

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-526730

(P2024-526730A)

(43)公表日 令和6年7月19日(2024.7.19)

| (51)国際特許分類                  | F I            | テーマコード (参考)     |
|-----------------------------|----------------|-----------------|
| C 0 7 H 21/02 (2006.01)     | C 0 7 H 21/02  | C S P 4 C 0 5 7 |
| C 0 7 H 21/04 (2006.01)     | C 0 7 H 21/04  |                 |
| C 0 7 H 19/173 (2006.01)    | C 0 7 H 19/173 |                 |
| C 0 7 H 19/167 (2006.01)    | C 0 7 H 19/167 |                 |
| C 1 2 N 15/11 (2006.01)     | C 1 2 N 15/11  | Z               |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全198頁) |                |                 |

(21)出願番号 特願2024-501665(P2024-501665)  
(86)(22)出願日 令和4年7月15日(2022.7.15)  
(85)翻訳文提出日 令和6年2月29日(2024.2.29)  
(86)国際出願番号 PCT/US2022/037260  
(87)国際公開番号 WO2023/288045  
(87)国際公開日 令和5年1月19日(2023.1.19)  
(31)優先権主張番号 63/222,269  
(32)優先日 令和3年7月15日(2021.7.15)  
(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)  
(31)優先権主張番号 63/236,022  
(32)優先日 令和3年8月23日(2021.8.23)  
(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)  
(31)優先権主張番号 63/246,479

最終頁に続く

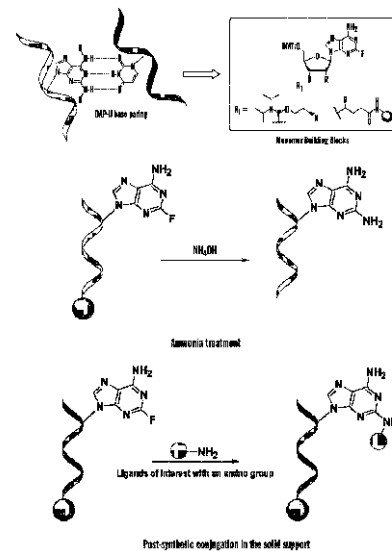
(71)出願人 505369158  
アルナイラム ファーマシューティカルズ、インコーポレイテッド  
ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.  
アメリカ合衆国02142マサチューセッツ州ケンブリッジ、ウエスト・ケンドール・ストリート675、ヘンリ・エイ・ターミア・スクエア  
(74)代理人 100102978  
弁理士 清水 初志  
(74)代理人 100205707  
弁理士 小寺 秀紀  
(74)代理人 100160923  
弁理士 山口 裕孝

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 2, 6-ジアミノプリン及び2-アミノアデニンのコンジュゲートをオリゴヌクレオチドに導入するための簡便な化学的アプローチ

## (57)【要約】

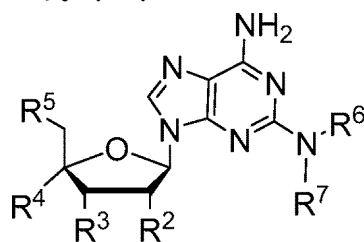
本開示は、2, 6-ジアミノプリン(DAP)及び2-アミノアデニンのコンジュゲートを合成するためのモノマー及び方法に関する。本方法論は、アデニン上にいかなる保護基も必要としない、アミン又はアルカリ土類水酸化物による、2-ハロアデノシン誘導体における2位置のハロゲン原子の簡便な芳香族求核置換を利用する。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式 (I) :

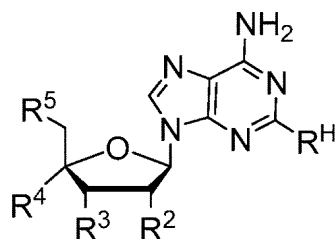


(式 I)

10

のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを調製するための方法であって、

式 (II) :



(式 II)

20

のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを、式  $\text{HN}R^6R^7$  のアミンと反応させることを含み、

式中、

$R^H$  が、ハロゲン（例えば、クロロ又はフルオロ）であり、

$R^2$  が、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコキシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、5~8員ヘテロシクリル、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、又は  $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン (GalNac)）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり、

30

$R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン (GalNac)）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり、

40

50

$R^4$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルキニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルコキシであるか、

又は  $R^4$  及び  $R^2$  が一緒になって、 $4' - C(R^{10}R^{11})_v - Y - 2'$ 、若しくは  $4' - Y - C(R^{10}R^{11})_v - 2'$  であり、

$Y$  が、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH(Me)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^{12})-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-N(R^{12})C(O)-$ 、若しくは  $-C(O)N(R^{12})-$  であり、

$R^{10}$  及び  $R^{11}$  が、独立して、 $H$ 、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルケニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルキニルであり、

$R^{12}$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、 $C_{1-4}$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル- $CO_2H$ 、若しくは窒素保護基であり、 $v$  が、1、2、若しくは3であるか、

又は  $R^4$  及び  $R^3$  が、それらが結合している原子と一緒に、置換されていてもよい  $C_{3-8}$  シクロアルキル、置換されていてもよい  $C_{3-8}$  シクロアルケニル、若しくは置換されていてもよい 3～8 員ヘテロシクリルを形成し、

$R^5$  が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、置換されていてもよい 3～8 員ヘテロシクリル（例えば、モルホリン-1-イル、ピペリジン-1-イル、又はピロリジン-1-イル）、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル- $ON(CH_2R^8)(CH_2R^9)$ 、 $-O-C_{4-30}$  アルキル- $ON(CH_2R^8)(CH_2R^9)$ 、ビニルホスホネート（VP）基、 $C_{3-6}$  シクロアルキルホスホネート（例えば、シクロプロピルホスホネート）、モノホスフェート（ $(HO)_2(O)P-O-5'$ ）、ジホスフェート（ $(HO)_2(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ ）、トリホスフェート（ $(HO)_2(O)P-O-(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ ）、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート、 $(HO)_2(S)P-O-5'$ ）、モノジチオホスフェート（ホスホロジチオエート、 $(HO)(HS)(S)P-O-5'$ ）、ホスホロチオラート（ $(HO)_2(O)P-S-5'$ ）、アルファータトリホスフェート、ベータータトリホスフェート、ガンマータトリホスフェート、ホスホルアミデート（ $(HO)_2(O)P-NH-5'$ 、 $(HO)(NH_2)(O)P-O-5'$ ）、アルキルホスホネート [ $(R^P)(OH)(O)P-O-5'$ 、 $R^P$  が、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、又はプロピルである）、アルキルエーテルホスホネート [ $(R^{P1})(OH)(O)P-O-5'$ 、 $R^{P1}$  が、アルコキシアルキル、例えば、メトキシメチル ( $CH_2OMe$ ) 又はエトキシメチルである]、 $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は  $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は  $(HO)_2(X)P-[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は置換されていてもよいアルキル、並びにジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体（例えば、 $HO[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $HO[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ ）を表し、

10

20

30

40

50

式中、

X が、O 又は S であり、

a 及び b が、各々独立して、1～10であり、

各  $R^6$  及び  $R^7$  が、独立して、水素若しくは  $-L-R^L$  であるが、但し、 $R^6$  及び  $R^7$  のうちの少なくとも1つが、Hではないか、

又は  $R^6$  及び  $R^7$  がそれらが結合している窒素原子と一緒にあって、3～10員ヘテロシクリル若しくは3～10員ヘテロアリアル基を形成し、前記ヘテロシクリル若しくはヘテロアリアルが、1つの  $-L-R^L$  基を含み、

式中、

L が、非存在、又はリンカーであり、

各  $R^L$  が、リガンド（例えば、独立して、糖質、ペプチド、脂質、治療剤、診断剤、検出可能な標識、抗体若しくはその断片、ビタミン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキニルからなる群から選択される）であり、

各  $R^8$  及び  $R^9$  が、独立して、H、ターゲティングリガンド（例えば、GalNaC）、薬物動態修飾因子、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキニルであり、

但し、

(i)  $R^2$  及び  $R^3$  のうちの1つ以下が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合であり、

(ii)  $R^2$  及び  $R^3$  の両方が結合でない場合、 $R^5$  が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、

前記方法。

【請求項2】

$R^H$  が、フルオロである、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

少なくとも1つの L が、結合である、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項4】

少なくとも1つの L が、リンカーである、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

少なくとも1つの  $R^L$  が、独立して、糖質、脂質、ビタミン、ペプチド、タンパク質、リポタンパク質、ペプチド模倣体、ポリアミン、ヌクレオシド及びヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、検出可能な標識、診断剤（例えば、ビトイン）、蛍光色素、ポリエチレングリコール（PEG）、抗体、抗体断片（例えば、ナノボディ）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方法。

【請求項6】

少なくとも1つの  $R^L$  が、ターゲティングリガンド、エンドソーム溶解性リガンド、及びPK調節リガンドから選択されるリガンドである、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

$R^6$  及び  $R^7$  が、同一である、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

【請求項8】

$R^2$  が、水素、ヒドロキシル、保護ヒドロキシル、ハロゲン、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルコキシ（例えば、メチル）、若しくはアルコキシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）であるか、又は  $R^4$  及び  $R^2$  が一緒になって、 $4'-C(R^0R^{11})_v-Y-2'$  若しくは  $4'-Y-C(R^0R^{11})_v-2'$  である、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項9】

$R^2$  が、水素、ヒドロキシル、F、メトキシであるか、又は  $R^4$  及び  $R^2$  が一緒になって、 $4'-C(R^0R^{11})_v-Y-2'$  である、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

方法。

【請求項 10】

$R^4$  及び  $R^2$  が一緒になって、 $4' - C(R^{10}R^{11})_V - Y - 2'$  である、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

$R^4$  が、H である、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

$R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ハロゲン、アルコシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $3' -$ オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン（GalNac））、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）である、請求項 1 ～ 11 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 13】

$R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、 $3' -$ オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）である、請求項 1 ～ 12 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 14】

$R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、請求項 1 ～ 13 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

$R^3$  が、ヒドロキシルである、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

$R^5$  が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ビニルホスホネート（VP）基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アルキルホスホネート、アルキルエーテルホスホネート、ジアルキル末端ホスフェート、及びホスフェート模倣体である、請求項 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 17】

$R^5$  が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、請求項 1 ～ 16 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

$R^5$  が、ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ビニルホスホネート（VP）基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、又はガンマーチオトリホスフェートである、請求項 1 ～ 16 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 19】

前記オリゴヌクレオチドが、3 ～ 50 個のヌクレオチドを含む、請求項 1 ～ 18 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つのリボヌクレオチドを含む、請求項 1 ～ 19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの  $2' -$ デオキシリボヌクレオチドを含む

50

、請求項 1 ～ 20 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記オリゴヌクレオチドが、修飾核酸塩基又は非天然核酸塩基を有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1 ～ 21 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

前記オリゴヌクレオチドが、修飾リボース糖を有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1 ～ 22 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

前記オリゴヌクレオチドが、前記リボース糖の 2' 位置に H でも OH でもない基を含む少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1 ～ 23 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

前記オリゴヌクレオチドが、2'-F リボースを有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1 ～ 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記オリゴヌクレオチドが、2'-OMe リボースを有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1 ～ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

前記オリゴヌクレオチドが、リボース糖以外の部分を含む少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1 ～ 26 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチド間結合を含む、請求項 1 ～ 27 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記オリゴヌクレオチドが、前記式 (I) 及び／又は (II) の、少なくとも 2 つ、例えば、3、4、又は 5 つの連続する独立して選択されたモノマーを含む、請求項 1 ～ 28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

前記オリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合する、請求項 1 ～ 29 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 31】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つのヒドロキシル、リン酸、又はアミノ保護基を含む、請求項 1 ～ 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 32】

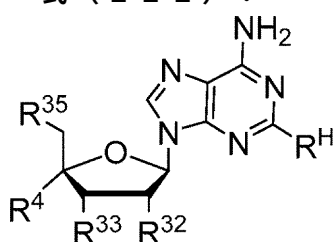
請求項 1 ～ 31 のいずれか一項に記載の方法によって調製される、オリゴヌクレオチド。

【請求項 33】

式 (II) のヌクレオシドを含む、オリゴヌクレオチド。

【請求項 34】

式 (III) :



式 (III)

の化合物であって、

式中、

$R^H$  が、ハロゲンであり、

$R^{32}$  が、水素、ヒドロキシ、ハロゲン、保護ヒドロキシ、リン酸基、反応性リン基、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり、

$R^{33}$  が、水素、ヒドロキシ、ハロゲン、保護ヒドロキシ、リン酸基、反応性リン基、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり、任意に、 $R^{32}$  及び  $R^{33}$  のうちの 1 つのみが、リン酸基、反応性リン基、固体支持体、又は固体支持体に対するリンカーであり、

$R^4$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルキニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルコキシであるか、

又は  $R^4$  及び  $R^{32}$  が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-Y-2'$ 、若しくは  $4'-Y-C(R^{10}R^{11})_v-2'$  であり、

$Y$  が、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH(Me)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^{12})-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-N(R^{12})C(O)-$ 、若しくは  $-C(O)N(R^{12})-$  であり、

$R^{10}$  及び  $R^{11}$  が、独立して、H、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルケニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルキニルであり、

$R^{12}$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、 $C_{1-4}$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル- $CO_2H$ 、若しくは窒素保護基であり、

$v$  が、1、2、若しくは3であるか、

又は  $R^4$  及び  $R^{33}$  が、それらが結合している原子と一緒にあって、置換されていてもよい  $C_{3-8}$  シクロアルキル、置換されていてもよい  $C_{3-8}$  シクロアルケニル、若しくは置換されていてもよい 3～8 員ヘテロシクリルを形成し、

$R^{35}$  が、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、リン酸基、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、ビニルホスホネート (VP) 基、 $C_{3-6}$  シクロアルキルホスホネート（例えば、シクロプロピルホスホネート）、モノホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-5'$ )、ジホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、トリホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート、 $(HO)_2(S)P-O-5'$ )、

モノジチオホスフェート（ホスホロジチオエート、 $(\text{HO})(\text{HS})(\text{S})\text{P}-\text{O}-5'$ ）、ホスホロチオレート（ $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{S}-5'$ ）、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート（ $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{NH}-5'$ 、 $(\text{HO})(\text{NH}_2)(\text{O})\text{P}-\text{O}-5'$ ）、アルキルホスホネート（ $\text{R}(\text{OH})(\text{O})\text{P}-\text{O}-5'$ 、 $\text{R}=\text{アルキル}$ 、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、プロピルなど）、アルキルエーテルホスホネート（ $\text{R}(\text{OH})(\text{O})\text{P}-\text{O}-5'$ 、 $\text{R}=\text{アルキルエーテル}$ 、例えば、メトキシメチル（ $\text{CH}_3\text{OMe}$ ）、エトキシメチルなど）、 $(\text{HO})_2(\text{X})\text{P}-\text{O}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、又は $(\text{HO})_2(\text{X})\text{P}-\text{O}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、又は $(\text{HO})_2(\text{X})\text{P}-[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ （式中、 $\text{X}$ は、 $\text{O}$ 、 $\text{S}$ 、又は置換されていてもよいアルキルである）、並びにジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体（例えば、 $\text{HO}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}_2\text{N}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{Me}_2\text{N}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{HO}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}_2\text{N}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{Me}_2\text{N}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、式中、 $a$ 及び $b$ は、各々独立して、 $1\sim 10$ である）であり、各 $\text{R}^8$ 及び $\text{R}^9$ が、独立して、 $\text{H}$ 、ターゲットングリガンド（例えば、 $\text{GaInNaC}$ ）、薬物動態修飾因子、置換されていてもよい $\text{C}_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $\text{C}_{1-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $\text{C}_{1-30}$ アルキニルである、前記化合物。

【請求項 35】

$\text{R}^H$ が、フルオロである、請求項 34 に記載の化合物。

【請求項 36】

$\text{R}^{32}$ が、ハロゲンであるか、又は $\text{R}^4$ 及び $\text{R}^{32}$ が一緒になって、 $4'-\text{C}(\text{R}^{10}\text{R}^{11})_v-\text{Y}-2'$ 若しくは $4'-\text{Y}-\text{C}(\text{R}^{10}\text{R}^{11})_v-2'$ である、請求項 34 又は 35 に記載の化合物。

【請求項 37】

$\text{R}^{32}$ が、 $\text{F}$ であるか、又は $\text{R}^4$ 及び $\text{R}^2$ が一緒になって、 $4'-\text{C}(\text{R}^{10}\text{R}^{11})_v-\text{Y}-2'$ である、請求項 34～36 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 38】

$\text{R}^4$ 及び $\text{R}^{32}$ が一緒になって、 $4'-\text{C}(\text{R}^{10}\text{R}^{11})_v-\text{Y}-2'$ である、請求項 34～37 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 39】

$\text{R}^4$ が、 $\text{H}$ である、請求項 34～37 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 40】

$\text{R}^{33}$ が、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、リン酸基、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ）である、請求項 34～39 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 41】

$\text{R}^{33}$ が、ヒドロキシ、リン酸基、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ）である、請求項 34～40 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 42】

$\text{R}^{35}$ が、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい $\text{C}_{1-30}$ アルコキシ、ビニルホスホネート（ $\text{VP}$ ）基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アルキルホスホネート、アルキルエー

ルホスホネート、ジアルキル末端ホスフェート、及びホスフェート模倣体である、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 43】

$R^{35}$  が、ヒドロキシル又は保護ヒドロキシルである、請求項 34～42 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 44】

$R^{33}$  が、反応性リン基であり、 $R^{35}$  が、保護ヒドロキシルである、請求項 34～43 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 45】

$R^{32}$  が、反応性リン基であり、 $R^{35}$  が、保護ヒドロキシルである、請求項 34～43 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 46】

$R^{35}$  が、ビニルホスホネート (VP) 基、シクロプロピルホスホネート、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート (ホスホロチオエート)、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アルキルホスホネート、アルキルエーテルホスホネート、ジアルキル末端ホスフェート、又はホスフェート模倣体であり、 $R^{33}$  が、反応性リン基である、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 47】

$R^{35}$  が、ビニルホスホネート (VP) 基、シクロプロピルホスホネート、又はホスフェート模倣体であり、 $R^{33}$  が、反応性リン基である、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

20

【請求項 48】

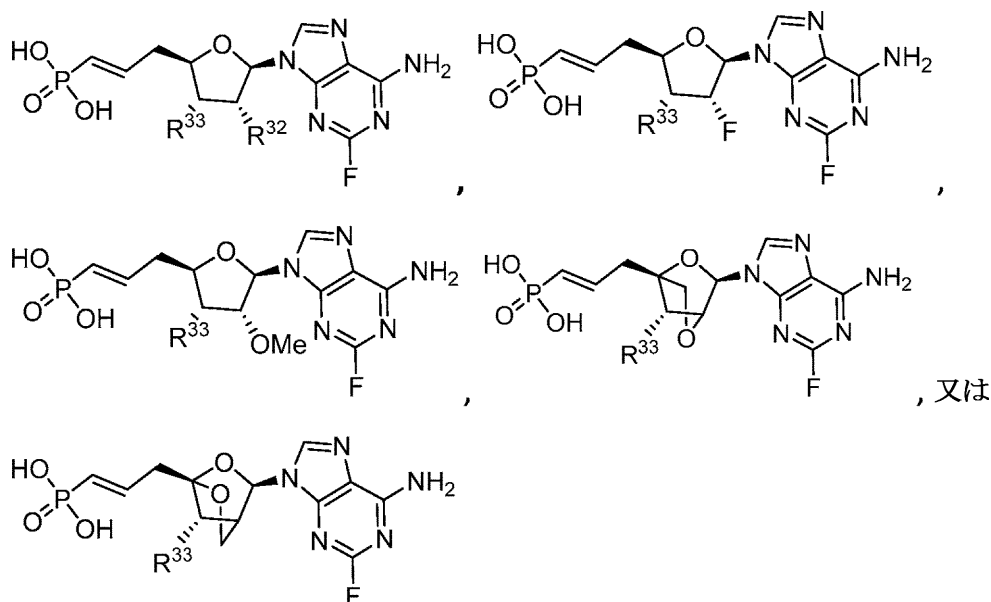
$R^{35}$  が、ビニルホスホネート (VP) 基 (例えば、E-ビニルホスホネート)、シクロプロピルホスホネート、又はホスフェート模倣体であり、 $R^{33}$  が、ホスホラミダイト基である、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 49】

$R^{35}$  が、トリホスフェート基であり、 $R^{33}$  が、アリルオキシ、アジドメトキシ、又はアミノオキシである、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

30

【請求項 50】



40

である、請求項 34 に記載の化合物。

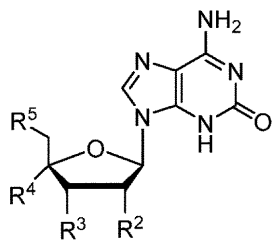
【請求項 51】

50

$R^3$  が、反応性リン基である、請求項 50 に記載の化合物。

【請求項 52】

式 (X) :

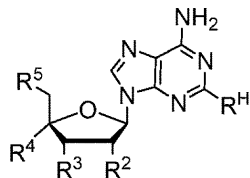


(式 X)

10

のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを調製するための方法であって、

式 (XI) :



(式 XI)

20

のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを、アルカリ水酸化物又はアルカリ土類水酸化物（例えば、 $\text{NaOH}$ ）と反応させることを含み、

式中、

$R^H$  が、ハロゲン（例えば、クロロ又はフルオロ）であり、

$R^2$  が、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコキシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、5~8員ヘテロシクリル、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、又は  $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン (GalNAc)）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり、

30

$R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン (GalNAc)）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり、

40

$R^4$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルキニル、若しくは置換されていてもよい

50

C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルコキシであるか、

又は R<sup>4</sup> 及び R<sup>2</sup> が一緒になって、4' - C (R<sup>10</sup> R<sup>11</sup>)<sub>v</sub> - Y - 2' 若しくは 4' - Y - C (R<sup>10</sup> R<sup>11</sup>)<sub>v</sub> - 2' であり、

Y が、-O-、-CH<sub>2</sub>-、-CH(Me)-、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-、-S-、-N(R<sup>12</sup>)-、-C(O)-、-C(S)-、-S(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-OC(O)-、-C(O)O-、-N(R<sup>a13</sup>)C(O)-、若しくは -C(O)N(R<sup>a13</sup>)- であり、

R<sup>10</sup> 及び R<sup>11</sup> 及び R<sup>a13</sup> が、独立して、H、置換されていてもよい C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキル、置換されていてもよい C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> アルケニル、若しくは置換されていてもよい C<sub>2</sub> - C<sub>6</sub> アルキニルであり、

R<sup>12</sup> が、水素、置換されていてもよい C<sub>1</sub> - C<sub>30</sub> アルキル、置換されていてもよい C<sub>1</sub> - C<sub>30</sub> アルコキシ、C<sub>1</sub> - C<sub>4</sub> ハロアルキル、置換されていてもよい C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub> アルケニル、置換されていてもよい C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub> アルキニル、置換されていてもよい C<sub>1</sub> - C<sub>30</sub> アルキル - CO<sub>2</sub>H、若しくは窒素保護基であり、v が、1、2、若しくは3であるか、

又は R<sup>4</sup> 及び R<sup>3</sup> が、それらが結合している原子と一緒に、置換されていてもよい C<sub>3</sub> - C<sub>8</sub> シクロアルキル、置換されていてもよい C<sub>3</sub> - C<sub>8</sub> シクロアルケニル、若しくは置換されていてもよい 3 ~ 8 員ヘテロシクリルを形成し、

R<sup>5</sup> が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい C<sub>1</sub> - C<sub>30</sub> アルキル、置換されていてもよい C<sub>2</sub> - C<sub>30</sub> アルケニル、置換されていてもよい C<sub>2</sub> - C<sub>30</sub> アルキニル、置換されていてもよい C<sub>1</sub> - C<sub>30</sub> アルコキシ、置換されていてもよい 3 ~ 8 員ヘテロシクリル（例えば、モルホリン-1-イル、ピペリジン-1-イル、又はピロリジン-1-イル）、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、-O-C<sub>4</sub>-C<sub>30</sub> アルキル-ON(CH<sub>2</sub>R<sup>8</sup>)(CH<sub>2</sub>R<sup>9</sup>)、-O-C<sub>4</sub>-C<sub>30</sub> アルキル-ON(CH<sub>2</sub>R<sup>8</sup>)(CH<sub>2</sub>R<sup>9</sup>)、ビニルホスホネート(VP)基、C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> シクロアルキルホスホネート（例えば、シクロプロピルホスホネート）、モノホスフェート((HO)<sub>2</sub>(O)P-O-5')、ジホスフェート((HO)<sub>2</sub>(O)P-O-P(HO)(O)-O-5')、トリホスフェート((HO)<sub>2</sub>(O)P-O-(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5')、モノチオホスフェート(ホスホロチオエート、(HO)<sub>2</sub>(S)P-O-5')、モノジチオホスフェート(ホスホロジチオエート、(HO)(HS)(S)P-O-5')、ホスホロチオラート((HO)<sub>2</sub>(O)P-S-5')、アルファ-チオトリホスフェート、ベータ-チオトリホスフェート、ガンマ-チオトリホスフェート、ホスホルアミデート((HO)<sub>2</sub>(O)P-NH-5'、(HO)(NH<sub>2</sub>)(O)P-O-5')、アルキルホスホネート[(R<sup>p</sup>)(OH)(O)P-O-5'、R<sup>p</sup>が、置換されていてもよい C<sub>1</sub> - C<sub>30</sub> アルキル、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、又はプロピルである)]、アルキルエーテルホスホネート[(R<sup>p1</sup>)(OH)(O)P-O-5'、R<sup>p1</sup>が、アルコキシアルキル、例えば、メトキシメチル(CH<sub>2</sub>OMe)又はエトキシメチルである]、(HO)<sub>2</sub>(X)P-O[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、又は(HO)<sub>2</sub>(X)P-O[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、又は(HO)<sub>2</sub>(X)P-[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、又は置換されていてもよいアルキル、並びにジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体（例えば、HO[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、H<sub>2</sub>N[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、H[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、Me<sub>2</sub>N[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、HO[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、H<sub>2</sub>N[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、H[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'、Me<sub>2</sub>N[-(CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P(X)(OH)-O]<sub>b</sub>-5'）を表し、式中、

X が、O 又は S であり、

10

20

30

40

50

a 及び b が、各々独立して、1～10であり、

各  $R^6$  及び  $R^7$  が、独立して、水素若しくは  $-L-R^L$  であるが、但し、 $R^6$  及び  $R^7$  のうちの少なくとも1つが、Hではないか、

又は  $R^6$  及び  $R^7$  がそれらが結合している窒素原子と一緒にあって、3～10員ヘテロシクリル若しくは3～10員ヘテロアリール基を形成し、前記ヘテロシクリル若しくはヘテロアリールが、1つの  $-L-R^L$  基を含み、

式中、

L が、非存在、又はリンカーであり、

各  $R^L$  が、リガンド（例えば、独立して、糖質、ペプチド、脂質、治療剤、診断剤、検出可能な標識、抗体若しくはその断片、ビタミン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキニルからなる群から選択される）であり、

各  $R^8$  及び  $R^9$  が、独立して、H、ターゲティングリガンド（例えば、GalNaC）、薬物動態修飾因子、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキニルであり、

但し、

(i)  $R^2$  及び  $R^3$  のうちの1つ以下が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合であり、

(ii)  $R^2$  及び  $R^3$  の両方が結合でない場合、 $R^5$  が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、

前記方法。

【請求項53】

式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合する、請求項52に記載の方法。

【請求項54】

式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合し、式(X)のヌクレオシドを含む前記オリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合しない、請求項52又は53に記載の方法。

【請求項55】

式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合しない、請求項52～54のいずれか一項に記載の方法。

【請求項56】

式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチド、及び式(X)のヌクレオシドを含む前記オリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合しない、請求項55に記載の方法。

【請求項57】

式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合し、前記方法が、前記アルカリ水酸化物又はアルカリ土類水酸化物（例えば、NaOH）と反応させる前に、前記オリゴヌクレオチドを前記固体支持体から切断する工程を含む、請求項52に記載の方法。

【請求項58】

式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを前記固体支持体から切断する前記工程が、固体支持体と結合した前記オリゴヌクレオチドを60℃未満の温度（例えば、約室温、又は約20℃～40℃）でアンモニウム水酸化物と接触させることを含む、請求項57に記載の方法。

【請求項59】

$R^H$  が、フルオロである、請求項52～58のいずれか一項に記載の方法。

【請求項60】

少なくとも1つのLが、結合である、請求項52～59のいずれか一項に記載の方法。

【請求項61】

少なくとも1つのLが、リンカーである、請求項52～60のいずれか一項に記載の方

10

20

30

40

50

法。

【請求項 6 2】

少なくとも 1 つの  $R^L$  が、独立して、糖質、脂質、ビタミン、ペプチド、タンパク質、リポタンパク質、ペプチド模倣体、ポリアミン、ヌクレオシド及びヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、検出可能な標識、診断剤（例えば、ビトイン）、蛍光色素、ポリエチレングリコール（PEG）、抗体、抗体断片（例えば、ナノボディ）からなる群から選択される、請求項 5 2～6 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 3】

少なくとも 1 つの  $R^L$  が、ターゲティングリガンド、エンドソーム溶解性リガンド、及び PK 調節リガンドから選択されるリガンドである、請求項 5 2～6 2 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 6 4】

$R^6$  及び  $R^7$  が、同一である、請求項 5 2～6 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 5】

$R^2$  が、水素、ヒドロキシル、保護ヒドロキシル、ハロゲン、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルコキシ（例えば、メチル）、若しくはアルコシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）であるか、又は  $R^4$  及び  $R^2$  が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-Y-2'$  若しくは  $4'-Y-C(R^{10}R^{11})_v-2'$  である、請求項 5 2～6 4 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 6 6】

$R^2$  が、水素、ヒドロキシル、F、メトキシであるか、又は  $R^4$  及び  $R^2$  が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-Y-2'$  である、請求項 5 2～6 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 7】

$R^4$  及び  $R^2$  が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-Y-2'$  である、請求項 5 2～6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 8】

$R^4$  が、H である、請求項 5 2～6 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 9】

$R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ハロゲン、アルコシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1 つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン（GalNAc））、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）である、請求項 5 2～6 8 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 7 0】

$R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）である、請求項 5 2～6 9 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 7 1】

$R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、請求項 5 2～7 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 2】

$R^3$  が、ヒドロキシルである、請求項 5 2～7 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7 3】

$R^5$  が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ビニルホスホネート（VP）基、モノホスフェー

50

ト、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アルキルホスホネート、アルキルエーテルホスホネート、ジアルキル末端ホスフェート、及びホスフェート模倣体である、請求項 52～72 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 74】

R<sup>5</sup> が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、請求項 52～73 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 75】

R<sup>5</sup> が、ヒドロキシ、置換されていてもよい C<sub>1-30</sub> アルコキシ、ビニルホスホネート（VP）基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、又はガンマーチオトリホスフェートである、請求項 52～74 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 76】

前記オリゴヌクレオチドが、3～50 個のヌクレオチドを含む、請求項 52～75 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 77】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つのリボヌクレオチドを含む、請求項 52～76 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 78】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの 2'-デオキシリボヌクレオチドを含む、請求項 52～77 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 79】

前記オリゴヌクレオチドが、修飾核酸塩基又は非天然核酸塩基を有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 52～78 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 80】

前記オリゴヌクレオチドが、修飾リボース糖を有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 52～79 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 81】

前記オリゴヌクレオチドが、前記リボース糖の 2' 位置に H でも OH でもない基を含む少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 52～80 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 82】

前記オリゴヌクレオチドが、2'-F リボースを有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 52～81 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 83】

前記オリゴヌクレオチドが、2'-OMe リボースを有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 52～82 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 84】

前記オリゴヌクレオチドが、リボース糖以外の部分を含む少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 52～83 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 85】

前記オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチド間結合を含む、請求項 52～84 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 86】

式 (XI) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つのヒドロキシル、リン酸、又はアミノ保護基を含む、請求項 52～85 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 87】

式 (XI) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、ヒドロキシルも、リン酸も、アミノ保護基も含まない、請求項 52～86 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

## 関連出願の相互参照

本出願は、2021年9月21日に出願された米国仮特許出願第63/246,479号、2021年8月23日に出願された米国仮特許出願第63/236,022号、及び2021年7月15日に出願された米国仮特許出願第63/222,269号の119(e)に基づく利益を主張するものであり、それらの全ての内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

## 【0002】

本開示は、概して、2,6-ジアミノプリン及び2-アミノアデニンのコンジュゲートを含むオリゴヌクレオチドの容易な合成のための方法及び組成物に関する。

## 【背景技術】

## 【0003】

## 背景

2,6-ジアミノプリン(DAP)核酸塩基は、DNAにおけるチミンとRNAにおけるウラシルとのワトソン・クリック塩基対を形成することができる。これらの対は、3つの水素結合によって安定化され、アデニンとの塩基対形成と比較して、改善された熱力学的二本鎖安定性をもたらす。以前に報告されたオリゴヌクレオチド合成のためのDAPビルディングブロックの合成戦略は複数の工程を必要とし、 $-NH_2$ 保護基の問題を有する。

## 【0004】

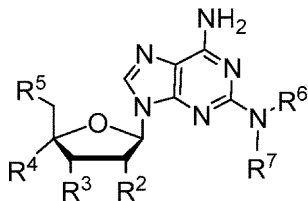
本発明者らは、DAP含有オリゴヌクレオチド及びそのコンジュゲートを作製するための主要な中間体として2-フルオロ-6-アミノ-アデニンを使用する合成後戦略を開発した。

## 【発明の概要】

## 【0005】

## 概要

一態様では、本明細書に提供されるのは、式(I)：

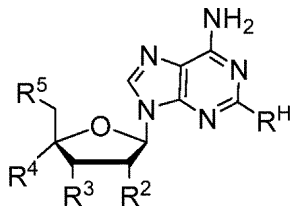


(式I)

のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを調製する方法である。

## 【0006】

方法は、式(II)：



(式II)

のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを、ハロゲン基 $R^H$ を式 $R^6R^7$ のアミンに変換する条件下で、式 $HNR^6R^7$ のアミンと反応させることを含む。

## 【0007】

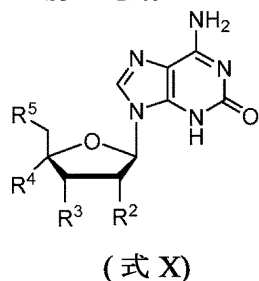
式ⅠⅠのヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドは、式 $\text{HNR}^6\text{R}^7$ のアミンと反応するときに固体支持体と結合され得ることに留意されたい。あるいは、式ⅠⅠのヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドは、式 $\text{HNR}^6\text{R}^7$ のアミンと反応するときに固体支持体と結合されない。

## 【0008】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、式 $\text{HNR}^6\text{R}^7$ のアミンにおけるN原子は、 $^{15}\text{N}$ であり得る。

## 【0009】

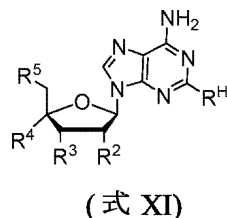
別の態様では、本明細書に提供されるのは、式(X)：



のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを調製するための方法である。

## 【0010】

方法は、式(XⅠ)：



のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを、アルカリ水酸化物又はアルカリ土類水酸化物（例えば、 $\text{NaOH}$ ）と反応させることを含む。

## 【0011】

式XⅠのヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドは、アルカリ水酸化物又はアルカリ土類水酸化物（例えば、 $\text{NaOH}$ ）と反応するときに固体支持体と結合され得ることに留意されたい。あるいは、式XⅠのヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドは、アルカリ水酸化物又はアルカリ土類水酸化物（例えば、 $\text{NaOH}$ ）と反応するときに固体支持体と結合されない。

## 【0012】

一部の実施形態では、式XⅠのヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドは、固体支持体と結合し、方法は、アルカリ水酸化物又はアルカリ土類水酸化物（例えば、 $\text{NaOH}$ ）と反応させる前に、固体支持体からオリゴヌクレオチドを切断する工程を含む。

## 【0013】

式(Ⅰ)、(ⅠⅠ)、(X)、及び(XⅠ)において、

$\text{R}^H$ が、ハロゲン（例えば、クロロ又はフルオロ）であり、

$\text{R}^2$ が、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい $\text{C}_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $\text{C}_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $\text{C}_{2-30}$ アルキニル、置換されていてもよい $\text{C}_{1-30}$ アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコキシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、5～8員ヘテロシクリル、 $-\text{O}-\text{C}_{4-30}\text{アルキル}-\text{ON}(\text{CH}_2\text{R}^8)(\text{CH}_2\text{R}^9)$ 、又は $-\text{O}$

10

20

30

40

50

—C<sub>4-30</sub>アルキル—ON (CH<sub>2</sub>R<sup>8</sup>) (CH<sub>2</sub>R<sup>9</sup>)、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン (GalNac)）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、—C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)—）であり、

R<sup>3</sup>が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>2-30</sub>アルケニル、置換されていてもよいC<sub>2-30</sub>アルキニル、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、—O—C<sub>4-30</sub>アルキル—ON (CH<sub>2</sub>R<sup>8</sup>) (CH<sub>2</sub>R<sup>9</sup>)、—O—C<sub>4-30</sub>アルキル—ON (CH<sub>2</sub>R<sup>8</sup>) (CH<sub>2</sub>R<sup>9</sup>)、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン (GalNac)）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、—C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)—）であり、

R<sup>4</sup>が、水素、置換されていてもよいC<sub>1-6</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>2-6</sub>アルケニル、置換されていてもよいC<sub>2-6</sub>アルキニル、若しくは置換されていてもよいC<sub>1-6</sub>アルコキシであるか、

又はR<sup>4</sup>及びR<sup>2</sup>が一緒になって、4'-C(R<sup>10</sup>R<sup>11</sup>)<sub>v</sub>-Y-2'若しくは4'-Y-C(R<sup>10</sup>R<sup>11</sup>)<sub>v</sub>-2'であり、

Yが、—O—、—CH<sub>2</sub>—、—CH(Me)—、—C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>—、—S—、—N(R<sup>12</sup>)—、—C(O)—、—C(S)—、—S(O)—、—S(O)<sub>2</sub>—、—OC(O)—、—C(O)O—、—N(R<sup>12</sup>)C(O)—、若しくは—C(O)N(R<sup>12</sup>)—であり、

R<sup>10</sup>及びR<sup>11</sup>が、独立して、H、置換されていてもよいC<sub>1-C6</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>2-C6</sub>アルケニル、若しくは置換されていてもよいC<sub>2-C6</sub>アルキニルであり、

R<sup>12</sup>が、水素、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>1-C30</sub>アルコキシ、C<sub>1-4</sub>ハロアルキル、置換されていてもよいC<sub>2-4</sub>アルケニル、置換されていてもよいC<sub>2-4</sub>アルキニル、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキル—CO<sub>2</sub>H、若しくは窒素保護基であり、vが、1、2、若しくは3であるか、

又はR<sup>4</sup>及びR<sup>3</sup>が、それらが結合している原子と一緒に、置換されていてもよいC<sub>3-8</sub>シクロアルキル、置換されていてもよいC<sub>3-8</sub>シクロアルケニル、若しくは置換されていてもよい3～8員ヘテロシクリルを形成し、

R<sup>5</sup>が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>2-30</sub>アルケニル、置換されていてもよいC<sub>2-30</sub>アルキニル、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルコキシ、置換されていてもよい3～8員ヘテロシクリル（例えば、モルホリン-1-イル、ピペリジン-1-イル、又はピロリジン-1-イル）、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、—O—C<sub>4-30</sub>アルキル—ON (CH<sub>2</sub>R<sup>8</sup>) (CH<sub>2</sub>R<sup>9</sup>)、—O—C<sub>4-30</sub>アルキル—ON (CH<sub>2</sub>R<sup>8</sup>) (CH<sub>2</sub>R<sup>9</sup>)、ビニルホスホネート (VP) 基、C<sub>3-6</sub>シクロアルキルホスホネート（例えば、シクロプロピルホスホネート）、モノホスフェート ((HO)<sub>2</sub>(O)P—O—5')、ジホスフェート ((HO)<sub>2</sub>(O)P—O—P(HO)(O)—O—5')、トリホスフェート ((HO)<sub>2</sub>(O)P—O—(HO)(O)P—O—P(HO)(O)—O—5')、モノチオホスフェート (ホスホロチオエート、(HO)<sub>2</sub>(S)P—O—5')、モノジチオホスフェート (ホスホロジチオエート、(HO)(HS)(

10

20

30

40

50

S) P-O-5'), ホスホロチオラート ((HO) 2 (O) P-S-5'), アルファーチオトリホスフェート、ベータチオトリホスフェート、ガンマチオトリホスフェート、ホスホルアミデート ((HO) 2 (O) P-NH-5', (HO) (NH<sub>2</sub>) (O) P-O-5'), アルキルホスホネート [(R<sup>P</sup>) (OH) (O) P-O-5', R<sup>P</sup>が、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキル、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、又はプロピルである)], アルキルエーテルホスホネート [(R<sup>P1</sup>) (OH) (O) P-O-5', R<sup>P1</sup>が、アルコキシアルキル、例えば、メトキシメチル (CH<sub>2</sub>OMe) 又はエトキシメチルである], (HO) 2 (X) P-O [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', 又は (HO) 2 (X) P-O [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', 又は (HO) 2 (X) P- [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', 又は置換されていてもよいアルキル、並びにジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体 (例えば、HO [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', H<sub>2</sub>N [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', H [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', Me<sub>2</sub>N [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-O-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', HO [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', H<sub>2</sub>N [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', H [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5', Me<sub>2</sub>N [- (CH<sub>2</sub>)<sub>a</sub>-P (X) (OH)-O]<sub>b</sub>-5') を表し、式中、

Xが、O又はSであり、

a及びbが、各々独立して、1~10であり、

各R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>が、独立して、水素若しくは-L-R<sup>L</sup>であるが、但し、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>のうちの少なくとも1つが、Hではないか、

又はR<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>がそれらが結合している窒素原子と一緒にあって、3~10員ヘテロシクリル若しくは3~10員ヘテロアリール基を形成し、ヘテロシクリル若しくはヘテロアリールが、1つの-L-R<sup>L</sup>基を含み、

式中、

Lが、非存在、又はリンカーであり、

各R<sup>L</sup>が、リガンド (例えば、独立して、糖質、ペプチド、脂質、治療剤、診断剤、検出可能な標識、抗体若しくはその断片、ビタミン、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルケニル、又は置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキニルからなる群から選択される) であり、

各R<sup>8</sup>及びR<sup>9</sup>が、独立して、H、ターゲティングリガンド (例えば、GalNaC)、薬物動態修飾因子、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルケニル、又は置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキニルであり、

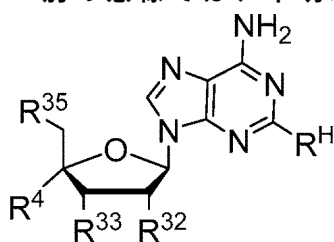
但し、

(i) R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>のうちの1つ以下が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合であり、

(ii) R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>の両方が結合でない場合、R<sup>5</sup>が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である。

【0014】

別の態様では、本明細書に提供されるは、式(III)の化合物である。



式(III)

10

20

30

40

50

## 【0015】

式 (III) において、

$R^H$  が、ハロゲンであり、

$R^{32}$  が、水素、ヒドロキシ、ハロゲン、保護ヒドロキシ、リン酸基、反応性リン基、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり、

10

$R^{33}$  が、水素、ヒドロキシ、ハロゲン、保護ヒドロキシ、リン酸基、反応性リン基、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり、任意に、 $R^{32}$  及び  $R^{33}$  のうちの1つのみが、リン酸基、反応性リン基、固体支持体、又は固体支持体に対するリンカーであり、

20

$R^4$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルキニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルコキシであるか、

又は  $R^4$  及び  $R^{32}$  が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-Y-2'$  若しくは  $4'-Y-C(R^{10}R^{11})_v-2'$  であり、

Y が、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH(Me)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^{12})-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-N(R^{12})C(O)-$ 、若しくは  $-C(O)N(R^{12})-$  であり、

30

$R^{10}$  及び  $R^{11}$  が、独立して、H、置換されていてもよい  $C_{1-C6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-C6}$  アルケニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{2-C6}$  アルキニルであり、

$R^{12}$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-C30}$  アルコキシ、 $C_{1-4}$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル- $CO_2H$ 、若しくは窒素保護基であり、

v が、1、2、若しくは3であるか、

又は  $R^4$  及び  $R^{33}$  が、それらが結合している原子と一緒に、置換されていてもよい  $C_{3-8}$  シクロアルキル、置換されていてもよい  $C_{3-8}$  シクロアルケニル、若しくは置換されていてもよい 3～8 員ヘテロシクリルを形成し、

40

$R^{35}$  が、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、リン酸基、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、ビニルホスホネート (VP) 基、 $C_{3-6}$  シクロアルキルホスホネート（例えば、シクロプロピルホスホネート）、モノホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-5'$ )、ジホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、トリホ

50

スフェート ( $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{O}-\text{P}(\text{HO})(\text{O})\text{P}-\text{O}-\text{P}(\text{HO})(\text{O})-\text{O}-5'$ )、モノチオホスフェート (ホスホロチオエート、 $(\text{HO})_2(\text{S})\text{P}-\text{O}-5'$ )、モノジチオホスフェート (ホスホロジチオエート、 $(\text{HO})(\text{HS})(\text{S})\text{P}-\text{O}-5'$ )、ホスホロチオレート ( $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{S}-5'$ )、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート ( $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{NH}-5'$ 、 $(\text{HO})(\text{NH}_2)(\text{O})\text{P}-\text{O}-5'$ )、アルキルホスホネート ( $\text{R}(\text{OH})(\text{O})\text{P}-\text{O}-5'$ 、 $\text{R}=\text{アルキル}$ 、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、プロピルなど)、アルキルエーテルホスホネート ( $\text{R}(\text{OH})(\text{O})\text{P}-\text{O}-5'$ 、 $\text{R}=\text{アルキルエーテル}$ 、例えば、メトキシメチル ( $\text{CH}_3\text{OMe}$ )、エトキシメチルなど)、 $(\text{HO})_2(\text{X})\text{P}-\text{O}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、又は  $(\text{HO})_2(\text{X})\text{P}-\text{O}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、又は  $(\text{HO})_2(\text{X})\text{P}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$  (式中、 $\text{X}$  は、 $\text{O}$ 、 $\text{S}$ 、又は置換されていてもよいアルキルである)、並びにジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体 (例えば、 $\text{HO}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}_2\text{N}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{Me}_2\text{N}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{HO}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}_2\text{N}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{Me}_2\text{N}-[\text{O}-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、式中、 $a$  及び  $b$  は、各々独立して、 $1\sim 10$  である) であり、

各  $\text{R}^8$  及び  $\text{R}^9$  が、独立して、 $\text{H}$ 、ターゲティングリガンド (例えば、 $\text{GalNaC}$ )、薬物動態修飾因子、置換されていてもよい  $\text{C}_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $\text{C}_{1-30}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $\text{C}_{1-30}$  アルキニルである。

#### 【0016】

式 (III) の化合物の一部の実施形態では、 $\text{R}^{35}$  が、ビニルホスホネート (VP) 基、シクロプロピルホスホネート、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート (ホスホロチオエート)、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アルキルホスホネート、アルキルエーテルホスホネート、ジアルキル末端ホスフェート、又はホスフェート模倣体であり、 $\text{R}^{33}$  が、反応性リン基である。

#### 【0017】

式 (III) の化合物の一部の実施形態では、 $\text{R}^{35}$  が、ビニルホスホネート (VP) 基、シクロプロピルホスホネート、又はホスフェート模倣体であり、 $\text{R}^{33}$  が、反応性リン基である。

#### 【0018】

式 (III) の化合物の一部の実施形態では、 $\text{R}^{35}$  が、ビニルホスホネート (VP) 基 (例えば、 $\text{E}$ -ビニルホスホネート)、シクロプロピルホスホネート、又はホスフェート模倣体であり、 $\text{R}^{33}$  が、ホスホルアミダイト基である。

#### 【0019】

式 (III) の化合物の一部の実施形態では、 $\text{R}^{35}$  が、トリホスフェート基であり、 $\text{R}^{33}$  が、アリルオキシ、アジドメトキシ、又はアミノオキシである。

#### 【0020】

式 (III) の化合物の一部の実施形態では、 $\text{R}^{33}$  が、反応性リン基である。

#### 【0021】

式 (III) の化合物の一部の実施形態では、 $\text{R}^{35}$  が、ビニルホスホネート (VP) 基、シクロプロピルホスホネート、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート (ホスホロチオエート)、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アルキルホスホネート、アルキルエー

ルホスホネート、ジアルキル末端ホスフェート、又はホスフェート模倣体であり、 $R^{33}$ が、反応性リン基である。

【0022】

式（ⅠⅠⅠ）の化合物の一部の実施形態では、 $R^{35}$ が、ビニルホスホネート（VP）基、シクロプロピルホスホネート、又はホスフェート模倣体であり、 $R^{33}$ が、反応性リン基である。

【0023】

式（ⅠⅠⅠ）の化合物の一部の実施形態では、 $R^{35}$ が、ビニルホスホネート（VP）基（例えば、E-ビニルホスホネート）、シクロプロピルホスホネート、又はホスフェート模倣体であり、 $R^{33}$ が、ホスホルアミダイト基である。

【0024】

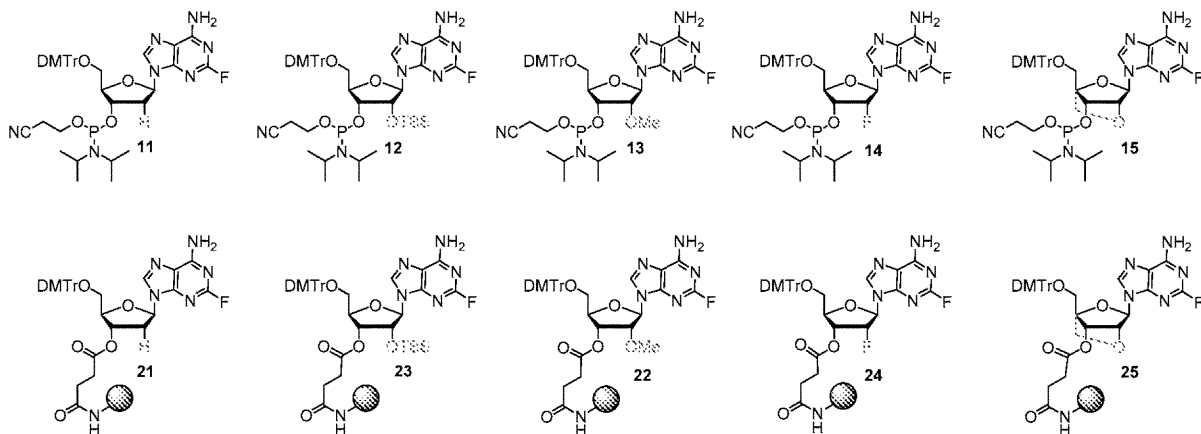
式（ⅠⅠⅠ）の化合物の一部の実施形態では、 $R^{35}$ が、トリホスフェート基であり、 $R^{33}$ が、アリルオキシ、アジドメトキシ、又はアミノオキシである。

【0025】

式（ⅠⅠⅠ）の化合物の一部の実施形態では、 $R^{33}$ が、反応性リン基である。

【0026】

式（ⅠⅠⅠ）の一部の例示的な化合物には、以下が含まれるが、これらに限定されない：



。

【0027】

式（ⅠⅠⅠ）の更なる例示的な化合物には、

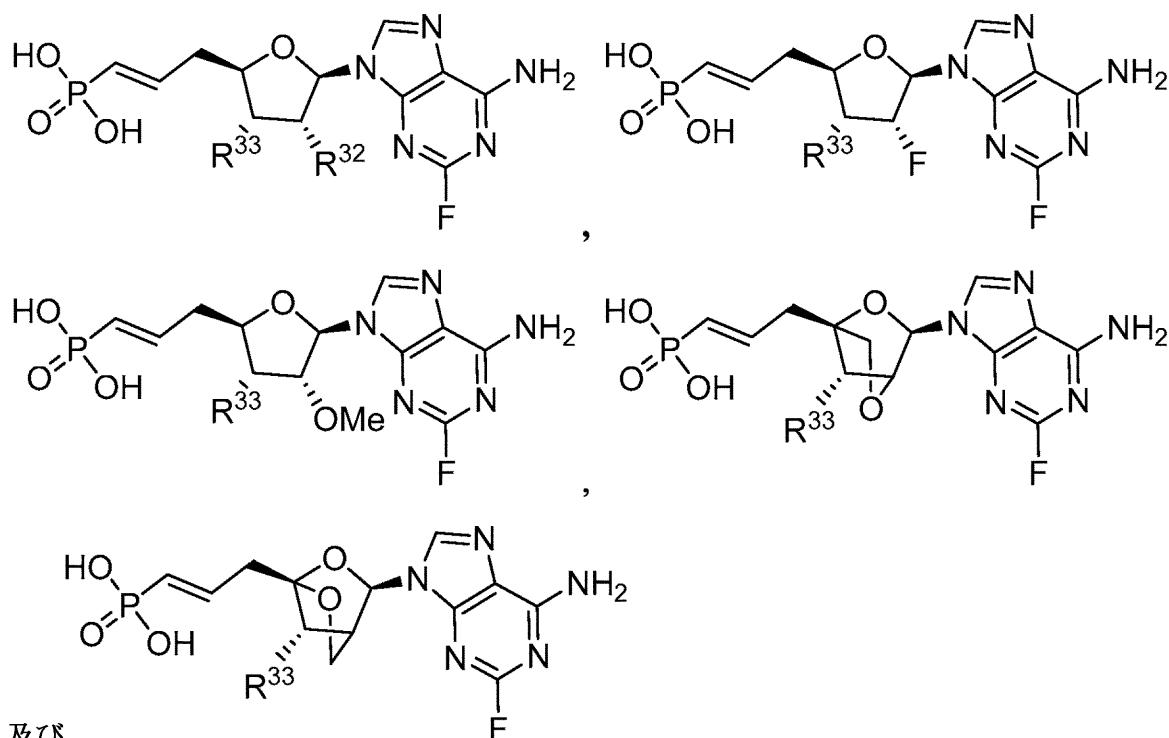
10

20

30

40

50



及び

が含まれるが、これらに限定されない。

【0028】

更に別の態様では、本明細書に提供されるのは、本明細書に記載される方法を使用して調製されたオリゴヌクレオチドである。例えば、本開示は、式（I）、（II）、（X）、及び／又は（XI）のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを提供する。

【0029】

式（I）、（II）、（X）、又は（XI）のヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの任意の位置に存在し得ることに留意されたい。例えば、式（I）、（II）、（X）、又は（XI）のヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの5'末端にあり得る。いくつかの他の非限定的な例では、式（I）、（II）、（X）、又は（XI）のヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの3'末端にあり得る。更にいくつかの他の非限定的な例では、式（I）、（II）、（X）、又は（XI）のヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの内部位置に存在し得る。

【図面の簡単な説明】

【0030】

この特許又は出願ファイルには、カラーで作成された少なくとも1つの図面が含まれる。カラー図面を含む本特許又は特許出願公開の写しは、請求及び必要な料金の支払いにより、特許商標庁によって提供される。

【0031】

【図1-1】 2, 6-ジアミノプリン（DAP）核酸塩基の例示的な態様の概略図である。

【図1-2】 2, 6-ジアミノプリン（DAP）核酸塩基の例示的な態様の概略図である。

【図1-3】 2, 6-ジアミノプリン（DAP）核酸塩基の例示的な態様の概略図である。

【図2-1】 オリゴヌクレオチド合成のための例示的な2-フルオロ-6-アミノプリンモノマーを示す。

【図2-2】 オリゴヌクレオチド合成のための例示的な2-フルオロ-6-アミノプリンモノマーを示す。

【図 2-3】オリゴヌクレオチド合成のための例示的な 2-フルオロ-6-アミノプリンモノマーを示す。

【図 3-1】オリゴヌクレオチドへの組み込み後の例示的なモノマー残基を示す。

【図 3-2】オリゴヌクレオチドへの組み込み後の例示的なモノマー残基を示す。

【図 4】本発明の例示的な実施形態による合成後コンジュゲーションの概略図である。

【図 5】本発明の例示的な実施形態による合成後コンジュゲーションの概略図である。

【図 6-1】DAP の 2-アミノでコンジュゲートされ得る例示的なリガンドを示す。

【図 6-2】DAP の 2-アミノでコンジュゲートされ得る例示的なリガンドを示す。

【図 6-3】DAP の 2-アミノでコンジュゲートされ得る例示的なリガンドを示す。

【図 6-4】DAP の 2-アミノでコンジュゲートされ得る例示的なリガンドを示す。

10

【図 7A-1】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 7A-2】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 7A-3】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 7A-4】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 7B-1】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

20

【図 7B-2】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 7B-3】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 8-1】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 8-2】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 8-3】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

30

【図 8-4】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 8-5】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 8-6】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 8-7】本開示の一部の例示的な実施形態によるオリゴヌクレオチドにおける例示的な合成後コンジュゲーションモノマー残基を示す。

【図 9-1】2-フルオロ-6-アミノプリンヌクレオシドの合成のための合成スキームである。化合物 1、3、5、7、8、及び 9 の参考文献は、Morris et. al. J. Med. Chem. 1972, 15, 735、Vorbrueggen et. al. Nucleosides & Nucleotides 1994, 13, 673、Iribarren et. al. Nucleic Acids Research 1990, 18, 41、Ross et. al. Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids 2008, 27, 67、Koch et. al. Bioorg Med Chem 2004, 12, 2385、Ross & Manoharan. 2000, WO2000012563、Manoharan et. al.、PCT 国際出願 2009、WO2009/091982、及び Montgomerly et. al. Nucleosides & Nucleotides 1994, 13, 309 である。

40

50

【図 9-2】図 9-1 の説明を参照のこと。

【図 10】DAPヌクレオシドを含む例示的なオリゴヌクレオチドの合成の概略図である。

【図 11-1】部位特異的単一DAP組み込み後の粗オリゴヌクレオチド及び精製オリゴヌクレオチドのイオン交換HPLC分析を示す。

【図 11-2】図 11-1 の説明を参照のこと。

【図 12-1】部位特異的単一DAP組み込み後の精製オリゴヌクレオチドのLCMS分析を示す。

【図 12-2】部位特異的単一DAP組み込み後の精製オリゴヌクレオチドのLCMS分析を示す。

【図 12-3】部位特異的単一DAP組み込み後の精製オリゴヌクレオチドのLCMS分析を示す。

【図 12-4】部位特異的単一DAP組み込み後の精製オリゴヌクレオチドのLCMS分析を示す。

【図 13】本発明の実施形態による合成後コンジュゲーションの概略図である。

【図 14-1】図 14～図 16 は、固体支持体（図 14 及び図 15）及び溶液相（図 16）上での合成後コンジュゲーション後の粗オリゴヌクレオチドのLCMS分析を示す。

【図 14-2】図 14-1 の説明を参照のこと。

【図 14-3】図 14-1 の説明を参照のこと。

【図 14-4】図 14-1 の説明を参照のこと。

【図 15-1】図 14-1 の説明を参照のこと。

【図 15-2】図 14-1 の説明を参照のこと。

【図 15-3】図 14-1 の説明を参照のこと。

【図 15-4】図 14-1 の説明を参照のこと。

【図 16】図 14-1 の説明を参照のこと。

【図 17-1】一部の例示的なDAPコンジュゲートの概略図である。

【図 17-2】一部の例示的なDAPコンジュゲートの概略図である。

【図 18】本明細書に記載される方法の例示的な実施形態に従って調製された任意のオリゴヌクレオチドの $^{19}\text{F}$  NMR分析を示す。

【図 19】本明細書に記載の方法の例示的な実施形態による2-F Aからiso-Gへの変換を示す概略図である。

【図 20-1】本明細書に記載の方法の例示的な実施形態に従って調製されたiso-G含有オリゴヌクレオチドのLC-MS分析を示す。

【図 20-2】本明細書に記載の方法の例示的な実施形態に従って調製されたiso-G含有オリゴヌクレオチドのLC-MS分析を示す。

【発明を実施するための形態】

【0032】

詳細な説明

上述の概括的説明及び以下の詳細な説明の両方は、例示的及び説明的なものにすぎず、特許請求の範囲のように本発明を限定するものではないことが理解されるべきである。本明細書では、単数形の使用は、特に別途記載されない限り、複数形を含む。本明細書で用いられる場合、「又は」の使用は、別途記載されない限り、「及び／又は」を意味する。更に、「含む (including)」という用語、並びに「含む (includes)」及び「含む (included)」などの他の形態の使用は、限定するものではない。また、特に別途記載されない限り、「要素」又は「構成要素」などの用語は、1つのユニットを構成する要素及び構成要素、並びに1つを超えるサブユニットを構成する要素及び構成要素の両方を包含する。

【0033】

本明細書で用いられるセクション見出しは、編成目的のみであり、説明される主題を限定するものとして解釈されるべきではない。本出願に引用される全ての文書、又は文書の

10

20

30

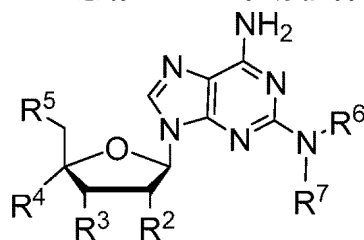
40

50

一部分は、限定されるものではないが、特許、特許出願、記事、書籍、及び論文を含み、あらゆる目的のためにそれらの全体が参照により本明細書に明示的に組み込まれる。

【0034】

一態様では、本明細書に提供されるのは、少なくとも1つの式（I）：



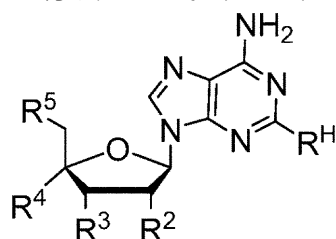
(式 I)

10

のヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドを調製する方法である。

【0035】

方法は、式（II）：



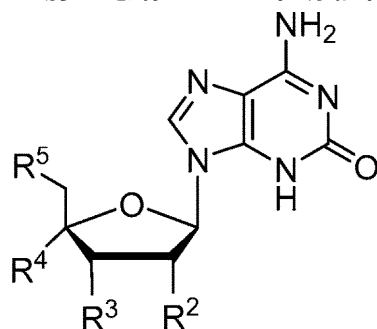
(式 II)

20

のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを、ハロゲン基  $R^H$  を式  $R^6 R^7$  のアミンに変換する条件下で、式  $HNR^6 R^7$  のアミンと反応させることを含む。

【0036】

別の態様では、本明細書に提供されるのは、式（X）：



(式 X)

30

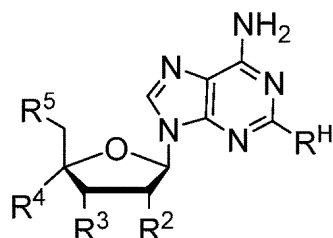
のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを調製するための方法である。

【0037】

方法は、式（XI）：

40

50



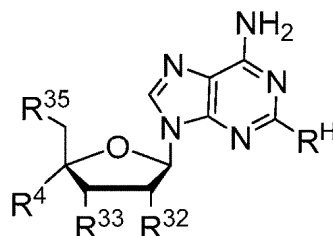
(式 XI)

のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを、アルカリ水酸化物又はアルカリ土類水酸化物（例えば、 $\text{NaOH}$ ）と反応させることを含む。

10

【0038】

別の態様では、本開示は、式（III）の化合物を提供する。



式 (III)

20

【0039】

式（I）、（II）、（III）、（X）、及び／又は（XI）中に存在する様々なR基及び変数が、本明細書に記載される。

【0040】

$R^H$

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^H$ は、ハロゲンである。例えば、 $R^H$ は、フルオロ、クロロ、ブロモ、又はヨードであり得る。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^H$ は、フルオロである。

30

【0041】

$R^L$

本明細書に記載される様々な態様の実施形態では、各 $R^L$ は、独立して、H、糖質、脂質、ビタミン、ペプチド、タンパク質、リポタンパク質、ペプチド模倣体、ポリアミン、ヌクレオシド及びヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、検出可能な標識、診断剤（例えば、ビトイン）、蛍光色素、ポリエチレングリコール（PEG）、抗体、抗体断片（例えば、ナノボディ）からなる群から選択され得る。

【0042】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^L$ は、リガンドである。理論に束縛されることを望むものではないが、リガンドは、薬力学、薬物動態、結合、吸収、細胞分布、細胞取り込み、電荷及びクリアランスを含むがこれらに限定されない、結合分子（例えば、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド）の1つ以上の特性を改変する。リガンドは、化学技術分野で日常的に使用されており、親化合物と直接的に、又は任意の結合部分若しくは結合基を介して結合される。リガンドの好ましいリストには、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、葉酸、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、及び色素が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0043】

50

本発明に適した好ましいリガンドには、脂質部分、例えば、コレステロール部分 (L e t s i n g e r e t a l . , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A , 1 9 8 9 , 8 6 , 6 5 5 3 ) 、 コール酸 (M a n o h a r a n e t a l . , B i o o r g . M e d . C h e m . L e t t . , 1 9 9 4 , 4 , 1 0 5 3 ) 、 チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール (M a n o h a r a n e t a l . , A n n . N . Y . A c a d . S c i . , 1 9 9 2 , 6 6 0 , 3 0 6 、 M a n o h a r a n e t a l . , B i o o r g . M e d . C h e m . L e t . , 1 9 9 3 , 3 , 2 7 6 5 ) 、 チオコレステロール (O b e r h a u s e r e t a l . , N u c l . A c i d s R e s . , 1 9 9 2 , 2 0 , 5 3 3 ) 、 脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオール若しくはウンデシル残基 (S a i s o n - B e h m o a r a s e t a l . , E M B O J . , 1 9 9 1 , 1 0 , 1 1 1 、 K a b a n o v e t a l . , F E B S L e t t . , 1 9 9 0 , 2 5 9 , 3 2 7 、 S v i n a r c h u k e t a l . , B i o c h i m i e , 1 9 9 3 , 7 5 , 4 9 ) 、 リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロール若しくはトリエチルアンモニウム-1, 2-ジ-O-ヘキサデシル-rac-グリセロ-3-H-ホスホネート (M a n o h a r a n e t a l . , T e t r a h e d r o n L e t t . , 1 9 9 5 , 3 6 , 3 6 5 1 、 S h e a e t a l . , N u c l . A c i d s R e s . , 1 9 9 0 , 1 8 , 3 7 7 7 ) 、 ポリアミン若しくはポリエチレングリコール鎖 (M a n o h a r a n e t a l . , N u c l e o s i d e s & N u c l e o t i d e s , 1 9 9 5 , 1 4 , 9 6 9 ) 、 アダマンタン酢酸 (M a n o h a r a n e t a l . , T e t r a h e d r o n L e t t . , 1 9 9 5 , 3 6 , 3 6 5 1 ) 、 パルミチル部分 (M i s h r a e t a l . , B i o c h i m . B i o p h y s . A c t a , 1 9 9 5 , 1 2 6 4 , 2 2 9 ) 、 又はオクタデシルアミン若しくはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分 (C r o o k e e t a l . , J . P h a r m a c o l . E x p . T h e r . , 1 9 9 6 , 2 7 7 , 9 2 3 ) が含まれる。

10

20

30

40

50

【0044】

リガンドは、天然起源分子、又は組換え分子若しくは合成分子を含み得る。例示的なリガンドには、ポリリジン (P L L ) 、 ポリL-アスパラギン酸、ポリL-グルタミン酸、スチレン-無水マレイン酸コポリマー、ポリ (L-ラクチド-コ-グリコール化) コポリマー、ジビニルエーテル-無水マレイン酸コポリマー、N- (2-ヒドロキシプロピル) メタクリルアミドコポリマー (H M P A ) 、 ポリエチレングリコール (P E G 、 例 えば、P E G - 2 K 、 P E G - 5 K 、 P E G - 1 0 K 、 P E G - 1 2 K 、 P E G - 1 5 K 、 P E G - 2 0 K 、 P E G - 4 0 K ) 、 M P E G 、 [ M P E G ] <sub>2</sub> 、 ポリビニルアルコール (P V A ) 、 ポリウレタン、ポリ (2-エチルアクリル酸) 、 N-イソプロピルアクリルアミドポリマー、ポリホスファジン、ポリエチレンイミン、カチオン基、スペルミン、スペルミジン、ポリアミン、擬似ペプチドポリアミン、ペプチド模倣ポリアミン、デンドリマーポリアミン、アルギニン、アミジン、プロタミン、カチオン性脂質、カチオン性ポリフィリン、ポリアミンの四級塩、甲状腺刺激ホルモン、メラノトロピン、レクチン、糖タンパク質、界面活性剤タンパク質 A 、 ムチン、グリコシル化ポリアミノ酸、トランスフェリン、ビスホスホネート、ポリグルタメート、ポリアスパルテート、アプタマー、アシアロフェチュイン、ヒアルロナン、プロコラーゲン、免疫グロブリン (例えば、抗体) 、 インスリン、トランスフェリン、アルブミン、糖-アルブミンコンジュゲート、挿入剤 (例えば、アクリジン) 、 架橋剤 (例えば、ソラレン、マイトマイシン C ) 、 ポルフィリン (例えば、T P P C 4 、 テキサフィリン、サフィリン) 、 多環芳香族炭化水素 (例えば、フェナジン、ジヒドロフェナジン) 、 人工エンドヌクレアーゼ (例えば、E D T A ) 、 親油性分子 (例えば、ステロイド、胆汁酸、コレステロール、コール酸、アダマンタン酢酸、1-ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、1, 3-ビス-O (ヘキサデシル) グリセロール、ゲラニルオキシヘキシル基、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、1, 3-プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、O 3- (オレオイル) リトコール酸、O 3- (オレオイル) コレン酸、ジメトキシトリチル、又はフェノキサジン) 、 ペプチド (例えば、アルファヘリックスペプチド、両親媒性ペプチド、

R G D ペプチド、細胞透過ペプチド、エンドソーム溶解性／融合性ペプチド）、アルキル化剤、ホスフェート、アミノ、メルカプト、ポリアミノ、アルキル、置換アルキル、放射性標識マーカ、酵素、ハプテン（例えば、ビオチン）、輸送／吸収促進剤（例えば、ナプロキセン、アスピリン、ビタミンE、葉酸）、合成リボヌクレアーゼ（例えば、イミダゾール、ビスイミダゾール、ヒスタミン、イミダゾールクラスター、アクリジン-イミダゾールコンジュゲート、テトラアザ大環状化合物のE u 3 + 複合体）、ジニトロフェニル、H R P、A P、抗体、ホルモン及びホルモン受容体、レクチン、糖質、多価糖質、ビタミン（例えば、ビタミンA、ビタミンE、ビタミンK、ビタミンB、例えば、葉酸、B 1 2、リボフラビン、ビオチン、ピリドキサル）、ビタミン補助因子、リポ多糖、p 3 8 M A P キナーゼの活性化因子、N F - κ B の活性化因子、タクソン、ピンクリスチン、ピンブラスチン、サイトカラシン、ノコダゾール、ジャブラキノリド、ラトランキュリンA、ファロイジン、スウィンホリドA、インダノシン、ミオセルビン、腫瘍壊死因子アルファ（T N F アルファ）、インターロイキン-1 ベータ、ガンマインターフェロン、天然又は組換え低密度リポタンパク質（L D L）、天然又は組換え高密度リポタンパク質（H D L）、及び細胞透過剤（例えば、ヘリックス細胞透過剤）が含まれるが、これらに限定されない。

10

#### 【0045】

ペプチド及びペプチド模倣リガンドには、天然起源又は修飾ペプチド、例えば、D 若しくはL ペプチド、α、β、若しくはγ ペプチド、N-メチルペプチド、アザペプチド、1 つ以上のウレア、チオウレア、カルバメート、若しくはスルホニルウレア結合で置換される1 つ以上のアミド結合、すなわちペプチド結合を有するペプチド、又は環状ペプチドを有するものが含まれる。ペプチド模倣体（本明細書においてオリゴペプチド模倣体とも称する）は、天然ペプチドと類似する規定された三次元構造にフォールディング可能な分子である。ペプチド又はペプチド模倣リガンドは、約5～50アミノ酸長、例えば、約5、10、15、20、25、30、35、40、45又は50アミノ酸長である。

20

#### 【0046】

例示的な両親媒性ペプチドには、セクロピン、リコトキシン、パラダキシン、ブフォリン、C P F、ボンビニン様ペプチド（B L P）、カテリシジン、セラトキシン、S、クラバペプチド、メクラウナギ腸管抗菌ペプチド（H F I A P）、マガイニン、プレビニン-2、デルマセプチン、メリチン、プレウロシジン、H<sub>2</sub>A ペプチド、アフリカツメガエルペプチド、エスクレンティニス-1（e s c u l e n t i n i s - 1）、及びカエリンが含まれるが、これらに限定されない。

30

#### 【0047】

本明細書で使用される場合、「エンドソーム溶解性リガンド」という用語は、エンドソーム溶解性特性を有する分子を指す。エンドソーム溶解性リガンドは、細胞内のエンドソーム、リソソーム、小胞体（E R）、ゴルジ装置、微小管、ペルオキシソーム、又は細胞内の他の小胞体などの細胞区画から細胞の細胞質への、本発明の組成物若しくはその成分の溶解及び／又は輸送を促進する。一部の例示的なエンドソーム溶解性リガンドには、イミダゾール、ポリ又はオリゴイミダゾール、直鎖又は分岐鎖ポリエチレンジアミン（P E E）、直鎖及び分岐鎖ポリアミン、例えば、スペルミン、カチオン性直鎖及び分岐鎖ポリアミン、ポリカルボキシレート、ポリカチオン、マスクされたオリゴ若しくはポリカチオン又はアニオン、アセタール、ポリアセタール、ケタール／ポリケタール、オルトエステル、マスクされた若しくはマスクされていないカチオン又はアニオン電荷を有する直鎖又は分岐鎖ポリマー、マスクされた若しくはマスクされていないカチオン又はアニオン電荷を有する dendri mer、ポリアニオン性ペプチド、ポリアニオン性ペプチド模倣体、p H 感受性ペプチド、天然及び合成融合性脂質、天然及び合成カチオン性脂質が含まれるが、これらに限定されない。

40

#### 【0048】

例示的なエンドソーム溶解性／融合性ペプチドには、A A L E A L A E A L E A L A E A L E A L A E A L A E A A A G G C（G A L A）、A A L A E A L A E A L A E A L A E A L A E A L

50

A E A L A A A A G G C (E A L A)、A L E A L A E A L E A L A E A、G L F E A I  
E G F I E N G W E G M I W D Y G (I N F - 7)、G L F G A I A G F I E N G W E G  
M I D G W Y G (I n f H A - 2)、G L F E A I E G F I E N G W E G M I D G W Y  
G C G L F E A I E G F I E N G W E G M I D G W Y G C (d i I N F - 7)、G L F  
E A I E G F I E N G W E G M I D G G C G L F E A I E G F I E N G W E G M I D G G  
C (d i I N F - 3)、G L F G A L A E A L A E A L A E H L A E A L A E A L E A L  
A A G G S C (G L F)、G L F E A I E G F I E N G W E G L A E A L A E A L E A L  
A A G G S C (G A L A - I N F 3)、G L F E A I E G F I E N G W E G n I  
D G K G L F E A I E G F I E N G W E G n I D G (I N F - 5、nはノル  
ロイシン)、L F E A L L E L L E S L W E L L L E A (J T S - 1)、G L F K A L L  
K L L K S L W K L L L K A (p p T G 1)、G L F R A L L R L L R S L W R L L L R  
A (p p T G 2 0)、W E A K L A K A L A K A L A K H L A K A L A K A L K A C E A  
(K A L A)、G L F F E A I A E F I E G G W E G L I E G C (H A)、G I G A V L  
K V L T T G L P A L I S W I K R K R Q Q (メリチン)、H<sub>5</sub>WY G、及びC H K<sub>6</sub>H  
Cが含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0049】

理論に束縛されることを望むものではないが、融合性脂質は、膜と融合し、結果として  
膜を不安定化する。融合性脂質は通常、小さな頭部基及び不飽和アシル鎖を有する。例示  
的な融合性脂質には、1, 2-ジレオイル-s n-3-ホスホエタノールアミン (D O P  
E)、ホスファチジルエタノールアミン (P O P E)、パルミトイルオレオイルホスファ  
チジルコリン (P O P C)、(6 Z, 9 Z, 28 Z, 31 Z)-ヘプタトリアコンター6  
, 9, 28, 31-テトラエン-19-オール (D i - L i n)、N-メチル(2, 2-  
ジ(9 Z, 12 Z)-オクタデカ-9, 12-ジエニル)-1, 3-ジオキソラン-4  
-イル)メタンアミン (D L i n - k - D M A)、及びN-メチル-2-(2, 2-ジ  
(9 Z, 12 Z)-オクタデカ-9, 12-ジエニル)-1, 3-ジオキソラン-4-イル  
エタンアミン(本明細書ではX T Cとも称される)が含まれるが、これらに限定され  
ない。

#### 【0050】

本発明に適したエンドソーム溶解性活性を有する合成ポリマーは、米国特許出願公開第  
2009/0048410号、同第2009/0023890号、同第2008/028  
7630号、同第2008/0287628号、同第2008/0281044号、同第  
2008/0281041号、同第2008/0269450号、同第2007/010  
5804号、同第2007/0036865号、及び同第2004/0198687号に  
記載されており、その内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

#### 【0051】

例示的な細胞透過ペプチドには、R Q I K I W F Q N R R M K W K K (ペネトラチン)  
、G R K K R R Q R R R P P Q C (T a t 断片48~60)、G A L F L G W L G A A G  
S T M G A W S Q P K K K R K V (シグナル配列系ペプチド)、L L I I L R R R I R K  
Q A H A H S K (P V E C)、G W T L N S A G Y L L K I N L K A L A A L A K K I L  
(トランスポーター)、K L A L K L A L K A L K A A L K L A (両親媒性モデルペプチ  
ド)、R R R R R R R R R R (A r g 9)、K F F K F F K F F K (細菌細胞壁透過ペプチ  
ド)、L L G D F F R K S K E K I G K E F K R I V Q R I K D F L R N L V P R T E S  
(L L - 37)、S W L S K T A K K L E N S A K K R I S E G I A I A I Q G G P R (セ  
クロピンP1)、A C Y C R I P A C I A G E R R Y G T C I Y Q G R L W A F C C (α-  
デフェンシン)、D H Y N C V S S G G Q C L Y S A C P I F T K I Q G T C Y R G  
K A K C C K (β-デフェンシン)、R R R P R P P Y L P R P R P P P F F P P R L P  
P R I P P G F P P R F P P R F P G K R - N H 2 (P R - 39)、I L P W K W P W W  
P W R R - N H 2 (インドリシジン)、A A V A L L P A V L L A L L A P (R F G F)  
、A A L L P V L L A A P (R F G F 類似体)、及びR K C R I V V I R V C R (バクテ  
ネシン)が含まれるが、これらに限定されない。

## 【0052】

例示的なカチオン性基には、例えば、 $O-AMINE$  ( $AMINE=NH_2$ 、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、又はジヘテロアリールアミノ、エチレンジアミン、ポリアミノ) に由来するプロトン化アミノ基、アミノアルコキシ、例えば、 $O(CH_2)_nAMINE$ 、(例えば、 $AMINE=NH_2$ 、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、又はジヘテロアリールアミノ、エチレンジアミン、ポリアミノ)、アミノ(例えば、 $NH_2$ 、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、ジヘテロアリールアミノ、又はアミノ酸)、及び  $NH(CH_2CH_2NH)_nCH_2CH_2-AMINE$  ( $AMINE=NH_2$ 、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、又はジヘテロアリールアミノ) が含まれるが、これらに限定されない。

10

## 【0053】

本明細書で使用される場合、「ターゲティングリガンド」という用語は、選択された標的、例えば、細胞、細胞型、組織、器官、身体の領域、又は区画、例えば、細胞、組織、若しくは器官の区画に対する増強された親和性を提供する任意の分子を指す。一部の例示的なターゲティングリガンドには、抗体、抗原、葉酸、受容体リガンド、糖質、アプタマー、インテグリン受容体リガンド、ケモカイン受容体リガンド、トランスフェリン、ビオチン、セロトニン受容体リガンド、PSMA、エンドテリン、GCP II、ソマトスタチン、LDL、及びHDLリガンドが含まれるが、これらに限定されない。

20

## 【0054】

糖質系ターゲティングリガンドには、D-ガラクトース、多価ガラクトース、N-アセチル-D-ガラクトサミン (GalNAc)、多価GalNAc、例えば、GalNAc<sub>2</sub> 及び GalNAc<sub>3</sub>、D-マンノース、多価マンノース、多価ラクトース、N-アセチル-グルコサミン、多価フコース、グリコシル化ポリアミノ酸、及びレクチンが含まれるが、これらに限定されない。多価という用語は、1つを超える単糖単位が存在することを示す。こうした単糖サブユニットは、グリコシド結合を介して互いに結合されてもよく、又は足場分子と結合されてもよい。

## 【0055】

リガンドとして本発明に適した多くの葉酸及び葉酸類似体は、米国特許第2,816,110号、同第5,552,545号、同第6,335,434号、及び同第7,128,893号に記載されており、その内容は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

30

## 【0056】

本明細書で使用される場合、「PK調節リガンド」及び「PK調節因子」という用語は、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドの薬物動態を調節することができる分子を指す。一部の例示的なPK調節因子には、親油性分子、胆汁酸、ステロール、リン脂質類似体、ペプチド、タンパク質結合剤、ビタミン、脂肪酸、フェノキサジン、アスピリン、ナプロキセン、イブプロフェン、スプロフェン、ケトプロフェン、(S)-(+) -プラノプロフェン、カルプロフェン、PEG、ビオチン、及びトランスサイレチア (transthyretia) -結合リガンド(例えば、テトラヨードチロ酢酸 (tetraiodothyroacetic acid)、2,4,6-トリヨードフェノール、及びフルフェナム酸) が含まれるが、これらに限定されない。多数のホスホロチオエート糖間結合を含むオリゴマー化合物も、血清タンパク質と結合することが知られており、したがって、短いオリゴマー化合物、例えば約5~30ヌクレオチド(例えば、5~25ヌクレオチド、好ましくは5~20ヌクレオチド、例えば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、又は20ヌクレオチド)を含み、骨格中に複数のホスホロチオエート結合を含むオリゴヌクレオチドも、リガンドとして(例えば、PK調節リガンドとして)本発明に適用可能である。PK調節オリゴヌクレオチドは、

40

50

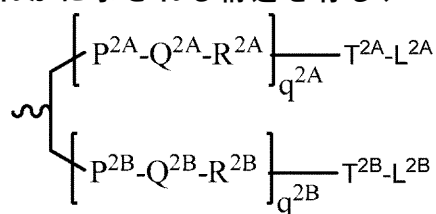
少なくとも3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15個以上のホスホロチオエート結合及び／又はホスホロジチオエート結合を含み得る。一部の実施形態では、PK調節オリゴヌクレオチド中の全てのヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート及び／又はホスホロジチオエート結合である。更に、血清成分（例えば、血清タンパク質）に結合するアプタマーも、PK調節リガンドとして本発明に適用可能である。血清成分（例えば、血清タンパク質）との結合は、Oravcova, et al., Journal of Chromatography B (1996), 677:1-27に記載されているようなアルブミン結合アッセイから予測することができる。

【0057】

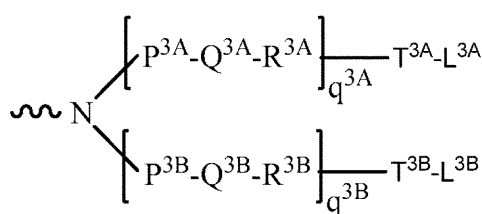
2つ以上のリガンドが存在する場合、リガンドは、全て同じ特性を有するか、又は全て異なる特性を有するか、又は一部のリガンドが同じ特性を有するが他のリガンドが異なる特性を有する。例えば、リガンドは、ターゲティング特性、エンドソーム溶解性活性、又はPK調節特性を有することができる。好ましい実施形態では、全てのリガンドは、異なる特性を有する。

【0058】

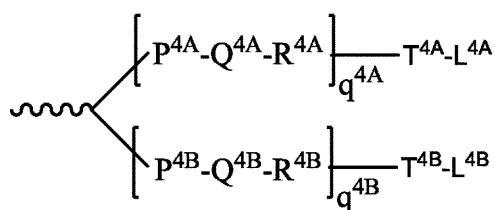
態様のいずれか1つの一部の実施形態では、リガンドは、式(IV)～(VII)のいずれかに示される構造を有し、



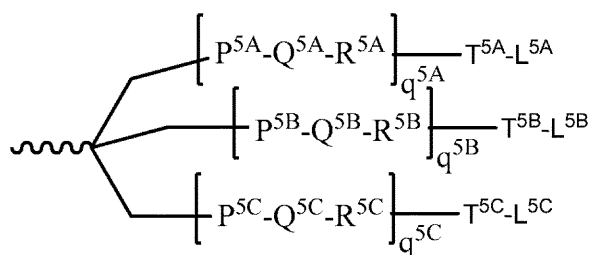
式(IV)



式(V)



式(VI)



式(VII)

, 又は

式中、

$q^{2\text{A}}$ 、 $q^{2\text{B}}$ 、 $q^{3\text{A}}$ 、 $q^{3\text{B}}$ 、 $q^{4\text{A}}$ 、 $q^{4\text{B}}$ 、 $q^{5\text{A}}$ 、 $q^{5\text{B}}$ 、及び $q^{5\text{C}}$ は、出現ごとに独立して、0～20を表し、繰り返し単位は、同一であり得るか、又は異なり得、 $p^{2\text{A}}$ 、 $p^{2\text{B}}$ 、 $p^{3\text{A}}$ 、 $p^{3\text{B}}$ 、 $p^{4\text{A}}$ 、 $p^{4\text{B}}$ 、 $p^{5\text{A}}$ 、 $p^{5\text{B}}$ 、 $p^{5\text{C}}$ 、 $t^{2\text{A}}$ 、 $t^{2\text{B}}$ 、 $t^{3\text{A}}$ 、 $t^{3\text{B}}$ 、 $t^{4\text{A}}$ 、 $t^{4\text{B}}$ 、 $t^{5\text{A}}$ 、 $t^{5\text{B}}$ 、 $t^{5\text{C}}$ は、出現ごとに独立して、非存在、CO、NH、O、S、OC(O)、NHC(O)、CH<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>NH、又はCH<sub>2</sub>Oであり、

$Q^{2\text{A}}$ 、 $Q^{2\text{B}}$ 、 $Q^{3\text{A}}$ 、 $Q^{3\text{B}}$ 、 $Q^{4\text{A}}$ 、 $Q^{4\text{B}}$ 、 $Q^{5\text{A}}$ 、 $Q^{5\text{B}}$ 、 $Q^{5\text{C}}$ は、出現ごとに独立して、非存在、アルキレン、置換アルキレンであり、式中1つ以上のメチレンが、O、S、S(O)、SO<sub>2</sub>、N(R<sup>N</sup>)、C(R')=C(R'')、C≡C、又はC(O)のうちの1つ以上によって中断又は終結され得、

$R^{2\text{A}}$ 、 $R^{2\text{B}}$ 、 $R^{3\text{A}}$ 、 $R^{3\text{B}}$ 、 $R^{4\text{A}}$ 、 $R^{4\text{B}}$ 、 $R^{5\text{A}}$ 、 $R^{5\text{B}}$ 、 $R^{5\text{C}}$ は、出現ごとに各々独立して、非存在、NH、O、S、CH<sub>2</sub>、C(O)O、C(O)NH、NHCH(R<sup>a</sup>)C(O)、-C(O)-CH(R<sup>a</sup>)-NH-、CO、CH=N-O、

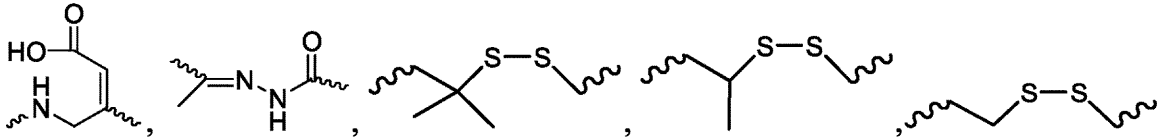
10

20

30

40

50



、又はヘテロシクリルであり、

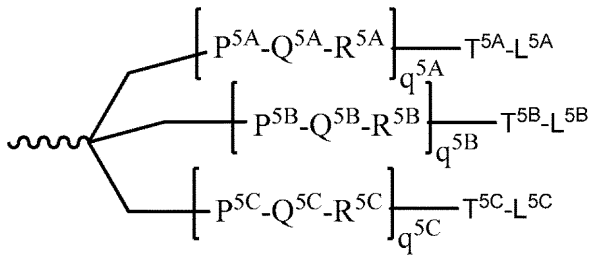
$L^{2A}$ 、 $L^{2B}$ 、 $L^{3A}$ 、 $L^{3B}$ 、 $L^{4A}$ 、 $L^{4B}$ 、 $L^{5A}$ 、 $L^{5B}$ 、及び $L^{5C}$ は、リガンドを表し、すなわち、出現ごとに各々独立して、単糖（GalNAcなど）、二糖、三糖、四糖、オリゴ糖、又は多糖であり、

$R^a$ は、H又はアミノ酸側鎖である。

10

【0059】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、リガンドは、式（VII）：



式 (VII)

20

の構造であり、式中、 $L^{5A}$ 、 $L^{5B}$ 、及び $L^{5C}$ は、単糖、例えばGalNAc誘導体を表す。

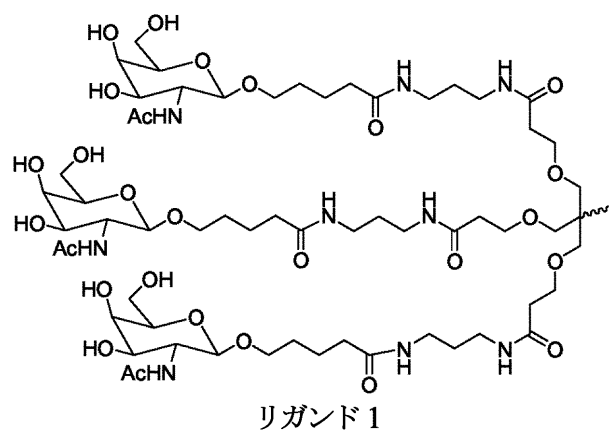
【0060】

例示的なリガンドには、以下が含まれるが、これらに限定されない：

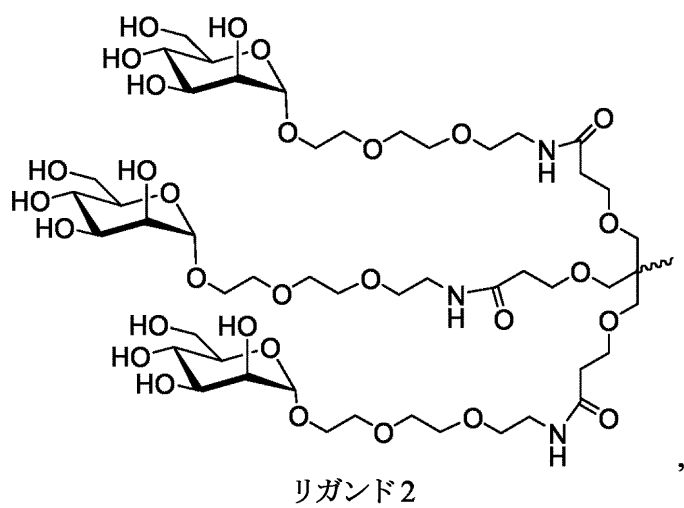
30

40

50



10

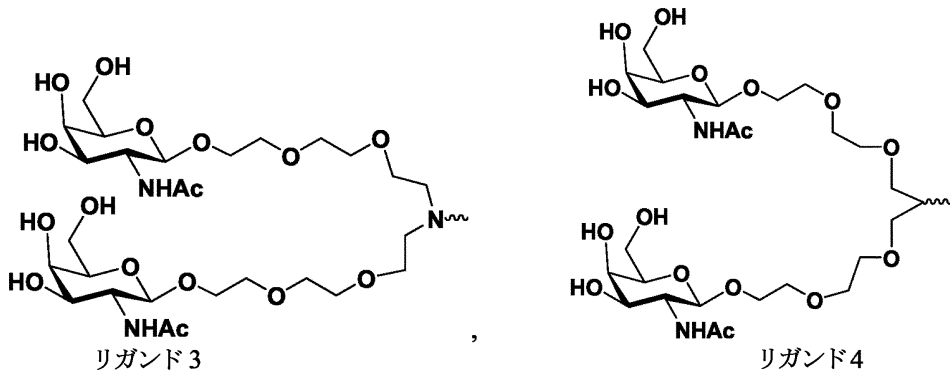


20

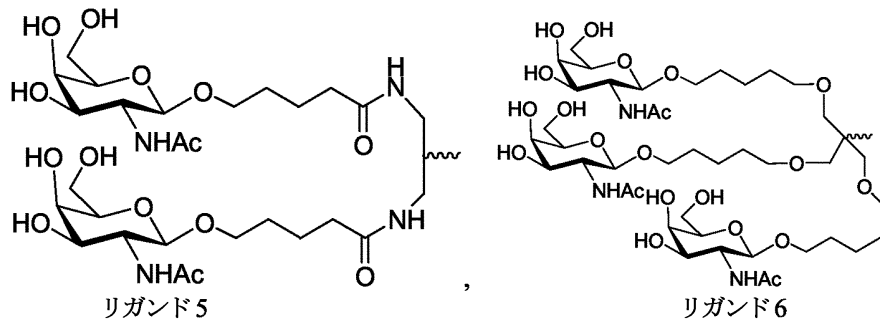
30

40

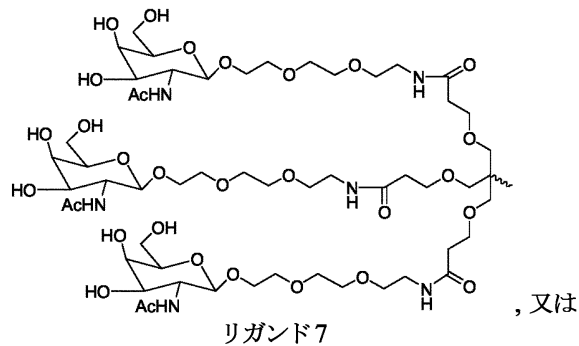
50



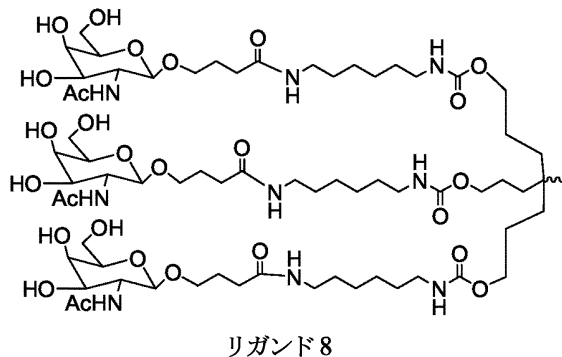
10



20



30



40

。

## 【 0 0 6 1 】

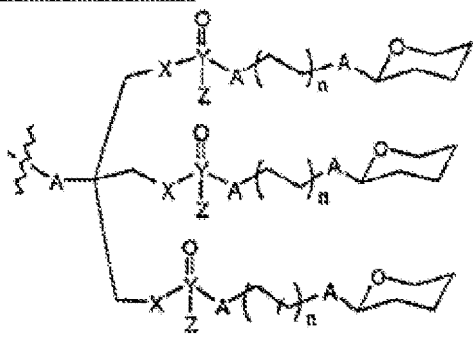
本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、リガンドは、米国特許第 5, 9 9 4, 5 1 7 号又は米国特許第 6, 9 0 6, 1 8 2 号に記載されるリガンドであり、その各々の内容は、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

## 【 0 0 6 2 】

一部の実施形態では、リガンドは、米国特許第 6, 9 0 6, 1 8 2 号の図 3 に記載されているトリアンテナ型リガンドであり得る。例えば、リガンドは、以下のトリアンテナ型リガンドから選択される。

50

## トリアンテナ型

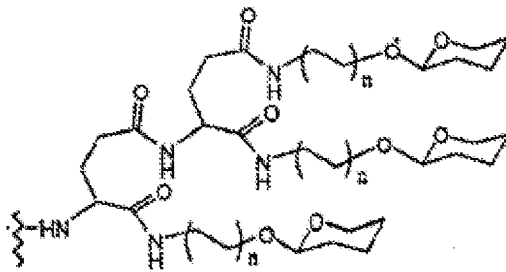


$X = \text{NH}, \text{O}, \text{S}$   
 $Y = \text{P}$  又は  $\text{S}$   
 $Z = \text{NH-アルキル}, \text{NH}_2, \text{O}^-, \text{S}^-$   
 $A = \text{NH}, \text{CH}_2, \text{O}, \text{S}$   
 $n = 2 \sim 17$  個の2炭素単位

糖質 =

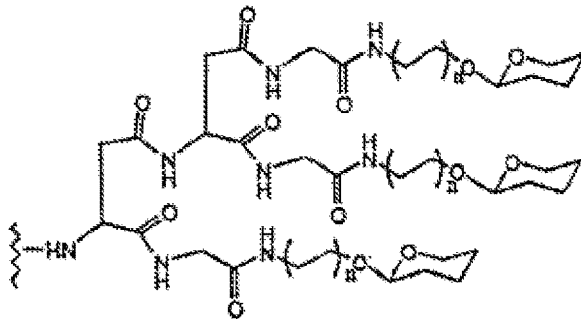
トリス((ヘテロ原子)メチル)-[ヘテロ原子]メタン

10

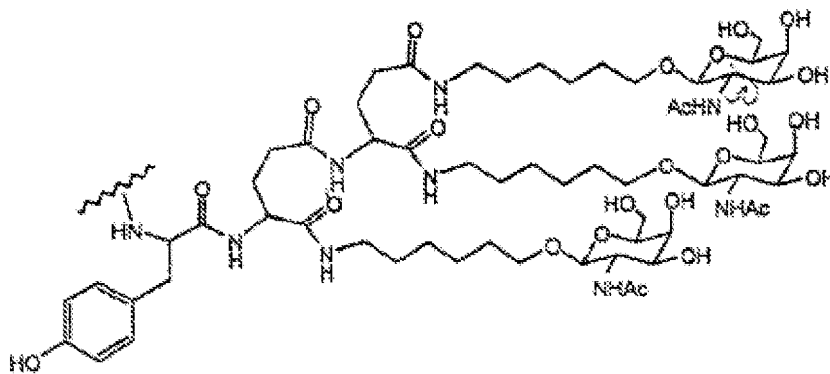


ジグルタミル<sup>†</sup>

20



ジアスパラチル



30

40

## 【0063】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^L$ は、リガンドである。1つを超える $R^L$ が存在する場合、それらは同一であっても異なってもよいことに留意されたい。したがって、本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、全ての $R^L$ は、同一である。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の他の実施形態では、 $R^L$ は、異なる。

## 【0064】

$R^6$  及び  $R^7$

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^6$  及び  $R^7$  のうちの少なくとも1つは、Hではない。例えば、 $R^6$  及び  $R^7$  のうちの少なくとも1つは、-

50

L-R<sup>L</sup>である。

【0065】

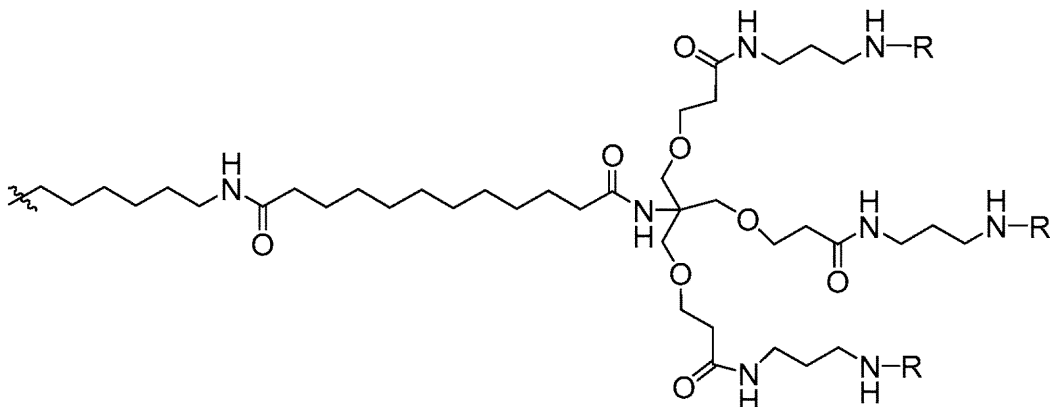
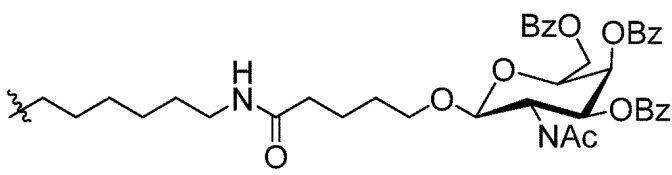
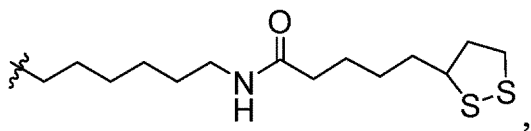
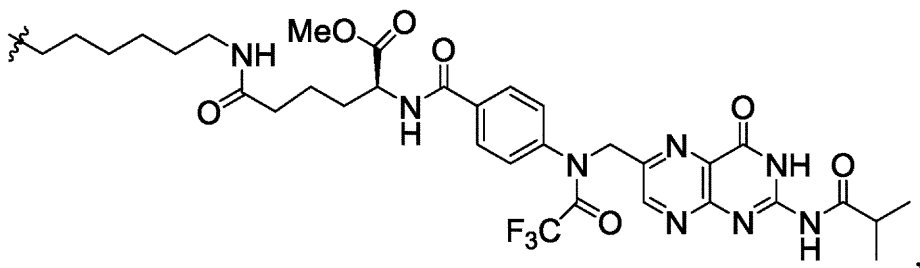
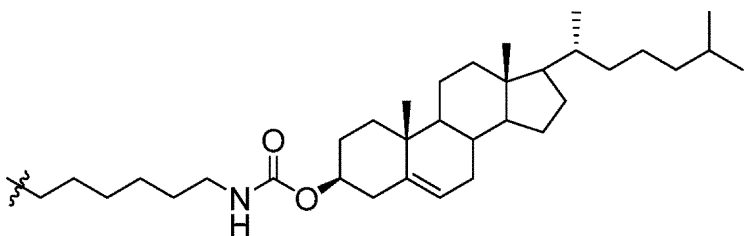
R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一であっても異なってもよいことに留意されたい。したがって、本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、同一である。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の他の実施形態では、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は、異なる。

【0066】

一部の実施形態では、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>のうちの1つは、Hである。

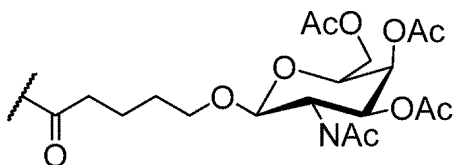
【0067】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>のうちの少なくとも1つは、独立して、



、シクロ[Phe-Arg-Gly-Asp-Leu-Ala-Phe-D-Pro-N-Me-Lys(PEG4-NH<sub>2</sub>)]（環状RGDペプチド）、又は置換されていても

よい  $C_1 - C_{30}$  アルキルからなる群から選択され、式中、 $R$  は、



である。

【0068】

一部の実施形態では、 $R^6$  及び  $R^7$  のうちの少なくとも1つは、置換されていてもよい分岐  $C_4 - C_{30}$  アルキルである。例えば、 $R^6$  及び  $R^7$  のうちの少なくとも1つは、 $-CHR^{L1}R^{L2}$  であり、式中、 $R^{L1}$  及び  $R^{L2}$  は、独立して、置換されていてもよい  $C_1 - C_{15}$  アルキルから選択される。

10

【0069】

一部の実施形態では、 $R^{L1}$  は、置換されていてもよい  $C_6 - C_{12}$  アルキル、例えば、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$ 、 $C_{10}$ 、又は  $C_{11}$  アルキルであり、それらの各々は、任意に置換され得る。一部の実施形態では、 $R^{L1}$  は、置換されていてもよい  $C_8$  アルキルである。

【0070】

一部の実施形態では、 $R^{L2}$  は、置換されていてもよい  $C_6 - C_{12}$  アルキル、例えば、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$ 、 $C_{10}$ 、又は  $C_{11}$  アルキルであり、それらの各々は、任意に置換され得る。一部の実施形態では、 $R^{L2}$  は、置換されていてもよい  $C_7$  アルキルである。

20

【0071】

一部の実施形態では、 $R^6$  及び  $R^7$  は、独立して、置換されていてもよい  $C_1 - C_{30}$  アルキルである。例えば、 $R^6$  及び  $R^7$  は独立して、置換されていてもよい  $C_4 - C_{20}$  アルキルであり、例えば、 $R^6$  及び  $R^7$  は、独立して、置換されていてもよい  $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{11}$ 、 $C_{12}$ 、 $C_{12}$ 、 $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$ 、 $C_{17}$ 、 $C_{18}$ 、 $C_{19}$ 、又は  $C_{20}$  アルキルである。

【0072】

一部の実施形態では、 $R^6$  及び  $R^7$  のうちの少なくとも1つは、独立して、 $OH$ 、 $CN$ 、 $SC(O)Ph$ 、オキソ(=O)、 $SH$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1 - C_4)$  アルキル、 $SO_2NH(C_1 - C_4)$  アルキル、ハロゲン、カルボキシル、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_1 - C_4)$  アルキル、 $N[(C_1 - C_4) \text{ アルキル}]_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_1 - C_8)$  アルキル、 $O(C_1 - C_8)$  アルキル (すなわち、 $C_1 - C_8$  アルコキシ)、 $O(C_1 - C_8)$  ハロアルキル、 $(C_2 - C_8)$  アルケニル、 $(C_2 - C_8)$  アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2 - C(O) - \text{アルキレン}$ 、 $NH(Me) - C(O) - \text{アルキレン}$ 、 $CH_2 - C(O) - \text{アルキル}$ 、 $C(O) - \text{アルキル}$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2 - [CH(OH)]_m - (CH_2)_p - OH$ 、 $CH_2 - [CH(OH)]_m - (CH_2)_p - NH_2$ 、又は  $CH_2 - \text{アリール} - \text{アルコキシ}$  から選択される1、2、3、4又は5つの置換基で置換されていてもよい  $C_1 - C_{30}$  アルキルであり、「 $m$ 」及び「 $p$ 」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。例えば、 $R^a$  は、 $NH_2$ 、 $OH$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、ハロ、 $SH$ 、又は  $C_1 - C_6$  アルコキシで置換されていてもよい  $C_1 - C_{30}$  アルコキシである。

30

【0073】

一部の実施形態では、 $R^6$  及び  $R^7$  のうちの少なくとも1つは、 $-CH_2(CH_2)_14CO_2H$  である。

【0074】

$R^2$

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^2$  は、水素、ヒド

50

ロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、又は  $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ ) である。例えば、 $R^2$  は、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、又はジアルキルアミノである。

10

## 【0075】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^2$  は、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、又はアルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）である。態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^2$  は、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、フルオロ、又はメトキシである。

## 【0076】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^2$  は、ハロゲンである。例えば、 $R^2$  は、フルオロ、クロロ、ブロモ、又はヨードであり得る。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^2$  は、フルオロである。

20

## 【0077】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^2$  及び  $R^4$

## 【0078】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^2$  及び  $R^4$  が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-Y-2'$ 、又は  $4'-Y-C(R^{10}R^{11})_v-2'$  であり、 $v$  は、1、2、又は3であり、 $Y$  は、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH(Me)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^{12})-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-N(R^{12})C(O)-$ 、又は  $-C(O)N(R^{12})-$  であり、 $R^{10}$  及び  $R^{11}$  は、独立して、H、置換されていてもよい  $C_{1-C_6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-C_6}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $C_{2-C_6}$  アルキニルであり、 $R^{12}$  は、水素、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-C_{30}}$  アルコキシ、 $C_{1-4}$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル- $CO_2H$ 、又は窒素保護基である。

30

## 【0079】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $v$  は、1である。態様のいずれか1つの一部の他の実施形態では、 $v$  は、2である。

## 【0080】

一部の実施形態では、 $Y$  はOである。例えば、 $R^2$  及び  $R^4$  は一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-O-2'$  である。

## 【0081】

同一の炭素と結合する  $R^{10}$  及び  $R^{11}$  は、同一であっても異なってもよいことに留意されたい。例えば、 $R^{10}$  及び  $R^{11}$  のうちの一方はHであり得、 $R^{10}$  及び  $R^{11}$  のうちの他方は置換されていてもよい  $C_{1-C_6}$  アルキルであり得る。1つの非限定的な例では、 $R^{10}$  及び  $R^{11}$  のうちの一方はHであり得、他方は  $C_{1-C_6}$  アルキルであり得、これは、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_{1-C_4})$  アルキル、 $SO_2NH(C_{1-C_4})$  アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_{1-C_4})$  アルキル、 $N[(C_{1-C_4})$  アルキル] $_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_{1-C_8})$  アルキル、 $O(C_{1-C_8})$  アルキル（すなわち、 $C_{1-C_8}$  アルコキシ）、 $O(C_{1-C_8})$  ハロアルキル、 $(C_{2-C_8})$  アルケニル、 $(C_{2-C_8})$  アルキニル、ハロアルキ

40

50

ル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{NH}(\text{Me})-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、 $\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}_2$ 、又は $\text{CH}_2$ -アリール-アルコキシから選択される1、2、3、4又は5つの置換基で置換されていてもよく、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。例えば、 $\text{R}^{10}$ 及び $\text{R}^{11}$ は、独立して、Hであるか、又は $\text{NH}_2$ 、OH、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$ 、ハロ、SH、若しくは $\text{C}_1-\text{C}_6$ アルコキシで置換されていてもよい $\text{C}_1-\text{C}_{30}$ アルキルである。態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{10}$ 及び $\text{R}^{11}$ のうちの一方は、Hであり、他方は、 $\text{C}_1-\text{C}_6$ アルコキシで置換されていてもよい $\text{C}_1-\text{C}_6$ アルキルである。例えば、 $\text{R}^{10}$ 及び $\text{R}^{11}$ のうちの一方はHであり、他方は $-\text{CH}_3$ 又は $\text{CH}_2\text{OCH}_3$ である。

10

【0082】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、同一のCと結合する $\text{R}^{10}$ 及び $\text{R}^{11}$ は、同一である。例えば、同一のCと結合する $\text{R}^{10}$ 及び $\text{R}^{11}$ は、Hである。

【0083】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $\text{R}^2$ 及び $\text{R}^4$ は一緒になって、 $4'-\text{CH}_2-\text{O}-2'$ 、 $4'-\text{CH}(\text{C}_3\text{H}_7)-\text{O}-2'$ 、 $4'-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OCH}_3)-\text{O}-2'$ 、又は $4'-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-2'$ である。例えば、 $\text{R}^2$ 及び $\text{R}^4$ は一緒になって、 $4'-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-2'$ である。

20

【0084】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $\text{R}^2$ は、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である。 $\text{R}^2$ 及び $\text{R}^3$ のうちの1つのみが、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合であり得ることに留意されたい。

【0085】

$\text{R}^3$

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $\text{R}^3$ は、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい $\text{C}_1-30$ アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $3'$ -オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン（GalNAc））、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ）であり得る。

30

【0086】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $\text{R}^3$ は、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい $\text{C}_1-30$ アルコキシ、 $3'$ -オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ）である。例えば、 $\text{R}^3$ は、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ）である。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $\text{R}^3$ は、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ）である。

40

【0087】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $\text{R}^3$ は、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である。

【0088】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $\text{R}^3$ は、固体支持体

50

、又は固体支持体と共有結合したリンカーである。

【0089】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^3$ は、ヒドロキシルである。

【0090】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^3$ 及び $R^4$ は、それらが結合している原子と一緒に、置換されていてもよい $C_3-8$ シクロアルキル、置換されていてもよい $C_3-8$ シクロアルケニル、又は置換されていてもよい3～8員ヘテロシクリルを形成する。

【0091】

$R^4$

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^4$ は、水素、置換されていてもよい $C_1-6$ アルキル、置換されていてもよい $C_2-6$ アルケニル、置換されていてもよい $C_2-6$ アルキニル、又は置換されていてもよい $C_1-6$ アルコキシであり得る。例えば、 $R^4$ は、水素、置換されていてもよい $C_1-6$ アルキル、又は置換されていてもよい $C_1-6$ アルコキシであり得る。

【0092】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^4$ は、Hである。

【0093】

$R^5$

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい $C_1-30$ アルキル、置換されていてもよい $C_2-30$ アルケニル、置換されていてもよい $C_2-30$ アルキニル、置換されていてもよい $C_1-30$ アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_4-30$ アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_4-30$ アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、ビニルホスホネート (VP) 基、モノホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-5'$ )、ジホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、トリホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、モノチオホスフェート (ホスホロチオエート、 $(HO)_2(S)P-O-5'$ )、モノジチオホスフェート (ホスホロジチオエート； $(HO)(HS)(S)P-O-5'$ )、ホスホロチオラート ( $(HO)_2(O)P-S-5'$ )；アルファーチオトリホスフェート；ベーターチオトリホスフェート；ガンマーチオトリホスフェート；ホスホルアミデート ( $(HO)_2(O)P-NH-5'$ 、 $(HO)(NH_2)(O)P-O-5'$ )、アルキルホスホネート ( $R(OH)(O)P-O-5'$ 、 $R$ =アルキル、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、プロピルなど)、アルキルエーテルホスホネート ( $R(OH)(O)P-O-5'$ 、 $R$ =アルキルエーテル、例えば、メトキシメチル ( $CH_2OMe$ )、エトキシメチルなど)、 $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は  $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は  $(HO)_2(X)P-[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$  (式中、 $X$ は、O、S、又は置換されていてもよいアルキルである)、並びにジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体 (例えば、 $HO[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $HO[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H_2N[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ であり、式中 $a$ 及び $b$ は、各々独立して、1～10である)であり得る。

10

20

30

40

50

## 【0094】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、ビニルホスホン酸(VP)基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート(ホスホロチオエート)、モノジチオホスフェート(ホスホロジチオエート)、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、又はアルキルホスホネートであり得る。

## 【0095】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、又はビニルホスホネート(VP)基である。

## 【0096】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である。

## 【0097】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、ヒドロキシル又は保護ヒドロキシルである。

## 【0098】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシである。

## 【0099】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、ビニルホスホネート基である。

## 【0100】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、 $-CH(R^{51})-X^5-R^{52}$ であり得、式中、 $X^5$ は、非存在、結合、又はOであり、 $R^{51}$ は、水素、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $-C_{2-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $-C_{2-30}$ アルキニルであり、 $R^{52}$ は、先行するヌクレオチドへのヌクレオシド間結合への結合である。

## 【0101】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $X^5$ は、O又は結合である。例えば、 $X^5$ はOである。本明細書に記載される態様のいずれか1つの他の実施形態では、 $X^5$ は非存在、すなわち、 $R^5$ は、 $-CH(R^{51})R^{52}$ である。

## 【0102】

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態では、 $R^5$ は、 $-CH(R^{51})-R^{52}$ 又は $-C(R^{51})=CHR^{52}$ であり得、式中、 $R^{51}$ は、水素、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $-C_{2-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $-C_{2-30}$ アルキニルであり、 $R^{52}$ は、先行するヌクレオチドへのヌクレオシド間結合への結合である。

## 【0103】

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態では、 $R^5$ は、 $-CH(R^{51})-X^5-R^{52}$ である。例えば、 $R^5$ は、 $-CH(R^{51})-X^5-R^{52}$ であり、式中、 $R^{51}$ は、Hであるか、又は、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、SO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、SO<sub>2</sub>NH(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、N[(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル]<sub>2</sub>、C(O)NH<sub>2</sub>、COOH、COOMe、アセチル、(

10

20

30

40

50

$C_1 - C_8$ ) アルキル、 $O(C_1 - C_8)$  アルキル (すなわち、 $C_1 - C_8$  アルコキシ)、 $O(C_1 - C_8)$  ハロアルキル、 $(C_2 - C_8)$  アルケニル、 $(C_2 - C_8)$  アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2 - C(O) -$  アルキレン、 $NH(Me) - C(O) -$  アルキレン、 $CH_2 - C(O) -$  アルキル、 $C(O) -$  アルキル、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2 - [CH(OH)]_m - (CH_2)_p - OH$ 、 $CH_2 - [CH(OH)]_m - (CH_2)_p - NH_2$ 、若しくは  $CH_2$  - アリール - アルコキシから選択される 1、2、3、4、若しくは 5 つの置換基で置換されていてもよい  $C_1 - C_{30}$  アルキルであり、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は 6 である。例えば、 $R^{51}$  は、H である。一部の他の非限定的な例では、 $R^{51}$  は、 $NH_2$ 、 $OH$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、ハロ、 $SH$ 、又は  $C_1 - C_6$  アルコキシで置換されていてもよい  $C_1 - C_{30}$  アルキルである。

10

#### 【0104】

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態では、 $R^5$  は、 $-CH(R^{51}) - O - R^{52}$  であり、式中、 $R^{51}$  は、H であるか、又は、独立して、 $OH$ 、 $CN$ 、 $SC(O)Ph$ 、オキソ (=O)、 $SH$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1 - C_4)$  アルキル、 $SO_2NH(C_1 - C_4)$  アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_1 - C_4)$  アルキル、 $N[(C_1 - C_4) \text{ アルキル}]_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_1 - C_8)$  アルキル、 $O(C_1 - C_8)$  アルキル (すなわち、 $C_1 - C_8$  アルコキシ)、 $O(C_1 - C_8)$  ハロアルキル、 $(C_2 - C_8)$  アルケニル、 $(C_2 - C_8)$  アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2 - C(O) -$  アルキレン、 $NH(Me) - C(O) -$  アルキレン、 $CH_2 - C(O) -$  アルキル、 $C(O) -$  アルキル、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2 - [CH(OH)]_m - (CH_2)_p - OH$ 、 $CH_2 - [CH(OH)]_m - (CH_2)_p - NH_2$ 、若しくは  $CH_2$  - アリール - アルコキシから選択される 1、2、3、4、若しくは 5 つの置換基から独立して選択される 1、2、3、4、若しくは 5 つの置換基で置換されていてもよい  $C_1 - C_{30}$  アルキルであり、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は 6 である。例えば、 $R^{51}$  は、H である。一部の他の非限定的な例では、 $R^{51}$  は、 $NH_2$ 、 $OH$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、ハロ、 $SH$ 、又は  $C_1 - C_6$  アルコキシで置換されていてもよい  $C_1 - C_{30}$  アルキルである。

20

30

#### 【0105】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^5$  は、 $-C(R^{51}) = CHR^{52}$  である。 $-C(R^{51}) = CHR^{52}$  の二重結合は、シス又はトランス配置であり得ることに留意されたい。したがって、態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^5$  は、 $-C(R^{51}) = CHR^{52}$  であり、二重結合は、シス配置にある。態様のいずれか 1 つの一部の他の実施形態では、 $R^5$  は、 $-C(R^{51}) = CHR^{52}$  であり、二重結合は、トランス配置にある。本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^5$  は、 $-CH = CHR^{52}$  である。

#### 【0106】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^{52}$  は、先行するヌクレオチドへのヌクレオシド間結合への結合である。

40

#### 【0107】

本明細書に記載される様々な態様の実施形態では、 $R^5$  は、置換されていてもよい  $C_1 - 6$  アルキル -  $R^{53}$ 、置換されていてもよい  $C_2 - 6$  アルケニル -  $R^{53}$ 、又は置換されていてもよい  $C_2 - 6$  アルキニル -  $R^{53}$  である。本明細書に記載される様々な態様の実施形態では、 $R^{53}$  は、 $-OR^{54}$ 、 $-SR^{55}$ 、 $-P(O)(OR^{56})_2$ 、 $-P(S)(OR^{56})_2$ 、 $-P(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-OP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-OP(S)(SR^{57})_2$ 、 $-SP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-SP(S)($

50

$\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、又は $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ であり得、 $\text{R}^{54}$ は、水素又は酸素保護基であり、 $\text{R}^{55}$ は、水素又は硫黄保護基であり、各 $\text{R}^{56}$ は、独立して、水素、置換されていてもよい $\text{C}_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $\text{C}_{2-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $\text{C}_{2-30}$ アルキニル、又は酸素保護基であり、各 $\text{R}^{57}$ は、独立して、水素、置換されていてもよい $\text{C}_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $\text{C}_{2-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $\text{C}_{2-30}$ アルキニル、又は硫黄保護基である。

#### 【0108】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $\text{SP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、及び $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ における少なくとも1つの $\text{R}^{56}$ は、水素である。

10

#### 【0109】

態様のいずれか1つの一部の他の実施形態では、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $\text{SP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、又は $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ における少なくとも1つの $\text{R}^{56}$ は、水素ではない。例えば、 $\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $\text{SP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、及び $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ における少なくとも1つの $\text{R}^{56}$ は、置換されていてもよい $\text{C}_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $\text{C}_{2-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $\text{C}_{2-30}$ アルキニル、又は酸素保護基である。

20

#### 【0110】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $\text{SP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、及び $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ における少なくとも1つの $\text{R}^{56}$ は、Hであり、少なくとも1つの $\text{R}^{56}$ は、H以外である。

30

#### 【0111】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、及び $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ における全ての $\text{R}^{56}$ は、Hである。

#### 【0112】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、及び $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ における全ての $\text{R}^{56}$ は、H以外である。

40

#### 【0113】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ 、 $-\text{OsP}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{OP}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ 、 $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、及び $-\text{SP}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ における少なくとも1つの $\text{R}^{57}$ は、Hである。

50

## 【0114】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $-P(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-OP(S)(SR^{57})_2$ 、 $-SP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、及び $-SP(S)(SR^{57})_2$ における少なくとも1つの $R^{57}$ は、H以外である。例えば、 $-P(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-OP(S)(SR^{57})_2$ 、 $-SP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、及び $-SP(S)(SR^{57})_2$ における少なくとも1つの $R^{57}$ は、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は硫黄保護基である。

10

## 【0115】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{57})_2$ 、及び $SP(S)(SR^{57})_2$ における少なくとも1つの $R^{57}$ は、Hであり、少なくとも1つの $R^{57}$ は、H以外である。

## 【0116】

一部の実施形態では、 $-P(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-OP(S)(SR^{57})_2$ 、 $-SP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、及び $-SP(S)(SR^{57})_2$ における全ての $R^{57}$ は、Hである。

## 【0117】

一部の実施形態では、 $-P(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-OP(S)(SR^{57})_2$ 、 $-SP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、及び $-SP(S)(SR^{57})_2$ における全ての $R^{57}$ は、H以外である。

20

## 【0118】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、置換されていてもよい $-C_{2-6}$ アルケニル $-R^{53}$ である。例えば、 $R^5$ は、 $-C_{2-6}$ アルケニル $-R^{53}$ であり、式中、 $C_{2-6}$ アルケニルは、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_{1-C_4})$ アルキル、 $SO_2NH(C_{1-C_4})$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_{1-C_4})$ アルキル、 $N[(C_{1-C_4})$ アルキル] $_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_{1-C_8})$ アルキル、 $O(C_{1-C_8})$ アルキル(すなわち、 $C_{1-C_8}$ アルコキシ)、 $O(C_{1-C_8})$ ハロアルキル、 $(C_{2-C_8})$ アルケニル、 $(C_{2-C_8})$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2-C(O)-$ アルキレン、 $NH(Me)-C(O)-$ アルキレン、 $CH_2-C(O)-$ アルキル、 $C(O)-$ アルキル、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-OH$ 、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-NH_2$ 、又は $CH_2$ -アリール-アルコキシから選択される1、2、3、4、又は5つの置換基で置換されていてもよく、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6であり、 $R^{53}$ は、 $-P(O)(OR^{56})_2$ 、 $-P(S)(OR^{56})_2$ 、 $-P(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-OP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-OP(S)(SR^{57})_2$ 、 $-SP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-SP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-SP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、又は $-SP(S)(SR^{57})_2$ である。

30

40

## 【0119】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、 $-CH=CHR^{53}$ である。置換されていてもよい $-C_{2-6}$ アルケニル $-R^{53}$ の二重結合は、シス又はトランス配置であり得ることに留意されたい。したがって、態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、 $-CH=CHR^{53}$ であり、二重結合は、シス配置にある。態様のいずれか1つ

50

の一部の他の実施形態では、 $R^5$ は、 $-CH=CHR^{53}$ であり、二重結合は、トランス配置にある。

#### 【0120】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、 $-CH=CH-P(O)(OR^{56})_2$ 、 $-CH=CH-P(S)(OR^{56})_2$ 、 $-CH=CH-P(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-CH=CH-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-CH=CH-OP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-CH=CH-OP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-CH=CH-OP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-CH=CH-OP(S)(SR^{57})_2$ 、 $-CH=CH-SP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-CH=CH-SP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-CH=CH-SP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、又は $-CH=CH-SP(S)(SR^{57})_2$ である。例えば、 $R^5$ は、 $-CH=CH-P(O)(OR^{56})_2$ である。

10

#### 【0121】

一部の実施形態では、態様のいずれか1つの $R^{54}$ は、水素又は酸素保護基である。例えば、 $R^{54}$ は、水素又は4, 4'-ジメトキシトリチル(DMT)である。一部の好ましい実施形態では、 $R^{54}$ は、Hである。

#### 【0122】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、置換されていてもよい $C_1-6$ アルケニル- $R^{53}$ である。例えば、 $R^5$ は、 $-C_1-6$ アルケニル- $R^{53}$ であり、式中、 $C_1-6$ アルケニルは、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1-C_4)$ アルキル、 $SO_2NH(C_1-C_4)$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_1-C_4)$ アルキル、 $N[(C_1-C_4)アルキル]_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_1-C_8)$ アルキル、 $O(C_1-C_8)$ アルキル(すなわち、 $C_1-C_8$ アルコキシ)、 $O(C_1-C_8)$ ハロアルキル、 $(C_2-C_8)$ アルケニル、 $(C_2-C_8)$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2-C(O)-$ アルキレン、 $NH(Me)-C(O)-$ アルキレン、 $CH_2-C(O)-$ アルキル、 $C(O)-$ アルキル、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-OH$ 、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-NH_2$ 、又は $CH_2$ -アリール-アルコキシから選択される1、2、3、4、又は5つの置換基で置換されていてもよく、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6であり、 $R^{53}$ は、 $-OR^{54}$ 、 $-SR^{55}$ 、 $-P(O)(OR^{56})_2$ 、 $-P(S)(OR^{56})_2$ 、 $-P(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-OP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-OP(S)(SR^{57})_2$ 、 $-SP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-SP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-SP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、又は $-SP(S)(SR^{57})_2$ である。

20

30

#### 【0123】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、 $-CH(R^{58})-R^{53}$ であり得、式中、 $R^{53}$ は、 $-OR^{54}$ 、 $-SR^{55}$ 、 $-P(O)(OR^{56})_2$ 、 $-P(S)(OR^{56})_2$ 、 $-P(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-P(S)(SR^{57})_2$ 、 $-OP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、 $-OP(S)(SR^{57})_2$ 、 $-SP(O)(OR^{56})_2$ 、 $-SP(S)(OR^{56})_2$ 、 $-SP(S)(SR^{57})(OR^{56})$ 、又は $-SP(S)(SR^{57})_2$ であり、 $R^{58}$ は、H、置換されていてもよい $C_1-30$ アルキル、置換されていてもよい $C_2-30$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_2-30$ アルキニルである。

40

#### 【0124】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{58}$ は、Hであるか、又は、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1-C_4)$ アルキル、 $SO_2NH(C_1-C_4)$ アルキル、ハロゲン、カ

50

ルボニル、チオール、シアノ、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$  アルキル、 $\text{N}[(\text{C}_1-\text{C}_4)$  アルキル] $_2$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$ 、 $\text{COOMe}$ 、アセチル、 $(\text{C}_1-\text{C}_8)$  アルキル、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$  アルキル（すなわち、 $\text{C}_1-\text{C}_8$  アルコキシ）、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$  ハロアルキル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$  アルケニル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$  アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{NH}(\text{Me})-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、 $\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}_2$ 、若しくは  $\text{CH}_2$ -アリール-アルコキシから選択される 1、2、3、4、若しくは 5 つの置換基で置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルキルであり、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は 6 である。1 つの非限定的な例では、 $\text{R}^{58}$  は、H である。一部の他の非限定的な例では、 $\text{R}^{58}$  は、 $\text{NH}_2$ 、OH、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$ 、ハロ、SH、及び  $\text{C}_1-\text{C}_6$  アルコキシから選択される置換基で置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルキルである。

10

#### 【0125】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^5$  は、 $-\text{CH}(\text{R}^{58})-\text{O}-\text{R}^{59}$  であり、式中、 $\text{R}^{59}$  は、H、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$  である。例えば、 $\text{R}^5$  は、 $-\text{CH}(\text{R}^{58})-\text{O}-\text{R}^{59}$  であり、式中、 $\text{R}^{58}$  は、H、又は置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルキルであり、 $\text{R}^{59}$  は、H、又は  $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$  である。

20

#### 【0126】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^5$  は、 $-\text{CH}(\text{R}^{58})-\text{S}-\text{R}^{60}$  であり、式中、 $\text{R}^{60}$  は、H、 $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}^{56})_2$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})(\text{OR}^{56})$ 、 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}^{57})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{56})_2$  である。

#### 【0127】

##### $\text{R}^{32}$

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{32}$  は、水素、ハロゲン、 $-\text{OR}^{322}$ 、 $-\text{SR}^{323}$ 、置換されていてもよい  $\text{C}_1-30$  アルキル、 $\text{C}_1-30$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-30$  アルケニル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-30$  アルキニル、又は置換されていてもよい  $\text{C}_1-30$  アルコキシ、アミノ( $\text{NH}_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、ジヘテロアリールアミノ、アミノ酸、 $-\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_r\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OR}^{324}$ 、シアノ、アルキル-チオ-アルキル、チオアルコキシ、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、 $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH})_s\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{R}^{325}$ 、 $\text{NHC}(\text{O})\text{R}^{326}$ 、脂質、脂質と共有結合したリンカー、リガンド、リガンドと共有結合したリンカー、固体支持体、固体支持体と共有結合したリンカー、又は反応性リン基である。

30

#### 【0128】

$\text{R}^{322}$  は、H、ヒドロキシル保護基、置換されていてもよい  $\text{C}_1-30$  アルキル、 $\text{C}_1-30$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-30$  アルケニル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-30$  アルキニル、又は置換されていてもよい  $\text{C}_1-30$  アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであり得る。 $\text{R}^{323}$  は、H、硫黄保護基、置換されていてもよい  $\text{C}_1-30$  アルキル、 $\text{C}_1-30$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-30$  アルケニル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-30$  アルキニル、又は置換されていてもよい  $\text{C}_1-30$  アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであり得る。 $\text{R}^{324}$  は、H、ヒドロキシル保護基、置換されていてもよい  $\text{C}_1-30$  アルキル、 $\text{C}_1-30$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-30$  アルケニル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-30$  アルキニル、又は置換されていてもよい  $\text{C}_1-30$  アル

40

50

コキシ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであり得る。 $R^{325}$ は、水素、ハロゲン、ヒドロキシル、保護ヒドロキシル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、 $C_{1-30}$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、アミノ( $NH_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、ジヘテロアリールアミノ、アミノ酸、シアノ、アルキルチオールアルキル、チオールコキシ、シクロアルキル、アリール、又はヘテロアリールであり得る。 $R^{326}$ は、水素、ハロゲン、ヒドロキシル、保護ヒドロキシル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、 $C_{1-30}$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、アミノ( $NH_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、ジヘテロアリールアミノ、アミノ酸、シアノ、アルキルチオールアルキル、チオールコキシ、シクロアルキル、アリール、又はヘテロアリールであり得る。

10

#### 【0129】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、 $R^{32}$ は、水素、ハロゲン、 $-OR^{322}$ 、 $-SR^{323}$ 、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、 $C_{1-30}$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、アミノ( $NH_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、ジヘテロアリールアミノ、アミノ酸、 $-O(CH_2CH_2O)_rCH_2CH_2OR^{324}$ 、シアノ、アルキルチオールアルキル、チオールコキシ、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、 $-NH(CH_2CH_2NH)_sCH_2CH_2-R^{325}$ 、 $NHC(O)R^{324}$ である。

20

#### 【0130】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、アルコキシアルキル(例えば、メトキシエチル)、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$ アルキル- $ON(CH_2R^8)(CH_2R^9)$ 、又は $-O-C_{4-30}$ アルキル- $ON(CH_2R^8)(CH_2R^9)$ である。例えば、 $R^2$ は、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、アルコキシアルキル(例えば、メトキシエチル)、アルコキシアルキルアミン、アルコキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、又はジアルキルアミノである。

30

#### 【0131】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、又はアルコキシアルキル(例えば、メトキシエチル)である。態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^2$ は、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、フルオロ、又はメトキシである。

40

#### 【0132】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、ハロゲンである。例えば、 $R^{32}$ は、フルオロ、クロロ、ブロモ、又はヨードであり得る。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、フルオロである。

#### 【0133】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ 及び $R^4$ が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-Y-2'$ 、又は $4'-Y-C(R^{10}R^{11})_v-2'$ であり、 $v$ は、1、2、又は3であり、 $Y$ は、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH(Me)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^{12})-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-$

50

$S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-N(R^{12})C(O)-$ 、又は $-C(O)N(R^{12})-$ であり、 $R^{10}$ 及び $R^{11}$ は、独立して、H、置換されていてもよい $C_1-C_6$ アルキル、置換されていてもよい $C_2-C_6$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_2-C_6$ アルキニルであり、 $R^{12}$ は、水素、置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルコキシ、 $C_1-4$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_2-4$ アルケニル、置換されていてもよい $C_2-4$ アルキニル、置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルキル- $CO_2H$ 、又は窒素保護基である。態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $v$ は、1である。態様のいずれか1つの一部の他の実施形態では、 $v$ は、2である。一部の実施形態では、 $Y$ はOである。例えば、 $R^{32}$ 及び $R^4$ は一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-O-2'$ である。

10

#### 【0134】

同一の炭素と結合する $R^{10}$ 及び $R^{11}$ は、同一であっても異なってもよいことに留意されたい。例えば、 $R^{10}$ 及び $R^{11}$ のうちの一方はHであり得、 $R^{10}$ 及び $R^{11}$ のうちの他方は置換されていてもよい $C_1-C_6$ アルキルであり得る。1つの非限定的な例では、 $R^{10}$ 及び $R^{11}$ の一方はHであり得、他方は $C_1-C_6$ アルキルであり得、これは、独立して、OH、CN、 $SC(O)Ph$ 、オキソ(=O)、SH、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1-C_4)$ アルキル、 $SO_2NH(C_1-C_4)$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_1-C_4)$ アルキル、 $N[(C_1-C_4)アルキル]_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_1-C_8)$ アルキル、 $O(C_1-C_8)$ アルキル(すなわち、 $C_1-C_8$ アルコキシ)、 $O(C_1-C_8)$ ハロアルキル、 $(C_2-C_8)$ アルケニル、 $(C_2-C_8)$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2-C(O)-$ アルキレン、 $NH(Me)-C(O)-$ アルキレン、 $CH_2-C(O)-$ アルキル、 $C(O)-$ アルキル、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-OH$ 、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-NH_2$ 、又は $CH_2$ -アリール-アルコキシから選択される1、2、3、4又は5つの置換基で置換されていてもよく、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。例えば、 $R^{10}$ 及び $R^{11}$ は、独立して、Hであるか、又は $NH_2$ 、OH、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、ハロ、SH、若しくは $C_1-C_6$ アルコキシで置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルキルである。態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{10}$ 及び $R^{11}$ のうちの一方は、Hであり、他方は、 $C_1-C_6$ アルコキシで置換されていてもよい $C_1-C_6$ アルキルである。例えば、 $R^{10}$ 及び $R^{11}$ のうちの一方はHであり、他方は $-CH_3$ 又は $CH_2OCH_3$ である。態様のいずれか1つの一部の実施形態では、同一のCと結合する $R^{10}$ 及び $R^{11}$ は、同一である。例えば、同一のCと結合する $R^{10}$ 及び $R^{11}$ は、Hである。

20

30

#### 【0135】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ 及び $R^4$ は一緒になって、 $4'-CH_2-O-2'$ 、 $4'-CH(C\#H)-O-2'$ 、 $4'-CH(C\#HOCH_3)-O-2'$ 、又は $4'-CH_2CH_2-O-2'$ である。例えば、 $R^{32}$ 及び $R^4$ は一緒になって、 $4'-CH_2CH_2-O-2'$ である。

40

#### 【0136】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、反応性リン基である。

#### 【0137】

理論に束縛されることを望むものではないが、反応性リン基は、例えば、ホスホジエステル及びホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含むヌクレオシド間結合を形成するのに有用である。そのような反応性リン基は、当該技術分野で公知であり、ホスホラミダイト、H-ホスホネート、ホスフェートトリエステル、及びリン含有キラル助剤を含むがこれらに限定されない、 $P^{III}$ 又は $P^V$ 価状態のリン原子を含む。反応性ホスファイトとしてのホスホラミダイト( $P^{III}$ 化学)の形態の反応性リン基は、固相オリゴヌクレオ

50

チド合成のための好ましい反応性リン基である。その後、中間体ホスファイト化合物は、既知の方法を使用してPv状態に酸化され、ホスホジエステル又はホスホロチオエートヌクレオシド間結合を生成する。

#### 【0138】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、反応性リン基は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(SR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(S)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(SR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(OR^P)H$ 、 $-OP(S)(OR^P)H$ 、 $-OP(O)(SR^P)H$ 、 $-OP(O)(OR^P)R^{P3}$ 、 $-OP(S)(OR^P)R^{P3}$ 、又は $-OP(O)(SR^P)R^{P3}$ である。例えば、反応性リン基は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ である。

10

#### 【0139】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^P$ は、置換されていてもよい $C_1-6$ アルキルである。例えば、 $R^P$ は、 $C_1-6$ アルキルであり、これは、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1-C_4)$ アルキル、 $SO_2NH(C_1-C_4)$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_1-C_4)$ アルキル、 $N[(C_1-C_4)アルキル]_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_1-C_8)$ アルキル、 $O(C_1-C_8)$ アルキル(すなわち、 $C_1-C_8$ アルコキシ)、 $O(C_1-C_8)$ ハロアルキル、 $(C_2-C_8)$ アルケニル、 $(C_2-C_8)$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2-C(O)-アルキレン$ 、 $NH(Me)-C(O)-アルキレン$ 、 $CH_2-C(O)-アルキル$ 、 $C(O)-アルキル$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-OH$ 、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-NH_2$ 、又は $CH_2-アリール-アルコキシ$ から選択される1、2、3、4、又は5つの置換基で置換されていてもよく、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。一部の実施形態では、 $R^P$ は、CN又は $-SC(O)Ph$ で置換されていてもよい $C_1-6$ アルキルである。例えば、 $R^P$ は、シアノエチル( $-CH_2CH_2CN$ )である。

20

#### 【0140】

反応性リン基において、各 $R^{P2}$ は、独立して、置換されていてもよい $C_1-6$ アルキルである。例えば、各 $R^{P2}$ は、独立して、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、ペンチル、又はヘキシルから選択され得る。2つ以上の $R^{P2}$ 基が反応性リン基中に存在する場合、それらは同一であっても異なってもよいことに留意されたい。したがって、一部の非限定的な例では、2つ以上の $R^{P2}$ 基が存在する場合、 $R^{P2}$ 基は異なる。一部の他の非限定的な例では、2つ以上の $R^{P2}$ 基が存在する場合、 $R^{P2}$ 基は同一である。態様のいずれか1つの一部の実施形態では、各 $R^{P2}$ は、イソプロピルである。

30

#### 【0141】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、両方の $R^{P2}$ は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、置換されていてもよい3~8員ヘテロシクリルを形成する。例示的なヘテロシクリルには、ピロリジニル、ピペラジニル、ジオキサニル、モルホリニル、テトラヒドロフラニル、ピペリジニル、4-モルホリル、4-ピペラジニル、ピロリジニル、ペルヒドロピロリジニル、1,4-ジアザペルヒドロエピニル、1,3-ジオキサニル、1,4-ジオキサニルなどが含まれるが、これらに限定されず、それらの各々は、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1-C_4)$ アルキル、 $SO_2NH(C_1-C_4)$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_1-C_4)$ アルキル、 $N[(C_1-C_4)アルキル]_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_1-C_8)$ アルキル、 $O(C_1-C_8)$ アルキル(すなわち、 $C_1-C_8$ アルコキシ)、 $O(C_1-C_8)$ ハロアルキル、 $(C_2-C_8)$ アルケニル、 $(C_2-C_8)$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキ

40

50

ル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{NH}(\text{Me})-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、 $\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}_2$ 、又は $\text{CH}_2-\text{アリール}-\text{アルコキシ}$ から選択される1、2、又は3つの置換基で置換されていてもよく、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。

#### 【0142】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{\text{P}}$ 及び $\text{R}^{\text{P}2}$ のうちの1つは、それらが結合している原子と一緒に、置換されていてもよい4～8員ヘテロシクリルを形成する。例示的なヘテロシクリルには、ピロリジニル、ピペラジニル、ジオキサニル、モルホリニル、テトラヒドロフラニル、ピペリジニル、4-モルホリル、4-ピペラジニル、ピロリジニル、ペルヒドロピロリジニル、1,4-ジアザペルヒドロエピニル、1,3-ジオキサニル、1,4-ジオキサニルなどが含まれるが、これらに限定されず、それらの各々は、独立して、OH、CN、 $\text{SC}(\text{O})\text{Ph}$ 、オキソ(=O)、SH、 $\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $\text{SO}_2(\text{C}_1-\text{C}_4)$ アルキル、 $\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$ アルキル、 $\text{N}[(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{アルキル}]_2$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$ 、 $\text{COOMe}$ 、アセチル、 $(\text{C}_1-\text{C}_8)$ アルキル、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$ アルキル(すなわち、 $\text{C}_1-\text{C}_8$ アルコキシ)、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$ ハロアルキル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$ アルケニル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{NH}(\text{Me})-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、 $\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}_2$ 、又は $\text{CH}_2-\text{アリール}-\text{アルコキシ}$ から選択される1、2、又は3つの置換基で置換されていてもよく、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。

#### 【0143】

反応性リン基において、各 $\text{R}^{\text{P}3}$ は、独立して、置換されていてもよい $\text{C}_1-6$ アルキルである。例えば、 $\text{R}^{\text{P}3}$ は、 $\text{C}_1-6$ アルキルであり得、これは、独立して、OH、CN、 $\text{SC}(\text{O})\text{Ph}$ 、オキソ(=O)、SH、 $\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $\text{SO}_2(\text{C}_1-\text{C}_4)$ アルキル、 $\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$ アルキル、 $\text{N}[(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{アルキル}]_2$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$ 、 $\text{COOMe}$ 、アセチル、 $(\text{C}_1-\text{C}_8)$ アルキル、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$ アルキル(すなわち、 $\text{C}_1-\text{C}_8$ アルコキシ)、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$ ハロアルキル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$ アルケニル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{NH}(\text{Me})-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、 $\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}_2$ 、又は $\text{CH}_2-\text{アリール}-\text{アルコキシ}$ から選択される1、2、3、4、又は5つの置換基で置換されていてもよく、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。例えば、 $\text{R}^{\text{P}3}$ は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、ペンチル、又はヘキシルであり、それらの各々は、 $\text{NH}_2$ 、OH、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$ 、ハロ、SH、又は $\text{C}_1-\text{C}_6$ アルコキシで任意に置換され得る。

#### 【0144】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、反応性リン基は、 $-\text{OP}(\text{OR}^{\text{P}})(\text{N}(\text{R}^{\text{P}2})_2)$ である。例えば、反応性リン基は、 $-\text{OP}(\text{OR}^{\text{P}})(\text{N}(\text{R}^{\text{P}2})_2)$ であり、式中、 $\text{R}^{\text{P}}$ は、シアノエチル( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ )であり、各 $\text{R}^{\text{P}2}$ は、イソプロピルである。

#### 【0145】

10

20

30

40

50

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(SR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(S)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(SR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(OR^P)H$ 、 $-OP(S)(OR^P)H$ 、 $-OP(O)(SR^P)H$ 、 $-OP(O)(OR^P)R^{P3}$ 、 $-OP(S)(OR^P)R^{P3}$ 、又は $-OP(O)(SR^P)R^{P3}$ である。

【0146】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(SR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(S)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(SR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(OR^P)H$ 、 $-OP(S)(OR^P)$ 、置換されていてもよい $C_1-6$ アルキルであり、各 $R^{P2}$ は、独立して、置換されていてもよい $C_1-6$ アルキルであり、各 $R^{P3}$ は、独立して、置換されていてもよい $C_1-6$ アルキルである。

10

【0147】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ である。例えば、 $R^{32}$ は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ であり、式中、 $R^P$ はシアノエチル( $-CH_2CH_2CN$ )であり、各 $R^{P2}$ は、イソプロピルである。

【0148】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカーである。例えば、 $R^{32}$ は、 $-OC(O)CH_2CH_2C(O)NH-Z$ であり、式中、 $Z$ は、固体支持体である。一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、 $-OC(O)CH_2CH_2CO_2H$ である。

20

【0149】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ が $-OR^{322}$ である場合、 $R^{322}$ は、水素又はヒドロキシル保護基であり得る。

【0150】

$R^{32}$ が $-SR^{323}$ である場合、 $R^{323}$ は、水素又は硫黄保護基であり得る。したがって、態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{323}$ は、水素である。

【0151】

$R^{32}$ が $-O(CH_2CH_2O)_rCH_2CH_2OR^{324}$ である場合、 $r$ は、1~50であり得、 $R^{324}$ は、出現ごとに独立して、 $H$ 、 $C_1-C_{30}$ アルキル、シクリル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、糖、又は $R^{325}$ であり、 $R^{325}$ は、各出現について独立して、アミノ( $NH_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、又はジヘテロアリールアミノである。

30

【0152】

$R^{32}$ が $-NH(CH_2CH_2NH)_sCH_2CH_2-R^{325}$ である場合、 $s$ は、1~50であり得、 $R^{325}$ は、出現ごとに独立して、アミノ( $NH_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、又はジヘテロアリールアミノであり得る。

40

【0153】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、水素、ハロゲン、 $-OR^{322}$ 、又は置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルコキシである。例えば、 $R^{32}$ は、ハロゲン、 $-OR^{322}$ 、又は置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルコキシである。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、 $F$ 、 $OH$ 、又は置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルコキシである。

【0154】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{32}$ は、独立して、 $OH$ 、 $CN$ 、 $SC(O)Ph$ 、オキソ( $=O$ )、 $SH$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1-C_4)$ アルキル、 $SO_2NH(C_1-C_4)$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール

50

、シアノ、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$  アルキル、 $\text{N}[(\text{C}_1-\text{C}_4)$  アルキル] $_2$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$ 、 $\text{COOMe}$ 、アセチル、 $(\text{C}_1-\text{C}_8)$  アルキル、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$  アルキル（すなわち、 $\text{C}_1-\text{C}_8$  アルコキシ）、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$  ハロアルキル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$  アルケニル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$  アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{NH}(\text{Me})-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、 $\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}_2$ 、又は  $\text{CH}_2$ -アリール-アルコキシから選択される 1、2、3、4、又は 5 つの置換基で置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルコキシであり、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は 6 である。例えば、 $\text{R}^{32}$  は、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$ 、ハロ、 $\text{SH}$ 、又は  $\text{C}_1-\text{C}_6$  アルコキシで置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルコキシである。本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{32}$  は、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_t\text{CH}_3$  であり、式中、t は、1~21 である。例えば、t は、14、15、16、17、又は 18 である。1 つの非限定的な例では、t は、16 である。

10

#### 【0155】

態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{32}$  は、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{R}^{327}$  であり、式中、u は、2~10 であり、 $\text{R}^{327}$  は、 $\text{C}_1-\text{C}_6$  アルコキシ、アミノ ( $\text{NH}_2$ )、 $\text{CO}_2\text{H}$ 、 $\text{OH}$ 、又はハロである。例えば、 $\text{R}^{327}$  は、 $-\text{CH}_3$  又は  $\text{NH}_2$  である。したがって、本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{32}$  は、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_u-\text{OMe}$  であるか、又は  $\text{R}^{32}$  は、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{NH}_2$  である。

20

#### 【0156】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、u は、2、3、4、5、又は 6 である。例えば、u は、2、3、又は 6 である。1 つの非限定的な例では、u は、2 である。別の非限定的な例では、u は、3 又は 6 である。

#### 【0157】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{32}$  は、 $\text{C}_1-\text{C}_6$  ハロアルキルである。例えば、 $\text{R}^{32}$  は、 $\text{C}_1-\text{C}_4$  ハロアルキルである。本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{32}$  は、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CF}_2\text{CF}_3$ 、 $-\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$ 、又は  $-\text{CF}_2(\text{CF}_3)_2$  である。

30

#### 【0158】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{32}$  は、 $-\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OR}^{328})\text{CH}_2\text{OR}^{329}$  であり、式中、 $\text{R}^{328}$  及び  $\text{R}^{329}$  は、独立して、 $\text{H}$ 、置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルキル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-\text{C}_{30}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $\text{C}_2-\text{C}_{30}$  アルキニルである。例えば、 $\text{R}^{328}$  及び  $\text{R}^{329}$  は、独立して、置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルキルである。

#### 【0159】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{32}$  は、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{3210}$  であり、式中、 $\text{R}^{3210}$  は、 $\text{H}$ 、置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルキル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-\text{C}_{30}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $\text{C}_2-\text{C}_{30}$  アルキニルである。例えば、 $\text{R}^{3210}$  は、 $\text{H}$  又は置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルキルである。一部の実施形態では、 $\text{R}^{3210}$  は、置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_6$  アルキルである。

40

#### 【0160】

$\text{R}^{33}$

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $\text{R}^{33}$  は、水素、ハロゲン、 $-\text{OR}^{332}$ 、 $-\text{SR}^{333}$ 、置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルキル、 $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-\text{C}_{30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $\text{C}_2-\text{C}_{30}$  アルキニル、又は置換されていてもよい  $\text{C}_1-\text{C}_{30}$  アルコキシ、アミノ ( $\text{NH}_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリール

50

アミノ、ヘテロアリールアミノ、ジヘテロアリールアミノ、アミノ酸、 $-O(CH_2CH_2O)_rCH_2CH_2OR^{334}$ 、シアノ、アルキルチオールアルキル、チオアルコキシ、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、 $-NH(CH_2CH_2NH)_sCH_2CH_2R^{335}$ 、 $NHC(O)R^{336}$ 、脂質、脂質と共有結合したリンカー、リガンド、リガンドと共有結合したリンカー、固体支持体、固体支持体と共有結合したリンカー、又は反応性リン基である。

#### 【0161】

$R^{332}$ は、H、ヒドロキシル保護基、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、 $C_{1-30}$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであり得る。 $R^{333}$ は、H、硫黄保護基、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、 $C_{1-30}$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであり得る。 $R^{334}$ は、H、ヒドロキシル保護基、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、 $C_{1-30}$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリールであり得る。 $R^{335}$ は、水素、ハロゲン、ヒドロキシル、保護ヒドロキシル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、 $C_{1-30}$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、アミノ( $NH_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、ジヘテロアリールアミノ、アミノ酸、シアノ、アルキルチオールアルキル、チオアルコキシ、シクロアルキル、アリール、又はヘテロアリールであり得る。 $R^{336}$ は、水素、ハロゲン、ヒドロキシル、保護ヒドロキシル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、 $C_{1-30}$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、アミノ( $NH_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、ヘテロシクリル、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、ジヘテロアリールアミノ、アミノ酸、シアノ、アルキルチオールアルキル、チオアルコキシ、シクロアルキル、アリール、又はヘテロアリールであり得る。

#### 【0162】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、反応性リン基である。例えば、 $R^{33}$ は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(SR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(S)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(SR^P)(NR^{P2})_2$ 、 $-OP(O)(OR^P)H$ 、 $-OP(S)(OR^P)H$ 、 $-OP(O)(SR^P)H$ 、 $-OP(O)(OR^P)R^{P3}$ 、 $-OP(S)(OR^P)R^{P3}$ 、又は $-OP(O)(SR^P)R^{P3}$ である。

#### 【0163】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(SR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(S)(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(SR^P)(N(R^{P2})_2)$ 、 $-OP(O)(OR^P)H$ 、 $-OP(S)(OR^P)$ 、置換されていてもよい $C_{1-6}$ アルキルであり、各 $R^{P2}$ は、独立して、置換されていてもよい $C_{1-6}$ アルキルであり、各 $R^{P3}$ は、独立して、置換されていてもよい $C_{1-6}$ アルキルである。

#### 【0164】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ である。例えば、 $R^{33}$ は、 $-OP(OR^P)(N(R^{P2})_2)$ であり、式中、 $R^P$ はシアノエチル( $-CH_2CH_2CN$ )であり、各 $R^{P2}$ は、イソプロピルである。

#### 【0165】

任意に、 $R^{32}$  及び  $R^{33}$  のうちの 1 つのみが反応性リン基である。

【0166】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^{33}$  は、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカーである。例えば、 $R^{33}$  は、 $-OC(O)CH_2CH_2C(O)NH-Z$  であり、式中、 $Z$  は、固体支持体である。

【0167】

任意に、 $R^{32}$  及び  $R^{33}$  のうちの 1 つのみが、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカーである。

【0168】

態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^{33}$  が  $-OR^{332}$  である場合、 $R^{332}$  は、水素又はヒドロキシル保護基であり得る。例えば、 $R^{332}$  は、本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、水素であり得る。一部の実施形態では、 $R^{33}$  は、 $-OC(O)CH_2CH_2CO_2H$  である。

10

【0169】

$R^{33}$  が  $-SR^{333}$  である場合、 $R^{333}$  は、水素又は硫黄保護基であり得る。したがって、態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^{333}$  は、水素である。

【0170】

$R^{33}$  が  $-O(CH_2CH_2O)_rCH_2CH_2OR^{334}$  である場合、 $r$  は、1~50 であり得、 $R^{334}$  は、出現ごとに独立して、 $H$ 、 $C_1-C_{30}$  アルキル、シクリル、ヘテロシクリル、アリール、ヘテロアリール、アラキル、糖、又は  $R^{335}$  であり、 $R^{335}$  は、出現ごとに独立して、アミノ ( $NH_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、又はジヘテロアリールアミノである。

20

【0171】

$R^{33}$  が  $-NH(CH_2CH_2NH)_sCH_2CH_2-R^{335}$  である場合、 $s$  は、1~50 であり得、 $R^{335}$  は、出現ごとに独立して、アミノ ( $NH_2$ )、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、又はジヘテロアリールアミノであり得る。

【0172】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^{33}$  は、水素、ハロゲン、 $-OR^{332}$ 、又は置換されていてもよい  $C_1-C_{30}$  アルコキシである。例えば、 $R^{33}$  は、ハロゲン、 $-OR^{332}$ 、又は置換されていてもよい  $C_1-C_{30}$  アルコキシである。本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^{33}$  は、 $F$ 、 $OH$ 、又は置換されていてもよい  $C_1-C_{30}$  アルコキシである。

30

【0173】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、 $R^{33}$  は、独立して、 $OH$ 、 $CN$ 、 $SC(O)Ph$ 、オキソ ( $=O$ )、 $SH$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1-C_4)$  アルキル、 $SO_2NH(C_1-C_4)$  アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_1-C_4)$  アルキル、 $N[(C_1-C_4)$  アルキル] $_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_1-C_8)$  アルキル、 $O(C_1-C_8)$  アルキル (すなわち、 $C_1-C_8$  アルコキシ)、 $O(C_1-C_8)$  ハロアルキル、 $(C_2-C_8)$  アルケニル、 $(C_2-C_8)$  アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2-C(O)-$  アルキレン、 $NH(Me)-C(O)-$  アルキレン、 $CH_2-C(O)-$  アルキル、 $C(O)-$  アルキル、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-OH$ 、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-NH_2$ 、又は  $CH_2$ -アリール-アルコキシから選択される 1、2、3、4、又は 5 つの置換基で置換されていてもよい  $C_1-C_{30}$  アルコキシであり、「 $m$ 」及び「 $p$ 」は、独立して、1、2、3、4、5、又は 6 である。例えば、 $R^{33}$  は、 $NH_2$ 、 $OH$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、ハロ、 $SH$ 、又は  $C_1-C_6$  アルコキシで置換されていてもよい  $C_1-C_{30}$  アルコ

40

50

キシである。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、 $-O(CH_2)_tCH_3$ であり、式中、 $t$ は、1～21である。例えば、 $t$ は、14、15、16、17、又は18である。1つの非限定的な例では、 $t$ は、16である。

【0174】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、 $-O(CH_2)_uR^{337}$ であり、式中、 $u$ は、2～10であり、 $R^{337}$ は、 $C_1-C_6$ アルコキシ、アミノ( $NH_2$ )、 $CO_2H$ 、 $OH$ 、又はハロである。例えば、 $R^{337}$ は、 $-CH_3$ 又は $NH_2$ である。したがって、本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、 $-O(CH_2)_u-OMe$ であるか、又は $R^{33}$ は、 $-O(CH_2)_uNH_2$ である。

【0175】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $u$ は、2、3、4、5、又は6である。例えば、 $u$ は、2、3、又は6である。1つの非限定的な例では、 $u$ は、2である。別の非限定的な例では、 $u$ は、3又は6である。

【0176】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、 $C_1-C_6$ ハロアルキルである。例えば、 $R^{33}$ は、 $C_1-C_4$ ハロアルキルである。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、 $-CF_3$ 、 $-CF_2CF_3$ 、 $-CF_2CF_2CF_3$ 、又は $-CF_2(CF_3)_2$ である。

【0177】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、 $-OCH(CH_2OR^{338})CH_2OR^{339}$ であり、式中、 $R^{338}$ 及び $R^{339}$ は、独立して、 $H$ 、置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_2-C_{30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_2-C_{30}$ アルキニルである。例えば、 $R^{338}$ 及び $R^{339}$ は、独立して、置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルキルである。

【0178】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、 $-CH_2C(O)NHR^{3310}$ であり、式中、 $R^{3310}$ は、 $H$ 、置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_2-C_{30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_2-C_{30}$ アルキニルである。例えば、 $R^{3310}$ は、 $H$ 又は置換されていてもよい $C_1-C_{30}$ アルキルである。一部の実施形態では、 $R^{3310}$ は、置換されていてもよい $C_1-C_6$ アルキルである。

【0179】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ 及び $R^4$ は、それらが結合している原子と一緒に、置換されていてもよい $C_3-8$ シクロアルキル、置換されていてもよい $C_3-8$ シクロアルケニル、又は置換されていてもよい3～8員ヘテロシクリルを形成する。

【0180】

$R^{35}$

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態では、 $R^{35}$ は、 $R^{551}$ 、置換されていてもよい $C_1-6$ アルキル- $R^{551}$ 、置換されていてもよい $-C_2-6$ アルケニル- $R^{551}$ 、又は置換されていてもよい $-C_2-6$ アルキニル- $R^{551}$ であり、式中、 $R^{551}$ は、 $-OR^{552}$ 、 $-SR^{553}$ 、水素、リン基、固体支持体、又は固体支持体とのリンカーであり得る。 $R^{551}$ が $-OR^{552}$ である場合、 $R^{552}$ は、 $H$ 又はヒドロキシル保護基であり得る。同様に、 $R^{551}$ が $-SR^{553}$ である場合、 $R^{553}$ は、 $H$ 又は硫黄保護基であり得る。

【0181】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{35}$ は、 $-OR^{552}$ 又は $-SR^{553}$ である。

【0182】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{552}$ は、ヒドロ

10

20

30

40

50

キシル保護基である。R<sup>552</sup>の例示的なヒドロキシ保護基には、ベンジル、ベンゾイル、2, 6-ジクロロベンジル、*tert*-ブチルジメチルシリル、*tert*-ブチルジフェニルシリル、メシレート、トシレート、4, 4'-ジメトキシトリチル(DMT)、9-フェニルキサンチン-9-イル(ピキシル)、及び9-(*p*-メトキシフェニル)キサンチン-9-イル(MOX)が含まれるが、これらに限定されない。本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、R<sup>35</sup>は、-OR<sup>552</sup>であり、R<sup>552</sup>は、4, 4'-ジメトキシトリチル(DMT)であり、例えば、R<sup>35</sup>は、-O-DMTである。

#### 【0183】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、R<sup>35</sup>は、-CH(R<sup>554</sup>)-R<sup>551</sup>であり、式中、R<sup>554</sup>は、水素、ハロゲン、置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>30</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>2</sub>-C<sub>30</sub>アルケニル、置換されていてもよいC<sub>2</sub>-C<sub>30</sub>アルキニル、又は置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>30</sub>アルコキシである。

10

#### 【0184】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、R<sup>35</sup>が-CH(R<sup>554</sup>)-R<sup>551</sup>である場合、R<sup>554</sup>は、Hであるか、又は、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、SO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、SO<sub>2</sub>NH(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、N[(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル]<sub>2</sub>、C(O)NH<sub>2</sub>、COOH、COOMe、アセチル、(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)アルキル、O(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)アルキル(すなわち、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>アルコキシ)、O(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)ハロアルキル、(C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)アルケニル、(C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、NH<sub>2</sub>-C(O)-アルキレン、NH(Me)-C(O)-アルキレン、CH<sub>2</sub>-C(O)-アルキル、C(O)-アルキル、アルキルカルボニルアミニル、CH<sub>2</sub>-[CH(OH)]<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-OH、CH<sub>2</sub>-[CH(OH)]<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-NH<sub>2</sub>、若しくはCH<sub>2</sub>-アリール-アルコキシから選択される1、2、3、4、若しくは5つの置換基で置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>30</sub>アルキルであり、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。例えば、R<sup>554</sup>は、Hである。一部の他の非限定的な例では、R<sup>554</sup>は、NH<sub>2</sub>、OH、C(O)NH<sub>2</sub>、COOH、ハロ、SH、又はC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシで置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>30</sub>アルキルである。

20

30

#### 【0185】

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態では、R<sup>35</sup>は、-CH(R<sup>554</sup>)-O-R<sup>552</sup>であり、式中、R<sup>554</sup>は、Hであるか、又は、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、SO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、SO<sub>2</sub>NH(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、N[(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル]<sub>2</sub>、C(O)NH<sub>2</sub>、COOH、COOMe、アセチル、(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)アルキル、O(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)アルキル(すなわち、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>アルコキシ)、O(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)ハロアルキル、(C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)アルケニル、(C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、NH<sub>2</sub>-C(O)-アルキレン、NH(Me)-C(O)-アルキレン、CH<sub>2</sub>-C(O)-アルキル、C(O)-アルキル、アルキルカルボニルアミニル、CH<sub>2</sub>-[CH(OH)]<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-OH、CH<sub>2</sub>-[CH(OH)]<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-NH<sub>2</sub>、若しくはCH<sub>2</sub>-アリール-アルコキシから選択される1、2、3、4、若しくは5つの置換基で置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>30</sub>アルキルであり、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。例えば、R<sup>554</sup>は、Hである。一部の他の非限定的な例では、R<sup>554</sup>は、NH<sub>2</sub>、OH、C(O)NH<sub>2</sub>、COOH、ハロ、SH、又はC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシで置換されていてもよいC<sub>1</sub>-C<sub>30</sub>アルキルである。

40

#### 【0186】

50

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態では、 $R^{35}$ は、置換されていてもよい $C_{1-6}$ アルキル- $R^{551}$ 、又は置換されていてもよい $-C_{2-6}$ アルケニル- $R^{551}$ である。

#### 【0187】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{35}$ は、 $-C(R^{554})=CHR^{551}$ である。 $-C(R^{554})=CHR^{551}$ の二重結合は、シス又はトランス配置であり得ることに留意されたい。したがって、態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^d$ は、 $-C(R^{554})=CHR^{551}$ であり、二重結合は、シス配置にある。態様のいずれか1つの一部の他の実施形態では、 $R^d$ は、 $-C(R^{554})=CHR^{551}$ であり、二重結合は、トランス配置にある。

10

#### 【0188】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{35}$ は、 $-CH=CHR^{551}$ である。

#### 【0189】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{35}$ が $-C(R^{554})=CHR^{551}$ である場合、 $R^{554}$ は、Hであるか、又は、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_{1-4})$ アルキル、 $SO_2NH(C_{1-4})$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_{1-4})$ アルキル、 $N[(C_{1-4})$ アルキル] $_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_{1-8})$ アルキル、 $O(C_{1-8})$ アルキル(すなわち、 $C_{1-8}$ アルコキシ)、 $O(C_{1-8})$ ハロアルキル、 $(C_{2-8})$ アルケニル、 $(C_{2-8})$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2-C(O)-$ アルキレン、 $NH(Me)-C(O)-$ アルキレン、 $CH_2-C(O)-$ アルキル、 $C(O)-$ アルキル、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-OH$ 、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-NH_2$ 、若しくは $CH_2$ -アリール-アルコキシから選択される1、2、3、4、若しくは5つの置換基で置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキルであり、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6であり、 $R^{551}$ は、リン基である。例えば、 $R^{35}$ は、 $-CH=CHR^{551}$ である。

20

#### 【0190】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{551}$ は、反応性リン基である。

30

#### 【0191】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{35}$ は、 $-CH=CH-P(O)(OR^{555})_2$ 、 $-CH=CH-P(S)(OR^{555})_2$ 、 $-CH=CH-P(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、 $-CH=CH-P(S)(SR^{556})_2$ 、 $-CH=CH-OP(O)(OR^{555})_2$ 、 $-CH=CH-OP(S)(OR^{555})_2$ 、 $-CH=CH-OP(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、 $-CH=CH-OP(S)(SR^{556})_2$ 、 $-CH=CH-SP(O)(OR^{555})_2$ 、 $-CH=CH-SP(S)(OR^{555})_2$ 、 $-CH=CH-SP(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、又は $-CH=CH-SP(S)(SR^{556})_2$ であり、式中、各 $R^{555}$ は、独立して、水素、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は酸素保護基であり、各 $R^{556}$ は、独立して、水素、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、又は硫黄保護基である。

40

#### 【0192】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $-P(O)(OR^{555})_2$ 、 $-P(S)(OR^{555})_2$ 、 $-P(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、 $-OP(O)(OR^{555})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{555})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、 $SP(O)(OR^{555})_2$ 、 $-SP(S)(OR^{555})_2$ 、及び $-SP(S)(SR^{556})$

50

) (OR<sup>555</sup>) における少なくとも1つのR<sup>555</sup>は、水素である。

【0193】

態様のいずれか1つの一部の他の実施形態では、-P(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、SP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、又は-SP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>) における少なくとも1つのR<sup>555</sup>は、水素ではない。例えば、P(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、SP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、及び-SP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>) における少なくとも1つのR<sup>555</sup>は、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>2-30</sub>アルケニル、又は置換されていてもよいC<sub>2-30</sub>アルキニル、又は酸素保護基である。

10

【0194】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、-P(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、SP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、及び-SP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>) における少なくとも1つのR<sup>555</sup>は、Hであり、少なくとも1つのR<sup>555</sup>は、H以外である。

20

【0195】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、-P(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub>、-SP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、及び-SP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub> における全てのR<sup>555</sup>は、Hである。

【0196】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、-P(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-P(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub>、-SP(O)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、及び-SP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub> における全てのR<sup>555</sup>は、H以外である。

30

【0197】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、-P(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-P(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、及び-SP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub> における少なくとも1つのR<sup>556</sup>は、Hである。

40

【0198】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、-P(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-P(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、及び-SP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub> における少なくとも1つのR<sup>556</sup>は、H以外である。例えば、-P(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-P(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(OR<sup>555</sup>)<sub>2</sub>、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、-OP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub>、-SP(S)(SR<sup>556</sup>)(OR<sup>555</sup>)、及び-SP(S)(SR<sup>556</sup>)<sub>2</sub> における少なくとも1つのR<sup>556</sup>は、置換されていてもよいC<sub>1-30</sub>アルキル、置換されていてもよいC<sub>2-30</sub>アルケニル、又は置換されていてもよいC<sub>2</sub>

50

−30アルキニル、又は硫黄保護基である。

【0199】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $-P(S)(SR^{556})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{556})_2$ 、及び $-SP(S)(SR^{556})_2$ における少なくとも1つの $R^{556}$ は、Hであり、少なくとも1つの $R^{556}$ は、H以外である。

【0200】

一部の実施形態では、 $-P(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、 $-P(S)(SR^{556})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{555})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、 $-OP(S)(SR^{556})_2$ 、 $-SP(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、及び $-SP(S)(SR^{556})_2$ における全ての $R^{556}$ は、Hである。

10

【0201】

一部の実施形態では、 $-P(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、 $-P(S)(SR^{556})_2$ 、 $-OP(S)(OR^{555})_2$ 、 $-OP(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、 $-OP(S)(SR^{556})_2$ 、 $-SP(S)(SR^{556})(OR^{555})$ 、及び $-SP(S)(SR^{556})_2$ における全ての $R^{556}$ は、H以外である。

【0202】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{35}$ は、 $-CH=CH-P(O)(OR^{555})_2$ であり、式中、各 $R^{555}$ は、H又は酸素保護基である。

【0203】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^{33}$ は、反応性リン基、固体支持体、固体支持体とのリンカーであり、 $R^{35}$ は、保護ヒドロキシルである。

20

【0204】

態様のいずれか1つの一部の他の実施形態では、 $R^{32}$ は、反応性リン基、固体支持体、固体支持体とのリンカーであり、 $R^{35}$ は、保護ヒドロキシルである。

【0205】

L

本明細書に記載される様々な態様の実施形態では、Lは、リンカーである。

【0206】

本明細書で使用される場合、リンカーという用語は、化合物の2つの部分を接続する有機部分を意味する。リンカーは、典型的には、直接結合、又は原子、例えば、酸素若しくは硫黄、単位、例えば、 $NR^1$ 、 $C(O)$ 、 $C(O)O$ 、 $C(O)NR^1$ 、 $SO$ 、 $SO_2$ 、 $SO_2NH$ 、又は原子の鎖、例えば、置換若しくは非置換アルキル、置換若しくは非置換アルケニル、置換若しくは非置換アルキニル、アリールアルキル、アリールアルケニル、アリールアルキニル、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールアルケニル、ヘテロアリールアルキニル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルアルケニル、ヘテロシクリルアルキニル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アルキルアリールアルキル、アルキルアリールアルケニル、アルキルアリールアルキニル、アルケニルアリールアルキル、アルケニルアリールアルケニル、アルケニルアリールアルキニル、アルキニルアリールアルキル、アルキニルアリールアルケニル、アルキニルアリールアルキニル、アルキルヘテロアリールアルキル、アルキルヘテロアリールアルケニル、アルキルヘテロアリールアルキニル、アルケニルヘテロアリールアルキル、アルケニルヘテロアリールアルケニル、アルケニルヘテロアリールアルキニル、アルキニルヘテロアリールアルキル、アルキルヘテロシクリルアルキル、アルキルヘテロシクリルアルケニル、アルキルヘテロシクリルアルキニル、アルケニルヘテロシクリルアルキル、アルケニルヘテロシクリルアルケニル、アルケニルヘテロシクリルアルキニル、アルキニルヘテロシクリルアルキル、アルキルアリール、アルケニルアリール、アルキニルアリール、アルキルヘテロアリール、アルケニルヘテロアリール、アルキニルヘテロアリールを含み、1つ以上のメチレンは、O、S、 $S(O)$ 、 $SO_2$ 、 $N(R^1)_2$ 、 $C(O)$ 、切断可能な結合基

30

40

50

、置換又は非置換アリール、置換又は非置換ヘテロアリール、置換又は非置換複素環によって中断又は終結され得、 $R^1$ は、水素、アシル、脂肪族、又は置換脂肪族である。

【0207】

一部の実施形態では、リンカーは、切断可能なリンカーである。切断可能なリンカーは、標的細胞内部のプロセスに依存して、細胞質内での還元、リソソーム若しくはエンドソームにおける酸性条件への曝露、又は細胞内の特定の酵素（例えば、プロテアーゼ）による切断として、リンカーと一緒に保持している2つの部分を遊離するリンカーである。したがって、切断可能なリンカーは、標的細胞内の内部移行及び処理後に、2つの部分を元の形態で解放することを可能にする。切断可能なリンカーには、それらの結合が酵素（例えば、ペプチドリinker）、還元条件（例えば、ジスルフィドリinker）、又は酸性条件（例えば、ヒドラゾン及びカーボネート）によって切断され得るリンカーが含まれるが、これらに限定されない。

10

【0208】

概して、切断可能なリンカーは、少なくとも1つの切断可能な結合基を含む。切断可能な結合基とは、細胞の外部で十分に安定であるが、標的細胞内に入ると、切断されて、リンカーと一緒に保持している2つの部分を解放する基である。好ましい実施形態では、切断可能な結合基は、対象の血液若しくは血清中、又は第2の基準条件（例えば、血液若しくは血清中に見られる状態を模倣するか又は表すように選択することができる）下よりも標的細胞中若しくは第1の基準条件（例えば、細胞内条件を模倣するか又は表すように選択され得る）下で少なくとも10倍以上、好ましくは少なくとも100倍速く切断される。

20

【0209】

切断可能な結合基は、切断因子、例えば、pH、酸化還元電位又は分解性分子の存在、の影響を受け易い。概して切断因子は、血清又は血液中においてよりも、細胞の内部で、より広範に広がっているか又はより高いレベル若しくは活性で見られる。このような分解剤の例としては、特定の基質のために選択される又は基質特異性を有さない酸化還元剤（例えば、還元によって酸化還元切断可能な結合基を分解できる、細胞中に存在する酸化酵素若しくは還元酵素又はメルカプタンなどの還元剤を含む）；エステラーゼ；酸性環境を作り出すことができるエンドソーム又は因子（例えば、5以下のpHをもたらすもの）；一般酸、ペプチダーゼ（基質特異的であり得る）及びホスファターゼとして作用することによって酸切断可能な結合基を加水分解若しくは分解できる酵素が挙げられる。

30

【0210】

切断可能な結合基、例えばジスルフィド結合などは、pHの影響を受け易い場合がある。ヒト血清のpHは7.4であるが、平均細胞内pHはわずかに低く、約7.1～7.3の範囲である。エンドソームは、5.5～6.0の範囲のより酸性のpHであり、またリソソームは、およそ5.0の更により酸性のpHである。一部のリンカーは、好ましいpHで切断される切断可能な結合基を有し、それによってリガンドから細胞の内側、又は細胞の所望の区画内にカチオン性脂質を放出する。

【0211】

リンカーは、特定の酵素によって切断可能である切断可能な結合基を含み得る。リンカー中に組み込まれる切断可能な結合基の種類は、標的となる細胞に依存する。例えば、肝臓ターゲティングリガンドは、エステル基を含むリンカーを介してカチオン性脂質と結合できる。肝細胞は、エステラーゼが豊富であるため、リンカーは、肝細胞中では、エステラーゼが豊富でない細胞型においてよりも効率的に切断されることとなる。エステラーゼが豊富な他の細胞型としては、肺、腎皮質及び精巣の細胞が挙げられる。肝細胞及び滑膜細胞などのペプチダーゼが豊富な細胞型を標的とする場合には、ペプチド結合を含有するリンカーを使用することができる。

40

【0212】

概して、候補の切断可能な結合基の適合性は、分解剤が候補結合基を切断する能力（又は条件）を試験することによって評価可能である。また、血液中で、又は他の非標的組織

50

と接触したときに、切断に抵抗する能力について候補の切断可能な結合基を試験すること  
もまた望ましいであろう。したがって、第1の条件と第2の条件との間で、切断に対する  
相対的な感受性を決定することができ、ここで第1の条件は、標的細胞において切断を示  
すように選択され、第2の条件は、他の組織又は生物学的流体中で、例えば、血液若しく  
は血清中で、切断を示すように選択される。評価は、無細胞系において、細胞において、  
細胞培養液において、臓器又は組織の培養液において、又は動物の全身において、実施さ  
れ得る。無細胞条件又は培養条件において初期評価を行うこと及び動物の全身における更  
なる評価によって確認することが、有用であり得る。好ましい実施形態では、有用な候補  
化合物は、血液又は血清（又は細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件  
下）と比較して、細胞において（又は細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ  
条件下で）少なくとも2、4、10、又は100倍速く切断される。

10

#### 【0213】

切断可能な結合基の1つのクラスは、酸化還元切断可能な結合基であり、これは、還元  
又は酸化時に切断される本発明によるdsRNA分子において使用され得る。還元的に切  
断可能な結合基の例としては、ジスルフィド結合基（-S-S-）が挙げられる。候補の  
切断可能な結合基が、適した「還元的に切断可能な結合基」であるか、又は例えば、特定  
のiRNA部分及び特定のターゲティング物質とともに使用するのに適しているか否かを  
決定するために、本明細書において記載する方法に目を向けることができる。例えば、細  
胞中、例えば標的細胞中で観察されるであろう切断の速度を模倣する、当技術分野で公知  
の試薬を使用してジチオスレイトール（DTT）又は他の還元剤とともにインキュベート  
することによって、候補を評価することができる。候補はまた、血液又は血清条件を模倣  
するように選択された条件下で評価することもできる。好ましい実施形態では、候補化合  
物は、血液中最大で10%切断される。好ましい実施形態では、有用な候補化合物は、  
血液中（又は細胞外条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下）と比較して、細  
胞中で（又は細胞内条件を模倣するように選択されたインビトロ条件下で）少なくとも2  
、4、10、又は100倍速い速度で分解される。候補化合物の切断の速度は、細胞内媒  
体を模倣するように選択された条件下での標準酵素動態アッセイを用いて決定され、細胞  
外媒体を模倣するように選択された条件と比較され得る。

20

#### 【0214】

本発明によるdsRNA分子において使用され得るリン酸系切断可能な結合基は、リン  
酸基を分解又は加水分解する作用物質によって切断される。細胞内においてリン酸基を切  
断する作用物質の例としては、細胞中のホスファターゼなどの酵素がある。リン酸系結合  
基の例は、-O-P(O)(ORk)-O-、-O-P(S)(ORk)-O-、-O-P(S)(SRk)-O-、-S-P(O)(ORk)-O-、-O-P(O)(ORk)  
)-S-、-S-P(O)(ORk)-S-、-O-P(S)(ORk)-S-、-S-P(S)(ORk)-O-、-O-P(O)(Rk)-O-、-O-P(S)(Rk)-  
O-、-S-P(O)(Rk)-O-、-S-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-S-、-O-P(S)(Rk)-S-であり、式中、Rkは、出現ごとに独立  
して、水素、C1-C20アルキル、C1-C20ハロアルキル、C6-C10アリール、C7-C12アラキルであり得る。好ましい実施形態としては、O-P(O)(OH)  
)-O-、-O-P(S)(OH)-O-、-O-P(S)(SH)-O-、-S-P(O)(OH)-O-、-O-P(O)(OH)-S-、-S-P(O)(OH)-S-、  
-O-P(S)(OH)-S-、-S-P(S)(OH)-O-、-O-P(O)(H)-O-、-O-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-O-、-S-P(S)(H)  
)-O-、-S-P(O)(H)-S-、-O-P(S)(H)-S-である。好ましい実施形態としては、-O-P(O)(OH)-O-である。これら候補は、上述のものと  
類似した方法を使用して評価することができる。

30

40

#### 【0215】

本発明によるdsRNA分子において使用され得る酸切断可能な結合基は、酸性条件下  
で切断される結合基である。好ましい実施形態では、酸切断可能な結合基は、pHが約6

50

．5以下（例えば、約6．0、5．5、5．0、又はそれ以下）である酸性環境において、又は一般酸として作用できる酵素などの作用物質によって切断される。細胞内では、エンドソーム及びリソソームなどの特定の低pH細胞小器官が、酸切断可能な結合基の切断環境を提供することができる。酸切断可能な結合基の例には、ヒドラゾン、エステル、及びアミノ酸のエステルが含まれるが、これらに限定されない。酸切断可能な基は、一般式 $-C=NN-$ 、 $C(O)O$ 、又は $-OC(O)$ を有し得る。好ましい実施形態では、エステル（アルコキシ基）の酸素と結合する炭素は、アリール基、置換アルキル基、又は三級アルキル基、例えば、ジメチルペンチル若しくはセブチルである。これらの候補は、上述のものと類似した方法を使用して評価することができる。

【0216】

本発明によるdsRNA分子において使用され得るエステル系切断可能な結合基は、細胞内のエステラーゼ及びアミダーゼなどの酵素によって切断される。エステル系切断可能な結合基の例には、アルキレン基、アルケニレン基、及びアルキニレン基のエステルが含まれるが、これらに限定されない。エステル切断可能な結合基は、一般式 $-C(O)O-$ 又は $-OC(O)-$ を有する。これら候補は、上述のものと類似した方法を使用して評価することができる。

【0217】

本発明によるdsRNA分子において使用され得るペプチド系切断可能な結合基は、細胞内のペプチダーゼ及びプロテアーゼなどの酵素によって切断される。ペプチド系切断可能な結合基は、アミノ酸の間で形成されて、オリゴペプチド（例えば、ジペプチド、トリペプチドなど）及びポリペプチドが得られるペプチド結合である。ペプチド系切断可能な基は、アミド基（ $-C(O)NH-$ ）を含まない。アミド基は、任意のアルキレン、アルケニレン又はアルキネレンの間で形成され得る。ペプチド結合は、アミノ酸間に形成されて、ペプチド及びタンパク質が得られる、アミド結合の特殊な型である。ペプチド系切断可能な結合基は、概して、アミノ酸の間で形成されてペプチド及びタンパク質が得られるペプチド結合（すなわち、アミド結合）に限定され、全てのアミド官能基を含むものではない。ペプチド系切断可能な結合基は、一般式 $-NHCHR^A C(O)NHCHR^B C(O)-$ を有し、式中、 $R^A$ 及び $R^B$ は、2つの隣接するアミノ酸のR基である。

【0218】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、Lは、結合である。

【0219】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、Lは、存在せず、例えば、 $R^6$ 又は $R^7$ は、 $-R^L$ である。

【0220】

ヌクレオシド間結合

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド間結合」とは、隣接するヌクレオシド間の共有結合を指す。ヌクレオシド間結合の2つの主なクラスは、リン原子が存在するか又は存在しないかによって定義される。代表的なリン含有結合には、ホスホジエステル（ $P=O$ ）、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、ホスホルアミデート、及びホスホロチオエート（ $P=S$ ）が含まれるが、これらに限定されない。代表的な非リン含有結合基には、メチレンメチルイミノ（ $-CH_2-N(CH_3)-O-CH_2-$ ）、チオジエステル（ $-O-C(O)-S-$ ）、チオノカルバメート（ $-O-C(O)(NH)-S-$ ）、シロキサン（ $-O-Si(H)_2-O-$ ）、及びN,N'-ジメチルヒドラジン（ $-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-$ ）が含まれるが、これらに限定されない。修飾ヌクレオシド間結合は、天然ホスホジエステル結合と比較して、オリゴヌクレオチド化合物のヌクレアーゼ耐性を変化、典型的には増加させるために使用され得る。特定の実施形態では、キラル原子を有する結合は、ラセミ混合物として、別個のエナンチオマーとして調製され得る。代表的なキラル結合には、アルキルホスホネート及びホスホロチオエートが含まれるが、これらに限定されない。リン含有結合及び非リン含有結合の調製方法は、当業者に周知である。

10

20

30

40

50

## 【0221】

ヌクレオシド間結合におけるリン酸基は、酸素のうちの1つを異なる置換基で置換することによって修飾され得る。この修飾の1つの結果は、オリゴヌクレオチドの核酸分解に対する耐性の増加であり得る。修飾リン酸基の例には、ホスホロチオエート、ホスホロセネート、ボラノホスフェート、ボラノホスフェートエステル、水素ホスホネート、ホスホロアミデート、アルキル又はアリールホスホネート、及びホスホトリエステルが含まれる。一部の実施形態では、ホスホジエステルヌクレオシド間結合における非架橋リン酸酸素原子のうちの1つは、以下のうちのいずれかにより置き換えられ得る：S、Se、BR<sub>3</sub>（Rは、水素、アルキル、アリール）、C（すなわち、アルキル基、アリール基など）、H、NR<sub>2</sub>（Rは、水素、置換されていてもよいアルキル、アリール）、又はOR（Rは、置換されていてもよいアルキル又はアリールである）。非修飾リン酸基におけるリン原子は、アキラルである。しかしながら、非架橋酸素のうちの1つを上記の原子又は原子の基のうちの1つで置換すると、リン原子がキラルになる。言い換えれば、このように修飾されたリン酸基におけるリン原子は、不斉中心である。不斉中心リン原子は、「R」配置（ここではRp）又は「S」配置（ここではSp）のいずれかを有することができる。

10

## 【0222】

ホスホロジチオエートは、硫黄によって置き換えられた両方の非架橋酸素を有する。ホスホロジチオエート中のリン中心はアキラルであり、オリゴヌクレオチドジアステレオマーの形成を妨げる。したがって、理論に拘束されることは望まないが、キラル中心を除去する両方の非架橋酸素への修飾、例えば、ホスホロジチオエート形成は、それらがジアステレオマー混合物を産生することができないという点で望ましい場合がある。非架橋酸素は、独立して、O、S、Se、B、C、H、N、又はOR（Rは、アルキル又はアリールである）のいずれか1つであり得る。

20

## 【0223】

ホスホジエステルヌクレオシド間結合は、架橋酸素（すなわち、リン酸をヌクレオシドの糖に結合する酸素）を窒素（架橋ホスホロアミデート）、硫黄（架橋ホスホロチオエート）、及び炭素（架橋メチレンホスホネート）で置換することによって修飾することもできる。置換は、結合酸素のうちの1つ又は両方の結合酸素のいずれかで起こり得る。架橋酸素がヌクレオシドの3'-酸素場合、炭素での置換が好ましい。架橋酸素がヌクレオシドの5'-酸素である場合、窒素での置換が好ましい。

30

## 【0224】

リン酸と結合している酸素のうちの少なくとも1つが置換されているか、又はリン酸基が非リン酸基によって置換されている修飾リン酸結合は、「非ホスホジエステル糖間結合」又は「非ホスホジエステルリンカー」とも称される。

## 【0225】

特定の実施形態では、リン酸基は、非リン含有コネクタ、例えば、デホスホリンカーによって置換され得る。デホスホリンカーは、本明細書では非ホスホジエステルリンカーとも称される。理論に束縛されることは望まないが、荷電ホスホジエステル基は、ヌクレオチド分解における反応中心であるため、中性構造模倣体との置換によりヌクレアーゼの安定性が向上すると考えられる。再び、理論に束縛されることは望まないが、一部の実施形態では、荷電リン酸基が中性部分で置換される改変を導入することが望ましい場合がある。

40

## 【0226】

リン酸基を置換することができる部分の例には、アミド（例えば、アミド-3（3'-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(H)-5'）、及びアミド-4（3'-CH<sub>2</sub>-N(H)-C(=O)-5'））、ヒドロキシルアミノ、シロキサン（ジアルキルシロキサン）、カルボキサミド、カーボネート、カルボキシメチル、カルバメート、カルボキシレートエステル、チオエーテル、エチレンオキシドリンカー、スルフィド、スルホネート、スルホンアミド、スルホネートエステル、チオホルムアセタール（3'-S-CH<sub>2</sub>-O-5'）、ホルムアセタール（3'-O-CH<sub>2</sub>-O-5'）、オキシム、メチレンイミノ、メチケンカル

50

ボニルアミノ、メチレンメチルイミノ (MMI、 $3' - \text{CH}_2 - \text{N}(\text{CH}_3) - \text{O} - 5'$ )、メチレンヒドラゾ、メチレンジメチルヒドラゾ、メチレンオキシメチルイミノ、エーテル ( $\text{C}3' - \text{O} - \text{C}5'$ )、チオエーテル ( $\text{C}3' - \text{S} - \text{C}5'$ )、チオアセトアミド ( $\text{C}3' - \text{N}(\text{H}) - \text{C}(=\text{O}) - \text{CH}_2 - \text{S} - \text{C}5'$ )、 $\text{C}3' - \text{O} - \text{P}(\text{O}) - \text{O} - \text{SS} - \text{C}5'$ 、 $\text{C}3' - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{NH} - \text{C}5'$ 、 $3' - \text{NHP}(\text{O})(\text{OCH}_3) - \text{O} - 5'$ 、及び  $3' - \text{NHP}(\text{O})(\text{OCH}_2) - \text{O} - 5'$ 、並びに混合した N、O、S、及び  $\text{CH}_2$  構成部分を含む非イオン性結合が含まれるが、これらに限定されない。例えば、Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y. S. Sanghvi and P. D. Cook Eds. ACS Symposium Series 580; Chapters 3 and 4, (pp. 40 - 65) を参照されたい。好ましい実施形態には、メチレンメチルイミノ (MMI)、メチレンカルボニルアミノ、アミド、カルバメート、及びエチレンオキシドリンカーが含まれる。

10

#### 【0227】

当業者であれば、特定の事例では、非架橋酸素の置換が、隣接する  $2' - \text{OH}$  による糖間結合の切断の増強をもたらし得、したがって、多くの事例では、非架橋酸素の修飾は、 $2' - \text{OH}$  の修飾、例えば、隣接する糖間結合の切断に関与しない修飾、例えば、アラビノース糖、 $2' - \text{O}$ -アルキル、 $2' - \text{F}$ 、LNA、及び ENA を必要とし得ることを認識している。

20

#### 【0228】

好ましい非ホスホジエステルヌクレオシド間結合には、ホスホロチオエート、少なくとも 1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 以上の Sp 異性体のエナンチオマー過剰率を有するホスホロチオエート、少なくとも 1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 以上の Rp 異性体のエナンチオマー過剰率を有するホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリオエステル、アルキルホスホネート (例えば、メチル-ホスホネート)、セレノホスフェート、ホスホルアミデート (例えば、N-アルキルホスホルアミデート)、及びボラノホスホネートが含まれる。

30

#### 【0229】

更なる例示的な非リン含有ヌクレオシド間結合基は、米国特許第 5,034,506 号、同第 5,166,315 号、同第 5,185,444 号、同第 5,214,134 号、同第 5,216,141 号、同第 5,235,033 号、同第 5,264,562 号、同第 5,264,564 号、同第 5,405,938 号、同第 5,434,257 号、同第 5,466,677 号、同第 5,470,967 号、同第 5,489,677 号、同第 5,541,307 号、同第 5,561,225 号、同第 5,596,086 号、同第 5,602,240 号、同第 5,610,289 号、同第 5,602,240 号、同第 5,608,046 号、同第 5,610,289 号、同第 5,618,704 号、同第 5,623,070 号、同第 5,663,312 号、同第 5,633,360 号、同第 5,677,437 号、同第 5,792,608 号、同第 5,646,269 号、及び同第 5,677,439 号に記載されており、各々の内容は参照により本明細書に組み込まれる。

40

#### 【0230】

態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、非イオン性である 1 つ以上の中性ヌクレオシド間結合を含む。好適な中性ヌクレオシド間結合には、ホスホトリエステル、メチルホスホネート、MMI ( $3' - \text{CH}_2 - \text{N}(\text{CH}_3) - \text{O} - 5'$ )、アミド-3 ( $3' - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O}) - \text{N}(\text{H}) - 5'$ )、アミド-4 ( $3' - \text{CH}_2 - \text{N}(\text{H}) - \text{C}(=\text{O}) - 5'$ )、ホルムアセタール ( $3' - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{O} - 5'$ )、及びチオホルムアセタール ( $3' - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{O} - 5'$ )；シロキサン (ジアルキルシロキサン)、カルボキシレートエステル、カルボキサミド、スルフィド、スルホネートエステル、及び／又はアミドを含む非イオン性結合 (例えば、Carbohydrate

50

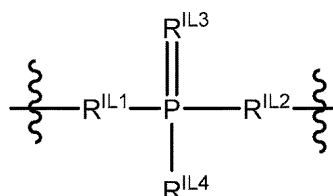
drate Modifications in Antisense Research; Y. S. Sanghvi and P. D. Cook Eds. ACS Symposium Series 580; Chapters 3 and 4, (pp. 40-65) を参照されたい) ; 並びに混合した N、O、S、及び CH<sub>2</sub> 構成部分を含む非イオン性結合が含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0231】

一実施形態では、非ホスホジエステル骨格結合は、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、アルキル-ホスホネート、及びホスホルアミデート骨格結合からなる群から選択される。

#### 【0232】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、ヌクレオシド間結合は、



であり、式中、R<sup>IL1</sup> 及び R<sup>IL2</sup> は、出現ごとに各々独立して、非存在、O、S、CH<sub>2</sub>、NR (R は、水素、アルキル、アリールである)、又は置換されていてもよいアルキレンであり、アルキレンの骨格は、内部及び／又は末端に O、S、SS、及び NR (R は、水素、アルキル、アリールである) のうちの 1 つ以上を含み得、R<sup>IL3</sup> 及び R<sup>IL4</sup> は、各々独立して、O、OR (R は、水素、アルキル、アリールである)、S、Se、BR<sub>3</sub> (R は、水素、アルキル、アリールである)、BH<sub>3</sub><sup>-</sup>、C (すなわち、アルキル基、アリール基など)、H、NR<sub>2</sub> (R は、水素、アルキル、アリールである)、アルキル、又はアリールからなる群から選択される。R<sup>IL1</sup> 及び R<sup>IL2</sup> のうちの一方は、第 1 のヌクレオシド糖の 5' 炭素と結合した酸素を置換し、R<sup>IL1</sup> 及び R<sup>IL2</sup> のうちの他方は、第 2 のヌクレオシド糖の 3' (又は 2') 炭素と結合した酸素を置換することが理解される。

#### 【0233】

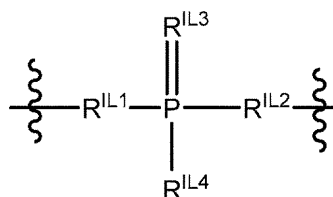
態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、R<sup>IL1</sup>、R<sup>IL2</sup>、R<sup>IL3</sup>、及び R<sup>IL4</sup> は全て、O である。

#### 【0234】

一部の実施形態では、R<sup>IL1</sup> 及び R<sup>IL2</sup> は、O であり、R<sup>IL3</sup> 及び R<sup>IL4</sup> のうちの少なくとも 1 つは、O 以外である。例えば、R<sup>IL3</sup> 及び R<sup>IL4</sup> のうちの一方は、S であり、他方は、O であるか、又は R<sup>IL3</sup> 及び R<sup>IL4</sup> の両方が、S である。

#### 【0235】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、R<sup>3</sup> 又は R<sup>5</sup> のうちの 1 つは、修飾ヌクレオシド間結合、例えば、以下の構造：



のヌクレオシド間結合との結合であり、式中、R<sup>IL1</sup>、R<sup>IL2</sup>、R<sup>IL3</sup>、及び R<sup>IL4</sup> のうちの少なくとも 1 つは、O ではない。例えば、R<sup>IL3</sup> 及び R<sup>IL4</sup> のうちの少なくとも 1 つは、S である。

#### 【0236】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、R<sup>3</sup> 及び R<sup>5</sup> の両方

が、修飾ヌクレオシド間結合との結合である。

【0237】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^3$ は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合との結合である。

【0238】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合との結合である。

【0239】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^3$ は、修飾ヌクレオシド間結合との結合であり、 $R^5$ は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合との結合である。

10

【0240】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、 $R^5$ は、修飾ヌクレオシド間結合との結合であり、 $R^3$ は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合との結合である。

【0241】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つ以上、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8つ以上の修飾ヌクレオシド間結合を含むことができる。例えば、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、又は6つの修飾ヌクレオシド間結合を含むことができる。例えば、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、又は4つの修飾ヌクレオシド間結合を含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの5'末端から数えて最初の5つのヌクレオチドの間に少なくとも2つの修飾ヌクレオシド間結合を含み、オリゴヌクレオチドの3'末端から数えて最初の5つのヌクレオチドの間に少なくとも2つの修飾ヌクレオシド間結合を更に含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの5'末端から数えて、ヌクレオチド1と2との間、及びヌクレオチド2と3との間、並びにオリゴヌクレオチドの3'末端から数えて、ヌクレオチド1と2との間、及びヌクレオチド2と3との間に修飾ヌクレオシド間結合を含む。

20

【0242】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、修飾ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートである。したがって、態様のいずれか1つの一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つ以上、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8つ以上のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、又は6つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、又は4つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの5'末端から数えて最初の5つのヌクレオチドの間に少なくとも2つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含み、オリゴヌクレオチドの3'末端から数えて最初の5つのヌクレオチドの間に少なくとも2つのホスホロチオエートヌクレオシド間結合を更に含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの5'末端から数えて、ヌクレオチド1と2との間、及びヌクレオチド2と3との間、並びにオリゴヌクレオチドの3'末端から数えて、ヌクレオチド1と2との間、及びヌクレオチド2と3との間に修飾ヌクレオシド間結合を含む。

30

40

【0243】

酸素保護基

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態は、酸素保護基（本明細書ではヒドロキシル保護基とも称される）を含む。酸素保護基には、 $-R^{OP1}$ 、 $-N(R^{OP2})_2$ 、 $-C(=O)SR^{OP1}$ 、 $-C(=O)R^{OP1}$ 、 $-CO_2R^{OP1}$ 、 $-C(=O)N(R^{OP2})_2$ 、 $-C(=NR^{OP2})R^{OP1}$ 、 $-C(=NR^{OP2})OR^{OP1}$ 、 $-C(=NR^{OP2})N(R^{OP2})_2$ 、 $-S(=O)R^{OP1}$ 、 $-SO_2R^{OP1}$ 、 $-Si(R^{OP1})_3$ 、 $-P(R^{OP3})_2$ 、 $-P(R^{OP3})+_3X^-$ 、 $-P(OR^{OP3})_2$ 、 $-P(OR^{OP3})_3X^-$ 、 $-P(=O)(R^{OP1})_2$ 、 $-P(=O)(OR^{OP3})_2$ 、及び

50

$-P(=O)(N(R^{OP2})_2)_2$ が含まれるが、これらに限定されず、式中、各 $X^-$ は、対イオンであり、各 $R^{OP1}$ は、独立して、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ ペルハロアルキル、 $C_{2-10}$ アルケニル、 $C_{2-10}$ アルキニル、ヘテロ $C_{1-10}$ アルキル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルケニル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、3～14員ヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリール、若しくは5～14員ヘテロアリールであるか、又は2つの $R^{OP1}$ 基が結合して、3～14員ヘテロシクリル環若しくは5～14員ヘテロアリール環を形成し、各 $R^{OP2}$ は、水素、 $-OH$ 、 $-OR^{OP1}$ 、 $-N(R^{OP3})_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(=O)R^{OP1}$ 、 $-C(=O)N(R^{OP3})_2$ 、 $-CO_2R^{OP1}$ 、 $-SO_2R^{OP1}$ 、 $-C(=NR^{OP3})OR^{OP1}$ 、 $-C(=NR^{OP3})N(R^{OP3})_2$ 、 $-SO_2N(R^{OP3})_2$ 、 $-SO_2R^{OP3}$ 、 $-SO_2OR^{OP3}$ 、 $-SOR^{OP1}$ 、 $-C(=S)N(R^{OP3})_2$ 、 $-C(=O)SR^{OP3}$ 、 $-C(=S)SR^{OP3}$ 、 $-P(=O)(R^{OP1})_2$ 、 $-P(=O)(OR^{OP3})_2$ 、 $-P(=O)(N(R^{OP3})_2)_2$ 、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ ペルハロアルキル、 $C_{2-10}$ アルケニル、 $C_{2-10}$ アルキニル、ヘテロ $C_{1-10}$ アルキル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルケニル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、3～14員ヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリール、及び5～14員ヘテロアリールであるか、又は2つの $R^{OP2}$ が結合して、3～14員ヘテロシクリル環若しくは5～14員ヘテロアリール環を形成し、各 $R^{OP3}$ は、独立して、水素、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ ペルハロアルキル、 $C_{2-10}$ アルケニル、 $C_{2-10}$ アルキニル、ヘテロ $C_{1-10}$ アルキル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルケニル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、3～14員ヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリール、及び5～14員ヘテロアリールであるか、又は2つの $R^{OP3}$ が結合して、3～14員ヘテロシクリル環若しくは5～14員ヘテロアリール環を形成し、 $R^{OP1}$ 、 $R^{OP2}$ 、及び $R^{OP3}$ の各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アラルキル、アリール、及びヘテロアリールは、独立して、 $OH$ 、 $CN$ 、 $SC(O)Ph$ 、オキソ(=O)、 $SH$ 、 $SO_2NH_2$ 、 $SO_2(C_1-C_4)$ アルキル、 $SO_2NH(C_1-C_4)$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $NH_2$ 、 $NH(C_1-C_4)$ アルキル、 $N[(C_1-C_4)アルキル]_2$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $COOH$ 、 $COOMe$ 、アセチル、 $(C_1-C_8)$ アルキル、 $O(C_1-C_8)$ アルキル(すなわち、 $C_1-C_8$ アルコキシ)、 $O(C_1-C_8)$ ハロアルキル、 $(C_2-C_8)$ アルケニル、 $(C_2-C_8)$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $NH_2-C(O)-アルキレン$ 、 $NH(Me)-C(O)-アルキレン$ 、 $CH_2-C(O)-アルキル$ 、 $C(O)-アルキル$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-OH$ 、 $CH_2-[CH(OH)]_m-(CH_2)_p-NH_2$ 、又は $CH_2-アリール-アルコキシ$ から選択される1、2、3、4、又は5つの置換基で任意に置換され得、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。

#### 【0244】

酸素保護基は当該技術分野で周知であり、参照により本明細書に組み込まれるGreene's Protecting Groups in Organic Synthesis, P. G. M. Wuts, 5<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, 2014に詳細に記載されるものを含む。

#### 【0245】

例示的な酸素保護基には、メチル、 $t$ -ブチルオキシカルボニル(BOC又はBoc)、メトキシメチル(MOM)、メチルチオメチル(MTM)、 $t$ -ブチルチオメチル、(フェニルジメチルシリル)メトキシメチル(SMOM)、ベンジルオキシメチル(BOM)、 $p$ -メトキシベンジルオキシメチル(PMBM)、(4-メトキシフェノキシ)メチル( $p$ -AOM)、グアヤコールメチル(GUM)、 $t$ -ブトキシメチル、4-ペンテニルオキシメチル(POM)、シロキシメチル、2-メトキシエトキシメチル(MEM)、2,2,2-トリクロロエトキシメチル、ビス(2-クロロエトキシ)メチル、2-(トリメチルシリル)エトキシメチル(SEMOR)、テトラヒドロピラニル(THP)、

3-ブプロモテトラヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、1-メトキシシクロヘキシル、4-メトキシテトラヒドロピラニル (MTHP)、4-メトキシテトラヒドロチオピラニル、4-メトキシテトラヒドロチオピラニル S, S-ジオキシド、1-[ (2-クロロ-4-メチル) フェニル] -4-メトキシペリジンを4-イル (CTMP)、1, 4-ジオキサニル-2-イル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオフラニル、2, 3, 3a, 4, 5, 6, 7, 7a-オクタヒドロ-7, 8, 8-トリメチル-4, 7-メタノベンゾフラン-2-イル、1-エトキシエチル、1-(2-クロロエトキシ) エチル、1-メチル-1-メトキシエチル、1-メチル-1-ベンジルオキシエチル、1-メチル-1-ベンジルオキシ-2-フルオロエチル、2, 2, 2-トリクロロエチル、2-トリメチルシリルエチル、2-(フェニルセレニル) エチル、t-ブチル、アリル、p-クロロフェニル、p-メトキシフェニル、2, 4-ジニトロフェニル、ベンジル (Bn)、p-メトキシベンジル、3, 4-ジメトキシベンジル、o-ニトロベンジル、p-ニトロベンジル、p-ハロベンジル、2, 6-ジクロロベンジル、p-シアノベンジル、p-フェニルベンジル、2-ピコリル、4-ピコリル、3-メチル-2-ピコリルN-オキシド、ジフェニルメチル、p, p'-ジニトロベンズヒドリル、5-ジベンゾスベリル、トリフェニルメチル、 $\alpha$ -ナフチルジフェニルメチル、p-メトキシフェニルジフェニルメチル、ジ(p-メトキシフェニル) フェニルメチル、トリ(p-メトキシフェニル) メチル、4-(4'-ブプロモフェナシルオキシフェニル) ジフェニルメチル、4, 4', 4"-トリス(4, 5-ジクロロフタルイミドフェニル) メチル、4, 4', 4"-トリス(レブリノイルオキシフェニル) メチル、4, 4', 4"-トリス(ベンゾイルオキシフェニル) メチル、3-(イミダゾール-1-イル) ビス(4', 4"-ジメトキシフェニル) メチル、1, 1-ビス(4-メトキシフェニル)-1'-ピレニルメチル、9-アントリル、9-(9-フェニル) キサンテニル、9-(9-フェニル-10-オキシ) アントリル、1, 3-ベンゾジスルフラン-2-イル、ベンズイソチアゾリル S, S-ジオキシド、トリメチルシリル (TMS)、トリエチルシリル (TES)、トリスプロピルシリル (TIPS)、ジメチルイソプロピルシリル (IPDMS)、ジエチルイソプロピルシリル (DEIPS)、ジメチルテキシルシリル、t-ブチルジメチルシリル (TBDMS)、t-ブチルジフェニルシリル (TBDPS)、トリベンジルシリル、トリ-p-キシリルシリル、トリフェニルシリル、ジフェニルメチルシリル (DPMS)、t-ブチルメトキシフェニルシリル (TBMPs)、ホルマート、アセテート、クロロアセテート、ジクロロアセテート、トリクロロアセテート、トリフルオロアセテート、メトキシアセテート、トリフェニルメトキシアセテート、フェノキシアセテート、p-クロロフェノキシアセテート、3-フェニルプロピオネート、4-オキシペンタノエート (レブリネート)、4, 4-(エチレンジチオ) ペンタノエート (レブリノイルジチオアセタール)、アダマントエート、クロトネート、4-メトキシクロトネート、ベンゾエート、p-フェニルベンゾエート、2, 4, 6-トリメチルベンゾエート (メシトエート)、アルキルメチルカーボネート、9-フルオレニルメチルカーボネート (Fmoc)、アルキルエチルカーボネート、アルキル 2, 2, 2-トリクロロエチルカーボネート (Troc)、2-(トリメチルシリル) エチルカーボネート (TMS-EC)、2-(フェニルスルホニル) エチルカーボネート (Psec)、2-(トリフェニルホスホニオ) エチルカーボネート (Peoc)、アルキルイソブチルカーボネート、アルキルビニルカーボネートアルキルアリルカーボネート、アルキルp-ニトロフェニルカーボネート、アルキルベンジルカーボネート、アルキルp-メトキシベンジルカーボネート、アルキル 3, 4-ジメトキシベンジルカーボネート、アルキル o-ニトロベンジルカーボネート、アルキルp-ニトロベンジルカーボネート、アルキルS-ベンジルチオカーボネート、4-エトキシ-1-ナフチルカーボネート、メチルジチオカーボネート、2-ヨードベンゾエート、4-アジドブチレート、4-ニトロ-4-メチルペンタノエート、o-(ジブプロモメチル) ベンゾエート、2-ホルミルベンゼンスルホネート、2-(メチルチオメトキシ) エチル、4-(メチルチオメトキシ) ブチレート、2-(メチルチオメトキシメチル) ベンゾエート、2, 6-ジクロロ-4-メチルフェノキシアセテート、2, 6-ジクロロ-4-(1, 1, 3, 3-テ

トラメチルブチル) フェノキシアセテート、2, 4-ビス (1, 1-ジメチルプロピル) フェノキシアセテート、クロロジフェニルアセテート、イソブチレート、モノスP3イノエート (monosusp3inoate)、(E)-2-メチル-2-ブテノアート、o-(メトキシアシル) ベンゾエート、 $\alpha$ -ナフトエート、ニトラート、アルキルN, N, N', N'-テトラメチルホスホロジアミデート、アルキルN-フェニルカルバメート、ボレート、ジメチルホスフィノチオイル、アルキル2, 4-ジニトロフェニルスルホネート、メタンスルホネート (メシレート)、及びベンジルスルホネート、トシレート (Ts) が含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0246】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、酸素保護基は、ベンジル、ベンゾイル、2, 6-ジクロロベンジル、 $\epsilon$ -ブチルジメチルシリル、 $\epsilon$ -ブチルジフェニルシリル、メシレート、トシレート、4, 4'-ジメトキシトリチル (DMT)、9-フェニルキサンチン-9-イル (ピキシル)、及び9-(p-メトキシフェニル) キサンチン-9-イル (MOX) である。特定の実施形態では、ヒドロキシル保護基は、アセチル、ベンジル、 $\epsilon$ -ブチルジメチルシリル、 $\epsilon$ -ブチルジフェニルシリル及びジメトキシトリチルから選択され、より好ましいヒドロキシル保護基は、4, 4'-ジメトキシトリチルである。

10

#### 【0247】

本明細書で使用される「保護ヒドロキシル」及び「保護ヒドロキシ」という用語は、式-OR<sup>P r o</sup>の基を意味し、R<sup>P r o</sup>は、本明細書で定義される酸素保護基である。

20

#### 【0248】

##### 窒素保護基

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態は、窒素保護基 (本明細書ではアミノ保護基とも称される) を含む。窒素保護基には、-OH、-OR<sup>N P 1</sup>、-N(R<sup>N P 2</sup>)<sub>2</sub>、-C(=O)R<sup>N P 1</sup>、-C(=O)N(R<sup>N P 2</sup>)<sub>2</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sup>N P 1</sup>、-SO<sub>2</sub>R<sup>N P 1</sup>、-C(=NR<sup>N P 2</sup>)R<sup>N P 1</sup>、-C(=NR<sup>N P 2</sup>)OR<sup>N P 1</sup>、-C(=NR<sup>N P 2</sup>)N(R<sup>N P 2</sup>)<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>N(R<sup>N P 2</sup>)<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sup>N P 2</sup>、-SO<sub>2</sub>OR<sup>N P 2</sup>、-SOR<sup>N P 1</sup>、-C(=S)N(R<sup>N P 2</sup>)<sub>2</sub>、-C(=O)SR<sup>N P 2</sup>、-C(=S)SR<sup>N P 2</sup>、C<sub>1-10</sub>アルキル (例えば、アラルキル、ヘテロアラルキル)、C<sub>2-10</sub>アルケニル、C<sub>2-10</sub>アルキニル、C<sub>3-10</sub>カルボシクリル、3~14員ヘテロシクリル、C<sub>6-14</sub>アリール、及び5~14員ヘテロアリール基が含まれるが、これらに限定されず、式中、各R<sup>N P 1</sup>は、独立して、C<sub>1-10</sub>アルキル、C<sub>1-10</sub>ペルハロアルキル、C<sub>2-10</sub>アルケニル、C<sub>2-10</sub>アルキニル、ヘテロC<sub>1-10</sub>アルキル、ヘテロC<sub>2-10</sub>アルケニル、ヘテロC<sub>2-10</sub>アルキニル、C<sub>3-10</sub>カルボシクリル、3~14員ヘテロシクリル、C<sub>6-14</sub>アリール、若しくは5~14員ヘテロアリールであるか、又は2つのR<sup>N P 1</sup>が結合して、3~14員ヘテロシクリル環若しくは5~14員ヘテロアリール環を形成し、各R<sup>N P 2</sup>は、独立して、水素、C<sub>1-10</sub>アルキル、C<sub>1-10</sub>ペルハロアルキル、C<sub>2-10</sub>アルケニル、C<sub>2-10</sub>アルキニル、ヘテロC<sub>1-10</sub>アルキル、ヘテロC<sub>2-10</sub>アルケニル、ヘテロC<sub>2-10</sub>アルキニル、C<sub>3-10</sub>カルボシクリル、3~14員ヘテロシクリル、C<sub>6-14</sub>アリール、及び5~14員ヘテロアリールであるか、又は2つのR<sup>S P 3</sup>基が結合して、3~14員ヘテロシクリル環若しくは5~14員ヘテロアリール環を形成し、R<sup>N P 1</sup>及びR<sup>N P 2</sup>の各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アラルキル、アリール、及びヘテロアリールは、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、SO<sub>2</sub>(C<sub>1-C4</sub>)アルキル、SO<sub>2</sub>NH(C<sub>1-C4</sub>)アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1-C4</sub>)アルキル、N[(C<sub>1-C4</sub>)アルキル]<sub>2</sub>、C(O)NH<sub>2</sub>、COOH、COOMe、アセチル、(C<sub>1-C8</sub>)アルキル、O(C<sub>1-C8</sub>)アルキル (すなわち、C<sub>1-C8</sub>アルコキシ)、O(C<sub>1-C8</sub>)ハロアルキル、(C<sub>2-C8</sub>)アルケニル、(C<sub>2-C8</sub>)アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換ア

30

40

50

リール、 $\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{NH}(\text{Me})-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、 $\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}_2$ 、又は $\text{CH}_2-\text{アリーール}-\text{アルコキシ}$ から選択される1、2、3、4、又は5つの置換基で任意に置換され、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。

#### 【0249】

窒素保護基は当該技術分野で周知であり、参照により本明細書に組み込まれるGreene's Protecting Groups in Organic Synthesis, P. G. M. Wuts, 5<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, 2014に詳細に記載されるものを含む。

10

#### 【0250】

例示的なアミド（例えば、 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^{\text{NP}1}$ ）窒素保護基には、ホルムアミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、フェニルアセトアミド、3-フェニルプロパンアミド、ピコリンアミド、3-ピリジルカルボキサミド、N-ベンゾイルフェニルアラニル誘導体、ベンズアミド、p-フェニルベンズアミド、o-ニトロフェニルアセトアミド、o-ニトロフェノキシアセトアミド、アセトアセトアミド、(N'-ジチオベンジルオキシアシルアミノ)アセトアミド、3-(p-ヒドロキシフェニル)プロパンアミド、3-(o-ニトロフェニル)プロパンアミド、2-メチル-2-(o-ニトロフェノキシ)プロパンアミド、2-メチル-2-(o-フェニルアゾフェノキシ)プロパンアミド、4-クロロブタンアミド、3-メチル-3-ニトロブタンアミド、o-ニトロシンナミド、N-アセチルメチオニン誘導体、o-ニトロベンズアミド、及びo-(ベンゾイルオキシメチル)ベンズアミドが含まれるが、これらに限定されない。

20

#### 【0251】

例示的なカルバメート（例えば、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^{\text{NP}1}$ ）窒素保護基には、メチルカルバメート、エチルカルバメート、9-フルオレニルメチルカルバメート(Fmoc)、9-(2-スルホ)フルオレニルメチルカルバメート、9-(2,7-ジブromo)フルオレニルメチルカルバメート、2,7-ジ-tert-ブチル-[9-(10,10-ジオキソ-10,10,10,10-テトラヒドロチオキサンチル)]メチルカルバメート(DBD-Tmoc)、4-メトキシフェナシルカルバメート(Phenoc)、2,2,2-トリクロロエチルカルバメート(Troc)、2-トリメチルシリルエチルカルバメート(Teoc)、2-フェニルエチルカルバメート(hZ)、1-(1-アダマンチル)-1-メチルエチルカルバメート(Adpoc)、1,1-ジメチル-2,2-ジブromoエチルカルバメート(DB-tert-BOC)、1,1-ジメチル-2,2,2-トリクロロエチルカルバメート(TCBOC)、1-メチル-1-(4-ビフェニリル)エチルカルバメート(Bpoc)、1-(3,5-ジ-tert-ブチルフェニル)-1-メチルエチルカルバメート(t-Bumeoc)、2-(2'-及び4'-ピリジル)エチルカルバメート(Pyoc)、2-(N,N-ジシクロヘキシルカルボキサミド)エチルカルバメート、tert-ブチルカルバメート(BOC又はBoc)、1-アダマンチルカルバメート(Adoc)、ビニルカルバメート(Voc)、アリルカルバメート(Alloc)、1-イソプロピルアリルカルバメート(Ipaoc)、シンナミルカルバメート(Coc)、4-ニトロシンナミルカルバメート(Noc)、8-キノリルカルバメート、N-ヒドロキシピペリジニルカルバメート、アルキルジチオカルバメート、ベンジルカルバメート(Cbz)、p-メトキシベンジルカルバメート(Moz)、p-ニトロベンジルカルバメート、p-ブromoベンジルカルバメート、p-クロロベンジルカルバメート、2,4-ジクロロベンジルカルバメート、4-メチルスルフィニルベンジルカルバメート(Msz)、9-アントリルメチルカルバメート、ジフェニルメチルカルバメート、2-メチルチオエチルカルバメート、2-メチルスルホニルエチルカルバメート、2-(p-トルエンスルホニル)エチルカルバメート、[2-(1,3

30

40

50

ージチアニル) ] メチルカルバメート (Dm o c)、4-メチルチオフェニルカルバメート (M t p c)、2, 4-ジメチルチオフェニルカルバメート (B m p c)、2-ホスホニオエチルカルバメート (P e o c)、2-トリフェニルホスホニオイソプロピルカルバメート (P p o c)、1, 1-ジメチル-2-シアノエチルカルバメート、m-クロロ-p-アシロキシベンジルカルバメート、p- (ジヒドロキシボリル) ベンジルカルバメート、5-ベンズイソオキサゾリルメチルカルバメート、2- (トリフルオロメチル) -6-クロモニルメチルカルバメート (T c r o c)、m-ニトロフェニルカルバメート、3, 5-ジメトキシベンジルカルバメート、o-ニトロベンジルカルバメート、3, 4-ジメトキシ-6-ニトロベンジルカルバメート、フェニル (o-ニトロフェニル) メチルカルバメート、t-アミルカルバメート、s-ベンジルチオカルバメート、p-シアノベン  
 ジルカルバメート、シクロブチルカルバメート、シクロヘキシルカルバメート、シクロペンチルカルバメート、シクロプロピルメチルカルバメート、p-デシロキシベンジルカルバメート、2, 2-ジメトキシシアシルビニルカルバメート、o- (N, N-ジメチルカルボキサミド) ベンジルカルバメート、1, 1-ジメチル-3- (N, N-ジメチルカルボキサミド) プロピルカルバメート、1, 1-ジメチルプロピニルカルバメート、ジ (2-ピリジル) メチルカルバメート、2-フラニルメチルカルバメート、2-ヨードエチルカルバメート、イソボリンカルバメート、イソブチルカルバメート、イソニコチニルカルバメート、p- (p'-メトキシフェニルアゾ) ベンジルカルバメート、1-メチルシクロブチルカルバメート、1-メチルシクロヘキシルカルバメート、1-メチル-1-シクロプロピルメチルカルバメート、1-メチル-1- (3, 5-ジメトキシフェニル) エチルカルバメート、1-メチル-1- (p-フェニルアゾフェニル) エチルカルバメート、1-メチル-1-フェニルエチルカルバメート、1-メチル-1- (4-ピリジル) エチルカルバメート、フェニルカルバメート、p- (フェニルアゾ) ベンジルカルバメート、2, 4, 6-トリ-t-ブチルフェニルカルバメート、4- (トリメチルアンモニウム) ベンジルカルバメート、及び2, 4, 6-トリメチルベンジルカルバメートが含まれるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

#### 【0252】

例示的なスルホンアミド (例えば、-S (=O)<sub>2</sub>R<sup>N P 1</sup>) 窒素保護基には、例えば、p-トルエンスルホンアミド (T s)、ベンゼンスルホンアミド、2, 3, 6-トリメチル-4-メトキシベンゼンスルホンアミド (M t r)、2, 4, 6-トリメトキシベンゼンスルホンアミド (M t b)、2, 6-ジメチル-4-メトキシベンゼンスルホンアミド (P m e)、2, 3, 5, 6-テトラメチル-4-メトキシベンゼンスルホンアミド (M t e)、4-メトキシベンゼンスルホンアミド (M b s)、2, 4, 6-トリメチルベンゼンスルホンアミド (M t s)、2, 6-ジメトキシ-4-メチルベンゼンスルホンアミド (i M d s)、2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン-6-スルホンアミド (P m c)、メタンスルホンアミド (M s)、β-トリメチルシリルエタンスルホンアミド (S E S)、9-アントラセンスルホンアミド、4- (4', 8'-ジメトキシナフチルメチル) ベンゼンスルホンアミド (D N M B S)、ベンジルスルホンアミド、トリフルオロメチルスルホンアミド、及びフェナシルスルホンアミドが含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0253】

更なる例示的な窒素保護基には、フェノチアジニル- (10)-アシル誘導体、N'-p-トルエンスルホニルアミノアシル誘導体、N'-フェニルアミノチオアシル誘導体、N-ベンゾイルフェニルアラニル誘導体、N-アセチルメチオニン誘導体、4, 5-ジフェニル-3-オキサゾリン-2-オン、N-フタルイミド、N-ジチアスNP2イミド (D t s)、N-2, 3-ジフェニルマレイミド、N-2, 5-ジメチルピロール、N-1, 1, 4, 4-テトラメチルジシリルアザシクロペンタン付加体 (S T A B A S E)、5-置換1, 3-ジメチル-1, 3, 5-トリアザシクロヘキサン-2-オン、5-置換1, 3-ジベンジル-1, 3, 5-トリアザシクロヘキサン-2-オン、1-置換3, 5-ジニトロ-4-ピリドン、N-メチルアミン、N-アリルアミン、N- [2- (トリメチ

ルシリル) エトキシ] メチルアミン (SEM)、N-3-アセトキシプロピルアミン、N-(1-イソプロピル-4-ニトロ-2-オキソ-3-ピロリン-3-イル) アミン、四級アンモニウム塩、N-ベンジルアミン、N-ジ(4-メトキシフェニル) メチルアミン、N-5-ジベンゾスベリルアミン、N-トリフェニルメチルアミン (Tr)、N-[ (4-メトキシフェニル) ジフェニルメチル] アミン (MMTr)、N-9-フェニルフルオレニルアミン (PhF)、N-2, 7-ジクロロ-9-フルオレニルメチレンアミン、N-フェロセニルメチルアミノ (Fcm)、N-2-ピコリルアミノ N'-オキシド、N-1, 1-ジメチルチオメチレンアミン、N-ベンジリデンアミン、N-p-メトキシベンジリデンアミン、N-ジフェニルメチレンアミン、N-[ (2-ピリジル) メシチル] メチレンアミン、N-(N', N'-ジメチルアミノメチレン) アミン、N, N'-イソプロピリデンジアミン、N-p-ニトロベンジリデンアミン、N-サリチリデンアミン、N-5-クロロサリチリデンアミン、N-(5-クロロ-2-ヒドロキシフェニル) フェニルメチレンアミン、N-シクロヘキシリデンアミン、N-(5, 5-ジメチル-3-オキソ-1-シクロヘキセニル) アミン、N-ボラン及びN-ジフェニルボリン酸誘導体、N-[フェニル(ペントNP1シルクロム-又はタングステン) アシル] アミン、N-銅キレート、N-亜鉛キレート、N-ニトロアミン、N-ニトロソアミン、アミンN-オキシド、ジフェニルホスフィンアミド (Dpp)、ジメチルチオホスフィンアミド (Mpt)、ジフェニルチオホスフィンアミド (Ppt)、ジアルキルホスホルアミデート、ジベンジルホスホルアミデート、ジフェニルホスホルアミデート、ベンゼンスルフェンアミド、o-ニトロベンゼンスルフェンアミド (Nps)、2, 4-ジニトロベンゼンスルフェンアミド、ペンタクロロベンゼンスルフェンアミド、2-ニトロ-4-メトキシベンゼンスルフェンアミド、トリフェニルメチルスルフェンアミド、及び3-ニトロピリジンスルフェンアミド (Npys) が含まれるが、これらに限定されない。

#### 【0254】

#### 硫黄保護基

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態は、硫黄保護基(本明細書ではチオール保護基とも称される)を含む。硫黄保護基には、 $-R^{SP1}$ 、 $-N(R^{SP2})_2$ 、 $-C(=O)SR^{SP1}$ 、 $-C(=O)R^{SP1}$ 、 $-CO_2R^{SP1}$ 、 $-C(=O)N(R^{SP2})_2$ 、 $-C(=NR^{SP2})R^{SP1}$ 、 $-C(=NR^{SP2})OR^{SP1}$ 、 $-C(=NR^{SP2})N(R^{SP2})_2$ 、 $-S(=O)R^{SP1}$ 、 $-SO_2R^{SP1}$ 、 $-Si(R^{SP1})_3$ 、 $-P(R^{SP3})_2$ 、 $-P(R^{SP3})+3X^-$ 、 $-P(OR^{SP3})_2$ 、 $-P(OR^{SP3})+3X^-$ 、 $-P(=O)(R^{SP1})_2$ 、 $-P(=O)(OR^{SP3})_2$ 、及び $-P(=O)(N(R^{SP2})_2)_2$ が含まれるが、これらに限定されず、式中、

$X^-$ は、対イオンであり、各 $R^{SP1}$ は、独立して、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ ペルハロアルキル、 $C_{2-10}$ アルケニル、 $C_{2-10}$ アルキニル、ヘテロ $C_{1-10}$ アルキル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルケニル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、3~14員ヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリール、若しくは5~14員ヘテロアリールであるか、又は2つの $R^{SP1}$ 基が結合して、3~14員ヘテロシクリル環若しくは5~14員ヘテロアリール環を形成し、各 $R^{SP2}$ は、水素、 $-OH$ 、 $-OR^{SP1}$ 、 $-N(R^{SP3})_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(=O)R^{SP1}$ 、 $-C(=O)N(R^{SP3})_2$ 、 $-CO_2R^{SP1}$ 、 $-SO_2R^{SP1}$ 、 $-C(=NR^{SP3})OR^{SP1}$ 、 $-C(=NR^{SP3})N(R^{SP3})_2$ 、 $-SO_2N(R^{SP3})_2$ 、 $-SO_2R^{SP3}$ 、 $-SO_2OR^{SP3}$ 、 $-SOR^{SP1}$ 、 $-C(=S)N(R^{SP3})_2$ 、 $-C(=O)SR^{SP3}$ 、 $-C(=S)SR^{SP3}$ 、 $-P(=O)(R^{SP1})_2$ 、 $-P(=O)(OR^{SP3})_2$ 、 $-P(=O)(N(R^{SP3})_2)_2$ 、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ ペルハロアルキル、 $C_{2-10}$ アルケニル、 $C_{2-10}$ アルキニル、ヘテロ $C_{1-10}$ アルキル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルケニル、ヘテロ $C_{2-10}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、3~14員ヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリール、及び5~14員ヘテロアリールであるか、又は2つの $R^{SP2}$ 基が結合して、3~14員ヘテロシクリル環若しくは5~14員ヘテロアリール環を形成し、各 $R^{SP3}$ は、独立して、水素、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ ペルハロアルキル、 $C_{2-10}$

10 アルケニル、C<sub>2</sub>-10 アルキニル、ヘテロC<sub>1</sub>-10 アルキル、ヘテロC<sub>2</sub>-10 アルケニル、ヘテロC<sub>2</sub>-10 アルキニル、C<sub>3</sub>-10 カルボシクリル、3~14 員ヘテロシクリル、C<sub>6</sub>-14 アリール、及び5~14 員ヘテロアリールであるか、又は2つのR<sup>S</sup>P<sup>3</sup>基が結合して、3~14 員ヘテロシクリル環若しくは5~14 員ヘテロアリール環を形成し、R<sup>S</sup>P<sup>1</sup>、R<sup>S</sup>P<sup>2</sup>、及びR<sup>S</sup>P<sup>3</sup>の各アルキル、アルケニル、アルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アラルキル、アリール、及びヘテロアリールは、独立して、OH、CN、SC(O)Ph、オキソ(=O)、SH、SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、SO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、SO<sub>2</sub>NH(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル、N[(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)アルキル]<sub>2</sub>、C(O)NH<sub>2</sub>、COOH、COOMe、アセチル、(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)アルキル、O(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)アルキル(すなわち、C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>アルコキシ)、O(C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)ハロアルキル、(C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)アルケニル、(C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、NH<sub>2</sub>-C(O)-アルキレン、NH(Me)-C(O)-アルキレン、CH<sub>2</sub>-C(O)-アルキル、C(O)-アルキル、アルキルカルボニルアミニル、CH<sub>2</sub>-[CH(OH)]<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-OH、CH<sub>2</sub>-[CH(OH)]<sub>m</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-NH<sub>2</sub>、又はCH<sub>2</sub>-アリール-アルコキシから選択される1、2、3、4、又は5つの置換基で置換され得、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。

10

#### 【0255】

硫黄保護基は当該技術分野で周知であり、参照により本明細書に組み込まれるGreene's Protecting Groups in Organic Synthesis, P. G. M. Wuts, 5<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, 2014に詳細に記載されるものを含む。

20

#### 【0256】

#### オリゴヌクレオチド

式(I)又は(II)のヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドのどこへでも位置し得ることに留意されたい。一部の実施形態では、式(I)又は(II)のヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの5'末端又は3'末端に存在する。一部の実施形態では、式(I)又は(II)のヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの内部位置に存在する。

30

#### 【0257】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、すなわち式(I)又は(II)のヌクレオチドに加えて、修飾糖を有するヌクレオシドを更に含む。「修飾糖」とは、2'-デオキシ(すなわち、2'-H)リボース糖でも2'-OHリボース糖でもない糖又は部分を意味する。修飾糖を含む一部の例示的なヌクレオチドは、2'-Fリボース、2'-OMeリボース、2'-O、4'-C-メチレンリボース(ロックド核酸、LNA)、アンヒドロヘキシトール(1,5-アンヒドロヘキシトール核酸、HNA)、シクロヘキセン(シクロヘキセン核酸、CeNA)、2'-メトキシエチルリボース、2'-O-アリルリボース、2'-C-アリルリボース、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)リボース、2'-O-ジメチルアミノエトキシエチル(2'-O-DMAEOE)リボース、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)リボース、2'-Fアラビノース(2'-ara-F)、トレオース(トレオース核酸、TNA)、及び2,3-ジヒドロキシプロピル(グリコール核酸、GNA)である。修飾糖を有するヌクレオシドは、オリゴヌクレオチドの任意の位置に存在し得ることに留意されたい。

40

#### 【0258】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも1つ、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10個、以上の2'-フルオロ(2'-F)ヌクレオチドを更に含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10個の2'-Fヌクレオチドを含むことができる。2'-Fヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの任意の位置に存在し得ることに留意されたい。

50

## 【0259】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、式 (I) / (II) の 2'-ヌクレオシド及び 2'-Fヌクレオシドを、例えば単独で、含む。

## 【0260】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 つ、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 個以上の 2'-OMeヌクレオチドを更に含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 個の 2'-OMeヌクレオチドを含むことができる。2'-OMeヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの任意の位置に存在し得ることに留意されたい。

## 【0261】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、式 (I) / (II) の 2'-ヌクレオシド及び 2'-OMeヌクレオシドを、例えば単独で、含む。一部の他の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、式 (I) / (II) の 2'-ヌクレオシド、2'-OMeヌクレオシド、及び 2'-Fヌクレオシドを、例えば単独で、含む。

## 【0262】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも 1 つ、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 個以上の 2'-デオキシ、例えば、2'-Hヌクレオチドを更に含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は 10 個の 2'-デオキシ、例えば、2'-Hヌクレオチドを含むことができる。2'-デオキシ、例えば、2'-Hヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの任意の位置に存在し得ることに留意されたい。例えば、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの 5' 末端から数えて、2 位、5 位、7 位、12 位、14 位、及び 16 位のうちの 1、2、3、4、5、又は 6 つに 2'-デオキシ、例えば、2'-Hヌクレオチドを含むことができる。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの 5' 末端から数えて、5 位及び 7 位に 2'-デオキシヌクレオチドを含む。

## 【0263】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、式 (I) / (II) のヌクレオシド及び 2'-デオキシ (2'-H)ヌクレオチドを、例えば単独で、含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、式 (I) / (II) のヌクレオシド、2'-OMeヌクレオシド、及び 2'-デオキシ (2'-H)ヌクレオチドを、例えば単独で、含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、式 (I) / (II) のヌクレオシド、2'-Fヌクレオシド、及び 2'-デオキシ (2'-H)ヌクレオチドを、例えば単独で、含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、式 (I) / (II) のヌクレオシド、2'-OMeヌクレオシド、2'-Fヌクレオシド、及び 2'-デオキシ (2'-H)ヌクレオチドを、例えば単独で、含む。

## 【0264】

本明細書に記載される態様のいずれか 1 つの一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、すなわち式 (I) 又は (II) のヌクレオチドに加えて、非天然核酸塩基を更に含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、独立して選択される非天然核酸塩基を含む 1 つ以上、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 個以上のヌクレオチドを含むことができる。存在する場合、非天然核酸塩基を含むヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドのどこへでも存在し得る。

## 【0265】

「非天然核酸塩基」とは、アデニンでも、グアニンでも、シトシンでも、ウラシルでも、チミンでもない核酸塩基を意味する。例示的な非天然核酸塩基には、イノシン、キサントシン、ヒポキサントシン、ヌブラリン、イソグアニシン、ツルシジン、並びにアデニン、グアニン、シトシン、及びウラシルの置換又は修飾類似体、例えば、2-アミノアデニン並びにアデニン及びグアニンの他のアルキル誘導体、2-プロピル並びにアデニン及びグアニンの他のアルキル誘導体、5-ハロウラシル及びシトシン、5-プロピニルウラシル及びシトシン、6-アゾウラシル、シトシン、及びチミン、5-ウラシル (シュードウラシ

10

20

30

40

50

ル)、4-チオウラシル、5-ハロウラシル、5-(2-アミノプロピル)ウラシル、5-アミノアリルウラシル、8-ハロ、アミノ、チオール、チオアルキル、ヒドロキシル、並びに他の8-置換アデニン及びグアニン、5-トリフルオロメチル並びに他の5-置換ウラシル及びシトシン、7-メチルグアニン、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン並びにN-2、N-6、及びO-6置換プリンが挙げられ、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシル及び5-プロピニルシトシン、ジヒドロウラシル、3-デアザ-5-アザシトシン、2-アミノプリン、5-アルキルウラシル、7-アルキルグアニン、5-アルキルシトシン、7-デアザアデニン、N6、N6-ジメチルアデニン、2,6-ジアミノプリン、5-アミノ-アリル-ウラシル、N3-メチルウラシル、置換1,2,4-トリアゾール、2-ピリジノン、5-ニトロインドール、3-ニトロピロール、5-メトキシウラシル、ウラシル-5-オキシ酢酸、5-メトキシカルボニルメチルウラシル、5-メチル-2-チオウラシル、5-メトキシカルボニルメチル-2-チオウラシル、5-メチルアミノメチル-2-チオウラシル、3-(3-アミノ-3カルボキシプロピル)ウラシル、3-メチルシトシン、5-メチルシトシン、N<sup>4</sup>-アセチルシトシン、2-チオシトシン、N6-メチルアデニン、N6-イソペンテニルアデニン、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデニン、N-メチルグアニン、又はO-アルキル化塩基が含まれるが、これらに限定されない。更なるプリン及びピリミジンには、米国特許第3,687,808号に開示されているもの、Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. I., ed. John Wiley & Sons, 1990に開示されているもの、及びEnglisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613によって開示されているものが含まれ、これら全ての内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

#### 【0266】

一部の実施形態では、非天然核酸塩基は、イノシン、キサンチン、ヒポキサンチン、ヌブラリン、イソグアニシン、ツベルシジン、2-(ハロ)アデニン、2-(アルキル)アデニン、2-(プロピル)アデニン、2-(アミノ)アデニン、2-(アミノアルキル)アデニン、2-(アミノプロピル)アデニン、2-(メチルチオ)-N<sup>6</sup>-(イソペンテニル)アデニン、7-(デアザ)アデニン、8-(アルケニル)アデニン、8-(アルキル)アデニン、8-(アルキニル)アデニン、8-(アミノ)アデニン、8-(ハロ)アデニン、8-(ヒドロキシル)アデニン、8-(チオアルキル)アデニン、8-(チオール)アデニン、N<sup>6</sup>-(イソペンチル)アデニン、N<sup>6</sup>-(メチル)アデニン、N<sup>6</sup>、N<sup>6</sup>-(ジメチル)アデニン、2-(アルキル)グアニン、2-(プロピル)グアニン、6-(アルキル)グアニン、6-(メチル)グアニン、7-(アルキル)グアニン、7-(メチル)グアニン、7-(デアザ)グアニン、8-(アルキル)グアニン、8-(アルケニル)グアニン、8-(アルキニル)グアニン、8-(アミノ)グアニン、8-(ハロ)グアニン、8-(ヒドロキシル)グアニン、8-(チオアルキル)グアニン、8-(チオール)グアニン、N-(メチル)グアニン、2-(チオ)シトシン、3-(デアザ)-5-(アザ)シトシン、3-(アルキル)シトシン、3-(メチル)シトシン、5-(アルキル)シトシン、5-(アルキニル)シトシン、5-(ハロ)シトシン、5-(メチル)シトシン、5-(プロピニル)シトシン、5-(プロピニル)シトシン、5-(トリフルオロメチル)シトシン、6-(アゾ)シトシン、N<sup>4</sup>-(アセチル)シトシン、3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)ウラシル、2-(チオ)ウラシル、5-(メチル)-2-(チオ)ウラシル、5-(メチルアミノメチル)-2-(チオ)ウラシル、4-(チオ)ウラシル、5-(メチル)-4-(チオ)ウラシル、5-(メチルアミノメチル)-4-(チオ)ウラシル、5-(メチル)-2,4-(ジチオ)ウラシル、5-(メチルアミノメチル)-2,4-(ジチオ)ウラシル、5-(2-アミノプロピル)ウラシル、5-(アルキル)ウラシル、5-(アルキニル)ウラシル、5-(アリルアミノ)ウラシル、5-(アミノアリル)ウラシル、5-(アミノアルキル)ウラシル、5-(グアニジ

30

40

50

ニウムアルキル) ウラシル、5 - (1, 3 - ジアゾール - 1 - アルキル) ウラシル、5 -  
 (シアノアルキル) ウラシル、5 - (ジアルキルアミノアルキル) ウラシル、5 - (ジメ  
 チルアミノアルキル) ウラシル、5 - (ハロ) ウラシル、5 - (メトキシ) ウラシル、ウ  
 ラシル - 5 - オキシ酢酸、5 - (メトキシカルボニルメチル) - 2 - (チオ) ウラシル、  
 5 - (メトキシカルボニルメチル) ウラシル、5 - (プロピニル) ウラシル、5 - (プロ  
 ピニル) ウラシル、5 - (トリフルオロメチル) ウラシル、6 - (アゾ) ウラシル、ジヒ  
 ドロウラシル、 $N^3$  - (メチル) ウラシル、5 - ウラシル (すなわち、シュードウラシル  
 )、2 - (チオ) シュードウラシル、4 - (チオ) シュードウラシル、2, 4 - (ジチオ  
 ) シュードウラシル、5 - (アルキル) シュードウラシル、5 - (メチル) シュードウラ  
 シル、5 - (アルキル) - 2 - (チオ) シュードウラシル、5 - (メチル) - 2 - (チオ  
 ) シュードウラシル、5 - (アルキル) - 4 - (チオ) シュードウラシル、5 - (メチル  
 ) - 4 - (チオ) シュードウラシル、5 - (アルキル) - 2, 4 - (ジチオ) シュードウ  
 ラシル、5 - (メチル) - 2, 4 - (ジチオ) シュードウラシル、1 - 置換シュードウラ  
 シル、1 - 置換 2 (チオ) - シュードウラシル、1 - 置換 4 - (チオ) シュードウラシル  
 、1 - 置換 2, 4 - (ジチオ) シュードウラシル、1 - (アミノカルボニルエチレニル)  
 - シュードウラシル、1 - (アミノカルボニルエチレニル) - 2 (チオ) - シュードウラ  
 シル、1 - (アミノカルボニルエチレニル) - 4 - (チオ) シュードウラシル、1 - (ア  
 ミノカルボニルエチレニル) - 2, 4 - (ジチオ) シュードウラシル、1 - (アミノアル  
 キルアミノカルボニルエチレニル) - シュードウラシル、1 - (アミノアルキルアミノカ  
 ルボニルエチレニル) - 2 (チオ) - シュードウラシル、1 - (アミノアルキルアミノカ  
 ルボニルエチレニル) - 4 - (チオ) シュードウラシル、1 - (アミノアルキルアミノカ  
 ルボニルエチレニル) - 2, 4 - (ジチオ) シュードウラシル、1, 3 - (ジアザ) - 2  
 - (オキソ) - フェノキサジン - 1 - イル、1 - (アザ) - 2 - (チオ) - 3 - (アザ)  
 - フェノキサジン - 1 - イル、1, 3 - (ジアザ) - 2 - (オキソ) - フェンチアジン -  
 1 - イル、1 - (アザ) - 2 - (チオ) - 3 - (アザ) - フェンチアジン - 1 - イル、7  
 - 置換 1, 3 - (ジアザ) - 2 - (オキソ) - フェノキサジン - 1 - イル、7 - 置換 1 -  
 (アザ) - 2 - (チオ) - 3 - (アザ) - フェノキサジン - 1 - イル、7 - 置換 1, 3 -  
 (ジアザ) - 2 - (オキソ) - フェンチアジン - 1 - イル、7 - 置換 1 - (アザ) - 2 -  
 (チオ) - 3 - (アザ) - フェンチアジン - 1 - イル、7 - (アミノアルキルヒドロキシ  
 ) - 1, 3 - (ジアザ) - 2 - (オキソ) - フェノキサジン - 1 - イル、7 - (アミノアル  
 キルヒドロキシ) - 1 - (アザ) - 2 - (チオ) - 3 - (アザ) - フェノキサジン - 1  
 - イル、7 - (アミノアルキルヒドロキシ) - 1, 3 - (ジアザ) - 2 - (オキソ) - フ  
 ェンチアジン - 1 - イル、7 - (アミノアルキルヒドロキシ) - 1 - (アザ) - 2 - (チ  
 オ) - 3 - (アザ) - フェンチアジン - 1 - イル、7 - (グアニジニウムアルキルヒドロ  
 キシ) - 1, 3 - (ジアザ) - 2 - (オキソ) - フェノキサジン - 1 - イル、7 - (グア  
 ニジニウムアルキルヒドロキシ) - 1 - (アザ) - 2 - (チオ) - 3 - (アザ) - フェノ  
 キサジン - 1 - イル、7 - (グアニジニウムアルキル - ヒドロキシ) - 1, 3 - (ジアザ  
 ) - 2 - (オキソ) - フェンチアジン - 1 - イル、7 - (グアニジニウムアルキルヒドロ  
 キシ) - 1 - (アザ) - 2 - (チオ) - 3 - (アザ) - フェンチアジン - 1 - イル、1,  
 3, 5 - (トリアザ) - 2, 6 - (ジオキサ) - ナフタレン、イノシン、キサンチン、ヒ  
 ポキサンチン、ヌブラリン、ツベルシジン、イソグアニシン、イノシニル、2 - アザ - イ  
 ノシニル、7 - デアザ - イノシニル、ニトロイミダゾリル、ニトロピラゾリル、ニトロベ  
 ンズイミダゾリル、ニトロインダゾリル、アミノインドリル、ピロロピリミジニル、3 -  
 (メチル) イソカルボスチリリル、5 - (メチル) イソカルボスチリリル、3 - (メチル  
 ) - 7 - (プロピニル) イソカルボスチリリル、7 - (アザ) インドリル、6 - (メチル  
 ) - 7 - (アザ) インドリル、イミジゾピリジニル、9 - (メチル) - イミジゾピリジニ  
 ル、ピロロピリジニル、イソカルボスチリリル、7 - (プロピニル) イソカルボスチリリ  
 ル、プロピニル - 7 - (アザ) インドリル、2, 4, 5 - (トリメチル) フェニル、4 -  
 (メチル) インドリル、4, 6 - (ジメチル) インドリル、フェニル、ナフタレニル、ア  
 ントラセニル、フェナントラセニル、ピレニル、スチルベニル、テトラセニル、ペンタセ

10

20

30

40

50

ニル、ジフルオロトリル、4-(フルオロ)-6-(メチル)ベンズイミダゾール、4-(メチル)ベンズイミダゾール、6-(アゾ)チミン、2-ピリジノン、5-ニトロインドール、3-ニトロピロール、6-(アザ)ピリミジン、2-(アミノ)プリン、2,6-(ジアミノ)プリン、5-置換ピリミジン、N<sup>2</sup>-置換プリン、N<sup>6</sup>-置換プリン、O<sup>6</sup>-置換プリン、置換1,2,4-トリアゾール、及びそれらの任意のO-アルキル化又はN-アルキル化誘導体からなる群から選択され得る。

【0267】

一部の実施形態では、非天然核酸塩基は、修飾核酸塩基であり、すなわち、核酸塩基は、本明細書に記載される核酸塩基修飾を含み、例えば、核酸塩基は、天然核酸塩基のうちの任意の核酸塩基の置換又は修飾類似体である。核酸塩基修飾の例には、当技術分野で知られている、アルキル基又はアミノアルキル、並びにグアニジニウム及びアミジン官能基などの他のカチオン性基を有するC-5ピリミジン、アルキル基又はアミノアルキル、並びにプリン、G-クランプ、グアニジニウムG-クランプ、及びシュードウリジンのグアニジニウム及びアミジン官能基などの他のカチオン性基を有するN<sup>2</sup>-及びN<sup>6</sup>-が含まれるが、これらに限定されない。

【0268】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、非天然核酸塩基は、ユニバーサル核酸塩基である。本明細書で使用される場合、ユニバーサル核酸塩基は、アデニン、シトシン、グアニン、及びウラシルの全てと、溶融挙動、細胞内酵素による認識、又はユニバーサル核酸塩基を含むオリゴヌクレオチドの活性に実質的に影響せずに、塩基対形成し得る任意の修飾又は非修飾の天然又は非天然核酸塩基である。一部の例示的なユニバーサル核酸塩基には、2,4-ジフルオロトルエン、ニトロピロリル、ニトロインドリル、8-アザ-7-デアザアデニン、4-フルオロ-6-メチルベンズイミダゾール、4-メチルベンズイミダゾール、3-メチルイソカルボスチリル、5-メチルイソカルボスチリル、3-メチル-7-プロピニルイソカルボスチリル、7-アザインドリル、6-メチル-7-アザインドリル、イミジソピリジニル、9-メチル-イミジソピリジニル、ピロロピリジニル、イソカルボスチリル、7-プロピニルイソカルボスチリル、プロピニル-7-アザインドリル、2,4,5-トリメチルフェニル、4-メチルイノリル、4,6-ジメチルインドリル、フェニル、ナプタレニル、アントラセニル、フェナントラセニル、ピレニル、スチルベニル、テトラセニル、ペンタセニル、及びその構造誘導体が含まれるが、これらに限定されない。

【0269】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、非成熟核酸塩基は、保護核酸塩基である。本明細書で使用される場合、「保護核酸塩基」は、窒素保護基、及び／又は酸素保護基、及び／又は硫黄保護基を含む、核酸塩基を指す。

【0270】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、非天然核酸塩基は、アデニン、シトシン、グアニン、チミン、及びウラシルから選択される核酸塩基の修飾、保護、又は置換された類似体である。

【0271】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、それと結合された固体支持体を更に含む。

【0272】

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、数個のヌクレオチド（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10個のヌクレオチド）の長さから数百のヌクレオチド長までの範囲であり得る。例えば、オリゴヌクレオチドは、5つのヌクレオチド～100個のヌクレオチドの長さであり得る。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、10個のヌクレオチド～50個のヌクレオチドの長さである。例えば、オリゴヌクレオチドは、15～35、より一般的には18～25、更により一般的には19～24、最も一般的には19～21塩基対の長さである。一部の実施形態では、25～30個のヌクレオチドの

**【 0 2 7 3 】**

50

のパターンは、S p 立体配置での少なくとも 1 1 個のヌクレオチド間結合と、キラルでない 7 つ以下のヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、S p 立体配置での少なくとも 1 2 個のヌクレオチド間結合と、キラルでない 6 つ以下のヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、S p 立体配置での少なくとも 1 3 個のヌクレオチド間結合と、キラルでない 6 つ以下のヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、S p 立体配置での少なくとも 1 4 個のヌクレオチド間結合と、キラルでない 5 つ以下のヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態では、骨格キラル中心の通常のパターンは、S p 立体配置での少なくとも 1 5 個のヌクレオチド間結合と、キラルでない 4 つ以下のヌクレオチド間結合とを含む。一部の実施形態では、S p 立体配置でのヌクレオチド間結合は、連続であってもよく、又は連続でなくてもよい。一部の実施形態では、R p 立体配置でのヌクレオチド間結合は、連続であってもよく、又は連続でなくてもよい。一部の実施形態では、キラルでないヌクレオチド間結合は、連続であってもよく、又は連続でなくてもよい。

10

#### 【0274】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、立体化学ブロックを含む。一部の実施形態では、ブロックは、ブロックの各ヌクレオチド間結合が R p である点で R p ブロックである。一部の実施形態では、5' - ブロックは、R p ブロックである。一部の実施形態では、3' - ブロックは、R p ブロックである。一部の実施形態では、ブロックは、ブロックの各ヌクレオチド間結合が S p である点で S p ブロックである。一部の実施形態では、5' - ブロックは、S p ブロックである。一部の実施形態では、3' - ブロックは、S p ブロックである。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、R p ブロック及び S p ブロックの両方を含む。一部の実施形態では、提供されたオリゴヌクレオチドは、1 つ以上の R p ブロックを含むが、S p ブロックを含まない。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、1 つ以上の S p ブロックを含むが、R p ブロックを含まない。一部の実施形態では、提供されるオリゴヌクレオチドは、各ヌクレオチド間結合が天然のリン酸結合である、1 つ以上の P O ブロックを含む。

20

#### 【0275】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴンヌクレオチドは、各糖部分が 2' - フルオロ修飾を含む、5' - ブロックである S p ブロックを含む。一部の実施形態では、5' - ブロックは、ヌクレオチド間結合の各々が修飾ヌクレオチド間結合であり、各糖部分が 2' - フルオロ修飾を含む、S p ブロックである。一部の実施形態では、5' - ブロックは、ヌクレオシド間結合の各々がホスホロチオエート結合であり、各糖部分が 2' - フルオロ修飾を含む、S p ブロックである。一部の実施形態では、5' - ブロックは、4 つ以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、5' - ブロックは、5 つ以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、5' - ブロックは、6 つ以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、5' - ブロックは、7 つ以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、3' - ブロックは、各糖部分が 2' - フルオロ修飾を含む S p ブロックである。一部の実施形態では、3' - ブロックは、ヌクレオチド間結合の各々が修飾ヌクレオチド間結合であり、各糖部分が 2' - フルオロ修飾を含む、S p ブロックである。一部の実施形態では、3' - ブロックは、ヌクレオチド間結合の各々がホスホロチオエート結合であり、各糖部分が 2' - フルオロ修飾を含む、S p ブロックである。一部の実施形態では、3' - ブロックは、4 つ以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、3' - ブロックは、5 つ以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、3' - ブロックは、6 つ以上のヌクレオシド単位を含む。一部の実施形態では、3' - ブロックは、7 つ以上のヌクレオシド単位を含む。

30

40

#### 【0276】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、あるタイプのヌクレオシドをある領域内に含むか、又はオリゴヌクレオチドに、特定のタイプのヌクレオチド間結合、例えば、天然のリン酸結合、修飾ヌクレオチド間結合、R p キラルヌクレオチ

50

ド間結合、S pキラルヌクレオチド間結合などが続く。一部の実施形態では、Aに、S pが続く。一部の実施形態では、Aに、R pが続く。一部の実施形態では、Aに、天然のリン酸結合(P O)が続く。一部の実施形態では、Uに、S pが続く。一部の実施形態では、Uに、R pが続く。一部の実施形態では、Uに、天然のリン酸結合(P O)が続く。一部の実施形態では、Cに、S pが続く。一部の実施形態では、Cに、R pが続く。一部の実施形態では、Cに、天然のリン酸結合(P O)が続く。一部の実施形態では、Gに、S pが続く。一部の実施形態では、Gに、R pが続く。一部の実施形態では、Gに、天然のリン酸結合(P O)が続く。一部の実施形態では、C及びUに、S pが続く。一部の実施形態では、C及びUに、R pが続く。一部の実施形態では、C及びUに、天然のリン酸結合(P O)が続く。一部の実施形態では、A及びGに、S pが続く。一部の実施形態では、A及びGに、R pが続く。

10

#### 【0277】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、5'リン酸化されるか、又は5'プライム末端にホスホリル類似体を含む。5'-リン酸修飾は、RISC媒介性遺伝子サイレンシングと適合性がある修飾を含む。好適な修飾には、5'-モノホスフェート( $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{O}-5'$ )、5'-ジホスフェート( $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{O}-\text{P}(\text{HO})(\text{O})-\text{O}-5'$ )、5'-トリホスフェート( $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{O}-(\text{HO})(\text{O})\text{P}-\text{O}-\text{P}(\text{HO})(\text{O})-\text{O}-5'$ )、5'-グアノシンキャップ(7-メチル化又は非メチル化)(7m-G-O-5'-( $\text{HO})(\text{O})\text{P}-\text{O}-(\text{HO})(\text{O})\text{P}-\text{O}-\text{P}(\text{HO})(\text{O})-\text{O}-5'$ )、5'-アデノシンキャップ(Appp)、及び任意の修飾又は未修飾ヌクレオチドキャップ構造(N-O-5'-( $\text{HO})(\text{O})\text{P}-\text{O}-(\text{HO})(\text{O})\text{P}-\text{O}-\text{P}(\text{HO})(\text{O})-\text{O}-5'$ )、5'-モノチオホスフェート(ホスホロチオエート; $(\text{HO})_2(\text{S})\text{P}-\text{O}-5'$ )、5'-モノジチオホスフェート(ホスホロジチオエート; $(\text{HO})(\text{HS})(\text{S})\text{P}-\text{O}-5'$ )、5'-ホスホロチオレート( $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{S}-5'$ )、酸素/硫黄置換モノホスフェート、ジホスフェート及びトリホスフェートの任意の追加の組み合わせ(例えば、5'-アルファーチオトリホスフェート、5'-ガンマーチオトリホスフェートなど)、5'-ホスホリアルミデート( $(\text{HO})_2(\text{O})\text{P}-\text{NH}-5'$ 、( $\text{HO})(\text{NH}_2)(\text{O})\text{P}-\text{O}-5'$ )、5'-アルキルホスホネート(例えば、RP(OH)(O)-O-5'-、R=アルキル、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、プロピルなど)、5'-アルケニルホスホネート(すなわち、ビニル、置換ビニル、例えば、OH) $_2(\text{O})\text{P}-5'-\text{CH}=\text{}$ 又は( $\text{OH})_2(\text{O})\text{P}-5'-\text{CH}_2-$ )、5'-アルキルエーテルホスホネート(例えば、R(OH)(O)P-O-5'、R=アルキルエーテル、例えば、メトキシメチル(MeOCH<sub>2</sub>-)、エトキシメチルなど)が含まれる。他の例示的な5'-修飾には、Zが少なくとも1回置換されていてもよいアルキルである場合、例えば、( $(\text{HO})_2(\text{X})\text{P}-\text{O}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、( $(\text{HO})_2(\text{X})\text{P}-\text{O}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、( $(\text{HO})_2(\text{X})\text{P}-[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ ；ジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体： $\text{HO}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}_2\text{N}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{Me}_2\text{N}[-(\text{CH}_2)_a-\text{O}-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{HO}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}_2\text{N}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{H}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ 、 $\text{Me}_2\text{N}[-(\text{CH}_2)_a-\text{P}(\text{X})(\text{OH})-\text{O}]_b-5'$ が含まれ、式中、a及びbは、各々独立して、1~10である。他の実施形態は、酸素及び/又は硫黄のBH<sub>3</sub>、BH<sub>3</sub><sup>-</sup>、及び/又はSeによる置換を含む。

20

30

40

#### 【0278】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、5'-ビニルホスホネート基を含む。例えば、オリゴヌクレオチドは、5'-E-ビニルホスホネート基を含む。一部の他の非限定的な例では、オリゴヌクレオチドは、5'-

50

Zービニルホスホネート基を含む。

【0279】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、5'末端に、5'-モルホリノ、5'-ジメチルアミノ、5'-デオキシ、逆脱塩基、又は逆脱塩基ロックド核酸修飾を含む。

【0280】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、熱的不安定化修飾を含み得る。例えば、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの5'末端から数えて、最初の9つのヌクレオチド位置内に二本鎖の少なくとも1つの熱的不安定化修飾を含み得る。一部の実施形態では、熱的不安定化修飾は、アンチセンス鎖の5'末端から数えて、2位、3位、4位、5位、6位、7位、8位、又は9位に位置する。一部の実施形態では、熱的不安定化修飾は、オリゴヌクレオチドの5'末端から数えて、2位～9位、又は好ましくは4位～8位に位置する。一部の更なる実施形態では、熱的不安定化修飾は、オリゴヌクレオチドの5'末端から数えて、5位、6位、7位、又は8位に位置する。一部の更なる実施形態では、熱的不安定化修飾は、オリゴヌクレオチドの5'末端から数えて、7位に位置する。

10

【0281】

「熱的不安定化修飾」という用語は、そうした修飾を有していないdsRNAの融解温度(T<sub>m</sub>)よりも、好ましくは1度、2度、3度、又は4度低い、より低い全体的な融解温度(T<sub>m</sub>)を有するdsRNAをもたらすこととなる修飾を含む。一部の実施形態では、熱的不安定化修飾は、アンチセンス鎖の5'末端から数えて、2位、3位、4位、5位、6位、7位、8位、又は9位に位置する。

20

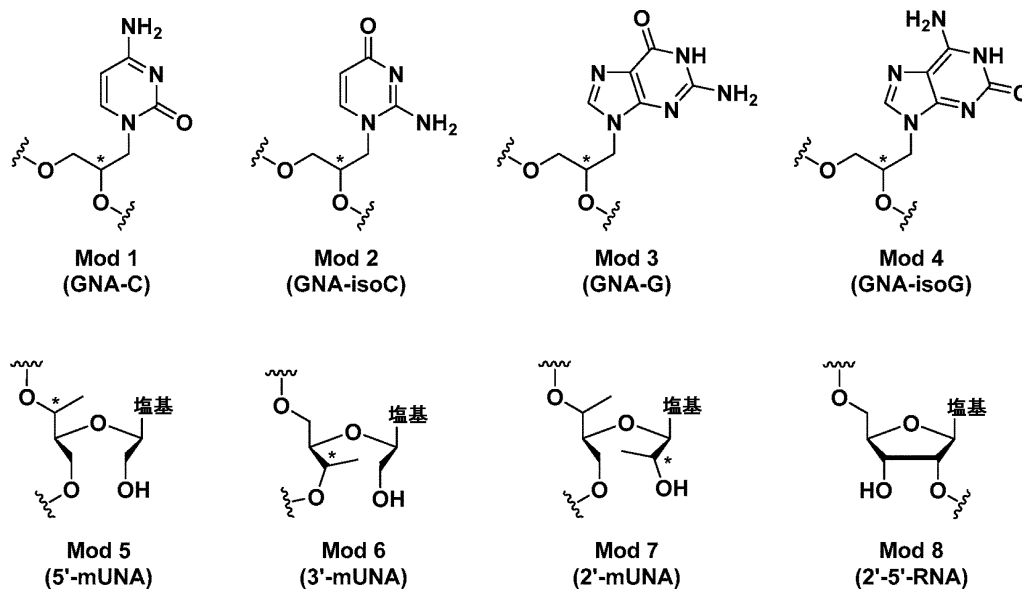
【0282】

熱的不安定化修飾としては、これらに限らないが、脱塩基修飾、対向する鎖における対向するヌクレオチドとのミスマッチ、及び糖修飾、例えば、2'-デオキシ修飾又は非環式ヌクレオチド、例えば、アンロック核酸(UNA)又はグリコール核酸(GNA)を挙げることができる。例えば、熱的不安定化修飾は、限定されないが、以下のようなmUNA及びGNAビルディングブロックを含み得る。

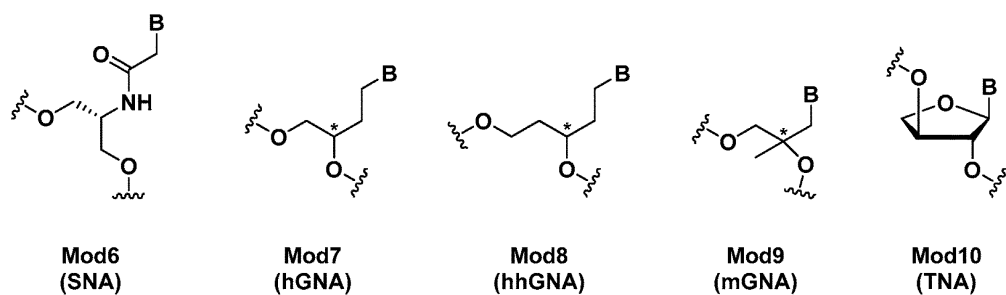
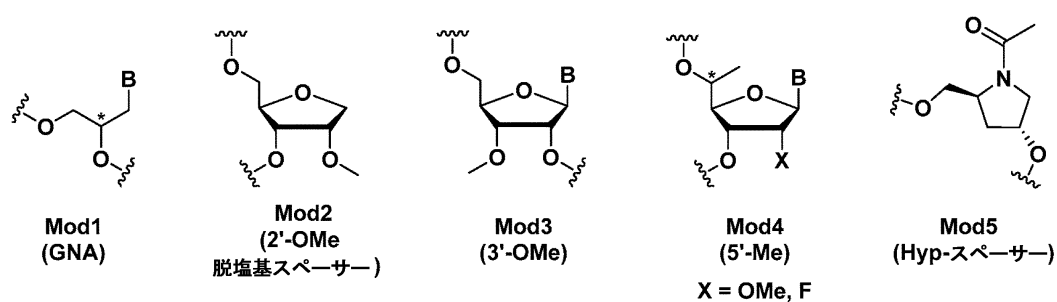
30

40

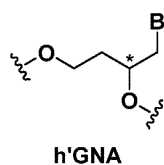
50

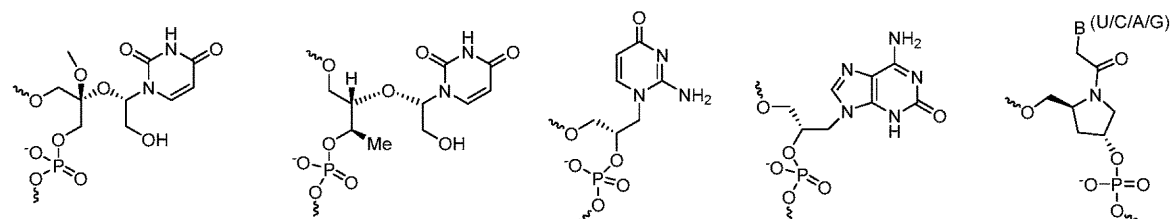
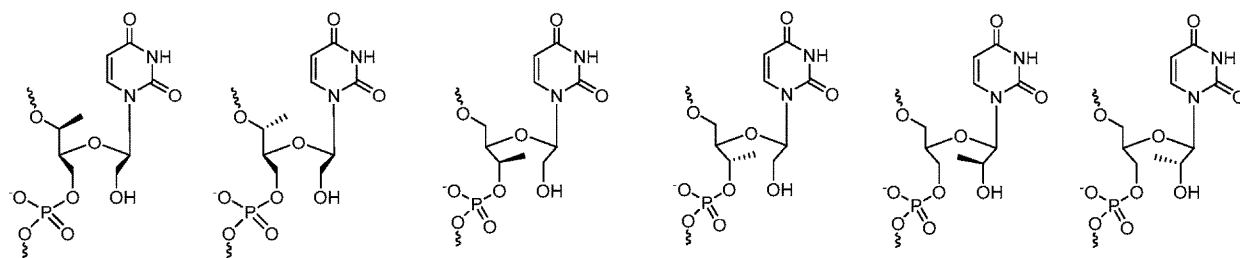


\*試験した両方の立体異性体

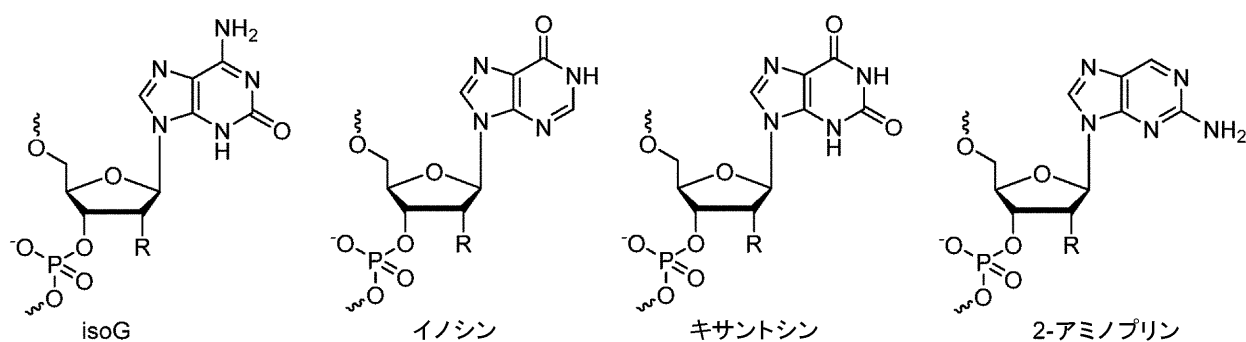


\*試験した両方の立体異性体

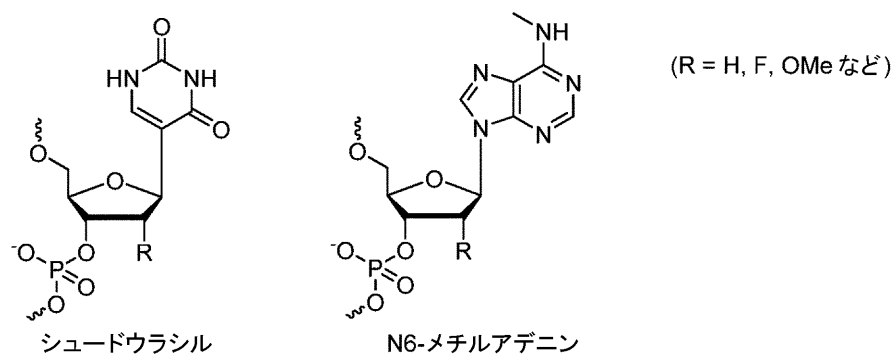




10



20



30

## 【0283】

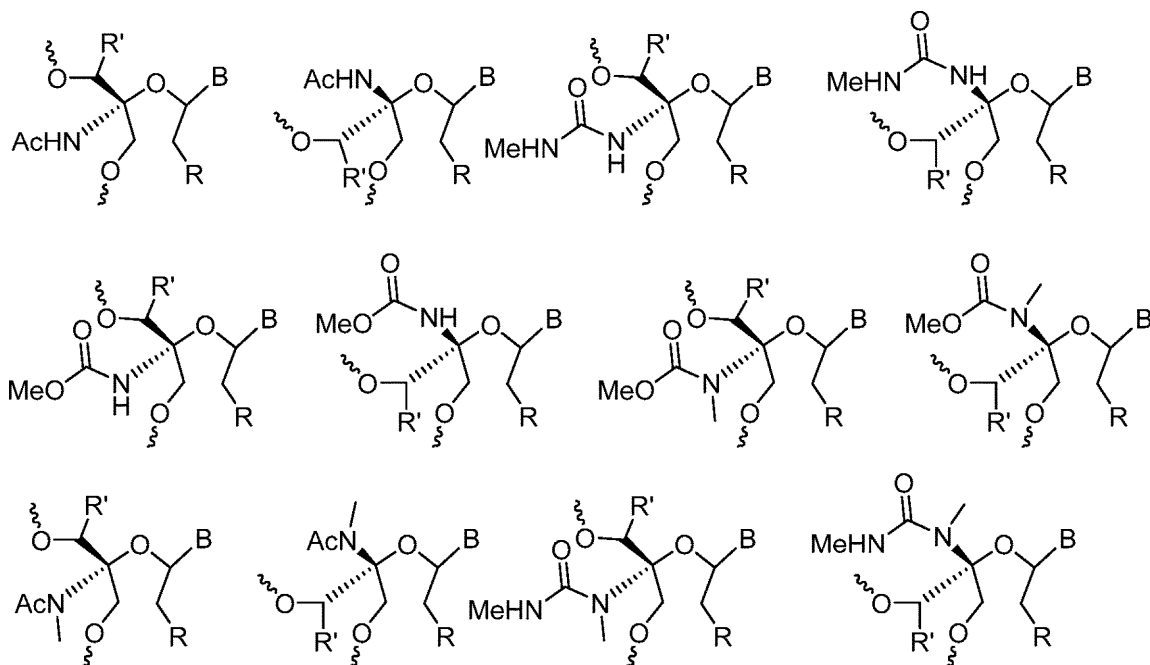
一部の実施形態では、不安定化修飾は、GNA-isoC、GNA-isoG、5'-mUNA、4'-mUNA、3'-mUNA、及び2'-mUNAからなる群から選択される。

## 【0284】

一部の実施形態では、不安定化修飾mUNAは、以下からなる群から選択される。

40

50



10

R = H、OH、OMe、Cl、F、OH、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OMe、SMe、NMe<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、Me、CCH (アルキン)、O-nPr、O-アルキル、O-アルキルアミノ、

20

R' = H、Me、

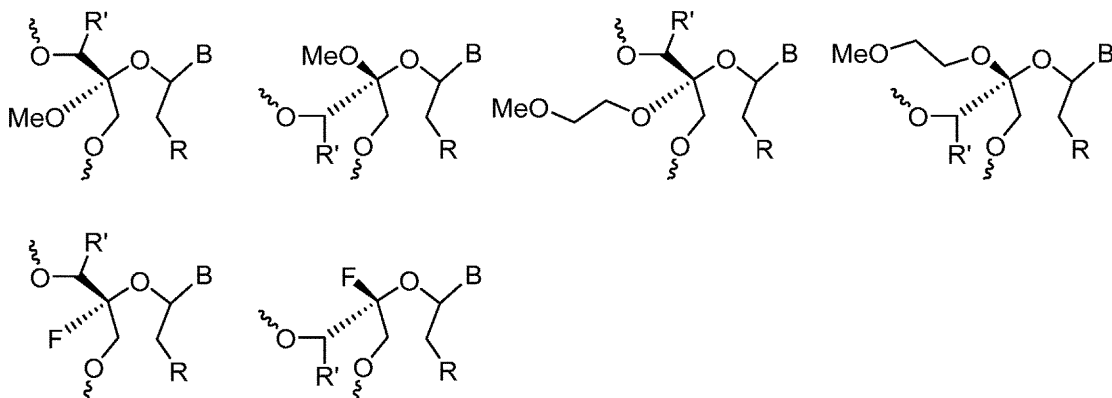
B = A、C、5-Me-C、G、I、U、T、Y、2-チオウリジン、4-チオウリジン、C5-修飾ピリミジン、C2-修飾プリン、N8-修飾プリン、フェノキサジン、G-クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、シュドウラシル、isoC、isoG、2,6-ジアミノプリン、シュドシトシン、2-アミノプリン、キサントシン、N6-アルキル-A、O6-アルキル-G、2-チオウリジン、4-チオウリジン、C5-修飾ピリミジン、C2-修飾プリン、N8-修飾プリン、7-デアザプリン、フェノキサジン、G-クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、

30

立体化学が、R又はSであり、不特定のキラル中心についてはRとSとの組み合わせである。

#### 【0285】

一部の実施形態では、不安定化修飾mUNAは、以下からなる群から選択される。



40

R = H、OH、OMe、Cl、F、OH、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OMe、SMe、NMe<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、Me、CCH (アルキン)、O-nPr、O-アルキル、O-アルキルアミノ、

R' = H、Me、

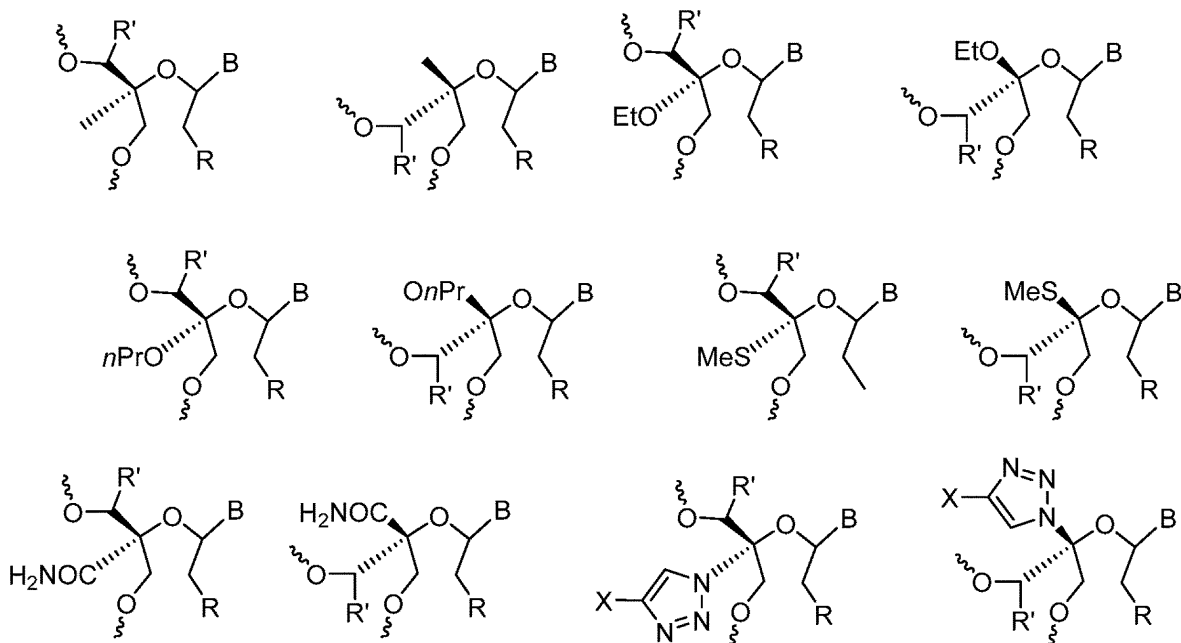
50

B = A、C、5-Me-C、G、I、U、T、Y、2-チオウリジン、4-チオウリジン、C5-修飾ピリミジン、C2-修飾プリン、N8-修飾プリン、フェノキサジン、G-クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、シュードウラシル、iso C、iso G、2,6-ジアミノプリン、シュードシトシン、2-アミノプリン、キサントシン、N6-アルキル-A、O6-アルキル-G、2-チオウリジン、4-チオウリジン、C5-修飾ピリミジン、C2-修飾プリン、N8-修飾プリン、7-デアザプリン、フェノキサジン、G-クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、

立体化学が、R又はSであり、不特定のキラル中心についてはRとSとの組み合わせである。

#### 【0286】

一部の実施形態では、不安定化修飾mUNAは、以下からなる群から選択される。



10

20

30

R = H、OMe、F、OH、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OMe、SMe、NMe<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、Me、O-nPr、O-アルキル、O-アルキルアミノ、

R' = H、Me、

B = A、C、5-Me-C、G、I、U、T、Y、2-チオウリジン、4-チオウリジン、C5-修飾ピリミジン、C2-修飾プリン、N8-修飾プリン、フェノキサジン、G-クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、シュードウラシル、iso C、iso G、2,6-ジアミノプリン、シュードシトシン、2-アミノプリン、キサントシン、N6-アルキル-A、O6-アルキル-G、7-デアザプリン、

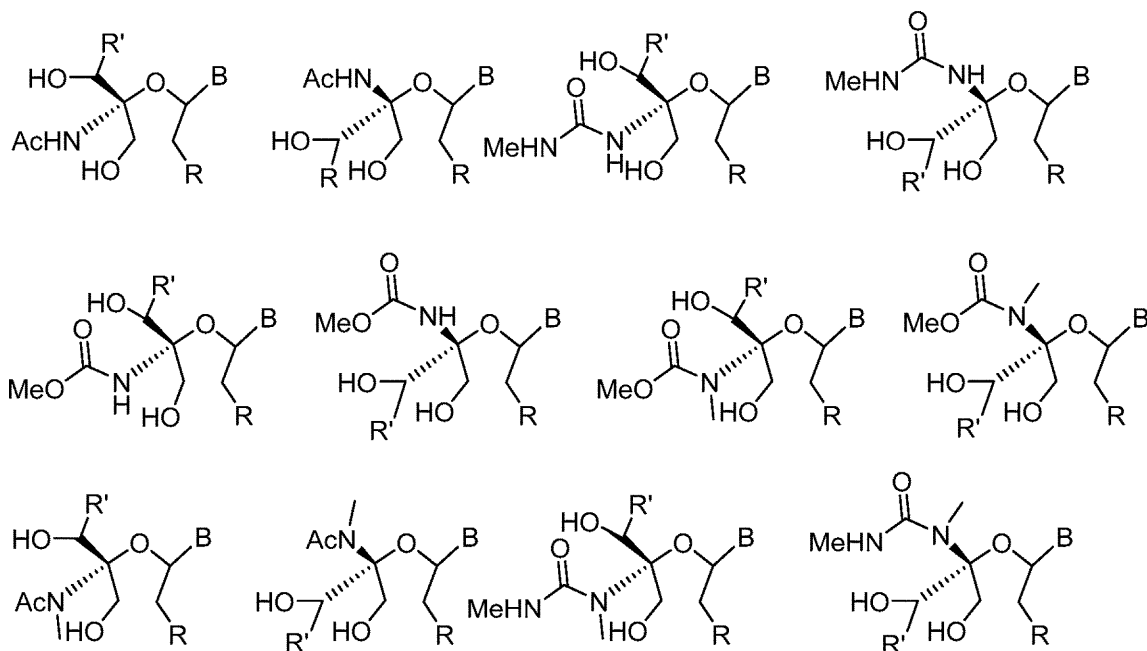
立体化学が、R又はSであり、不特定のキラル中心についてはRとSとの組み合わせである。

#### 【0287】

一部の実施形態では、不安定化修飾mUNAは、以下からなる群から選択される。

40

50



10

$R = H, OH, OMe, Cl, F, OH, O-(CH_2)_2OMe, SMe, NMe_2, NH_2, Me, CCH$  (アルキン)、 $O-nPr$ 、 $O$ -アルキル、 $O$ -アルキルアミノ、

20

$R' = H, Me,$

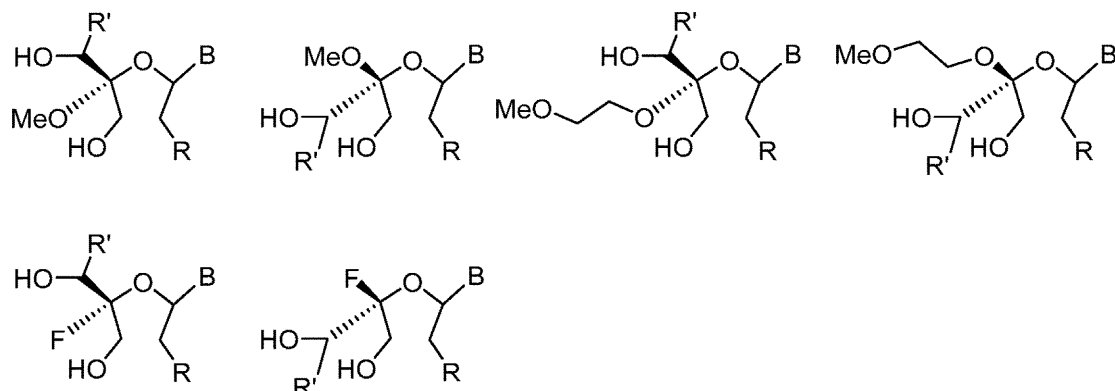
$B = A, C, 5-Me-C, G, I, U, T, Y, 2$ -チオウリジン、 $4$ -チオウリジン、 $C5$ -修飾ピリミジン、 $C2$ -修飾プリン、 $N8$ -修飾プリン、フェノキサジン、 $G$ -クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、シュドウラシル、 $isoC$ 、 $isoG$ 、 $2, 6$ -ジアミノプリン、シュドシトシン、 $2$ -アミノプリン、キサントシン、 $N6$ -アルキル- $A$ 、 $O6$ -アルキル- $G$ 、 $2$ -チオウリジン、 $4$ -チオウリジン、 $C5$ -修飾ピリミジン、 $C2$ -修飾プリン、 $N8$ -修飾プリン、 $7$ -デアザプリン、フェノキサジン、 $G$ -クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、

立体化学が、 $R$ 又は $S$ であり、不特定のキラル中心については $R$ と $S$ との組み合わせである。

30

【0288】

一部の実施形態では、不安定化修飾mUNAは、以下からなる群から選択される。



40

$R = H, OH, OMe, Cl, F, OH, O-(CH_2)_2OMe, SMe, NMe_2, NH_2, Me, CCH$  (アルキン)、 $O-nPr$ 、 $O$ -アルキル、 $O$ -アルキルアミノ、

$R' = H, Me,$

$B = A, C, 5-Me-C, G, I, U, T, Y, 2$ -チオウリジン、 $4$ -チオウリジン

50

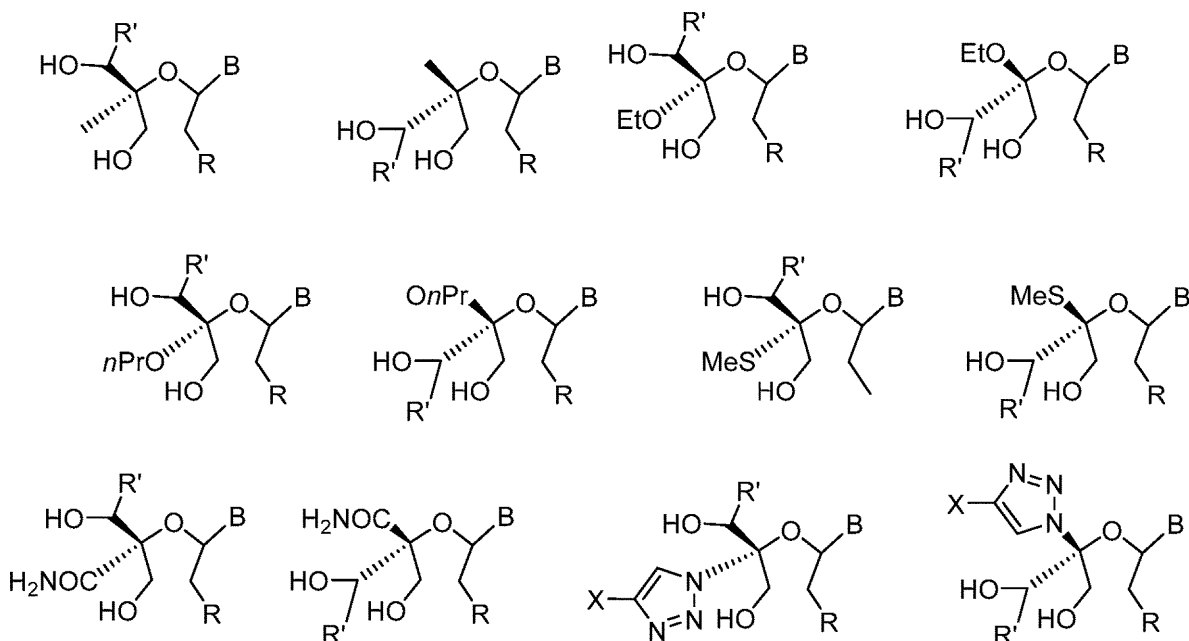
ン、C5-修飾ピリミジン、C2-修飾プリン、N8-修飾プリン、フェノキサジン、G-クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、シュドウラシル、isoC、isoG、2,6-ジアミノプリン、シュドシトシン、2-アミノプリン、キサントシン、N6-アルキル-A、O6-アルキル-G、2-チオウリジン、4-チオウリジン、C5-修飾ピリミジン、C2-修飾プリン、N8-修飾プリン、7-デアザプリン、フェノキサジン、G-クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、

立体化学が、R又はSであり、不特定のキラル中心についてはRとSとの組み合わせである。

#### 【0289】

一部の実施形態では、修飾mUNAは、以下からなる群から選択される。

10



20

R = H、OMe、F、OH、O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OMe、SMe、NMe<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、Me、O-nPr、O-アルキル、O-アルキルアミノ、

30

R' = H、Me、

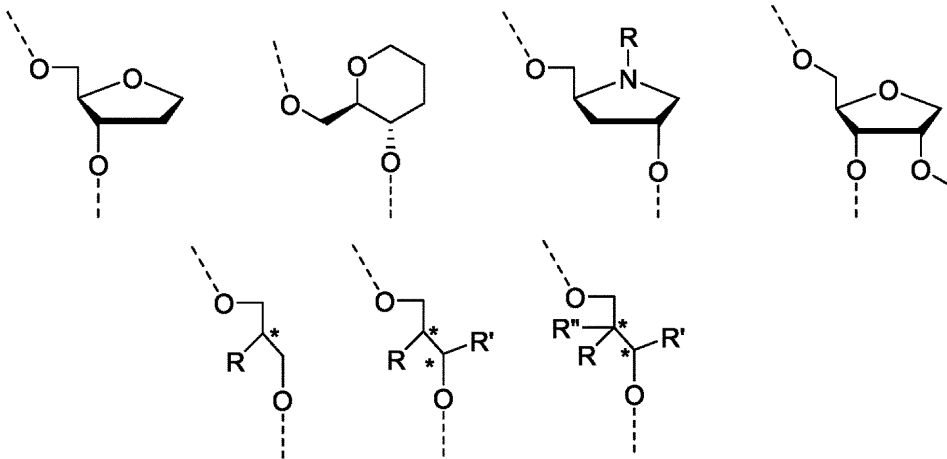
B = A、C、5-Me-C、G、I、U、T、Y、2-チオウリジン、4-チオウリジン、C5-修飾ピリミジン、C2-修飾プリン、N8-修飾プリン、フェノキサジン、G-クランプ、非標準一、二、及び三環式複素環、シュドウラシル、isoC、isoG、2,6-ジアミノプリン、シュドシトシン、2-アミノプリン、キサントシン、N6-アルキル-A、O6-アルキル-G、7-デアザプリン、

立体化学が、R又はSであり、不特定のキラル中心についてはRとSとの組み合わせである。

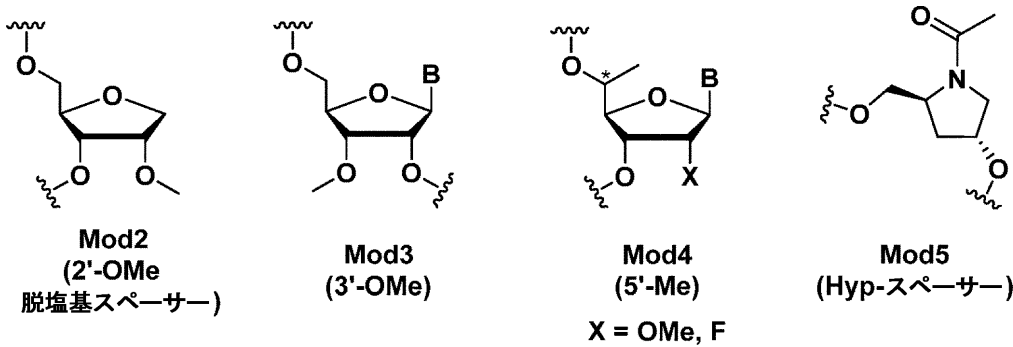
#### 【0290】

例示的な脱塩基修飾としては、これに限定されないが、以下が挙げられる。

40



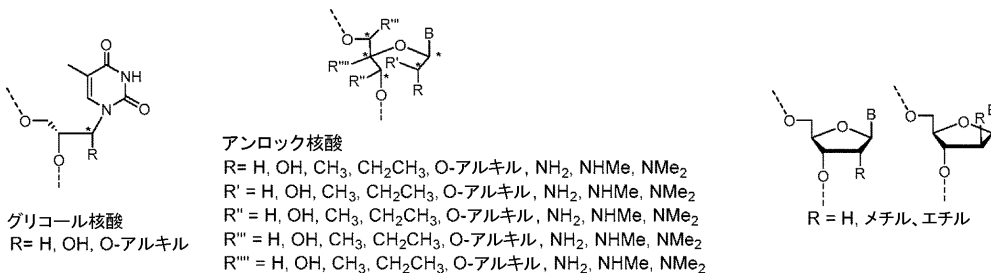
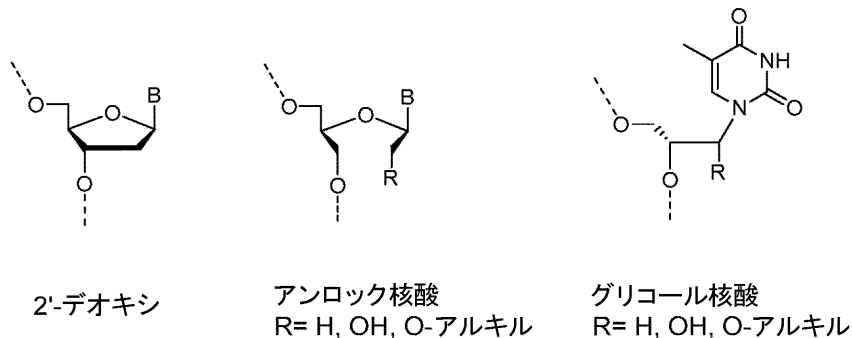
式中、 $R = H, Me, Et$ 、又は  $OMe$ 、 $R' = H, Me, Et$ 、又は  $OMe$ 、 $R'' = H, Me, Et$ 、又は  $OMe$  である。



式中、 $B$  は、修飾又は未修飾の核酸塩基であり、また各構造上のアスタリスクは、 $R, S$  又はラセミのいずれかを表す。

【0291】

例示の糖修飾としては、これに限定されないが、以下が挙げられ、



式中、 $B$  は、修飾又は未修飾の核酸塩基であり、また各構造上のアスタリスクは、 $R, S$  又はラセミのいずれかを表す。

【0292】

一部の実施形態では、二本鎖の熱的不安定化修飾は、本明細書の実施例 1～3 に記載さ

10

20

30

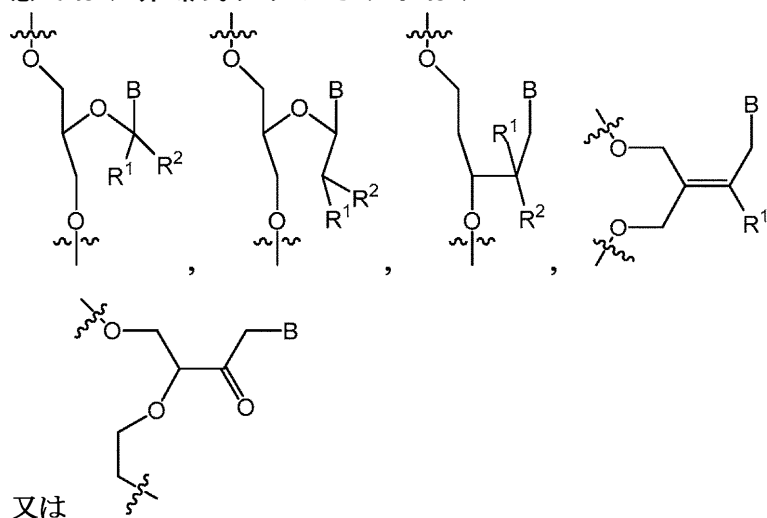
40

50

れるmUNA及びGNAビルディングブロックから選択される。一部の実施形態では、不安定化修飾は、GNA-isoc、GNA-isog、5'-mUNA、4'-mUNA、3'-mUNA、及び2'-mUNAからなる群から選択される。この一部の更なる実施形態では、dsRNA分子は、GNA、2'-OMe、3'-OMe、5'-Me、Hy p-スパーサー、SNA、hGNA、hhGNA、mGNA、TNA、及びh'GNA (Mod A-Mod K) からなる群から選択される少なくとも1つの熱的不安定化修飾を更に含む。

#### 【0293】

「非環式ヌクレオチド」という用語は、非環式のリボース糖を有する任意のヌクレオチドを指し、例えば、リボース炭素間の結合（例えば、C1'-C2'、C2'-C3'、C3'-C4'、C4'-O4'、又はC1'-O4'）のいずれかが存在しない、及び／又はリボース炭素若しくは酸素のうち少なくとも一方（例えば、C1'、C2'、C3'、C4'、又はO4'）が独立して、若しくは組み合わせて、ヌクレオチドに存在しない。一部の実施形態では、非環式ヌクレオチドは、



20

であり、Bは、修飾又は未修飾の核酸塩基であり、R1及びR2は、独立して、H、ハロゲン、OR3又はアルキルであり、またR3は、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロアリール、又は糖である。「UNA」という用語は、糖の結合のいずれかが除去されて、アンロックド「糖」残基を形成するものである、非環式のアンロックド核酸を指す。一実施例では、UNAはまた、C1'-C4'間の結合が除去されているモノマーを包含する（すなわち、C1'炭素とC4'炭素との間の炭素-酸素-炭素の共有結合）。別の実施例では、糖のC2'-C3'結合（すなわち、C2'炭素とC3'炭素との間の炭素-炭素の共有結合）が除去される（Mikhailov et al., Tetrahedron Letters, 26(17):2059(1985)、及びFluiter et al., Mol. Biosyst., 10:1039(2009)を参照されたい。これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる）。非環式誘導体は、ワトソン-クリック対合に影響を及ぼすことなく、より大きな骨格柔軟性を与える。非環式ヌクレオチドは、2'-5'又は3'-5'結合を介して結合され得る。

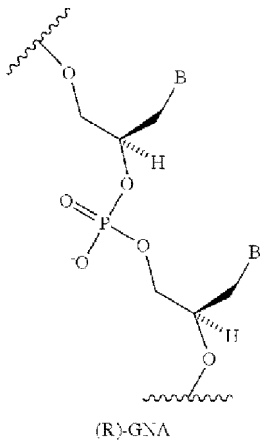
30

40

#### 【0294】

「GNA」という用語は、グリコール核酸を指し、これはDNA又はRNAと類似のポリマーであるが、ホスホジエステル結合によって結合された反復するグリセロール単位から構成される点でその「骨格」の組成が異なる：

50



10

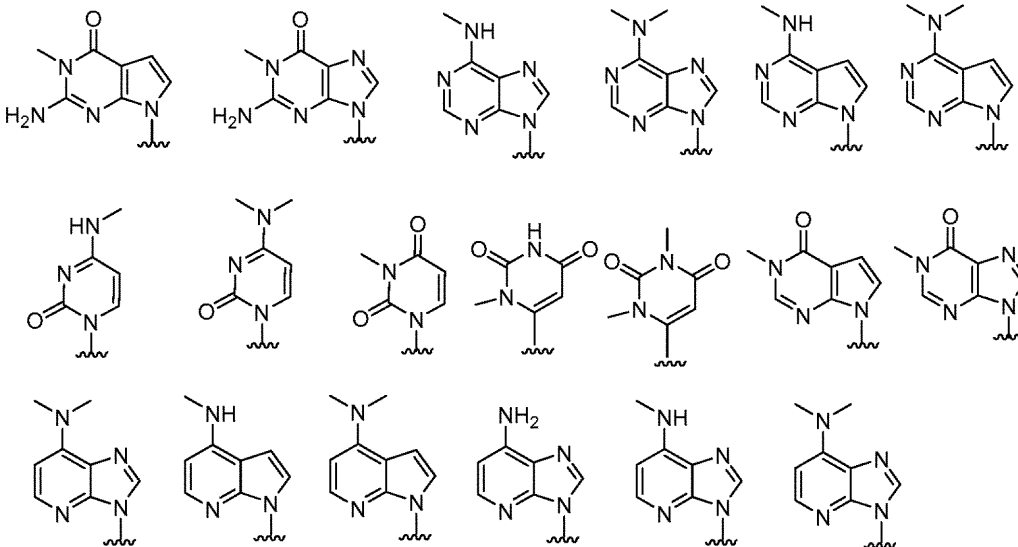
### 【0295】

二本鎖の熱的不安定化修飾は、熱的不安定化ヌクレオチドと、dsRNA二本鎖内の対向する鎖内の対向するヌクレオチドとの間のミスマッチ（すなわち、非相補的な塩基対）であり得る。例示的なミスマッチ塩基対としては、G：G、G：A、G：U、G：T、A：A、A：C、C：C、C：U、C：T、U：U、T：T、U：T、又はそれらの組み合わせが挙げられる。当技術分野で公知の他のミスマッチ塩基対合も本発明に従う。ミスマッチは、天然に存在するヌクレオチド又は修飾ヌクレオチドのいずれかであるヌクレオチドの間に生じ得、すなわち、ミスマッチ塩基対合は、ヌクレオチドのリボース糖上の修飾とは独立してそれぞれのヌクレオチドに由来する核酸塩基間で生じ得る。特定の実施形態では、dsRNA分子は、2'-デオキシ核酸塩基であるミスマッチ対合内の少なくとも1つの核酸塩基を含み、例えば、2'-デオキシ核酸塩基は、センス鎖内にある。

20

### 【0296】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖のシード領域内の二本鎖の熱的不安定化修飾は、標的mRNA上の相補的塩基とのW-C H結合が損なわれたヌクレオチドを含み、例えば以下のものである：



30

40

### 【0297】

脱塩基ヌクレオチド、非環式ヌクレオチド修飾（UNA及びGNAを含む）及びミスマッチ修飾のより多くの例は、WO2011/133876に詳細に記載されており、これは参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

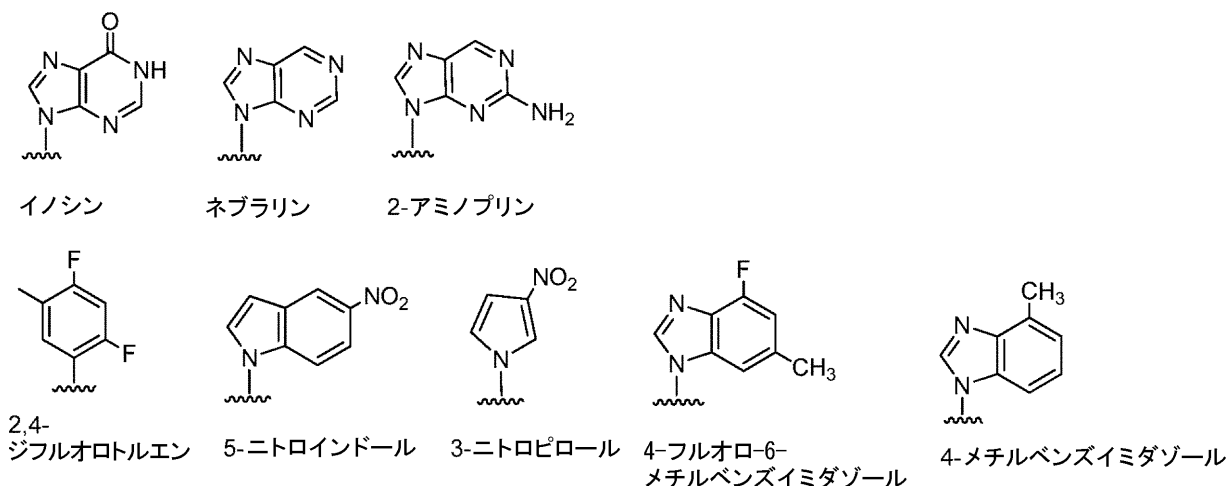
50

## 【0298】

熱的不安定化修飾はまた、対向し合う塩基と水素結合を形成する能力が低減又は消失したユニバーサル塩基及びリン酸修飾を含み得る。

## 【0299】

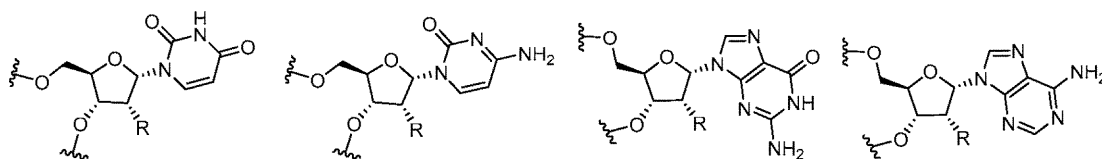
一部の実施形態では、熱的不安定化修飾には、非標準塩基を有するヌクレオチド、例えばこれに限定されないが、対向する鎖内の塩基と水素結合を形成する能力が損なわれた、又は完全に消失した核酸塩基修飾が含まれる。これら核酸塩基修飾は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるWO2010/0011895に記載されるように、dsRNA二本鎖の中央領域の不安定化について評価されている。例示的な核酸塩基の修飾としては、以下がある：



。

## 【0300】

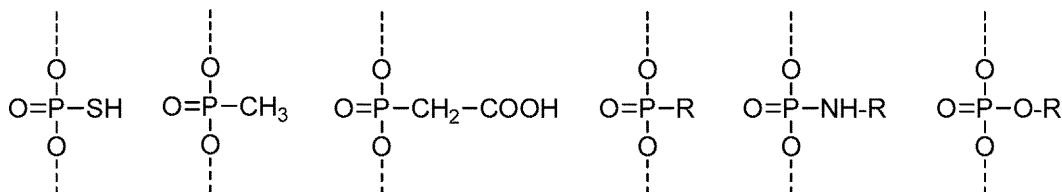
一部の実施形態では、アンチセンス鎖のシード領域内の二本鎖の熱的不安定化修飾としては、標的mRNA上の塩基と相補的である1つ以上の $\alpha$ -ヌクレオチドを含み、例えば以下があり、



式中、Rは、H、OH、OCH<sub>3</sub>、F、NH<sub>2</sub>、NHMe、NMe<sub>2</sub>、又はO-アルキルである。

## 【0301】

天然のホスホジエステル結合と比較して、dsRNA二本鎖の熱的安定性を低下させることが知られている例示的なリン酸修飾としては以下のものがある：



R = アルキル

。

## 【0302】

R基のアルキルは、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルであり得る。R基の具体的なアルキルとしては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、ペンチル、及びヘキシルが挙げら

れるが、これらに限定されない。

【0303】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、1つ以上の安定化修飾を含むことができる。例えば、オリゴヌクレオチドは、少なくとも2つ（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個以上）の安定化修飾を含み得る。

【0304】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも2つ（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10個以上）の安定化修飾を含む。限定されるものではないが、オリゴヌクレオチドにおける安定化修飾は、任意の位置に存在し得る。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、5'末端から数えて、2位、6位、8位、9位、14位、及び16位に安定化修飾を含む。一部の他の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、5'末端から数えて、2位、6位、14位、及び16位に安定化修飾を含む。更に一部の他の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、5'末端から数えて、2位、14位、及び16位に安定化修飾を含む。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、5'末端から数えて、7位、10位、及び11位に安定化修飾を含む。一部の他の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、5'末端から数えて、7位、9位、10位、及び11位に安定化修飾を含む。

【0305】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、不安定化修飾と隣接する少なくとも1つの安定化修飾を含む。例えば、安定化修飾は、不安定化修飾の5'末端又は3'末端にある、すなわち、不安定化修飾の位置から-1位又は+1位にある、ヌクレオチドであり得る。一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、不安定化修飾の5'末端及び3'末端の各々にある、すなわち、不安定化修飾の位置から-1位及び+1位にある、安定化修飾を含む。

【0306】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、不安定化修飾の3'末端にある、すなわち、不安定化修飾の位置から+1位及び+2位にある、少なくとも2つの安定化修飾を含む。

【0307】

例示的な熱的安定化修飾としては、これに限定されないが、2'-フルオロ修飾が挙げられる。他の熱的安定化修飾としては、これに限定されないが、LNAが挙げられる。

【0308】

オリゴヌクレオチドの使用

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドの当技術分野で公知である任意の用途に使用することができる。例えば、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、RNA干渉に基づく遺伝子サイレンシング技術に使用することができる。本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドの一部の例示的な使用としては、RNA干渉剤、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アプタマー、miRNA、リボザイム、三重鎖形成オリゴヌクレオチドなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0309】

本明細書に記載される態様のいずれか1つの一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、二本鎖核酸中に含まれる。例えば、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、dsRNA分子の一方の鎖であり得る。

【0310】

概して、dsRNA分子は、センス鎖（パッセンジャー鎖とも呼ばれる）及びアンチセンス鎖（ガイド鎖とも呼ばれる）を含む。本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、dsRNA分子のセンス鎖及び／又はアンチセンス鎖として使用することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、dsRNA分子のセンス鎖である。一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドは、dsRNA分子のアンチセンス鎖である。

## 【0311】

dsRNA分子の各鎖は、15～35個のヌクレオチドの長さの範囲であり得る。例えば、各鎖は、17～35個のヌクレオチドの長さ、17～30個のヌクレオチドの長さ、25～35個のヌクレオチドの長さ、27～30個のヌクレオチドの長さ、17～23個のヌクレオチドの長さ、17～21個のヌクレオチドの長さ、17～19個のヌクレオチドの長さ、19～25個のヌクレオチドの長さ、19～23個のヌクレオチドの長さ、19～21個のヌクレオチドの長さ、21～25個のヌクレオチドの長さ、又は21～23個のヌクレオチドの長さであり得る。限定されないが、センス鎖及びアンチセンス鎖は、等しい長さ又は等しくない長さであり得る。例えば、センス鎖及びアンチセンス鎖は、独立して、18、19、20、21、22、23、24、又は25個のヌクレオチドの長さを有する。

10

## 【0312】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、15～35個のヌクレオチドの長さのものである。一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、15～35、17～35、17～30、25～35、27～30、17～23、17～21、17～19、19～25、19～23、19～21、21～25、21～25、又は21～23個のヌクレオチドの長さである。例えば、アンチセンス鎖は、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、又は35個のヌクレオチドの長さであり得る。一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、19、20、21、22、23、24又は25個のヌクレオチドの長さである。例えば、アンチセンス鎖は、21、22、23、24、又は25個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、アンチセンス鎖は、22、23、又は24個のヌクレオチドの長さである。例えば、アンチセンス鎖は、23個のヌクレオチドの長さである。

20

## 【0313】

アンチセンス鎖と同様に、センス鎖は、一部の実施形態では、15～35個のヌクレオチドの長さであり得る。一部の実施形態では、センス鎖は、15～35、17～35、17～30、25～35、27～30、17～23、17～21、17～19、19～25、19～23、19～21、21～25、21～25、又は21～23個のヌクレオチドの長さである。例えば、センス鎖は、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、又は35個のヌクレオチドの長さであり得る。一部の実施形態では、センス鎖は、17、18、19、20、21、22、23、24、又は25個のヌクレオチドの長さである。例えば、センス鎖は、19、20、21、22、又は23個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖は、20、21、又は22個のヌクレオチドの長さである。例えば、センス鎖は、21個のヌクレオチドの長さである。

30

## 【0314】

一部の実施形態では、センス鎖は、15～35個のヌクレオチドの長さであり得、アンチセンス鎖は、センス鎖から独立して、15～35個のヌクレオチドの長さであり得る。一部の実施形態では、センス鎖は、15～35、17～35、17～30、25～35、27～30、17～23、17～21、17～19、19～25、19～23、19～21、21～25、21～25、又は21～23個のヌクレオチドの長さであり、アンチセンス鎖は、独立して、15～35、17～35、17～30、25～35、27～30、17～23、17～21、17～19、19～25、19～23、19～21、21～25、21～25、又は21～23個のヌクレオチドの長さである。例えば、センス鎖及びアンチセンス鎖は、独立して、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、又は35個のヌクレオチドの長さであり得る。一部の実施形態では、センス鎖及びアンチセンス鎖は、独立して、17、18、19、20、21、22、23、24、又は25個のヌクレオチドの長さである。例えば、センス鎖は、19、20、21、22、又は23個のヌクレオチドの長さであり、アンチセンス鎖は、21、22、23、24、又は25個のヌクレオ

40

50

チドの長さである。一部の特定の実施形態では、センス鎖は、20、21、又は22個のヌクレオチドの長さであり、アンチセンス鎖は、22、23、又は24個のヌクレオチドの長さである。例えば、センス鎖は、21個のヌクレオチドの長さであり、アンチセンス鎖は、23個のヌクレオチドの長さである。

#### 【0315】

センス鎖及びアンチセンス鎖は、典型的には、二本鎖又は二本鎖領域を形成する。限定されないが、本明細書に記載されるdsRNA剤の二本鎖領域は、12～35個のヌクレオチド（又は塩基）対の長さであり得る。例えば、二本鎖領域は、14～35個のヌクレオチド対の長さ、17～30個のヌクレオチド対の長さ、25～35個のヌクレオチド対の長さ、27～35個のヌクレオチド対の長さ、17～23個のヌクレオチド対の長さ、17～21個のヌクレオチド対の長さ、17～19個のヌクレオチド対の長さ、19～25個のヌクレオチド対の長さ、19～23個のヌクレオチド対の長さ、19～21個のヌクレオチド対の長さ、21～25個のヌクレオチド対の長さ、又は21～23個のヌクレオチド対の長さであり得る。別の実施例では、二本鎖領域は、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、及び27個のヌクレオチド対の長さから選択される。一部の実施形態では、二本鎖領域は、18、19、20、21、22、23、24、又は25個のヌクレオチド対の長さである。例えば、二本鎖領域は、19、20、21、22、又は23個のヌクレオチド対の長さである。一部の実施形態では、二本鎖領域は、20、21、又は22個のヌクレオチド対の長さである。例えば、dsRNA分子は、21個の塩基対の二本鎖領域を有する。

10

20

#### 【0316】

態様のいずれか1つの一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド又は本明細書に記載されるdsRNA分子のアンチセンス鎖は、標的核酸、例えば、標的遺伝子又はmRNAと実質的に相補的なヌクレオチド配列を含む。

#### 【0317】

したがって、別の態様では、本開示は、標的遺伝子の発現を阻害するための、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA分子の使用を目的とする。一部の実施形態では、本発明は更に、インビトロでの標的遺伝子の発現を阻害するための、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA分子の使用に関する。

#### 【0318】

別の態様では、本開示は、対象における標的遺伝子の発現の阻害に使用するための、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA分子の使用を目的とする。対象は、哺乳動物、例えば、マウス、ラット、ヒツジ、ウシ、イヌ、ネコ、又はヒトなどの任意の動物であり得る。

30

#### 【0319】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA分子は、緩衝液中で投与される。

#### 【0320】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA分子は、対象への投与のために製剤化され得る。製剤化されたオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA組成物は、様々な状態を想定することができる。一部の実施例では、組成物は、少なくとも部分的に結晶性、均一に結晶性、及び／又は無水（例えば、80、50、30、20、又は10%未満の水）である。別の実施例では、siRNAは、水相、例えば、水を含む溶液中にある。

40

#### 【0321】

水相又は結晶性組成物は、例えば、送達ビヒクル、例えば、リポソーム（特に水相用）又は粒子（例えば、結晶性組成物に適切であり得る微粒子）に組み込まれ得る。概して、siRNA組成物は、本明細書に記載されるように、意図される投与方法に適合する様式で製剤化される。例えば、特定の実施形態では、組成物は、噴霧乾燥、凍結乾燥、真空乾燥、蒸発、流動床乾燥、若しくはこれらの技術の組み合わせ、又は脂質、凍結乾燥、凝縮

50

、及び他の自己集合を用いた超音波処理のうちの少なくとも1つによって調製される。

【0322】

オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA調製物は、別の作用物質、例えば、別の治療剤、又はオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを安定化させる作用物質、例えば、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAと複合体を形成するタンパク質と組み合わせて製剤化され得る。更に他の作用物質としては、キレート剤、例えば、EDTA（例えば、 $Mg^{2+}$ などの二価カチオンを除去するため）、塩、RNAse阻害剤（例えば、RNAse inhibitorなどの広範な特異性RNAse阻害剤）などが挙げられる。

【0323】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA調製物は、別のdsRNA化合物、例えば、第2の遺伝子に対して、又は同じ遺伝子に対してRNAiを媒介し得る第2のdsRNAを含む。更に他の調製物は、少なくとも3、5、10、20、50、又は100種以上の異なるsiRNA種を含み得る。そのようなdsRNAは、同様の数の異なる遺伝子に関してRNAiを媒介し得る。

【0324】

一部の実施形態では、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA調製物は、少なくとも第2の治療剤（例えば、RNAでもDNAでもない剤）を含む。例えば、ウイルス性疾患、例えば、HIVの治療のためのオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA組成物は、既知の抗ウイルス剤（例えば、プロテアーゼ阻害剤又は逆転写酵素阻害剤）を含み得る。別の実施例では、がんの治療のためのdsRNA組成物は、化学療法剤を更に含み得る。

【0325】

本発明によるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAの投与に使用され得る例示的な製剤が、以下で考察される。

【0326】

リポソーム。オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA調製物は、膜分子アセンブリ、例えば、リポソーム又はミセル中で送達するために製剤化され得る。本明細書に使用される場合、「リポソーム」という用語は、少なくとも1つの二分子層、例えば、1つの二分子層又は複数の二分子層内に整列した両親媒性脂質で構成されたベシクルを指す。リポソームは、親油性材料から形成された膜と水性の内部とを有する単層膜及び多重膜のベシクルを含む。水性部分は、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA組成物を含有する。親油性材料は、典型的には、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを含まないが、一部の実施例では含む場合もある、水性の外側部分から、水性の内側部分を隔離する。リポソームは、作用部位への活性成分の移送及び送達に有用である。リポソーム膜は、生体膜と構造的に似ているため、リポソームが組織に適用されるとリポソーム二重層は細胞膜の二重層と融合する。リポソーム及び細胞の融合が進むにつれて、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを含む内側水性部分の内容物は、細胞内に送達されて、そこでdsRNAが、標的RNAに特異的に結合することができ、そしてRNAiを媒介することができる。一部の実施形態では、リポソームはまた、例えば、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを特定の細胞種に誘導するために、特異的に標的指向化される。

【0327】

オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを含有するリポソームは、様々な方法によって調製され得る。一実施例では、リポソームの脂質成分が界面活性剤に溶解され、それによって脂質成分でミセルが形成される。例えば、脂質成分は、両親媒性カチオン性脂質又は脂質コンジュゲートであり得る。界面活性剤は、高い臨界ミセル濃度を有し得、また非イオン性であり得る。例示的な界面活性剤としては、コール酸、CHAPS、オクチルグルコシド、デオキシコール酸及びラウロイルサルコシンが挙げられる。次いで、dsRNA調製物は、脂質成分を含むミセルに加えられる。脂質上のカチオン性基が、siRNAと相互作用して、dsRNAの周りに凝縮してリポソームを形成する。凝縮後、界面活性剤は、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAのリポソーム調製物を得るために、例えば、透析によって、除去される。

## 【0328】

必要であれば、凝集反応の際に、例えば、制御された添加によって、凝集を補助する担体化合物を加えることもできる。例えば、担体化合物は、核酸以外のポリマーであり得る（例えば、スペルミン又はスペルミジン）。pHはまた、縮重に都合よく調節可能である。

## 【0329】

送達ビヒクルの構造的な成分としてポリヌクレオチド／カチオン性脂質複合体を組み込んだ安定なポリヌクレオチド送達ビヒクルを産生する方法の更なる説明が、例えば、WO 96／37194に説明される。リボソーム形成には、Felgner, P. L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 8:7413-7417, 1987、米国特許第4,897,355号、米国特許第5,171,678号、Bangham, et al. M. Mol. Biol. 23:238, 1965、Olson, et al. Biochim. Biophys. Acta 557:9, 1979、Szoka, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 75:4194, 1978、Mayhew, et al. Biochim. Biophys. Acta 775:169, 1984、Kim, et al. Biochim. Biophys. Acta 728:339, 1983、及びFukunaga, et al. Endocrinol. 115:757, 1984に記載される例示的な方法の1つ以上の態様も含まれ得、これらは参照によりその全体が組み込まれる。送達ビヒクルとして使用するための適切なサイズの脂質凝集体を調製するための一般的に使用される技術としては、超音波処理及び凍結融解＋押出が挙げられる（例えば、Mayer, et al. Biochim. Biophys. Acta 858:161, 1986を参照されたい。これは、その全体が参照により組み込まれる）。マイクロ流体化は、一貫して小さく（50～200nm）、比較的均一な凝集体が望ましい場合に使用することができる（Mayhew, et al. Biochim. Biophys. Acta 775:169, 1984を参照されたい。これは、その全体が参照により組み込まれる）。これらの方法は、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAの調製物をリボソームに包含させるために容易に適合される。

## 【0330】

pH感応性であるか又は負に帯電しているリボソームは、核酸分子と複合体化するのではなく、核酸分子を捕捉する。核酸分子及び脂質の両方が、同様の電荷であるため、複合体形成ではなく反発が生じる。それにもかかわらず、一部の核酸分子は、これらリボソームの水性内側部分内に捕捉される。チミジンキナーゼ遺伝子をコードするDNAを、培養液中の細胞単一層に送達するために、pH感応性リボソームが使用されてきた。外因性遺伝子の発現が、標的遺伝子内において検出された（Zhou et al., Journal of Controlled Release, 19, (1992) 269-274を参照のこと。当該文献は、参照によりその全体が組み込まれる）。

## 【0331】

リボソーム組成物の主要なタイプの1つは、天然由来のホスファチジルコリン以外のリン脂質を含む。中性リボソーム組成物は、例えば、ジミリスティルホスファチジルコリン（DMPC）又はジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）から形成され得る。アニオン性リボソーム組成物は、概して、ジミリスティルホスファチジルグリセロールから形成され、その一方で、アニオン性融合性リボソームは、主に、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（DOPE）から形成される。別のタイプのリボソーム組成物は、ホスファチジルコリン（PC）から形成され、例えば大豆製PC及び卵製PCなどである。別のタイプは、リン脂質及び／又はホスファチジルコリン及び／又はコレステロールの混合物から形成される。

## 【0332】

インビトロでリボソームを細胞に導入する他の方法の例としては、米国特許第5,283,185号、米国特許第5,171,678号、WO94／00569、WO93／24640、WO91／16024、Felgner, J. Biol. Chem. 269:

2550, 1994, Nabel, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:11307, 1993, Nabel, Human Gene Ther. 3:649, 1992, Gershon, Biochem. 32:7143, 1993, 及び Strauss EMBO J. 11:417, 1992 が挙げられる。

【0333】

一部の実施形態では、カチオン性リポソームが使用される。カチオン性リポソームは、細胞膜に融合することができるという利点を有する。非カチオン性リポソームは、原形質膜と効率的には融合することができないが、インビボでマクロファージによって取り込まれるため、siRNAをマクロファージに送達するために使用することができる。

【0334】

リポソームの更なる利点としては、天然のリン脂質から得られるリポソームが生体適合性及び生分解性であること、リポソームは、広範囲の水及び脂質溶解性薬物を組み込むことができること、リポソームは、それらの内部区画内のカプセル化されたsiRNAを代謝及び分解から保護することができることが挙げられる (Rosoff, in "Pharmaceutical Dosage Forms," Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, volume 1, p. 245)。リポソーム製剤の調製における重要な検討事項は、脂質表面の電荷、ベシクルのサイズ、及びリポソームの水の量である。

【0335】

正に帯電した合成カチオン性脂質であるN-[1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル]-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド(DOTMA)は、小リポソームを形成するために使用することができ、小リポソームは、組織培養細胞の細胞膜の負に帯電した脂質と融合することができる脂質-核酸複合体を形成する核酸と自発的に相互作用して、結果としてsiRNAの送達となされる(例えば、Felgner, P. L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 8:7413-7417, 1987、並びにDOTMAの説明及びDNAとのその使用についての米国特許第4,897,355号を参照されたい。これらは、参照によりその全体が組み込まれる)。

【0336】

DOTMA類似体である1,2-ビス(オレオイルオキシ)-3-(トリメチルアンモニア)プロパン(DOTAP)は、リン脂質と組み合わせて使用することにより、DNA複合体化ベシクルを形成することができる。リポフェクチン(商標)Bethesda Research Laboratories社、ゲイザースバーグ、メリーランド州)は、負に帯電したポリヌクレオチドと自発的に相互作用して複合体を形成する正に帯電したDOTMAリポソームを含む、生組織培養細胞内へのアニオン性の核酸の高度な送達に有効な作用物質である。十分に正に帯電したリポソームを使用すると、結果として得られる複合体上の正味電荷も正である。この方法において調製された正に帯電した複合体は、負に帯電した細胞表面に自発的に結合し、原形質膜と融合して、機能的核酸を、例えば組織培養細胞内へと効率的に送達する。別の市販のカチオン性脂質である1,2-ビス(オレオイルオキシ)-3,3-(トリメチルアンモニア)プロパン(「DOTAP」)(Boehringer Mannheim社、インディアナポリス、インディアナ州)は、オレオイル部分が、エーテル結合ではなくエステルで結合している点がDOTMAと異なる。

【0337】

他の報告されたカチオン性脂質化合物としては、様々な部分とコンジュゲートしているものが挙げられ、例えば2つのタイプの脂質の一方にコンジュゲートしているカルボキシスベルミンなどが挙げられ、また例えば5-カルボキシスベルミルグリシンジオクタオレオイルアミド(「DOGS」)(Transfectam(商標), Promega, Madison, Wisconsin)及びジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン5-カルボキシスベルミルアミド(「DPPEs」)などの化合物が挙げられる(例えば、米国特許第5,171,678号を参照されたい)。

10

20

30

40

50

## 【0338】

別のカチオン性脂質コンジュゲートは、DOPEと組み合わせてリポソーム中へと製剤化されているコレステロールでの脂質の誘導体化（「DC-Chol」）を含む（Gao, X. and Huang, L., Biochim. Biophys. Res. Commun. 179:280, 1991を参照されたい）。ポリリジンとDOPEにコンジュゲートすることによって作製されたリポポリリジンは、血清の存在下でのトランスフェクションに効果的であることが報告されている（Zhou, X. et al., Biochim. Biophys. Acta 1065:8, 1991、この内容全体が参照により組み込まれる）。特定の細胞系の場合、コンジュゲートしたカチオン性脂質を含むこれらリポソームは、低い毒性を示すと言われており、またDOTMA含有組成物よりもより効率的なトランスフェクションをもたらす。他の市販のカチオン性脂質製品としては、DMRIE及びDMRIE-HP（Vical, La Jolla, California）及びリポフェクタミン（DOSPA）（Life Technology, Inc., Gaithersburg, Maryland）が挙げられる。オリゴヌクレオチドの送達に好適な他のカチオン性脂質は、WO98/39359及びWO96/37194に記載されている。

10

## 【0339】

リポソーム製剤は、局所投与に特に好適である。リポソームは、他の製剤よりもいくつかの利点を呈する。こうした利点としては、投与された薬物の高い体内吸収に関連する副作用の減少、所望の標的における投与された薬物の蓄積の増加、及びsiRNAを皮膚に投与する能力が挙げられる。一部の実践形態では、リポソームは、siRNAを上皮細胞に送達するために、及び真皮組織内、例えば、皮膚内へのsiRNAの浸透を増強するために使用される。例えば、リポソームは、局所的に塗布することができる。リポソームとして製剤化された薬物の皮膚への局所送達報告されている（例えば、Weiner et al., Journal of Drug Targeting, 1992, vol. 2, 405-410及びdu Plessis et al., Antiviral Research, 18, 1992, 259-265、Mannino, R. J. and Fould-Fogerite, S., Biotechniques 6:682-690, 1988、Itani, T. et al. Gene 56:267-276, 1987、Nicolau, C. et al. Meth. Enz. 149:157-176, 1987、Straubinger, R. M. and Papahadjopoulos, D. Meth. Enz. 101:512-527, 1983、Wang, C. Y. and Huang, L., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:7851-7855, 1987を参照されたい。これらは、その全体が参照により組み込まれる）。

20

30

## 【0340】

非イオン性リポソーム系は、特に非イオン性界面活性剤及びコレステロールを含む系は、皮膚への薬物の送達におけるそれらの有用性を判定するためにも試験されてきた。マウスの皮膚の真皮内に薬物を送達するために、Novasome I（ジラウリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン-10-ステアリルエーテル）及びNovasome II（ジステアリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン-10-ステアリルエーテル）を含む非イオン性リポソーム製剤が使用された。本明細書に記載されるdsRNAを含むこうした製剤は、皮膚障害を治療するのに有用である。

40

## 【0341】

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを含むリポソームは、高度に変形可能にすることができる。こうした変形能は、リポソームがリポソームの平均半径より小さい孔を通して浸透することを可能にする。例えば、トランスファーソーム（transfersome）は、変形可能なタイプのリポソームである。トランスファーソームは、表面エッジ活性化剤（surface edge activator）、通常は界面活性剤、を標準のリポソーム組成物に加えることによって作製することができる。本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを含むトランスファー

50

ソームは、dsRNAを皮膚のケラチン生成細胞に送達するために、感染によって、例えば、皮下に送達され得る。脂質ベシクルは、インタクトな哺乳動物の皮膚を通過するために、好適な経皮勾配の影響下において、それぞれが50nm未満の直径を有する一連の微細孔を通過しなければならない。加えて、脂質特性に起因して、これらトランスファースームは、自己最適性（例えば、皮膚などにおいて、孔の形状に順応性のある）で、自己修復性であり得、並びに断片化することなくそれらの標的に頻繁に到達することができ、また多くの場合、自己負荷性（self-loading）であり得る。

#### 【0342】

本発明に従う他の製剤は、2008年1月2日に出願された米国仮出願第61/018,616号、2008年1月2日に出願された第61/018,611号、2008年3月26日に出願された第61/039,748号、2008年4月22日に出願された第61/047,087号、及び2008年5月8日に出願された第61/051,528号に記載されている。2007年10月3日に出願されたPCT出願第PCT/US2007/080331号にも、本発明に従う製剤が記載されている。

#### 【0343】

界面活性剤。オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA組成物は、界面活性剤を含み得る。一部の実施形態では、dsRNAは、界面活性剤を含むエマルジョンとして製剤化される。天然及び合成の両方、多くの異なるタイプの界面活性剤の特性を分類及び格付けする最もよくある手法としては、親水性／親油性バランス（HLB）を使用するものがある。親水性基の性質が、製剤中で使用される様々な界面活性剤を分類するのに最も有用な手段となる（Rieger, in "Pharmaceutical Dosage Forms", Marcel Dekker, Inc., New York, NY, 1988, p. 285）。

#### 【0344】

界面活性剤分子がイオン化されない場合、それらは、非イオン性界面活性剤として分類される。非イオン性界面活性剤は、医薬品において広い応用が見出され、広範囲のpH値にわたって使用可能である。概して、それらのHLB値は、それらの構造に応じて2～約18の範囲である。非イオン性界面活性剤としては、非イオン性エステル、例えばエチレングリコールエステル、プロピレングリコールエステル、グリセリルエステル、ポリグリセリルエステル、ソルビタンエステル、スクロースエステル、及びエトキシ化エステルが挙げられる。例えば脂肪アルコールエトキシレート、プロポキシ化アルコール及びエトキシ化／プロポキシ化ブロックポリマーなどである非イオン性のアルカノールアミド及びエーテルもまた、このクラスに含まれる。ポリオキシエチレン界面活性剤は、非イオン性界面活性剤のクラスの最も普及した要素である。

#### 【0345】

水に溶解又は分散されたときに、界面活性剤分子が負電荷を保持する場合、界面活性剤は、アニオン性として分類される。アニオン性界面活性剤としては、カルボキシレート、例えば、セッケン、アシルラクテート、アミノ酸のアシルアミド、硫酸のエステル、例えば、アルキルスルフェート及びエトキシ化アルキルスルフェート、スルホネート、例えば、アルキルベンゼンスルホネート、アシルイセチオネート、アシルタウレート、及びスルホスクシネート、並びにホスフェートが挙げられる。アニオン性界面活性剤のクラスの最も重要な要素は、アルキルスルフェート及びセッケンである。

#### 【0346】

水に溶解又は分散されたときに、界面活性剤分子が正電荷を保持する場合、界面活性剤は、カチオン性として分類される。カチオン性界面活性剤としては、四級アンモニウム塩及びエトキシ化アミンが挙げられる。四級アンモニウム塩は、このクラスの最も使用される要素である。

#### 【0347】

界面活性剤分子が、正電荷又は負電荷のどちらかを保持する能力を有する場合、界面活性剤は、両性として分類される。両性界面活性剤としては、アクリル酸誘導体、置換アル

10

20

30

40

50

キルアミド、N-アルキルベタイン及びホスファチドが挙げられる。

【0348】

薬品、製剤、及びエマルジョン中での界面活性剤の使用は、概説されている (Rieger, in "Pharmaceutical Dosage Forms", Marcel Dekker, Inc., New York, NY, 1988, p. 285)。

【0349】

ミセル及び他の膜製剤。「ミセル」は、本明細書においては、分子の全ての疎水性部分が内側に向くように両親媒性分子が球状構造で整列され、それによって親水性部分が周囲の水相に接触したままになる、特定のタイプの分子アセンブリとして定義される。環境が疎水性である場合、逆の配置で存在する。

【0350】

経皮的な膜を通る送達に好適な混合ミセル製剤は、オリゴヌクレオチド及び／又は dsRNA 組成物の水溶液、アルカリ金属の C<sub>8</sub>~C<sub>22</sub> アルキルスルフェート、並びにミセル形成化合物を混合することによって調製され得る。例示的なミセル形成化合物としては、レシチン、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の医薬的に許容可能な塩、グリコール酸、乳酸、カモミール抽出物、キュウリ抽出物、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、モノオレイン、モノオレエート、モノラウレート、ルリジサ油、月見草油、メントール、トリヒドロキシオキシコラニルグリシン (tri hydroxy oxo cholanyl glycine) 及びその医薬的に許容可能な塩、グリセリン、ポリグリセリン、リシン、ポリリジン、トリオレイン、ポリオキシエチレンエーテル及びその類似体、ポリドカノールアルキルエーテル及びその類似体、ケノデオキシコラート、デオキシコラート、並びにそれらの混合物が挙げられる。ミセル形成化合物は、アルカリ金属のアルキルスルフェートと同時に加えてもよく、又はそれらを加えた後に加えてもよい。混合ミセルは、原材料の、実質的に任意の種類の混合によって形成されることとなるが、より小さいサイズのミセルを提供するために激しい混合によって形成されることとなる。

【0351】

一方法では、オリゴヌクレオチド及び／又は dsRNA 組成物と、少なくともアルカリ金属のアルキル硫酸塩とを含む第1のミセル組成物が調製される。次いで、第1のミセル組成物を、少なくとも3つのミセル形成化合物と混合し、混合ミセル組成物を形成する。別の方法では、ミセル組成物は、dsRNA 組成物とアルカリ金属のアルキル硫酸塩と、ミセル形成化合物のうちの少なくとも1つとを混合して、その後激しく混合しながら、残りのミセル形成化合物を加えることによって調製される。

【0352】

製剤を安定化させるため、及び細菌増殖から保護するために、フェノール及び／又は m-クレゾールを混合ミセル組成物に加えてもよい。あるいは、フェノール及び／又は m-クレゾールを、ミセル形成原材料とともに加えてもよい。グリセリンなどの等張剤を、混合ミセル組成物の形成後に加えてもよい。

【0353】

ミセル製剤を噴霧剤として送達する場合には、当該製剤を、エアゾールディスペンサーに入れることができ、そしてディスペンサーには、噴射剤が装填される。噴射剤は、加圧されており、ディスペンサー中では液体状態である。原材料の比率は、水相及び噴射剤の相が1つになるように、すなわち、一相で存在するように、調節される。二相で存在する場合には、例えば、計量弁などによって、内容物の一部を噴出する前に、ディスペンサーを振る必要がある。医薬品の分配用量が、微細な噴霧で計量弁から射出される。

【0354】

噴射剤には、水素含有クロロフルオロカーボン、水素含有フルオロカーボン、ジメチルエーテル、及びジエチルエーテルが含まれ得る。特定の実施形態では、HFA 134a (1, 1, 1, 2 テトラフルオロエタン) が使用され得る。

【0355】

必須の原材料の特定の濃度は、比較的簡単な実験によって決定することができる。口腔

10

20

30

40

50

による吸収の場合には、注射での又は胃腸管経由の投与のための投与量を、例えば、少なくとも2倍又は3倍に、増加させることが望ましいことが多い。

【0356】

粒子。一部の実施形態では、dsRNA調製物は、粒子、例えば、マイクロ粒子に組み込まれ得る。マイクロ粒子は、噴霧乾燥によって製造することができるが、凍結乾燥、蒸発、流動床乾燥、真空乾燥、又はこれらの技術の組み合わせなどの他の方法によっても製造され得る。

【0357】

医薬組成物

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAは、医薬用途のために製剤化され得る。本発明は、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを含む医薬組成物に更に関する。医薬的に許容可能な組成物は、単独で、又は1つ以上の医薬的に許容可能な担体（添加剤）、賦形剤、及び／又は希釈剤とともに製剤化されて、上記の実施形態のいずれかにおけるdsRNA分子のうちの1つ以上の治療有効量を含む。

【0358】

医薬組成物は、固体形態又は液体形態で投与するために特別に製剤化することができ、以下に適合されたものを含む：（1）経口投与、例えば、飲薬（水溶液又は非水溶液又は懸濁液）、錠剤、例えば、口腔、舌下、及び全身吸収を対象としたもの、丸薬、粉末、顆粒、舌に塗布するためのペースト、（2）非経口投与、例えば、皮下、筋肉内、静脈内、又は硬膜外注射、例えば、滅菌溶液若しくは懸濁液、又は徐放性製剤、（3）局所適用、例えば、皮膚に塗布されるクリーム、軟膏、又は徐放性のパッチ若しくはスプレー、（4）腔内又は直腸内、例えば、ペッサリー、クリーム、又はフォーム、（5）舌下、（6）眼内、（7）経皮的、あるいは（8）経鼻。皮下又は静脈内方法を使用した送達は、特に有利であり得る。

【0359】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」という語句は、任意の治療に適用可能な合理的な利益／リスク比で、動物における細胞の少なくとも亜集団において何らかの望ましい治療効果をもたらすのに有効な、本明細書に記載されるdsRNA分子を含む化合物、材料、又は組成物の量を意味する。

【0360】

「医薬的に許容可能な」という語句は、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、又は他の問題若しくは合併症なしに、合理的な利益／リスク比に見合う、健全な医学的判断の範囲内でのヒト及び動物の組織との接触での使用に好適であるそれら化合物、材料、組成物及び／又は剤形を指す。

【0361】

「医薬的に許容可能な担体」という語句は、本明細書において使用する場合、1つの臓器又は身体の部分から、別の臓器又は身体の部分への主題化合物の運搬又は輸送に関与する、医薬的に許容可能な材料、組成物、又はビヒクルであって、例えば液体若しくは固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、製造助剤（例えば、潤滑剤、タルクマグネシウム、カルシウム若しくは亜鉛ステアレート、又はステアリン酸）、又は溶媒封入材料など、を意味する。各担体は、製剤の他の原材料に対して適合性であり、かつ患者に対して有害であってはならないという意味において「許容可能な」ものでなければならない。医薬的に許容可能な担体として役立ち得る材料のいくつかの例には、以下が含まれる：（1）糖類、例えば乳糖、グルコース及びショ糖など、（2）デンプン、例えばトウモロコシデンプン及びジャガイモデンプンなど、（3）セルロース、及びその誘導体、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース及び酢酸セルロースなど、（4）トラガカント末、（5）モルト、（6）ゼラチン、（7）潤滑剤、例えばマグネシウムステート（magnesium stearate）、ラウリル硫酸ナトリウム及びタルクなど、（8）賦形剤、例えばココアバター及び座薬ワックスなど、（9）油、例えばピーナッツ油、綿実油、サ

10

20

30

40

50

フラワー油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油及び大豆油など、(10)グリコール、例えばプロピレングリコールなど、(11)ポリオール、例えばグリセリン、ソルビトール、マンニトール及びポリエチレングリコールなど、(12)エステル、例えばオレイン酸エチル及びラウリン酸エチルなど、(13)寒天、(14)緩衝剤、例えば水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウムなど、(15)アルギニン酸、(16)発熱因子なしの水、(17)等張生理食塩水、(18)リンゲル溶液、(19)エチルアルコール、(20)pH緩衝溶液、(21)ポリエステル、ポリカーボネート、及び／又はポリ酸無水物、(22)充填剤、例えばポリペプチド、及びアミノ酸など、(23)血清成分、例えば血清アルブミン、HDL及びLDLなど、並びに(22)医薬品製剤に採用される他の非毒性の適合性物質。

10

#### 【0362】

製剤は、単位剤形で好都合に提示することができ、薬学の技術分野で周知の任意の方法によって調製することができる。担体材料と組み合わせて単一剤形を生成することができる有効成分の量は、治療される宿主、特定の投与様式に応じて変化する。単一剤形を生成するために担体材料と組み合わせられ得る有効成分の量は、概して、治療効果を生成する化合物の量である。概して、100パーセントのうち、この量は、有効成分の約0.1パーセント～約99パーセント、好ましくは約5パーセント～約70パーセント、最も好ましくは約10パーセント～約30パーセントの範囲である。

#### 【0363】

特定の実施形態では、本発明の製剤は、シクロデキストリン、セルロース、リポソーム、ミセル形成剤、例えば、胆汁酸、及びポリマー担体、例えば、ポリエステル及びポリ無水物からなる群から選択される賦形剤と、本発明の化合物と、を含む。特定の実施形態では、上述の製剤は、本発明の化合物を経口的にバイオアベイラビリティにする。

20

#### 【0364】

これらの製剤又は組成物を調製する方法は、オリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを担体、及び任意に1つ以上の副成分と会合させる工程を含む。概して、製剤は、本発明の化合物を、液体担体又は微粉化された固体担体又はその両方と均一にかつ密接に会合させ、次いで、必要であれば、生成物を成形することによって調製される。

#### 【0365】

場合によっては、薬物の効果を延長するために、皮下注射又は筋肉内注射からの薬物の吸収を遅らせることが望ましい。これは、難水溶性を有する結晶性又は非結晶性材料の液体懸濁液の使用によって達成され得る。次いで、薬物の吸収速度は、その溶解速度に依存し、溶解速度は、結晶サイズ及び結晶形態に依存し得る。あるいは、非経口投与薬物形態の吸収の遅延は、薬物を油性ビヒクル中に溶解又は懸濁することによって達成される。

30

#### 【0366】

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAは、他の医薬品と類似して、ヒト又は獣医学で使用するための任意の簡便な方式で投与するために製剤化され得る。

#### 【0367】

「治療」という用語は、療法及び治癒を包含することを意図している。この治療を受けている患者は、霊長類、特にヒトと、ウマ、ウシ、ブタ、及びヒツジなどの他の哺乳動物と、概して家禽及びペットとを含む、治療を必要とする任意の動物である。

40

#### 【0368】

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／若しくはdsRNA、又は本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／若しくはdsRNAを含む医薬組成物は、異なる送達経路を使用して対象に投与され得る。本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAを含む組成物は、様々な経路によって対象に送達され得る。例示的な経路としては、静脈内、皮下、局所、経直腸、経肛門、経膈、経鼻、肺、眼内が挙げられる。

#### 【0369】

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAは、局所治療又は全身

50

治療が望ましいかどうか、及び治療されるエリアに応じて、いくつかの方式で投与され得る。投与は、局所（眼内、経膈、経直腸、鼻腔内、経皮を含む）、経口、又は非経口投与であり得る。非経口投与は、点滴静注、皮下、腹腔内、若しくは筋肉注射、又は髄腔内又は脳室内の投与を含む。

#### 【0370】

投与の経路及び部位は、ターゲティングを増強するように選択され得る。例えば、筋肉細胞を標的とするため、目的の筋肉内への筋肉注射が、論理的な選択となるであろう。肺細胞は、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又は dsRNA をエアロゾル形態で投与することによって標的とされ得る。血管内皮細胞は、バルーンカテーテルを本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又は dsRNA でコーティングし、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又は dsRNA を機械的に導入することによって標的とされ得る。

10

#### 【0371】

一態様では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又は dsRNA を対象に（例えば、ヒト対象）投与する方法が本明細書に提供される。別の態様では、本発明は、対象における標的遺伝子の発現の阻害に使用するための、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又は dsRNA に関する。方法又は医学的使用は、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又は dsRNA の単位用量を投与することを含む。一部の実施形態では、単位用量は、体重 1 kg 当たり 10 mg 未満、又は体重 1 kg 当たり 10、5、2、1、0.5、0.1、0.05、0.01、0.005、0.001、0.0005、0.0001、0.00005、又は 0.00001 mg 未満、及び体重 1 kg 当たり 200 ナノモル未満の RNA 剤（例えば、約  $4.4 \times 10^{16}$  コピー）、又は体重 1 kg 当たり 1500、750、300、150、75、15、7.5、1.5、0.75、0.15、0.075、0.015、0.0075、0.0015、0.00075、0.00015 ナノモル未満である。

20

#### 【0372】

定義された量は、疾患又は障害、例えば、標的遺伝子と関連付けられた疾患又は障害を治療又は予防するのに有効な量であり得る。単位用量は、例えば、注射（例えば、静脈内、皮下、若しくは筋肉内）、吸入用量、又は局所適用によって投与され得る。一部の実施形態では、投与量は、体重 1 kg 当たり、10、5、2、1、又は 0.1 mg 未満であってもよい。

30

#### 【0373】

一部の実施形態では、単位用量は、1日1回よりも少ない頻度で、例えば、2、4、8、又は30日毎に投与される。別の実施形態では、単位用量は、頻度によって投与されない（例えば、規則的な頻度ではない）。例えば、単位用量は、単回で投与されてもよい。

#### 【0374】

一部の実施形態では、有効量は、他の従来の治療モダリティとともに投与される。

#### 【0375】

一部の実施形態では、対象は、初回用量及び1回以上の維持用量を投与される。維持用量は、初回用量と同じか、又はそれより低く、例えば、初回用量の半分未満であり得る。維持レジメンは、1日当たり体重 1 kg 当たり 0.01  $\mu$ g ~ 15 mg の範囲の用量、例えば、1日当たり体重 1 kg 当たり 10、1、0.1、0.01、0.001、又は 0.00001 mg で対象を治療することを含み得る。維持用量は、例えば、2日、5日、10日、又は30日に1回以下で投与される。更に、治療レジメンは、特定の疾患の性質、その重症度、及び患者の全体的な状態に応じて変化することになる期間にわたって継続し得る。特定の実施形態では、投与量は、1日1回以下、例えば、24時間、36時間、48時間、又はそれ以上に1回以下、例えば、5日又は8日毎に1回以下で送達され得る。治療後、患者は、その状態の変化について、及び病態の症状の軽減についてモニタリングされ得る。化合物の投与量は、使用中の投与量レベルに患者が有意に応答しない場合に増加され得、又は、投与量は、病態の症状の軽減が観察された場合か、病態が除去された場

40

50

合か、若しくは望ましくない副作用が観察された場合に、減少され得る。

【0376】

有効量は、所望に応じて、又は特定の状況下で適切であるとみなされるように、単回用量又は2回以上の用量で投与され得る。繰り返しの又は頻繁な注入を容易にするために望ましい場合、送達デバイス、例えば、ポンプ、半永久ステント（例えば、静脈内、腹腔内、大槽内、又は囊内）、又は貯蔵部の移植が望ましい場合がある。

【0377】

一部の実施形態では、組成物は、複数のdsRNA分子種を含む。別の実施形態では、dsRNA分子種は、天然起源標的配列に関して、非重複、かつ別の種に隣接しない配列を有する。別の実施形態では、複数のdsRNA分子種は、異なる天然起源標的遺伝子に特異的である。別の実施形態では、dsRNA分子は、対立遺伝子特異的である。

10

【0378】

本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNAは、哺乳動物、特に非ヒト霊長類又はヒトなどの大型哺乳動物に、多くの方法で投与することができる。

【0379】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA化合物の投与は、非経口であり、例えば、静脈内（例えば、ボラスとして、又は拡散性注入として）、皮内、腹腔内、筋肉内、髄腔内、脳室内、頭蓋内、皮下、経粘膜、頬側、舌下、内視鏡下、経直腸、経口、経膈、局所、肺内、鼻腔内、経尿道、又は眼内である。投与は、対象自身によって、又は他の者、例えば、医療提供者などによって提供され得る。医薬品は、測定された用量で、又は計量された用量を送達するディスペンサーで、提供することができる。選択される送達様式は、以下でより詳細に説明する。

20

【0380】

本発明は、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA組成物の直腸投与又は送達のための方法、組成物、及びキットを提供する。

【0381】

標的遺伝子の発現を阻害する方法

本開示の態様はまた、標的遺伝子の発現を阻害するための方法に関する。方法は、標的遺伝子の発現を阻害するのに十分な量で、(i)本明細書に記載される二本鎖RNAであって、第1の鎖が標的遺伝子に対して相補的である、二本鎖RNA、及び／又は(ii)標的遺伝子に対して相補的である、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドを対象に投与することを含む。

30

【0382】

本開示は、標的細胞における標的遺伝子の発現を阻害するための、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA分子の使用に更に関する。本開示は、インビトロでの標的細胞における標的遺伝子の発現を阻害するための、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA分子の使用に更に関する。

【0383】

本発明の別の態様は、細胞における標的遺伝子の発現を調節する方法であって、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチド及び／又はdsRNA分子を該細胞に投与することを含む方法に関する。一部の実施形態では、標的遺伝子が、第VII因子、Eg5、PCSK9、TPX2、apoB、SAA、TTR、RSV、PDGFベータ遺伝子、ErbB遺伝子、Src遺伝子、CRK遺伝子、GRB2遺伝子、RAS遺伝子、MEKK遺伝子、JNK遺伝子、RAF遺伝子、Erk1/2遺伝子、PCNA(p21)遺伝子、MYB遺伝子、JUN遺伝子、FOS遺伝子、BCL-2遺伝子、ヘプシジン、活性化タンパク質C、サイクリンD遺伝子、VEGF遺伝子、EGFR遺伝子、サイクリンA遺伝子、サイクリンE遺伝子、WNT-1遺伝子、ペターカテニン遺伝子、c-MET遺伝子、PKC遺伝子、NFkB遺伝子、STAT3遺伝子、サバイビン遺伝子、Her2/Neu遺伝子、トポイソメラーゼI遺伝子、トポイソメラーゼIIアルファ遺伝子、p73遺伝子における変異、p21(WAF1/CIP1)遺伝子における変異、p27(KI

40

50

P 1) 遺伝子における変異、P P M 1 D 遺伝子における変異、R A S 遺伝子における変異、カベオリン I 遺伝子における変異、M I B I 遺伝子における変異、M T A I 遺伝子における変異、M 6 8 遺伝子における変異、腫瘍抑制遺伝子における変異、及び p 5 3 腫瘍抑制遺伝子における変異からなる群から選択される。

【0384】

本明細書に記載される様々な態様の一部の実施形態は、以下の付番された実施形態によって記載される。

【0385】

実施形態 1：式 (I) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを調製するための方法であって、式 (II) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを、式  $HNR^6R^7$  のアミンと反応させることを含み、式中、 $R^H$  が、ハロゲン（例えば、クロロ又はフルオロ）であり； $R^2$  が、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコキシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、5~8 員ヘテロシクリル、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、又は  $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン (GalNac)）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり； $R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン (GalNac)）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり； $R^4$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルキニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルコキシであるか；又は  $R^4$  及び  $R^2$  が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_v-Y-2'$  若しくは  $4'-Y-C(R^{10}R^{11})_v-2'$  であり；Y が、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH(Me)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^{12})-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-N(R^{12})C(O)-$ 、若しくは  $-C(O)N(R^{12})-$  であり； $R^{10}$  及び  $R^{11}$  が、独立して、H、置換されていてもよい  $C_{1-C_6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-C_6}$  アルケニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{2-C_6}$  アルキニルであり； $R^{12}$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-C_{30}}$  アルコキシ、 $C_{1-4}$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル- $CO_2H$ 、若しくは窒素保護基であり；v が、1、2、若しくは3であるか；又は  $R^4$  及び  $R^3$  が、それらが結合している原子と一緒にあって、置換されていてもよい 3~8 シクロアルキル、置換されていてもよい  $C_{3-8}$  シクロアルケニル、若しくは置換されていてもよい 3~8 員ヘテロシクリルを形成し； $R^5$  が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケ

10

20

30

40

50

ニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、置換されていてもよい 3～8 員ヘテロシクリル（例えば、モルホリン-1-イル、ピペリジン-1-イル、又はピロリジン-1-イル）、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル- $ON$  ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル- $ON$  ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、ビニルホスホネート (VP) 基、 $C_{3-6}$  シクロアルキルホスホネート（例えば、シクロプロピルホスホネート）、モノホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-5'$ )、ジホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、トリホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート、 $(HO)_2(S)P-O-5'$ )、モノジチオホスフェート（ホスホロジチオエート、 $(HO)(HS)(S)P-O-5'$ )、ホスホロチオラート ( $(HO)_2(O)P-S-5'$ )、アルファ-チオトリホスフェート、ベータ-チオトリホスフェート、ガンマ-チオトリホスフェート、ホスホルアミデート ( $(HO)_2(O)P-NH-5'$ 、 $(HO)(NH_2)(O)P-O-5'$ )、アルキルホスホネート [ $(R^P)(OH)(O)P-O-5'$ 、 $R^P$  が、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、又はプロピルである]、アルキルエーテルホスホネート [ $(R^{P1})(OH)(O)P-O-5'$ 、 $R^{P1}$  が、アルコキシアルキル、例えば、メトキシメチル ( $CH_2OMe$ ) 又はエトキシメチルである]、 $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、又は  $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、又は  $(HO)_2(X)P-[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、又は置換されていてもよいアルキル、並びにジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体（例えば、 $HO[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、 $H_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、 $H[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、 $HO[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、 $H_2N[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、 $H[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_{b-5'}$ ）を表し； $X$  が、 $O$  又は  $S$  であり； $a$  及び  $b$  が、各々独立して、1～10 であり；各  $R^6$  及び  $R^7$  が、独立して、水素又は  $-L-R^L$  であるが、但し、 $R^6$  及び  $R^7$  のうちの少なくとも 1 つが、 $H$  ではないか； $R^6$  及び  $R^7$  がそれらが結合している窒素原子と一緒にあって、3～10 員ヘテロシクリル若しくは 3～10 員ヘテロアリール基を形成し、ヘテロシクリル又はヘテロアリールが、1 つの  $-L-R^L$  基を含み； $L$  が、非存在、又はリンカーであり；各  $R^L$  が、リガンド（例えば、独立して、糖質、ペプチド、脂質、治療剤、診断剤、検出可能な標識、抗体若しくはその断片、ビタミン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキニルからなる群から選択される）であり；各  $R^8$  及び  $R^9$  が、独立して、 $H$ 、ターゲティングリガンド（例えば、 $Ga$   $l$   $Na$   $c$ ）、薬物動態修飾因子、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルケニル、又は置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキニルであり、但し、 $(i)$   $R^2$  及び  $R^3$  のうちの 1 つ以下が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合であり、 $(ii)$   $R^2$  及び  $R^3$  の両方が結合でない場合、 $R^5$  が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、前記方法。

【0386】

実施形態 2： $R^H$  が、フルオロである、請求項 1 に記載の方法。

【0387】

実施形態 3：少なくとも 1 つの  $L$  が、結合である、請求項 1 又は 2 に記載の方法。

【0388】

実施形態 4：少なくとも 1 つの  $L$  が、リンカーである、請求項 1～3 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【0389】

実施形態5：少なくとも1つの $R^L$ が、独立して、糖質、脂質、ビタミン、ペプチド、タンパク質、リボタンパク質、ペプチド模倣体、ポリアミン、ヌクレオシド及びヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、検出可能な標識、診断剤（例えば、ビトイン）、蛍光色素、ポリエチレングリコール（PEG）、抗体、抗体断片（例えば、ナノボディ）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方法。

## 【0390】

実施形態6：少なくとも1つの $R^L$ が、ターゲティングリガンド、エンドソーム溶解性リガンド、及びPK調節リガンドから選択されるリガンドである、請求項1～5のいずれか一項に記載の方法。

## 【0391】

実施形態7： $R^6$ 及び $R^7$ が、同一である、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

## 【0392】

実施形態8： $R^2$ が、水素、ヒドロキシル、保護ヒドロキシル、ハロゲン、置換されていてもよい $C_{1-6}$ アルコキシ（例えば、メチル）、若しくはアルコシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）であるか、又は $R^4$ 及び $R^2$ が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_V-Y-2'$ 若しくは $4'-Y-C(R^{10}R^{11})_V-2'$ である、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

## 【0393】

実施形態9： $R^2$ が、水素、ヒドロキシル、F、メトキシであるか、又は $R^4$ 及び $R^2$ が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_V-Y-2'$ である、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

## 【0394】

実施形態10： $R^4$ 及び $R^2$ が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_V-Y-2'$ である、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

## 【0395】

実施形態11： $R^4$ が、Hである、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

## 【0396】

実施形態12： $R^3$ が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、ハロゲン、アルコシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、3'-オリゴヌクレオチドカップリング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン（GalNAc））、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）である、請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

## 【0397】

実施形態13： $R^3$ が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ、3'-オリゴヌクレオチドカップリング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）である、請求項1～12のいずれか一項に記載の方法。

## 【0398】

実施形態14： $R^3$ が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、請求項1～13のいずれか一項に記載の方法。

## 【0399】

実施形態15： $R^3$ が、ヒドロキシルである、請求項1～14のいずれか一項に記載の方法。

## 【0400】

10

20

30

40

50

実施形態 16：R<sup>5</sup> が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよい C<sub>1</sub> - 30 アルコキシ、ビニルホスホネート（VP）基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アルキルホスホネート、アルキルエーテルホスホネート、ジアルキル末端ホスフェート、及びホスフェート模倣体である、請求項 1～15 のいずれか一項に記載の方法。

【0401】

実施形態 17：R<sup>5</sup> が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、請求項 1～16 のいずれか一項に記載の方法。 10

【0402】

実施形態 18：R<sup>5</sup> が、ヒドロキシ、置換されていてもよい C<sub>1</sub> - 30 アルコキシ、ビニルホスホネート（VP）基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、又はガンマチオトリホスフェートである、請求項 1～17 のいずれか一項に記載の方法。

【0403】

実施形態 19：オリゴヌクレオチドが、3～50 個のヌクレオチドを含む、請求項 1～18 のいずれか一項に記載の方法。 20

【0404】

実施形態 20：オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つのリボヌクレオチドを含む、請求項 1～19 のいずれか一項に記載の方法。

【0405】

実施形態 21：オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの 2' - デオキシリボヌクレオチドを含む、請求項 1～20 のいずれか一項に記載の方法。

【0406】

実施形態 22：オリゴヌクレオチドが、修飾核酸塩基又は非天然核酸塩基を有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1～21 のいずれか一項に記載の方法。

【0407】

実施形態 23：オリゴヌクレオチドが、修飾リボース糖を有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1～22 のいずれか一項に記載の方法。 30

【0408】

実施形態 24：オリゴヌクレオチドが、リボース糖の 2' 位置に H でも OH でもない基を含む少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1～23 のいずれか一項に記載の方法。

【0409】

実施形態 25：オリゴヌクレオチドが、2' - F リボースを有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1～24 のいずれか一項に記載の方法。

【0410】

実施形態 26：オリゴヌクレオチドが、2' - OMe リボースを有する少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の方法。 40

【0411】

実施形態 27：オリゴヌクレオチドが、リボース糖以外の部分を含む少なくとも 1 つのヌクレオチドを含む、請求項 1～26 のいずれか一項に記載の方法。

【0412】

実施形態 28：オリゴヌクレオチドが、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチド間結合を含む、請求項 1～27 のいずれか一項に記載の方法。

【0413】

実施形態 29：オリゴヌクレオチドが、式（I）及び／又は（II）の、少なくとも 2 50

つ、例えば、3、4、又は5つの連続する独立して選択されたモノマーを含む、請求項1～28のいずれか一項に記載の方法。

【0414】

実施形態30：オリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合する、請求項1～29のいずれか一項に記載の方法。

【0415】

実施形態31：オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つのヒドロキシル、リン酸、又はアミノ保護基を含む、請求項1～30のいずれか一項に記載の方法。

【0416】

実施形態32：請求項1～31のいずれか一項に記載の方法によって調製される、オリゴヌクレオチド。

【0417】

実施形態33：式(II)のヌクレオシドを含む、オリゴヌクレオチド。

【0418】

実施形態34：式(III)の化合物であって、式中、 $R^H$ が、ハロゲンであり； $R^{32}$ が、水素、ヒドロキシ、ハロゲン、保護ヒドロキシ、リン酸基、反応性リン基、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコシアルキルアミン、アルコシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$ アルキル-ON( $CH_2R^8$ )( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$ アルキル-ON( $CH_2R^8$ )( $CH_2R^9$ )、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり； $R^{33}$ が、水素、ヒドロキシ、ハロゲン、保護ヒドロキシ、リン酸基、反応性リン基、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルコシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコシアルキルアミン、アルコシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$ アルキル-ON( $CH_2R^8$ )( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$ アルキル-ON( $CH_2R^8$ )( $CH_2R^9$ )、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）であり、任意に、 $R^{32}$ 及び $R^{33}$ のうちの1つのみが、リン酸基、反応性リン基、固体支持体、又は固体支持体に対するリンカーであり； $R^4$ が、水素、置換されていてもよい $C_{1-6}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{2-6}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-6}$ アルキニル、若しくは置換されていてもよい $C_{1-6}$ アルコキシであるか；又は $R^4$ 及び $R^{32}$ が一緒になって、 $4'-C(R^{11})_v-Y-2'$ 若しくは $4'-Y-C(R^{11})_v-2$ であり； $Y$ が、 $-O-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-CH(Me)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^{12})-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-N(R^{12})C(O)-$ 、若しくは $-C(O)N(R^{12})-$ であり； $R^{10}$ 及び $R^{11}$ が、独立して、H、置換されていてもよい $C_{1-C6}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{2-C6}$ アルケニル、若しくは置換されていてもよい $C_{2-C6}$ アルキニルであり； $R^{12}$ が、水素、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{1-C30}$ アルコキシ、 $C_{1-4}$ ハロアルキル、置換されていてもよい $C_{2-4}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-4}$ アルキニル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル- $CO_2H$ 、若しくは窒素保護基であり； $v$ が、1、2、若しくは3であるか；又は $R^4$ 及び $R^{33}$ が、それらが結合している原子と一緒に、置換されていてもよい3～8シクロアルキル、置換されていてもよい $C_{3-8}$ シクロアルケニル、若しくは置換されていてもよい3～8員ヘテロシクリルを形成し； $R^{35}$ が、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、リン酸基、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルケニル、置換されていてもよい $C_{2-30}$ アルキニル、置換されていてもよい $C$

$1-30$  アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル（例えば、メトキシエチル）、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$  アルキル-ON ( $CH_2R^8$ ) ( $CH_2R^9$ )、ビニルホスホネート (VP) 基、 $C_{3-6}$  シクロアルキルホスホネート（例えば、シクロプロピルホスホネート）、モノホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-5'$ )、ジホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、トリホスフェート ( $(HO)_2(O)P-O-P(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート、 $(HO)_2(S)P-O-5'$ )、モノジチオホスフェート（ホスホロジチオエート、 $(HO)(HS)(S)P-O-5'$ )、ホスホロチオレート ( $(HO)_2(O)P-S-5'$ )、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマチオトリホスフェート、ホスホルアミデート ( $(HO)_2(O)P-NH-5'$ 、 $(HO)(NH_2)(O)P-O-5'$ )、アルキルホスホネート ( $R(OH)(O)P-O-5'$ 、 $R$ =アルキル、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、プロピルなど)、アルキルエーテルホスホネート ( $R(OH)(O)P-O-5'$ 、 $R$ =アルキルエーテル、例えば、メトキシメチル ( $CH_2OMe$ )、エトキシメチルなど)、 $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は  $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は  $(HO)_2(X)P-[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ （式中、 $X$ は、 $O$ 、 $S$ 、又は置換されていてもよいアルキルである）、並びにジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体（例えば、 $HO[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $HO[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H_2N[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、式中、 $a$ 及び $b$ は、各々独立して、 $1\sim10$ である）であり；各 $R^8$ 及び $R^9$ が、独立して、 $H$ 、ターゲットイングリガンド（例えば、 $GaInAc$ )、薬物動態修飾因子、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキニルである、前記化合物。

10

20

30

【0419】

実施形態35： $R^H$ が、フルオロである、請求項34に記載の化合物。

【0420】

実施形態36： $R^{32}$ が、ハロゲンであるか、又は $R^4$ 及び $R^{32}$ が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_V-Y-2'$ 若しくは $4'-Y-C(R^{10}R^{11})_V-2'$ である、請求項34又は35に記載の化合物。

【0421】

実施形態37： $R^{32}$ が、 $F$ であるか、又は $R^4$ 及び $R^{32}$ が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_V-Y-2'$ である、請求項34～36のいずれか一項に記載の化合物。

【0422】

実施形態38： $R^4$ 及び $R^{32}$ が一緒になって、 $4'-C(R^{10}R^{11})_V-Y-2'$ である、請求項34～37のいずれか一項に記載の化合物。

40

【0423】

実施形態39： $R^4$ が、 $H$ である、請求項34～37のいずれか一項に記載の化合物。

【0424】

実施形態40： $R^{33}$ が、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、リン酸基、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）である、請求項34～39のいずれか一項に記載の化合物。

【0425】

実施形態41： $R^{33}$ が、ヒドロキシ、リン酸基、固体支持体、又は固体支持体と共有

50

結合したリンカー（例えば、 $-C(O)CH_2CH_2C(O)-$ ）である、請求項 34～40 のいずれか一項に記載の化合物。

【0426】

実施形態 42： $R^{35}$  が、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ビニルホスホネート（VP）基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アルキルホスホネート、アルキルエーテルホスホネート、ジアルキル末端ホスフェート、及びホスフェート模倣体である、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【0427】

実施形態 43： $R^{35}$  が、ヒドロキシル又は保護ヒドロキシルである、請求項 34～42 のいずれか一項に記載の化合物。

【0428】

実施形態 44： $R^{33}$  が、反応性リン基であり、 $R^{35}$  が、保護ヒドロキシルである、請求項 34～43 のいずれか一項に記載の化合物。

【0429】

実施形態 45： $R^{32}$  が、反応性リン基であり、 $R^{35}$  が、保護ヒドロキシルである、請求項 34～43 のいずれか一項に記載の化合物。

【0430】

実施形態 46： $R^{35}$  が、ビニルホスホネート（VP）基、シクロプロピルホスホネート、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファーチオトリホスフェート、ベーターチオトリホスフェート、ガンマーチオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アルキルホスホネート、アルキルエーテルホスホネート、ジアルキル末端ホスフェート、又はホスフェート模倣体であり、 $R^{33}$  が、反応性リン基である、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

20

【0431】

実施形態 47： $R^{35}$  が、ビニルホスホネート（VP）基、シクロプロピルホスホネート、又はホスフェート模倣体であり、 $R^{33}$  が、反応性リン基である、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

30

【0432】

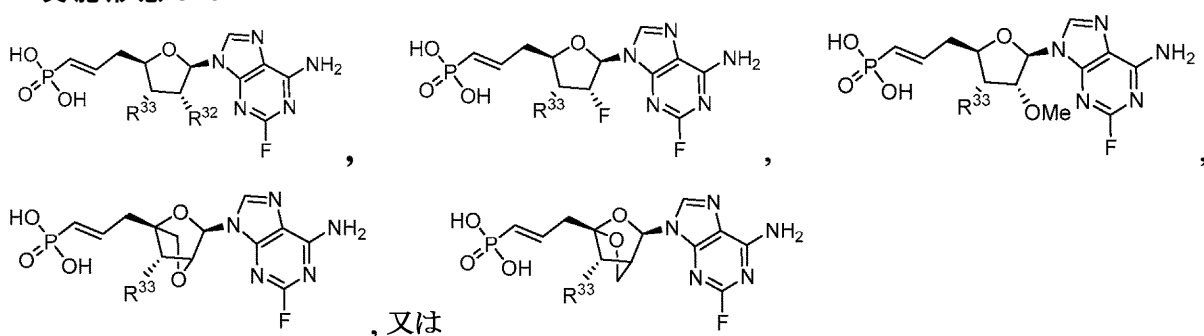
実施形態 48： $R^{35}$  が、ビニルホスホネート（VP）基（例えば、E-ビニルホスホネート）、シクロプロピルホスホネート、又はホスフェート模倣体であり、 $R^{33}$  が、ホスホラミダイト基である、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

【0433】

実施形態 49： $R^{35}$  が、トリホスフェート基であり、 $R^{33}$  が、アリルオキシ、アジドメトキシ、又はアミノオキシである、請求項 34～41 のいずれか一項に記載の化合物。

【0434】

実施形態 50：



40

50

である、請求項 34 に記載の化合物。

【0435】

実施形態 51:  $R^3$  が、反応性リン基である、請求項 50 に記載の化合物。

【0436】

実施形態 52: 式 (X) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを調製するための方法であって、式 (XI) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを、アルカリ水酸化物又はアルカリ土類水酸化物 (例えば、 $\text{NaOH}$ ) と反応させることを含み、式中、 $R^H$  が、ハロゲン (例えば、クロロ又はフルオロ) であり;  $R^2$  が、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、ハロゲン、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ (例えば、メトキシ)、アルコキシアルキル (例えば、2-メトキシエチル)、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、5~8 員ヘテロシクリル、 $-\text{O}-C_{4-30}$  アルキル- $\text{ON}$  ( $\text{CH}_2\text{R}^8$ ) ( $\text{CH}_2\text{R}^9$ )、又は  $-\text{O}-C_{4-30}$  アルキル- $\text{ON}$  ( $\text{CH}_2\text{R}^8$ ) ( $\text{CH}_2\text{R}^9$ )、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基 (例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド)、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー (例えば、N-アセチルガラクトサミン ( $\text{GalNac}$ ))、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー (例えば、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ) であり;  $R^3$  が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアルキル (例えば、メトキシエチル)、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-\text{O}-C_{4-30}$  アルキル- $\text{ON}$  ( $\text{CH}_2\text{R}^8$ ) ( $\text{CH}_2\text{R}^9$ )、 $-\text{O}-C_{4-30}$  アルキル- $\text{ON}$  ( $\text{CH}_2\text{R}^8$ ) ( $\text{CH}_2\text{R}^9$ )、3'-オリゴヌクレオチドキャッピング基 (例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド)、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー (例えば、N-アセチルガラクトサミン ( $\text{GalNac}$ ))、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー (例えば、 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ ) であり;  $R^4$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルキニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルコキシであるか; 又は  $R^4$  及び  $R^2$  が一緒になって、 $4'-\text{C}(\text{R}^{10}\text{R}^{11})_v-\text{Y}-2'$  若しくは  $4'-\text{Y}-\text{C}(\text{R}^{10}\text{R}^{11})_v-2'$  であり;  $\text{Y}$  が、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{Me})-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{12})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{S})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{a13})\text{C}(\text{O})-$ 、若しくは  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{a13})-$  であり;  $R^{10}$  及び  $R^{11}$  及び  $R^{a13}$  が、独立して、 $\text{H}$ 、置換されていてもよい  $C_{1-6}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルケニル、若しくは置換されていてもよい  $C_{2-6}$  アルキニルであり;  $R^{12}$  が、水素、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、 $C_{1-4}$  ハロアルキル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-4}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル- $\text{CO}_2\text{H}$ 、若しくは窒素保護基であり;  $v$  が、1、2、若しくは3であるか; 又は  $R^4$  及び  $R^3$  が、それらが結合している原子と一緒に、置換されていてもよい  $C_{3-8}$  シクロアルキル、置換されていてもよい  $C_{3-8}$  シクロアルケニル、若しくは置換されていてもよい 3~8 員ヘテロシクリルを形成し;  $R^5$  が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、水素、ヒドロキシ、保護ヒドロキシ、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルキル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルケニル、置換されていてもよい  $C_{2-30}$  アルキニル、置換されていてもよい  $C_{1-30}$  アルコキシ、置換されていてもよい 3~8 員ヘテロシクリル (例えば、モルホリン-1-イル、ピペリジン-1-イル、又はピロリジン-1-イル)、ハロゲン、アルコキシアルキル (例えば、2-メト

キシエチル)、アルコキシアルキルアミン、アルコキシオキシカルボキシレート、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、 $-O-C_{4-30}$ アルキル-ON( $CH_2R^8$ )( $CH_2R^9$ )、 $-O-C_{4-30}$ アルキル-ON( $CH_2R^8$ )( $CH_2R^9$ )、ビニルホスホネート(VP)基、 $C_{3-6}$ シクロアルキルホスホネート(例えば、シクロプロピルホスホネート)、モノホスフェート( $(HO)_2(O)P-O-5'$ )、ジホスフェート( $(HO)_2(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、トリホスフェート( $(HO)_2(O)P-O-(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5'$ )、モノチオホスフェート(ホスホロチオエート、 $(HO)_2(S)P-O-5'$ )、モノジチオホスフェート(ホスホロジチオエート、 $(HO)(HS)(S)P-O-5'$ )、ホスホロチオラート( $(HO)_2(O)P-S-5'$ )、アルファーチオトリホスフェート、ベータチオトリホスフェート、ガンマチオトリホスフェート、ホスホルアミデート( $(HO)_2(O)P-NH-5'$ 、 $(HO)(NH_2)(O)P-O-5'$ )、アルキルホスホネート[( $R^P$ )(OH)(O)P-O-5'、 $R^P$ が、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、例えば、メチル、エチル、イソプロピル、又はプロピルである)]、アルキルエーテルホスホネート[( $R^{P1}$ )(OH)(O)P-O-5'、 $R^{P1}$ が、アルコキシアルキル、例えば、メトキシメチル( $CH_2OMe$ )又はエトキシメチルである]、 $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は $(HO)_2(X)P-O[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は $(HO)_2(X)P-[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、又は置換されていてもよいアルキル、並びにジアルキル末端ホスフェート及びホスフェート模倣体(例えば、 $HO[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-O-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $HO[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H_2N[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $H[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ 、 $Me_2N[-(CH_2)_a-P(X)(OH)-O]_b-5'$ )を表し; Xが、O又はSであり; a及びbが、各々独立して、1~10であり; 各 $R^6$ 及び $R^7$ が、独立して、水素又は $-L-R^L$ であるが、但し、 $R^6$ 及び $R^7$ のうちの少なくとも1つが、Hではないか;  $R^6$ 及び $R^7$ がそれらが結合している窒素原子と一緒にあって、3~10員ヘテロシクリル若しくは3~10員ヘテロアリール基を形成し、ヘテロシクリル又はヘテロアリールが、1つの $-L-R^L$ 基を含み; Lが、非存在、又はリンカーであり;

10

20

30

40

各 $R^L$ が、リガンド(例えば、独立して、糖質、ペプチド、脂質、治療剤、診断剤、検出可能な標識、抗体若しくはその断片、ビタミン、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキニルからなる群から選択される)であり; 各 $R^8$ 及び $R^9$ が、独立して、H、ターゲティングリガンド(例えば、GalNac)、薬物動態修飾因子、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキル、置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルケニル、又は置換されていてもよい $C_{1-30}$ アルキニルであり、但し、(i) $R^2$ 及び $R^3$ のうちの1つ以下が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合であり; (ii) $R^2$ 及び $R^3$ の両方が結合でない場合、 $R^5$ が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、前記方法。

#### 【0437】

実施形態53:式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合する、請求項52に記載の方法。

#### 【0438】

実施形態54:式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合し、式(X)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合しない、請求項52又は53に記載の方法。

#### 【0439】

実施形態55:式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と

50

結合しない、請求項 5 2 ～ 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【0 4 4 0】

実施形態 5 6：式 (X I) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチド、及び式 (X) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合しない、請求項 5 5 に記載の方法。

【0 4 4 1】

実施形態 5 7：式 (X I) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、固体支持体と結合し、方法が、アルカリ水酸化物又はアルカリ土類水酸化物（例えば、NaOH）と反応させる前に、オリゴヌクレオチドを固体支持体から切断する工程を含む、請求項 5 2 に記載の方法。

【0 4 4 2】

実施形態 5 8：式 (X I) のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドを固体支持体から切断する工程が、固体支持体と結合したオリゴヌクレオチドを 6 0℃未満の温度（例えば、約室温、又は約 2 0℃～4 0℃）でアンモニウム水酸化物と接触させることを含む、請求項 5 7 に記載の方法。

【0 4 4 3】

実施形態 5 9：R<sup>H</sup> が、フルオロである、請求項 5 2 ～ 5 8 のいずれか一項に記載の方法。

【0 4 4 4】

実施形態 6 0：少なくとも 1 つの L が、結合である、請求項 5 2 ～ 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

【0 4 4 5】

実施形態 6 1：少なくとも 1 つの L が、リンカーである、請求項 5 2 ～ 6 0 のいずれか一項に記載の方法。

【0 4 4 6】

実施形態 6 2：少なくとも 1 つの R<sup>L</sup> が、独立して、糖質、脂質、ビタミン、ペプチド、タンパク質、リポタンパク質、ペプチド模倣体、ポリアミン、ヌクレオシド及びヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、検出可能な標識、診断剤（例えば、ビトイン）、蛍光色素、ポリエチレングリコール（PEG）、抗体、抗体断片（例えば、ナノボディ）からなる群から選択される、請求項 5 2 ～ 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

【0 4 4 7】

実施形態 6 3：少なくとも 1 つの R<sup>L</sup> が、ターゲティングリガンド、エンドソーム溶解性リガンド、及び PK 調節リガンドから選択されるリガンドである、請求項 5 2 ～ 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【0 4 4 8】

実施形態 6 4：R<sup>6</sup> 及び R<sup>7</sup> が、同一である、請求項 5 2 ～ 6 3 のいずれか一項に記載の方法。

【0 4 4 9】

実施形態 6 5：R<sup>2</sup> が、水素、ヒドロキシル、保護ヒドロキシル、ハロゲン、置換されていてもよい C<sub>1</sub>～6 アルコキシ（例えば、メチル）、若しくはアルコシアルキル（例えば、2-メトキシエチル）であるか、又は R<sup>4</sup> 及び R<sup>2</sup> が一緒になって、4'-C(R<sup>0</sup>R<sup>1</sup>)<sub>v</sub>-Y-2'、若しくは 4'-Y-C(R<sup>0</sup>R<sup>1</sup>)<sub>v</sub>-2' である、請求項 5 2 ～ 6 4 のいずれか一項に記載の方法。

【0 4 5 0】

実施形態 6 6：R<sup>2</sup> が、水素、ヒドロキシル、F、メトキシであるか、又は R<sup>4</sup> 及び R<sup>2</sup> が一緒になって、4'-C(R<sup>0</sup>R<sup>1</sup>)<sub>v</sub>-Y-2' である、請求項 5 2 ～ 6 5 のいずれか一項に記載の方法。

【0 4 5 1】

実施形態 6 7：R<sup>4</sup> 及び R<sup>2</sup> が一緒になって、4'-C(R<sup>0</sup>R<sup>1</sup>)<sub>v</sub>-Y-2' である、請求項 5 2 ～ 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【0452】

実施形態68：R<sup>4</sup>が、Hである、請求項52～67のいずれか一項に記載の方法。

## 【0453】

実施形態69：R<sup>3</sup>が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよいC<sub>1</sub>～30アルコキシ、ハロゲン、アルコキシアシル（例えば、メトキシエチル）、アミノ、アシルアミノ、ジアシルアミノ、3'-オリゴヌクレオチドカップリング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、リガンド、1つ以上のリガンドと共有結合したリンカー（例えば、N-アセチルガラクトサミン（GalNAc））、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、-C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-）である、請求項52～68のいずれか一項に記載の方法。

10

## 【0454】

実施形態70：R<sup>3</sup>が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよいC<sub>1</sub>～30アルコキシ、3'-オリゴヌクレオチドカップリング基（例えば、逆位ヌクレオチド又は逆位脱塩基ヌクレオチド）、固体支持体、又は固体支持体と共有結合したリンカー（例えば、-C(O)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)-）である、請求項52～69のいずれか一項に記載の方法。

## 【0455】

実施形態71：R<sup>3</sup>が、後続のヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、請求項52～70のいずれか一項に記載の方法。

20

## 【0456】

実施形態72：R<sup>3</sup>が、ヒドロキシルである、請求項52～71のいずれか一項に記載の方法。

## 【0457】

実施形態73：R<sup>5</sup>が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合、ヒドロキシ、置換されていてもよいC<sub>1</sub>～30アルコキシ、ビニルホスホネート（VP）基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファ-チオトリホスフェート、ベータ-チオトリホスフェート、ガンマ-チオトリホスフェート、ホスホルアミデート、アシルホスホネート、アシルエーテルホスホネート、ジアシル末端ホスフェート、及びホスフェート模倣体である、請求項52～72のいずれか一項に記載の方法。

30

## 【0458】

実施形態74：R<sup>5</sup>が、先行するヌクレオチドへのヌクレオチド間結合への結合である、請求項52～73のいずれか一項に記載の方法。

## 【0459】

実施形態75：R<sup>5</sup>が、ヒドロキシ、置換されていてもよいC<sub>1</sub>～30アルコキシ、ビニルホスホネート（VP）基、モノホスフェート、ジホスフェート、トリホスフェート、モノチオホスフェート（ホスホロチオエート）、モノジチオホスフェート、ホスホロチオレート、アルファ-チオトリホスフェート、ベータ-チオトリホスフェート、又はガンマ-チオトリホスフェートである、請求項52～74のいずれか一項に記載の方法。

40

## 【0460】

実施形態76：オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つのリボヌクレオチドを含む、請求項52～76のいずれか一項に記載の方法。

## 【0461】

実施形態77：オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの2'-デオキシリボヌクレオチドを含む、請求項52～77のいずれか一項に記載の方法。

## 【0462】

実施形態78：オリゴヌクレオチドが、修飾核酸塩基又は非天然核酸塩基を有する少なくとも1つのヌクレオチドを含む、請求項52～78のいずれか一項に記載の方法。

50

## 【0463】

実施形態79：オリゴヌクレオチドが、修飾リボース糖を有する少なくとも1つのヌクレオチドを含む、請求項52～79のいずれか一項に記載の方法。

## 【0464】

実施形態80：オリゴヌクレオチドが、リボース糖の2'位置にHでもOHでもない基を含む少なくとも1つのヌクレオチドを含む、請求項52～80のいずれか一項に記載の方法。

## 【0465】

実施形態81：オリゴヌクレオチドが、2'-Fリボースを有する少なくとも1つのヌクレオチドを含む、請求項52～81のいずれか一項に記載の方法。

## 【0466】

実施形態82：オリゴヌクレオチドが、2'-OMeリボースを有する少なくとも1つのヌクレオチドを含む、請求項52～82のいずれか一項に記載の方法。

## 【0467】

実施形態83：オリゴヌクレオチドが、リボース糖以外の部分を含む少なくとも1つのヌクレオチドを含む、請求項52～83のいずれか一項に記載の方法。

## 【0468】

実施形態84：オリゴヌクレオチドが、少なくとも1つの修飾ヌクレオチド間結合を含む、請求項52～84のいずれか一項に記載の方法。

## 【0469】

実施形態85：式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、少なくとも1つのヒドロキシル、リン酸、又はアミノ保護基を含む、請求項52～85のいずれか一項に記載の方法。

## 【0470】

実施形態86：式(XI)のヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドが、ヒドロキシルも、リン酸も、アミノ保護基も含まない、請求項52～86のいずれか一項に記載の方法。

## 【0471】

一部の選択される定義

便宜上、本明細書、実施例、及び添付の特許請求の範囲で使用される特定の用語を、ここに集める。別段の記載がない限り、又は文脈から暗示されない限り、以下の用語及び語句は、以下に提供される意味を含む。別段の明示的な記載がない限り、又は文脈から明らかでない限り、以下の用語及び語句は、当該用語又は語句が、それが関連する技術分野で取得した意味を除外しない。本発明の範囲は特許請求の範囲によってのみ限定されるため、定義は特定の実施形態の説明を助けるために提供され、特許請求の範囲に記載された本発明を限定することを意図するものではない。更に、文脈によって別段の要求がない限り、単数形の用語は、複数形を含み、複数形の用語は単数形を含むものとする。

## 【0472】

別段の定義がない限り、本明細書において使用する全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する分野の当業者に通常理解されるものと同じ意味を有する。任意の公知の方法、デバイス、及び材料が本発明の実施又は試験に使用され得るが、これに関する方法、デバイス、及び材料が本明細書に記載される。

## 【0473】

更に、本発明の実施は、別段の示唆がない限り、当技術分野の技術の範囲内にある分子生物学（組換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学、及び免疫学の従来技術を採用することができる。こうした技術は、“Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, second edition (Sambrook et al., 1989)、“Oligonucleotide Synthesis” (M. J. Gait, ed., 1984)、“Animal Cell Culture” (R. I. Freshney, ed., 1987)、“Methods in En

10

20

30

40

50

zymology” (Academic Press, Inc.)、 “Current Protocols in Molecular Biology” (F. M. Ausubel et al., eds., 1987, and periodic updates)、 “PCR: The Polymerase Chain Reaction”, (Mullis et al., ed., 1994)、 “A Practical Guide to Molecular Cloning” (Perbal Bernard V., 1988)、 “Phage Display: A Laboratory Manual” (Barbas et al., 2001)などの文献で完全に説明されている。

【0474】

値の範囲が提供される場合、文脈が別途明確に示さない限り、その範囲の上限と下限との間、及びその記載された範囲内の任意の他の記載値又は介在値との間に、下限の単位の10分の1までの各介在値が本発明に包含されることが理解される。これらのより小さい範囲の上限及び下限は、独立して、より小さい範囲に含まれ得、本発明内に包含され、指定範囲内の任意の具体的に除外された限界の対象となる。記載された範囲が限界の一方又は両方を含む場合、それらの含まれる限界の一方又は両方を除外する範囲もまた、本発明に含まれる。

【0475】

特定の範囲が本明細書に提示され、数値は、「約」という用語が先行する。本明細書における「約」という用語は、それが先行する正確な数、並びにその用語が先行する数に近い、又はおよそその数に対する文字通りのサポートを提供するために使用される。数字が具体的に列挙された数に近い、又はおよそその数であるかを判定する際に、近くの又はおよその列挙されていない数は、それが提示される文脈において、具体的に列挙された数と実質的に同等な数を提供する数であり得る。

【0476】

本明細書で使用される場合、「含む (comprising又はcomprises)」という用語は、本発明に必須であるが、必須であるかどうかにかかわらず、指定されていない要素の包含が開放されている、組成物、方法、及びそれらのそれぞれの構成要素を参照して使用される。

【0477】

単数形の使用「1つの (a)」、「1つの (an)」、及び「その (the)」は、文脈が別途明確に示さない限り、複数の指示物を含む。同様に、文脈が別途明確に示さない限り、「又は」という単語は「及び」を含むことが意図される。更に、特許請求の範囲は、いかなる任意の要素も除外するように草案され得ることに留意されたい。このように、本明細書は、特許請求の範囲の要素の列挙、又は「否定的な」限定の使用に関連して、「単独」、「のみ」などの、そのような排他的な用語の使用のための先見的基礎としての役割を果たすことを意図する。

【0478】

本明細書で使用される場合、「アルキル」という用語は、鎖に1～約60個の炭素原子を有する直鎖状又は分岐状であり得、鎖に約6～約50個の炭素を有することが好ましい脂肪族炭化水素基を指す。「低級アルキル」とは、1～約8つの炭素原子を有するアルキル基を指す。「高級アルキル」とは、約10～約20個の炭素原子を有するアルキル基を指す。アルキル基は、同一であるか又は異なり得る1つ以上のアルキル基置換基で任意に置換され得、式中、「アルキル基置換基」は、ハロ、アミノ、アリール、ヒドロキシ、アルコキシ、アリールオキシ、アルキルオキシ、アルキルチオ、アリールチオ、アラルキルオキシ、アラルキルチオ、カルボキシ、アルコキシカルボニル、オキソ、及びシクロアルキルを含む。「分岐」とは、メチル、エチル、又はプロピルなどの低級アルキル基が直鎖アルキル鎖と結合しているアルキル基を指す。例示的なアルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、i-プロピル、n-ブチル、t-ブチル、n-ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、デシル、ドデシル、トリデシル、テトラデシル、ペンタデシル、及びヘキサデシルが挙げられる。有用なアルキル基としては、6～50個の炭素の分岐又は直

鎖アルキル基が挙げられ、また1～約4つの炭素の低級アルキル基及び約12～約16個の炭素の高級アルキル基が挙げられる。

【0479】

「ヘテロアルキル」基は、アルキル基の炭素のいずれか1つを、適切な数の水素原子が結合しているヘテロ原子（例えば、NH基又はO基に対するCH<sub>2</sub>基）で置換する。「ヘテロアルキル」という用語は、炭素以外の原子、例えば、酸素、窒素、硫黄、リン、ケイ素、又はそれらの組み合わせから選択される1つ以上の骨格鎖原子を有する、置換されていてもよいアルキル、アルケニル、及びアルキニルラジカルを含む。特定の実施形態では、ヘテロ原子は、ヘテロアルキル基の任意の内部位置に配置される。例としては、限定されるものではないが、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ 、及び $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ が挙げられる。一部の実施形態では、例として、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ 及び $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ などの、最大2つのヘテロ原子が連続している。

10

【0480】

本明細書で使用される場合、「アルケニル」という用語は、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を含有するアルキル基を指す。アルケニル基は、1つ以上の「アルキル基置換基」で任意に置換され得る。例示的なアルケニル基としては、ビニル、アリル、n-ペンテニル、デセニル、ドデセニル、テトラデカジエニル、ヘプタデカ-8-エン-1-イル、及びヘプタデカ-8, 11-ジエン-1-イルが挙げられる。

20

【0481】

本明細書で使用される場合、「アルキニル」という用語は、炭素-炭素三重結合を含有するアルキル基を指す。アルキニル基は、1つ以上の「アルキル基置換基」で任意に置換され得る。例示的なアルキニル基としては、エチニル、プロパルギル、n-ペンチニル、デシニル、及びドデシニルが挙げられる。有用なアルキニル基としては、下部アルキニル基が挙げられる。

【0482】

本明細書で使用される場合、「シクロアルキル」という用語は、約3～約12個の炭素原子の非芳香族単環式又は多環式環系を指す。シクロアルキル基は、任意に部分的に不飽和であってもよい。シクロアルキル基はまた、アリール基置換基、オキソ、及び／又はアルキレンで任意に置換され得る。代表的な単環式シクロアルキル環としては、シクロペンチル、シクロヘキシル、及びシクロヘプチルが挙げられる。有用な多環式シクロアルキル環としては、アダマンチル、オクタヒドロナフチル、デカリン、カンファー、カンファン、及びノラダマンチルが挙げられる。

30

【0483】

「ヘテロシクリル」という用語は、単環式の場合は1～3つのヘテロ原子、二環式の場合は1～6つのヘテロ原子、又は三環式の場合は1～9つのヘテロ原子を有する非芳香族3～8員単環式、8～12員二環式、又は11～14員三環式環系を指し、ヘテロ原子は、O、N、又はS（例えば、炭素原子、及び単環式、二環式、又は三環式の場合は、それぞれ、N、O、又はSの1～3つ、1～6つ、又は1～9つのヘテロ原子）から選択される。C<sub>x</sub>ヘテロシクリル及びC<sub>x</sub>-C<sub>y</sub>ヘテロシクリルは、典型的には、X及びYが環系内の炭素原子の数を示す場合に使用される。一部の実施形態では、各環の1、2、又は3つの水素原子は、置換基によって置換され得る。例示的なヘテロシクリル基としては、限定されるものではないが、ピペラジニル、ピロリジニル、ジオキサニル、モルホリニル、テトラヒドロフラニル、ピペリジル、4-モルホリル、4-ピペラジニル、ピロリジニル、ペルヒドロピロリジニル、1, 4-ジアザペルヒドロエピニル、1, 3-ジオキサニル、1, 4-ジオキサニルなどが挙げられる。

40

50

## 【0484】

「アリール」は、約3～約13個の炭素原子を含有する芳香族炭素環式ラジカルを指す。アリール基は、同一であるか又は異なり得る1つ以上のアリール基置換基で任意に置換され得、「アリール基置換基」は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アラルキル、ヒドロキシ、アルコキシ、アリールオキシ、アルアルコキシ、カルボキシ、アロイル、ハロ、ニトロ、トリハロメチル、シアノ、アルコキシカルボニル、アリールオキシカルボニル、アラルコキシカルボニル、アシルオキシ、アシルアミノ、アロイルアミノ、カルバモイル、アルキルカルバモイル、ジアルキルカルバモイル、リルチオ、アルキルチオ、アルキレン、及び-NRR'を含み、R及びR'は、各々独立して、水素、アルキル、アリール、及びアラルキルである。例示的なアリール基としては、置換又は非置換フェニル、及び置換又は非置換ナフチルが挙げられる。

10

## 【0485】

「ヘテロアリール」という用語は、単環式の場合は1～3つのヘテロ原子、二環式の場合は1～6つのヘテロ原子、又は三環式の場合は1～9つのヘテロ原子を有する芳香族3～8員単環式、8～12員融合二環式、又は11～14員融合三環式環系を指し、ヘテロ原子は、O、N、又はS（例えば、炭素原子、及び単環式、二環式、又は三環式の場合は、それぞれ、N、O、又はSの1～3つ、1～6つ、又は1～9つのヘテロ原子）から選択される。

## 【0486】

例示的なアリール及びヘテロアリールとしては、フェニル、ピリジニル、ピリミジニル、フラニル、チエニル、イミダゾリル、チアゾリル、ピラゾリル、ピリダジニル、ピラジニル、トリアジニル、テトラゾリル、インドリル、ベンジル、ナフチル、アントラセニル、アズレニル、フルオレニル、インダニル、インデニル、ナフチル、テトラヒドロナフチル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾチオフラニル、ベンゾチオフエニル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾオキサゾリニル、ベンズチアゾリル、ベンズトリアゾリル、ベンズテトラゾリル、ベンズイソオキサゾリル、ベンズイソチアゾリル、ベンズイミダゾリニル、カルバゾリル、4aHカルバゾリル、カルボリニル、クロマニル、クロメニル、シンノリニル、デカヒドロキノリニル、2H, 6H-1, 5, 2-ジチアジニル、ジヒドロフロ[2, 3 b]テトラヒドロフラン、フラニル、フラザニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリル、1H-インダゾリル、インドレニル、インドリニル、インドリジニル、インドリル、3H-インドリル、イサチノイル、イソベンゾフラニル、イソクロマニル、イソインダゾリル、イソインドリニル、イソインドリル、イソキノリニル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、メチレンジオキシフェニル、モルホリニル、ナフチリジニル、オクタヒドロイソキノリニル、オキサジアゾリル、1, 2, 3-オキサジアゾリル、1, 2, 4-オキサジアゾリル、1, 2, 5-オキサジアゾリル、1, 3, 4-オキサジアゾリル、オキサゾリジニル、オキサゾリル、オキシンドールイル、ピリミジニル、フェナントリジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサチニル、フェノキサジニル、フタラジニル、ピペラジニル、ピペリジニル、ピペリドニル、4-ピペリドニル、ピペロニル、プテリジニル、プリニル、ピラニル、ピラジニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリル、ピリダジニル、ピリドオキサゾール、ピリドイミダゾール、ピリドチアゾール、ピリジニル、ピリジル、ピリミジニル、ピロリジニル、ピロリニル、2H-ピロリル、ピロリル、キナゾリニル、キノリニル、4H-キノリジニル、キノキサリニル、キヌクリジニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロイソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、テトラゾリル、6H-1, 2, 5-チアジニル、1, 2, 3-チアジニル、1, 2, 4-チアジニル、1, 2, 5-チアジニル、1, 3, 4-チアジニル、チアントレニル、チアゾリル、チエニル、チエノチアゾリル、チエノオキサゾリル、チエノイミダゾリル、チオフエニル、及びキサンテンなどが挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、各環の1、2、3、又は4つの水素原子は、置換基によって置換され得る。

20

30

40

## 【0487】

50

本明細書で使用される場合、「ハロゲン」又は「ハロ」という用語は、フッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択される原子を指す。「ハロゲン放射性同位体」又は「ハロ同位体」という用語は、フッ素、塩素、臭素、及びヨウ素から選択される原子の放射性核種を指す。

【0488】

より大きい基の単離基又は一部としての「ハロゲン置換部分」又は「ハロ置換部分」は、1つ以上の「ハロ」原子で置換された、本明細書に記載される脂肪族部分、脂環式部分、又は芳香族部分を意味し、そのような用語は本出願に定義される。

【0489】

本明細書で使用される場合、「ハロアルキル」という用語は、フッ素、塩素、臭素、若しくはヨウ素の少なくとも1つの置換基、又はそれらの組み合わせを有するアルキル構造及びアルコキシ構造を指す。2つ以上のハロゲンが基に含まれる実施形態では、ハロゲンは同じであるか、又はそれらは異なる。「フルオロアルキル」及び「フルオロアルコキシ」という用語は、ハロアルキル基及びハロアルコキシ基をそれぞれ含み、ハロは、フッ素である。例示的なハロ置換アルキルとしては、ハロアルキル、ジハロアルキル、トリハロアルキル、パーハロアルキルなどが挙げられる（例えば、ハロ置換（ $C_1-C_3$ ）アルキルは、クロロメチル、ジクロロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル（ $CF_3$ ）、ペルフルオロエチル、2, 2, 2-トリフルオロエチル、2, 2, 2-トリフルオロ-1, 1-ジクロロエチルなどを含む）。

【0490】

本明細書で使用される場合、「アミノ」という用語は、 $-NH_2$ を意味する。「アルキルアミノ」という用語は、窒素に結合した1つの直鎖又は分岐の不飽和脂肪族、シクリル、又はヘテロシクリルラジカルを有する窒素部分、例えば、 $-NH$ （アルキル）を意味する。「ジアルキルアミノ」という用語は、窒素に結合した2つの直鎖又は分岐の不飽和脂肪族、シクリル、又はヘテロシクリルラジカルを有する窒素部分、例えば、 $-N$ （アルキル）（アルキル）を意味する。「アルキルアミノ」という用語は、「アルケニルアミノ」、「アルキニルアミノ」、「シクリルアミノ」、及び「ヘテロシクリルアミノ」を含む。

「アリールアミノ」という用語は、窒素に結合した少なくとも1つのアリールラジカルを有する窒素部分を意味する。例えば、 $-NH$ アリール、及び $-N$ （アリール）<sub>2</sub>である。

「ヘテロアリールアミノ」という用語は、窒素に結合した少なくとも1つのヘテロアリールラジカルを有する窒素部分を意味する。例えば、 $-NH$ ヘテロアリール、及び $-N$ （ヘテロアリール）<sub>2</sub>である。任意に、窒素と一緒に2つの置換基も環を形成することができる。別段の示唆がない限り、アミノ部分を含有する本明細書に記載される化合物は、その保護された誘導体を含み得る。アミノ部分のための好適な保護基としては、アセチル、tertブトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニルなどが挙げられる。例示的なアルキルアミノとしては、 $NH$ （ $C_1-C_{10}$ アルキル）、例えば、 $-NHCH_3$ 、 $-NHCH_2CH_3$ 、 $-NHCH_2CH_2CH_3$ 、及び $-NHCH(CH_3)_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。例示的なジアルキルアミノとしては、 $-N$ （ $C_1-C_{10}$ アルキル）<sub>2</sub>、例えば、 $N(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_2CH_3)_2$ 、 $-N(CH_2CH_2CH_3)_2$ 、及び $-N(CH(CH_3)_2)_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0491】

「アミノアルキル」という用語は、1つ以上の置換又は非置換窒素原子（ $-N-$ ）がアルキル、アルケニル、又はアルキニルの炭素原子の間に位置付けられていることを除いて上記に定義される、アルキル、アルケニル、及びアルキニルを意味する。例えば、（ $C_2-C_6$ ）アミノアルキルは、2～6つの炭素と、炭素原子の間に位置する1つ以上の窒素原子とを含む鎖を指す。

【0492】

「ヒドロキシ」及び「ヒドロキシル」という用語は、ラジカル $-OH$ を意味する。

【0493】

本明細書で使用される場合、「アルコキシル」又は「アルコキシ」という用語は、上記

10

20

30

40

50

に定義されるように、それに結合した酸素ラジカルを有するアルキル基を指し、 $-O-$ アルキル、 $-O-$ アルケニル、及び $-O-$ アルキニルのうちの1つによって表され得る。アロキシは、 $-O-$ アリール又は $O-$ ヘテロアリールによって表され得、アリール及びヘテロアリールは、本明細書に定義されるとおりである。アルコキシ及びアロキシ基は、アルキルに対して上記に説明されたように置換され得る。例示的なアルコキシ基としては、 $O$ -メチル、 $O$ -エチル、 $O$ - $n$ -プロピル、 $O$ -イソプロピル、 $O$ - $n$ -ブチル、 $O$ -イソブチル、 $O$ -sec-ブチル、 $O$ -tert-ブチル、 $O$ -ペンチル、 $O$ -ヘキシル、 $O$ -シクロプロピル、 $O$ -シクロブチル、 $O$ -シクロペンチル、 $O$ -シクロヘキシルなどが挙げられるが、これらに限定されない。

【0494】

本明細書で使用される場合、「カルボニル」という用語は、ラジカル $-C(O)-$ を意味する。カルボニルラジカルは、酸、ハロゲン化酸、アミド、エステル、ケトンなどを含む異なるカルボニル基を形成するために、様々な置換基で更に置換され得ることに留意されたい。

【0495】

本明細書で使用される場合、「オキソ」という用語は、二重結合酸素、すなわち、 $=O$ を意味する。

【0496】

「カルボキシ」という用語は、ラジカル $-C(O)O-$ を意味する。カルボキシ部分を含有する本明細書に記載される化合物は、その保護された誘導体、すなわち、酸素が保護基で置換されている場合を含み得ることに留意されたい。カルボキシ部分のための好適な保護基としては、ベンジル、tert-ブチルなどが挙げられる。本明細書で使用される場合、カルボキシ基は、 $-COOH$ 、すなわち、カルボキシル基を含む。

【0497】

「エステル」という用語は、式 $-C(=O)OR$ を有する化学部分を意味し、式中、 $R$ は、アルキル、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、及びヘテロシクロアルキルからなる群から選択される。

【0498】

「シアノ」という用語は、ラジカル $-CN$ を意味する。

【0499】

「ニトロ」という用語は、ラジカル $-NO_2$ を意味する。

【0500】

「ヘテロ原子」という用語は、炭素原子ではない原子を指す。ヘテロ原子の特定の例としては、窒素、酸素、硫黄、及びハロゲンが挙げられるが、これらに限定されない。「ヘテロ原子部分」は、その部分が結合している原子が炭素ではない部分を含む。ヘテロ原子部分の例としては、 $-N=$ 、 $-NR^N-$ 、 $-N^+(O^-)=$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、又は $-S(O)_2-$ 、 $-OS(O)_2-$ 、及び $-SS-$ が挙げられ、 $R^N$ は、 $H$ 又は更なる置換基である。

【0501】

「アルキルチオ」及び「チオアルコキシ」という用語は、上記に定義されるアルコキシ基を指し、酸素原子は、硫黄で置換される。好ましい実施形態では、「アルキルチオ」部分は、 $-S-$ アルキル、 $-S-$ アルケニル、及び $-S-$ アルキニルのうちの1つによって表される。代表的なアルキルチオ基としては、メチルチオ、エチルチオなどが挙げられる。「アルキルチオ」という用語はまた、シクロアルキル基、アルケン及びシクロアルケン基、並びにアルキン基を包含する。「アリールチオ」は、アリール又はヘテロアリール基を指す。

【0502】

「スルフィニル」という用語は、ラジカル $-SO-$ を意味する。スルフィニルラジカルは、スルフィニル酸、スルフィンアミド、スルフィニルエステル、スルホキシドなどを含む異なるスルフィニル基を形成するために、様々な置換基で更に置換され得ることに留意

10

20

30

40

50

されたい。

【0503】

「スルホニル」という用語は、ラジカル- $\text{SO}_2$ -を意味する。スルホニルラジカルは、スルホン酸 ( $-\text{SO}_3\text{H}$ )、スルホンアミド、スルホン酸エステル、スルホンなどを含む異なるスルホニル基を形成するために、様々な置換基で更に置換され得ることに留意されたい。

【0504】

「チオカルボニル」という用語は、ラジカル- $\text{C}(\text{S})$ -を意味する。チオカルボニルラジカルは、様々な置換基で更に置換されて、チオ酸、チオアミド、チオエステル、チオケトンなどを含む異なるチオカルボニル基を形成し得ることに留意されたい。

10

【0505】

「アシル」は、アルキル- $\text{CO}$ -基を指し、アルキルは、上記に説明されたとおりである。例示的なアシル基は、1～約30個の炭素原子のアルキルを含む。例示的なアシル基はまた、アセチル、プロパノイル、2-メチルプロパノイル、ブタノイル、及びパルミトイルを含む。

【0506】

「アロイル」は、アリール- $\text{CO}$ -基を意味し、アリールは、上記に説明されたとおりである。例示的なアロイル基としては、ベンゾイル、並びに1-及び2-ナフトイルが挙げられる。

【0507】

20

「アリールチオ」は、アリール- $\text{S}$ -基を指し、アリール基は、上記に説明されたとおりである。例示的なアリールチオ基としては、フェニルチオ及びナフチルチオが挙げられる。

【0508】

「アラルキル」は、アリール-アルキル-基を指し、アリール及びアルキルは、上記に説明されたとおりである。例示的なアラルキル基としては、ベンジル、フェニルエチル、及びナフチルメチルが挙げられる。

【0509】

「アラルキルオキシ」は、アラルキル- $\text{O}$ -基を指し、アラルキル基は、上記に説明されたとおりである。例示的なアラルキルオキシ基は、ベンジルオキシである。

30

【0510】

「アラルキルチオ」は、アラルキル- $\text{S}$ -基を指し、アラルキル基は、上記に説明されたとおりである。例示的なアラルキルチオ基は、ベンジルチオである。

【0511】

「アルコキシカルボニル」は、アルキル- $\text{O}-\text{CO}$ -基を指す。例示的なアルコキシカルボニル基としては、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、ブチルオキシカルボニル、及びセブチルオキシカルボニルが挙げられる。

【0512】

「アリールオキシカルボニル」は、アリール- $\text{O}-\text{CO}$ -基を指す。例示的なアリールオキシカルボニル基としては、フェノキシ-及びナフトキシ-カルボニルが挙げられる。

40

【0513】

「アラルコキシカルボニル」は、アラルキル- $\text{O}-\text{CO}$ -基を指す。例示的なアラルコキシカルボニル基は、ベンジルオキシカルボニルである。

【0514】

「カルバモイル」は、 $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}$ -基を指す。

【0515】

「アルキルカルバモイル」は、 $\text{R}'\text{RN}-\text{CO}$ -基を指し、式中、 $\text{R}$ 及び $\text{R}'$ のうちの一方は、水素であり、 $\text{R}$ 及び $\text{R}'$ のうちの他方は、上記に説明されたアルキルである。

【0516】

「ジアルキルカルバモイル」は、 $\text{R}'\text{RN}-\text{CO}$ -基を指し、式中、 $\text{R}$ 及び $\text{R}'$ の各々は 50

、上記に説明されたように独立してアルキルである。

【0517】

「アシルオキシ」は、アシル－O－基を指し、アシルは、上記に説明されたとおりである。「アシルアミノ」は、アシル－NH－基を指し、アシルは、上記に説明されたとおりである。「アロイルアミノ」は、アロイル－NH－基を指し、アロイルは、上記に説明されたとおりである。

【0518】

「置換されていてもよい」という用語は、指定された基又は部分が非置換であるか、又は「置換基」の定義において以下に列挙されるか若しくは別段に指定される置換基の群から独立して選択される1つ以上（典型的には1、2、3、4、5、又は6つの置換基）で置換されることを意味する。「置換基」という用語は、置換基の任意の原子における置換基上の「置換された」基を指す。好適な置換基としては、ハロゲン、ヒドロキシ、カボキシ、オキソ、ニトロ、ハロアルキル、アルキル、アルケニル、アルキニル、アルカリル、アリール、ヘテロアリール、シクリル、ヘテロシクリル、アラルキル、アルコキシ、アリールオキシ、アミノ、アシルアミノ、アルキルカルバノイル、アリールカルバノイル、アミノアルキル、アルコキシカルボニル、カルボキシ、ヒドロキシアルキル、アルカンシルホニル、アレンスルホニル、アルカンシルホンアミド、アレンスルホンアミド、アラルキルスルホンアミド、アルキルカルボニル、アシルオキシ、シアノ、又はウレイドが挙げられるが、これらに限定されない。一部の 경우에는、2つの置換基は、それらが結合している炭素と一緒にあって、環を形成し得る。

【0519】

例えば、任意のアルキル、アルケニル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、又はアリールが、OH、CN、 $-\text{SC}(\text{O})\text{Ph}$ 、オキソ(=O)、SH、 $\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $\text{SO}_2(\text{C}_1-\text{C}_4)$ アルキル、 $\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$ アルキル、ハロゲン、カルボニル、チオール、シアノ、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NH}(\text{C}_1-\text{C}_4)$ アルキル、 $\text{N}[(\text{C}_1-\text{C}_4)\text{アルキル}]_2$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{COOH}$ 、 $\text{COOMe}$ 、アセチル、 $(\text{C}_1-\text{C}_8)$ アルキル、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$ アルキル、 $\text{O}(\text{C}_1-\text{C}_8)$ ハロアルキル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$ アルケニル、 $(\text{C}_2-\text{C}_8)$ アルキニル、ハロアルキル、チオアルキル、シアノメチレン、アルキルアミニル、アリール、ヘテロアリール、置換アリール、 $\text{NH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{NH}(\text{Me})-\text{C}(\text{O})-\text{アルキレン}$ 、 $\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、 $\text{C}(\text{O})-\text{アルキル}$ 、アルキルカルボニルアミニル、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2-[\text{CH}(\text{OH})]_m-(\text{CH}_2)_p-\text{NH}_2$ 、又は $\text{CH}_2-\text{アリール}$ アルコキシから選択される1、2、3、4、又は5つの基で置換されていてもよく、「m」及び「p」は、独立して、1、2、3、4、5、又は6である。

【0520】

一部の実施形態では、置換されていてもよい基は、1つの置換基で置換される。一部の他の実施形態では、置換されていてもよい基は、同一であるか又は異なり得る、2つの独立して選択される置換基で置換される。一部の他の実施形態では、置換されていてもよい基は、同一であるか、異なるか、又は同一及び異なるものの任意の組み合わせであり得る、3つの独立して選択される置換基で置換される。更に一部の他の実施形態では、置換されていてもよい基は、同一であるか、異なるか、又は同一及び異なるものの任意の組み合わせであり得る、4つの独立して選択される置換基で置換される。なお更に一部の他の実施形態では、置換されていてもよい基は、同一であるか、異なるか、又は同一及び異なるものの任意の組み合わせであり得る、5つの独立して選択される置換基で置換される。

【0521】

「イソシアナト」基とは、 $\text{NCO}$ 基を指す。

【0522】

「チオシアナト」基とは、 $\text{CNS}$ 基を指す。

【0523】

「イソチオシアナト」基とは、 $\text{NCS}$ 基を指す。

## 【0524】

「アルコイルオキシ」とは、 $RC(=O)O-$ 基を指す。

## 【0525】

「アルコイル」とは、 $RC(=O)-$ 基を指す。

## 【0526】

本明細書で使用される場合、「dsRNA」、「siRNA」、及び「iRNA剤」という用語は、標的RNA、例えば、mRNA、例えば、タンパク質をコードする遺伝子の転写物のサイレンシングを媒介し得る作用物質を指すために互換的に使用される。便宜上、かかるmRNAは、本明細書ではサイレンシングされるmRNAとも称される。そのような遺伝子はまた、標的遺伝子とも称される。一般に、サイレンシングされるRNAは、内因性遺伝子、外因性遺伝子、又は病原体遺伝子である。加えて、mRNA以外のRNA、例えば、tRNA、及びウイルスRNAもまた、ターゲティングされ得る。

10

## 【0527】

本明細書で使用される場合、「RNAiを媒介する」という語句は、配列特異的な様式で、標的遺伝子、例えば、mRNAをサイレンシングする能力を指す。理論に束縛されることは望まないが、サイレンシングは、RNAi機構又はプロセス、及びガイドRNA、例えば、dsRNAのアンチセンス鎖を使用すると考えられ、アンチセンス鎖は、21〜23個のヌクレオチドの長さである。

## 【0528】

「特異的にハイブリダイズ可能である」及び「相補的」とは、核酸が、従来のワトソククリック又は他の非従来タイプのいずれかによって、別の核酸配列と水素結合を形成し得ることを意味する。本発明の核酸分子に関して、その相補的配列を有する核酸分子の結合自由エネルギーは、核酸の関連機能、例えば、RNAi活性を進行させることを可能にするのに十分である。核酸分子の結合自由エネルギーの決定は、当技術分野で周知である（例えば、Turner et al., 1987, CSH Symp. Quant. Biol. LII pp. 123-133、Frier et al., 1986, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 83:9373-9377、Turner et al., 1987, / Am. Chem. Soc. 109:3783-3785を参照されたい）。相補性パーセントは、第2の核酸配列（例えば、10個中5、6、7、8、9、10個が50%、60%、70%、80%、90%、及び100%の相補性である）と水素結合（例えば、ワトソククリック塩基対合）を形成し得る核酸分子中の連続残基のパーセンテージを示す。「完全に相補的」又は100%の相補性とは、核酸配列の全ての連続残基が、第2の核酸配列中の同数の連続残基と水素結合することになることを意味する。完全な相補性未満とは、2つの鎖の一部であるが、全てではないヌクレオシド単位が互いに水素結合し得る状況を指す。「実質的な相補性」とは、非相補的であるように選択される、オーバーハングなどのポリヌクレオチド鎖の領域を除外する、90%以上の相補性を呈するポリヌクレオチド鎖を指す。特異的結合は、特異的結合が望ましい条件下で、すなわち、インビボアッセイ若しくは治療的処置の場合には生理学的条件下、又はインビトロアッセイの場合にはアッセイが実施される条件下で、非標的配列へのオリゴマー化合物の非特異的結合を避けるために十分な程度の相補性を必要とする。非標的配列は、典型的には、少なくとも5つのヌクレオチドが異なる。

20

30

40

## 【0529】

「オフターゲット」という用語及び「オフターゲット効果」という語句は、所与の標的に対するエフェクター分子が、別の標的配列、DNA配列、若しくは細胞タンパク質、又は他の部分と直接的又は間接的に相互作用することによって、意図しない影響を引き起こす任意の事例を指す。例えば、「オフターゲット効果」は、siRNAの他の転写物とセンス鎖及び／又はアンチセンス鎖との間の部分的な相同性又は相補性に起因して、他の転写物の同時分解があるときに生じ得る。

## 【0530】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオシド」という用語は、核酸塩基及び糖を含むグ

50

リコシルアミンを意味する。ヌクレオシドとしては、天然起源ヌクレオシド、非塩基ヌクレオシド、修飾ヌクレオシド、並びに模倣塩基及び／又は糖基を有するヌクレオシドが挙げられるが、これらに限定されない。

【0531】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオチド」という用語は、核酸塩基と、糖に共有結合したリン酸基を有する糖と、を含む、グリコソミンを指す。ヌクレオチドは、様々な置換基のいずれかで修飾され得る。

【0532】

本明細書で使用される場合、「ロックド核酸」、又は「LNA」、又は「ロックドヌクレオシド」、又は「ロックドヌクレオチド」という用語は、ヌクレオシド又はヌクレオチドを指し、ヌクレオシドのフラノース部分は、フラノース環上に2つの炭素原子を接続する架橋を含み、それによって、二環式環系を形成する。ロックド核酸はまた、二環式核酸(BNA)とも称される。

【0533】

本明細書で使用される場合、別段の示唆がない限り、「メチレンオキシLNA」という用語は、 $\beta$ -D-メチレンオキシLNAを指す。

【0534】

本明細書で使用される場合、「MOE」という用語は、2'-O-メトキシエチル置換基を指す。

【0535】

本明細書で使用される場合、「ギャップマー」という用語は、中央領域(「ギャップ」)及び中央領域の両側の領域(「ウイング」)を含むキメラオリゴマー化合物を指し、ギャップは、各ウイングの修飾とは異なる少なくとも1つの修飾を含む。そのような修飾としては、核酸塩基、モノマー結合、及び糖修飾、並びに修飾の非存在(非修飾)が挙げられる。したがって、特定の実施形態では、ウイングの各々のヌクレオチド結合は、ギャップのヌクレオチド結合とは異なる。特定の実施形態では、各ウイングは、高親和性修飾を有するヌクレオチドを含み、ギャップは、その修飾を含まないヌクレオチドを含む。特定の実施形態では、ギャップ中のヌクレオチド及びウイング中のヌクレオチドは、全て、高親和性修飾を含むが、ギャップ中の高親和性修飾は、ウイング中の高親和性修飾とは異なる。特定の実施形態では、ウイング中の修飾は、互いに同一である。特定の実施形態では、ウイング中の修飾は、互いに異なる。特定の実施形態では、ギャップ中のヌクレオチドは、修飾されず、ウイング中のヌクレオチドが、修飾される。特定の実施形態では、各ウイング中の修飾は、同一である。特定の実施形態では、一方のウイング中の修飾は、他方のウイング中の修飾とは異なる。特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、ギャップ中に2'-デオキシヌクレオチドを有するギャップマー、及びウイング中に高親和性修飾を有するヌクレオチドである。

【0536】

「BNA」という用語は、架橋核酸を指し、多くの場合、拘束されたRNA又はアクセス不可能なRNAと称される。BNAは、「固定された」C<sub>3</sub>'-エンド糖パッカリングを有する5員、6員、又は更には7員架橋構造を含有し得る。架橋は、典型的には、リボースの2'-、4'-位に組み込まれて、2', 4'-BNAヌクレオチド(例えば、LNA、又はENA)を得る。BNAヌクレオチドの例としては、以下のヌクレオシドが挙げられる：

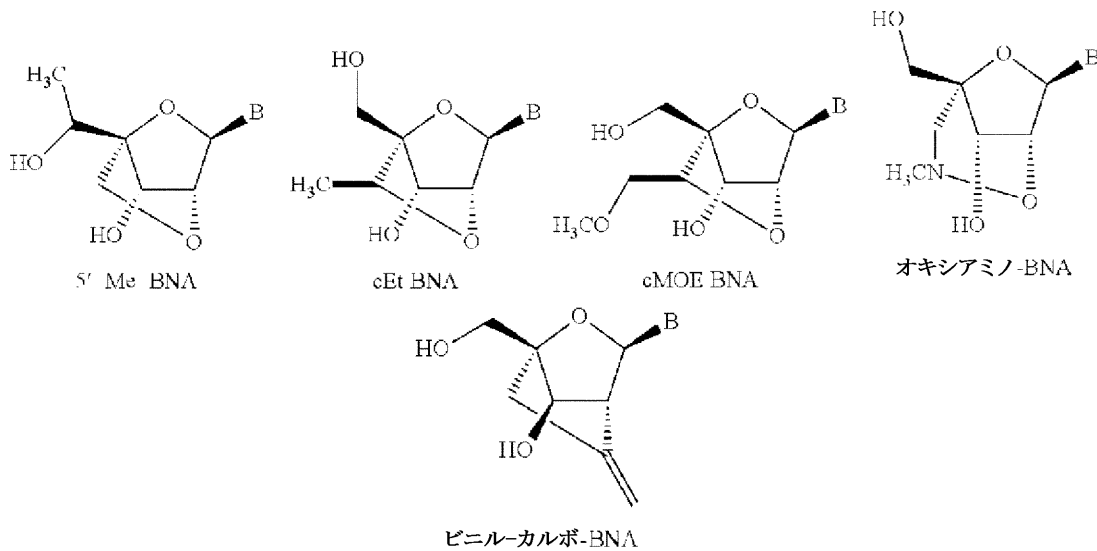
10

20

30

40

50

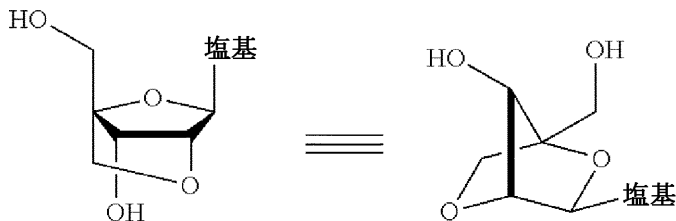


10

。【0537】

「LNA」という用語は、ロックド核酸を指し、多くの場合、拘束されたRNA又はアクセス不可能なRNAと称される。LNAは、修飾RNAヌクレオチドである。LNAヌクレオチドのリボース部分は、2'ヒドロキシルを同じリボース糖の4'炭素に接続する余分な架橋（例えば、メチレン架橋又はエチレン架橋）で修飾される。例えば、架橋は、3'-エンド ノース立体配座でリボースを「ロック」し得る：

20



30

。【0538】

「ENA」という用語は、エチレン架橋核酸を指し、多くの場合、拘束されたRNA又はアクセス不可能なRNAと称される。

【0539】

本明細書の「切断部位」は、iRNA剤を利用することによってRISC機構によって切断される標的遺伝子又はセンス鎖における骨格結合を意味する。標的切断部位領域は、切断部位の両側に少なくとも1つ又は少なくとも2つのヌクレオチドを含む。センス鎖について、切断部位は、センス鎖自体がRNAi機構によって切断される標的であった場合に切断されることになる、センス鎖における骨格結合である。切断部位は、当技術分野で公知の方法、例えば、その全体が参照により組み込まれる、Soutschek et al., Nature (2004) 432, 173-178に詳述される5'-RACEアッセイを使用して決定され得る。当技術分野で周知のように、円錐状二本鎖RNAi剤の切断部位領域は、2つの21個のヌクレオチドの長鎖を含み（鎖は、3'末端に2つのヌクレオチドの一本鎖オーバーハングを有する19個の連続塩基対の二本鎖領域を形成する）、切断部位領域は、センス鎖の5'末端から9～12位に対応する。

40

【0540】

「減少する」、「低減した」、「低減」、又は「阻害する」という用語は全て、統計学的に有意な量の減少を意味するために本明細書で使用される。一部の実施形態では、「低減する」、「低減」又は「減少する」又は「阻害する」は、典型的には、基準レベル（例

50

例えば、所与の治療の非存在）と比較して、少なくとも10%の減少を意味し、例えば、少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約98%、少なくとも約99%以上の減少を含むことができる。本明細書で使用される場合、「低減」又は「阻害」は、参照レベルと比較して完全な阻害又は低減を包含しない。「完全な阻害」は、参照レベルと比較して100%の阻害である。減少は、好ましくは、所与の障害を有しない個体に対して正常範囲内として受け入れられるレベルまでの低下であり得る。

10

#### 【0541】

本明細書で使用される場合、鎖の「末端領域」は、鎖の最も近い末端から数えて、1位～4位、例えば、1位、2位、3位、及び4位を指す。例えば、5'末端領域は、1位～4位、例えば、鎖の5'末端から数えて、1位、2位、3位、及び4位を指す。同様に、3'末端領域は、1位～4位、例えば、鎖の3'末端から数えて、1位、2位、3位、及び4位を指す。

#### 【0542】

例えば、アンチセンス鎖の5'末端領域は、アンチセンス鎖の5'末端から数えて、1位、2位、3位、及び4位である。アンチセンス鎖の好ましい5'末端領域は、アンチセンス鎖の5'末端から数えて、1位、2位、及び3位である。アンチセンス鎖の3'末端領域は、鎖の3'末端から数えて、1位、2位、3位、及び4位であり得る。アンチセンス鎖の好ましい3'末端領域は、アンチセンス鎖の3'末端から数えて、1位、2位、及び3位である。

20

#### 【0543】

同様に、センス鎖の5'末端領域は、センス鎖の5'末端から数えて、1位、2位、3位、及び4位である。センス鎖の好ましい5'末端領域は、センス鎖の5'末端から数えて、1位、2位、及び3位である。センス鎖の3'末端領域は、鎖の3'末端から数えて、1位、2位、3位、及び4位であり得る。センス鎖の好ましい3'末端領域は、センス鎖の3'末端から数えて、1位、2位、及び3位である。

#### 【0544】

本明細書で使用される場合、鎖の「中央領域」は、鎖の5'末端から数えて、5位～17位、例えば、6位～16位、6位～15位、6位～14位、6位～13位、6位～12位、7位～15位、7位～14位、7位～13位、7位～12位、8位～16位、8位～15位、8位～14位、8位～13位、8位～12位、9位～16位、9位～15位、9位～14位、9位～13位、9位～12位、10位～16位、10位～15位、10位～14位、10位～13位、又は10位～12位を指す。例えば、鎖の中央領域は、鎖の5位、6位、7位、8位、9位、10位、11位、12位、13位、14位、15位、16位、又は17位を意味する。センス鎖の好ましい中央領域は、センス鎖の5'末端から数えて、6位、7位、8位、9位、10位、11位、12位、13位、及び14位である。センス鎖のより好ましい中央領域は、センス鎖の5'末端から数えて、7位、8位、9位、10位、11位、12位、及び13位である。アンチセンス鎖の好ましい中央領域は、アンチセンス鎖の5'末端から数えて、9位、10位、11位、12位、13位、14位、15位、16位、及び17位である。アンチセンス鎖のより好ましい中央領域は、アンチセンス鎖の5'末端から数えて、10位、11位、12位、13位、14位、15位、及び16位である。

30

40

#### 【0545】

本明細書で使用される場合、「インビトロ」という用語は、生物（例えば、動物又は植物）内ではなく、人工環境、例えば、試験管又は反応容器内、細胞培養などで発生する事象を指す。本明細書で使用される場合、「エクスピボ」という用語は、生存している生物から除去され、生物の外側（例えば、試験管内）で培養される細胞を指す。本明細書で使

50

用される場合、「インビボ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、及び／又は微生物）内で発生する事象を指す。

【0546】

本明細書で使用される場合、「対象」又は「患者」という用語は、本明細書に開示される組成物が、例えば、実験、診断、及び／又は治療目的のために投与され得る任意の生物を指す。典型的な対象としては、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、及びヒトなどの哺乳動物）及び／又は植物が挙げられる。通常、動物は、霊長類、齧歯類、家畜、又は狩猟動物などの脊椎動物である。霊長類としては、チンパンジー、カニクイザル、クモザル、及びマカク、例えば、アカゲザルが挙げられる。齧歯類としては、マウス、ラット、ウッドチャック、フェレット、ウサギ、及びハムスターが挙げられる。家畜及び狩猟動物としては、ウシ、ウマ、ブタ、シカ、バイソン、バッファロー、ネコ種、例えば、家ネコ、イヌ種、例えば、イヌ、キツネ、オオオカミ、鳥類種、例えば、ニワトリ、エミュー、ダチョウ、並びに魚、例えば、マス、ナマズ、及びサケが挙げられる。患者又は対象は、上記の任意のサブセット、例えば、上記の全てを含むが、ヒト、霊長類、又は齧歯類などの1つ以上の群又は種を除外する。本明細書に記載される態様の特定の実施形態では、対象は、哺乳動物、例えば、霊長類、例えば、ヒトである。「患者」及び「対象」という用語は、本明細書で互換的に使用される。対象は、男性又は女性とすることができる。

10

【0547】

好ましくは、対象は、哺乳動物である。哺乳動物は、ヒト、非ヒト霊長類、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウマ、又はウシであり得るが、これらの例に限定されない。ヒト以外の哺乳動物は、ヒト疾患及び障害の動物モデルを表す対象として有利に使用することができる。更に、本明細書に記載される化合物、組成物、及び方法は、家畜動物及び／又はペットに使用することができる。

20

【0548】

一部の実施形態では、対象は、ヒトである。別の実施形態では、対象は、疾患モデルとして代替された実験動物又は動物である。用語は、特定の年齢又は性別を示唆しない。したがって、成人及び新生児の対象、並びに胎児は、男性又は女性にかかわらず、カバーされることが意図される。対象の例としては、ヒト、イヌ、ネコ、ウシ、ヤギ、及びマウスが挙げられる。対象という用語は、トランスジェニック種を含むことを更に意図する。一部の実施形態では、対象は、ヨーロッパ系であってもよい。一部の実施形態では、対象は、アフリカ系アメリカ系であってもよい。一部の実施形態では、対象は、アジア系であってもよい。

30

【0549】

人体に対して実施される方法の特許化を禁止している管轄区域では、組成物のヒト対象への「投与」の意味は、ヒト対象が任意の技術（例えば、経口、吸入、外用剤、注射、挿入など）によって自己投与することになる規制物質を処方することに制約されるものとする。特許性のある主題を定義する法律又は規制と一致する、最も広範な合理的な解釈が意図されている。人体に対して実施される方法の特許化を禁止しない管轄区域では、組成物の「投与」は、人体に対して実施される方法及び上記の活動の両方を含む。

40

【0550】

本明細書で使用される場合、「非経口投与」という用語は、注射又は注入による投与を指す。非経口投与としては、皮下投与、静脈内投与、又は筋肉内投与が挙げられるが、これらに限定されない。

【0551】

本明細書で使用される場合、「皮下投与」という用語は、皮膚のすぐ下の投与を指す。「静脈内投与」は、静脈内への投与を意味する。

【0552】

本明細書で使用される場合、「用量」という用語は、単回投与で提供される特定の量の医薬品を指す。特定の実施形態では、用量は、2回以上のボーラス、錠剤、又は注射で投

50

与され得る。例えば、皮下投与が望ましい特定の実施形態では、所望の用量は、単回注射によって容易に収容されない体積を必要とする。そのような実施形態では、2回以上の注射が、所望の用量を達成するために使用され得る。特定の実施形態では、用量は、個体における注射部位反応を最小化するために、2回以上の注射で投与され得る。

#### 【0553】

本明細書で使用される場合、「用量単位」という用語は、医薬品が提供される形態を指す。特定の実施形態では、用量単位は、凍結乾燥アンチセンスオリゴヌクレオチドを含むバイアルである。特定の実施形態では、用量単位は、再構成アンチセンスオリゴヌクレオチドを含むバイアルである。

#### 【0554】

本開示は、本明細書に提供される特定の方法論、プロトコル、及び試薬などに限定されず、そのため変化し得ることが理解されるべきである。本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を説明することのみを目的とし、特許請求の範囲によってのみ定義される本開示の範囲を限定することを意図するものではない。本発明について、以下の実施例によって更に例示されるが、これらは更なる限定として解釈されるべきではない。

#### 【実施例】

#### 【0555】

実施例1：2, 6-ジアミノプリン及び2-アミノアデニンのコンジュゲートをオリゴヌクレオチドに導入するための簡便な化学的アプローチ

2, 6-ジアミノプリン(DAP)は、Kirnosらによって1977年にS-L2シアノファージで発見された核酸塩基である[1]。以前の研究では、DAPがDNA中のチミジン[2、3]及びRNA中のウリジン[4、5]と3つの水素結合ワトソンクリック塩基対を形成し、二本鎖安定性をおよそ1~2度/修飾で増加させ得ることが示された。しかしながら、DAP:2-チオチミジン[6、7]又はDAP:2-チオウリジン[8]については、DAPのN2-窒素とピリミジン塩基の硫黄との間の立体障害のために、Tm二本鎖が減少する。NMR及び円二色性研究は、DAPを含むDNA:RNA二本鎖のA形態[9、10]、及びDNA:DNA二本鎖の場合における高塩条件下でのBのA形態への遷移[11、12]を示した。DAPを組み込んだ二本鎖に対する化学修飾の影響を理解するために、糖修飾(2'-OMe[13~15]、2'-O-アリル[16]又はアルキン[17]、アンヒドロヘキシトール[18、19]、TNA[20]、LNA[15、21、22]、UNA[23]、ダイマー双頭型[24])、PO結合(2'-5'[25~27]、N3'-P5'[28、29])、及び骨格の性質(PNA[30]、SNA[8、31])を含む一連の修飾オリゴヌクレオチドを調査した。歴史的に、DAPビルディングブロックはグアノシン類似体から取得されたが、通常は収率が低い[2、3、32~35]。その後、6-クロロ-2-アミノプリン[13、15、16、18、19、22、36]若しくは2, 6-ジクロロプリン[37~39]類似体、又は市販の2, 6-ジアミノプリン[31]などのハロゲン化プリンを使用して、他の合成経路が開発された。それにもかかわらず、これらの合成戦略は依然として、ジアミノ官能基の導入、保護基の配置、並びに脱保護及び精製のための煩雑な化学合成工程を伴う。脱保護効率は必ずしも完全ではないため、オリゴヌクレオチドの精製も問題である。先の情報に続いて、本明細書では、合成後戦略を使用してsiRNAにDAPを容易に組み込むための合成経路を記載する。生物物理学的研究及びRNAサイレンシング活性も考察される。同じ合成後処理では、アミン官能基が使用される場合、アデニンの2位にコンジュゲートをもたらし、依然として水素結合のためのRN-Hが残存する。

#### 【0556】

オリゴヌクレオチドを含むDAPを合成するために現在使用されている保護基を表1に示す。

#### 【0557】

(表1) 当該技術分野でDAPに使用される保護基

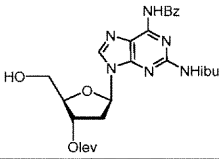
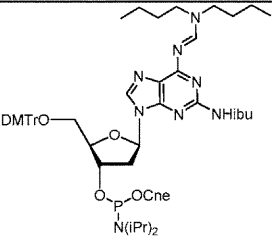
10

20

30

40

50

| 構造                                                                                | 脱保護条件             | 参考文献 |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------|------|
| ヘテロ保護基                                                                            |                   |      |
|  | アンモニア<br>65℃、5～7日 | [3]  |
|  |                   | [40] |

10

20

30

40

50

|       |                                                                              |                                                                                                                         |
|-------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|       | アンモニア及び<br>メチルアミン<br>(AMA)<br>60℃、1時間<br>i-ブチルの<br>除去が困難                     | [17]                                                                                                                    |
|       | アンモニア                                                                        | [41]                                                                                                                    |
| ホモ保護基 |                                                                              |                                                                                                                         |
|       | アンモニア<br>55℃、18時間                                                            | リボースホスフェート<br>トリエステル[10]<br>LNAアミダイト[15]                                                                                |
|       | AMA<br>70℃、<br>30分～18時間<br><br>アンモニア<br>55℃、4～6時間<br><br>24%ヒドラジン<br>4℃、18時間 | リボースアミダイト[4]<br>デオキシアミダイト[25～27]<br>HNAアミダイト[18、19]<br>TNAアミダイト[20]<br>LNAアミダイト[21、22]<br>UNAアミダイト[23]<br>双頭型ヌクレオチド[24] |
|       | アンモニア<br>60℃、6～16時間                                                          | リボ2' OMeアミダイト<br>[13、14、16、42]<br>デオキシアミダイト[5、6、<br>28、32、43、44]<br>リボアミダイト[29]<br>PNA[30]                              |
|       | アンモニア<br>55℃、4～6時間                                                           | デオキシアミダイト[44]<br>SNA[31]                                                                                                |
|       | アンモニア<br>55℃、18時間                                                            | [15]                                                                                                                    |

|  |                        |      |
|--|------------------------|------|
|  | 二級アミン又は<br>三級アミン<br>室温 | [45] |
|--|------------------------|------|

【0558】

保護基の必要性を回避するために必要なモノマーの合成：

10

20

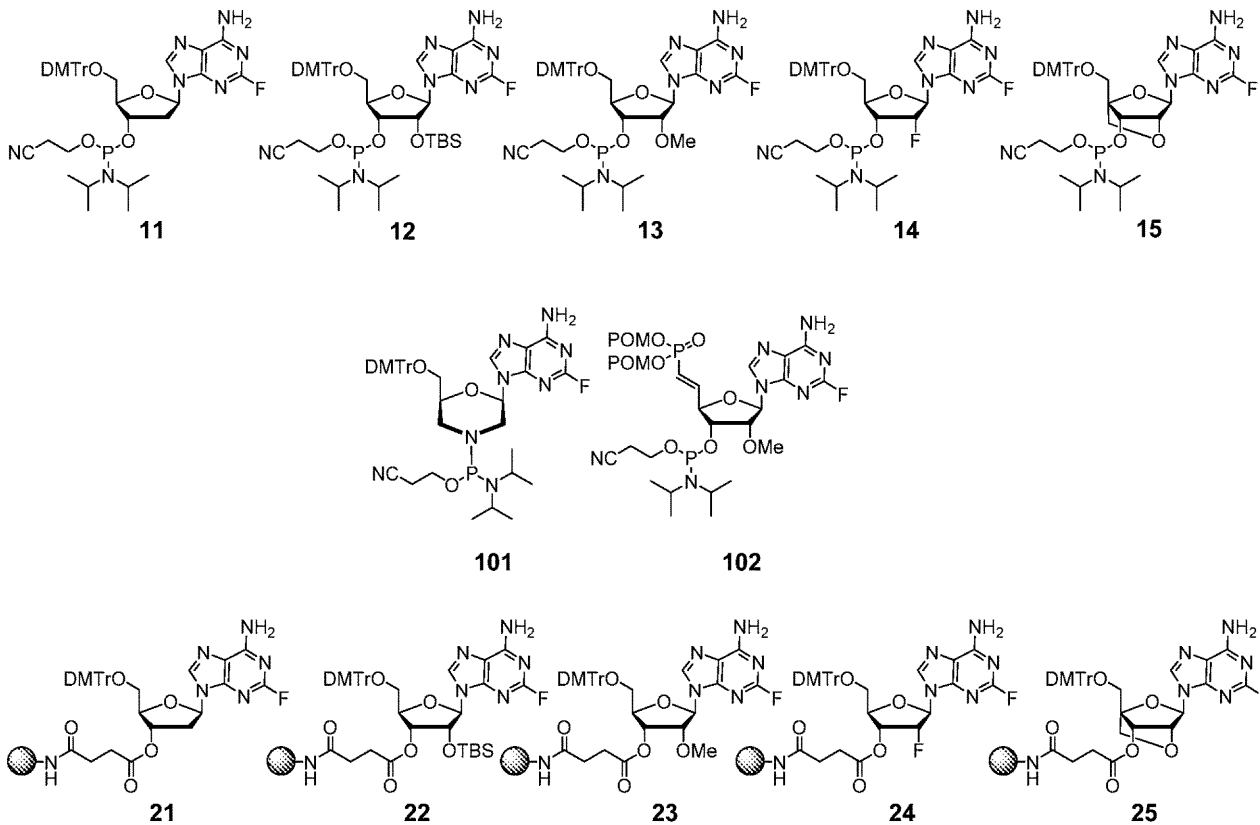
30

40

50

文献に報告された公知の方法に従って、図 2 に示す例示的なモノマーを合成した。

図 2



10

20

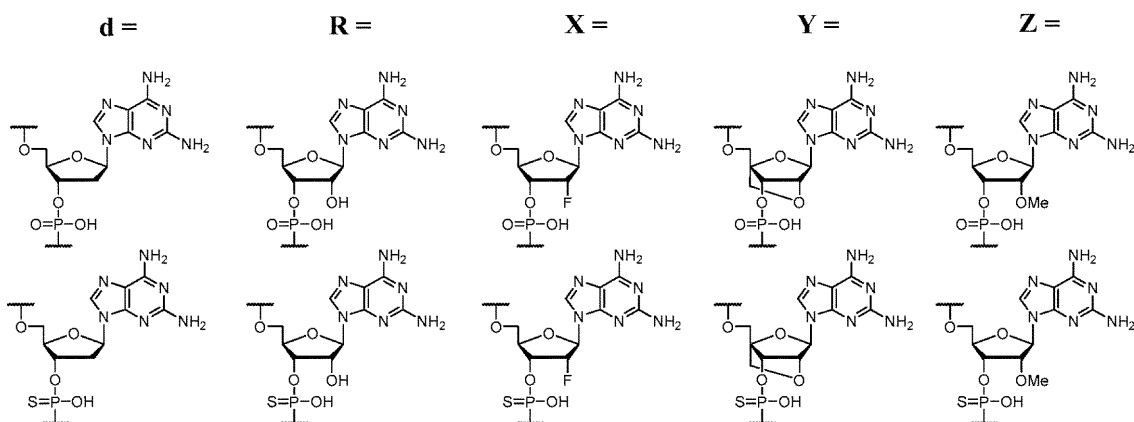
30

40

# 【 0 5 5 9 】

図 2 に示すモノマーを使用した、DAPモノマー残基を含むオリゴヌクレオチドを図 3 に示す。

図 3



# 【 0 5 6 0 】

図 3 の例示的な DAP モノマーを含む調製されたオリゴヌクレオチドの配列及び質量分析を表 2 に示す。

# 【 0 5 6 1 】

(表 2) s i R N A 鎖の配列及び質量分析による特性評価<sup>a</sup>

50

|    | 標的   | 鎖                | 配列 5'-3'                    | 質量 (m/z) |         |
|----|------|------------------|-----------------------------|----------|---------|
|    |      |                  |                             | 計算値      | 観測値     |
| 1  | mTTR | AS 親<br>A-117800 | u●U●aUaGaGcAagaAcUgUu●u●u   | 7595.94  |         |
| 2  | mTTR | A-3144501        | u●U●aUaGaGcAagaAcUgUu●u●u   | 7592.94  | 7591.41 |
| 3  | mTTR | A-3144502        | u●U●aUaGaGcAagadcAcUgUu●u●u | 7592.94  | 7591.66 |
| 4  | mTTR | A-3144503        | u●U●aUaGaGcdagaAcUgUu●u●u   | 7592.94  | 7591.50 |
| 5  | mTTR | A-3144504        | u●U●aUaGaGcdagaAcUgUu●u●u   | 7588.98  | 7588.97 |
| 6  | mTTR | A-3144505        | u●U●aUaGaGcdagadcUgUu●u●u   | 7587.00  | 7585.87 |
| 7  | mTTR | A-3116238        | u●U●aUaGaGcAagaAcXcUgUu●u●u | 7610.95  | 7609.54 |
| 8  | mTTR | A-3116239        | u●U●aUaGaGcAagaAcUgUu●u●u   | 7610.95  | 7609.62 |
| 9  | mTTR | A-3116240        | u●U●aUaGaGcXagaAcUgUu●u●u   | 7610.95  | 7609.75 |
| 10 | mTTR | A-3116244        | u●U●aUaGaGcXagaAcXcUgUu●u●u | 7625.96  | 7624.71 |
| 11 | mTTR | A-3116242        | u●U●aUaGaGcXagaXcXcUgUu●u●u | 7640.98  | 7639.72 |
| 12 | mTTR | A-3144493        | u●U●aUaGaGcAagaAcYcUgUu●u●u | 7620.97  | 7619.54 |
| 13 | mTTR | A-3144494        | u●U●aUaGaGcAagaYcAcUgUu●u●u | 7620.97  | 7619.70 |
| 14 | mTTR | A-3144495        | u●U●aUaGaGcYagaAcUgUu●u●u   | 7620.97  | 7619.73 |
| 15 | mTTR | A-3144496        | u●U●aUaGaGcYagaAcYcUgUu●u●u | 7646.00  | 7644.77 |
| 16 | mTTR | A-3144497        | u●U●aUaGaGcYagaYcYcUgUu●u●u | 7671.04  | 7669.57 |
| 17 | mTTR | A-3146178        | u●U●aUaGaGcAagRAcUgUu●u●u   | 7596.92  |         |
| 18 | mTTR | A-3146179        | u●U●aUaGaGcARgaAcUgUu●u●u   | 7596.92  |         |

10

20

30

40

50

|    |      |                 |                             |         |         |
|----|------|-----------------|-----------------------------|---------|---------|
| 19 | mTTR | A-3146180       | u●U●aUaGRGcAagaAcAcUgUu●u●u | 7596.92 |         |
| 20 | mTTR | A-3146181       | u●U●aURGaGcAagaAcAcUgUu●u●u | 7596.92 |         |
| 21 | mTTR | A-3146182       | u●U●RURGaGcAagaAcAcUgUu●u●u | 7596.92 |         |
| 22 | mTTR | A-3146183       | u●U●RURGRGcARgRAcAcUgUu●u●u | 7600.87 |         |
| 23 | mTTR | A-3144509       | u●U●aUaGaGcAagZAcAcUgUu●u●u | 7610.95 | 7609.86 |
| 24 | mTTR | A-3144510       | u●U●aUaGaGcAZgAcAcUgUu●u●u  | 7610.95 | 7609.94 |
| 25 | mTTR | A-3144511       | u●U●aUaGZGcAagaAcAcUgUu●u●u | 7610.95 | 7609.79 |
| 26 | mTTR | A-3144512       | u●U●aUZGaGcAagaAcAcUgUu●u●u | 7610.95 | 7609.80 |
| 27 | mTTR | A-3144513       | u●U●ZUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u | 7610.95 | 7609.78 |
| 28 | mTTR | A-3144514       | u●U●ZUZGZGcAZgZAcAcUgUu●u●u | 7671.02 | 7669.86 |
| 29 | mTTR | A-              | u●U●ZUZGYGcXZgZXcXcUgUu●u●u | 7714.04 | 7712.78 |
| 30 | mTTR | A-              | u●U●RUZGYGcdZgZXcXcUgUu●u●u |         |         |
| 31 | mTTR | S 親<br>A-117799 | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUa4(L)  | 8590.17 |         |
| 32 | mTTR | A-3144506       | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUad     | 6798.23 | 6797.12 |
| 33 | mTTR | A-3144507       | d●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUa4     | 6798.23 | 6796.95 |
| 34 | mTTR | A-3144508       | d●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUad     | 6795.25 | 6794.25 |
| 35 | mTTR | A-3116243       | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaX     | 6816.22 | 6814.94 |
| 36 | mTTR | A-3116245       | X●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUa4     | 6816.22 | 6814.64 |
| 37 | mTTR | A-3116246       | X●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaX     | 6831.23 | 6829.91 |
| 38 | mTTR | A-3144498       | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaY     | 6829.22 | 6824.95 |
| 39 | mTTR | A-3144499       | Y●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUa4     | 6826.23 | 6824.85 |

10

20

30

40

50

|    |                |            |                                   |         |         |
|----|----------------|------------|-----------------------------------|---------|---------|
| 40 | mTTR           | A-3144500  | Y●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaY           | 6851.27 | 6866.08 |
| 41 | mTTR           | A-3144515  | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaUZA         | 6816.23 | 6815.08 |
| 42 | mTTR           | A-3144516  | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 6816.23 | 6815.04 |
| 43 | mTTR           | A-3144517  | A●a●CZGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 6816.23 | 6815.03 |
| 44 | mTTR           | A-3144518  | A●Z●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 6816.23 | 6815.03 |
| 45 | mTTR           | A-3144519  | A●Z●CZGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 6861.27 | 6860.15 |
| 46 | mTTR           | A-3146184  | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 6802.2  |         |
| 47 | mTTR           | A-3146185  | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 6802.2  |         |
| 48 | mTTR           | A-3146186  | A●a●CRGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 6802.2  |         |
| 49 | mTTR           | A-3146187  | A●R●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 6802.19 |         |
| 50 | mTTR           | A-3146188  | A●R●CRGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 6805.15 |         |
| 51 | mTTR           | A-         | Y●Z●CZGuGuUCUuGcUcUaUaA           | 8672.28 |         |
| 52 | 凝固因子 7         | S 親<br>A - | u●c●a●u●c●u●c●a●A●G●T●C●u●T●aa(L) | 7227.27 |         |
| 53 | 凝固因子 7         | A-         | u●c●Y●u●c●u●c●Y●Y●G●T●C●u●T●Yd(L) | 7280.21 |         |
| 54 | 凝固因子 7         | A-         | u●c●Z●u●c●u●c●Z●Y●G●T●C●u●T●Zd(L) | 7276.25 |         |
| 55 | アンタゴミR-<br>122 | S 親<br>A - | a●c●aaacaccaungucacacuc●c●c●a●(L) | 9425.35 |         |
| 56 | アンタゴミR-<br>122 | A-         | Y●c●YYcYccYuugucZcYcu●c●c●Y●(L)   | 9544.34 |         |

10

20

30

40

50

斜体の大文字、小文字、及び赤い太字の大文字は、それぞれ、アデノシン(A)、シチジン(C)、グアノシン(G)、ウリジン(U)、デオキシ-2,6-ジアミノプリン(d)、リボ-2,6-ジアミノプリン(R)、2'-F-2,6-ジアミノプリン(X)、LNA-2,6-ジアミノプリン(Y)、及び2'-OMe-2,6-ジアミノプリン(Z)に対する2'-F-RNA、2'-OMe糖修飾、及び2,6-ジアミノプリンヌクレオシドを表す。ホスホロチオエート結合は、「●」記号によって示される。

10

20

30

40

【 0 5 6 2 】  
二本鎖RNA分子、すなわち、例示的なDAPモノマー残基を含むs i RNA二本鎖を  
図 2、それらの生物物理学的研究を表 3 に要約する。  
【 0 5 6 3 】  
(表 3) s i RNA二本鎖及び生物物理学的研究

50

| 二本鎖            | S/AS 二本鎖 5'-3'                                            | <i>T<sub>m</sub></i> (°C) | CD |
|----------------|-----------------------------------------------------------|---------------------------|----|
| 対照<br>AD-57727 | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagaAcdcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagadcAcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcdagaAcAcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcdagaAcdcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcdagadcUgUu●u●u   |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagaAcXcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagaXcAcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcXagaAcAcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcXagaAcXcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcXagaXcXcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagaAcYcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagaYcAcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcYagaAcAcUgUu●u●u |                           |    |
| AD-            | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)                                |                           |    |

10

20

30

40

50

|     |                                                           |  |  |
|-----|-----------------------------------------------------------|--|--|
|     | u●U●aUaGaGcYagaAcYcUgUu●u●u                               |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcYagaYcYcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagRAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcARgaAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGRGcAagaAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aURGaGcAagaAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●RUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●RURGRGcARgRAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagZAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAZgaAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGZGcAagaAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUZGaGcAagaAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●ZUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●ZUZGZGcAZgZAcAcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●ZUZGYGcXZgZXcXcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●RUZGYGcdZgZXcXcUgUu●u●u |  |  |
| AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUad<br>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u    |  |  |
| AD- | d●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA                                   |  |  |

10

20

30

40

50

|     |                                                                      |  |  |
|-----|----------------------------------------------------------------------|--|--|
|     | <b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b>                                   |  |  |
| AD- | <b>d●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUad</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaX</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>X●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>X●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaX</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaY</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>Y●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>Y●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaY</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaURA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●a●CaGuGuUCUuGcUcURUaA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●a●CRGuGuUCUuGcUcUaUaA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●R●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●R●CRGuGuUCUuGcUcURURA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUZA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●a●CaGuGuUCUuGcUcUZUaA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●a●CZGuGuUCUuGcUcUaUaA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| AD- | <b>A●Z●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |

|                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                      |  |  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|--|--|
| AD-                                                                                                                                                                                                                                                | <b>A●Z●CZGuGuUCUuGcUcUZUZA</b><br><b>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</b> |  |  |
| <p>斜体の大文字、小文字、及び赤い太字の大文字は、それぞれ、アデノシン(A)、シチジン(C)、グアノシン(G)、ウリジン(U)、デオキシ-2,6-ジアミノプリン(d)、リボ-2,6-ジアミノプリン(R)、2'-F-2,6-ジアミノプリン(X)、LNA-2,6-ジアミノプリン(Y)、及び2'-OMe-2,6-ジアミノプリン(Z)に対する2'-F-RNA、2'-OMe糖修飾、及び2,6-ジアミノプリンヌクレオシドを表す。ホスホロチオエート結合は、「●」記号によって示される。</p> |                                                                      |  |  |

10

20

30

40

50

## 【0564】

RNA i 研究のための図2のDAPモノマー残基を含む例示的なdsRNAを表4に示す。

## 【0565】

(表4) RNA i サイレンシング研究のための二本鎖

| 標的          | 二本鎖            | S/AS 二本鎖 5'-3'                                                          |  |
|-------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------|--|
| <i>mTTR</i> | 対照<br>AD-57727 | <i>A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)</i><br><i>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</i> |  |
| <i>mTTR</i> | AD-            | <i>Y●Z●CZGuGuUCUuGcUcUZUZd(L)</i><br><i>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u</i> |  |

斜体の大文字、小文字、大文字、赤い太字の大文字、及び小文字の太字は、それぞれ、アデノシン(A)、シチジン(C)、グアノシン(G)、ウリジン(U)、デオキシ-2,6-ジアミノプリン(d)、リボ-2,6-ジアミノプリン(R)、2'-F-2,6-ジアミノプリン(X)、LNA-2,6-ジアミノプリン(Y)、及び2'-OMe-2,6-ジアミノプリン(Z)に対する2'-F-RNA、2'-OMe、LNA糖修飾、2,6-ジアミノプリン、及びデオキシヌクレオシドを表す。(L)は、トリ-N-アセチルガラクトサミン (トリ-GalNAc) リガンドを表す。ホスホロチオエート結合は、「●」記号によって示される。

10

20

## 【0566】

図2のDAPモノマー残基を含む例示的な一本鎖アンタゴmir及びReversirを表5に示す。

## 【0567】

(表5) 一本鎖アンタゴmir及びReversirを有するオリゴヌクレオチド

| 標的          | 二本鎖      | S/AS 二本鎖 5'-3'                           |  |
|-------------|----------|------------------------------------------|--|
| 凝固因子 VII    | 対照<br>A- | <i>u●c●a●u●c●u●c●a●A●G●T●C●u●T●aa(L)</i> |  |
| 凝固因子 VII    | A-       | <i>u●c●Y●u●c●u●c●Y●Y●G●T●C●u●T●Yd(L)</i> |  |
| 凝固因子 VII    | A-       | <i>u●c●Z●u●c●u●c●Z●Y●G●T●C●u●T●Zd(L)</i> |  |
| アンタゴmiR-122 | 対照<br>A- | <i>a●c●aaacaccauugucacacu●c●c●a●(L)</i>  |  |
| アンタゴmiR-122 | A-       | <i>Y●c●YYYcYccYuugucacYcu●c●c●Y●(L)</i>  |  |

大文字、小文字、及び赤い太字の大文字は、それぞれ、アデノシン(A)、シチジン(C)、グアノシン(G)、ウリジン(U)、デオキシ-2,6-ジアミノプリン(d)、リボ-2,6-ジアミノプリン(R)、2'-F-2,6-ジアミノプリン(X)、LNA-2,6-ジアミノプリン(Y)、及び2'-OMe-2,6-ジアミノプリン(Z)に対するLNA、2'-OMe糖修飾、及び2,6-ジアミノプリンヌクレオシドを表す。ホスホロチオエート結合は、「●」記号によって示される。

30

40

## 【0568】

ディッカーソンドデカマーNMR研究のための、図3のDAPモノマー残基を含む例示的なオリゴヌクレオチドの配列及び質量分析による特性評価を表5に示す。

50

## 【 0 5 6 9 】

(表 5) ディッカーソンドデカマー NMR 研究用に作製されたオリゴヌクレオチドの配列及び質量分析による特性評価

| 鎖                                                                                                                                    | 配列 5'-3'                                             | 質量 (m/z) |         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------|---------|
|                                                                                                                                      |                                                      | 計算値      | 観測値     |
| A-69532                                                                                                                              | dCdGdCdGdAdAdTdTdCdGdCdG                             | 3646.393 | 3645.58 |
| A-3154596                                                                                                                            | dCdGdCdGddAdTdTdCdGdCdG                              | 3661.410 | 3660.62 |
| A-3154597                                                                                                                            | dCdGdCdGdAaddTdTdCdGdCdG                             | 3661.410 | 3660.89 |
| A-3154598                                                                                                                            | dCdGdCdGdddTdTdCdGdCdG                               | 3676.428 | 3675.61 |
| ON101                                                                                                                                | dCdGdCdGd <sup>15</sup> dAdTdTdCdGdCdG               | 3662.41  | 3661.61 |
| ON102                                                                                                                                | dCdGdCdGdAd <sup>15</sup> dTdTdCdGdCdG               | 3662.41  | 3661.35 |
| ON103                                                                                                                                | dCdGdCdGd <sup>15</sup> d <sup>15</sup> dTdTdCdGdCdG | 3677.42  | 3677.56 |
| デオキシ-アデノシン(dA)、デオキシ-シチジン(dC)、デオキシ-グアノシン(dG)、デオキシ-チミジン(dT)、デオキシ-2,6-ジアミノプリン(d)、デオキシ-2,6-ジアミノプリン2- <sup>15</sup> N標識(d <sup>15</sup> ) |                                                      |          |         |

10

20

## 【 0 5 7 0 】

## 合成後コンジュゲーション

固体支持体での 2-F, 6-NH<sub>2</sub> ヌクレオチドとの合成後コンジュゲーションの例示的な合成後コンジュゲーションプロセスを図 4 A、及び溶液相でのものを図 5 B に示す。

## 【 0 5 7 1 】

合成後コンジュゲーションに使用されるリガンドの例としては、糖質、ペプチド、脂質、診断剤（ビオチン）、蛍光色素、PEG、抗体、抗体断片（ナノボディ）、葉酸、RGD-ペプチド、及び DUPA リガンドが挙げられるが、これらに限定されない。

30

## 【 0 5 7 2 】

合成後コンジュゲーションプロセスに使用されるアミンリンカーを有する例示的なリガンドを図 6 に示す。

## 【 0 5 7 3 】

合成後コンジュゲーションプロセスで調製された例示的なコンジュゲーション体を図 7 及び図 8 に示す。

## 【 0 5 7 4 】

図 7 及び図 8 の合成後コンジュゲーション体を含む siRNA 鎖の配列及び質量分析を表 6 に示す。

40

## 【 0 5 7 5 】

(表 6) siRNA コンジュゲート鎖の配列及び質量分析による特性評価

50

| 標的            | 標的組織 | 鎖                | 配列 5'-3'                                                                  | 質量 (m/z) |         |
|---------------|------|------------------|---------------------------------------------------------------------------|----------|---------|
|               |      |                  |                                                                           | 計算値      | 観測値     |
| <b>mTTR</b>   | 肝臓   | S 親<br>A-117799  | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)                                                | -        | -       |
| <b>mTTR</b>   | 肝臓   | A-               | X <sub>204</sub> ●Z <sub>204</sub> ●CZ <sub>204</sub> GuGuUCUuGcUcUaU●a●A | 8085.85  |         |
| <b>mTTR</b>   | 肝臓   | A-               | X <sub>201</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A                                 | 7360.21  |         |
| <b>mTTR</b>   | 肝臓   | A-               | X <sub>204</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A                                 | 7250.86  | 7248.92 |
| <b>mTTR</b>   | 肝臓   | A-               | X <sub>205</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A                                 | 8557.42  | 8554.31 |
| <b>mTTR</b>   | 肝臓   | A-               | X <sub>206</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A                                 | 8124.88  | 8122.72 |
| <b>mTTR</b>   | 肝臓   | A-               | X <sub>209</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A                                 | 7072.80  |         |
| <b>mTTR</b>   | 肝臓   | A-               | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A                                                 | 8053.72  |         |
| <b>mTTR</b>   | 肝臓   | A-               | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A                                                 | 8555.3   |         |
| <b>h/cTTR</b> | 眼    | S 親<br>A-        | u●g●ggauUuCAUguaaccaa●g●a                                                 |          |         |
| <b>h/cTTR</b> | 眼    | A-               | u●g●ggZ <sub>209</sub> uUuCAUguaaccaa●g●a                                 |          |         |
| <b>h/cTTR</b> | 眼    | A-               | u●g●ggZ <sub>211</sub> uUuCAUguZ <sub>211</sub> accaa●g●a                 |          |         |
| <b>h/cTTR</b> | 眼    | A-               | u●g●ggZ <sub>212</sub> uUuCAUguZ <sub>212</sub> accZ <sub>212</sub> a●g●a |          |         |
| <b>h/cTTR</b> | 眼    | AS 親<br>A-131902 | VPu●C●uugGuuAcaugAaAuccca●u●c                                             |          |         |
| <b>h/cTTR</b> | 眼    | A-               | VPu●C●uugGuuX <sub>209</sub> caugAaAuccca●u●c                             |          |         |
| <b>h/cTTR</b> | 眼    | A-               | VPu●C●uugGuuX <sub>211</sub> cZ <sub>211</sub> ugAaAuccca●u●c             |          |         |

10

20

30

40

50

|               |    |                  |                                                                               |  |  |
|---------------|----|------------------|-------------------------------------------------------------------------------|--|--|
| <b>h/cTTR</b> | 眼  | A-               | VPu●C●uugGuuX <sub>212</sub> cZ <sub>212</sub> ugX <sub>212</sub> aUuccca●u●c |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | S 親<br>A-119322  | U●g●AcAaAaUAAcUcAcUaUaA                                                       |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | A-               | U●g●AcX <sub>204</sub> Z <sub>204</sub> X <sub>204</sub> aUAACUcAcUaU●a●A     |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | A-               | U●g●X <sub>205</sub> cAaAaUAACUcAcUaU●a●A                                     |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | A-               | U●g●AcAaAaUAACUcAcUaUaX <sub>205</sub>                                        |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | A-               | U●g●X <sub>209</sub> cAaAaUAACUcAcUaU●a●A                                     |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | A-               | U●g●X <sub>211</sub> cAaAaUX <sub>211</sub> AcUcAcUaU●a●A                     |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | A-               | U●g●X <sub>212</sub> cAaAaUX <sub>212</sub> AcUcX <sub>212</sub> cUaU●a●A     |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | AS 親<br>A-119322 | u●U●aUaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u                                                   |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | A-               | u●U●Z <sub>209</sub> UaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u                                   |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | A-               | u●U●Z <sub>211</sub> UaGuGZ <sub>211</sub> GuuaUuUuGuCa●a●u                   |  |  |
| <b>C5</b>     | 肝臓 | A-               | u●U●Z <sub>212</sub> UaGuGZ <sub>212</sub> GuuZ <sub>212</sub> UuUuGuCa●a●u   |  |  |
| <b>β-Cat</b>  | 肝臓 | S 親<br>A-129065  | U●a●CuGuUgGAUuGaUuCgAaA                                                       |  |  |
| <b>β-Cat</b>  | 肝臓 | A-               | U●a●CuGuUgGAUuGaUuCgAaX <sub>205</sub>                                        |  |  |
| <b>β-Cat</b>  | 肝臓 | A-               | U●X <sub>205</sub> ●CuGuUgGAUuGaUuCgA●a●A                                     |  |  |
| <b>β-Cat</b>  | 肝臓 | A-               | U●X <sub>209</sub> ●CuGuUgGAUuGaUuCgA●a●A                                     |  |  |
| <b>β-Cat</b>  | 肝臓 | A-               | U●X <sub>211</sub> ●CuGuUgGX <sub>211</sub> UuGaUuCgA●a●A                     |  |  |
| <b>β-Cat</b>  | 肝臓 | A-               | U●X <sub>212</sub> ●CuGuUgGX <sub>212</sub> UuGZ <sub>212</sub> UuCgA●a●A     |  |  |
| <b>β-Cat</b>  | 肝臓 | AS 親<br>A-129066 | VPu●U●uCgAaUcAaucCaAcAgUa●g●c                                                 |  |  |

10

20

30

40

50

|              |    |                  |                                                                               |  |  |
|--------------|----|------------------|-------------------------------------------------------------------------------|--|--|
| <b>β-Cat</b> | 肝臓 | A-               | VPu●U●uCgX <sub>209</sub> aUcAaucCaAcAgUa●g●c                                 |  |  |
| <b>β-Cat</b> | 肝臓 | A-               | VPu●U●uCgX <sub>211</sub> aUcX <sub>211</sub> aucCaAcAgUa●g●c                 |  |  |
| <b>β-Cat</b> | 肝臓 | A-               | VPu●U●uCgX <sub>212</sub> aUcX <sub>212</sub> aucCZ <sub>212</sub> AcAgUa●g●c |  |  |
| <b>SOD1</b>  | 脳  | S 親<br>A-637448  | c●a●uuuuuAaUCCucacucua●a●a                                                    |  |  |
| <b>SOD1</b>  | 脳  | A-               | c●Z <sub>209</sub> ●uuuuuAaUCCucacucua●a●a                                    |  |  |
| <b>SOD1</b>  | 脳  | A-               | c●Z <sub>211</sub> ●uuuuuX <sub>211</sub> aUCCucacucua●a●a                    |  |  |
| <b>SOD1</b>  | 脳  | A-               | c●Z <sub>212</sub> ●uuuuuX <sub>212</sub> aUCCucZ <sub>212</sub> cucua●a●a    |  |  |
| <b>SOD1</b>  | 脳  | AS 親<br>A-444402 | VPu●U●uagAgUGaggaUuAaaaug●a●g                                                 |  |  |
| <b>SOD1</b>  | 脳  | A-               | VPu●U●uZ <sub>209</sub> gAgUGaggaUuAaaaug●a●g                                 |  |  |
| <b>SOD1</b>  | 脳  | A-               | VPu●U●uZ <sub>211</sub> gAgUGZ <sub>211</sub> ggaUuAaaaug●a●g                 |  |  |

## 【 0 5 7 6 】

s i R N Aサイレンシング研究のための図 6 及び図 7 の合成後コンジュゲート体を含む例示的な d s R N A の配列を表 7 に示す。

## 【 0 5 7 7 】

(表 7) s i R N Aサイレンシング研究のための二本鎖

10

20

30

40

50

| 標的            | 標的組織 | 二本鎖       | S/AS 二本鎖 5'-3'                                                                                             | サイレンシング活性 |
|---------------|------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>mTTR</i>   | 肝臓   | 対照<br>AD- | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)<br>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u                                                  |           |
| <i>mTTR</i>   | 肝臓   | AD-       | X <sub>204</sub> ●Z <sub>204</sub> ●CZ <sub>204</sub> GuGuUCUuGcUcUaU●a●A<br>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u   |           |
| <i>mTTR</i>   | 肝臓   | AD-       | X <sub>201</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A<br>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u                                   | 10        |
| <i>mTTR</i>   | 肝臓   | AD-       | X <sub>205</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A<br>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u                                   |           |
| <i>mTTR</i>   | 肝臓   | AD-       | X <sub>206</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A<br>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u                                   |           |
| <i>mTTR</i>   | 肝臓   | AD-       | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUZ <sub>204</sub> UZ <sub>204</sub> X <sub>204</sub><br>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u      |           |
| <i>mTTR</i>   | 肝臓   | AD-       | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaX <sub>205</sub><br>u●U●aUaGaGcAagaAcAcUgUu●u●u                                      | 20        |
| <i>mTTR</i>   | 肝臓   | A-        | u●g●ggauUuCAUguaaccaa●g●a<br>VPu●C●uugGuuAcaugAaAuccca●u●c                                                 |           |
| <i>mTTR</i>   | 肝臓   | A-        | u●g●ggZ <sub>209</sub> uUuCAUguaaccaa●g●a<br>VPu●C●uugGuuAcaugAaAuccca●u●c                                 |           |
| <i>h/cTTR</i> | 眼    | 対照<br>AD- | u●g●ggZ <sub>211</sub> uUuCAUguZ <sub>211</sub> accaa●g●a<br>VPu●C●uugGuuAcaugAaAuccca●u●c                 |           |
| <i>h/cTTR</i> | 眼    | AD-       | u●g●ggZ <sub>212</sub> uUuCAUguZ <sub>212</sub> accZ <sub>212</sub> a●g●a<br>VPu●C●uugGuuAcaugAaAuccca●u●c |           |
| <i>h/cTTR</i> | 眼    | AD-       | u●g●ggauUuCAUguaaccaa●g●a<br>VPu●C●uugGuuX <sub>209</sub> caugAaAuccca●u●c                                 | 30        |
| <i>h/cTTR</i> | 眼    | AD-       | u●g●ggauUuCAUguaaccaa●g●a<br>VPu●C●uugGuuX <sub>211</sub> cZ <sub>211</sub> ugAaAuccca●u●c                 |           |
| <i>h/cTTR</i> | 眼    | AD-       | u●g●ggauUuCAUguaaccaa●g●a<br>VPu●C●uugGuuX <sub>212</sub> cZ <sub>212</sub> ugX <sub>212</sub> aAuccca●u●c |           |
| <i>h/cTTR</i> | 眼    | AD-       | U●g●AcAaAaUAAcUcAcUaUaA<br>u●U●aUaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u                                                     |           |
| <i>h/cTTR</i> | 眼    | AD-       | U●g●AcX <sub>204</sub> Z <sub>204</sub> X <sub>204</sub> aUAAcUcAcUaUaA<br>u●U●aUaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u     | 40        |

|       |    |           |                                                                                                            |    |
|-------|----|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| C5    | 肝臓 | 対照<br>AD- | U●g●X <sub>205</sub> cAaAaUAAcUcAcUaUaA<br>u●U●aUaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u                                     |    |
| C5    | 肝臓 | AD-       | U●g●AcAaAaUAAcUcAcUaUaX <sub>205</sub><br>u●U●aUaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u                                      |    |
| C5    | 肝臓 | AD-       | U●g●X <sub>209</sub> cAaAaUAAcUcAcUaU●a●A<br>u●U●aUaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u                                   |    |
| C5    | 肝臓 | A-        | U●g●X <sub>211</sub> cAaAaUX <sub>211</sub> AcUcAcUaU●a●A<br>u●U●aUaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u                   |    |
| C5    | 肝臓 | AD-       | U●g●X <sub>212</sub> cAaAaUX <sub>212</sub> AcUcX <sub>212</sub> cUaU●a●A<br>u●U●aUaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u   | 10 |
| C5    | 肝臓 | AD-       | U●g●AcAaAaUAAcUcAcUaUaA(L)<br>u●U●Z <sub>209</sub> UaGuGaGuuaUuUuGuCa●a●u                                  |    |
| C5    | 肝臓 | AD-       | U●g●AcAaAaUAAcUcAcUaUaA(L)<br>u●U●Z <sub>211</sub> UaGuGZ <sub>211</sub> GuuaUuUuGuCa●a●u                  |    |
| C5    | 肝臓 | AD-       | U●g●AcAaAaUAAcUcAcUaUaA(L)<br>u●U●Z <sub>212</sub> UaGuGZ <sub>212</sub> GuuZ <sub>212</sub> UuUuGuCa●a●u  |    |
| C5    | 肝臓 | AD-       | U●a●CuGuUgGAUuGaUuCgAaA(L)<br>VPu●U●uCgAaUcAaucCaAcAgUa●g●c                                                |    |
| C5    | 肝臓 | AD-       | U●a●CuGuUgGAUuGaUuCgAaX <sub>205</sub><br>VPu●U●uCgAaUcAaucCaAcAgUa●g●c                                    | 20 |
| β-Cat | 肝臓 | 対照<br>AD- | U●X <sub>205</sub> ●CuGuUgGAUuGaUuCgA●a●A<br>VPu●U●uCgAaUcAaucCaAcAgUa●g●c                                 |    |
| β-Cat | 肝臓 | AD-       | U●X <sub>209</sub> ●CuGuUgGAUuGaUuCgA●a●A<br>VPu●U●uCgAaUcAaucCaAcAgUa●g●c                                 |    |
| β-Cat | 肝臓 | AD-       | U●X <sub>211</sub> ●CuGuUgGX <sub>211</sub> UuGaUuCgA●a●A<br>VPu●U●uCgAaUcAaucCaAcAgUa●g●c                 |    |
| β-Cat | 肝臓 | AD-       | U●X <sub>212</sub> ●CuGuUgGX <sub>212</sub> UuGZ <sub>212</sub> UuCgA●a●A<br>VPu●U●uCgAaUcAaucCaAcAgUa●g●c |    |
| β-Cat | 肝臓 | AD-       | U●a●CuGuUgGAUuGaUuCgA●a●A<br>VPu●U●uCgX <sub>209</sub> aUcAaucCaAcAgUa●g●c                                 | 30 |
| β-Cat | 肝臓 | AD-       | U●a●CuGuUgGAUuGaUuCgA●a●A<br>VPu●U●uCgX <sub>211</sub> aUcX <sub>211</sub> aucCaAcAgUa●g●c                 |    |
| β-Cat | 肝臓 | AD-       | U●a●CuGuUgGAUuGaUuCgA●a●A<br>VPu●U●uCgX <sub>212</sub> aUcX <sub>212</sub> aucCZ <sub>212</sub> AcAgUa●g●c |    |
| β-Cat | 肝臓 | AD-       | c●a●uuuuAaUCCucacucua●a●a<br>VPu●U●uagAgUGaggaUuAaaaug●a●g                                                 |    |
| β-Cat | 肝臓 | AD-       | c●Z <sub>209</sub> ●uuuuAaUCCucacucua●a●a<br>VPu●U●uagAgUGaggaUuAaaaug●a●g                                 |    |
| SOD1  | 脳  | 対照<br>AD- | c●Z <sub>211</sub> ●uuuuX <sub>211</sub> aUCCucacucua●a●a<br>VPu●U●uagAgUGaggaUuAaaaug●a●g                 | 40 |

10

20

30

40

50

|             |   |     |                                                                                                                   |  |
|-------------|---|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| <i>SOD1</i> | 脳 | AD- | <b>c●Z<sub>212</sub>●uuuuX<sub>212</sub>aUCCucZ<sub>212</sub>cucua●a●a</b><br>VPu●U●uagAgUGaggaUuAaaaug●a●g       |  |
| <i>SOD1</i> | 脳 | AD- | <b>c●a●uuuuAaUCCucacucua●a●a</b><br>VPu●U●uZ <sub>209</sub> gAgUGaggaUuAaaaug●a●g                                 |  |
| <i>SOD1</i> | 脳 | AD- | <b>c●a●uuuuAaUCCucacucua●a●a</b><br>VPu●U●uZ <sub>211</sub> gAgUGZ <sub>211</sub> ggaUuAaaaug●a●g                 |  |
| <i>SOD1</i> | 脳 | AD- | <b>c●a●uuuuAaUCCucacucua●a●a</b><br>VPu●U●uZ <sub>212</sub> gAgUGZ <sub>212</sub> ggaUuX <sub>212</sub> aaaug●a●g |  |
| <i>SOD1</i> | 脳 | AD- | <b>A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)</b><br>u●U●aUaGaGcAgaAcAcUgUu●u●u                                                   |  |
| <i>SOD1</i> | 脳 | AD- | <b>X<sub>204</sub>●Z<sub>204</sub>●CZ<sub>204</sub>GuGuUCUuGcUcUaU●a●A</b><br>u●U●aUaGaGcAgaAcAcUgUu●u●u          |  |

斜体の大文字、小文字、大文字、赤い太字の大文字、及び太字の小文字は、それぞれ、アデノシン(A)、シチジン(C)、グアノシン(G)、ウリジン(U)、2' F-2-コレステロール-アデノシン(X<sub>201</sub>)、2' F-2-N-アセチルガラクトサミン-アデノシン(X<sub>204</sub>)、2' F-2-トリ-N-アセチルガラクトサミン(X<sub>205</sub>)、2' F-2-cRGDケスラーペプチド(X<sub>206</sub>)、2' F-2-C16-アデノシン(X<sub>209</sub>)、2' F-2-C9-アデノシン(X<sub>211</sub>)、2' F-2-C6-アデノシン(X<sub>212</sub>)、2' OMe-2-N-アセチルガラクトサミン-アデノシン(Z<sub>204</sub>)、2' OMe-2-C16-アデノシン(Z<sub>209</sub>)、2' OMe-2-C9-アデノシン(Z<sub>211</sub>)、2' OMe-2-C6-アデノシン(Z<sub>212</sub>)に対する2'-F-RNA、2'-OMe、LNA糖修飾、2,6-ジアミノプリン、及びデオキシヌクレオシドを表し、ホスホロチオエート結合は、「●」記号によって示される

#### 【 0 5 7 8 】

図 7 及び図 8 の固相又は液相合成後コンジュゲート体を含む s i R N A 鎖の配列及び変換率分析をそれぞれ表 8 及び表 9 に示す。

#### 【 0 5 7 9 】

(表 8) 固相コンジュゲーションにより得られる s i R N A コンジュゲート鎖の配列及び変換率

10

20

30

40

50



|     | 標的   | 鎖              | 配列 5'-3'                                  | 変換%           |      |
|-----|------|----------------|-------------------------------------------|---------------|------|
|     |      |                |                                           | 報告されて<br>いる方法 | 現行方法 |
|     | mTTR | S親<br>A-117799 | A●a●CaGuGuUCUuGcUcUaUaA(L)                | -             | -    |
| 320 | mTTR | A-             | X <sub>205</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A |               |      |
| 322 | mTTR | A-             | X <sub>209</sub> ●a●CaGuGuUCUuGcUcUaU●a●A | 74            | 91   |

斜体の大文字、小文字、大文字、赤い太字の大文字、及び太字の小文字は、それぞれ、アデノシン(A)、シチジン(C)、グアノシン(G)、ウリジン(U)、2' F-2-コレステロール-アデノシン(X<sub>201</sub>)、2' F-2-N-アセチルガラクトサミン-アデノシン(X<sub>204</sub>)、2' F-2-トリ-N-アセチルガラクトサミン(X<sub>205</sub>)、2' F-2-cRGDケスラーペプチド(X<sub>206</sub>)、2' F-2-C16-アデノシン(X<sub>209</sub>)、2' F-2-C9-アデノシン(X<sub>211</sub>)、2' F-2-C6-アデノシン(X<sub>212</sub>)、2' OMe-2-N-アセチルガラクトサミン-アデノシン(Z<sub>204</sub>)、2' OMe-2-C16-アデノシン(Z<sub>209</sub>)、2' OMe-2-C9-アデノシン(Z<sub>211</sub>)、2' OMe-2-C6-アデノシン(Z<sub>212</sub>)に対する2'-F-RNA、2'-OMe、LNA糖修飾、2,6-ジアミノプリン、及びデオキシヌクレオシドを表し、ホスホロチオエート結合は、「●」記号によって示される

## 【0581】

## 結果及び考察

DAP含有オリゴヌクレオチドのためのモノマー（アミダイト）の合成は、常に問題があり、困難であった。例えば、Sproat, B. S., et al. (1990), Nucleic Acids Research 18 (1): 41-49、Rosenb ohm, C., et al. (2004), Bioorganic & Medicinal Chemistry, 12 (9), 2385-2396、Boudou, V., et al. (1999), Nucleic Acids Research, 27 (6), 1450-1456、Wu, X., et al. (2002), Organic Letters, 4 (8), 1283-1286、Langkjaer, N., et al. (2015), Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 25 (22), 5064-5066、Matray, T. J. and S. M. Gryaznov (1999), Nucleic Acids Research, 27 (20), 3976-3985、Haaiima, G., et al. (1997), Nucleic Acids Res, 25 (22), 4639-4643、及び Kamiya, Y., et al. (2017), ChemBioChem 18 (19), 1917-1922を参照されたい（これら全ての内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。従来技術で使用される方法では、DAP修飾ビルディングブロック（使用されるアミダイト）は、主に2-及び6-アミノ基に対する直交保護基からなる。例えば、WO2010/062404 (A2), ChemGenes Corporation, (2010)、Nucleic Acids Research, (1982), 10 (14), 4351-4361、Nucleosides and Nucleotides, (1989), 8 (5-6), 1051-1051、The Journal of Organic Chemistry, (2010), 75 (5), 1360-1365、The Journal of Organic Chemistry, (2014), 79 (10), 4423-4437、Nucleic Acids Research (1990), 18 (1): 41-49、Nucleic Acids Research, (1999), 27 (20), 3976-3985、ChemBioChem, (2017), 18 (19), 1917-1922、Zeitschrift fur Naturforschung B, (1988), 43 (5), 623-630、及びNucleic Acids Research, (2007), 35 (12)

， 4 0 5 5 － 4 0 6 3 を参照されたい（これら全ての内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。

#### 【 0 5 8 2 】

Ross 及び Manoharan は、DAP の新規前駆体として 2-フルオロ-6-アミノプリンを導入し、それをオリゴヌクレオチド合成に応用した。例えば、B. S. Ross, R. H. Springer, R. Bharadwaj, A. M. Symons, & M. Manoharan (1999) *Nucleosides and Nucleotides*, 18, 1203-1204、及び国際特許公開第 2000/012563 号、B. S. Ross & M. Manoharan を参照されたい（両方の内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。理論に束縛されることを望むものではないが、プリン、例えばアデニンの 2 位の F 原子は、-F の -I 及びアミノの +R 効果を通じて電子のシンクとして機能し、6-NH<sub>2</sub> 基を完全に不活性化し、F 損失後の中間体を安定化する。これにより、6-NH<sub>2</sub> 基に対して「保護基の必要性がなくなる」ことをもたす。

10

#### 【 0 5 8 3 】

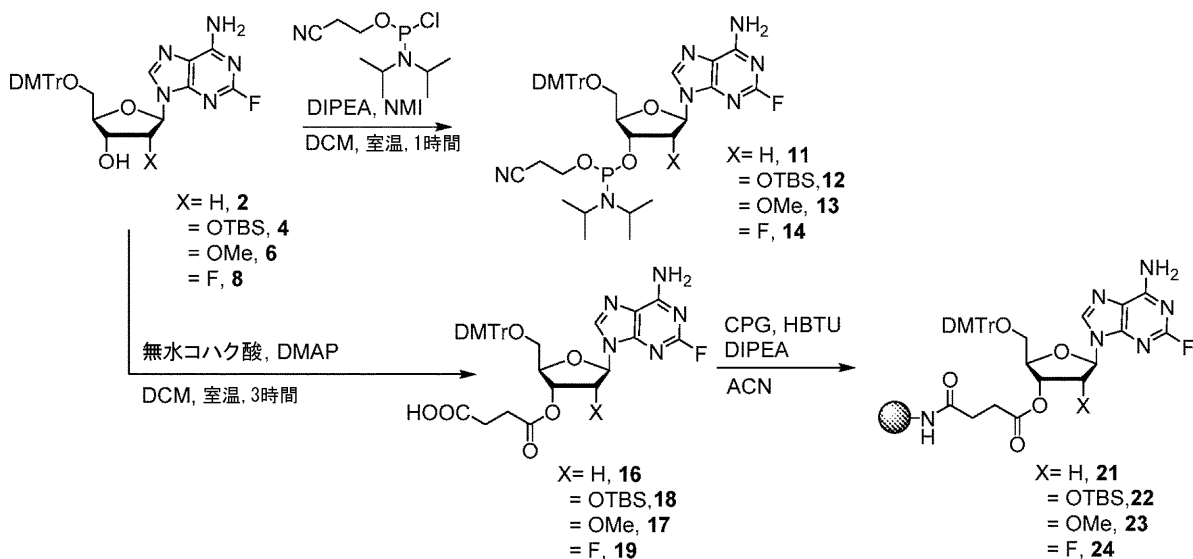
この研究では、合成上の問題を回避及び解決するためのビルディングブロックとして、5つの異なる 2-フルオロ-6-アミノプリンの使用を説明してきた。出発物質の 2-フルオロ-6-アミノプリンヌクレオチドを、図 9 に示す方法に従って調製した。

#### 【 0 5 8 4 】

スキーム 1 及びスキーム 2 に示す方法に従って、2-フルオロ-6-アミノプリンヌクレオチドを使用して、アミダイト及び CPG を調製した。

20

スキーム 1

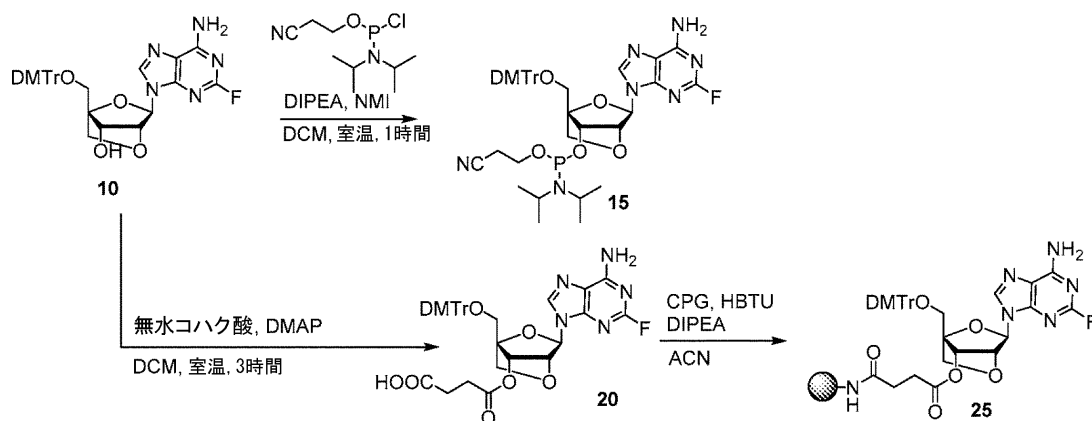


30

40

50

スキーム2



10

20

30

40

50

## 【0585】

## 材料及び方法

概括的条件：TLCを、F254でコーティングされたMerckシリカゲル60プレート上で実施した。化合物をUV光（254nm）下で、又はp-アニスアルデヒド染色溶液で噴霧した後、加熱して可視化した。フラッシュカラムクロマトグラフィーを、予め充填されたRediSep Teledyne ISCOシリカゲルカートリッジを含むTeledyne ISCO Combi Flashシステムを使用して実施した。全ての感湿性反応を、乾燥ガラス製品、無水溶媒、及びアルゴン雰囲気を使用して無水条件下で行った。全ての市販の試薬及び溶媒は、別段の記載がない限り、Sigma-Aldrichから購入し、受け取ったまま使用した。ESI-MSスペクトルを、Premier instrumentのWaters Q1T上で直接流注入モードを使用して記録した。<sup>1</sup>H NMRスペクトルを500及び600MHzで記録した。<sup>13</sup>C NMRスペクトルを、126及び151MHzで記録した。<sup>31</sup>P NMRスペクトルを、202及び243MHzで記録した。<sup>19</sup>F NMRスペクトルを、565MHzで記録した。化学シフトは、溶媒残留ピークを基準としてppmで与えられる（DMSO-d<sub>6</sub> - <sup>1</sup>H：2.50ppmのδ、及び<sup>13</sup>C 39.5ppmのδ；CDCl<sub>3</sub> - <sup>1</sup>H：7.26ppmのδ、及び<sup>13</sup>C 77.16ppmのδ）。結合定数は、ヘルツで与えられる。信号分割パターンは、シングレット（s）、ダブレット（d）、トリプレット（t）、セプテット（sept）、ブロード信号（brs）、又は多重項（m）として説明される。

## 【0586】

オリゴマー合成：オリゴヌクレオチドを、機器に提供されたものに基づいて、修飾合成サイクルを使用してABI-394 DNA/RNA合成装置上で合成した。アセトニトリル中の0.25Mの5-（S-エチルチオ）-1H-テトラゾールの溶液を、活性化因子として使用した。ホスホラミダイト溶液は、無水アセトニトリル中0.15Mであった。酸化試薬は、THF/ピリジン/H<sub>2</sub>O中で0.02MのI<sub>2</sub>であった。N,N-ジメチル-N'-（3-チオキソ-3H-1,2,4-ジチアゾール-5-イル）メタンイミド（DDTT）、ピリジン中0.1Mを硫化試薬として使用した。脱トリチル化試薬は、DCM中の3%ジクロロ酢酸（DCA）であった。自動合成の完了後、固体支持体をアセトニトリル中の0.1Mピペリジンで10分間洗浄し、次いで無水アセトニトリルで洗浄し、アルゴンで乾燥させた。次いで、オリゴヌクレオチドを支持体から手動で放出し、30%NH<sub>4</sub>OHの混合物を使用して60℃で5時間脱保護した。溶媒を濾過により収集し、支持体を脱イオン水（6mL）ですすいだ。2'-OTBS保護基を含むオリゴヌクレオチドについて、支持体から放出し、NH<sub>4</sub>OH/エタノール（3：1、v/v）又は40%メチルアミン（0.5mL/μmolの固体支持体）を使用して、それぞれ55℃で6時間、又は60℃で15分間脱保護した。全てのオリゴヌクレオチドについて、

図 10 に示す方法に従って、溶媒を濾過により収集し、支持体を DMSO ( $1.5 \text{ mL} / \mu\text{mol}$  の固体支持体) ですすいだ。粗オリゴヌクレオチドを、TSK Gel Super Q-5PW を充填したアニオン交換ガラスカラム ( $10 \times \text{mm}$ ) により、緩衝液 A として  $20 \text{ mM}$  リン酸ナトリウム、 $15\%$  ACN、緩衝液 B として  $20 \text{ mM}$  リン酸ナトリウム、 $15\%$  ACN、 $1 \text{ M}$  NaBr を使用して精製した。精製勾配は、 $60^\circ\text{C}$  で  $240$  分間で  $20\% \sim 60\%$  B から開始した。全ての一本鎖を、 $>90\%$  の IEX HPLC 及び  $>98\%$  の C18 HPLC ( $260 \text{ nm}$ ) 純度まで精製し、次いで、Sephadex G25 (GE Healthcare) を充填したカスタムパックを使用したサイズ排除クロマトグラフィーによって脱塩し、滅菌ヌクレアーゼを含まない水で溶出した。一部の実施例を図 11 及び図 12 に示す。

10

#### 【0587】

オリゴヌクレオチド濃度は、 $260 \text{ nm}$  での吸光度及び以下の吸光係数に基づいて計算された： $A / 2$ 、 $6$ -ジアミノ A、 $13.86 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ；T/U、 $7.92 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ；C、 $6.57 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ；及び G、 $10.53 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 。オリゴヌクレオチドの純度及び同一性を、それぞれ、分析的アニオン交換クロマトグラフィー及び質量分析によって検証した。

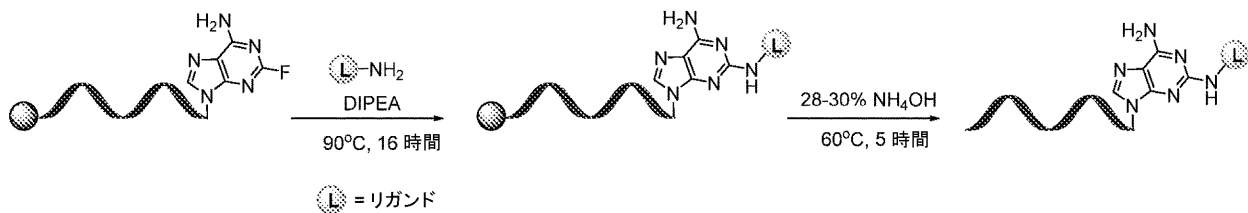
#### 【0588】

合成後オリゴヌクレオチドコンジュゲーション  
固形支持体上

バイアル中で、 $3 \text{ mg}$  の CPG、 $100 \mu\text{L}$  の  $0.2 \text{ M}$  アミンエタノール溶液、及び  $10 \mu\text{L}$  の DIPEA を混合し、振盪し、 $90^\circ\text{C}$  で  $16$  時間加熱した。次いで、図 13 及びスキーム 3 に示す方法に従って、 $28 \sim 30\%$   $\text{NH}_4\text{OH}$  の混合物を使用して、 $60^\circ\text{C}$  で  $5$  時間、オリゴヌクレオチドコンジュゲートを脱保護し、固体支持体から切断した。例示的な実施例を図 14 及び図 15 に示す。

20

スキーム 3



30

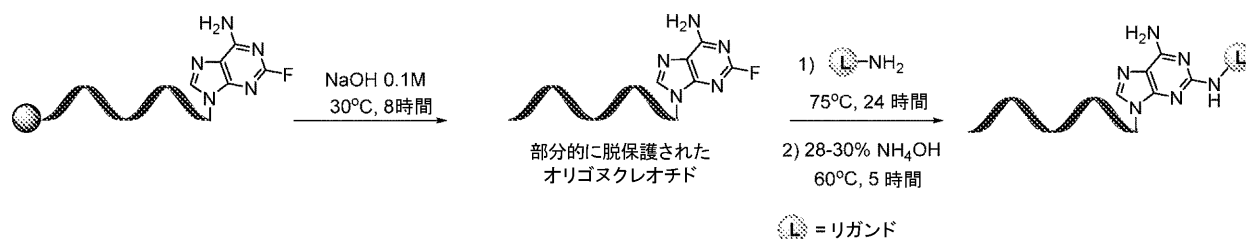
#### 【0589】

溶液相の合成後オリゴヌクレオチドコンジュゲーション：

報告されている方法：バイアル中で、 $3 \text{ mg}$  の CPG を、 $0.1 \text{ M}$  NaOH の  $1 \text{ mL}$  の混合物で、室温で  $8$  時間処理した。次いで、部分的に脱保護されたオリゴヌクレオチドを固体支持体から濾過し、サイズ排除クロマトグラフィーによって精製し、凍結乾燥した。5つのODオリゴヌクレオチド、 $34 \text{ L}$  の  $8.25 \mu\text{mol}$  のアミノリガンドを、Decorte et al. [46] により報告され、スキーム 4 に示される方法に従って、 $34 \mu\text{L}$  の乾燥 DMSO 中で可溶化させ、 $75^\circ\text{C}$  で  $24$  時間加熱した。例示的な実施例を図 15 に示す。例示的な実施例を図 16 に示す。

40

スキーム 4

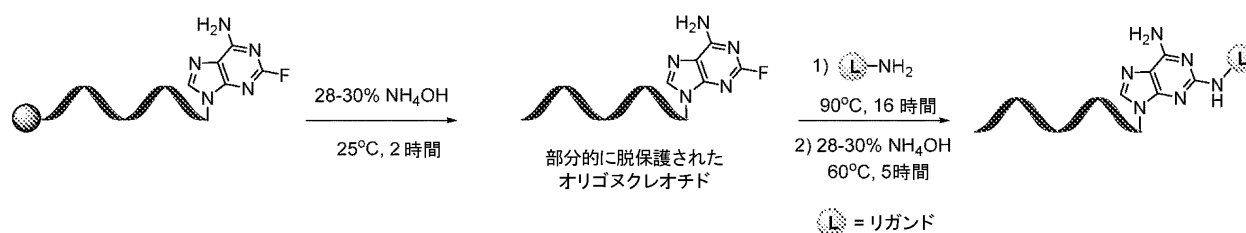


10

## 【0590】

現行方法：バイアル中で、26 mg の CPG を、28～30%  $\text{NH}_4\text{OH}$  の 500  $\mu\text{L}$  の混合物で、室温で 2 時間処理した。次いで、部分的に脱保護されたオリゴヌクレオチドを固体支持体から濾過し、サイズ排除クロマトグラフィーによって精製し、凍結乾燥した。5 つの OD オリゴヌクレオチド、100  $\mu\text{L}$  の 0.2 M アミンエタノール溶液、及び 10  $\mu\text{L}$  の DIPEA を、スキーム 5 に示す方法に従って、100  $\mu\text{L}$  の乾燥 DMSO 中で可溶化し、90°C で 16 時間加熱した。例示的な実施例を図 16 に示す。

スキーム 5



20

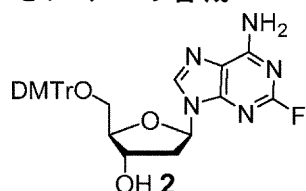
## 【0591】

Tm 測定：UV 融解曲線を、Cary 3500 UV 可視分光光度計マルチセルペルチェを使用して記録した。オリゴヌクレオチドの濃度は 1  $\mu\text{M}$  であり、試料は PBS 緩衝液（137 mM 塩化ナトリウム、2.7 mM 塩化カリウム、8 mM 二塩基性リン酸ナトリウム、及び 2 mM 一塩基性リン酸カリウム、pH 7.4）中で調製した。試料を、85°C に加熱することによってアニールし、次いで 10°C に緩徐に冷却した。次いで、試料を 1°C/分の勾配で 95°C に加熱し、260 nm での UV 吸光度の変化を記録した。融解温度は、融解曲線の一次導関数から計算された。

30

## 【0592】

## モノマーの合成



40

2 の合成：ピリジン（300 mL）中の（2R, 5R）-5-（2,6-diaminopurin-9-yl）-2-（hydroxymethyl）tetrahydrofuran-3-オール（39.5 g、148.35 mmol）の攪拌溶液に、フッ化水素-ピリジン（70% HF）（310.87 g、2.20 mol、272.69 mL、70% 純度）、及び tert-ブチルニトリド（34.00 g、296.71 mmol、39.21 mL、90% 純度）を 20°C で加えた。反応混合物を 40 時間攪拌した。反応混合物の pH を、 $\text{NaHCO}_3$  溶液を加えることによって 7～8 に調整した。反応混合物を酢酸エチル（5 × 1 L）で抽出した。溶媒を蒸発させた後、粗生成物を黄色の固体として

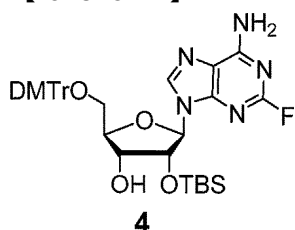
50

得、メタノール（５００ｍＬ）から６０℃での再結晶化により精製して、（２Ｒ，５Ｒ）－５－（６－アミノ－２－フルオロプリン－９－イル）－２－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロフラン－３－オール（２２．７ｇ、８４．３１ｍｍｏｌ、５６．８３％収率）を黄色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－*d*<sub>6</sub>） $\delta$  ppm：８．３１（*s*，１Ｈ），７．８２（*br s*，２Ｈ），６．２３（*t*，*J*＝６．８Ｈｚ，１Ｈ），５．２９（*d*，*J*＝４．０Ｈｚ，１Ｈ），４．９４（*t*，*J*＝５．６Ｈｚ，１Ｈ），４．３４－４．４３（*m*，１Ｈ），３．８１－３．８９（*m*，１Ｈ），３．４５－３．６５（*m*，２Ｈ），２．６０－２．７１（*m*，１Ｈ），２．２０－２．３０（*m*，１Ｈ）；<sup>19</sup>F NMR  $\delta$  ppm：－５２．０７ ppm。

#### 【０５９３】

ピリジン（１５０ｍＬ）中の（２Ｒ，５Ｒ）－５－（６－アミノ－２－フルオロプリン－９－イル）－２－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロフラン－３－オール（２２ｇ、８１．７１ｍｍｏｌ）の攪拌溶液に、４，４’－ジメトキシトリチルクロリド（２９．０７ｇ、８５．８０ｍｍｏｌ）を２０℃で加え、溶液を１９時間攪拌した。反応物をメタノール（２０ｍＬ）でクエンチした。溶媒を減圧下で蒸発させ、残留物を酢酸エチル（２００ｍＬ）に溶解し、飽和水性ＮａＨＣＯ<sub>3</sub>（２×１００ｍＬ）で洗浄し、Ｎａ<sub>2</sub>ＳＯ<sub>4</sub>で乾燥させ、濃縮した。粗生成物を、酢酸エチル中の０～５％メタノールで溶出するシリカゲルでのカラムクロマトグラフィーによって精製して、（２Ｒ，５Ｒ）－５－（６－アミノ－２－フルオロプリン－９－イル）－２－[[ビス（４－メトキシフェニル）－フェニルメトキシ]メチル]テトラヒドロフラン－３－オール（２２．５ｇ、３９．３６ｍｍｏｌ、４８．１７％収率）をわずかな黄色の固体（９５．９５％純度）として得た。<sup>1</sup>H NMR（４００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－*d*<sub>6</sub>） $\delta$  ppm：８．２２（*s*，１Ｈ），７．８２（*br s*，２Ｈ），７．３１（*d*，*J*＝７．２Ｈｚ，２Ｈ），７．１３－７．２５（*m*，７Ｈ），６．７９（*dd*，*J*＝１２．４，８．８Ｈｚ，４Ｈ），６．２６（*t*，*J*＝６．４Ｈｚ，１Ｈ），５．３６（*d*，*J*＝４．８Ｈｚ，１Ｈ），４．３６－４．５２（*m*，１Ｈ），３．９３－３．９８（*m*，１Ｈ），３．７１（*d*，*J*＝１．６Ｈｚ，６Ｈ），３．０６－３．２４（*m*，２Ｈ），２．７５－２．８５（*m*，１Ｈ），２．２５－２．３８（*m*，１Ｈ）；<sup>19</sup>F NMR（３７６ＭＨｚ） $\delta$  ppm：－５１．８９；<sup>13</sup>C NMR（１０１ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－*d*<sub>6</sub>） $\delta$  ppm：１５９．５１，１５８．９８，１５７．７３，１５７．５０，１５０．３９，１５０．１９，１４４．８９，１３９．８３，１３５．５６，１２９．６３，１２７．６８，１２６．５７，１１７．６９，１１３．０２，８５．８３，８５．３９，８３．３９，７０．４４，６３．９８，５４．９８； $C_{31}H_{30}FN_5O_5$  [M+H]<sup>+</sup>のHRMS計算値*m/z*＝５７２．２２、実測値５７２．２３。

#### 【０５９４】



４の合成：４，４’－ジメトキシトリチルクロリド（６５．３４ｇ、１９２．８３ｍｍｏｌ）を、ピリジン（５００ｍＬ）中の（２Ｒ，５Ｒ）－２－（６－アミノ－２－フルオロプリン－９－イル）－５－（ヒドロキシメチル）テトラヒドロフラン－３，４－ジオール（５０ｇ、１７５．３０ｍｍｏｌ）の溶液に加え、次いで反応物を１５℃で１５時間攪拌した。ＬＣＭＳ（生成物のＲＴは０．８４０分であった）は、反応が完了したことを示した。反応混合物にＨ<sub>2</sub>Ｏ（５００ｍＬ）を加え、ＥｔＯＡｃ（５００ｍＬ×３）で抽出し、合わせた有機層をブライン（５００ｍＬ）で洗浄し、次いで、Ｎａ<sub>2</sub>ＳＯ<sub>4</sub>で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、残留物を得た。残留物を分取ＨＰＬＣ（カラム：Ｐｈ

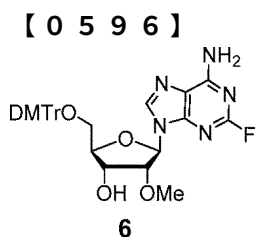
enomenex Titank C18 Bulk 250×100mm 10μ; 移動相: [水 (10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>) - ACN]; B%: 50%~70%、20分) によって精製して、5'-DMT-2-F-リボプリン (85.5g、145.5mmol、83.0%収率) を黄色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz δ 8.24 (s, 1H), 7.84-7.91 (m, 2H), 7.17-7.35 (m, 9H), 6.79-6.83 (m, 4H), 5.83 (d, J=4.4Hz, 1H), 5.57 (d, J=5.6Hz, 1H), 5.23 (d, J=6Hz, 1H), 4.60-4.64 (m, 1H), 4.25-4.30 (m, 1H), 3.99-4.06 (m, 2H), 3.72 (s, 6H), 3.16-3.24 (m, 2H) ppm.

10

[0595] AgNO<sub>3</sub> (33.8g、199.1mmol、1.21当量) を、THF (776mL) 中の5'-DMT-2-F-リボプリン (97.0g、165.0mmol、1.00当量) 及びpy (52.2g、660.9mmol、53.3mL、4.00当量) の溶液に添加し、次いで、反応物を15℃で20分間攪拌し、次いで、TBSCl (44.7g、297.1mmol、36.4mL、1.80当量) を、上記反応物に加え、次いで、反応物をN<sub>2</sub>下、15℃で16時間攪拌した。TLC (石油エーテル/EtOAc = 1/1、生成物のR<sub>f</sub> = 0.4) は、反応が完了したことを示した。また、LCMS (ET43590-14-P1A) は、反応が完了したことを示した。反応混合物を濾過し、次いで、反応物をEtOAc (200mL×3) 及びH<sub>2</sub>O (200mL) で抽出し、合わせた有機層をブライン (200mL) で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して残留物を得た。残留物を、カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>、DCM/アセトン=100/1~10/1) によって精製した。(2R, 5R)-5-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-2-[[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-4-[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ-テトラヒドロフラン-3-オール (25.2g、35.90mmol、20.48%収率) を黄色の固体として得て、これは3'-O-TBDMS異性体 (96%純度) であった。<sup>1</sup>H NMR DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz δ 8.23 (s, 1H), 7.85-7.92 (m, 2H), 7.18-7.39 (m, 9H), 6.82-6.85 (m, 4H), 5.84 (d, J=4.8Hz, 1H), 5.17 (d, J=6Hz, 1H), 4.71-4.73 (m, 1H), 4.18-4.22 (m, 1H), 4.06-4.10 (m, 1H), 3.72 (s, 6H), 3.23-3.30 (m, 2H), 0.76 (s, 9H), -0.067 (d, J=35.2Hz, 6H) ppm.

20

30



6の合成: 100mLのステンレス鋼パールポンベに、2'-O-メチルグアノシン (10.0g、33.6mmol、1.00当量)、HMDS (27.1g、168.2mmol、35.2mL、5.00当量)、及びトルエン (10mL) を加え、次いで、TMSOTf (972mg、4.37mmol、0.13当量) を上記の反応物に加えた。反応物を170℃で120時間攪拌した。室温に冷却した後、4つの反応物をMeOH (200mL) で溶解し、減圧下で濃縮して、精製せずに複数のTMS保護中間体の混合物 (50.0g) を得た。

40

[0597] 第1の工程からの中間体 (30.0g) を、MeOH (150mL) 及びH<sub>2</sub>O (48.7mL) で溶解し、75℃で12時間攪拌した。反応物を減圧下で濃縮し、残留物を分取HPLC (カラム: Phenomenex Titank C18 Bulk 250

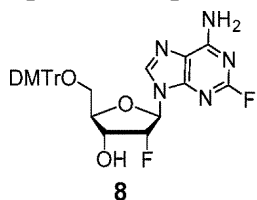
50

\* 100 mm 10 u ; 移動相 : [ 水 ( 10 mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> ) - ACN ] ; B % : 1 % ~ 15 % 、 20 分 ) によって精製して、 ( 2 R , 5 R ) - 5 - ( 2 , 6 - ジアミノプリン - 9 - イル ) - 2 - ( ヒドロキシメチル ) - 4 - メトキシ - テトラヒドロフラン - 3 - オール ( 10 . 8 g ) を白色の固体として得た。 <sup>1</sup> H NMR ( DMSO - d<sub>6</sub> , 400 MHz ) , δ ppm : 7 . 97 ( s , 1 H ) , 6 . 84 ( s , 2 H ) , 5 . 70 - 5 . 84 ( m , 3 H ) , 5 . 47 - 5 . 55 ( m , 1 H ) , 5 . 51 ( d , J = 4 . 0 Hz , 1 H ) , 4 . 20 - 4 . 35 ( m , 2 H ) , 4 . 05 - 4 . 18 ( m , 2 H ) , 3 . 94 ( s , 1 H ) , 3 . 53 - 3 . 70 ( m , 2 H ) , 3 . 29 ( s , 3 H ) ppm。

【 0598 】

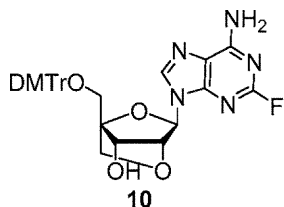
( 2 R , 5 R ) - 5 - ( 2 , 6 - ジアミノプリン - 9 - イル ) - 2 - ( ヒドロキシメチル ) - 4 - メトキシ - テトラヒドロフラン - 3 - オール ( 9 g 、 30 . 38 mmol ) を、ピリジン ( 60 mL ) 中のフッ化水素 - ピリジン ( 70 % HF ) ( 34 . 41 g 、 243 . 01 mmol 、 30 . 18 mL 、 70 % 純度 ) の溶液に - 20 ~ 0 °C で加え、次いで、tert - ブチルニトリト ( 10 . 96 g 、 106 . 32 mmol 、 12 . 65 mL ) を上記の反応物に - 10 °C ~ 0 °C で加えた。反応物を 15 °C で 16 時間攪拌した。反応物を冷却した飽和水性 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 ( 100 mL ) に加え、次いで、反応物を飽和水性 NaHCO<sub>3</sub> で pH 7 ~ 8 に調整し、EtOAc ( 100 mL × 15 ) で抽出した。合わせた有機層を Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮して、褐色の固体を得た。固体を EtOAc ( 18 mL ) で洗浄して、( 2 R , 5 R ) - 5 - ( 6 - アミノ - 2 - フルオロプリン - 9 - イル ) - 2 - ( ヒドロキシメチル ) - 4 - メトキシ - テトラヒドロフラン - 3 - オール ( 8 . 4 g 、 28 . 07 mmol 、 92 . 41 % 収率 ) ( 1 c ) を黄色の固体として得た。 <sup>1</sup> H NMR : ( DMSO - d<sub>6</sub> , 400 MHz ) δ ppm : 8 . 34 ( s , 2 H ) , 7 . 88 ( br , s , 2 H ) , 5 . 90 ( d , J = 5 . 6 Hz , 1 H ) , 4 . 25 - 4 . 37 ( m , 2 H ) , 3 . 94 - 3 . 97 ( m , 1 H ) , 3 . 62 - 3 . 69 ( m , 1 H ) , 3 . 50 - 3 . 57 ( m , 1 H ) , 3 . 32 ( s , 3 H ) ; <sup>19</sup> F NMR ( DMSO - d<sub>6</sub> , 376 MHz ) δ ppm : - 51 . 85。

【 0599 】



1 d の合成 : Manoharan , Muthiah ; Rajeev , Kallanthottathil G . PCT 国際出願 ( 2009 ) 、 WO2009 / 091982 ( A1 ) 20090723 に記載されている手順に従って調製した。

【 0600 】



10 の合成 : N' - [ 9 - [ ( 4 R , 6 R ) - 4 - [ [ ビス ( 4 - メトキシフェニル ) - フェニル - メトキシ ] メチル ] - 7 - ヒドロキシ - 2 , 5 - ジオキサビシクロ [ 2 . 2 . 1 ] ヘプタン - 6 - イル ] - 6 - オキソ - 1 H - プリン - 2 - イル ] - N , N - ジメチルホルムアミジン ( 40 g 、 61 . 28 mmol ) を、水性 NaOH ( 4 . 00 M 、 400 mL ) 及びメタノール ( 400 mL ) に 20 °C で溶解し、60 °C で 2 時間攪拌した。反応物を濃縮して、45 °C で MeOH を除去し、次いで、1 N HCl で pH 約 7 に中和

し、白色の固体を沈殿させ、濾過によって収集し、水で洗浄し、ACN (500 mL × 3) と共沸させて、45℃で水を除去し、2-アミノ-9-[(4R, 6R)-4-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-7-ヒドロキシ-2,5-ジオキサビシクロ[2.2.1]ヘプタン-6-イル]-1H-プリン-6-オン (32 g、53.55 mmol、87.37% 収率) を白色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ ppm: 7.67 (s, 1H), 7.57-6.76 (m, 15H), 5.76 (s, 2H), 4.33 (d, J=21.2 Hz, 2H), 4.05-3.61 (m, 8H), 3.55-3.20 (m, 2H) ppm。

#### 【0601】

2-アミノ-9-[(4R, 6R)-4-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-7-ヒドロキシ-2,5-ジオキサビシクロ[2.2.1]ヘプタン-6-イル]-1H-プリン-6-オン (26.7 g、44.68 mmol) を、乾燥Py (300 mL × 3) (KOHで乾燥) に溶解し、50℃で濃縮して、次いで、乾燥Py (160 mL) に溶解し、0℃に冷却して、トリフルオロ酢酸無水物 (65.69 g、312.74 mmol、44.08 mL) を0~10℃でゆっくりと加えた。反応物をN<sub>2</sub>下、0~10℃で45分間攪拌した。TLC (DCM/MeOH=10/1、ELN0132-364のR<sub>f</sub>=0.05、中間体のR<sub>f</sub>=0.30) は、ELN0132-364が完全に消費されたことを示した。淡い褐色の溶液を6つの部分に均等に分割し、次の工程に直接使用した。

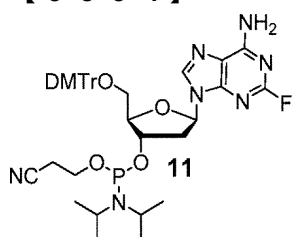
#### 【0602】

液体NH<sub>3</sub> (25 mL) を-60℃で部分のうちの1つにゆっくりと加え、密閉し、10~17℃まで16時間加温した。TLC (DCM/MeOH=5/1、R<sub>f</sub>=0.40) は、反応物が完全に消費されたことを示した。反応物を合わせて、DCM (300 mL) で希釈し、飽和水性NaHCO<sub>3</sub> (700 mL) でpH約8に調整し、DCM (500 mL × 7) で抽出し、合わせた有機層を濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>)、DCM/MeOH (0.5% TEA) = 0/1~5/1) によって精製して、(4R, 6R)-4-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-6-(2,6-ジアミノプリン-9-イル)-2,5-ジオキサビシクロ[2.2.1]ヘプタン-7-オール (25 g、41.90 mmol、93.79% 収率) (THFを含む) を褐色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ ppm: 7.81 (s, 1H), 7.42 (d, J=7.6 Hz, 2H), 7.36-7.21 (m, 7H), 7.10 (s, 2H), 6.90 (d, J=8.4 Hz, 4H), 6.19 (s, 2H), 5.80 (s, 1H), 5.74 (d, J=4.4 Hz, 1H), 4.38 (s, 1H), 4.33 (d, J=4.4 Hz, 1H), 3.98-3.85 (m, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.49 (d, J=10.8 Hz, 1H), 3.31 (d, J=10.8 Hz, 1H) ppm。

#### 【0603】

参考文献: Bioorganic & Medicinal Chemistry 2004, 12, 2385-2396; Tetrahedron Letters, 1994, 35, 2489-2492。

#### 【0604】

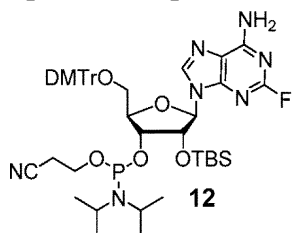


3-[[[(2R, 5R)-5-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-2-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]テトラヒドロフラ

ン-3-イル] オキシ- (ジイソプロピルアミノ) ホスファニル] オキシプロパンニトリル化合物 11:

DCM (20 mL) 中の 2 (2.00 g、3.43 mmol) の透明な溶液に、22°C で N-メチルイミダゾール (563.04 mg、6.86 mmol、546.64  $\mu$ L)、及びジイソプロピルエチルアミン (2.22 g、17.14 mmol、2.99 mL) を加えた。反応混合物を室温で5分間攪拌し、2-シアノエチル-N, N-ジイソプロピルクロロホスホルアミダイト (1.62 g、6.86 mmol、1.53 mL) をそれにゆっくりと加えた。反応物を22°Cで攪拌し続け、1時間後にTLCを確認した。反応混合物をDCM (20 mL) で希釈し、10% NaHCO<sub>3</sub> 溶液 (20×2 mL) で洗浄した。有機層を分離し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー (勾配: ヘキサン中40~80% EtOAc) によって精製して、11 (1.87 g、71% 収率) を白色の発泡体として得た。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  8.00 (d, J=1.3 Hz, 1H), 7.36 (ddt, J=7.3, 6.1, 1.5 Hz, 3H), 7.23-7.14 (m, 6H), 6.83-6.72 (m, 6H), 6.43 (s, 3H), 6.27 (dt, J=6.9, 5.7 Hz, 2H), 4.91-4.70 (m, 1H), 4.17 (dq, J=15.4, 4.5 Hz, 2H), 3.85-3.69 (m, 11H), 3.68-3.52 (m, 3H), 3.36-3.23 (m, 3H), 3.00-2.90 (m, 1H), 2.67-2.49 (m, 5H), 1.20-1.13 (m, 15H), 1.07 (d, J=6.9 Hz, 5H) ppm. <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  160.93, 159.62, 159.58, 158.89, 158.68, 158.47, 151.95, 151.92, 151.75, 151.72, 146.06, 146.04, 141.17, 141.14, 141.12, 136.85, 136.80, 136.78, 136.74, 131.00, 130.98, 130.92, 130.90, 128.97, 128.91, 128.72, 127.76, 127.73, 119.56, 119.38, 119.31, 119.30, 119.27, 119.26, 113.94, 113.91, 87.00, 86.42, 86.38, 86.20, 86.14, 85.27, 85.19, 74.27, 74.10, 73.77, 73.61, 64.49, 64.35, 60.95, 59.65, 59.55, 59.46, 59.35, 55.85, 55.84, 44.09, 44.07, 43.97, 43.94, 39.12, 39.09, 38.94, 38.90, 24.95, 24.93, 24.91, 24.89, 24.88, 24.86, 24.84, 24.82, 21.15, 21.09, 21.02, 21.00, 20.93 ppm. <sup>31</sup>P NMR (202 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  146.60, 146.55, 146.42, 146.40 ppm. <sup>19</sup>F NMR (565 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  -52.23, -52.39 ppm. C<sub>40</sub>H<sub>48</sub>FN<sub>7</sub>O<sub>6</sub>P [M+H]<sup>+</sup> の HRMS 計算値 772.3388、実測値 772.3391。

【0605】

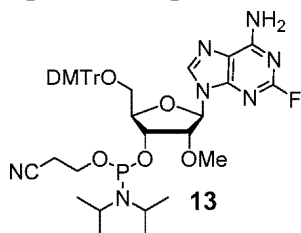


3- [[ (2R, 5R) -5- (6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル) -2- [[ビス (4-メトキシフェニル) -フェニル-メトキシ] メチル] -4- [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ-テトラヒドロフラン-3-イル] オキシ- (ジイソプロピルアミノ) ホスファニル] オキシプロパンニトリル化合物 12:

DCM (20 mL) 中の 4 の透明な溶液に、22°C で N-メチルイミダゾール (343

. 21 mg、4.18 mmol、333.21  $\mu$ L)、及びジイソプロピルエチルアミン  
 (1.80 g、13.93 mmol、2.43 mL)を加え、反応混合物を室温で5分間  
 攪拌し、2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルクロロホスホラミダイト(1.32  
 g、5.57 mmol、1.24 mL)をそれにゆっくりと加えた。反応物を22℃で攪  
 拌し続け、0.5時間後にTLCを確認した。反応混合物をDCM(20 mL)で希釈し  
 、10% NaHCO<sub>3</sub>溶液(20×2 mL)で洗浄した。有機層を分離し、無水Na<sub>2</sub>S  
 O<sub>4</sub>で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。得られた粗塊をフラッシュカラム  
 クロマトグラフィー(勾配：ヘキサン中20~50% EtOAc)によって精製して、1  
 2(2.25 g、89%収率)を黄色がかった白色の発泡体として得た。<sup>1</sup>H NMR(  
 600 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  8.01 (dd, J=11.3, 2.0 Hz, 1H)  
 , 7.48-7.42 (m, 2H), 7.40-7.10 (m, 8H), 6.83 (dd  
 d, J=9.0, 6.8, 2.2 Hz, 4H), 6.44 (s, 2H), 5.85 (dt  
 , J=5.7, 2.8 Hz, 1H), 4.93 (dt, J=10.6, 5.1 Hz, 1H  
 ), 4.48-4.34 (m, 2H), 4.29 (q, J=3.8 Hz, 1H), 3.9  
 2-3.80 (m, 1H), 3.77-3.73 (m, 6H), 3.71-3.56 (m  
 , 3H), 3.49-3.40 (m, 1H), 3.33 (dt, J=14.8, 7.4 H  
 z, 1H), 2.66 (q, J=6.2 Hz, 1H), 2.42 (td, J=6.1, 2  
 .2 Hz, 1H), 1.29-1.10 (m, 13H), 1.05 (dd, J=6.9,  
 2.3 Hz, 3H), 0.77 (d, J=2.4 Hz, 9H), -0.01 (dd, J=  
 8.1, 2.2 Hz, 3H), -0.15 (dd, J=11.0, 2.2 Hz, 3H) p  
 pm.<sup>13</sup>C NMR(151 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  160.66, 160.61  
 , 159.63, 159.60, 159.30, 159.24, 158.67, 158.  
 53, 152.20, 152.14, 152.06, 152.01, 146.04, 14  
 5.97, 141.16, 141.14, 140.89, 140.87, 136.75,  
 136.64, 136.55, 136.53, 131.09, 131.05, 131.0  
 2, 131.00, 128.97, 128.90, 128.80, 127.82, 119  
 .48, 119.27, 113.99, 113.97, 89.35, 89.25, 87.  
 25, 87.21, 84.65, 84.37, 84.34, 75.55, 75.54, 7  
 5.46, 75.43, 73.95, 73.88, 73.52, 73.43, 64.32  
 , 64.29, 60.94, 59.82, 59.71, 58.96, 58.82, 55.  
 84, 55.83, 44.12, 44.03, 43.75, 43.67, 25.99, 2  
 5.97, 25.17, 25.12, 25.01, 24.97, 24.93, 24.89  
 , 24.88, 24.85, 21.14, 21.11, 21.07, 20.90, 20.  
 85, 18.54, -4.37, -4.38, -4.41, -4.92 ppm.<sup>19</sup>F  
 NMR(565 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  -52.61, -52.71 ppm. C<sub>46</sub>  
 H<sub>62</sub>FN<sub>7</sub>O<sub>7</sub>PSi [M+H]<sup>+</sup>のHRMS計算値902.4202、実測値902  
 .4198。

【0606】

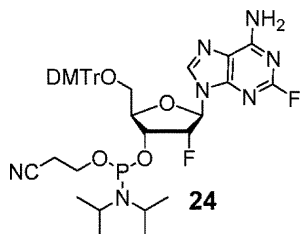


3-[[5-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-2-[[ビス(4-  
 メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-4-メトキシ-テトラヒドロフラ  
 ン-3-イル]オキシ-(ジイソプロピルアミノ)ホスファニル]オキシプロパンニトリ  
 ル化合物13：

DCM(12 mL)中の6(2.00 g、3.32 mmol)の透明な溶液に、22℃

でN-メチルイミダゾール (551.37 mg、6.65 mmol、535.31  $\mu$ L)、及びジイソプロピルエチルアミン (2.16 g、16.62 mmol、2.91 mL)を加えた。反応混合物を室温で5分間攪拌し、2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルクロロホスホルアミダイト (1.18 g、4.99 mmol、1.11 mL)をそれにゆっくりと加えた。反応物を22°Cで攪拌し続け、1時間後にTLCを確認した。反応混合物をDCM (20 mL)で希釈し、10% NaHCO<sub>3</sub>溶液 (20×2 mL)で洗浄した。有機層を分離し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー (勾配：ヘキサン中40~80% EtOAc)によって精製して、13 (2.36 g、85%収率)を白色の発泡体として得た。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  8.01 (d, 1H), 7.43-7.37 (m, 2H), 7.32-7.18 (m, 7H), 6.81 (dt, J=13.4, 8.4 Hz, 4H), 6.37 (s, 2H), 5.95 (t, J=4.5 Hz, 1H), 4.72-4.64 (m, 1H), 4.53 (q, J=5.1 Hz, 1H), 4.30-4.21 (m, 1H), 3.93-3.79 (m, 1H), 3.79-3.69 (m, 7H), 3.70-3.55 (m, 2H), 3.43 (d, 3H), 3.40-3.26 (m, 2H'), 2.67 (dt, 1H), 2.49 (t, J=6.0 Hz, 1H), 1.17 (t, 9H), 1.06 (d, J=6.8 Hz, 3H) <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CD<sub>3</sub>CN) 160.21, 159.24, 158.85, 158.28, 158.15, 151.59, 151.46, 145.57, 140.85, 140.62, 136.39, 136.31, 136.27, 130.67, 130.63, 130.61, 130.58, 128.63, 128.56, 128.37, 128.35, 127.43, 127.39, 119.18, 118.93, 113.57, 113.55, 87.66, 87.36, 86.75, 86.73, 83.84, 83.82, 83.71, 83.67, 82.41, 82.39, 82.16, 82.13, 71.60, 71.51, 71.48, 71.37, 63.67, 63.32, 59.49, 59.37, 59.00, 58.87, 58.70, 58.68, 58.42, 58.41, 55.46, 55.44, 43.64, 24.47, 20.56. <sup>19</sup>F NMR (565 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  -52.56. <sup>31</sup>P NMR (243 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  149.99, 149.71. C<sub>41</sub>H<sub>50</sub>FN<sub>7</sub>O<sub>7</sub>P [M+H]<sup>+</sup>のHRMS計算値802.3493、実測値802.3503。

[0607]

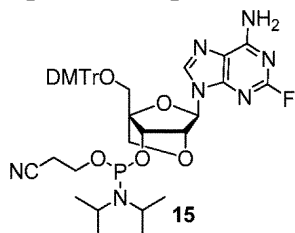


3-[[[(2R, 5R)-5-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-2-[[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-4-フルオロテトラヒドロフラン-3-イル]オキシ-(ジイソプロピルアミノ)ホスファニル]オキシ]プロパンニトリル化合物24:

市販のアミダイトは、<sup>31</sup>P NMRにおいて不純物がほとんど示されなかった。アミダイトの質を改善するために、24 (1.1 g、1.39 mmol)をtert-ブチルメチルエーテル(MTBE) (30 mL)に溶解させ、水 (2×30 mL)中の50% DMFで洗浄し、有機層を分離した。次いで、MTBE層をブライン (3×20 mL)で洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濾過し、濾液からの溶媒を高真空ポンプ下で完全に蒸発させて、黄色がかった白色の発泡体 (1.0 g)を得た。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>CN)  $\delta$  8.08 (d, J=2.6 Hz, 1H), 7.41-7.34 (m, 2H), 7.28-7.17 (m, 7H), 6.84-6.75 (m, 4H), 6.

6.7–6.52 (m, 0H), 6.27–6.17 (m, 1H), 5.87–5.59 (m, 1H), 5.27–5.00 (m, 1H), 4.27 (dddd,  $J=8.3, 4.3, 2.0$  Hz, 1H), 3.98–3.78 (m, 1H), 3.77–3.72 (m, 6H), 3.69–3.55 (m, 2H), 3.54–3.44 (m, 1H), 3.27 (dddd,  $J=11.1, 9.3, 4.5$  Hz, 1H), 2.73–2.65 (m, 1H), 2.52 (t,  $J=6.0$  Hz, 1H), 1.23–1.14 (m, 11H), 1.06 (d,  $J=6.8$  Hz, 3H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  160.62, 160.58, 159.53, 159.50, 159.49, 159.25, 159.21, 158.70, 158.68, 158.56, 158.55, 151.42, 151.30, 151.28, 145.86, 145.80, 141.52, 141.50, 136.69, 136.64, 136.54, 136.49, 130.93, 130.91, 130.88, 130.85, 129.85, 129.15, 128.91, 128.83, 128.70, 128.69, 127.75, 127.71, 119.50, 119.26, 119.11, 119.08, 119.06, 113.87, 113.84, 94.44, 93.84, 93.82, 93.21, 92.59, 92.58, 88.78, 88.74, 88.54, 88.51, 86.89, 86.83, 82.26, 82.23, 82.18, 82.13, 71.16, 70.47, 62.88, 62.35, 59.94, 59.80, 59.67, 59.53, 55.80, 55.77, 55.29, 49.45, 44.07, 43.99, 27.19, 24.98, 24.95, 24.92, 24.90, 24.88, 24.83, 24.81, 24.76, 20.98, 20.93, 20.88, 20.84 ppm.  $^{31}\text{P}$  NMR (202 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  148.66, 148.63, 148.60 ppm.  $^{19}\text{F}$  NMR (565 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  -52.22 (d,  $J=91.2$  Hz), -196.69–-208.14 (m) ppm.  $\text{C}_{40}\text{H}_{47}\text{F}_2\text{N}_7\text{O}_6\text{P}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  の HRMS 計算値 790.3294、実測値 790.3307。

[0608]



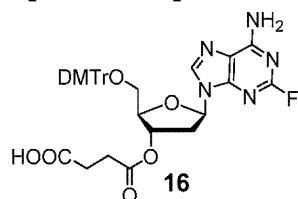
3-[[6-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-4-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-2,5-ジオキサビシクロ[2.2.1]ヘプタン-7-イル]オキシ-(ジイソプロピルアミノ)ホスファニル]オキシプロパンニトリル化合物15:

DCM (12 mL) 中の10 (2.00 g、3.34 mmol) の透明な溶液に、22℃でN-メチルイミダゾール (553.22 mg、6.67 mmol、537.11  $\mu\text{L}$ )、及びジイソプロピルエチルアミン (2.17 g、16.68 mmol、2.92 mL) を加えた。反応混合物を室温で5分間攪拌し、2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルクロロホスホルアミダイト (1.18 g、4.99 mmol、1.11 mL) をそれにゆっくりと加えた。反応物を22℃で攪拌し続け、1時間後にTLCを確認した。反応混合物をDCM (20 mL) で希釈し、10%  $\text{NaHCO}_3$  溶液 (20×2 mL) で洗浄した。有機層を分離し、無水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー (勾配: ヘキサン中40~80% EtOAc) によって精製して、15 (2.36 g、85% 収率) を白色の発泡体として得た。  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8.22–7.97 (m, 1H), 7.99–7.67 (m, 2H), 7.34 (t,  $J=8.6$  Hz, 2H), 7.28–7.05 (m, 7H), 6.82 (td,  $J=9.4, 5.3$  Hz, 4H),

5.94 (d, 1H), 4.70–4.60 (m, 1H), 4.60–4.51 (m, 1H), 4.00–3.86 (m, 1H), 3.86–3.71 (m, 1H), 3.67 (d, 6H), 3.64–3.57 (m, 1H), 3.50–3.22 (m, 6H), 2.60 (q, 1H), 2.49 (t, 1H), 0.99 (t, 6H), 0.86 (d, J=6.7 Hz, 4H), 0.78 (d, J=6.7 Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  158.65, 158.34, 158.22, 158.07, 150.20, 145.07, 138.73, 138.41, 135.75, 135.67, 135.50 (d, J=9.0 Hz), 130.25, 130.18, 130.12, 128.34, 128.12, 128.04, 127.28, 119.20, 119.03, 118.13, 113.70, 113.68, 87.45, 86.29, 86.05, 86.03, 78.25, 72.67, 72.53, 59.78, 59.35, 59.07, 58.95, 58.82, 58.70, 55.52, 55.49, 43.16, 43.08, 24.70, 24.65, 24.60, 24.52, 24.47, 24.37, 24.32, 20.17, 20.15, 20.13.  $^{19}\text{F}$  NMR (565 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -51.69.  $^{31}\text{P}$  NMR (243 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  148.15, 148.00.  $\text{C}_{41}\text{H}_{48}\text{FN}_7\text{O}_7\text{P}$  [M+H] $^+$ のHRMS計算値800.3337、実測値800.3331.

10

20



4-[(2R, 5R)-5-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-2-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]テトラヒドロフラン-3-イル]オキシ-4-オキソブタン酸化合物16:

DCM (7 mL) 及びピリジン (3.5 mL) 中の2 (0.24 g、419.88  $\mu\text{mol}$ ) の透明な溶液に、4-(ジメチルアミノ)ピリジン (153.89 mg、1.26 mmol)、及び無水コハク酸 (126.05 mg、1.26 mmol) を経時的に加えた。得られた混合物を、22℃で2時間攪拌した。反応混合物をDCM (15 mL) で希釈し、有機層を10%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液 (2×20 mL) で洗浄した。有機層を分離し、無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。このように得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー (勾配: DCM中0~5% MeOH) によって精製して、16 (0.201 g、71%収率) を黄色がかった白色の固体として得た。

30

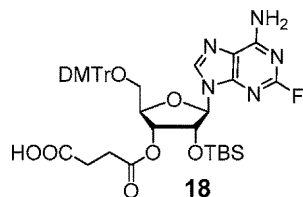
$^1\text{H}$  NMR (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  12.26 (s, 1H), 8.25 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.96–7.69 (m, 2H), 7.35–7.31 (m, 2H), 7.25–7.14 (m, 7H), 6.80 (ddd, J=16.7, 9.0, 2.2 Hz, 4H), 6.32–6.24 (m, 1H), 5.35 (dt, J=6.5, 2.7 Hz, 1H), 4.16 (dq, J=6.1, 2.8 Hz, 1H), 3.72 (d, J=2.3 Hz, 6H), 3.19 (dt, J=9.9, 3.3 Hz, 1H), 3.13–3.05 (m, 1H), 2.59–2.49 (m, 6H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  173.39, 171.75, 159.14, 158.05, 158.02, 157.99, 157.97, 157.79, 157.72, 157.58, 150.44, 150.35, 150.30, 144.88, 144.75, 139.90, 139.88, 135.58, 135.52, 135.43, 135.39, 129.66, 129.59, 127.70, 127.67, 127.65, 127.62, 126.63, 126.57, 117.73, 117.70, 113.07, 113.04, 113.01, 85.61, 83.69, 83.56, 74.67, 63.92, 54.98, 54.97, 54.91, 35.35, 28.81,

40

50

28.65 ppm.  $^{19}\text{F}$  NMR (565 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  -51.72 ppm.  $\text{C}_{35}\text{H}_{35}\text{FN}_5\text{O}_8$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  の HRMS 計算値 672.2470、実測値 672.2481。

【0610】



10

4-[(2R, 5R)-5-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-2-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-4-tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ-テトラヒドロフラン-3-イル]オキシ-4-オキソブタン酸化合物 18:

DCM (8 mL) 及びピリジン (2 mL) 中の 4 (0.7 g、997.35  $\mu\text{mol}$ ) の透明な溶液に、4-(ジメチルアミノ)ピリジン (365.54 mg、2.99 mmol)、及び無水コハク酸 (299.42 mg、2.99 mmol) を経時的に加えた。得られた混合物を、22°C で 2 時間攪拌した。反応混合物を DCM (15 mL) で希釈し、有機層を 10%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液 (2 × 20 mL) で洗浄した。有機層を分離し、無水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。このように得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー (勾配: DCM 中 0~5% メタノール) によって精製して、化合物 18 (0.74 g、93% 収率) を黄色がかった白色の固体として得た。

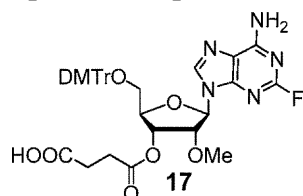
20

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  12.30 (s, 1H), 8.57 (dd,  $J=4.4, 1.7$  Hz, 1H), 8.29 (d,  $J=1.4$  Hz, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.41-7.34 (m, 3H), 7.29-7.19 (m, 7H), 6.87-6.81 (m, 4H), 5.84 (d,  $J=6.9$  Hz, 1H), 5.31-5.27 (m, 1H), 5.13 (t,  $J=6.2$  Hz, 1H), 4.21 (d,  $J=5.3$  Hz, 1H), 3.72 (d,  $J=1.7$  Hz, 7H), 3.39-3.34 (m, 2H), 3.30 (dd,  $J=10.6, 4.0$  Hz, 1H), 2.64 (dt,  $J=16.9, 6.7$  Hz, 1H), 2.60-2.50 (m, 3H), 0.66 (s, 9H), -0.10 (s, 3H), -0.30 (s, 3H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  173.24, 171.30, 159.35, 158.15, 157.99, 157.83, 157.69, 150.78, 150.65, 149.65, 144.80, 140.00, 136.18, 135.29, 129.79, 129.76, 128.96, 127.85, 127.69, 127.66, 127.46, 126.79, 123.98, 123.95, 117.69, 117.66, 113.20, 112.79, 87.04, 85.84, 81.59, 72.38, 63.39, 55.03, 28.72, 28.56, 25.21, 17.45, -5.37, -5.79 ppm.  $^{19}\text{F}$  NMR (565 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  -51.55 ppm.  $\text{C}_{41}\text{H}_{49}\text{FN}_5\text{O}_9\text{Si}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  の HRMS 計算値 802.3284、実測値 802.3292。

30

40

【0611】



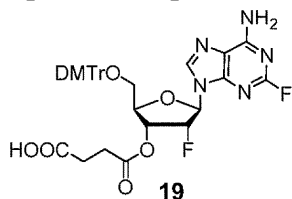
4-[5-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-2-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-4-メトキシ-テトラヒドロフラン

50

ー３－イル] オキシ－４－オキソブタン酸化合物 17：

ピリジン (15 mL) 中の 6 (3 g、4.99 mmol) の透明な溶液に、４－(ジメチルアミノ)ピリジン (1.23 g、9.97 mmol)、及び無水コハク酸 (1.01 g、9.97 mmol) を経時的に加えた。得られた混合物を 22℃ で 3 時間攪拌した。ピリミジンを含む真空下で蒸発させ、次いで、残留物を DCM (15 mL) で希釈し、有機層を 10% NH<sub>4</sub>Cl 溶液 (2×20 mL) で洗浄した。有機層を分離し、無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。このように得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー (勾配：DCM 中 0～20% MeOH) によって精製して、17 のピリジニウム塩 (2.75 g、78% 収率) を黄色がかった白色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ 8.60–8.52 (m, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.80–7.69 (m, 1H), 7.42–7.38 (m, 2H), 7.38–7.32 (m, 1H), 7.31–7.17 (m, 7H), 6.84–6.77 (m, 4H), 6.51 (s, 2H), 5.92 (d, J=5.9 Hz, 1H), 5.47 (t, J=4.5 Hz, 1H), 4.70 (t, J=5.6 Hz, 1H), 4.27–4.22 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.42–3.33 (m, 2H), 3.30 (s, 3H), 2.73–2.52 (m, 4H) <sup>13</sup>C NMR (151 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ 174.01, 172.19, 160.29, 159.28, 159.25, 158.93, 158.30, 158.16, 151.75, 151.62, 149.98, 145.47, 140.64, 140.63, 136.87, 136.28, 136.22, 130.61, 130.54, 128.56, 128.39, 127.45, 124.48, 118.68, 118.65, 113.61, 113.60, 87.08, 86.92, 82.70, 81.10, 71.71, 63.81, 58.87, 55.45, 29.33, 28.90. <sup>19</sup>F NMR (565 MHz, CD<sub>3</sub>CN) δ -52.46. C<sub>36</sub>H<sub>37</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>9</sub> [M+H]<sup>+</sup> の HRMS 計算値 702.2575、実測値 702.2563。

【0612】

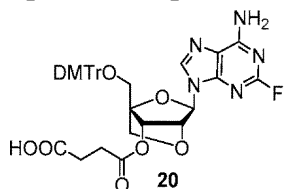


４－[５－(６－アミノ－２－フルオロプリン－９－イル)－２－[[ビス(４－メトキシフェニル)－フェニル－メトキシ]メチル]－４－フルオロテトラヒドロフラン－３－イル] オキシ－４－オキソブタン酸化合物 19：

DCM (15 mL) 中の 8 (0.608 g、1.03 mmol) の透明な溶液に、４－(ジメチルアミノ)ピリジン (381.58 mg、3.09 mmol)、及び無水コハク酸 (208.37 mg、2.06 mmol) を経時的に加えた。得られた混合物を、22℃ で 3 時間攪拌した。反応混合物を DCM (15 mL) で希釈し、有機層を 10% NH<sub>4</sub>Cl 溶液 (2×20 mL) で洗浄した。有機層を分離し、無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。このように得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー (勾配：DCM 中 0～20% MeOH) によって精製して、19 (0.546 g、77% 収率) を黄色がかった白色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.26 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.95 (s, 2H), 7.40–7.05 (m, 9H), 6.85–6.75 (m, 4H), 6.45–6.09 (m, 1H), 6.00–5.80 (m, 1H), 5.69 (ddd, J=16.9, 7.3, 5.0 Hz, 1H), 4.28 (dt, J=7.7, 4.0 Hz, 1H), 3.72 (s, 6H), 3.29 (d, J=4.1 Hz, 2H), 2.61 (dd, J=8.3, 6.0 Hz, 2H), 2.54–2.46 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 173.10, 171.22, 159.5

4, 158.03, 157.84, 157.63, 157.50, 150.13, 149.93, 144.60, 140.31, 135.30, 135.24, 129.61, 129.56, 127.71, 127.56, 126.63, 117.69, 117.65, 113.06 (d,  $J=2.0$  Hz), 91.47, 89.59, 86.51, 86.17, 85.61, 79.60, 70.07, 69.92, 62.04, 54.96, 54.88, 28.49, 28.36.  $^{19}\text{F}$  NMR (471 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  -51.43, -201.18 - -208.79 (m).  $\text{C}_{35}\text{H}_{34}\text{F}_2\text{N}_5\text{O}_8$  [M+H] $^+$ のHRMS計算値690.2375、実測値690.2372。

【0613】



10

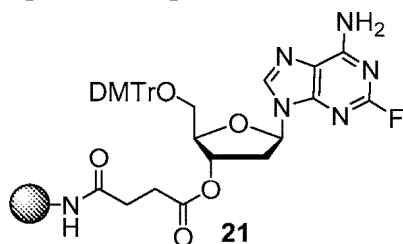
4-〔5-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-2-〔〔ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ〕メチル〕-4-メトキシ-テトラヒドロフラン-3-イル〕オキシ-4-オキソ-ブタン酸化合物20:

ピリジン(15 mL)中の10(3 g、4.99 mmol)の透明な溶液に、4-(ジメチルアミノ)ピリジン(1.23 g、9.97 mmol)、及び無水コハク酸(1.01 g、9.97 mmol)を経時的に加えた。得られた混合物を22℃で3時間攪拌した。ピリミジン(15 mL)を真空下で蒸発させ、次いで、残留物をDCM(15 mL)で希釈し、有機層を10%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ 溶液(2×20 mL)で洗浄した。有機層を分離し、無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。このように得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー(勾配: DCM中0~20% MeOH)によって精製して、20(3.3 g、95%収率)を黄色がかった白色の固体として得た。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  8.07 (s, 1H), 7.46 (d,  $J=7.8$  Hz, 2H), 7.38-7.25 (m, 6H), 6.90 (d,  $J=8.6$  Hz, 1H), 5.97 (s, 1H), 5.42 (s, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.07-3.92 (m, 2H), 3.78 (s, 6H), 3.50 (s, 2H), 2.64-2.48 (m, 4H).  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  174.03, 172.06, 160.39, 159.36, 159.03, 158.20, 158.07, 151.01, 150.88, 150.02, 145.38, 138.59, 138.57, 136.82, 136.04, 135.98, 130.60, 130.57, 128.53, 128.46, 127.53, 124.46, 113.73, 87.26, 86.86, 86.52, 78.40, 73.02, 72.80, 59.20, 55.49, 29.29, 28.71.  $^{19}\text{F}$  NMR (565 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  -52.58.  $\text{C}_{36}\text{H}_{35}\text{FN}_5\text{O}_9$  [M+H] $^+$ のHRMS計算値700.2419、実測値700.2421。

20

30

【0614】



40

CPG21:11(0.2 g、297.77  $\mu\text{mol}$ )及びN-エチル-N-イソプロピル-プロパン-2-アミン(153.93 mg、1.19 mmol、207.46  $\mu\text{L}$ )

50

）をr bフラスコに加えた。次いで、乾燥アセトニトリル（50 mL）を加えた。よく攪拌して溶解し、次いで、予め活性化した酸にHBTU（118.57 mg、312.65  $\mu\text{mol}$ ）、約5分間攪拌し、次いでCPGを加えた。キャップをし、機械的振盪機に一晩置いた。翌日、CPGを濾過し、ACN、次いでMeOH、次いでACN、次いでジエチルエーテルで洗浄した。約5分間乾燥させ、次いで、キャップをするためにr bフラスコに戻した。ピリジン中の30%無水酢酸（合計50 mL）及び1%TEAを加えた。キャップをし、機械的振盪機に戻して3時間放置した。3時間後、以下のようにCPGを取り出し洗浄した：10%  $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ 、次いでMeOH、次いで10%  $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ 、次いでMeOH、次いでACN、エーテル（洗浄用の各溶媒約250 mL）。r bフラスコに移し、CPGを高真空中で一晩乾燥させた。

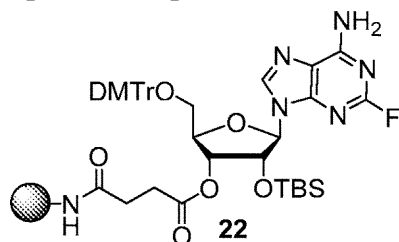
10

【0615】

負荷の確認：38 mgを秤量し、250 mLメスフラスコに負荷した。次いで、ACN中の0.1 Mトルエン-p-スルホン酸を、測定ラインまで加えた。超音波処理し、1時間静置した。分光光度計及びベールの法則により負荷を確認した。溶液をUVキュベットに入れ測定して、411 nmでのUV吸光度を測定した。ワークシートの生データを確認した。ベールの法則を使用して計算された負荷 =  $[250 (\text{mL}) \times (\text{吸光度 } A) \times 35.5 (\text{DMTrの吸光係数})] / \text{CPGの重量 (mg)}$ 。収率：1.75 g、負荷：96  $\mu\text{mol/g}$ 。

【0616】

20



CPG 22：4-[(2R, 5R)-5-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-2-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-4-tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシテトラヒドロフラン-3-イル]オキシ-4-オキソブタン酸(0.74 g、922.77  $\mu\text{mol}$ )、及びN-エチル-N-イソプロピル-プロパン-2-アミン(477.04 mg、3.69 mmol、642.91  $\mu\text{L}$ )をr bフラスコに加えた。次いで、乾燥アセトニトリル（50 mL）を加えた。よく攪拌して溶解し、次いで、予め活性化した酸にHBTU（367.45 mg、968.91  $\mu\text{mol}$ ）。約5分間攪拌し、次いでCPGを加えた。キャップをして、機械的振盪機上に一晩置いた。翌日、CPGを濾過し、ACN、次いでMeOH、次いでACN、次いでジエチルエーテルで洗浄した。約5分間乾燥させ、次いで、キャップをするためにr bフラスコに戻した。ピリジン中の30%無水酢酸（合計50 mL）及び1%TEAを加えた。キャップをし、機械的振盪機に戻して3時間放置した。3時間後、以下のようにCPGを取り出し洗浄した：10%  $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ 、次いでMeOH、次いで10%  $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ 、次いでMeOH、次いでACN、エーテル（洗浄用の各溶媒約250 mL）。r bフラスコに移し、CPGを高真空中で一晩乾燥させた。

30

40

【0617】

負荷の確認：52 mgを秤量し、250 mLメスフラスコに負荷した。次いで、ACN中の0.1 Mトルエン-p-スルホン酸を、測定ラインまで加えた。超音波処理し、1時間静置した。分光光度計及びベールの法則により負荷を確認した。溶液をUVキュベットに入れ測定して、411 nmでのUV吸光度を測定した。ワークシートの生データを確認した。ベールの法則を使用して計算された負荷 =  $[250 (\text{mL}) \times (\text{吸光度 } A) \times 35.5 (\text{DMTrの吸光係数})] / \text{CPGの重量 (mg)}$ 。収率：7.72 g、負荷：89  $\mu\text{mol/g}$ 。

50

【0618】

CPG調製の概括的手順（23～25について）：

無水アセトニトリル（14 mL）中の対応するスクシニル化合物（323.43  $\mu\text{mol}$ ）の透明な溶液に、N，N-ジイソプロピルエチルアミン（168.04 mg、1.29 mmol、226.47  $\mu\text{L}$ ）、続いてHBTU（122.66 mg、323.43  $\mu\text{mol}$ ）を加え、次いで、活性化混合物を5分間攪拌した。CPG 171  $\mu\text{mol/g}$ （2.4 g、420.46  $\mu\text{mol}$ ）を加え、支持体を22℃で一晩振盪した。

【0619】

固体支持体を濾過し、アセトニトリル、メタノール、再度アセトニトリル、及びジエチルエーテルで3回（3×50 mL）洗浄した。次いで、支持体を真空下で乾燥させ、カップ溶液（Cap A / Cap B、v / v 1 : 1、20 mL）で一晩振盪しながらキャップした。固体支持体を濾過し、アセトニトリル、メタノール、再度アセトニトリル、及びジエチルエーテルで3回（3×50 mL）洗浄して、対応するCPGを得た。負荷を、脱トリチル化溶液の滴定によって計算した。

10

【0620】

18（226.3 mg）から23（2.4 g、107.3  $\mu\text{mol/g}$ ）を得た。

【0621】

19（223.0 mg）から24（2.4 g、124  $\mu\text{mol/g}$ ）を得た。

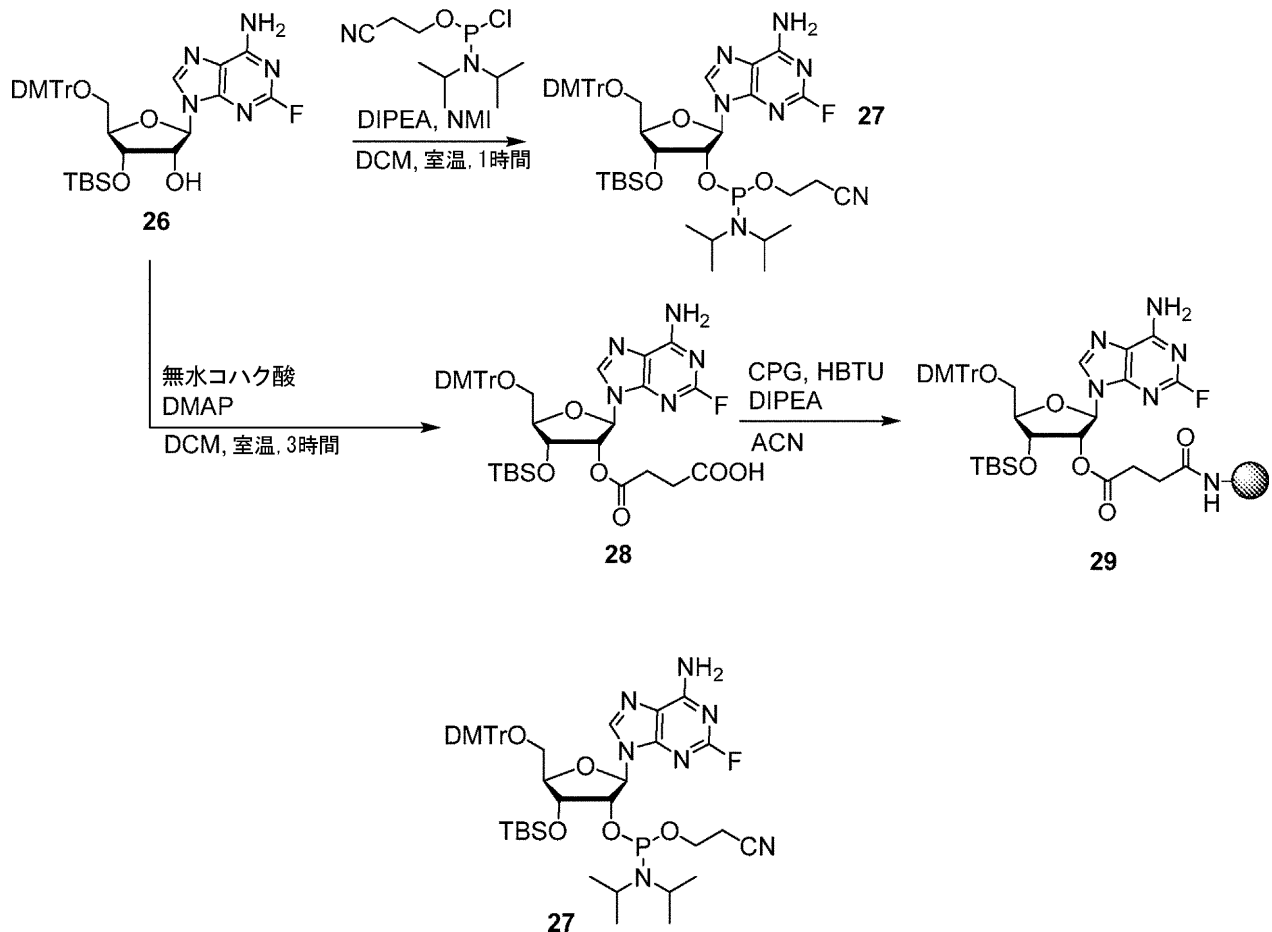
【0622】

20（226.3 mg）から25（2.4 g、104  $\mu\text{mol/g}$ ）を得た。

20

【0623】

追加のモノマー



30

40

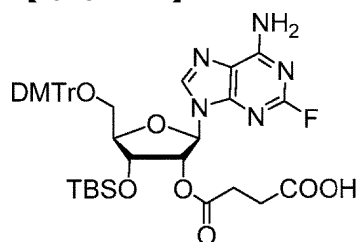
3-[[ (2R, 5R)-2-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-5-  
-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-4-[tert

50

ーブチル（ジメチル）シリル] オキシテトラヒドロフラン-3-イル] オキシ（ジイソプロピルアミノ）ホスファニル] オキシプロパンニトリル 27：

DCM（20 mL）中の26（0.95 g、1.32 mmol）の透明な溶液に、22℃でN-メチルイミダゾール（163.02 mg、1.99 mmol、158.27  $\mu$ L）、及びDIPEA（855.42 mg、6.62 mmol、1.15 mL）を加えた。反応混合物を室温で5分間攪拌し、2-シアノエチル-N,N-ジイソプロピルクロロホスホロアミダイト（626.62 mg、2.65 mmol、591.15  $\mu$ L）をそれにゆっくりと加えた。反応物を22℃で攪拌し続け、0.5時間後にTLCを確認した。反応混合物をDCM（20 mL）で希釈し、10% NaHCO<sub>3</sub> 溶液（20×2 mL）で洗浄した。有機層を分離し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー（勾配：ヘキサン中30～70% EtOAc）によって精製して、27（0.76 g、収率64%）を白色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR（600 MHz, CD<sub>3</sub>CN）  $\delta$  8.03（dt, J=16.5, 1.7 Hz, 1H）, 7.37–7.32（m, 2H）, 7.26–7.14（m, 7H）, 6.81–6.73（m, 4H）, 6.24（s, 2H）, 6.11–5.93（m, 1H）, 5.04–4.73（m, 1H）, 4.70–4.63（m, 1H）, 4.10（dd, J=11.5, 6.8 Hz, 1H）, 3.86–3.66（m, 8H）, 3.57（dp, J=12.5, 6.5 Hz, 3H）, 3.43（td, J=9.0, 3.4 Hz, 1H）, 3.16（dd, J=10.8, 4.1 Hz, 1H）, 2.61–2.45（m, 2H）, 1.12（dd, J=9.5, 6.8 Hz, 11H）, 0.94（d, J=6.8 Hz, 2H）, 0.85–0.75（m, 9H）, 0.13–0.05（m, 6H） ppm. <sup>13</sup>C NMR（151 MHz, CD<sub>3</sub>CN）  $\delta$  160.13, 159.11, 159.08, 159.05, 158.76, 158.05, 157.91, 151.43, 151.30, 145.38, 141.06, 136.22, 136.18, 136.11, 136.05, 130.59, 130.57, 130.53, 130.51, 128.52, 128.50, 128.37, 128.30, 128.28, 127.34, 127.29, 118.82, 118.80, 118.66, 113.54, 113.51, 113.49, 88.87, 86.76, 86.61, 84.24, 83.74, 76.17, 76.10, 75.42, 71.99, 71.44, 71.40, 63.31, 63.00, 60.60, 59.23, 59.10, 58.41, 58.27, 55.56, 55.55, 54.70, 43.73, 43.65, 43.47, 43.39, 26.04, 26.02, 24.91, 24.86, 24.73, 24.68, 24.49, 24.44, 21.09, 20.41, 20.36, 18.35, 18.33, 14.36, -4.15, -4.74, -4.87 ppm. <sup>31</sup>P NMR（243 MHz, CD<sub>3</sub>CN）  $\delta$  150.75, 149.67 ppm. <sup>19</sup>F NMR（565 MHz, CD<sub>3</sub>CN）  $\delta$  -52.05, -52.17 ppm. C<sub>46</sub>H<sub>62</sub>FN<sub>7</sub>O<sub>7</sub>PSi [M+H]<sup>+</sup>のHRMS計算値902.4202、実測値902.4189。

【0624】



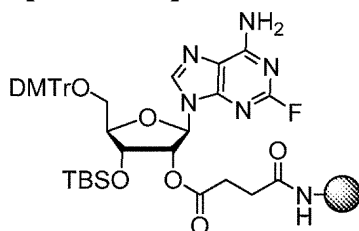
28

4-[(2R, 5R)-2-(6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル)-5-[[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル]-4-tert-

ブチル（ジメチル）シリル] オキシテトラヒドロフラン-3-イル] オキシ-4-オキソブタン酸 28 :

DCM (8 mL) 及びピリジン (2 mL) 中の 26 (0.69 g、983.11  $\mu\text{mol}$ ) の透明な溶液に、4-（ジメチルアミノ）ピリジン (480.42 mg、3.93 mmol)、及び無水コハク酸 (295.14 mg、2.95 mmol) を経時的に加えた。得られた混合物を、22°C で 2 時間攪拌した。反応混合物を DCM (15 mL) で希釈し、有機層を 10%  $\text{NH}_4\text{Cl}$  溶液 (2 × 20 mL) で洗浄した。有機層を分離し、無水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、濾過し、濾液を蒸発させ乾燥させた。このように得られた粗塊をフラッシュカラムクロマトグラフィー（勾配：DCM 中 0~5% メタノール）によって精製して、28 (0.54 g、68% 収率) を白色の発泡体として得た。 $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  12.28 (s, 1H), 8.57 (tt,  $J$  = 3.4, 1.5 Hz, 1H), 8.34 (d,  $J$  = 1.5 Hz, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.41–7.35 (m, 1H), 7.25 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 7.22–7.10 (m, 7H), 6.80–6.75 (m, 4H), 6.09 (t,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 5.96 (dt,  $J$  = 4.4, 1.8 Hz, 1H), 5.16–5.11 (m, 1H), 4.01 (dt,  $J$  = 7.1, 3.4 Hz, 1H), 3.70 (d,  $J$  = 1.4 Hz, 6H), 3.43–3.30 (m, 1H), 2.97 (dd,  $J$  = 11.1, 4.0 Hz, 1H), 2.68–2.52 (m, 2H), 2.51–2.44 (m, 5H), 0.75 (d,  $J$  = 1.4 Hz, 9H), 0.04 (d,  $J$  = 1.4 Hz, 3H), -0.04 (d,  $J$  = 1.4 Hz, 3H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  173.18, 171.36, 159.30, 158.04, 158.02, 157.94, 157.88, 157.74, 149.91, 149.77, 149.65, 144.68, 141.12, 141.10, 136.18, 135.52, 135.32, 129.63, 129.59, 127.67, 127.63, 126.62, 123.95, 117.69, 117.66, 113.04, 112.99, 86.59, 85.36, 82.18, 74.01, 69.28, 61.63, 55.01, 54.96, 28.70, 28.53, 25.53, 17.62, -5.07, -5.39 ppm.  $^{19}\text{F}$  NMR (565 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  -51.66 ppm.  $\text{C}_{41}\text{H}_{49}\text{FN}_5\text{O}_9\text{Si}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  の HRMS 計算値 802.3284、実測値 802.3270。

【0625】



29

CPG 29 : 4- [(2R, 5R) - 2- (6-アミノ-2-フルオロプリン-9-イル) - 5- [[ビス(4-メトキシフェニル)-フェニル-メトキシ]メチル] - 4- [tert-ブチル(ジメチル)シリル] オキシテトラヒドロフラン-3-イル] オキシ-4-オキソブタン酸 (0.58 g、723.26  $\mu\text{mol}$ )、及び N-エチル-N-イソプロピル-プロパン-2-アミン (373.89 mg、2.89 mmol、503.90  $\mu\text{L}$ ) を rb フラスコに加えた。次いで、乾燥アセトニトリル (50 mL) を加えた。よく攪拌して溶解し、次いで、予め活性化した酸に HBTU (288.00 mg、759.42  $\mu\text{mol}$ )。約 5 分間攪拌し、次いで CPG を加えた。キャップをして、機械的振盪機上に一晚置いた。翌日、CPG を濾過し、ACN、次いで MeOH、次いで ACN、次いでジエチルエーテルで洗浄した。約 5 分間乾燥させ、次いで、キャップをするために rb フラスコに戻した。ピリジン中の 30% 無水酢酸 (合計 50 mL) 及び 1% TE

Aを加えた。キャップをし、機械的振盪機に戻して3時間放置した。3時間後、上述のように、CPGを切り離し、洗浄した。今度はCPGを高真空中で一晩乾燥させた。

【0626】

負荷の確認：43mgを秤量し、250mLメスフラスコに負荷した。次いで、ACN中の0.1Mトルエン-p-スルホン酸を、測定ラインまで加えた。超音波処理し、1時間静置した。分光光度計及びベールの法則により負荷を確認した。溶液をUVキュベットに入れ測定して、411nmでのUV吸光度を測定した。ワークシートの生データを確認した。ベールの法則を使用して計算された負荷 =  $[250(\text{mL}) \times (\text{吸光度 } A) \times 35.5(\text{DMTrの吸光係数})] / \text{CPGの重量}(\text{mg})$ 。収率：6.7g、負荷：84  $\mu\text{mol/g}$ 。

10

【0627】

参考文献

20

30

40

50

1. Kirnos, M.D., et al., *2-Aminoadenine is an adenine substituting for a base in S-2L cyanophage DNA*. *Nature*, 1977. **270**(5635): p. 369-370.
2. Gaffney, B.L., L.A. Marky, and R.A. Jones, *The influence of the purine 2-amino group on DNA conformation and stability-II: Synthesis and physical characterization of d[CGT(2-NH<sub>2</sub>)ACG], d[CGU(2-NH<sub>2</sub>)ACG], and d[CGT(2-NH<sub>2</sub>)AT(2-NH<sub>2</sub>)ACG]*. *Tetrahedron*, 1984. **40**(1): p. 3-13.
3. Gaffney, B.L., L.A. Marky, and R.A. Jones, *The influence of the purine 2-amino group on DNA conformation and stability. Synthesis and conformational analysis of d[T(2-aminoA)]* 3. *Nucleic Acids Research*, 1982. **10**(14): p. 4351-4361.
4. Strobel, S.A., et al., *The 2,6-Diaminopurine Riboside.cntdot.5-Methylisocytidine Wobble Base Pair: An Isoenergetic Substitution for the Study of G.cntdot.U Pairs in RNA*. *Biochemistry*, 1994. **33**(46): p. 13824-13835. 10
5. Gryaznov, S. and R.G. Schultz, *Stabilization of DNA:DNA and DNA:RNA duplexes by substitution of 2'-deoxyadenosine with 2'-deoxy-2-aminoadenosine*. *Tetrahedron Letters*, 1994. **35**(16): p. 2489-2492.
6. Kutuyavin, I.V., et al., *Oligonucleotides Containing 2-Aminoadenine and 2-Thiothymine Act as Selectively Binding Complementary Agents*. *Biochemistry*, 1996. **35**(34): p. 11170-11176.
7. Hughesman, C.B., R.F.B. Turner, and C. Haynes, *Stability and Mismatch Discrimination of DNA duplexes containing 2,6-Diaminopurine and 2-Thiothymidine Locked Nucleic Acid bases*. *Nucleic Acids Symposium Series*, 2008. **52**(1): p. 245-246.
8. Kamiya, Y., et al., *Incorporation of Pseudo-complementary Bases 2,6-Diaminopurine and 2-Thiouracil into Serinol Nucleic Acid (SNA) to Promote SNA/RNA Hybridization*. *Chemistry – An Asian Journal*, 2020. **15**(8): p. 1266-1271. 20
9. Howard, F.B. and H.T. Miles, *2NH<sub>2</sub>A.cntdot.T helixes in the ribo- and deoxypolynucleotide series. Structural and energetic consequences of 2NH<sub>2</sub>A substitution*. *Biochemistry*, 1984. **23**(26): p. 6723-6732.
10. Kikuchi, K., Y. Taniyama, and R. Marumoto, *Evaluation of the 2 NH<sub>2</sub>A—T Pair in Hybridization, I Synthesis of the DNA/RNA Hybrid Oligomers Containing 2-Aminoadenosines*. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 1988. **43**(5): p. 623-630.
11. Borah, B., et al., *Poly(d2NH<sub>2</sub>A-dT): two-dimensional NMR shows a B to A conversion in high salt*. *Biochemistry*, 1985. **24**(25): p. 7456-7462.
12. Borah, B., et al., *Conversions of poly(2-aminodeoxyadenylate-5-halodeoxyuridylate) from B to A forms in high salt. An NMR and circular dichroism study*. *Biochemistry*, 1986. **25**(23): p. 7464-7470. 30
13. Sproat, B.S., B. Beijer, and A. Iribarren, *New synthetic routes to protected purine 2'-O-methylriboside-3'-O-phosphoramidites using a novel alkylation procedure*. *Nucleic Acids Research*, 1990. **18**(1): p. 41-49.
14. Hosono, K., et al., *Cleavage effect of oligoribonucleotides substituted at the cleavage sites with modified pyrimidine- and purine-nucleosides*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*, 1997. **1354**(3): p. 211-218.
15. Pasternak, A., et al., *A chemical synthesis of LNA-2,6-diaminopurine riboside, and the influence of 2'-O-methyl-2,6-diaminopurine and LNA-2,6-diaminopurine ribosides on the thermodynamic properties of 2'-O-methyl RNA/RNA heteroduplexes*. *Nucleic Acids Research*, 2007. **35**(12): p. 4055-4063. 40

16. Sproat, B.S., et al., *New synthetic routes to synthons suitable for 2'-O-allyl oligoribonucleotide assembly*. Nucleic Acids Research, 1991. **19**(4): p. 733-738.
17. Pujari, S.S., P. Leonard, and F. Seela, *Oligonucleotides with "Clickable" Sugar Residues: Synthesis, Duplex Stability, and Terminal versus Central Interstrand Cross-Linking of 2'-O-Propargylated 2-Aminoadenosine with a Bifunctional Azide*. The Journal of Organic Chemistry, 2014. **79**(10): p. 4423-4437.
18. Boudou, V., et al., *Base pairing of anhydrohexitol nucleosides with 2,6-diaminopurine, 5-methylcytosine and uracil as base moiety*. Nucleic Acids Research, 1999. **27**(6): p. 1450-1456.
19. Boudou, V., et al., *Oligonucleotides with 2,6-Diaminopurine Base Replacing for Adenine: Synthesis and Properties*. Nucleosides and Nucleotides, 1999. **18**(6-7): p. 1429-1431.
20. Wu, X., et al., *2,6-Diaminopurine in TNA: Effect on Duplex Stabilities and on the Efficiency of Template-Controlled Ligations I*. Organic Letters, 2002. **4**(8): p. 1283-1286.
21. Koshkin, A.A., *Syntheses and Base-Pairing Properties of Locked Nucleic Acid Nucleotides Containing Hypoxanthine, 2,6-Diaminopurine, and 2-Aminopurine Nucleobases*. The Journal of Organic Chemistry, 2004. **69**(11): p. 3711-3718.
22. Rosenbohm, C., et al., *LNA guanine and 2,6-diaminopurine. Synthesis, characterization and hybridization properties of LNA 2,6-diaminopurine containing oligonucleotides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2004. **12**(9): p. 2385-2396.
23. Langkjær, N., J. Wengel, and A. Pasternak, *Watson-Crick hydrogen bonding of unlocked nucleic acids*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2015. **25**(22): p. 5064-5066.
24. Hornum, M., et al., *Base-Pairing Properties of Double-Headed Nucleotides*. Chemistry – A European Journal, 2019. **25**(30): p. 7387-7395.
25. Muraoka, M., et al., *Synthesis and Properties of 2'4'- and 3'-5'-Linked Ribodinucleoside Monophosphates Containing 2-Aminoadenosine and Uridine*. Nucleosides and Nucleotides, 1991. **10**(6): p. 1317-1332.
26. Muraoka, M., S. Takahashi, and S. Uesugi, *Interaction of (2'-5') and (3'-5') Linked 2-Aminoadenylyl-3-aminoadenosines with Polyuridylic Acid*. Nucleosides and Nucleotides, 1995. **14**(7): p. 1503-1518.
27. Muraoka, M., et al., *Synthesis and Properties of Dinucleoside Monophosphates Containing 2-Aminoadenine 8,2'-S- and Uracil 6,2'-O-Cyclonucleosides*. Nucleosides and Nucleotides, 1990. **9**(2): p. 205-221.
28. Matray, T., et al., *A Remarkable Stabilization of Complexes Formed by 2,6-Diaminopurine Oligonucleotide N3'→P5' Phosphoramidates*. Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2000. **19**(10-12): p. 1553-1567.
29. Matray, T.J. and S.M. Gryaznov, *Synthesis and properties of RNA analogs—oligoribonucleotide N3'→P5' phosphoramidates*. Nucleic Acids Research, 1999. **27**(20): p. 3976-3985.
30. Haaijma, G., et al., *Increased DNA binding and sequence discrimination of PNA oligomers containing 2,6-diaminopurine*. Nucleic Acids Res., 1997. **25**(22): p. 4639-4643.
31. Kamiya, Y., et al., *Introduction of 2,6-Diaminopurines into Serinol Nucleic Acid Improves Anti-miRNA Performance*. ChemBioChem, 2017. **18**(19): p. 1917-1922.
32. Reza, F., et al., *Synthesis of 6-substituted 2'-deoxyguanosine derivatives using trifluoroacetic anhydride in pyridine*. Tetrahedron Letters, 1990. **31**(3): p. 319-321.
33. Gao, H., et al., *6-O-(Pentafluorophenyl)-2'-deoxyguanosine: a versatile synthon for nucleoside and oligonucleotide synthesis*. The Journal of Organic Chemistry, 1992. **57**(25): p. 6954-6959.
34. Porcher, S. and S. Pitsch, *Synthesis of 2'-O-[(Triisopropylsilyl)oxy]methyl (= tom)-Protected Ribonucleoside Phosphoramidites Containing Various Nucleobase Analogues*. Helvetica Chimica Acta, 2005. **88**(10): p. 2683-2704.

10

20

30

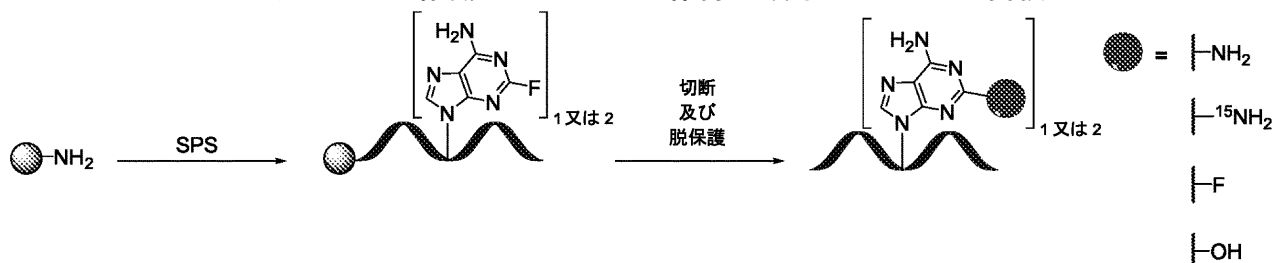
40

50

35. Ross, B., R. Springer, and V. Ravikumar, *An Efficient and Scalable Synthesis of 2,6-Diaminopurine Riboside*. Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2008. **27**(1): p. 67-69.
36. Liu, C., et al., *Synthesis and antiviral evaluation of base-modified deoxythreosyl nucleoside phosphonates*. Organic & Biomolecular Chemistry, 2017. **15**(26): p. 5513-5528.
37. Vorlíčková, M., et al., *Conformation of the synthetic DNA poly(amino 2 dA-dT) duplex in high-salt and aqueous alcohol solutions*. Nucleic Acids Research, 1988. **16**(1): p. 279-289.
38. Christensen, L.F., et al., *Synthesis and biological activity of selected 2,6-disubstituted(2-deoxy-.alpha.- and -.beta.-D-erythro-pentofuranosyl)purines*. Journal of Medicinal Chemistry, 1972. **15**(7): p. 735-739. 10
39. Wright, G.E., et al., *Convenient synthesis of 2-halo-2'-deoxyadenosines*. The Journal of Organic Chemistry, 1987. **52**(20): p. 4617-4618.
40. Brown, T. and A.G. Craig, *The Incorporation of 2,6-Diaminopurine Into Oligodeoxyribonucleotides by the Phosphoramidite Method*. Nucleosides and Nucleotides, 1989. **8**(5-6): p. 1051-1051.
41. Arico, J.W., A.K. Calhoun, and L.W. McLaughlin, *Preparation of the 2'-Deoxynucleosides of 2,6-Diaminopurine and Isoguanine by Direct Glycosylation*. The Journal of Organic Chemistry, 2010. **75**(5): p. 1360-1365.
42. Barabino, S.M.L., B.S. Sproat, and A.I. Lamond, *Antisense probes targeted to an internal domain in U2 snRNP specifically inhibit the second step of pre-mRNA splicing*. Nucleic Acids Research, 1992. **20**(17): p. 4457-4464. 20
43. Canol, A., M.F. Goodman, and R. Eritja, *Synthesis of Oligodeoxyribonucleotides Containing 2,6-Diaminopurine*. Nucleosides and Nucleotides, 1994. **13**(1-3): p. 501-509.
44. Luyten, I., et al., *Protection of 2,6-Diaminopurine 2'-Deoxyriboside*. Nucleosides and Nucleotides, 1997. **16**(7-9): p. 1649-1652.
45. Srivastava, S.C. and N.P. Srivastava, *N-fmoc nucleosides and phosphoramidites useful in the synthesis of oligonucleotides*. 2010, ChemGenes Corporation, USA . p. 52 pp.
46. DeCorte, B.L., et al., *Improved Strategies for Postoligomerization Synthesis of Oligodeoxynucleotides Bearing Structurally Defined Adducts at the N2 Position of Deoxyguanosine*. Chemical Research in Toxicology, 1996. **9**(3): p. 630-637. 30

# 【 0 6 2 8 】

実施例 2 : 2 - F A ビルディングブロックを含むオリゴヌクレオチドに由来するオリゴヌクレオチドにおける  $^{15}\text{N}$  標識、2 - F A 保持、及び I s o - G 変換



スキーム 5

オリゴヌクレオチド合成：オリゴヌクレオチドを、機器に提供されたものに基づいて、修飾合成サイクルを使用して A B I - 3 9 4 DNA / RNA 合成装置上で合成した。アセトニトリル中の 0.25 M の 5 - ( S - エチルチオ ) - 1 H - テトラゾールの溶液を、活性化因子として使用した。ホスホラミダイト溶液は、無水アセトニトリル中 0.15 M であった。酸化試薬は、T H F / ピリジン /  $\text{H}_2\text{O}$  中で 0.02 M の  $\text{I}_2$  であった。脱トリチル化試薬は、D C M 中の 3 % ジクロロ酢酸 ( D C A ) であった。自動合成の完了後、固体支持体をアルゴンで乾燥させた。

【0629】

オリゴヌクレオチドを、以下のように固体支持体から切断した。

【0630】

DAPの場合：

次いで、オリゴヌクレオチドを支持体から手動で放出し、30%  $\text{NH}_4\text{OH}$  の混合物を使用して65℃で24時間脱保護した。

【0631】

2- $^{15}\text{N}$ -DAPの場合：

次いで、オリゴヌクレオチドを支持体から手動で放出し、16%  $^{15}\text{NH}_4\text{OH}$  の混合物を使用して65℃で48時間脱保護した。

【0632】

2-フルオロデオキシアデノシンの場合：

次いで、オリゴヌクレオチドを支持体から手動で放出し、30%  $\text{NH}_4\text{OH}$  の混合物を使用して室温で18時間脱保護した。

【0633】

デオキシイソグアノシンの場合

2-フルオロデオキシアデノシンから開始して、凍結乾燥オリゴヌクレオチドを、0.5M  $\text{NaOH}$  (4mL) の混合物中に65℃で4時間溶解させた。

【0634】

溶媒を濾過により収集し、支持体を脱イオン水(6mL)ですすいだ。粗オリゴヌクレオチドを、TSK Gel super Q-5PWを充填したアニオン交換ガラスカラム(10×300mm)により、緩衝液Aとして20mMリン酸ナトリウム、15%  $\text{ACN}$ 、緩衝液Bとして20mMリン酸ナトリウム、15%  $\text{ACN}$ 、1M  $\text{NaBr}$  を使用して精製した。精製勾配は、60℃で240分間で18%～30%Bから開始した。全ての一本鎖を、>90%のHPLC(260nm)純度まで精製し、次いで、Sephadex G25(GE Healthcare)を充填したカスタムパックを使用したサイズ排除クロマトグラフィーによって脱塩し、滅菌ヌクレアーゼを含まない水で溶出した。

【0635】

オリゴヌクレオチド濃度は、260nmでの吸光度及び以下の吸光係数に基づいて計算された： $A/2$ 、6-ジアミノA、 $13.86\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ；T/U、 $7.92\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ；C、 $6.57\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ；及びG、 $10.53\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 。オリゴヌクレオチドの純度及び同一性を、分析的アニオン交換クロマトグラフィー及び質量分析によって検証した。結果を図18～図20に示す。

【0636】

(表10) ディッカーソンドデカマーNMR研究用に作製されたオリゴヌクレオチドの配列及び質量分析による特性評価

10

20

30

40

50

| 鎖                                                                                                                                                                                         | 配列 5'-3'                                             | 質量 (m/z) |         |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------|---------|
|                                                                                                                                                                                           |                                                      | 計算値      | 観測値     |
| ON1                                                                                                                                                                                       | dCdGdCdGdAdAdTdTdCdGdCdG                             | 3646.39  | 3645.58 |
| ON2                                                                                                                                                                                       | dCdGdCdGddAdTdTdCdGdCdG                              | 3661.41  | 3660.62 |
| ON3                                                                                                                                                                                       | dCdGdCdGdAdTdTdCdGdCdG                               | 3661.41  | 3660.89 |
| ON4                                                                                                                                                                                       | dCdGdCdGdddTdTdCdGdCdG                               | 3676.42  | 3675.61 |
| ON5                                                                                                                                                                                       | dCdGdCdG <sup>15</sup> ddAdTdTdCdGdCdG               | 3662.41  | 3661.71 |
| ON6                                                                                                                                                                                       | dCdGdCdGdA <sup>15</sup> ddTdTdCdGdCdG               | 3662.41  | 3661.70 |
| ON7                                                                                                                                                                                       | dCdGdCdG <sup>15</sup> d <sup>15</sup> ddTdTdCdGdCdG | 3677.42  | 3677.73 |
| ON8                                                                                                                                                                                       | dCdGdCdGdA(2FdA)dTdTdCdGdCdG                         | 3664.38  | 3663.41 |
| ON9                                                                                                                                                                                       | dCdGdCdG(2FdA)(2FdA)dTdTdCdGdCdG                     | 3682.38  | 3681.47 |
| ON10                                                                                                                                                                                      | dCdGdCdGdA(isodG)dTdTdCdGdCdG                        | 3662.39  | 3662.44 |
| ON11                                                                                                                                                                                      | dCdGdCdG(isodG)(isodG)dTdTdCdGdCdG                   | 3680.39  | 3677.83 |
| デオキシ-アデノシン(dA)、デオキシ-シチジン(dC)、デオキシ-グアノシン(dG)、<br>デオキシ-チミジン(dT)、デオキシ-2,6-ジアミノプリン(d)、デオキシ-2- <sup>15</sup> N,6-ジアミノプリン<br>( <sup>15</sup> d)、2-フルオロ-デオキシ-アデノシン((2FdA))、及びデオキシ-イソグアノシン(isodG) |                                                      |          |         |

10

20

## 【 0 6 3 7 】

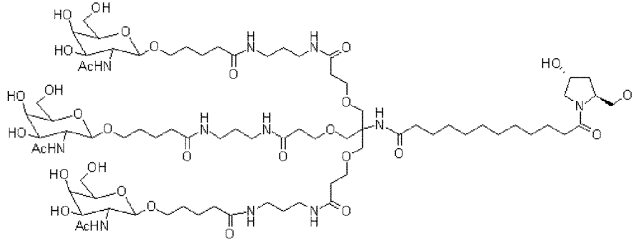
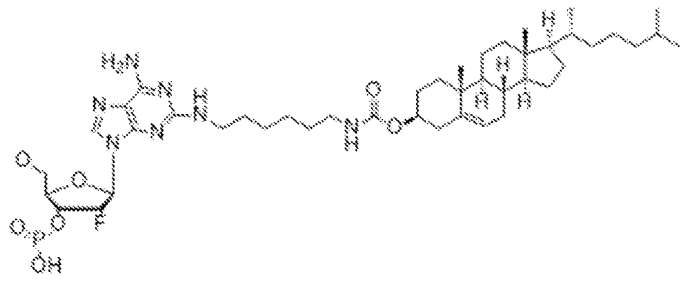
(表 1 1) 配列で使用する略称

30

|   | ヌクレオチド名*                                               |
|---|--------------------------------------------------------|
| A | 2'-デオキシ-2'-フルオロアデノシン-3'-ホスフェート                         |
| C | 2'-デオキシ-2'-フルオロシチジン-3'-ホスフェート                          |
| G | 2'-デオキシ-2'-フルログアノシン-3'-ホスフェート                          |
| U | 2'-デオキシ-2'-フルオロウリジン-3'-ホスフェート                          |
| a | 2'-0-メチルアデノシン-3'-ホスフェート                                |
| c | 2'-0-メチルシチジン-3'-ホスフェート                                 |
| g | 2'-0-メチルグアノシン-3'-ホスフェート                                |
| u | 2'-0-メチルウリジン-3'-ホスフェート                                 |
| d | 2'-デオキシ-2-アミノアデノシン-3'-ホスフェート(デオキシ-2,6-ジアミノプリン)         |
| R | 2-アミノアデノシン-3'-ホスフェート(リボ-2,6-ジアミノプリン)                   |
| X | 2'-デオキシ-2'-フルオロ-2-アミノアデノシン-3'-ホスフェート(2'-F-2,6-ジアミノプリン) |
| Y | 2-アミノ-2'-0,4'-C-メチレンアデノシン-3'-ホスフェート(LNA-2,6-ジアミノプリン)   |
| Z | 2'-0-メチル-2-アミノアデノシン-3'-ホスフェート(2' OMe-2,6-ジアミノプリン)      |

40

50

|                                                      |                                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (L)                                                  | トリ-N-アセチルガラクトサミン(トリ-GalNAc)リガンド<br>                                                                   |
| dA                                                   | 2'-デオキシアデノシン-3'-ホスフェート(デオキシ-アデノシン)                                                                                                                                                     |
| dC                                                   | 2'-デオキシシチジン-3'-ホスフェート(デオキシ-シチジン)                                                                                                                                                       |
| dG                                                   | 2'-デオキシグアノシン-3'-ホスフェート(デオキシ-グアノシン)                                                                                                                                                     |
| dT                                                   | 2'-デオキシウリジン-3'-ホスフェート(デオキシ-チミジン)                                                                                                                                                       |
| d <sup>15</sup>                                      | 2'-デオキシ-2-( <sup>15</sup> N)アミノアデノシン-3'-ホスフェート(デオキシ-2,6-ジアミノプリン 2- <sup>15</sup> N標識)                                                                                                  |
| X <sub>201</sub>                                     | 2-(N-(6-(0-コレステロール)オキシカルボニルアミノヘキシル)アミノ)-2'-デオキシ-2'-フルオロ-アデノシン3'-ホスフェート<br><br>(2' F-2-コレステロール-アデノシン) |
| X <sub>204</sub>                                     | 図7A、2' F-2-N-アセチルガラクトサミン-アデノシン3'-ホスフェートを参照されたい                                                                                                                                         |
| X <sub>205</sub>                                     | 図7A、2' F-2-トリ-N-アセチルガラクトサミン3'-ホスフェートを参照されたい                                                                                                                                            |
| X <sub>206</sub>                                     | 図7A、2' F-2-cRGDケスラーペプチド3'-ホスフェートを参照されたい                                                                                                                                                |
| X <sub>209</sub>                                     | 2-(N-ヘキサデシルアミノ)-2'-デオキシ-2'-フルオロ-アデノシン-3'-ホスフェート(2' F-2-C16-アデノシン)、図7Bも参照されたい。                                                                                                          |
| X <sub>211</sub>                                     | 2-(N-ノニルアミノ)-2'-デオキシ-2'-フルオロ-アデノシン-3'-ホスフェート(2' F-2-C9-アデノシン)、図7Bも参照されたい。                                                                                                              |
| X <sub>212</sub>                                     | 2-(N-ヘキシルアミノ)-2'-デオキシ-2'-フルオロ-アデノシン-3'-ホスフェート(2' F-2-C6-アデノシン)、図7Bも参照されたい。                                                                                                             |
| Z <sub>204</sub>                                     | 図8、2' OMe-2-N-アセチルガラクトサミン-アデノシン3'-ホスフェートを参照されたい                                                                                                                                        |
| Z <sub>209</sub>                                     | 2-(N-ヘキサデシルアミノ)-2'-0-メチルアデノシン-3'-ホスフェート(2' OMe-2-C16-アデノシン)、図8も参照されたい。                                                                                                                 |
| Z <sub>211</sub>                                     | 2-(N-ノニルアミノ)-2'-0-メチルアデノシン-3'-ホスフェート(2' OMe-2-C9-アデノシン)、図8も参照されたい。                                                                                                                     |
| Z <sub>212</sub>                                     | 2-(N-ヘキシルアミノ)-2'-0-メチルアデノシン-3'-ホスフェート(2' OMe-2-C6-アデノシン)、図8も参照されたい。                                                                                                                    |
| “●”<br>記号                                            | ホスホロチオエート結合；先行するヌクレオチドでの3'-ホスホロチオエートに対する3'-ホスフェートの修飾を示す                                                                                                                                |
| * 3' 末端ヌクレオチドは、(L)とコンジュゲートされるか、又は別途指示されない限り、3'-OHである |                                                                                                                                                                                        |

10

20

30

40

## 【0638】

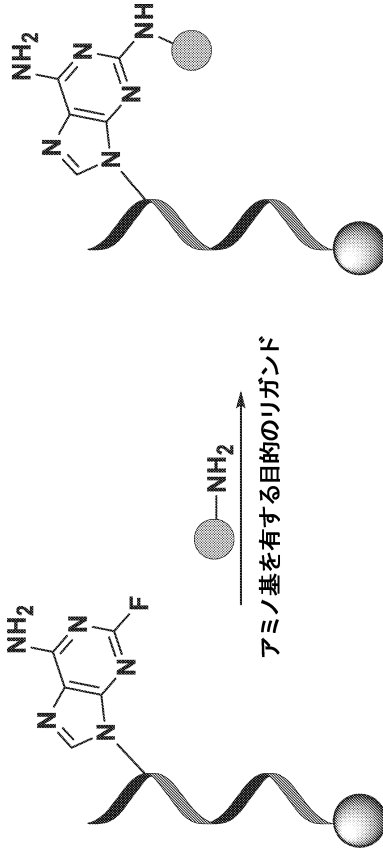
本明細書及び実施例で特定される全ての特許及び他の刊行物は、全ての目的のために参照により本明細書に明示的に組み込まれる。これらの刊行物は、本出願の出願日より前の開示のためにのみ提供される。この点に関して、発明者らが、先行する発明によって、又はいかなる他の理由によっても、かかる開示を先取りする権利を有していないことを認めるものとして解釈されるべきではない。これらの文書の日付又は内容の表現に関する全ての記述は、申請者が入手可能な情報に基づいており、これらの文書の日付又は内容の正確性を認めるものではない。

## 【0639】

50

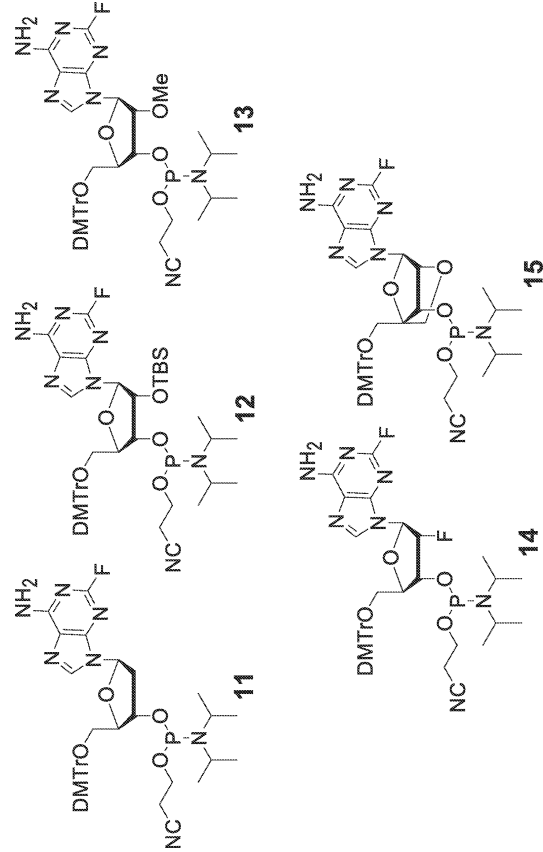


【図 1 - 3】

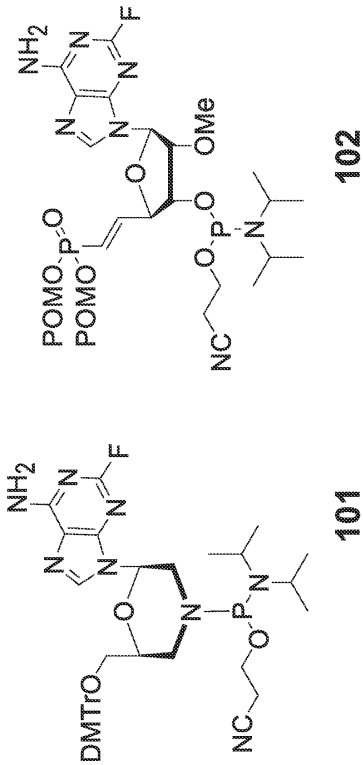


固体支持体における合成後コンジュゲーション

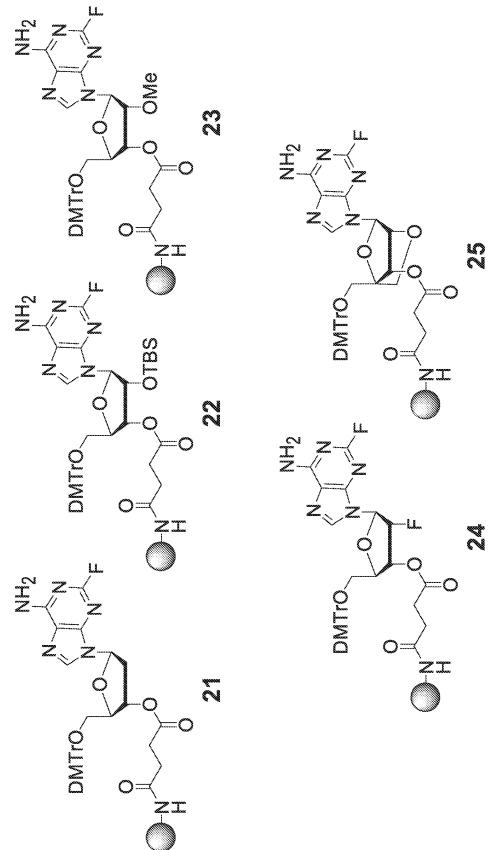
【図 2 - 1】



【図 2 - 2】



【図 2 - 3】



10

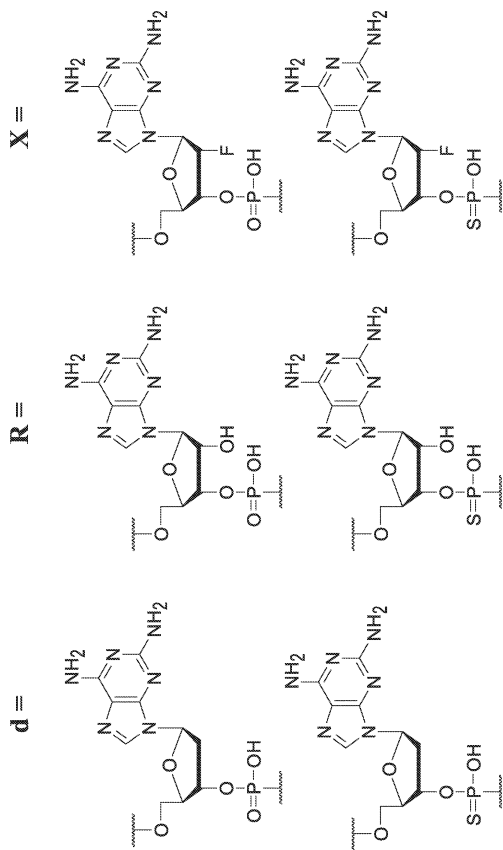
20

30

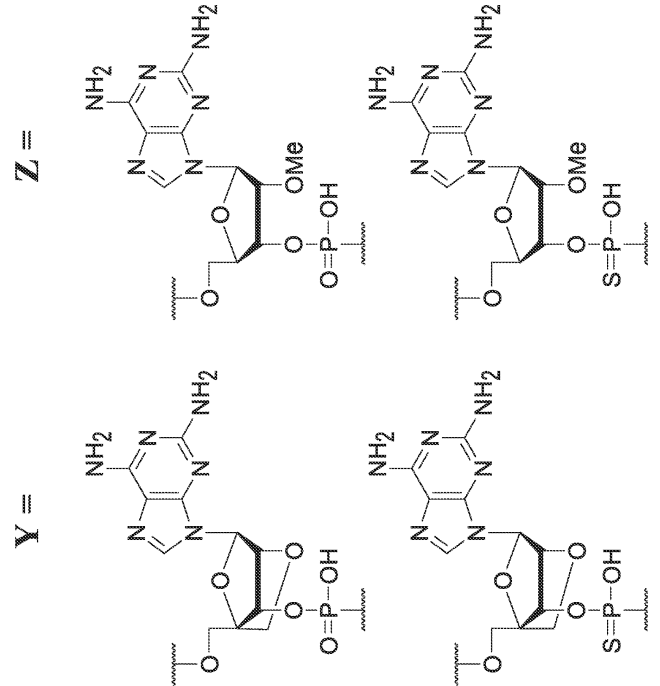
40

50

【図 3 - 1】



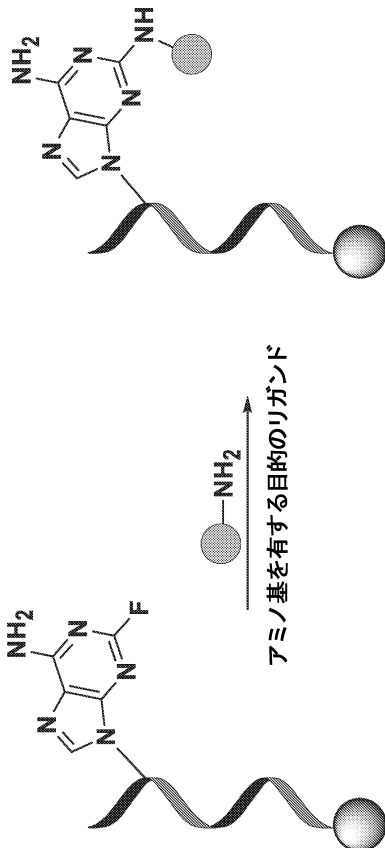
【図 3 - 2】



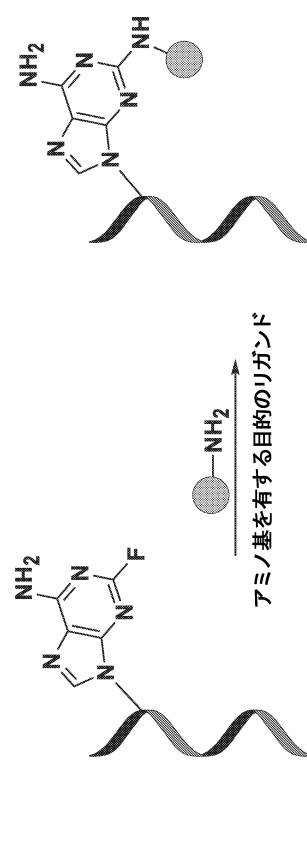
10

20

【図 4】



【図 5】

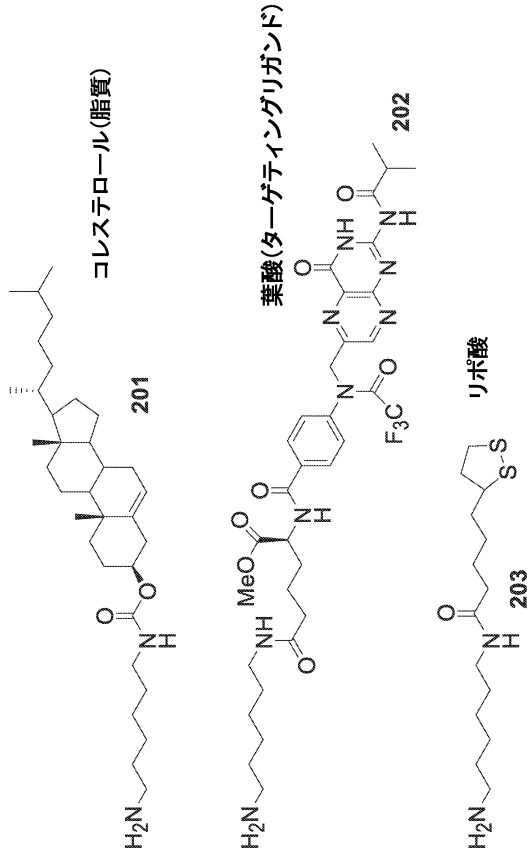


30

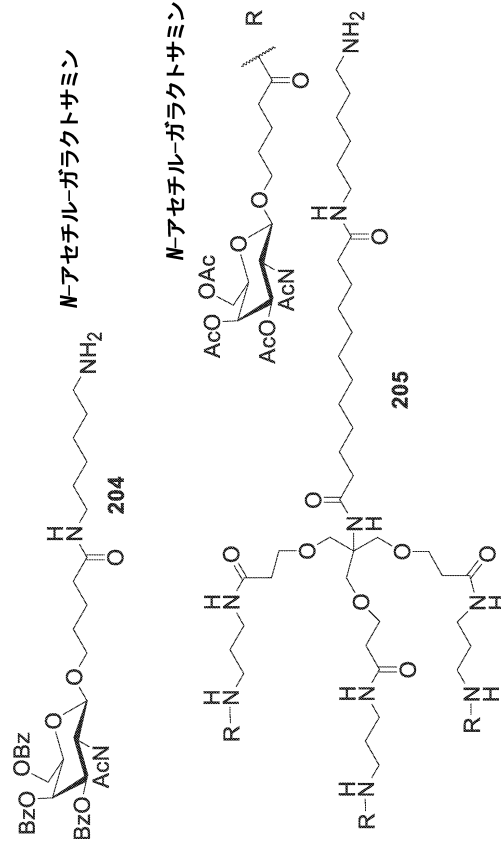
40

50

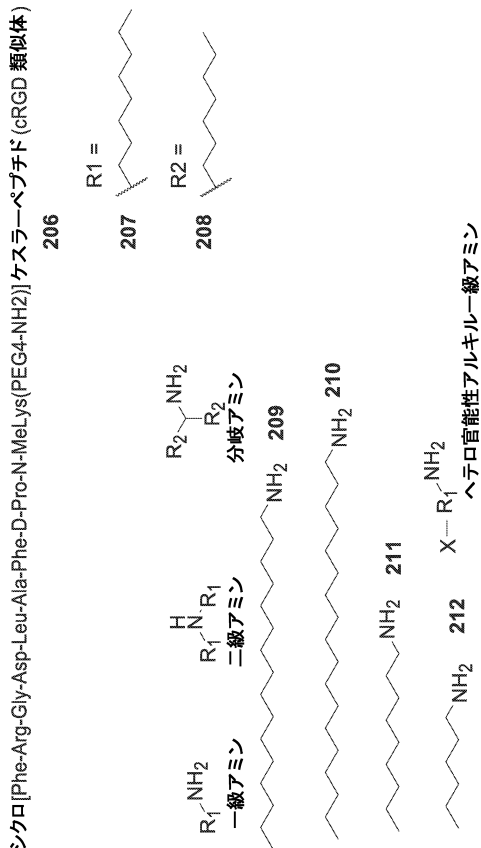
【図 6 - 1】



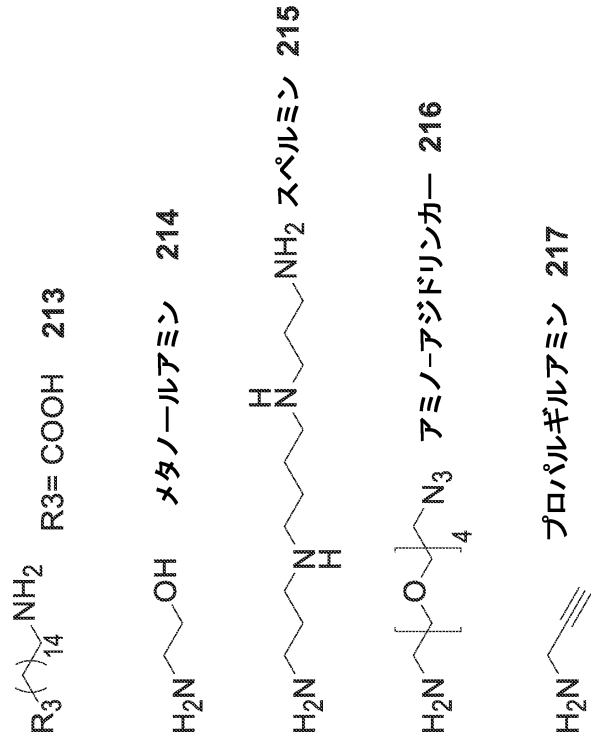
【図 6 - 2】



【図 6 - 3】



【図 6 - 4】



10

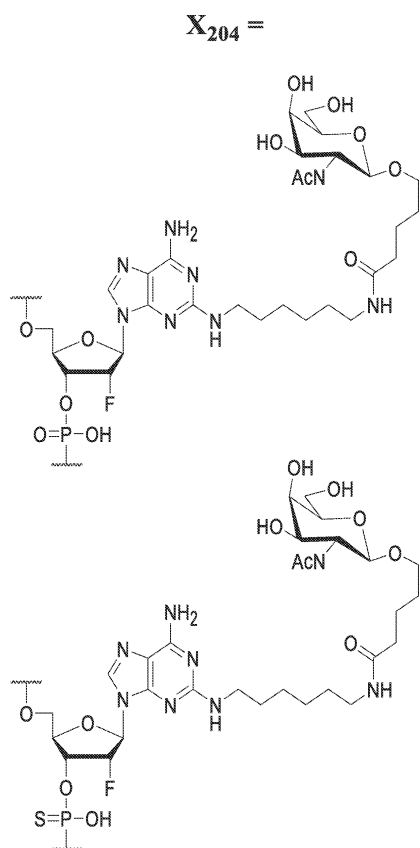
20

30

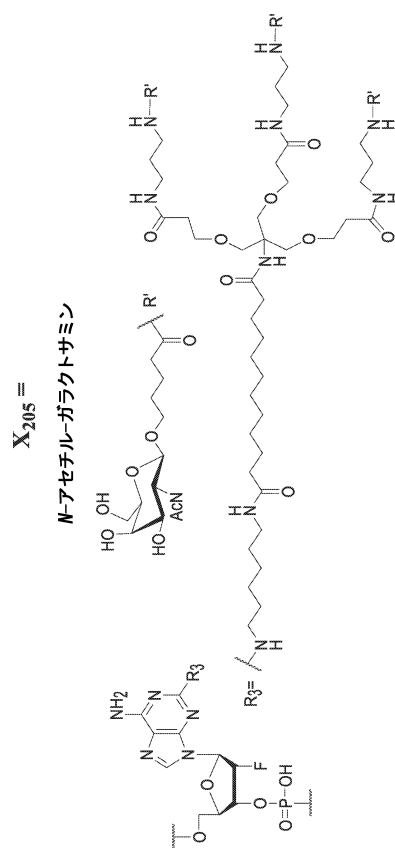
40

50

【図 7 A - 1】



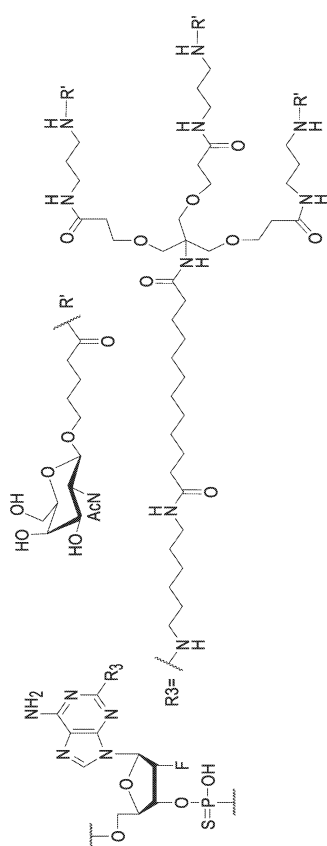
【図 7 A - 2】



10

20

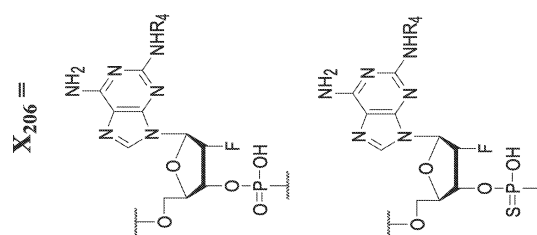
【図 7 A - 3】



【図 7 A - 4】

$R_4 =$  シクロ [Phe-Arg-Gly-Asp-Leu-Ala-Phe-D-Pro-N-MeLys(PEG4)]

ケスラーペプチド (cRGD類似体)

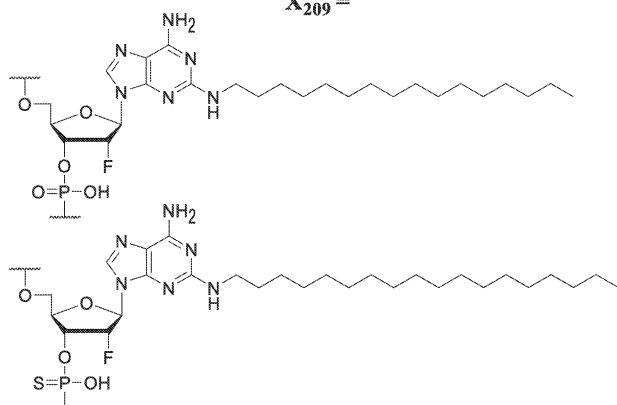


30

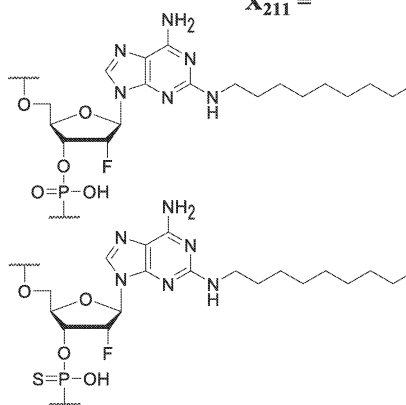
40

50

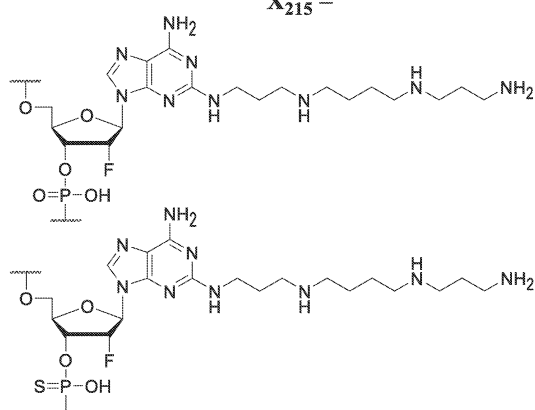
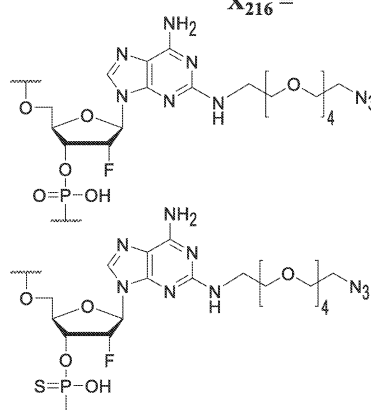
## 【図 7 B - 1】

 $X_{209} =$ 

## 【図 7 B - 2】

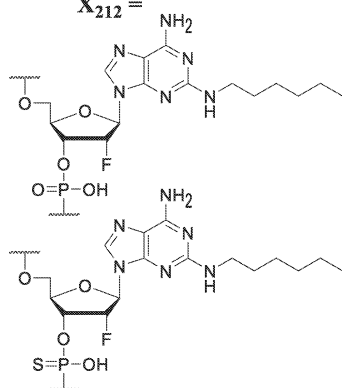
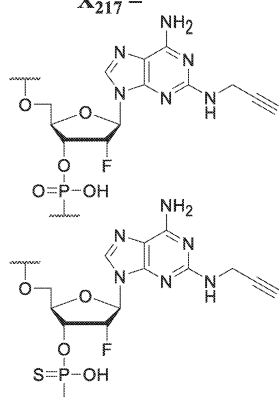
 $X_{211} =$ 

10

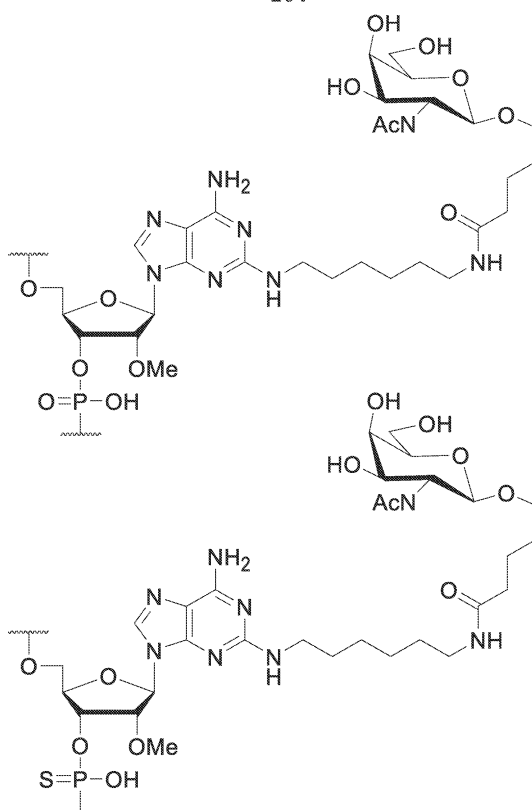
 $X_{215} =$  $X_{216} =$ 

20

## 【図 7 B - 3】

 $X_{212} =$  $X_{217} =$ 

## 【図 8 - 1】

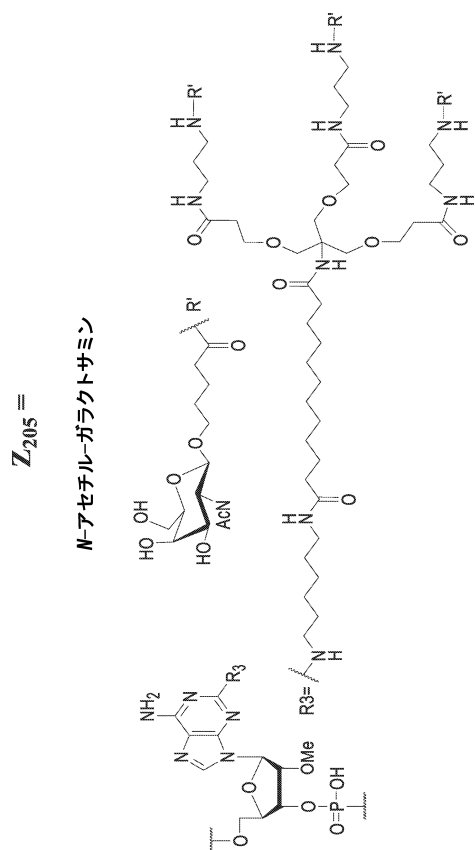
 $Z_{204} =$ 

30

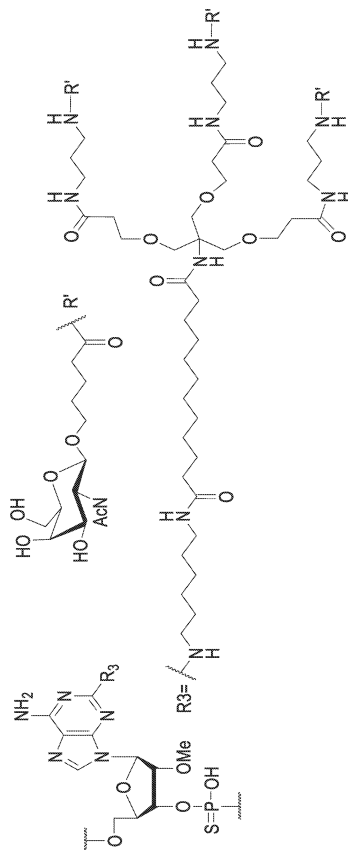
40

50

【図 8 - 2】



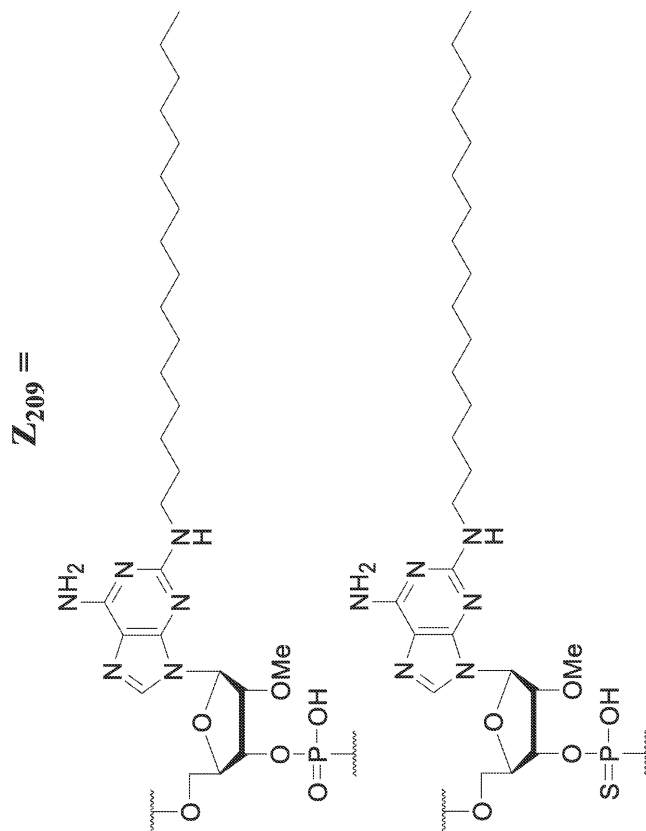
【図 8 - 3】



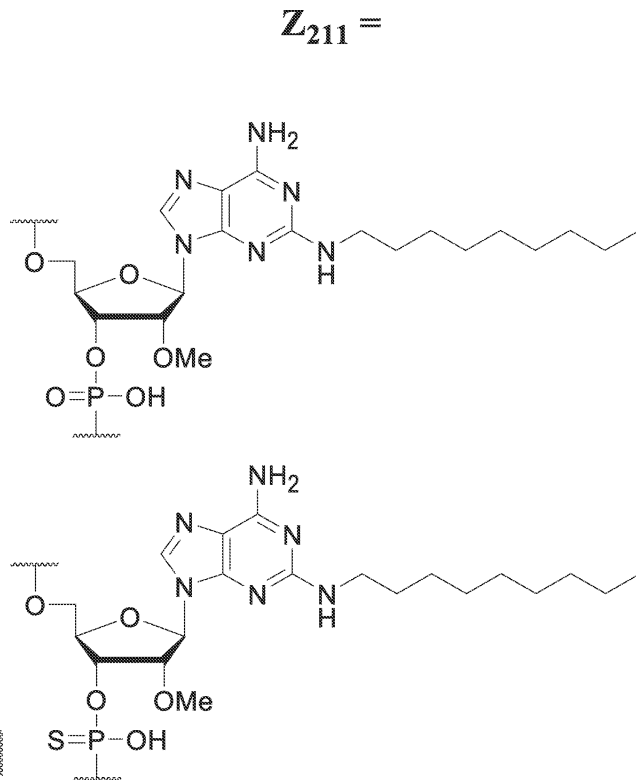
10

20

【図 8 - 4】



【図 8 - 5】

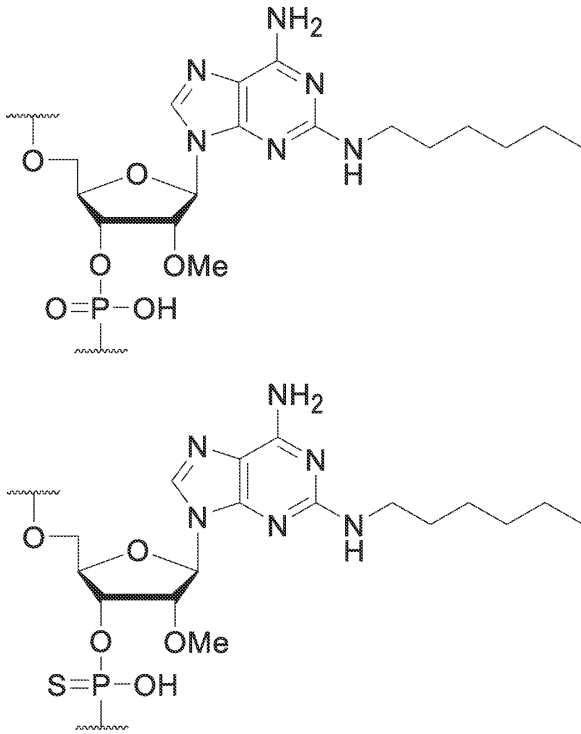


30

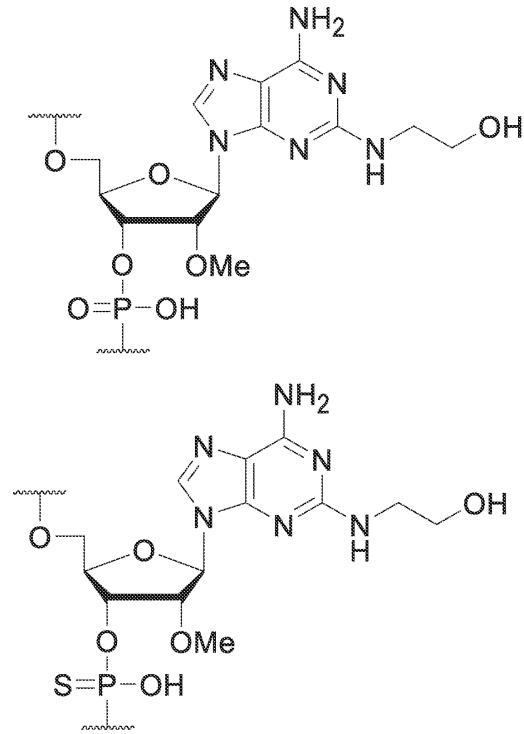
40

50

【図 8 - 6】

 $Z_{212} =$ 

【図 8 - 7】

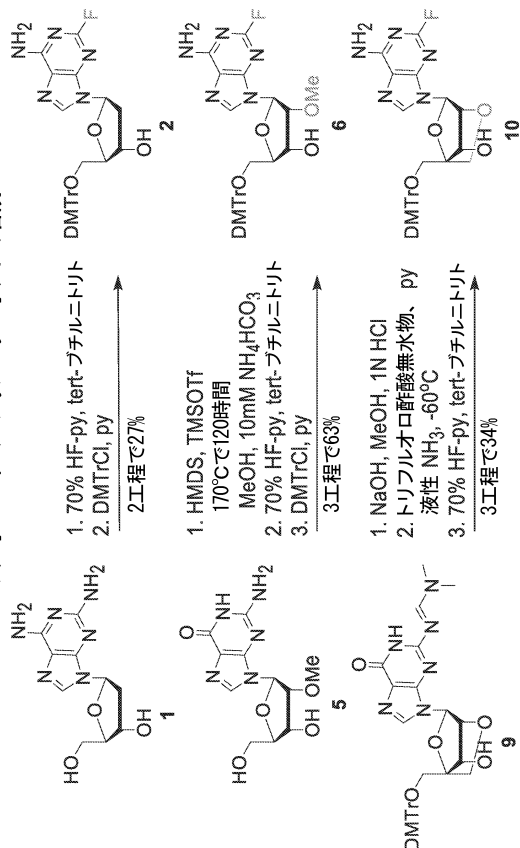
 $Z_{214} =$ 

10

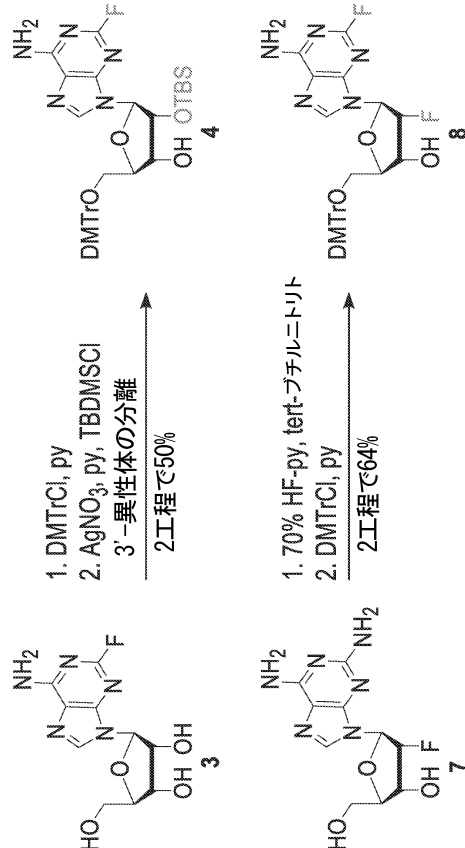
20

【図 9 - 1】

2-フルオロ-6-アミノプリンヌクレオシドの合成



【図 9 - 2】



30

40

50



10

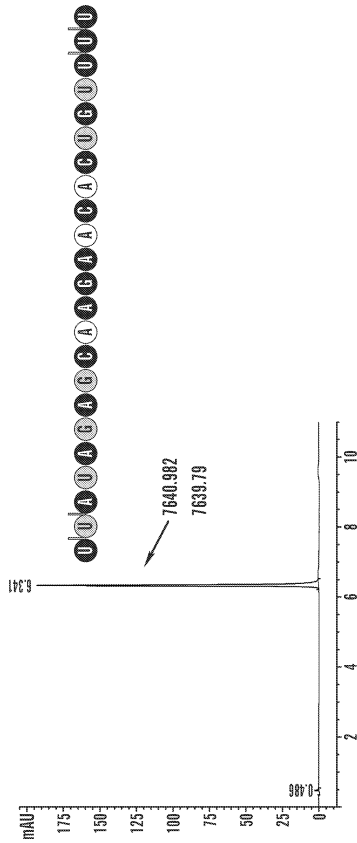
20

30

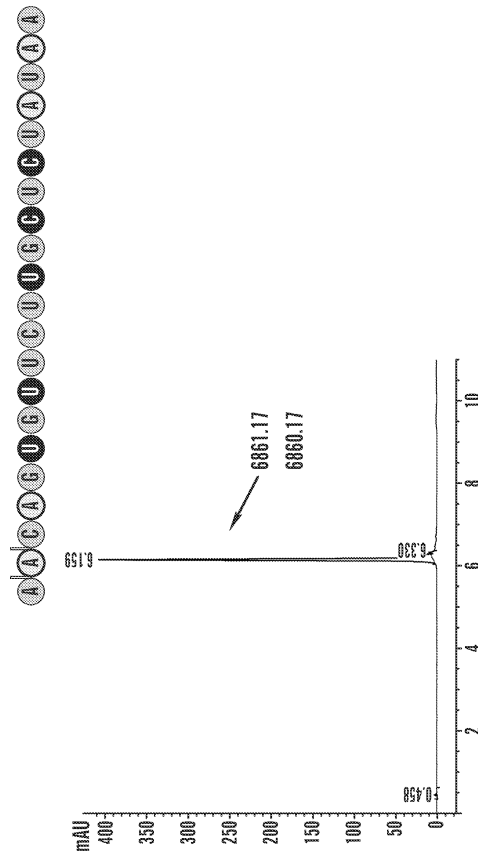
40

50

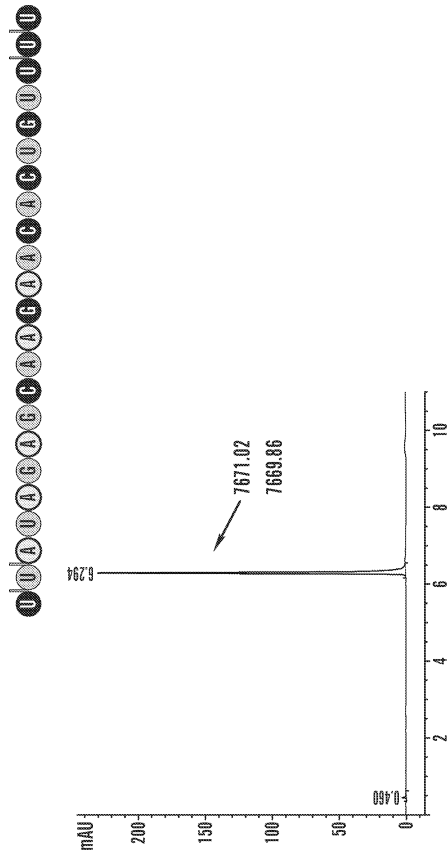
【図 1 2 - 2】



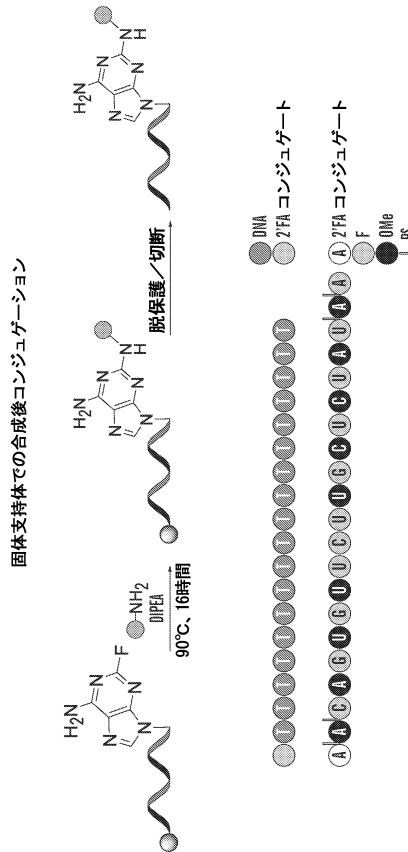
【図 1 2 - 3】



【図 1 2 - 4】

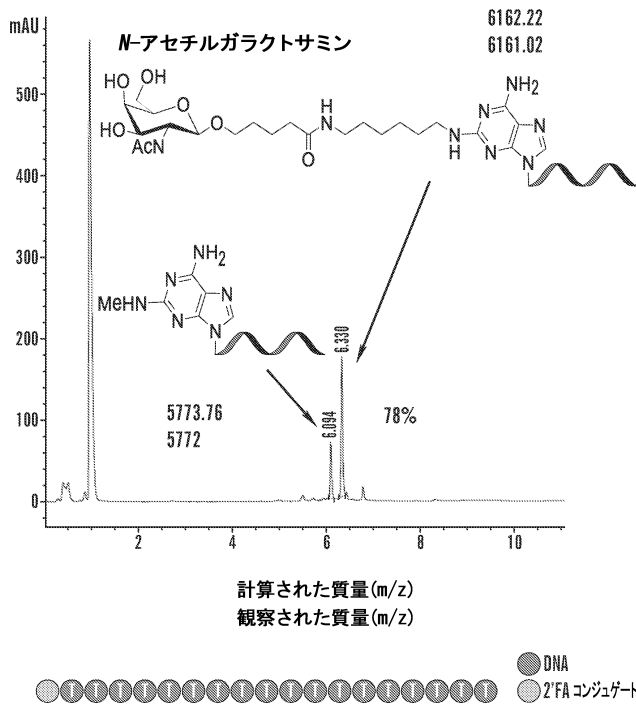


【図 1 3】



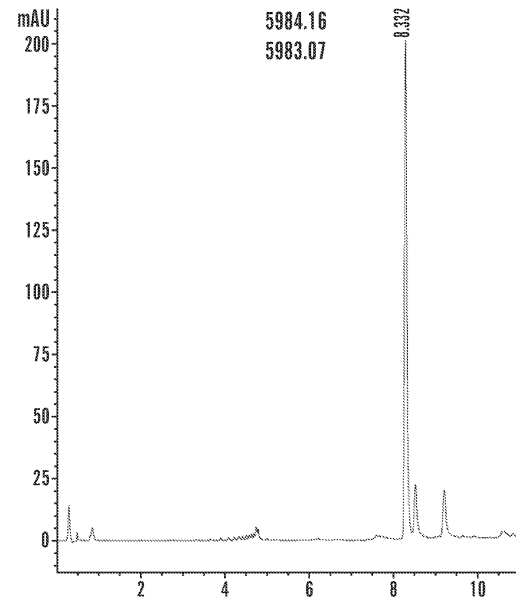
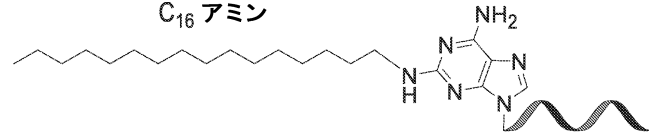
【図 1 4 - 1】

固体支持体での合成後コンジュゲーション  
粗コンジュゲーションのLCMS分析



【図 1 4 - 2】

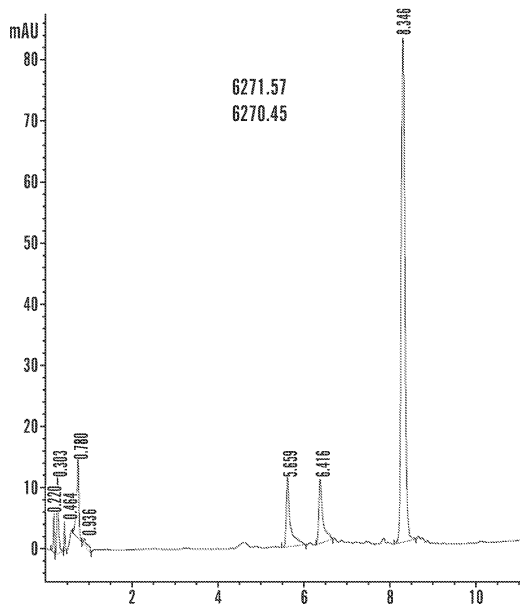
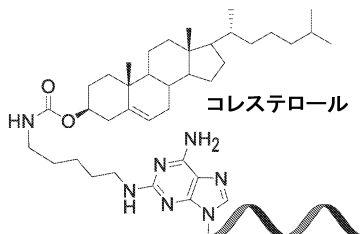
C<sub>16</sub> アミン



10

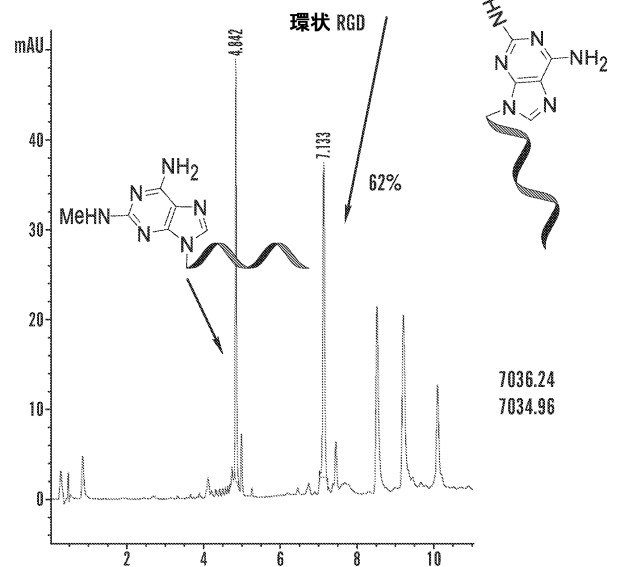
20

【図 1 4 - 3】



【図 1 4 - 4】

シクロ [Phe-Arg-Gly-Asp-Leu-Ala-Phe-D-Pro-N-MeLys(PEG4)]



30

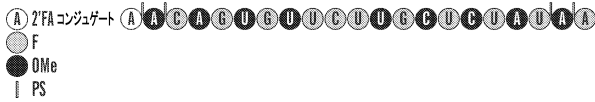
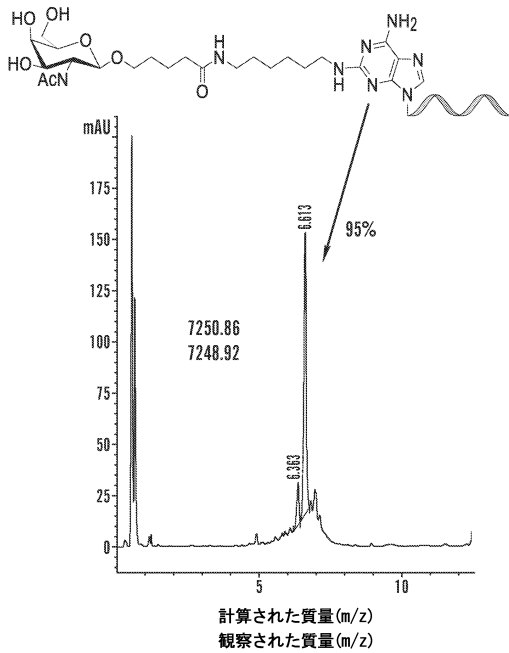
40

50

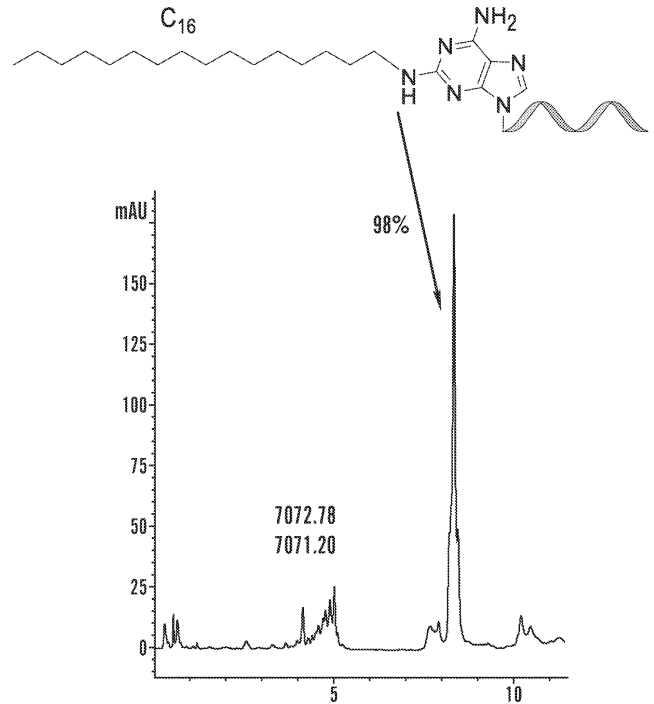
【図 15 - 1】

固体支持体での合成後コンジュゲーション  
粗コンジュゲーションのLCMS分析

*N*-アセチルガラクトサミン



【図 15 - 2】

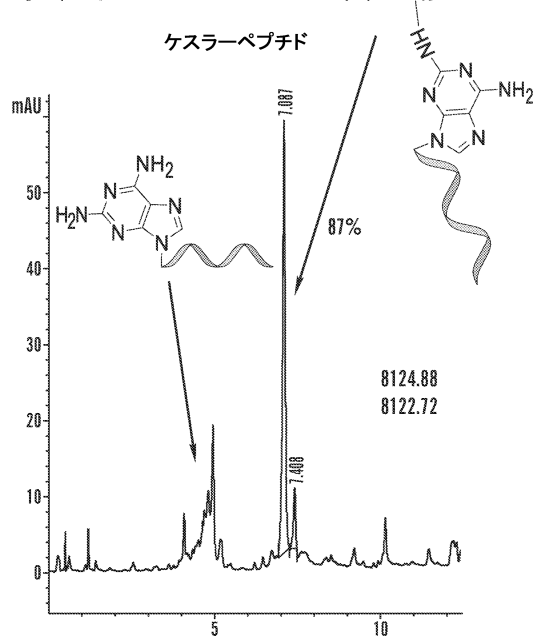


10

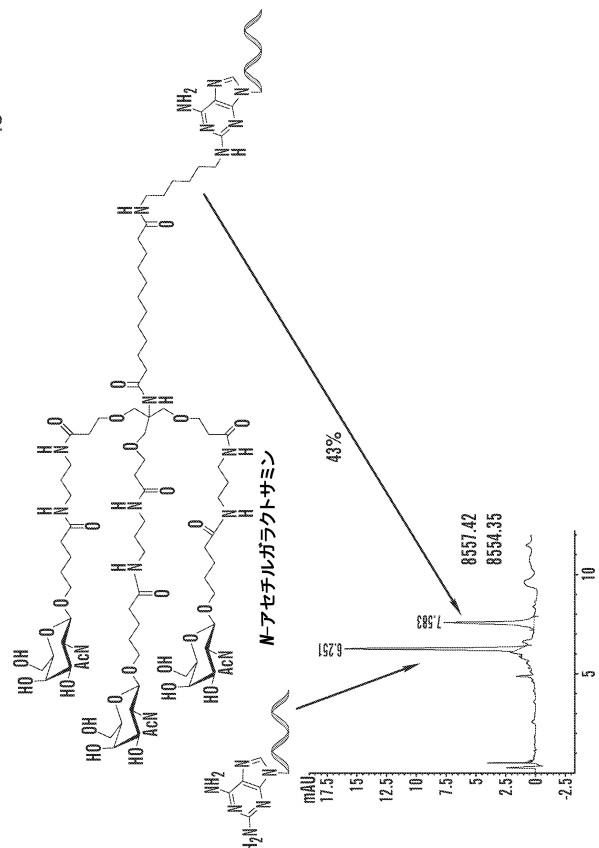
20

【図 15 - 3】

シクロ [Phe-Arg-Gly-Asp-Leu-Ala-Phe-D-Pro-N-MeLys(PEG4)]



【図 15 - 4】



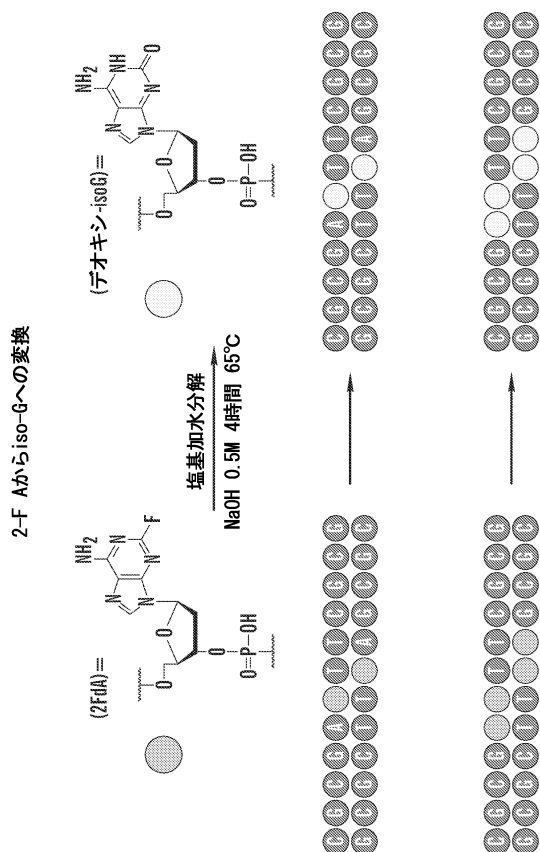
30

40

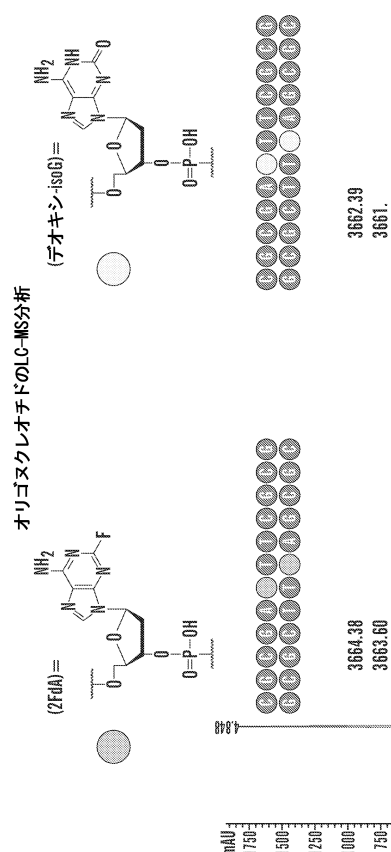
50



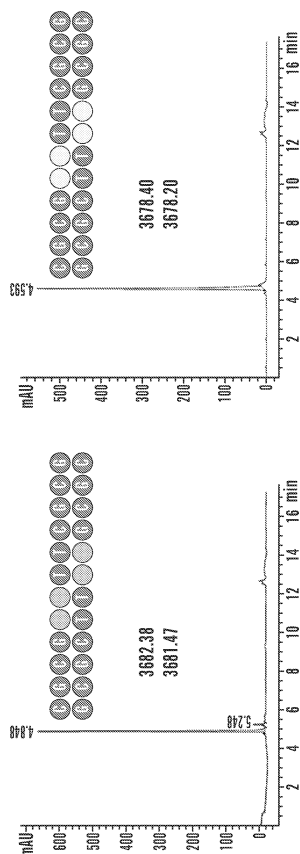
【図 19】



【圖 20-1】



【図 20-2】



10

20

30

40

【手続補正書】

【提出日】令和6年6月28日(2024.6.28)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2024526730000001.xml

10

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US22/37260

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - INV. A61K 31/7115; A61K 31/7088; A61K 31/712; A61K 31/7125; C07H 19/173; C07H 19/20; C07H 21/02 (2022.01)  
ADD.  
CPC - INV. A61K 31/7115; A61K 31/7088; A61K 31/712; A61K 31/7125; C07H 19/173; C07H 19/20; C07H 21/02  
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
See Search History document

Electronic database consulted during the international search (name of database and, where practicable, search terms used)  
See Search History document

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category*             | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                   | Relevant to claim No.           |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| X<br>—<br>Y<br>—<br>A | US 2019/0185510 A1 (INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY ASCR,V.V.I.) 20 June 2019; paragraphs [0188], [0959]                                                                             | 33-36<br>—<br>1-3<br>—<br>50-51 |
| Y                     | JP 3681338 B2 (JAPAN SCIENCE AND TECH CORP, JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) 10 August 2005; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation                                       | 1-3                             |
| A                     | WO 2008/100447 A2 (GILEAD SCIENCES, INC.) 21 August 2008; ; page 240, lines 10-15; page 241, lines 1-10                                                                                              | 50-51                           |
| A                     | US 2012/0142897 A1 (UNIVERSITE D'ORLEANS, et al.) 7 June 2012; paragraph [0230]                                                                                                                      | 50-51                           |
| A                     | (PRADERE, U et al.) Synthesis of Nucleoside Phosphate and Phosphonate Prodrugs. Chemical Reviews, Vol. 114, Vol. 1, doi: 10.1021/cr5002035, 24 September 2014, pages 9154-9218; page 9161, scheme 19 | 50-51                           |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
"D" document cited by the applicant in the international application  
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date  
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 October 2022 (12.10.2022)

Date of mailing of the international search report

**JAN 10 2023**

Name and mailing address of the ISA/

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450  
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Shane Thomas

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US22/37260

Box No. 1 Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☐ forming part of the international application as filed.
- b. ☒ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),  
☒ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US22/37260

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 4-32, 37-49, 55-56, 59-87  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

-\*\*\*-Please See Supplemental Page-\*\*\*-

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
Group I, Claims 1-3, 33-36, 50-51

## Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US22/37260

\*\*\*-Continued From Box No. III: Observations where unity of invention is lacking-\*\*\*

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, Claims 1-3, 33-36, 50-51, are directed toward a method for preparing an oligonucleotide comprising a nucleoside of Formula I having amino group attached to the C2 carbon atom of the purine base  
Group II, Claims 52-54, 57-58, are directed toward a method for preparing an oligonucleotide comprising a nucleoside of Formula X having oxo group attached to the C2 carbon atom of the purine base

The inventions listed as Groups I and II do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the special technical features of Groups I include a method for preparing an oligonucleotide comprising a nucleoside of Formula I having amino group attached to the C2 carbon atom of the purine base, which are not present in Group II; the special technical features of Group II include a method for preparing an oligonucleotide comprising a nucleoside of Formula X having oxo group attached to the C2 carbon atom of the purine base, which are not present in Group I.

Groups I and II share the technical features including a method for preparing an oligonucleotide comprising a group attached to the C2 carbon atom of the purine base, the method comprising reacting an oligonucleotide comprising a nucleoside of Formula II or XI with a compound.

However, these shared technical features are previously disclosed by JP 3681338 B2 (JAPAN SCIENCE AND TECH CORP., JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) (hereinafter "JAPAN") in view of US 2018/0185510 A1 (INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY ASCR,V.V.I.) (hereinafter "INSTITUTE").

JAPAN discloses a method for preparing an oligonucleotide comprising a group attached to the C2 carbon atom of the purine base (preparing the oligonucleotide DMTr-GATA(CP-G)TGGAC shown in figure 6 comprising cyclopropylguanosine CP-G, in which the cyclopropylguanosine was produced by substitution of the 2'-fluorine atom of the fluorinosine (F-I) in the oligonucleotide DMTr-GATA(F-I)TGGAC with cyclopropylamine, where DMTr-GATA(F-I)TGGAC was produced by introduction of the 6-nitrophenylethyl 2-fluorinosine phosphoramidite F shown in figure 5 in DMTr-GATA(O6-NPE-F-I)TGGAC oligonucleotide following by nitrophenylethyl deprotection at the C6 atom of the inosine, it is expected that the 5'-dimethoxy trityl and 3'-phosphoramidite groups are replaced by the standard diphosphate linkages as a result of the standard oligonucleotide synthesis; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation), where the stereo-chemical configuration of the compound is as shown (the stereo-chemical configuration of the sugar moiety of the cyclopropylguanosine CP-G derived from fluorinosine F-I is as shown; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation), the method comprising reacting an oligonucleotide comprising a nucleoside of Formula II with a compound (reacting oligonucleotide DMTr-GATA(F-I)TGGAC with cyclopropylamine; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation), wherein: RH is halogen fluoro (the fluorine atom is attached to the C2 carbon atom of the inosine base in the oligonucleotide DMTr-GATA(F-I)TGGAC; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation); R2 is hydrogen (the hydrogen atom is attached to the C2' carbon atom of the sugar moiety of inosine in DMTr-GATA(F-I)TGGAC or the sugar moiety of the guanosine in DMTr-GATA(CP-G)TGGAC; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation); R3 is a bond to an internucleotide linkage to a subsequent nucleotide (the subsequent nucleotide T of the fragment TGGAC is attached to the C3' carbon atom of the sugar moiety of the cyclopropylguanosine CP-G of the oligonucleotide DMTr-GATA(CP-G)TGGAC, or the subsequent nucleotide T of the fragment TGGAC is attached to the C3' carbon atom of the sugar moiety of the fluorinosine F-I of the oligonucleotide DMTr-GATA(F-I)TGGAC; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation); R4 is hydrogen (the hydrogen atom is attached to the C4 carbon atom of the sugar moiety in cyclopropylguanosine CP-G of DMTr-GATA(CP-G)TGGAC, or the sugar moiety in fluorinosine F-I of DMTr-GATA(F-I)TGGAC; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation); R5 represents a bond to an internucleotide linkage to a preceding nucleotide (the preceding nucleotide A of the fragment DMTr-GATA is attached to the C5' carbon atom of the sugar moiety of the cyclopropylguanosine CP-G of the oligonucleotide DMTr-GATA(CP-G)TGGAC, or the preceding nucleotide A of the fragment DMTr-GATA is attached to the C5' carbon atom of the sugar moiety of the fluorinosine F-I of the oligonucleotide DMTr-GATA(F-I)TGGAC; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation); R6 is hydrogen (a second hydrogen atom is attached to the nitrogen atom of the cyclopropylamine; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation); R7 is -L-RL, L is bond (a cyclopropyl moiety is attached directly to the nitrogen atom of the cyclopropylamine, i.e., L is bond; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation), RL is a ligand C3 alkyl (a cyclopropyl moiety is attached directly to the nitrogen atom of the cyclopropylamine, the applicants do not disclose if alkyl is linear, branched or cyclic, any alkyl fits description; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation), provided that at least one of R6 and R7 is not H (R7 is -L-RL, RL is a ligand C3 alkyl that is not H; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation) provided that, if no more than one of R2 and R3 is a bond to an internucleotide linkage to a subsequent nucleotide (R3 is a bond to an internucleotide linkage, R2 is hydrogen, the proviso is met; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation); and if when both of R2 and R3 are not a bond, then R5 is a bond to an internucleotide linkage to a preceding nucleotide (R3 is a bond to an internucleotide linkage, R5 represents a bond to an internucleotide linkage, the proviso is met; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation), where the stereo-chemical configuration of the compound of Formula II is as shown (the stereo-chemical configuration of the sugar moiety of the fluorinosine F-I is as shown; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation). JAPAN does not disclose the nucleotide comprising the amino group attached to the C6 carbon atom of the purine base. However, INSTITUTE discloses the nucleotide comprising the amino group attached to the C6 carbon atom of the purine base of the second nucleotide; paragraph [0188]). It would have been obvious to a person of ordinary skill in the art, at the time of the invention, to have modified the method, as previously disclosed by JAPAN, in order to have provided for the nucleotide comprising the amino group attached to the C6 carbon atom of the purine base, as previously disclosed by INSTITUTE (INSTITUTE; paragraph [0188]), for replacing the oxo group attached to the C6 carbon atom of the purine bases, with an amino group, for applying the methodology of substitution of the fluorine atom with alkylamino group at the C2 position of the purine base for modification of other purine based nucleotides, to improve stability of the purine bases in DNA against oxidation (JAPAN; figures 5, 6, original; abstract, translation; paragraphs [0013]-[0016], translation). Further, provided that JAPAN and INSTITUTE both disclose the oligonucleotides comprising purine bases, where the purine bases comprise fluorine atoms attached to the C2 carbon atom of the bases (JAPAN; figures 5, 6, original; paragraphs [0013]-[0016], translation) (INSTITUTE; INSTITUTE; paragraph [0188]), the modification to JAPAN's method, of providing for the nucleotide comprising the amino group attached to the C6 carbon atom of the purine base, would

\*\*\*\*-Continued Within the Next Supplemental Box-\*\*\*\*

10

20

30

40

50

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

|                                                 |
|-------------------------------------------------|
| International application No.<br>PCT/US22/37260 |
|-------------------------------------------------|

\*\*\*-Continued from previous Supplemental Box-\*\*\*

provide the benefit of replacing the oxy group attached to the C6 carbon atom of the purine bases, with an amino group, for applying the methodology of substitution of the fluorine atom with alkylamino group at the C2 position of the purine base for modification of other purine based nucleotides, to improve stability of the purine bases in DNA against oxidation (JAPAN; figures 5, 6, original; abstract, translation; paragraphs [0013]-[0016], translation).

Since none of the special technical features of the Groups I+, II+ and III+ is found in more than one of the inventions, and since all of the shared technical features are previously disclosed by the JAPAN and INSTITUTE references, unity of invention is lacking.

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

(32)優先日 令和3年9月21日(2021.9.21)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CV,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100188433

弁理士 梅村 幸輔

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100214396

弁理士 塩田 真紀

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(74)代理人 100221741

弁理士 酒井 直子

(74)代理人 100114926

弁理士 枝松 義恵

(72)発明者 マノハラン ムタイア

アメリカ合衆国 02142 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ウェスト ケンドール ストリート  
675 ヘンリ エイ. ターミア スクエア アルナイラム ファーマシューティカルズ, インコー  
ポレイテッド内

(72)発明者 マダウイ ミムナ

アメリカ合衆国 02142 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ウェスト ケンドール ストリート  
675 ヘンリ エイ. ターミア スクエア アルナイラム ファーマシューティカルズ, インコー  
ポレイテッド内

(72)発明者 ダッタ デウルバジヨティ

アメリカ合衆国 02142 マサチューセッツ州 ケンブリッジ ウェスト ケンドール ストリート  
675 ヘンリ エイ. ターミア スクエア アルナイラム ファーマシューティカルズ, インコー  
ポレイテッド内

Fターム(参考) 4C057 BB02 CC02 CC05 DD02 MM01

## 【要約の続き】

