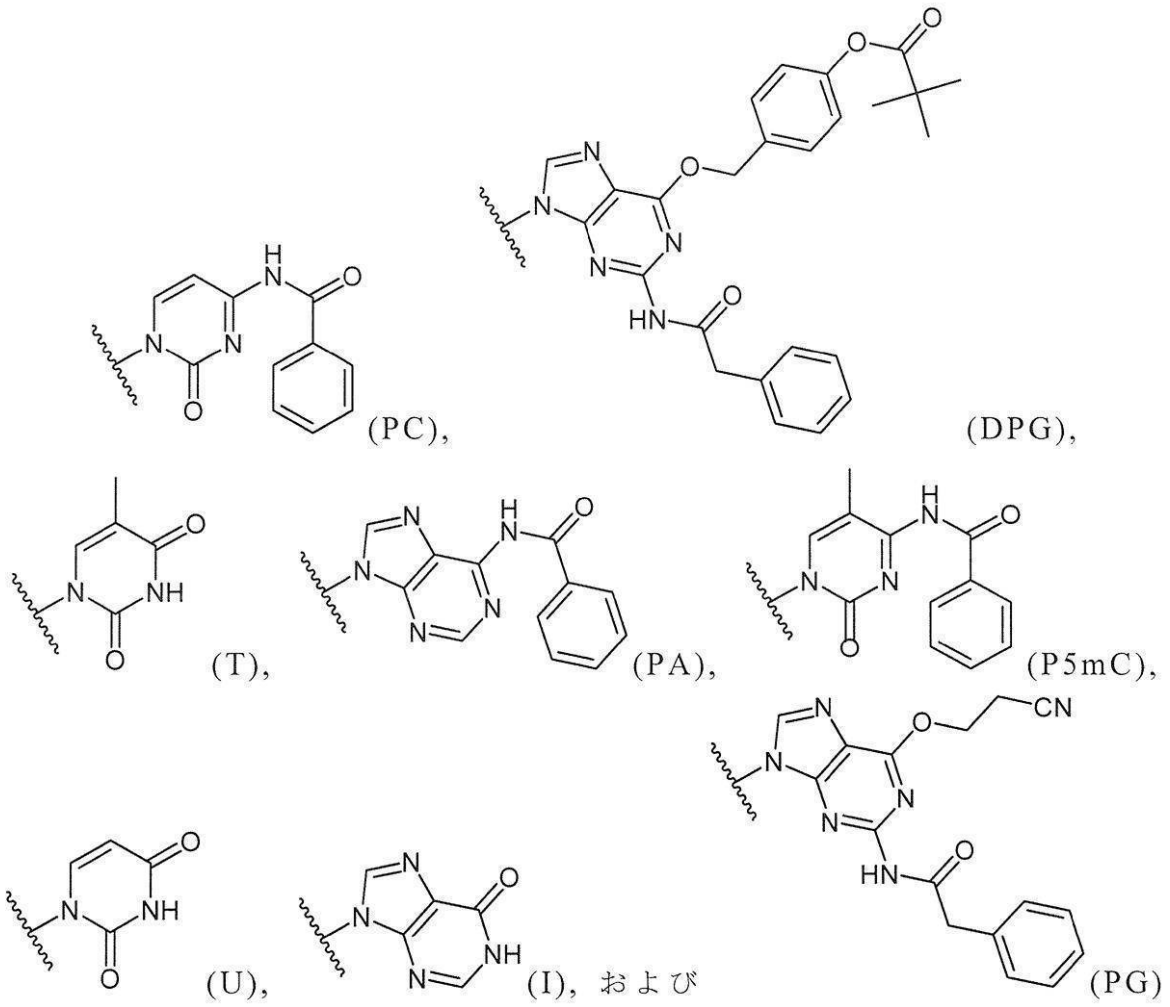
(e2)直前のステップによって形成された化合物を式(A8)；

【化212】



(式中、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、 R^4 は、式(A8)の各化合物について独立して、以下：

【化 2 1 3】



10

20

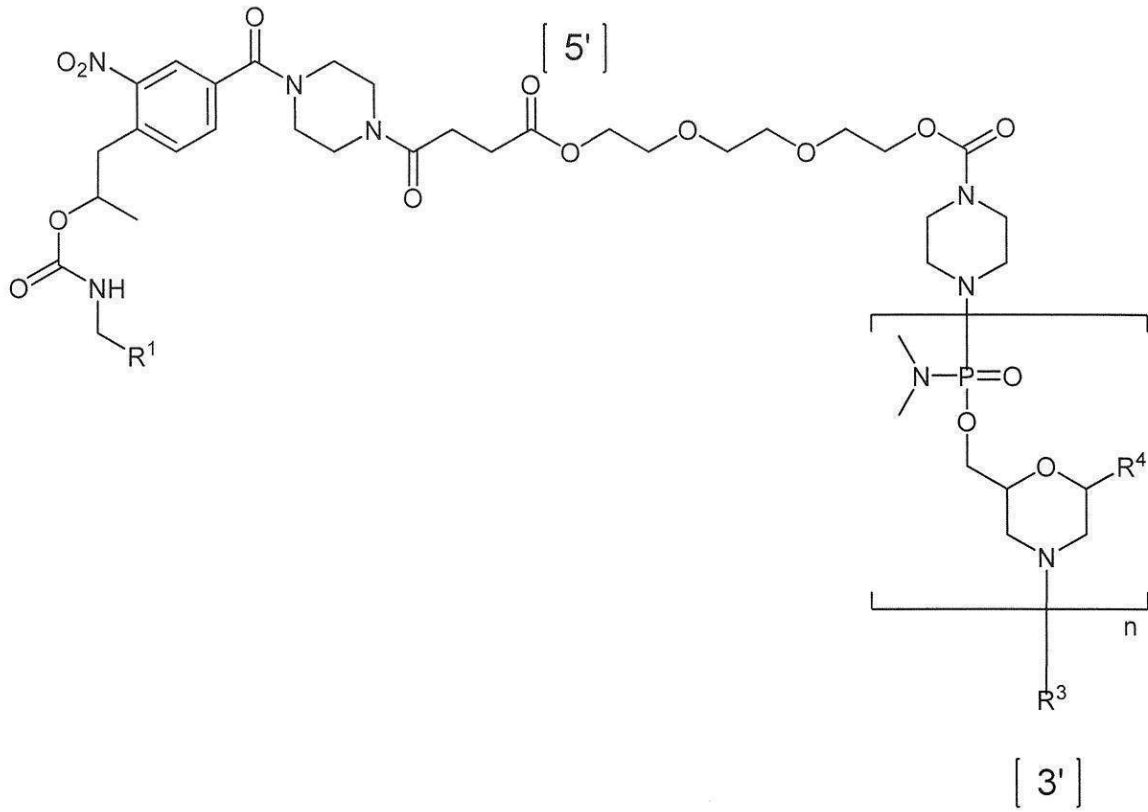
からなる群から選択される)の化合物と接触させて式(A9)：

30

40

50

【化 2 1 4】



(A9)

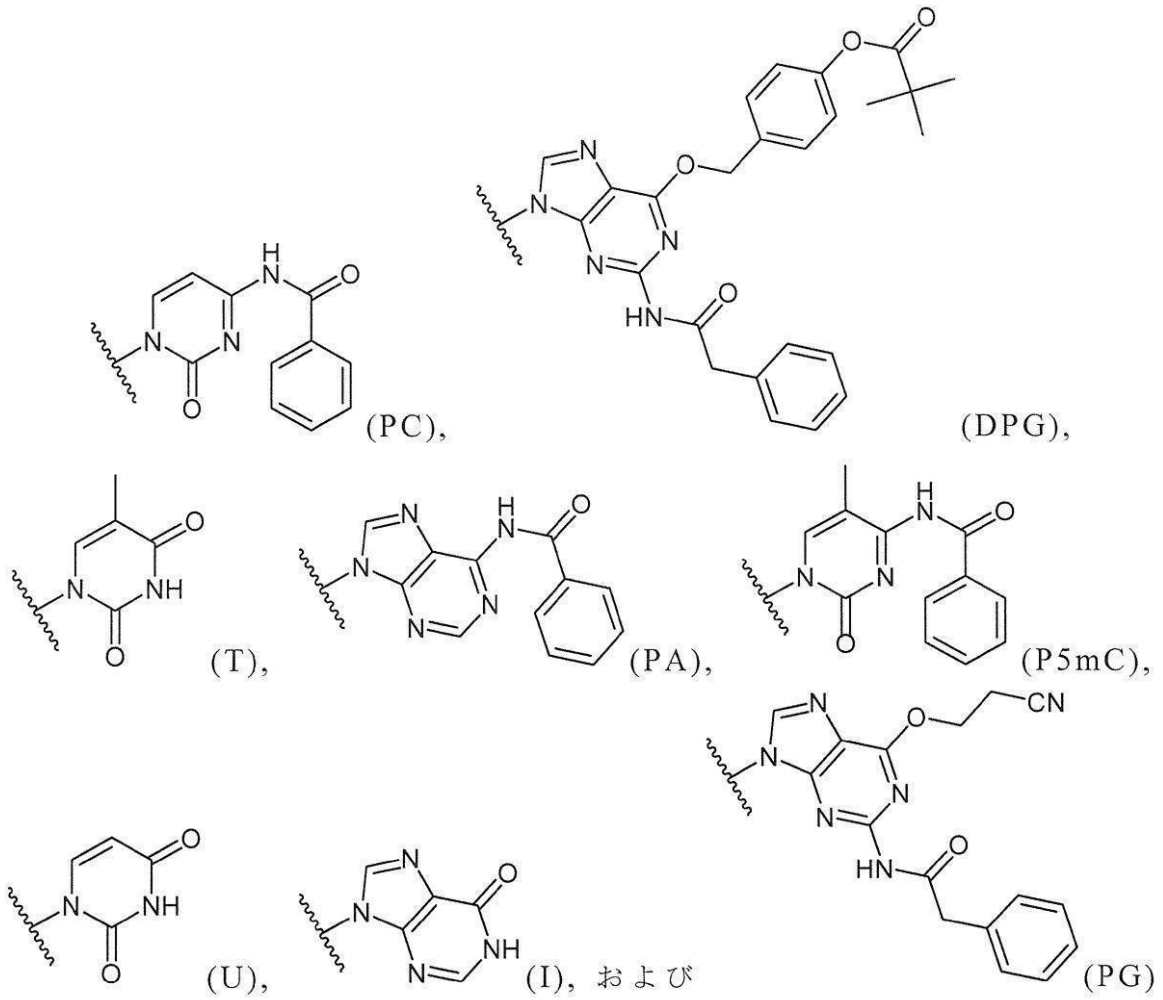
(式中、 n は10～40の整数であり、 R^1 は支持媒体であり、 R^3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 2 1 5】



10

20

からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ

の n - 1 回の反復を実施するステップ;

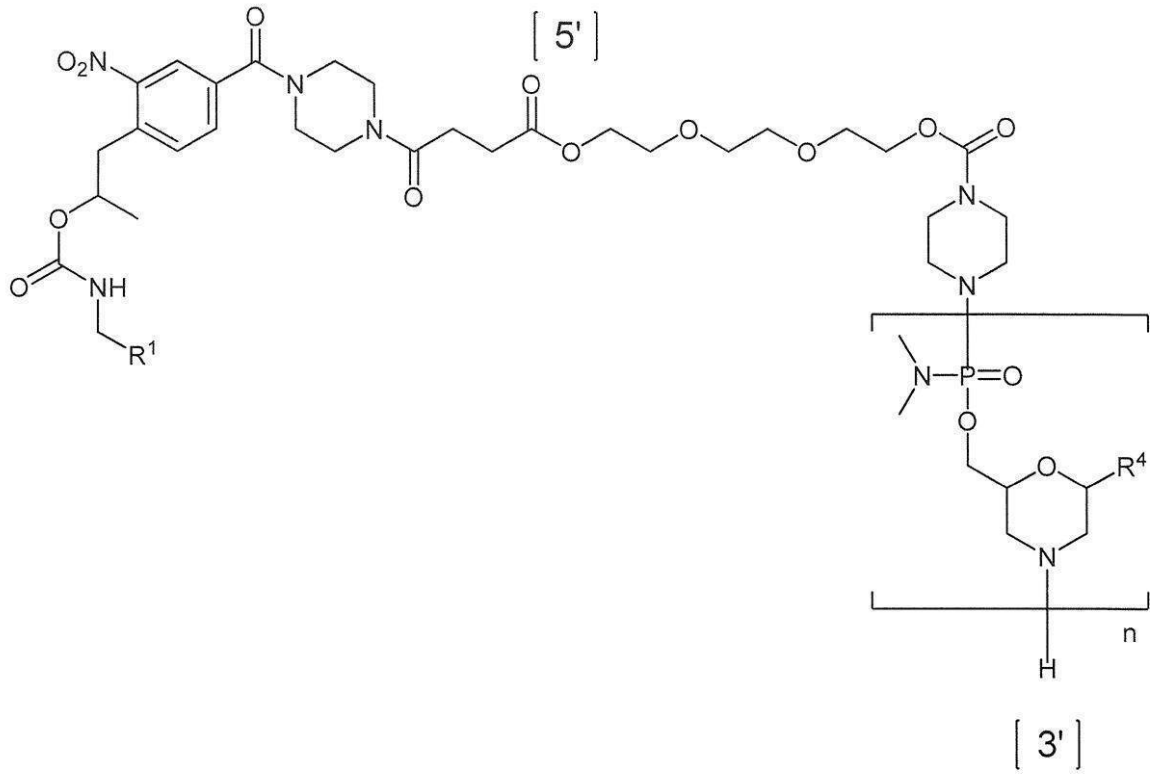
(f) 式 (A 9) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (A 1 0) ;

30

40

50

【化 2 1 6】



(A10)

(式中、 n は10～40の整数であり、 R^1 は支持媒体であり、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

10

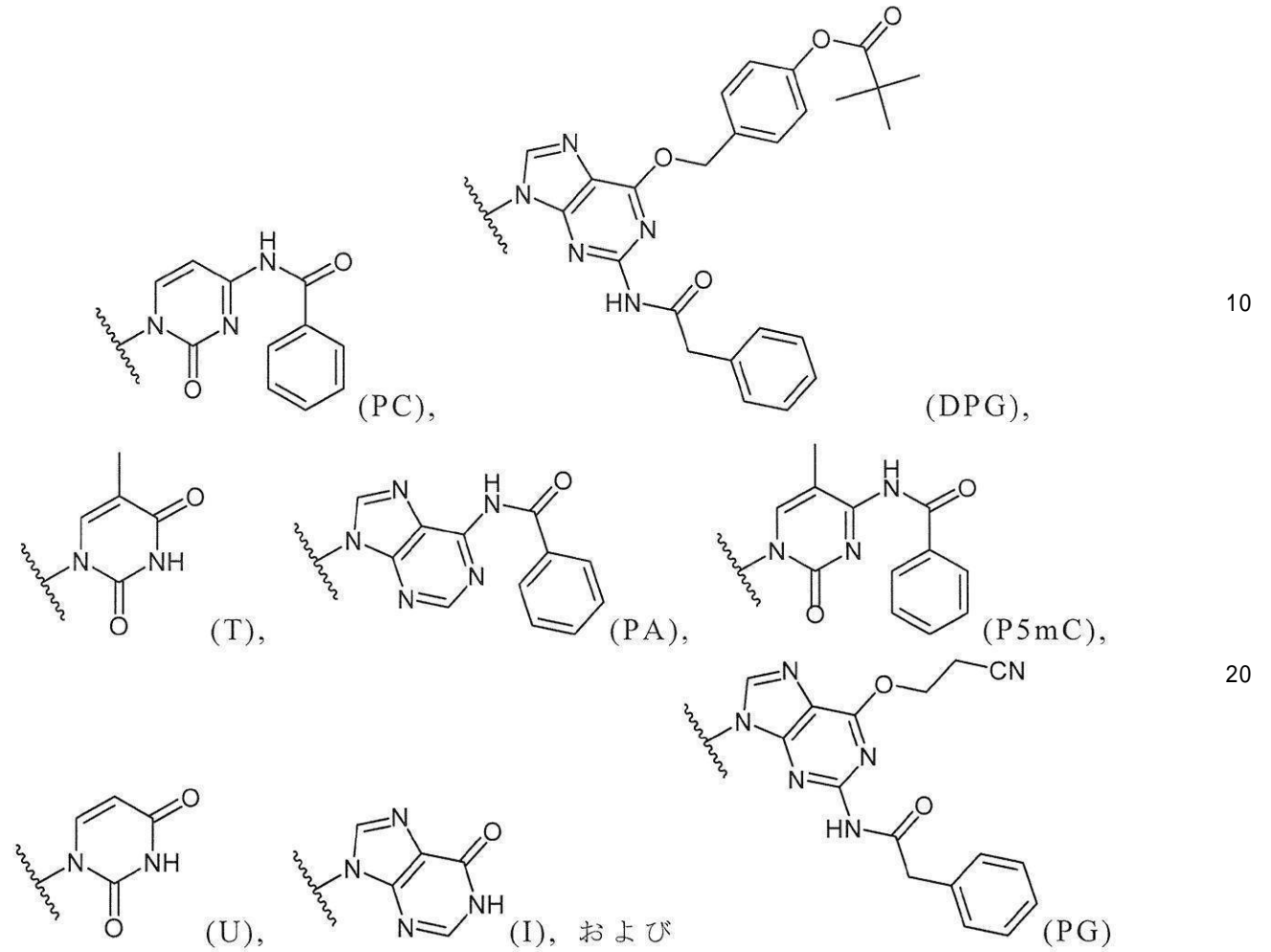
20

30

40

50

【化 2 1 7】



からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ;

(g)式(A10)の化合物を切断剤と接触させて式(A11):

10

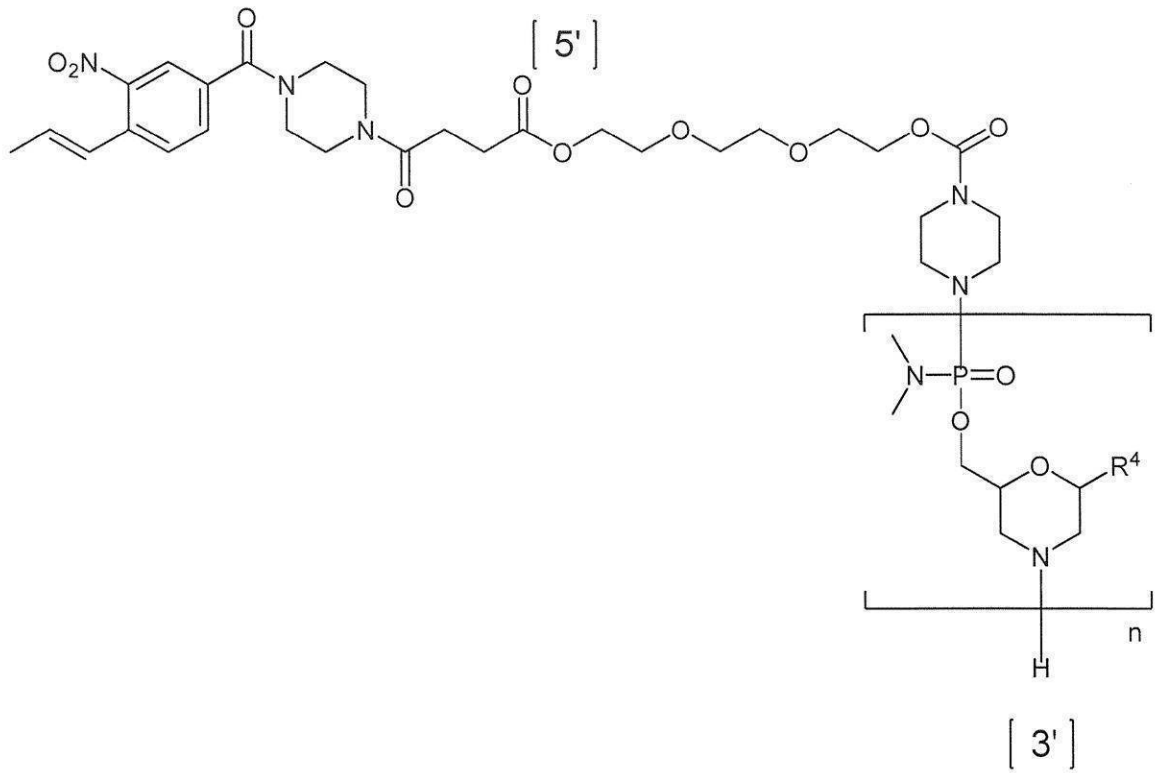
20

30

40

50

【化 2 1 8】



10

20

(A11)

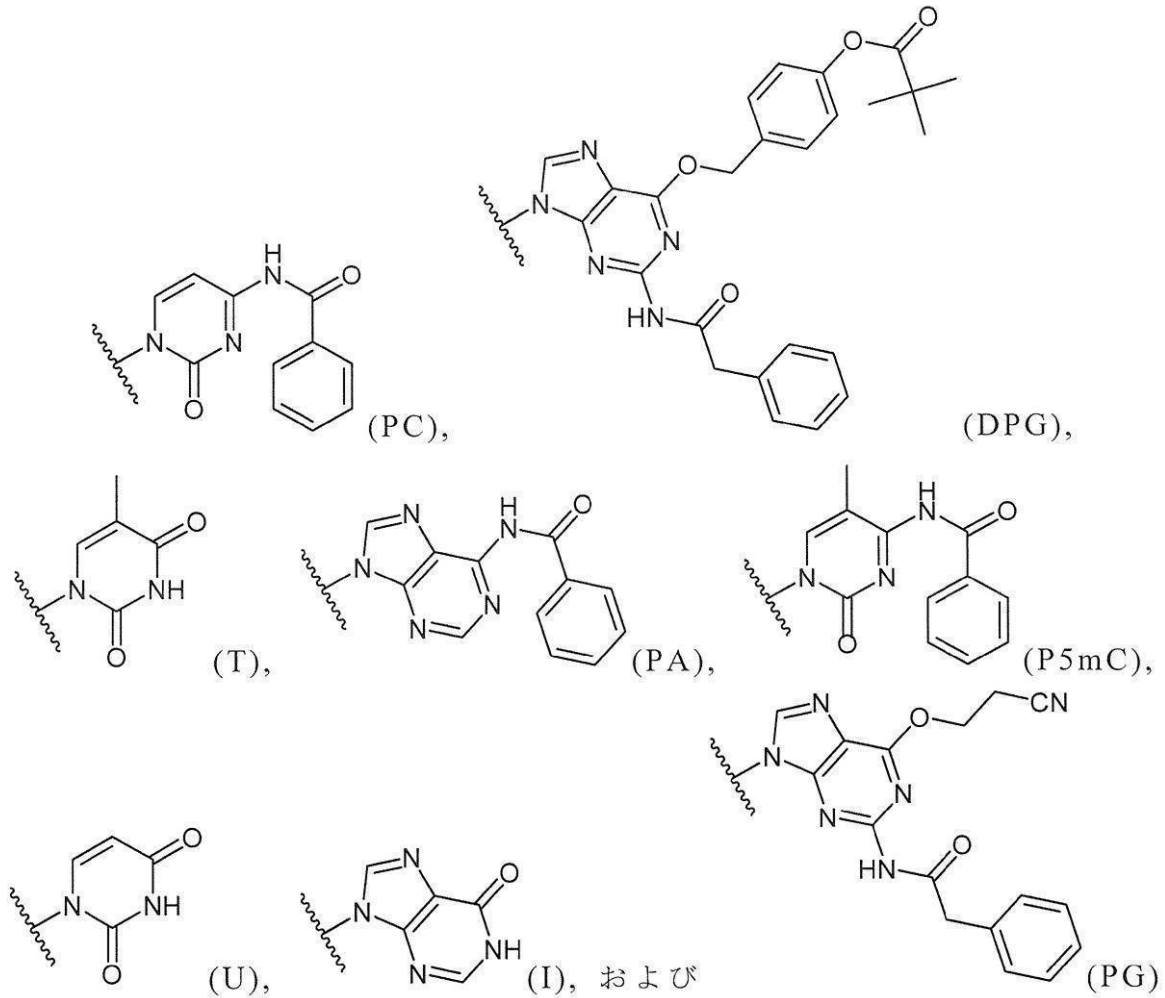
(式中、 n は10～40の整数であり、 R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 2 1 9】



10

20

からなる群から選択される)の化合物を形成するステップ;ならびに

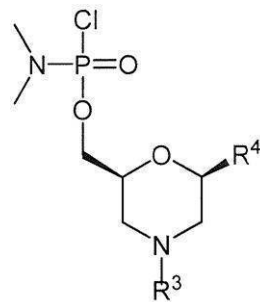
(h)式(A11)の化合物を脱保護剤と接触させて式(A)のオリゴマー化合物を形成するステップを含むプロセス。

30

(項目2)

式(A4)の化合物が式(A4a):

【化 2 2 0】



(A4a)

40

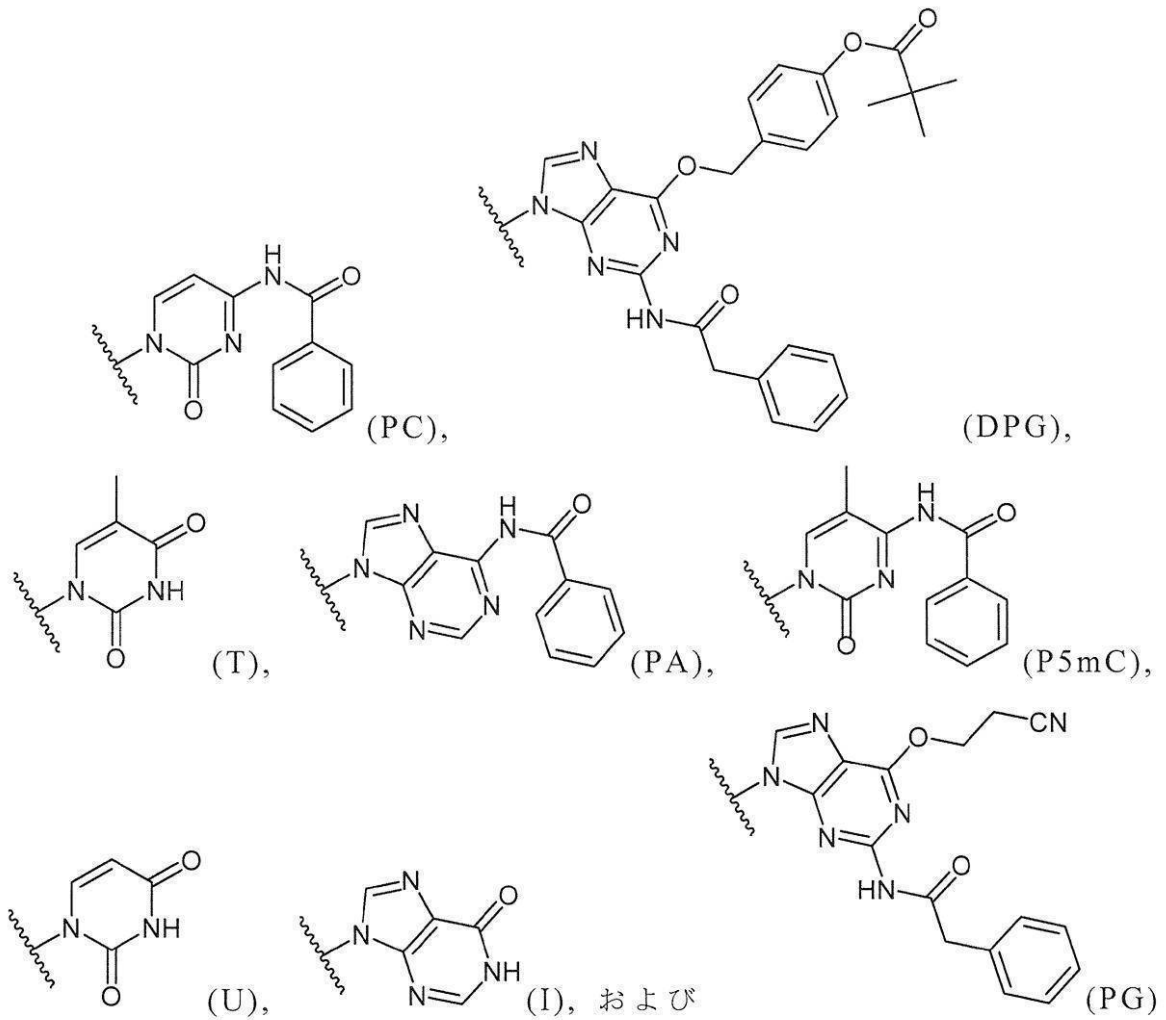
の化合物であり、式中、

R₃はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R₄は、以下:

50

【化 2 2 1】



10

20

から選択される、
 項目 1 に記載のプロセス。

30

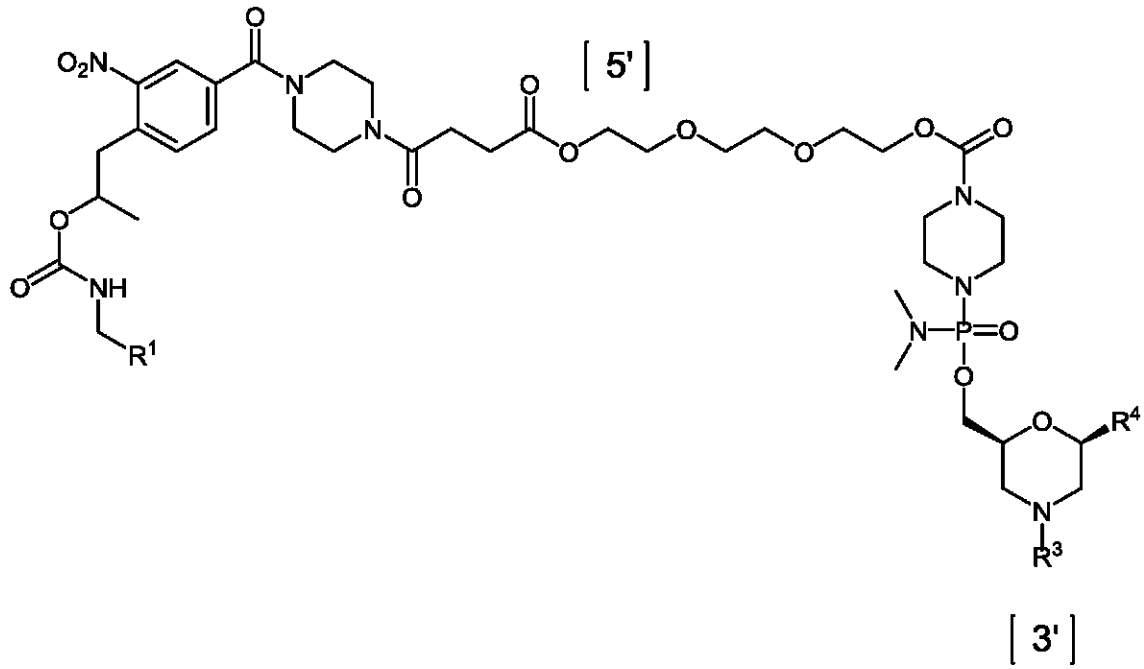
(項目 3)

式 (A 5) の化合物が式 (A 5 a) :

40

50

【化 2 2 2】



(A5a)

の化合物であり、式中、

R¹は支持媒体であり、

R³はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

R⁴は、以下：

10

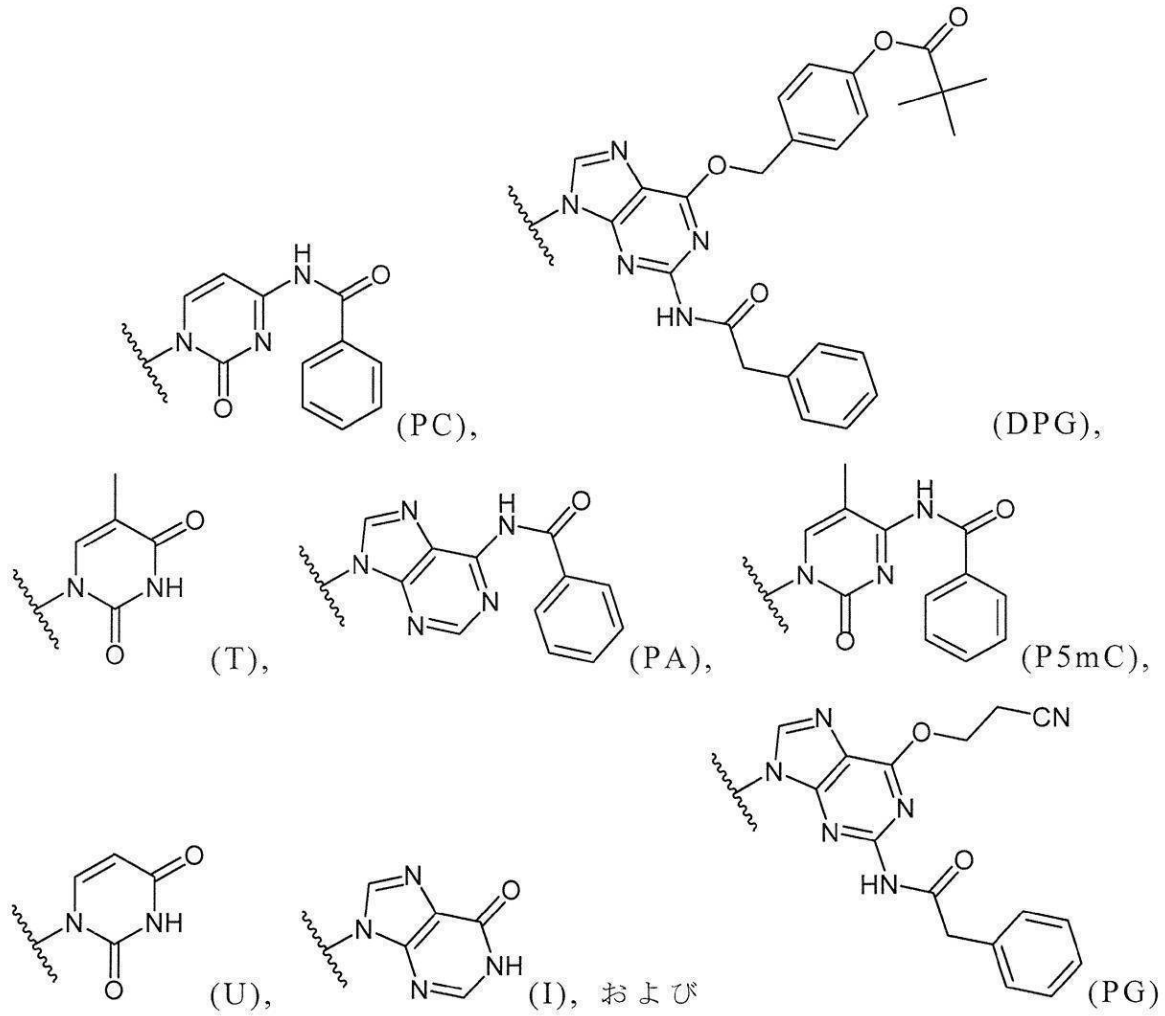
20

30

40

50

【化 2 2 3】



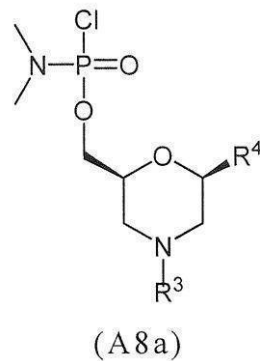
10

20

から選択される、
 項目 1 または 2 に記載のプロセス。
 (項目 4)

30

式 (A 8) の化合物が式 (A 8 a) :
 【化 2 2 4】

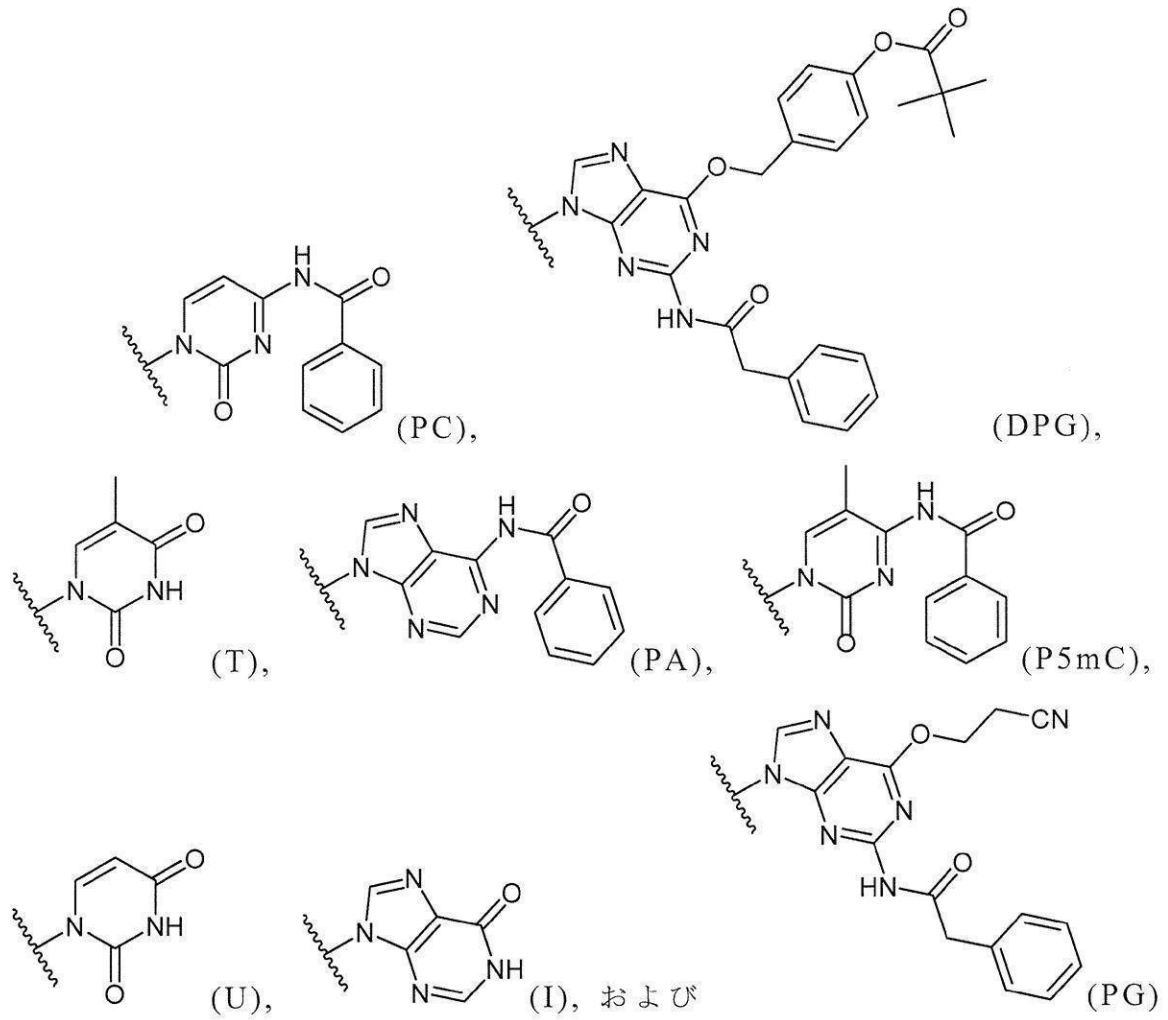


40

の化合物であり、式中、
R₃ はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、
R₄ は、式 (A 8 a) の化合物の各出現で独立して、以下：

50

【化 2 2 5】



10

20

からなる群から選択される、

30

項目 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のプロセス。

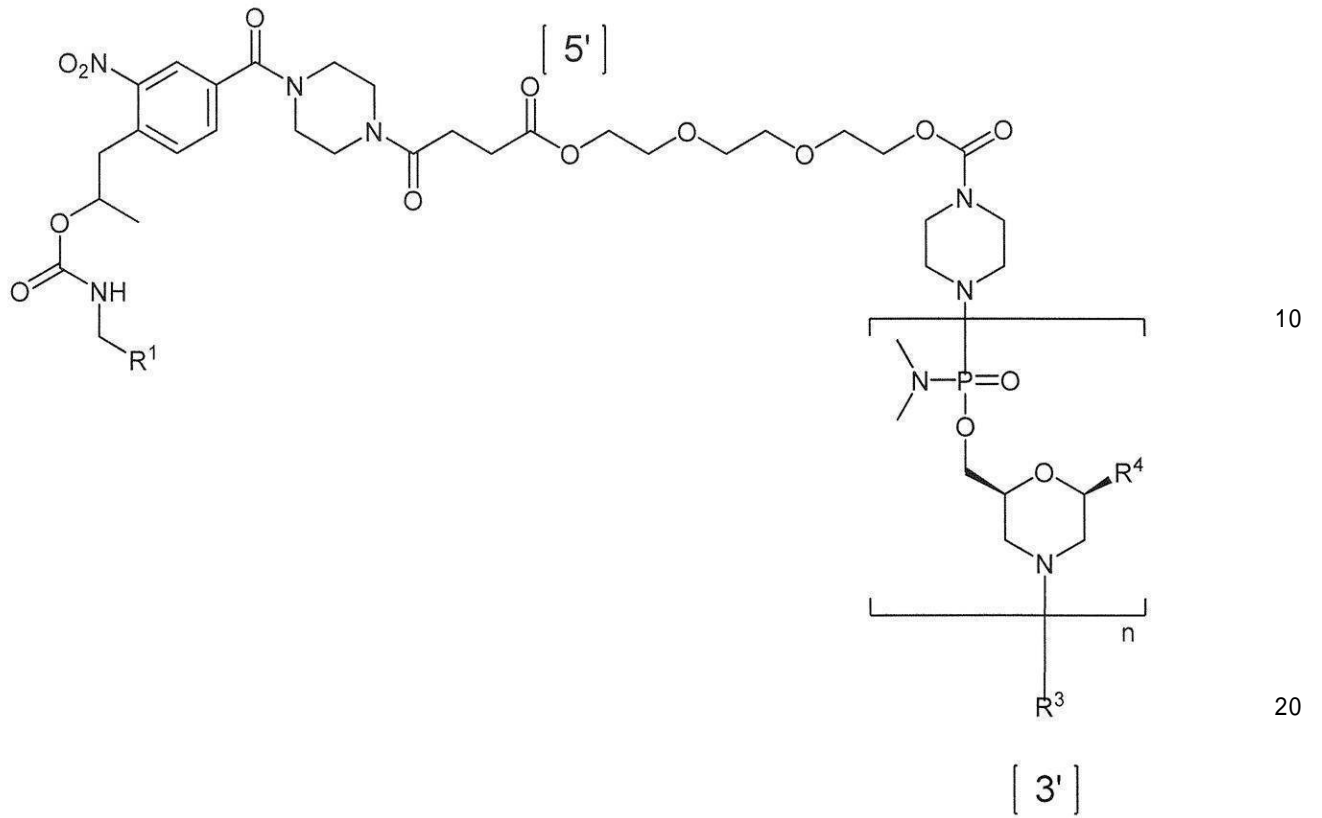
(項目 5)

式 (A 9) の化合物が式 (A 9 a) :

40

50

【化 2 2 6】



(A9a)

の化合物であり、式中、

n は 10 ~ 40 の整数であり、

R_1 は支持媒体であり、

R_3 はトリチル、モノメトキシトリチル、ジメトキシトリチルおよびトリメトキシトリチルからなる群から選択され、

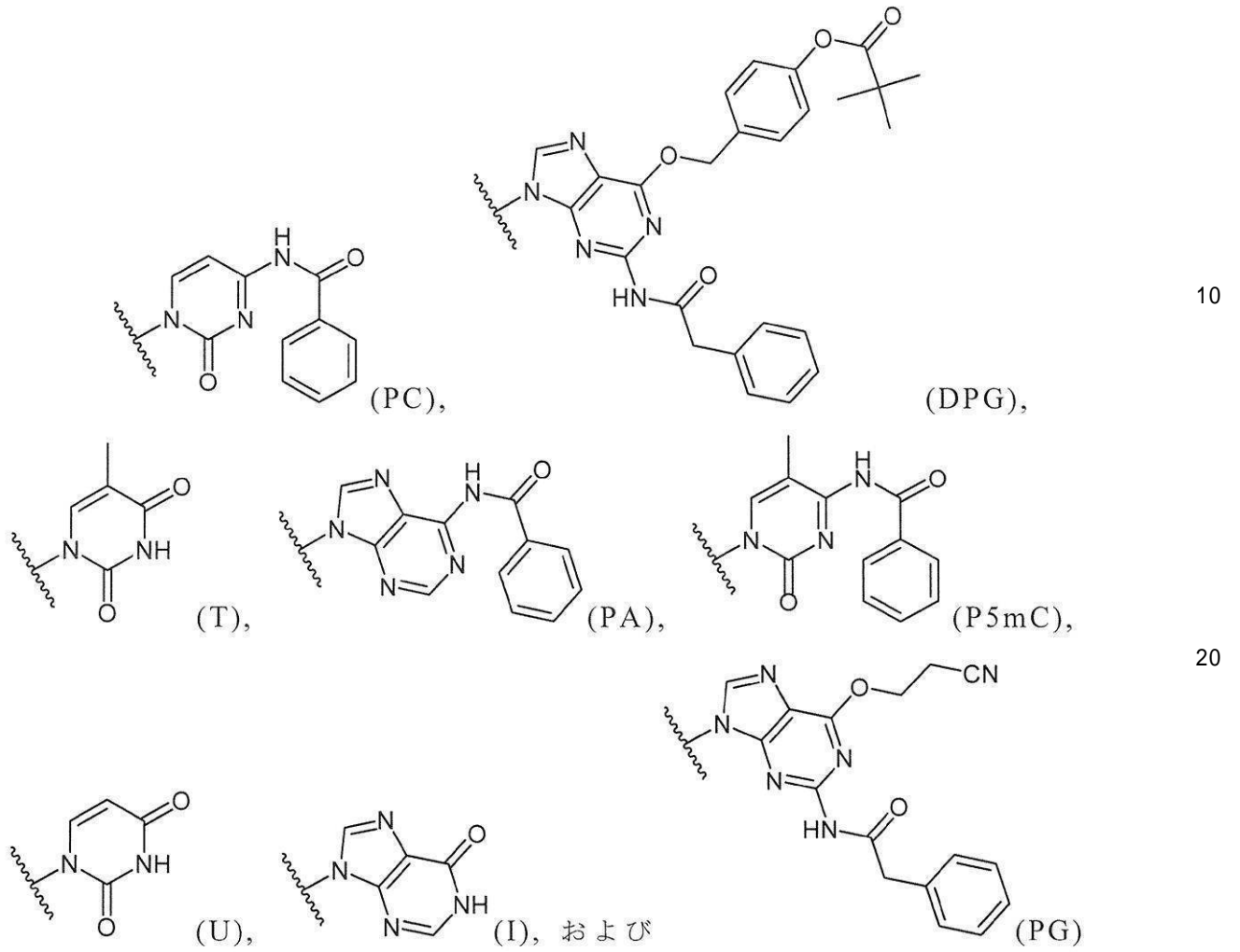
R_4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 2 2 7】



からなる群から選択される、
 項目 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のプロセス。
 (項目 6)
 式 (A 1 0) の化合物が式 (A 1 0 a) :

10

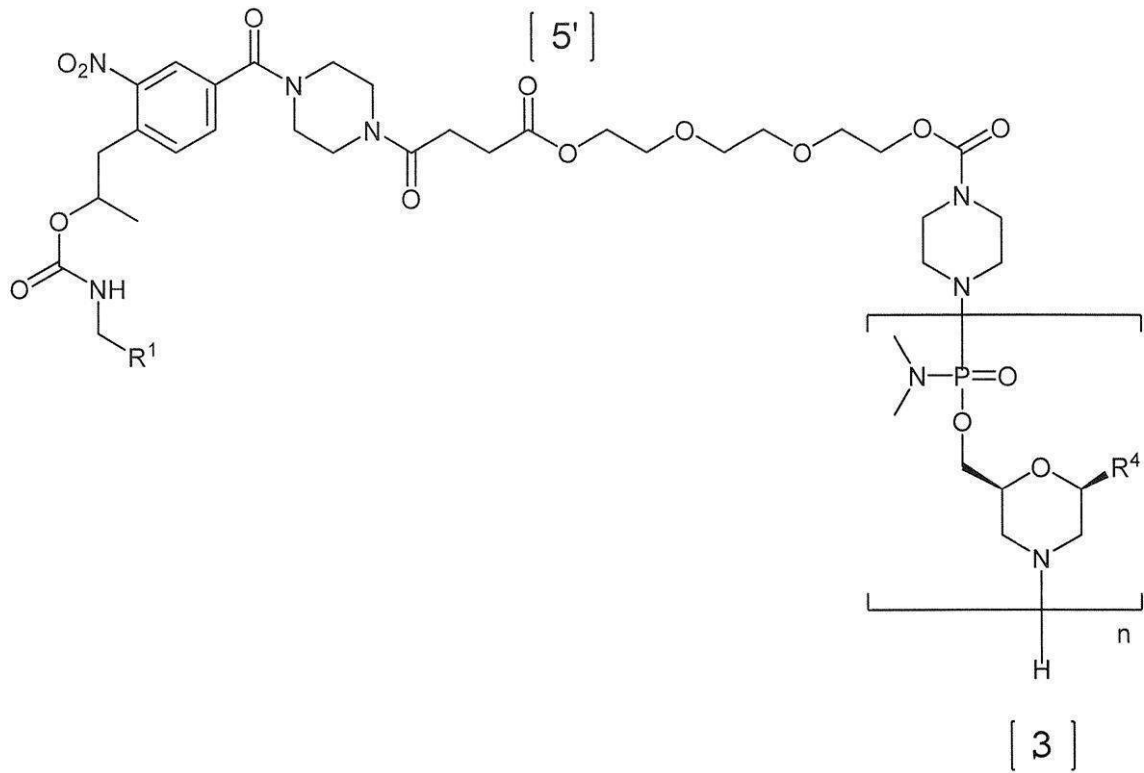
20

30

40

50

【化 2 2 8】



10

20

(A10a)

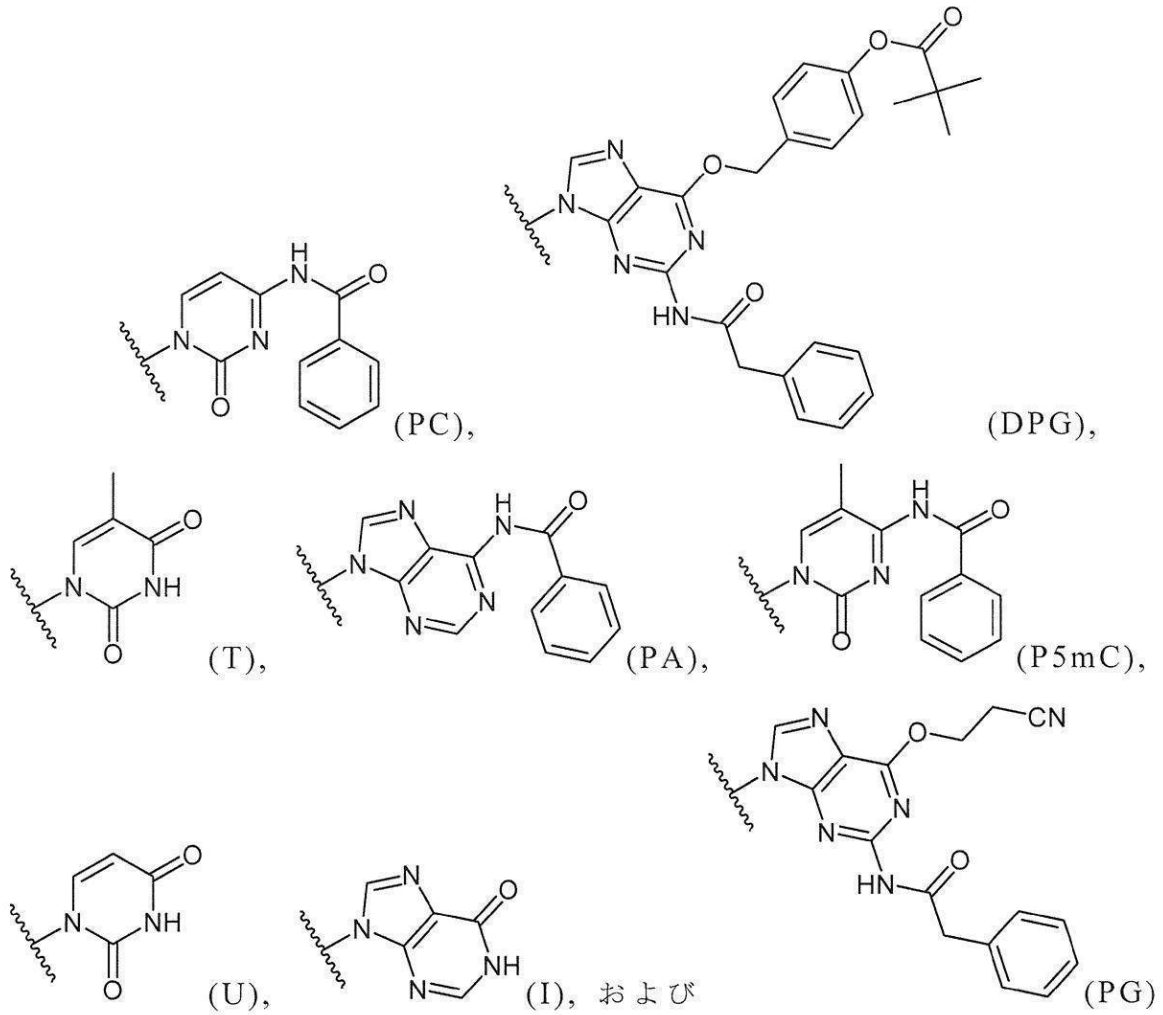
の化合物であり、式中、
 n は10～40の整数であり、
 R^1 は支持媒体であり、
 R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 2 2 9】



10

20

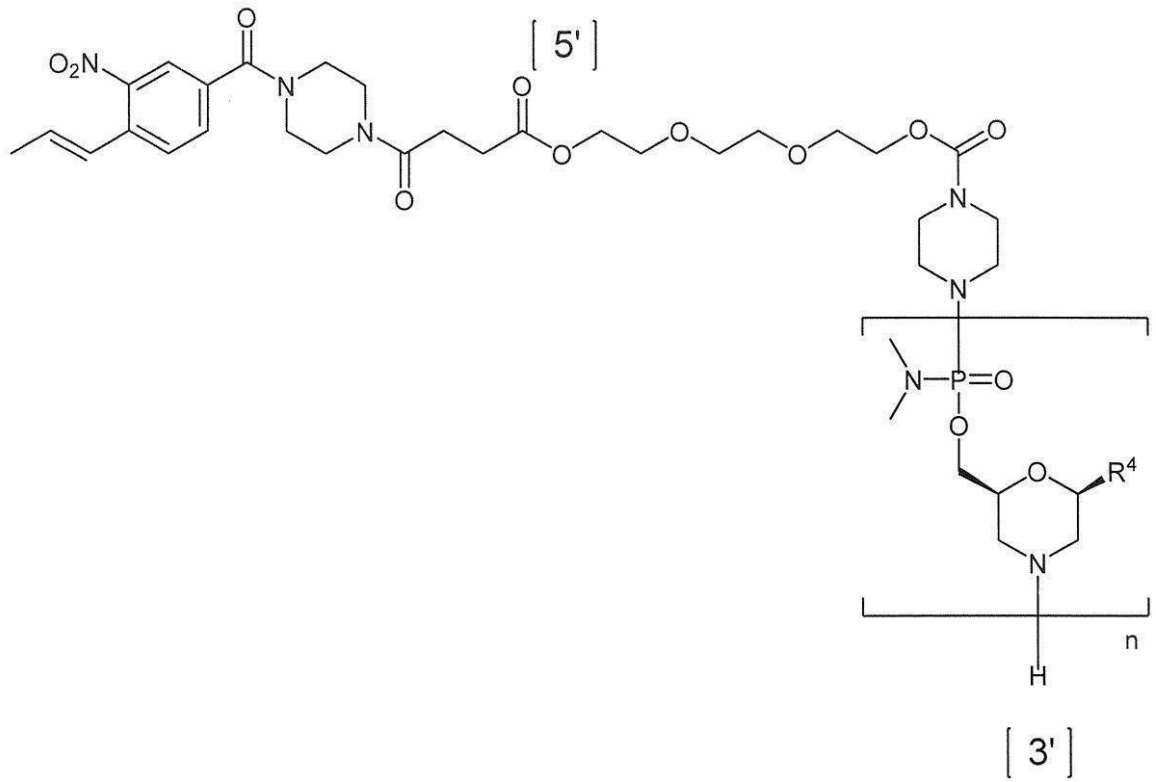
からなる群から選択される、
 項目 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のプロセス。
 (項目 7)
 式 (A 1 1) の化合物が式 (A 1 1 a) :

30

40

50

【化 2 3 0】



10

20

(A11a)

の化合物であり、式中、

n は 10 ~ 40 の整数であり、

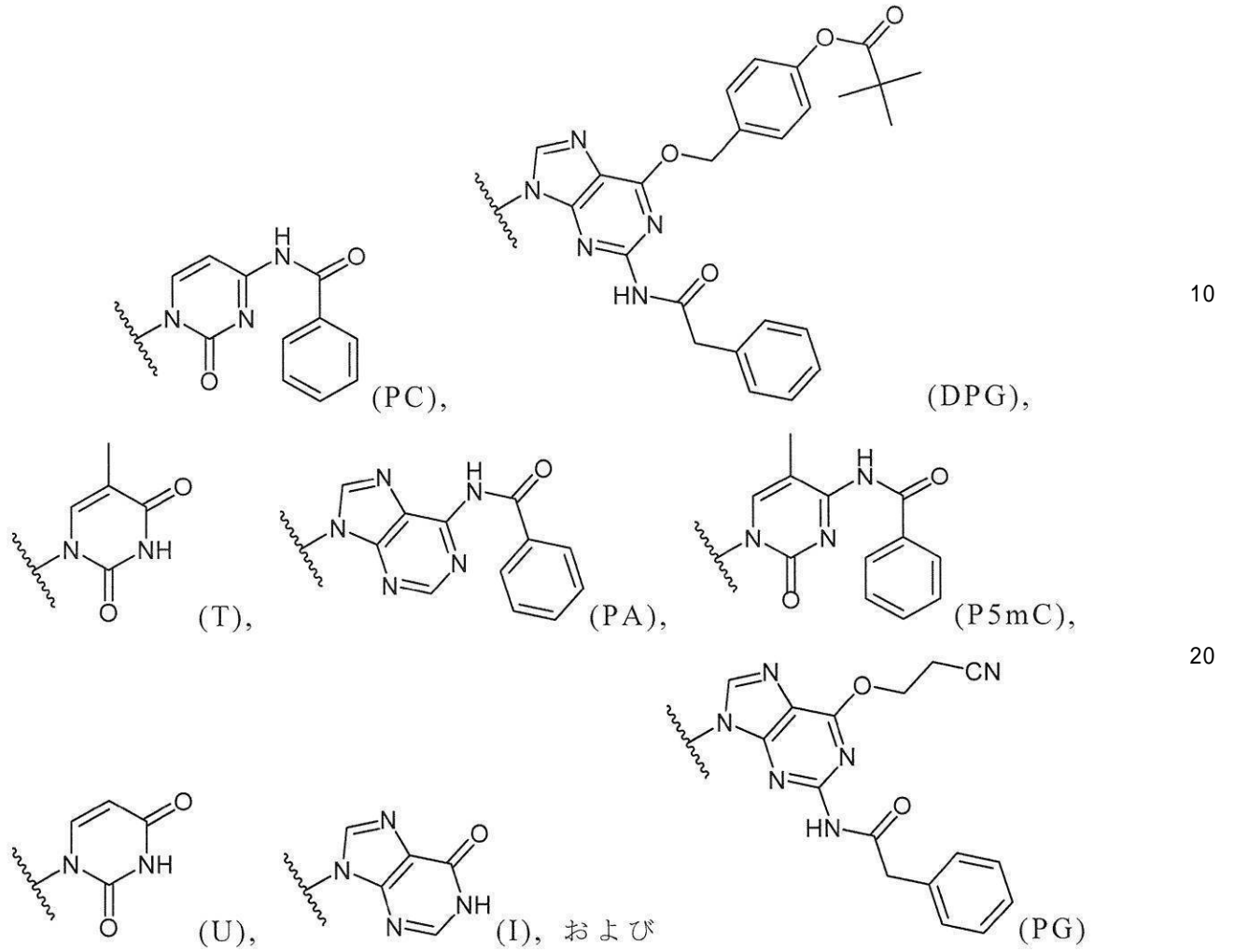
R^4 は、各出現について独立して、以下：

30

40

50

【化 2 3 1】



からなる群から選択される、

項目 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のプロセス。

(項目 8)

式 (A) のオリゴマー化合物について、 n は 22 であり、 R^2 は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

10

20

30

40

50

【表 2 1】

5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²
1	C	11	C	21	T
2	A	12	T	22	G
3	A	13	G		
4	T	14	G		
5	G	15	A		
6	C	16	G		
7	C	17	T		
8	A	18	T		
9	T	19	C		
10	C	20	C		

であり、

式 (A) のオリゴマー化合物は式 (C) :

10

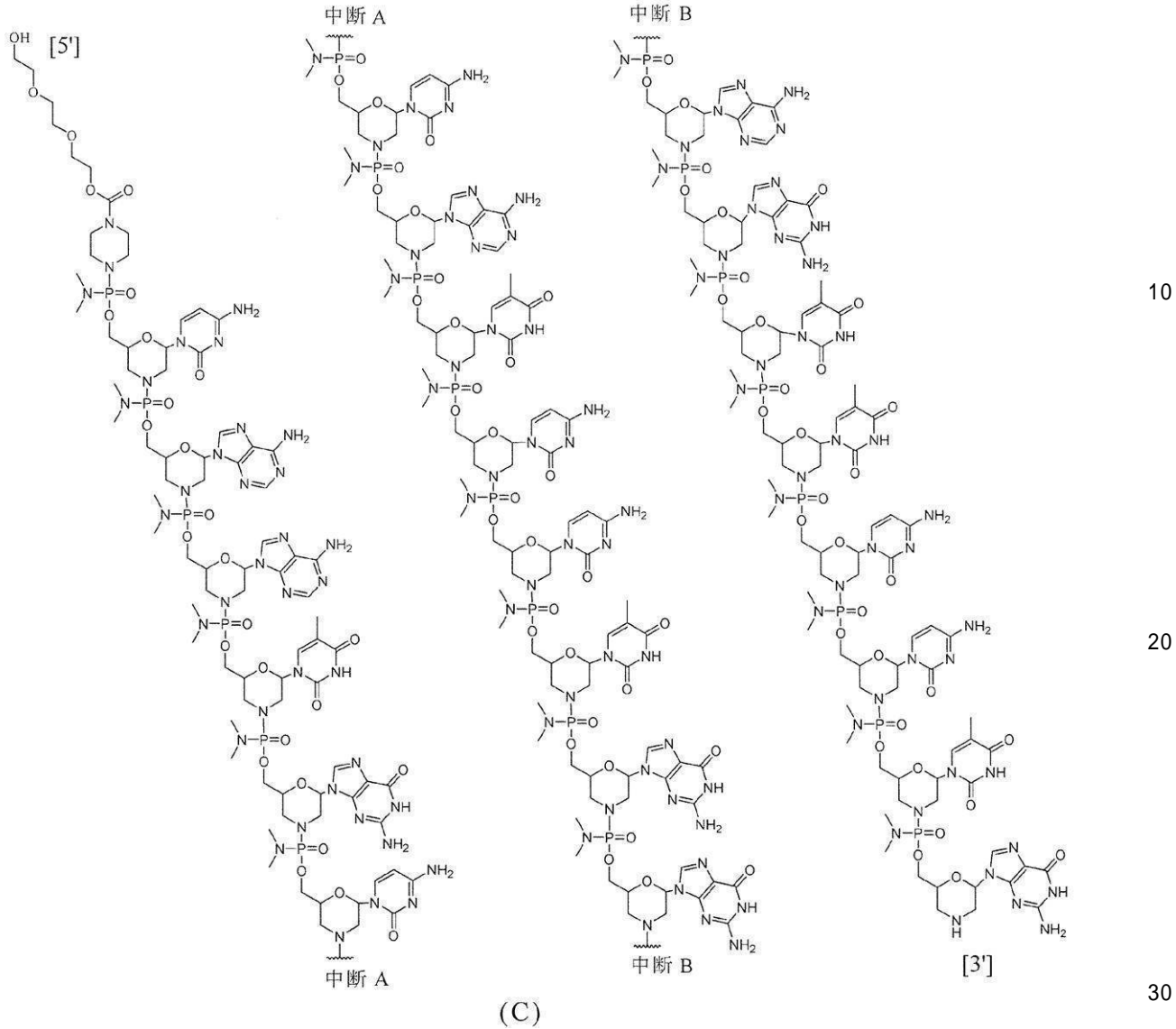
20

30

40

50

【化 2 3 2】



の化合物、またはその医薬的に許容される塩である、

項目 1 ~ 7 のいずれか一項に記載のプロセス。

(項目 9)

式 (C) のオリゴマー化合物は式 (X I I) :

10

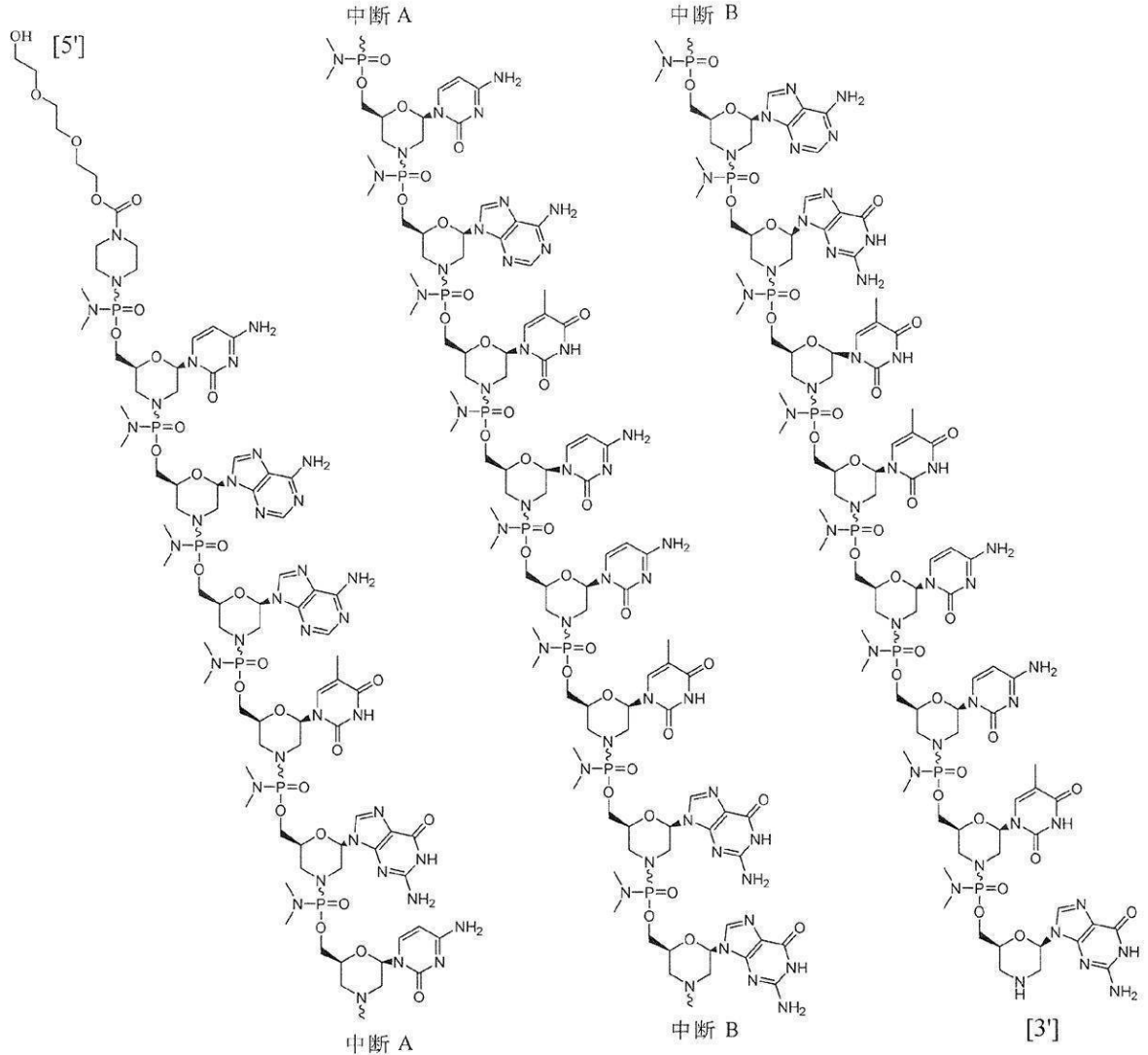
20

30

40

50

【化 2 3 3】



(XII)

のオリゴマー化合物、またはその医薬的に許容される塩である、項目 1 ~ 8 のいずれか一項に記載のプロセス。

(項目 1 0)

R 3 は、各出現でトリチルである、項目 1 ~ 9 のいずれか一項に記載のプロセス。

(項目 1 1)

式 (C) :

10

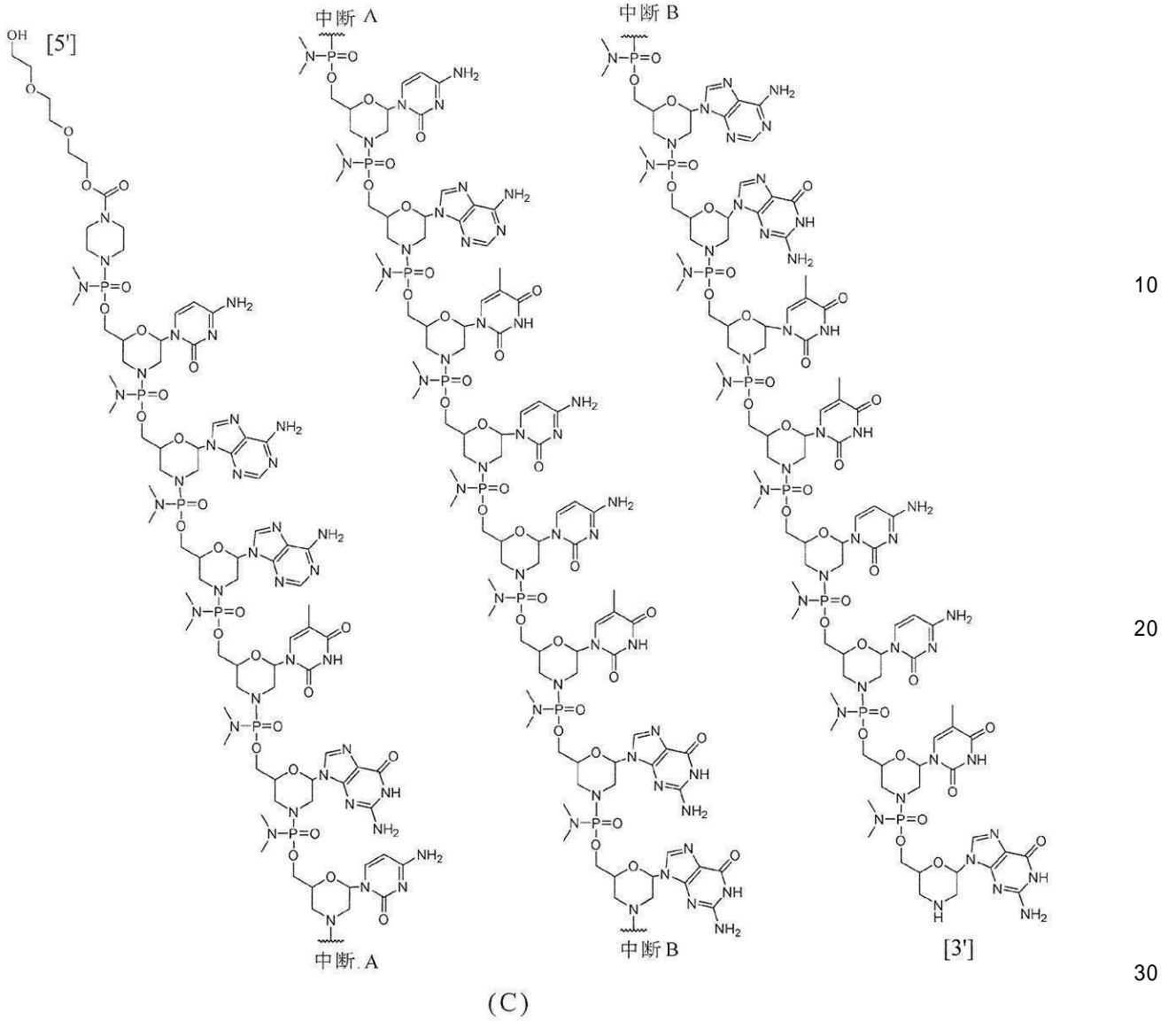
20

30

40

50

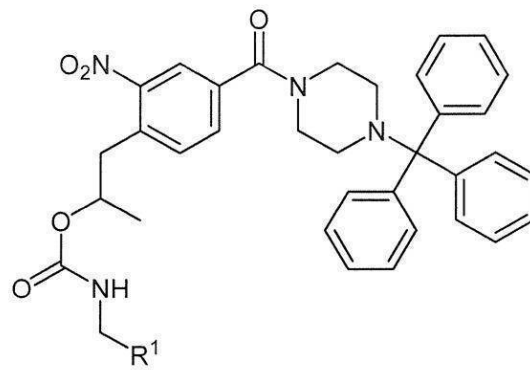
【化 2 3 4】



のオリゴマー化合物を調製するためのプロセスであって、以下の連続したステップ：

(a) 式 (I) ；

【化 2 3 5】



(I)

(式中、 R¹ は支持媒体である) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (II) ；

10

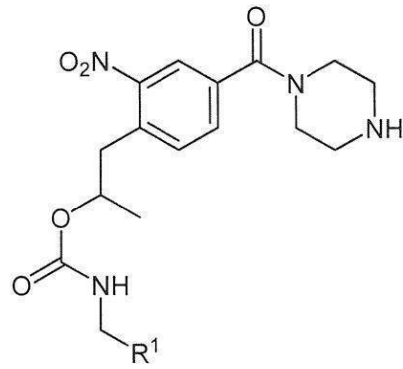
20

30

40

50

【化 2 3 6】

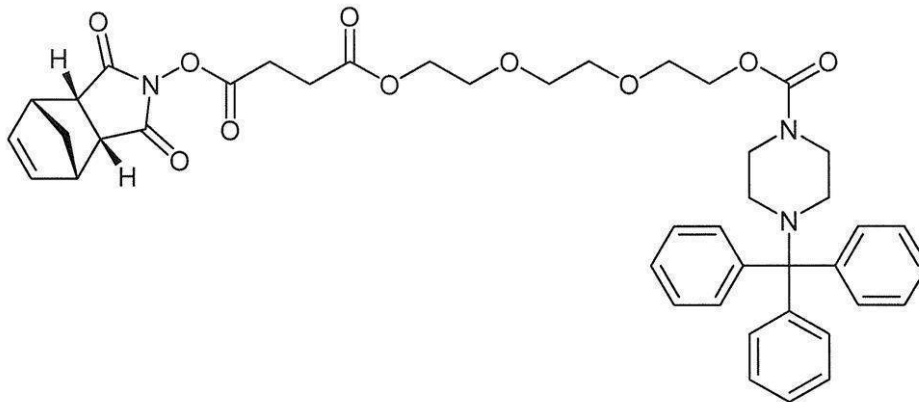


(II)

(式中、R₁は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(b) 式 (II) の化合物を化合物 (B) ；

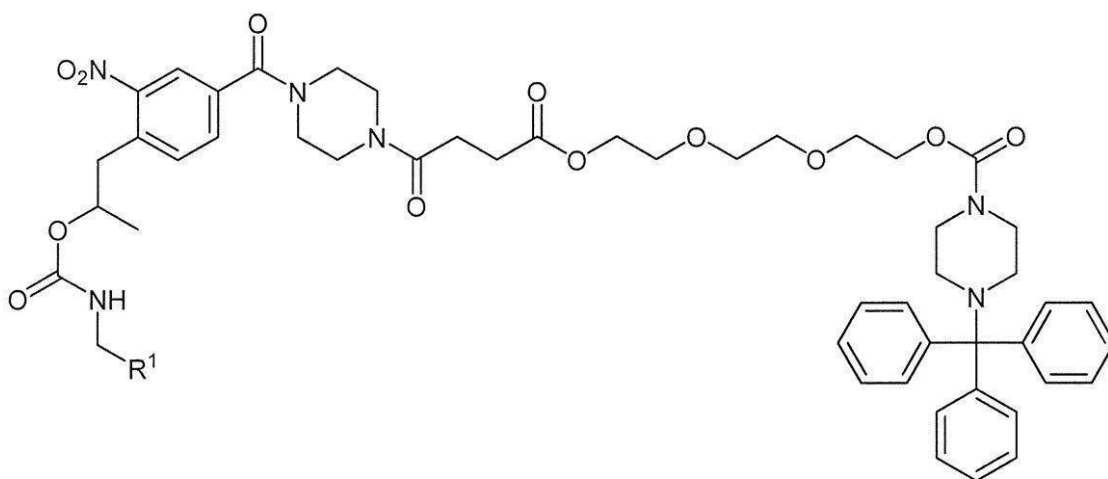
【化 2 3 7】



(B)

と接触させて式 (III) ；

【化 2 3 8】



(III)

(式中、R₁は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(c) 式 (III) の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式 (IV) ；

10

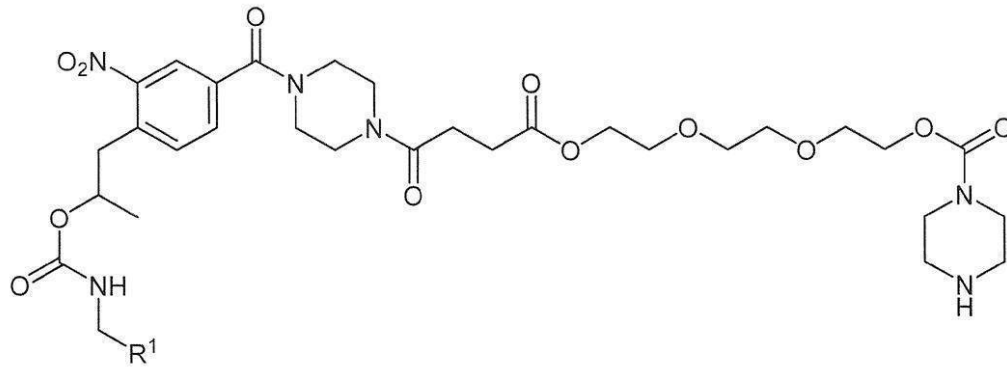
20

30

40

50

【化 2 3 9】



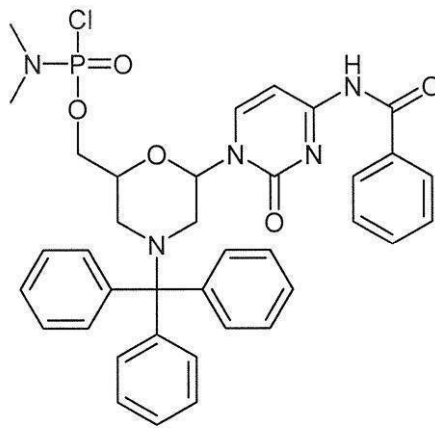
10

(IV)

(式中、R₁は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(d) 式 (IV) の化合物を式 (D) ；

【化 2 4 0】



20

(D)

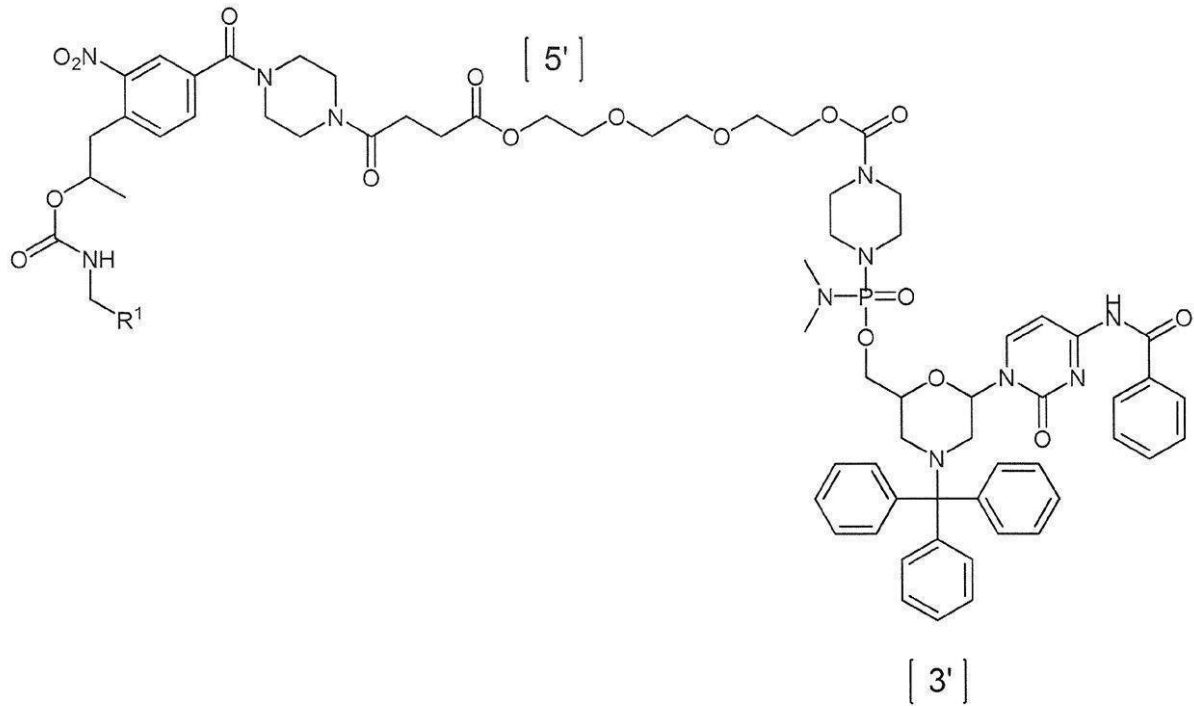
30

の化合物と接触させて式 (V) ；

40

50

【化 2 4 1】



10

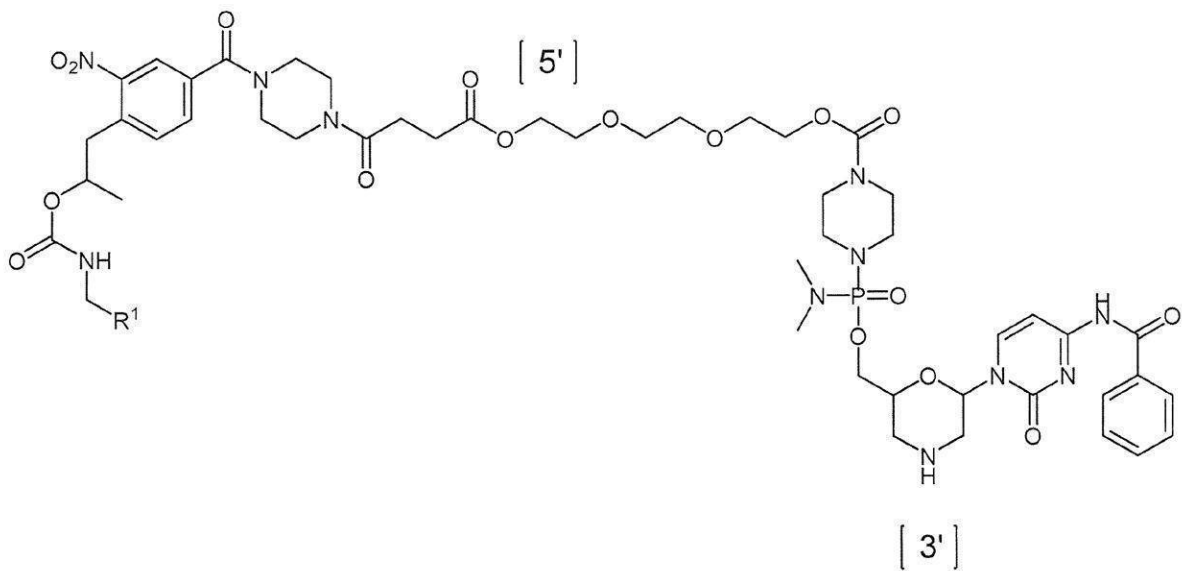
20

(V)

(式中、R₁は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(e)式(V)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(VI)；

【化 2 4 2】



30

40

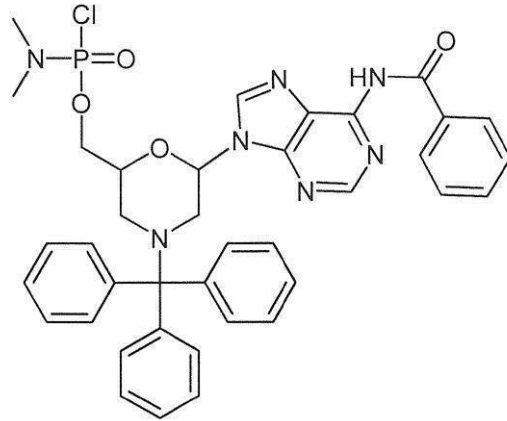
(VI)

(式中、R₁は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

(f)式(VI)の化合物を式(F)；

50

【化 2 4 3】

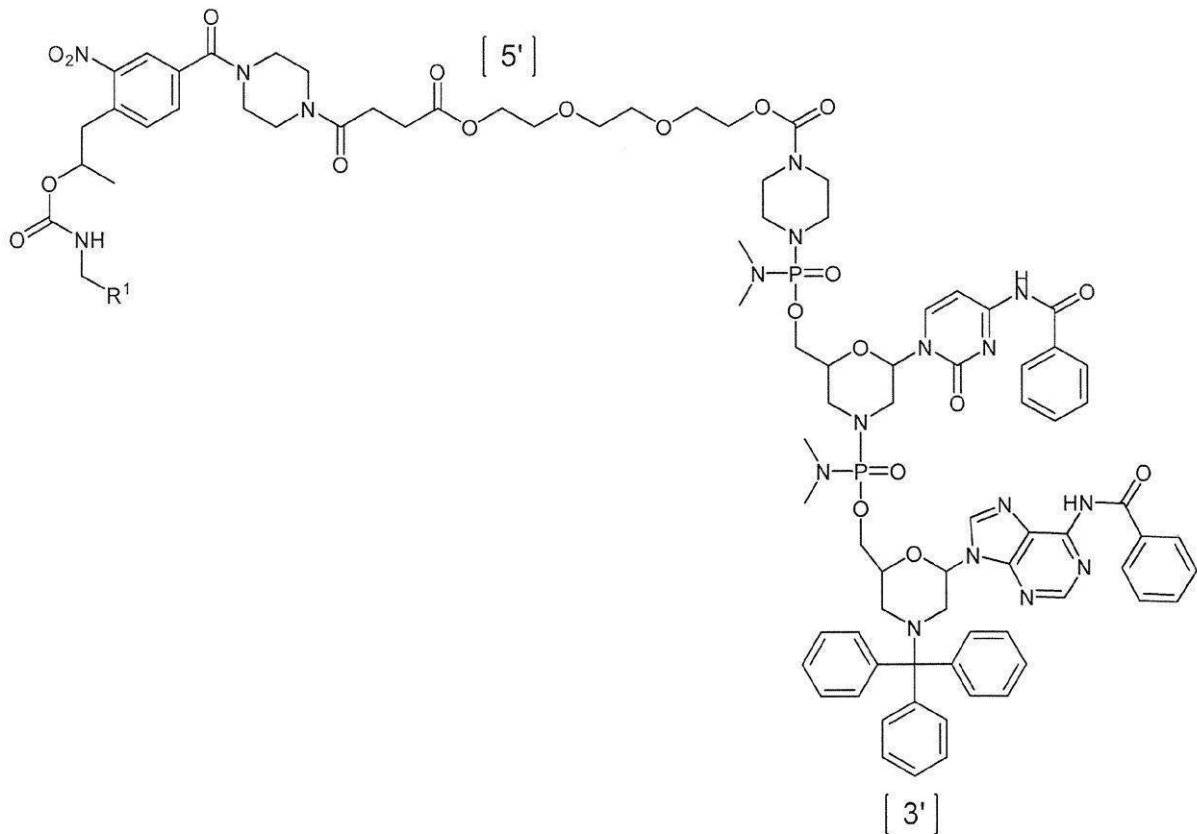


(F)

10

の化合物と接触させて式 (VII) :

【化 2 4 4】



(VII)

20

30

40

(式中、R₁は支持媒体である)の化合物を形成するステップ；

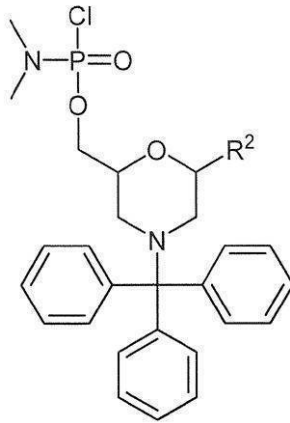
(g)以下の連続したステップ；

(g1)直前のステップによって形成された生成物を脱ブロッキング剤と接触させるステップ、および

(g2)直前のステップによって形成された化合物を式(VIII)；

50

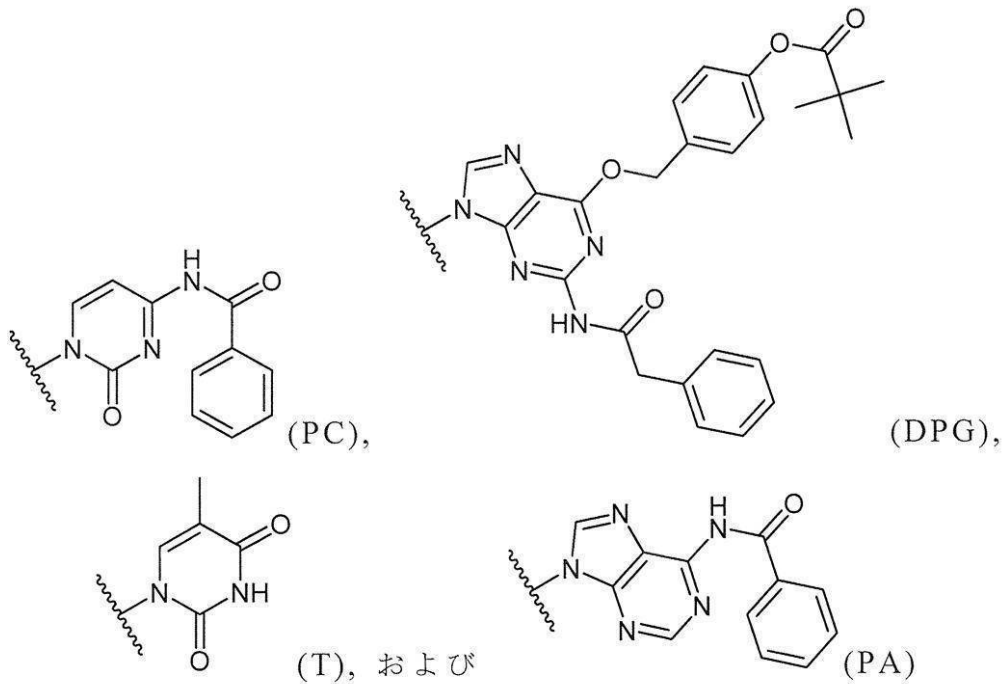
【化 2 4 5】



(VIII)

(式中、 R^2 は、式(VIII)の各化合物について独立して、以下：

【化 2 4 6】



からなる群から選択され、各反復 1 ~ 20 について、 R^2 は、以下：

10

20

30

40

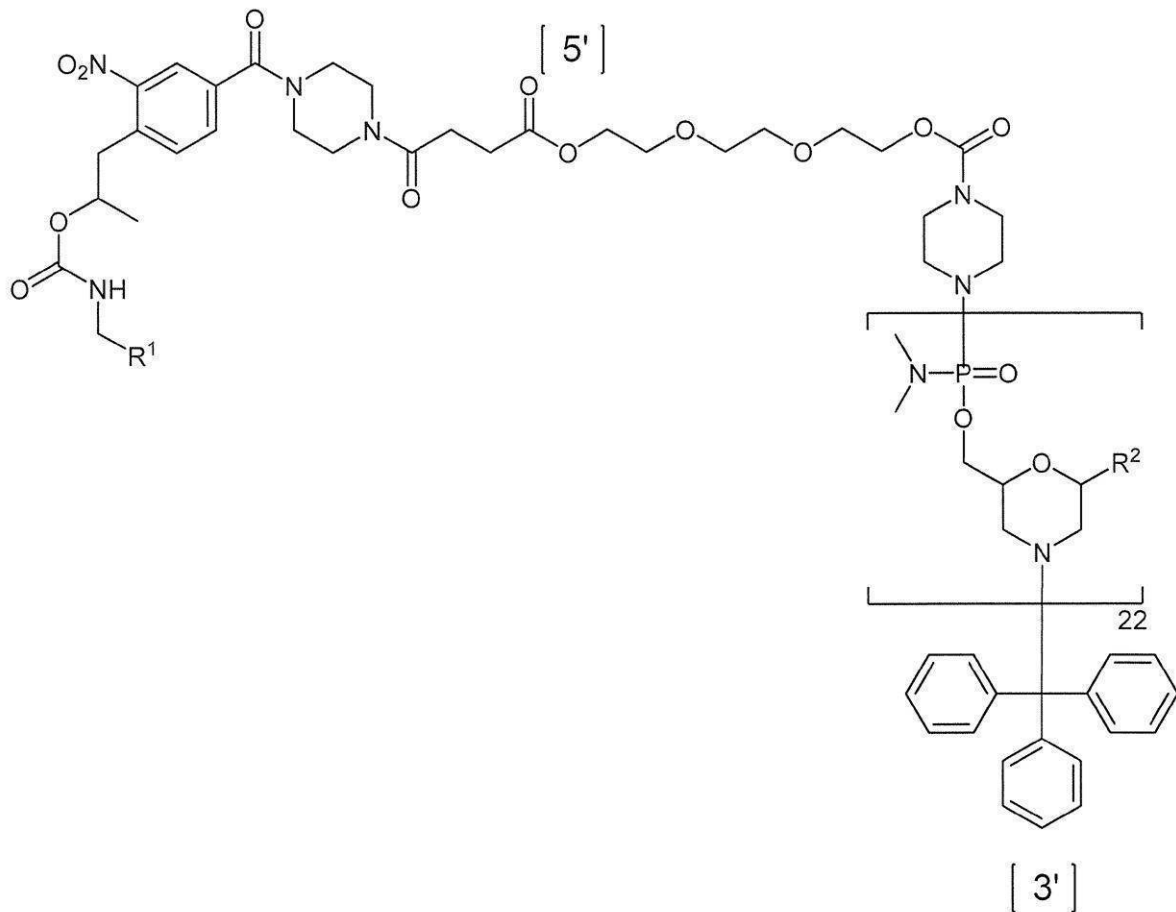
50

【表 2 2】

反復番号	R ²	反復番号	R ²
1	PA	11	DPG
2	T	12	DPG
3	DPG	13	PA
4	PC	14	DPG
5	PC	15	T
6	PA	16	T
7	T	17	PC
8	PC	18	PC
9	PC	19	T
10	T	20	DPG

である)の化合物と接触させて式(IX)：

【化 2 4 7】



(IX)

(式中、

R¹は支持媒体であり、

10

20

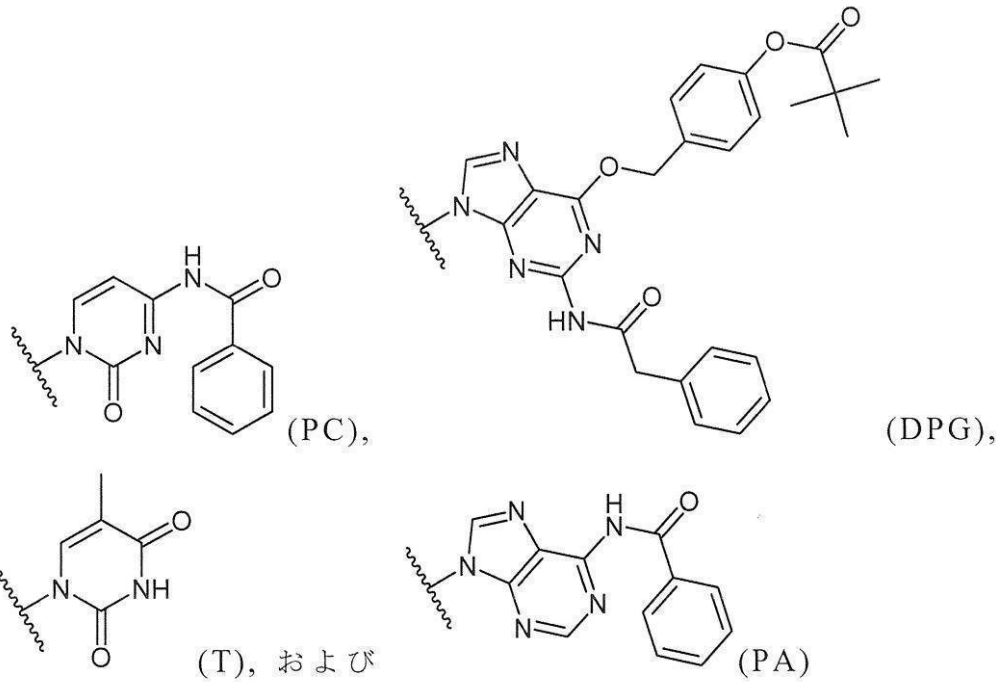
30

40

50

R²は、各出現について独立して、以下：

【化 2 4 8】



10

20

からなる群から選択され、

R²は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【表 2 3】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

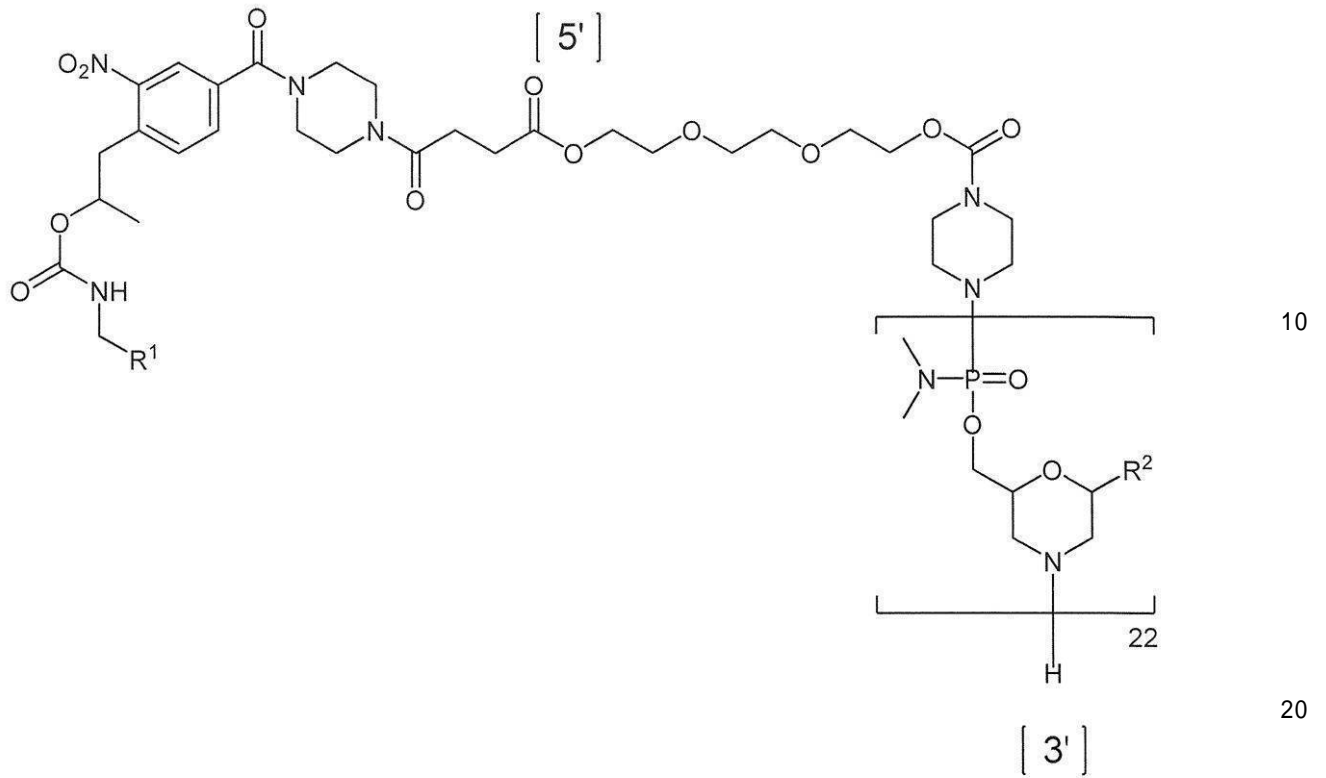
である)の化合物を形成するステップ

の20回の反復を実施するステップ；

(h)式(I X)の化合物を脱ブロッキング剤と接触させて式(X)：

50

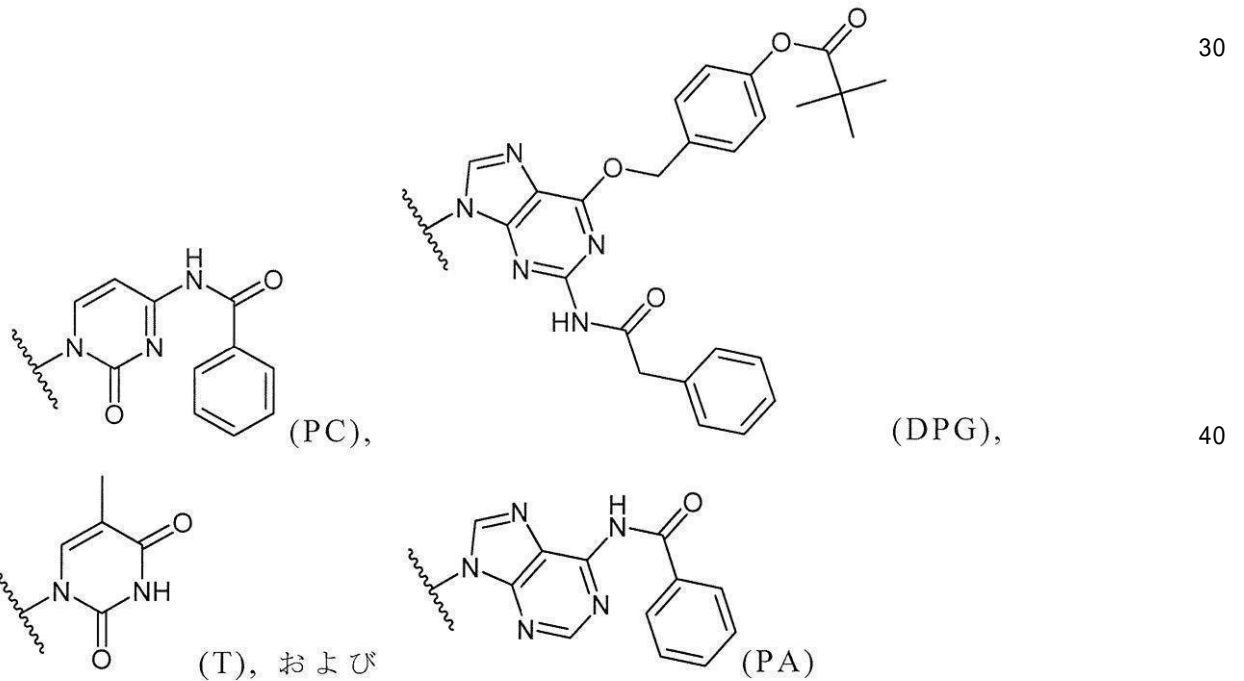
【化 2 4 9】



(式中、

R¹は支持媒体であり、R²は、各出現について独立して、以下：

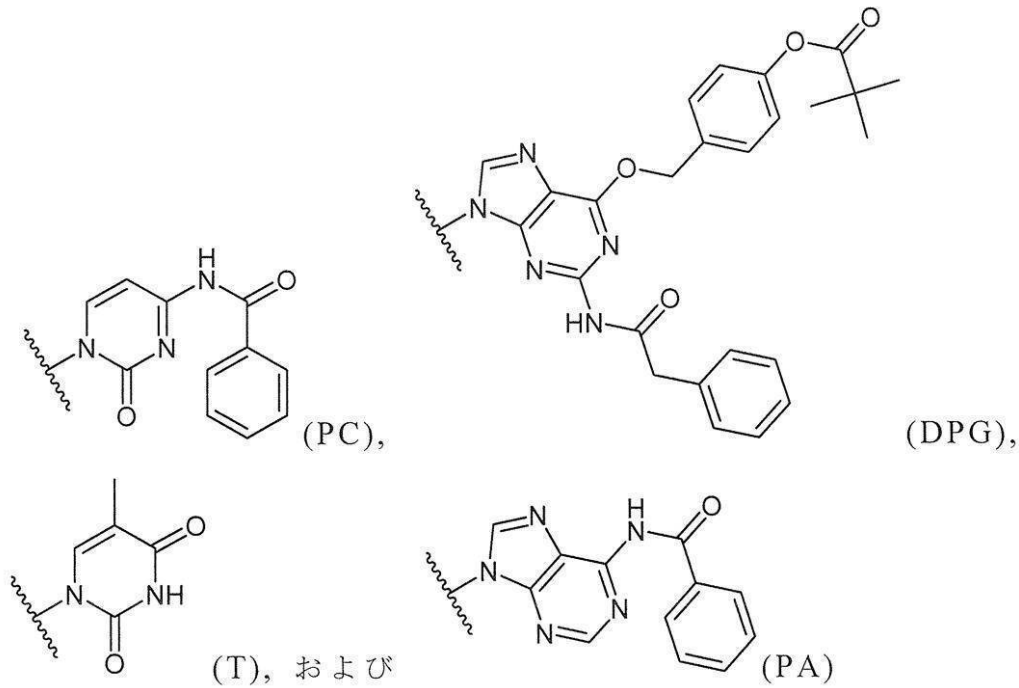
【化 2 5 0】



からなる群から選択され、

R²は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【化 2 5 2】



10

20

からなる群から選択され、

R²は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【表 2 5】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

である)の化合物を形成するステップ；ならびに

(j)式(XI)の化合物を脱保護剤と接触させて式(C)のオリゴマー化合物を形成するステップ

を含む、項目1に記載のプロセス。

(項目12)

ステップ(d)、ステップ(f)またはステップ(g2)が、それぞれ式(IV)の化合物、式(VI)の化合物または前記直前のステップによって形成された前記化合物を、キャッピング剤と接触させることをさらに含む、項目1~11のいずれか一項に記載の

50

プロセス。

(項目 1 3)

各ステップで使用される前記脱ブロッキング剤は、ハロゲン化酸またはシアノ酢酸である、項目 1 ~ 1 2 のいずれか一項に記載のプロセス。

(項目 1 4)

前記ハロゲン化酸は、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、フルオロ酢酸、ジフルオロ酢酸、およびトリフルオロ酢酸からなる群から選択される、項目 1 3 に記載のプロセス。

(項目 1 5)

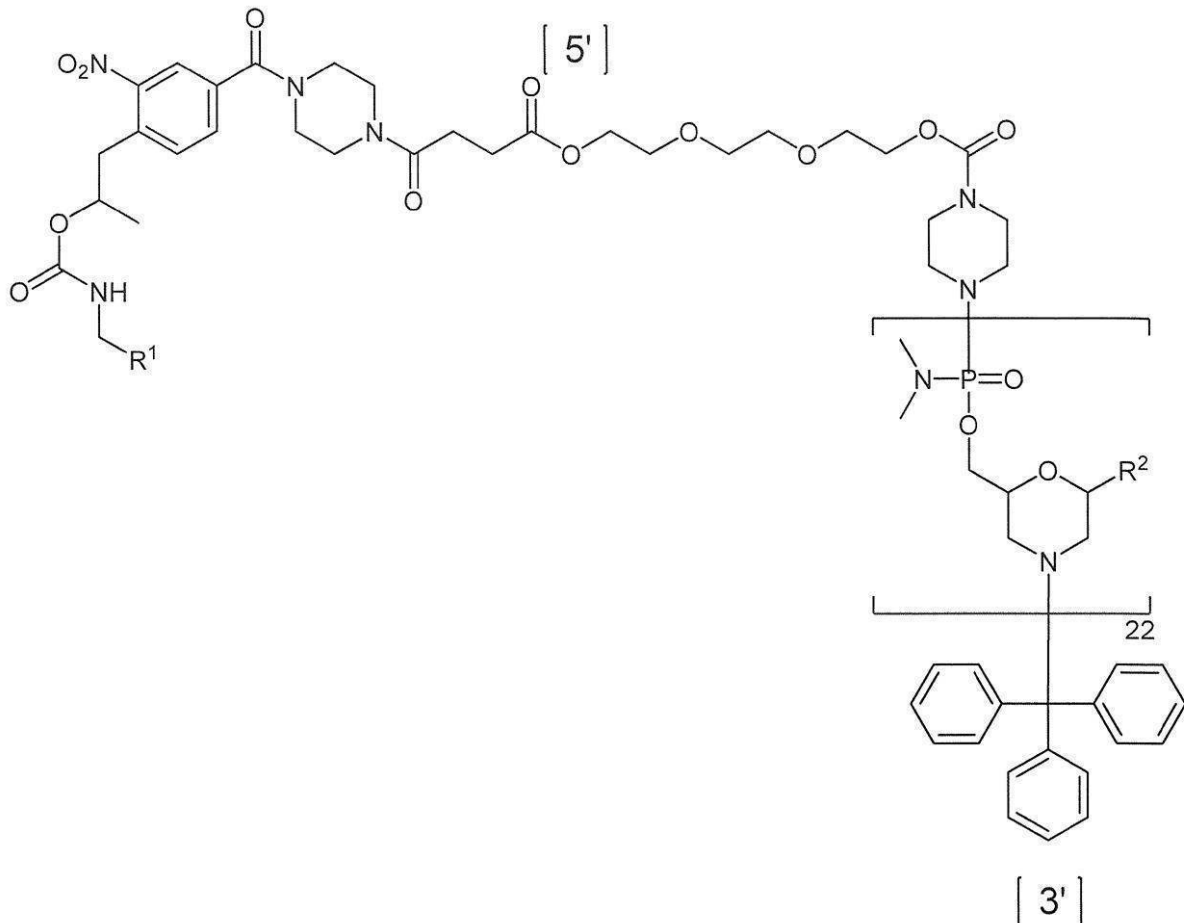
前記支持媒体は、ガラス、修飾または官能化ガラス、プラスチック（アクリル、ポリスチレン（例えば、1%ジビニルベンゼン架橋ポリスチレン）、スチレンと他の材料とのコポリマー、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリブチレン、ポリウレタン、およびテフロン（登録商標）を含む）、多糖類、ナイロンまたはニトロセルロース、セラミックス、樹脂、シリカまたはシリカ系材料（シリコンおよび修飾シリコンを含む）、炭素、金属、ならびに光ファイバ束からなる群から選択される材料を含む、項目 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載のプロセス。

10

(項目 1 6)

(式 I X) :

【化 2 5 3】



20

30

40

(IX)

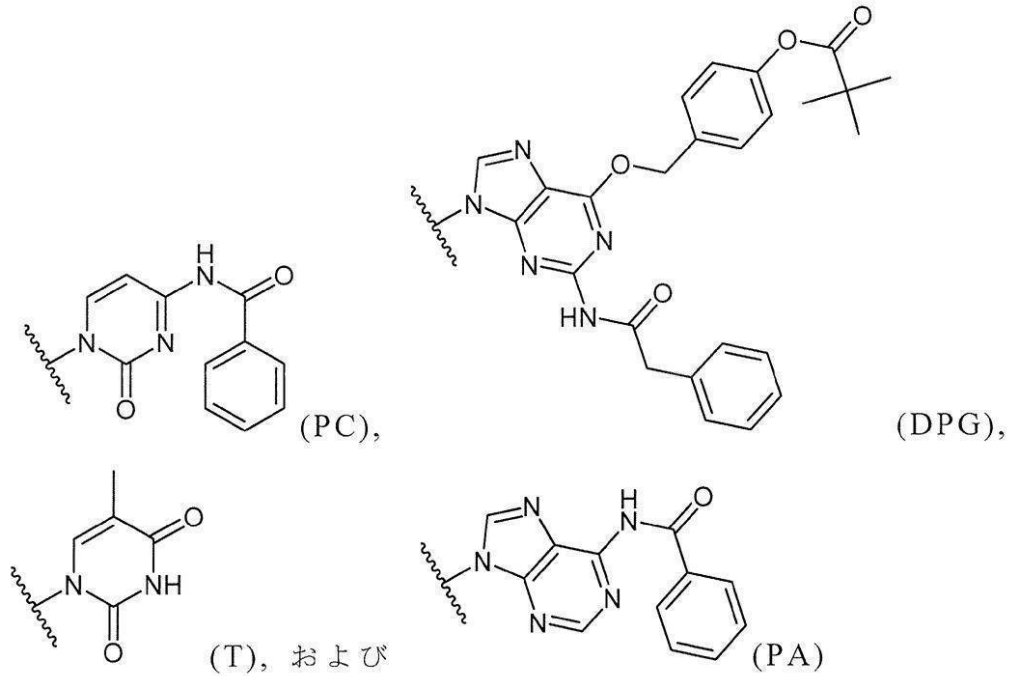
の化合物であって、式中、

R₁ は支持媒体であり、

R₂ は、各出現で独立して、以下：

50

【化 2 5 4】



10

20

からなる群から選択され、

R²は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【表 2 6】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

である、

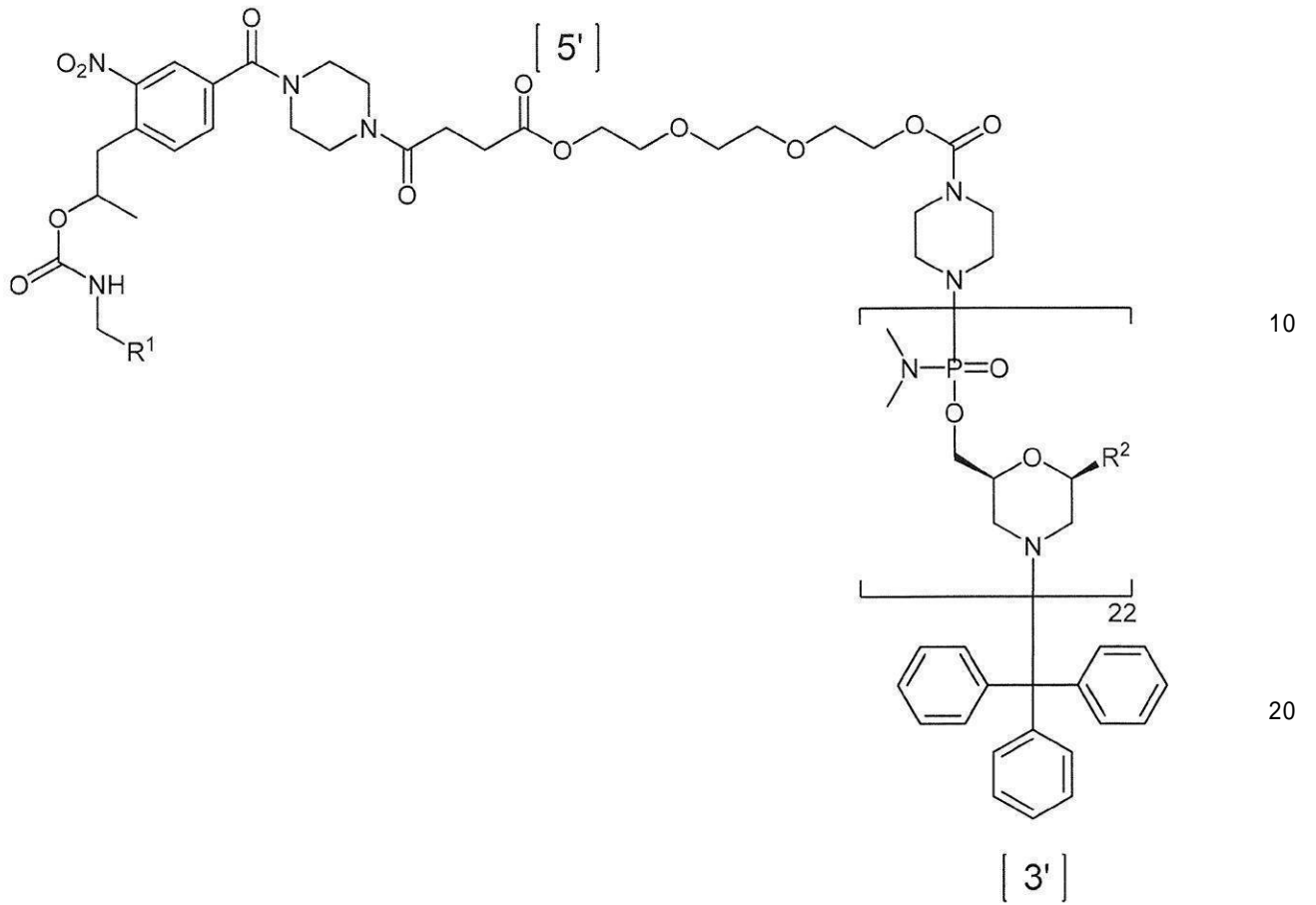
化合物、またはその医薬的に許容される塩。

(項目 1 7)

式 (I X) の化合物が式 (I X a) :

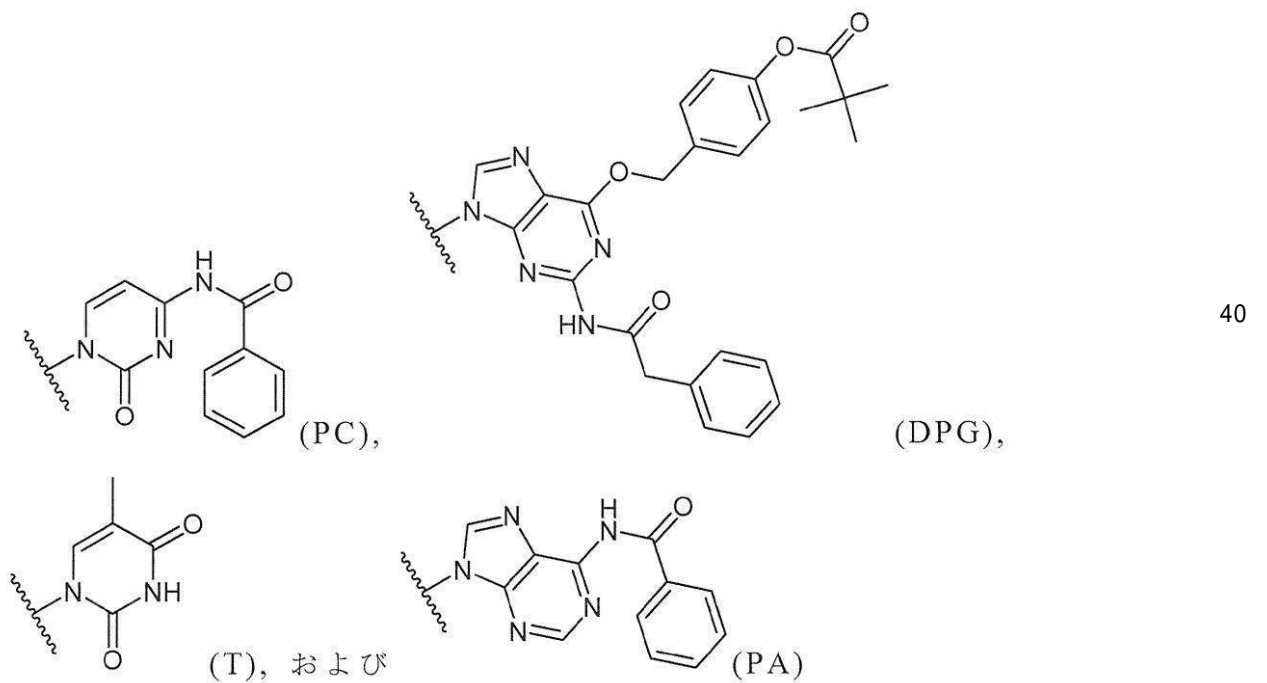
50

【化 2 5 5】



(IXa)

の化合物であり、式中、
 R^1 は支持媒体であり、
 R^2 は、各出現で独立して、以下：
 【化 2 5 6】



からなる群から選択され、

R²は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【表27】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

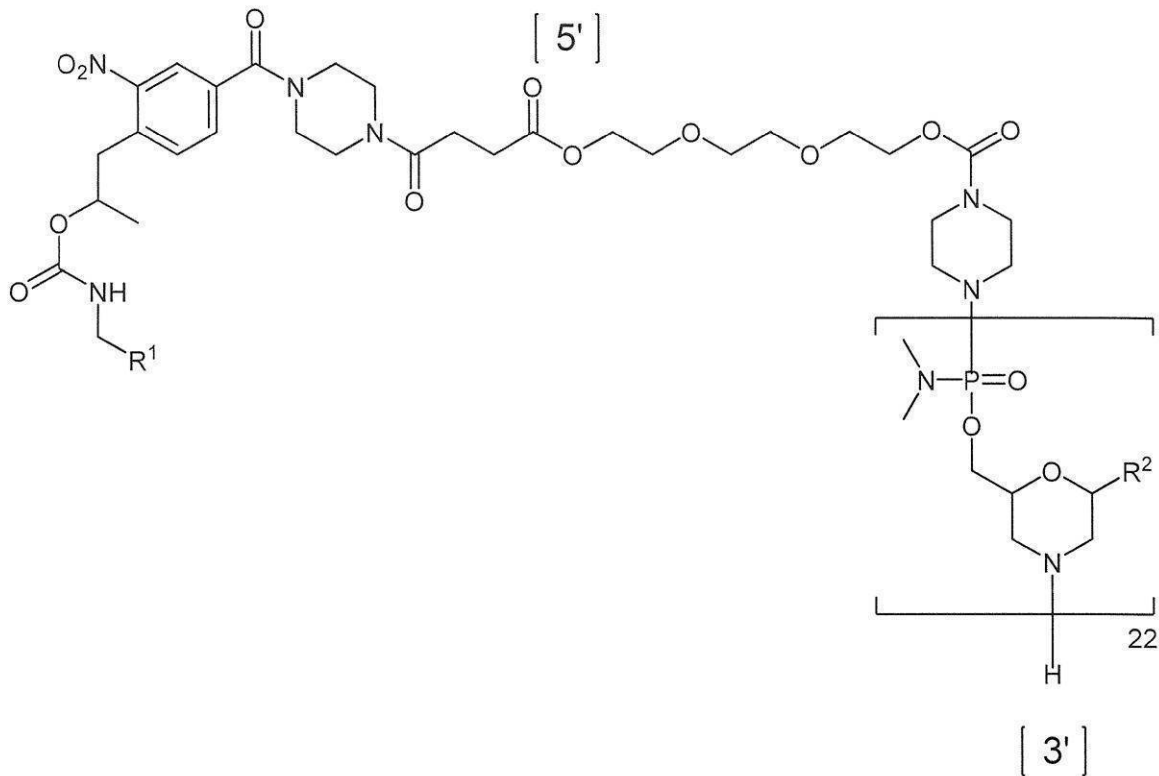
である、

項目16に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

(項目18)

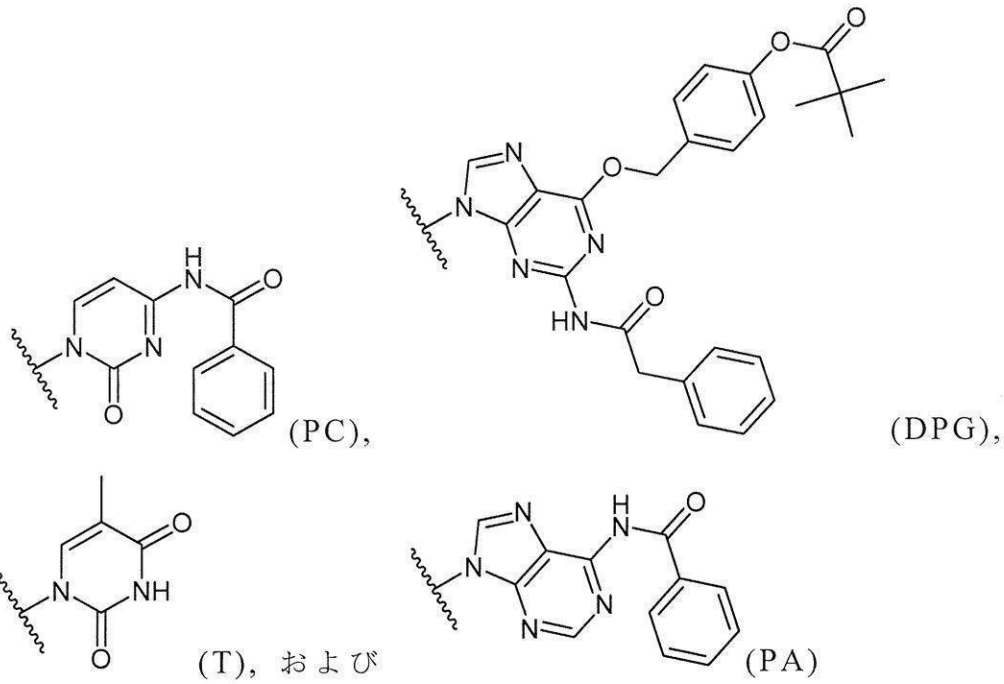
(式X)：

【化257】



(X)

の化合物であって、式中、
R₁は支持媒体であり、
R₂は、各出現で独立して、以下：
 【化258】



10

20

からなる群から選択され、
R₂は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【表28】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

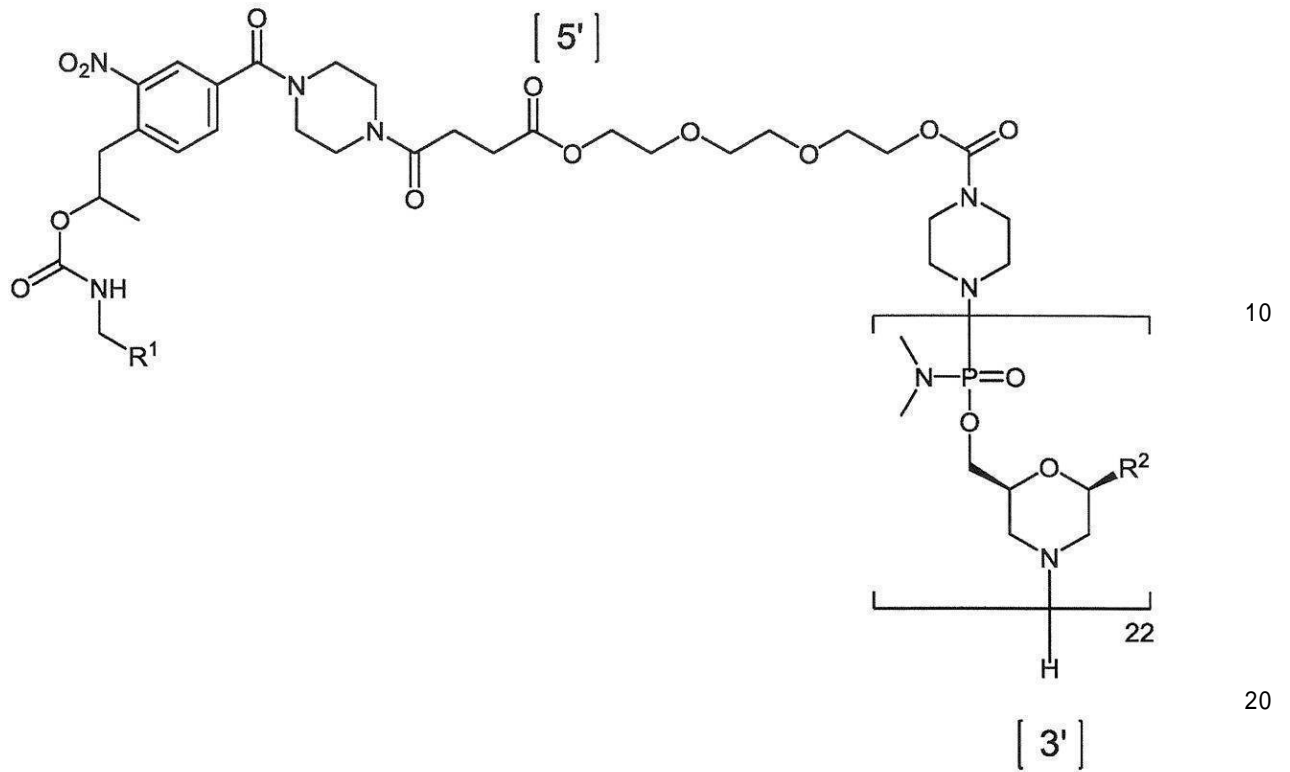
30

40

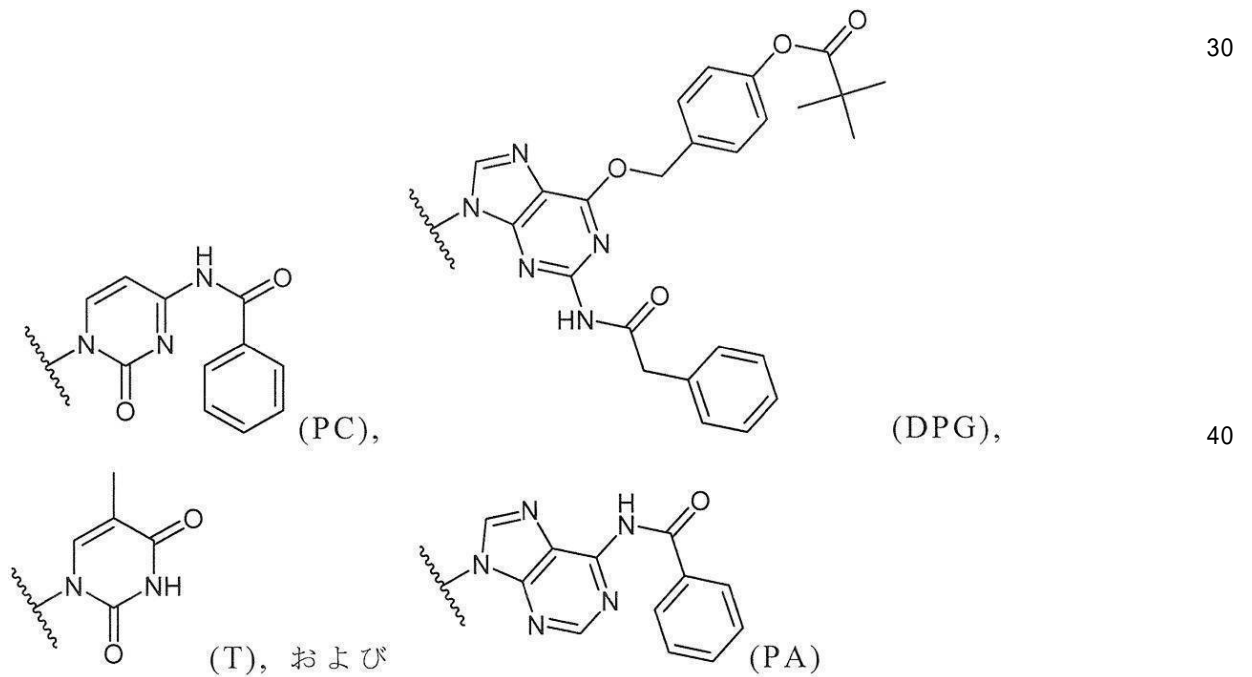
である、
 化合物、またはその医薬的に許容される塩。
 (項目19)
式(X)の化合物が式(Xa)：

50

【化 2 5 9】



の化合物であり、式中、
R¹は支持媒体であり、
R²は、各出現で独立して、以下：
 【化 2 6 0】



からなる群から選択され、
R²は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

10

20

30

40

50

【表 2 9】

5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²	5'から 3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である、

項目 7 0 に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

(項目 2 0)

前記支持媒体が 1 %ジビニルベンゼン架橋ポリスチレンを含む、項目 1 6 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の化合物。

(項目 2 1)

(式 X I) :

10

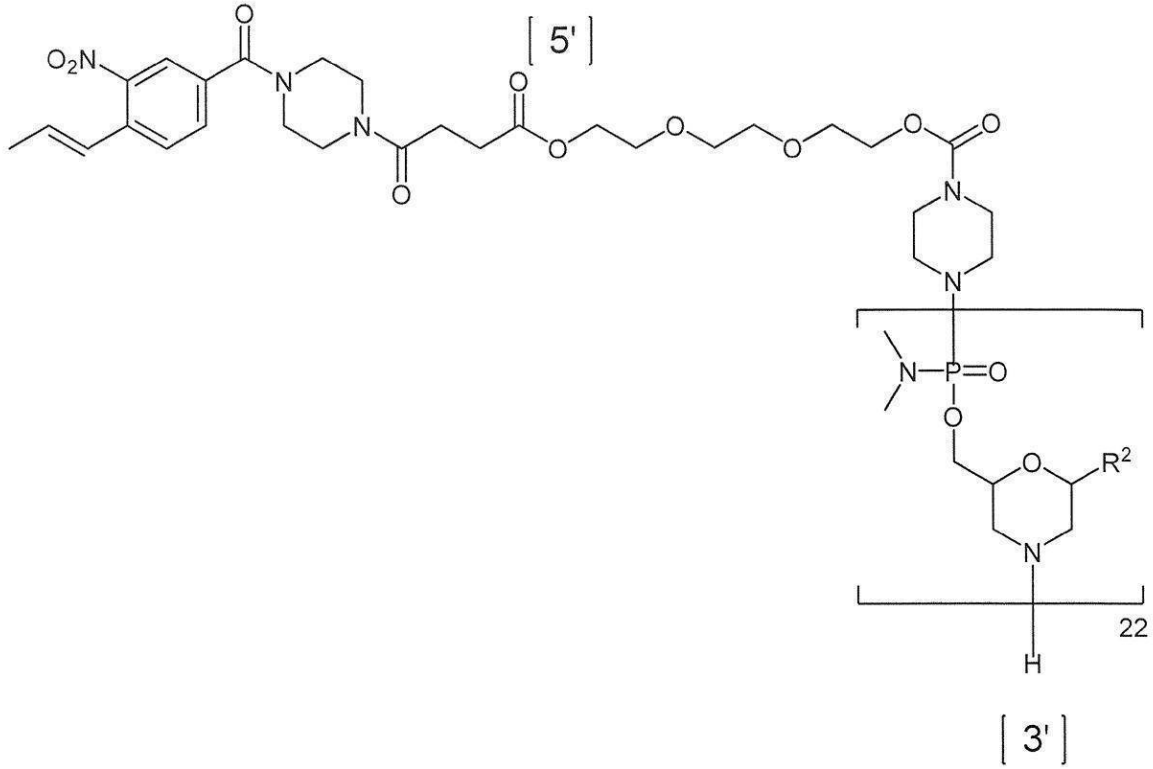
20

30

40

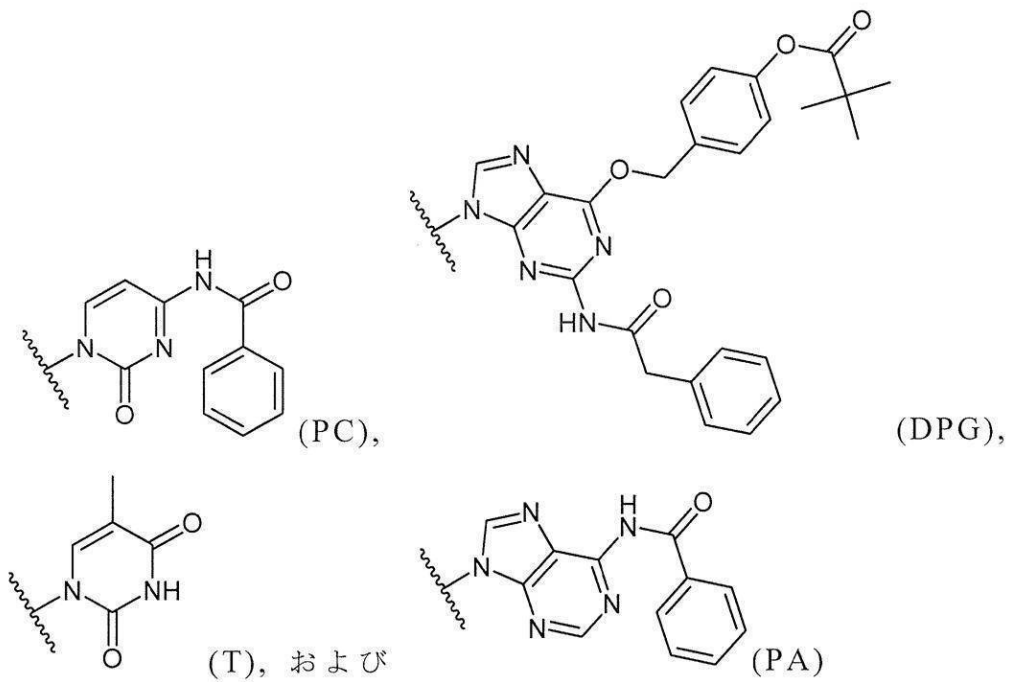
50

【化 2 6 1】



の化合物であって、式中、
R²は、各出現で独立して、以下：

【化 2 6 2】



からなる群から選択され、
R²は 5' から 3' へ向かって 1 ~ 22 の各位置で以下：

【表 3 0】

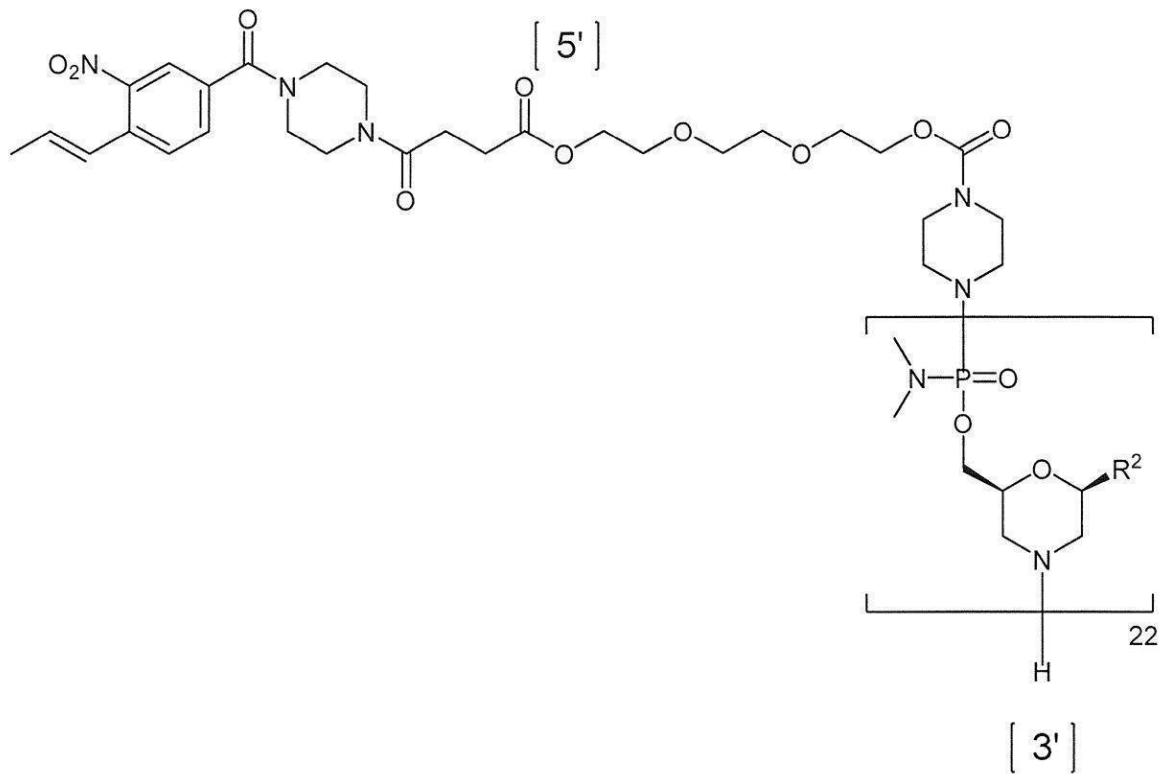
5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

である、
化合物、またはその医薬的に許容される塩。

(項目 2 2)

式 (X I) の化合物が式 (X I a) :

【化 2 6 3】



の化合物であり、式中、
R²は、各出現で独立して、以下：

10

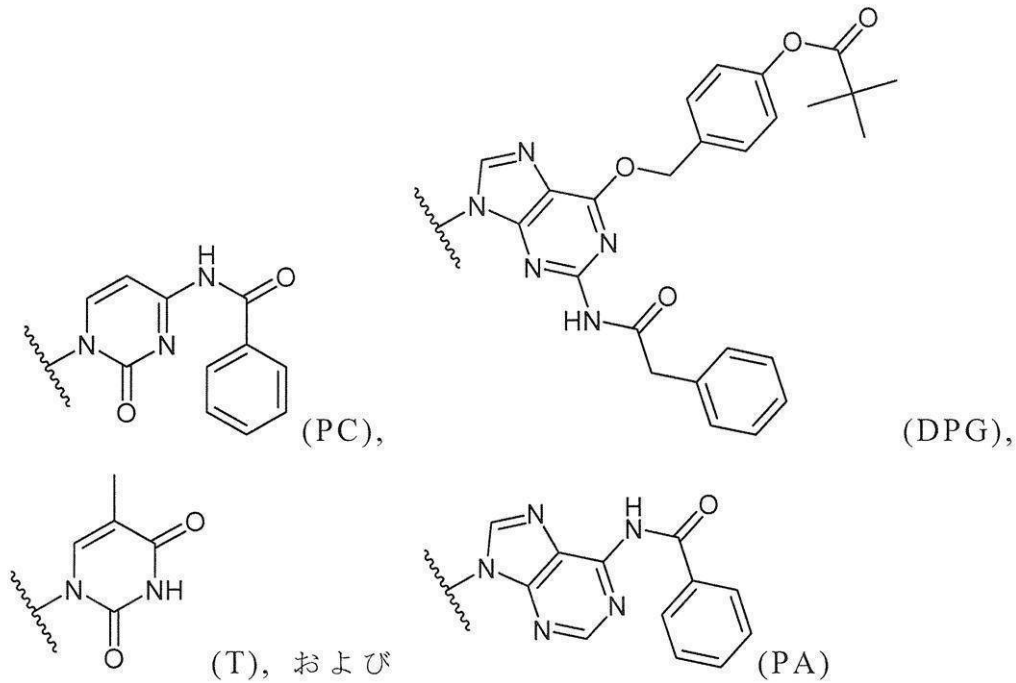
20

30

40

50

【化 2 6 4】



10

20

からなる群から選択され、

R²は5'から3'へ向かって1~22の各位置で以下：

【表 3 1】

5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²	5'から3'への位置 番号	R ²
1	PC	11	PC	21	T
2	PA	12	T	22	DPG
3	PA	13	DPG		
4	T	14	DPG		
5	DPG	15	PA		
6	PC	16	DPG		
7	PC	17	T		
8	PA	18	T		
9	T	19	PC		
10	PC	20	PC		

30

40

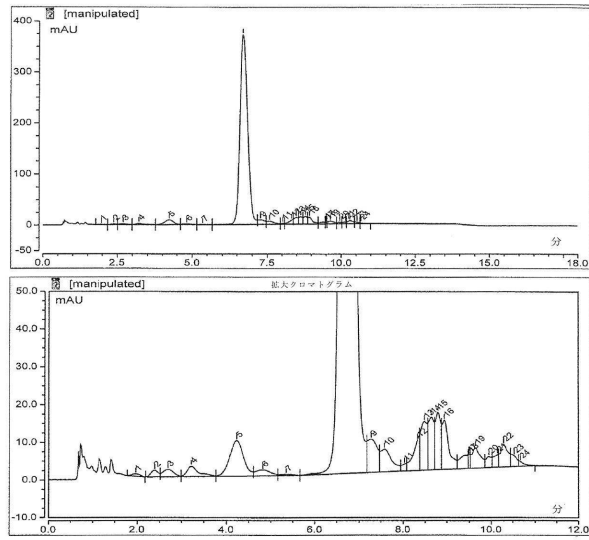
である、

項目 2 1 に記載の化合物、またはその医薬的に許容される塩。

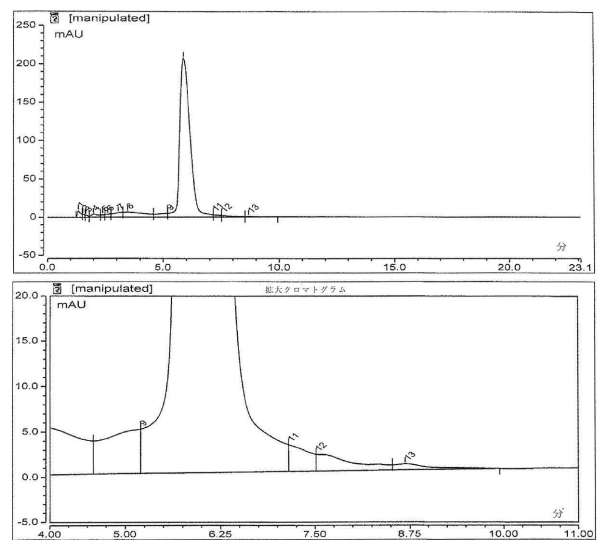
50

【 図面 】

【 図 1 】

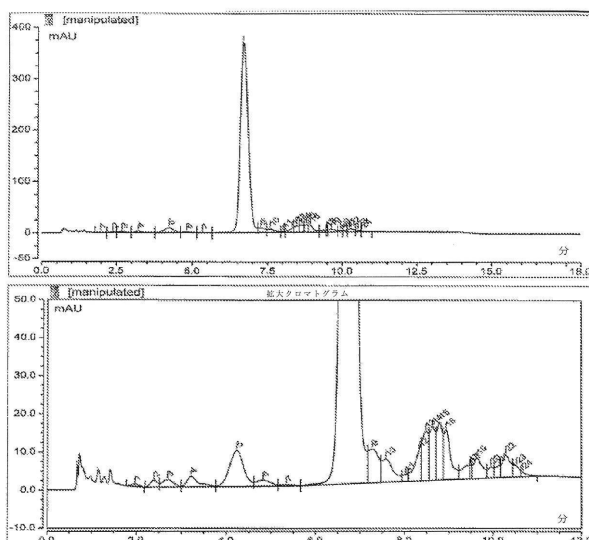


【 図 2 】

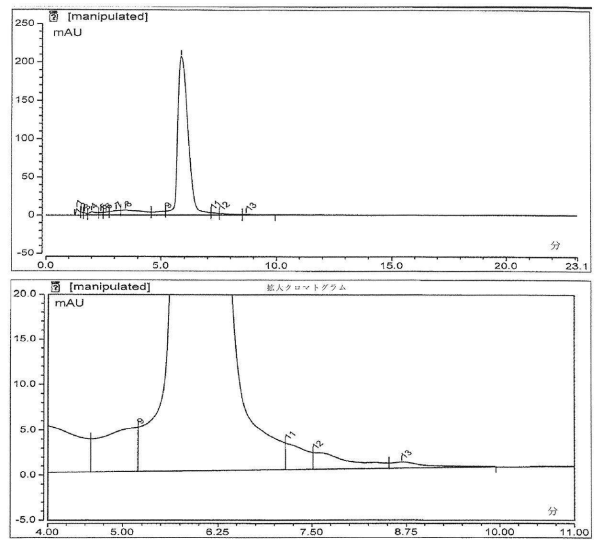


10

【 図 3 】



【 図 4 】



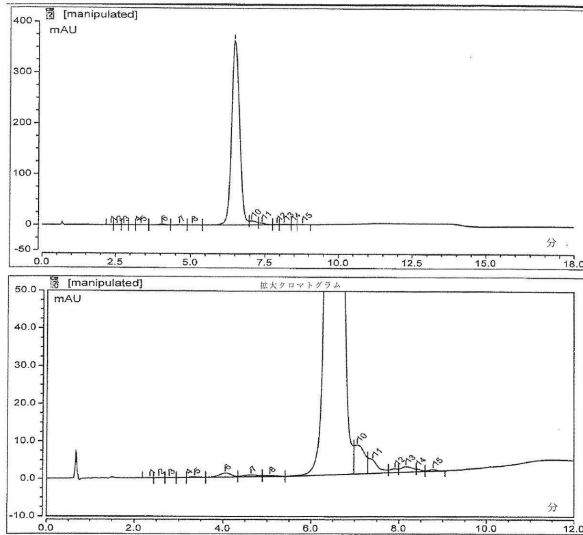
20

30

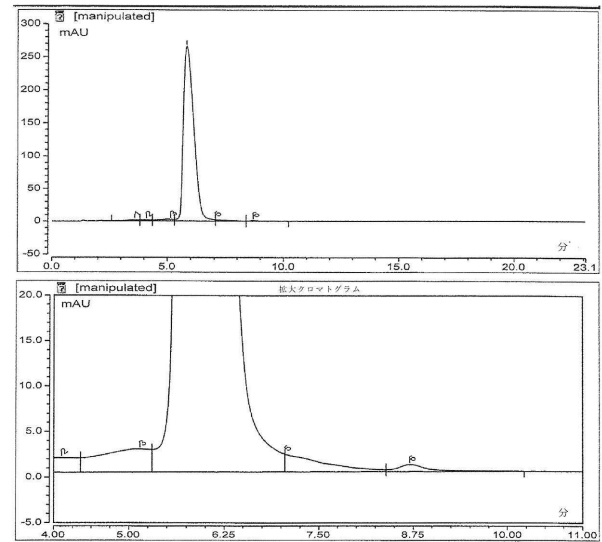
40

50

【 5 】



【 6 】



10

【 配列表 】

0007022079000001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 P 43/00 (2006.01)
C 1 2 N 15/113 (2010.01)

F I

A 6 1 P 43/00 1 1 1
C 1 2 N 15/113 Z Z N A

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/357,134

(32)優先日 平成28年6月30日(2016.6.30)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

気付

(72)発明者 マルティニーニ, ミッチェル

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ファースト ストリート 2 1
5, サレプタ セラピューティクス, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 トーマス, ケイティ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ファースト ストリート 2 1
5, サレプタ セラピューティクス, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 シマブク, ロス

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2 1 4 2, ケンブリッジ, ファースト ストリート 2 1
5, サレプタ セラピューティクス, インコーポレイテッド 気付

審査官 岡部 佐知子

(56)参考文献

特表 2 0 1 9 - 5 1 8 8 3 2 (J P , A)
特表 2 0 1 9 - 5 2 3 7 5 4 (J P , A)
特表 2 0 1 9 - 5 1 7 6 0 5 (J P , A)
特開 2 0 1 4 - 1 5 9 4 3 2 (J P , A)
米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 0 1 3 1 6 2 4 (U S , A 1)
特表 2 0 1 6 - 5 1 7 2 7 9 (J P , A)
特表 2 0 1 6 - 5 2 1 1 1 9 (J P , A)
特表 2 0 1 9 - 5 2 5 7 4 2 (J P , A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 0 8 K 3 / 0 0 - 1 3 / 0 8
C 0 8 L 1 / 0 0 - 1 0 1 / 1 6
C 0 8 G 7 9 / 0 2
C 0 7 F 9 / 6 5 5 8
C 0 7 H 2 1 / 0 0
A 6 1 K 3 1 / 7 1 2
A 6 1 P 2 1 / 0 4
A 6 1 P 4 3 / 0 0
C 1 2 N 1 5 / 1 1 3