

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7640452号

(P7640452)

(45)発行日 令和7年3月5日(2025.3.5)

(24)登録日 令和7年2月25日(2025.2.25)

(51)国際特許分類

F I

C 0 8 G 65/332 (2006.01)

C 0 8 G 65/332

A 6 1 K 47/14 (2017.01)

A 6 1 K 47/14

A 6 1 K 9/51 (2006.01)

A 6 1 K 9/51

A 6 1 K 47/56 (2017.01)

A 6 1 K 47/56

A 6 1 K 47/22 (2006.01)

A 6 1 K 47/22

請求項の数 26 (全172頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2021-515174(P2021-515174)

(86)(22)出願日 令和1年9月19日(2019.9.19)

(65)公表番号 特表2022-500543(P2022-500543
A)

(43)公表日 令和4年1月4日(2022.1.4)

(86)国際出願番号 PCT/US2019/051906

(87)国際公開番号 WO2020/061295

(87)国際公開日 令和2年3月26日(2020.3.26)

審査請求日 令和4年9月16日(2022.9.16)

(31)優先権主張番号 62/745,164

(32)優先日 平成30年10月12日(2018.10.12)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(31)優先権主張番号 62/733,456

(32)優先日 平成30年9月19日(2018.9.19)

最終頁に続く

(73)特許権者 513084469

モデルナティエックス インコーポレイ
テッド
ModernaTX, Inc.
アメリカ合衆国02142マサチューセ
ッツ州ケンブリッジ、ビニー・ストリー
ト325

(74)代理人 100188558

弁理士 飯田 雅人

(74)代理人 100195796

弁理士 塩尻 一尋

(72)発明者 エーン・アルマーソン

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・0
2138・ケンブリッジ・ホルワシー
・ストリート・74

最終頁に続く

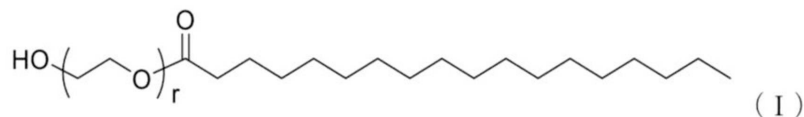
(54)【発明の名称】 高純度PEG脂質及びそれらの使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

複数の式(I)の化合物：

【化1】



、またはそれらの塩であって、式中、

 r は、独立して、42及び48を含めた42～48の整数である、複数の化合物またはそれらの塩であり、

前記複数の式(I)の化合物は、式(I)の化合物に関して87モル%以上の純度を有する、前記複数の化合物またはそれらの塩。

【請求項2】

 r が、独立して、44及び46を含めた44～46の整数である、または
 r が45である、請求項1に記載の複数の化合物。

【請求項3】

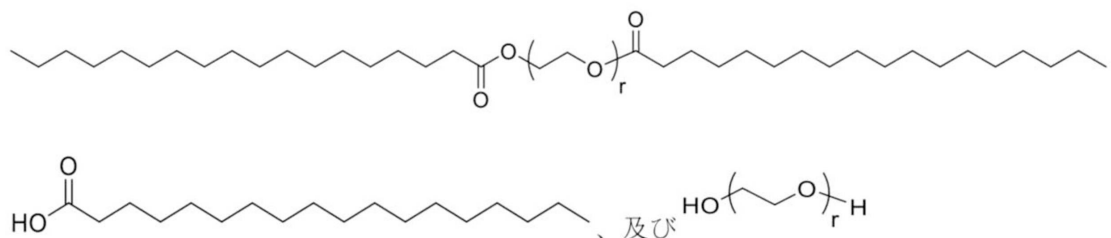
前記純度が87モル%を超える、または
前記純度が90モル%を超える、または
前記純度が95モル%を超える、または

前記純度が 98 モル%を超える、または
 前記純度が 99 モル%を超える、または
 前記純度が 90 モル%及び 100 モル%を含めた 90～100 モル%である、または
 前記純度が 90 モル%及び 95 モル%を含めた 90～95 モル%である、または
 前記純度が 95 モル%及び 100 モル%を含めた 95～100 モル%である、請求項 1 または 2 に記載の複数の化合物。

【請求項 4】

不純物を含む、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の複数の化合物であって、前記不純物が、

【化 2】



、またはそれらの塩のうちの 1 つ以上であり、ここで、 r は、独立して、42 及び 48 を含めた 42～48 の整数であり、

前記複数の化合物が、合計で 13 モル%未満の不純物を含む、または
 前記複数の化合物が、合計で 10 モル%未満の不純物を含む、または
 前記複数の化合物が、合計で 5 モル%未満の不純物を含む、または
 前記複数の化合物が、合計で 2 モル%未満の不純物を含む、または
 前記複数の化合物が、合計で 1 モル%未満の不純物を含む、複数の化合物。

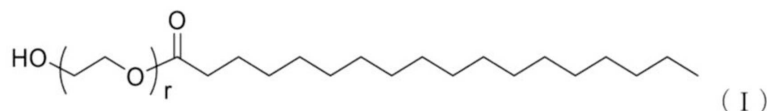
【請求項 5】

前記複数の化合物が、不純物を含まない、または
 前記複数の化合物が、請求項 4 に記載の前記 1 つ以上の不純物を含まない、または
 前記複数の化合物が、PEG を含まない、または
 前記複数の化合物が、式 (I) の化合物以外の脂質を含まない、または
 前記複数の化合物が、脂肪酸を含まない、請求項 1～3 のいずれか 1 項に記載の複数の化合物。

【請求項 6】

複数の式 (I) の化合物：

【化 3】



、またはそれらの塩であって、式中、

r は、独立して、35 及び 55 を含めた 35～55 の整数であり、
 前記複数の式 (I) の化合物は、式 (I) の化合物に関して 87 モル%以上の純度を有する、複数の化合物またはそれらの塩を含む脂質ナノ粒子 (LNP)。

【請求項 7】

r が、独立して、40 及び 50 を含めた 40～50 の整数である、または
 r が、独立して、42 及び 48 を含めた 42～48 の整数である、または
 r が、独立して、44 及び 46 を含めた 44～46 の整数である、または
 r が 45 である、請求項 6 に記載の LNP。

【請求項 8】

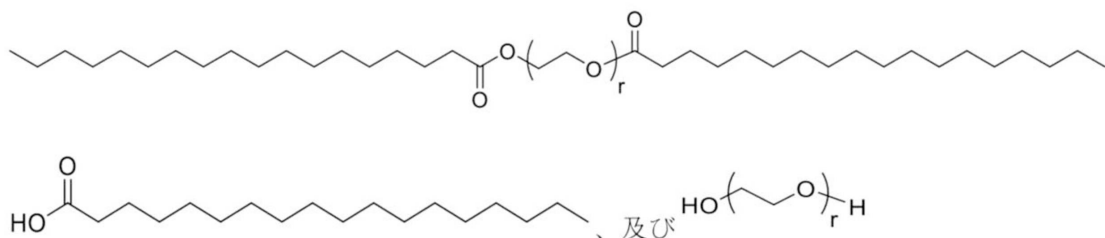
前記純度が 87 モル%を超える、または
 前記純度が 90 モル%を超える、または

前記純度が 95 モル%を超える、または
 前記純度が 98 モル%を超える、または
 前記純度が 99 モル%を超える、または
 前記純度が 90 モル%及び 100 モル%を含めた 90～100 モル%である、または
 前記純度が 90 モル%及び 95 モル%を含めた 90～95 モル%である、または
 前記純度が 95 モル%及び 100 モル%を含めた 95～100 モル%である、請求項 6 または 7 に記載の LNP。

【請求項 9】

前記複数の化合物が、不純物を含み、前記不純物が、

【化 4】



、またはそれらの塩のうちの 1 つ以上であり、ここで、 r は、独立して、35 及び 55 を含めた 35～55 の整数であり、

前記複数の化合物が、合計で 13 モル%未満の不純物を含む、または
 前記複数の化合物が、合計で 10 モル%未満の不純物を含む、または
 前記複数の化合物が、合計で 5 モル%未満の不純物を含む、または
 前記複数の化合物が、合計で 2 モル%未満の不純物を含む、または
 前記複数の化合物が、合計で 1 モル%未満の不純物を含む、請求項 6～8 のいずれか一項に記載の LNP。

【請求項 10】

前記複数の化合物が、不純物を含まない、または
 前記複数の化合物が、請求項 9 に記載の前記 1 つ以上の不純物を含まない、または
 前記複数の化合物が、PEG を含まない、または
 前記複数の化合物が、式 (I) の化合物以外の脂質を含まない、または
 前記複数の化合物が、脂肪酸を含まない、請求項 6～8 のいずれか 1 項に記載の LNP。

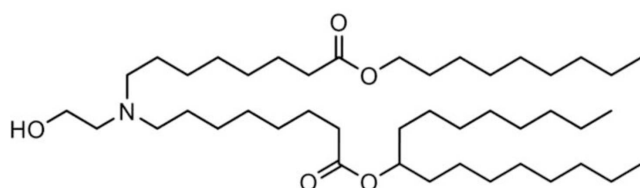
【請求項 11】

前記複数の式 (I) の化合物を 0.15～15 モル%含む、または
 前記複数の式 (I) の化合物を 1～2 モル%含む、または
 前記複数の式 (I) の化合物を 1.5 モル%含む、請求項 6～10 のいずれか 1 項に記載の LNP。

【請求項 12】

さらに、イオン性アミノ脂質を含む、請求項 6～11 のいずれか 1 項に記載の LNP であって、任意に
 前記イオン性アミノ脂質が、

【化 5】



化合物 (B)

10

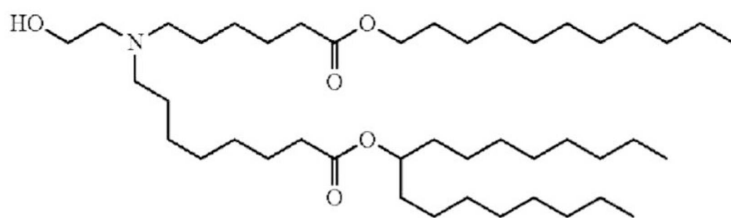
20

30

40

50

【化6】

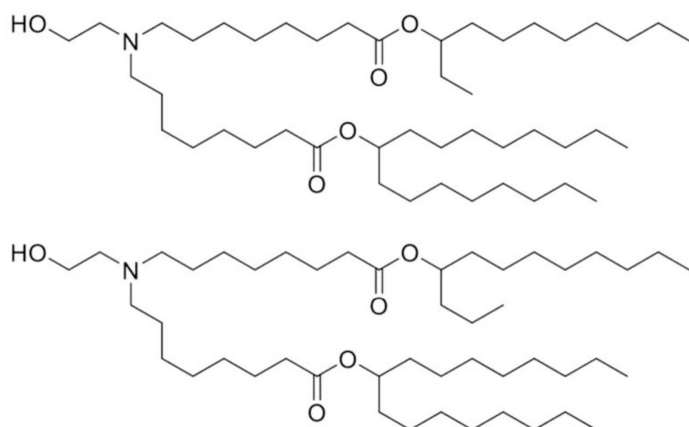


化合物 (C)

10

、及びそれらの医薬的に許容される塩からなる群から選択される、または前記イオン性アミノ脂質が、

【化7】



20

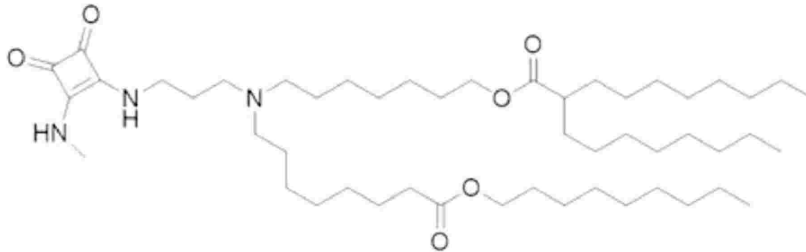
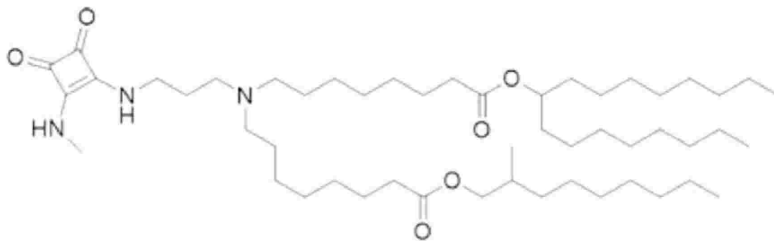
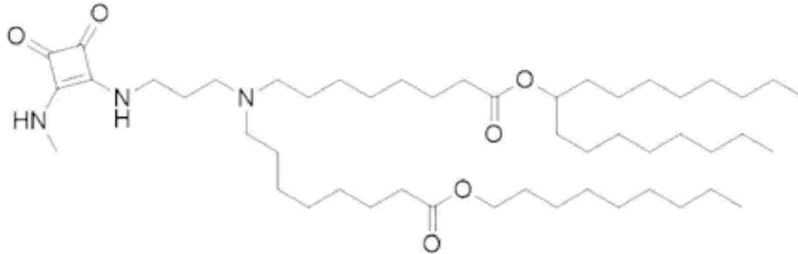
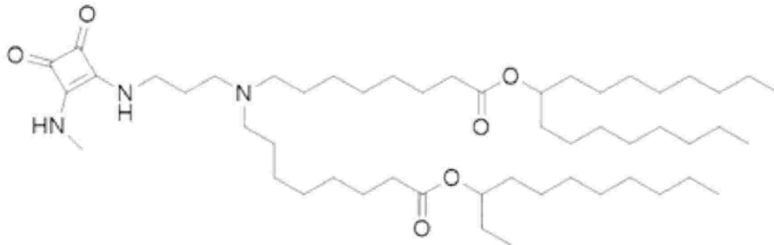
、及びそれらの医薬的に許容される塩からなる群から選択される、または前記イオン性アミノ脂質が、

30

40

50

【化 8】



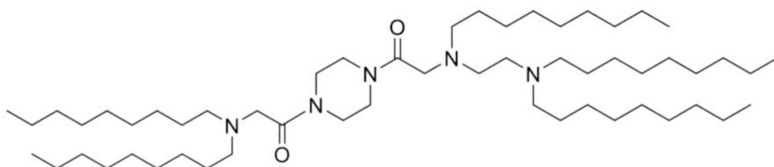
10

20

30

、及びそれらの医薬的に許容される塩からなる群から選択される、または
前記イオン性アミノ脂質が、構造：

【化 9】



40

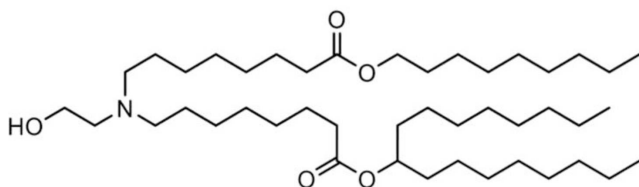
、のもの、またはその医薬的に許容される塩である、及び／または
前記イオン性アミノ脂質が、他の脂質に対してモル比 25～65% で存在する、または
前記イオン性アミノ脂質が、他の脂質に対してモル比 40% 以下で存在する、または
前記イオン性アミノ脂質が、他の脂質に対してモル比 25～40% で存在する、LNP。

【請求項 13】

前記イオン性アミノ脂質が、

50

【化 10】



化合物 (B)

、またはそれらの医薬的に許容される塩である、請求項 12 に記載の LNP。

【請求項 14】

10

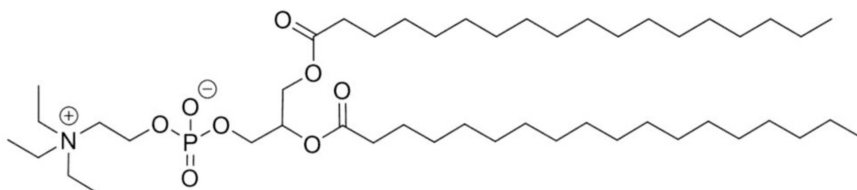
さらに、ヘルパー脂質を含む、請求項 6～13 のいずれか 1 項に記載の LNP であって、任意に

前記ヘルパー脂質が、DSPC またはその類似体である、または

前記ヘルパー脂質が、DSPC である、または

前記ヘルパー脂質が、構造：

【化 11】



20

のもの、またはその医薬的に許容される塩である、または

前記ヘルパー脂質が、DOPE である、または

前記ヘルパー脂質が、オレイン酸またはその類似体である、及び／または

前記ヘルパー脂質が、他の脂質に対してモル比 10～40% で存在する、または

前記ヘルパー脂質が、他の脂質に対してモル比 30% で存在する、または

前記ヘルパー脂質が、他の脂質に対してモル比 20% で存在する、LNP。

【請求項 15】

30

さらに、構造脂質を含む、請求項 6～14 のいずれか 1 項に記載の LNP であって、

前記構造脂質が、ステロールである、または

前記構造脂質が、コレステロールである、及び／または

前記構造脂質が、他の脂質に対してモル比 30～50% で存在する、または

前記構造脂質が、他の脂質に対してモル比 38.5% で存在する、LNP。

【請求項 16】

前記 LNP が、複数の式 (I) の化合物、イオン性アミノ脂質、ヘルパー脂質、及び構造脂質を含む、または

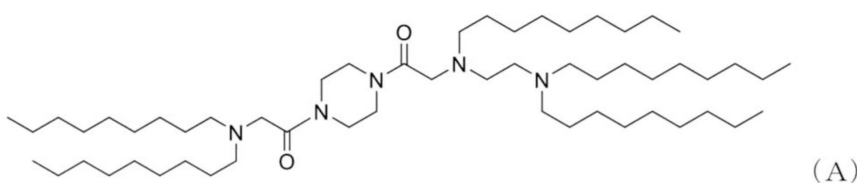
前記 LNP が、モル比 25～65% のイオン性アミノ脂質、0.15～15% の複数の式 (I) の化合物、30～50% の構造脂質、及び 10～40% のヘルパー脂質を含む、請求項 6～15 のいずれか 1 項に記載の LNP。

40

【請求項 17】

化合物 (A)：

【化 12】



(A)

、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の複数の式 (I) の化合物、1,2-ジオレオイル

50

－sn－グリセロ－3－ホスホエタノールアミン（DOPE）、及びコレステロールを含む、脂質ナノ粒子（LNP）であって、任意に

化合物（A）が、他の脂質に対してモル比40%以下で存在する、または

化合物（A）が、他の脂質に対してモル比25%及び35%を含めた25～35%で存在する、または

化合物（A）が、他の脂質に対してモル比30%で存在する、及び／または

前記式（I）の化合物が、他の脂質に対してモル比0.15～15%で存在する、または

前記式（I）の化合物が、他の脂質に対してモル比1～2%で存在する、または

前記式（I）の化合物が、他の脂質に対してモル比1.5%で存在する、及び／または

DOPEが、他の脂質に対してモル比20～40%で存在する、または

DOPEが、他の脂質に対してモル比30%で存在する、及び／または

コレステロールが、他の脂質に対してモル比30～50%で存在する、または

コレステロールが、他の脂質に対してモル比38.5%で存在する、LNP。

【請求項18】

前記LNPが、モル比40%以下の化合物（A）、0.15～15%の式（I）の化合物、20～40%のDOPE、及び30～50%のコレステロールを含む、または

前記LNPが、モル比25～35%の化合物（A）、1～2%の式（I）の化合物、25～35%のDOPE、及び35～42%のコレステロールを含む、または

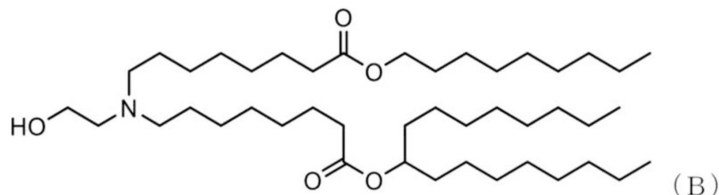
前記LNPが、化合物（A）：式（I）の化合物：DOPE：コレステロールを、モル比30：30：38.5：1.5で含む、または

前記LNPが、化合物（A）：式（I）の化合物：DOPE：コレステロールを、モル比40：20：38.5：1.5で含む、請求項17に記載のLNP。

【請求項19】

化合物（B）：

【化13】



、請求項1～5のいずれか1項に記載の複数の式（I）の化合物、1，2－ジステアロイル－sn－グリセロ－3－ホスホコリン（DSPC）、及びコレステロールを含む、脂質ナノ粒子（LNP）であって、任意に

化合物（B）が、他の脂質に対してモル比30～45%で存在する、または

化合物（B）が、他の脂質に対してモル比40%以下で存在する、または

化合物（B）が、他の脂質に対してモル比25%及び35%を含めた25～35%で存在する、または

化合物（B）が、他の脂質に対してモル比30%で存在する、及び／または

前記式（I）の化合物が、他の脂質に対してモル比0.15～15%で存在する、または

前記式（I）の化合物が、他の脂質に対してモル比1～2%で存在する、または

前記式（I）の化合物が、他の脂質に対してモル比1.5%で存在する、及び／または

DSPCが、他の脂質に対してモル比20～40%で存在する、または

DSPCが、他の脂質に対してモル比30%で存在する、及び／または

コレステロールが、他の脂質に対してモル比30～50%で存在する、または

コレステロールが、他の脂質に対してモル比38.5%で存在する、LNP。

【請求項20】

前記LNPが、モル比40%以下の化合物（B）、0.15～15%の式（I）の化合物、20～40%のDSPC、及び30～50%のコレステロールを含む、または

前記LNPが、モル比25～35%の化合物（B）、1～2%の式（I）の化合物、25

～35%のDSPC、及び35～42%のコレステロールを含む、または

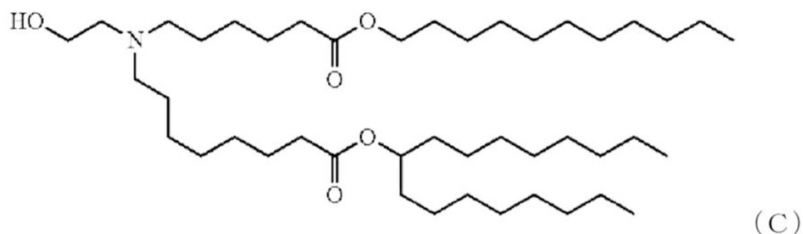
化合物(B)：式(I)の化合物：DSPC：コレステロールを、モル比30：30：38.5：1.5で含む、または

化合物(B)：式(I)の化合物：DSPC：コレステロールを、モル比40：20：38.5：1.5で含む、請求項19に記載のLNP。

【請求項21】

化合物(C)：

【化14】



10

、請求項1～5のいずれか1項に記載の複数の式(I)の化合物、1,2-ジステアロイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC)、及びコレステロールを含む、脂質ナノ粒子(LNP)であって、任意に

化合物(C)が、他の脂質に対してモル比30～45%で存在する、または

化合物(C)が、他の脂質に対してモル比40%以下で存在する、または

化合物(C)が、他の脂質に対してモル比25%及び35%を含めた25～35%で存在する、または

20

化合物(C)が、他の脂質に対してモル比30%で存在する、及び／または

前記式(I)の化合物が、他の脂質に対してモル比0.15～15%で存在する、または

前記式(I)の化合物が、他の脂質に対してモル比1～2%で存在する、または

前記式(I)の化合物が、他の脂質に対してモル比1.5%で存在する、及び／または

DSPCが、他の脂質に対してモル比20～40%で存在する、または

DSPCが、他の脂質に対してモル比30%で存在する、及び／または

コレステロールが、他の脂質に対してモル比30～50%で存在する、または

コレステロールが、他の脂質に対してモル比38.5%で存在する、LNP。

30

【請求項22】

前記LNPが、モル比40%以下の化合物(C)、0.15～15%の式(I)の化合物、20～40%のDSPC、及び30～50%のコレステロールを含む、または

前記LNPが、モル比25～35%の化合物(C)、1～2%の式(I)の化合物、25～35%のDSPC、及び35～42%のコレステロールを含む、または

前記LNPが、化合物(C)：式(I)の化合物：DSPC：コレステロールを、モル比30：30：38.5：1.5で含む、または

前記LNPが、化合物(C)：式(I)の化合物：DSPC：コレステロールを、モル比40：20：38.5：1.5で含む、請求項21に記載のLNP。

【請求項23】

40

さらに、治療薬を含む、請求項6～22のいずれか1項に記載のLNPであって、任意に前記治療薬が、核酸である、または

前記治療薬が、RNAである、または

前記治療薬が、mRNAである、及び／または

N/P比が、2.0及び5.0を含めた2.0～5.0である、または

N/P比が、2.5～3.5である、または

N/P比が、3.0である、LNP。

【請求項24】

さらに、対象における免疫応答を阻害する薬剤を含む、請求項23に記載のLNPであって、任意に

50

前記 L N P が、87 モル%未満の純度を有する複数の式 (I) の化合物を含む L N P と比較して、I g M 結合が低い、または
前記 L N P が、87 モル%未満の純度を有する複数の式 (I) の化合物を含む L N P と比較して、A p o E 結合が高い、または
前記 L N P が、87 モル%未満の純度を有する複数の式 (I) の化合物を含む L N P と比較して、加速血中クリアランス (A B C) の影響を受けにくい、L N P。

【請求項 25】

請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の複数の化合物、または請求項 6～24 のいずれか 1 項に記載の L N P を含む、医薬組成物。

【請求項 26】

治療薬を対象に送達する方法であって、前記対象に対して、請求項 6～24 のいずれか 1 項に記載の L N P を投与することを含む前記方法であり、前記 L N P は、前記治療薬をカプセル化する、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、米国特許法第 119 条 (e) の定めにより、2018 年 9 月 19 日に出願された米国仮特許出願第 U. S. S. N. 62/733, 456 号、及び 2018 年 10 月 12 日に出願された米国仮特許出願第 U. S. S. N. 62/745, 164 号の優先権を主張する。これらの各々の全内容は、参照することにより本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

ポリエチレングリコール単位を含む脂質 (P E G 脂質) は、例えば、消費財、製剤処方、化粧品組成物、及び薬物送達において幅広い用途を有する。特に、P E G 脂質は、薬剤 (例えば、治療薬) のカプセル化及び送達用の脂質ナノ粒子 (L N P) の成分として有用である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【文献】米国仮特許出願第 U. S. S. N. 62/733, 456 号

【文献】米国仮特許出願第 U. S. S. N. 62/745, 164 号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

活性薬剤、例えば、小分子薬物、タンパク質、ペプチド、及び核酸の効果的なインビボ送達、継続的な医療の課題を象徴する。いくつかの薬剤及び／または粒子は、免疫系によって認識され、有効性が低下する。この問題に対処するため、ある特定の製剤には、薬剤を覆い隠すまたはマスクすると考えられている P E G 脂質等のポリマーが組み込まれており、それによってその抗原性及び免疫原性が低下する。しかしながら、これらの「ステルス」製剤でさえ、例えば、活性を失うことなく数日間にわたって繰り返し頻繁に投与することができない等の制限がある。さらに、いくつかの薬剤または製剤は、インビボで投与された際、1 つ以上の細胞または因子と相互作用する場合があります、潜在的にそれらの機能を阻害し、最終的には副作用をもたらす。かかる副作用は、該薬剤の投与頻度及び／または投薬量を制限する場合や、インビボでの使用を全く不可能にする場合もある。

【0005】

理想的な物理的特性及び生物学的性能を達成する L N P の製剤化は困難である。脂質成分の選択及び比率、カプセル化された薬剤に対する脂質成分の比率等を含め、いくつかの要因が L N P の特性及び性能を決定する。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本開示は、少なくとも部分的に、高純度のPEG脂質が、特に脂質ナノ粒子（LNP）製剤で使用される場合に、優れた物理的及び生物学的特性を示すという発見に基づく。従って、本開示は、例えば、LNP製剤等の製剤で用いるPEG脂質を、推奨される純度（少なくとも87%の純度）で提供する。

【0007】

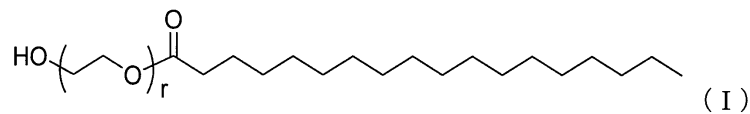
本明細書に提供するのは、PEG脂質に関して87%以上の純度を有する複数のPEG脂質（すなわち、PEG脂質の混合物、バッチ、溶液等）（本明細書では、「高純度PEG脂質」とも呼ばれる）である。「PEG脂質」または「高純度PEG脂質」が本明細書で言及される場合、該PEG脂質は、該PEG脂質に関して87%以上の禁止（proscribed）純度を有する。該PEG脂質は、組成物または製剤の一部であることができ、該組成物または製剤は、他の成分を含んでもよい。PEG脂質のいくつかの非限定的な例を本明細書に提供する。

10

【0008】

例えば、ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、複数の式（I）の化合物、またはそれらの塩である。本明細書に提供するのは、複数の式（I）の化合物：

【化1】



(I)

20

、またはそれらの塩であり、式中、rは、独立して、35及び55を含めた35～55の整数であり、該複数の化合物は、式（I）の化合物に関して87%以上の純度を有する。

【0009】

本明細書に提供する複数のPEG脂質は、他の成分、例えば、溶媒、担体、賦形剤等を含んでもよく、従って、溶液の形態であっても、組成物の形態であってもよい。該PEG脂質が溶液または組成物の一部である場合、禁止（proscribed）／推奨される純度（例えば、87%以上）は、該溶液または組成物の該PEG脂質成分に関するものであることを理解されたい。

30

【0010】

本明細書に提供する高純度PEG脂質は、脂質ナノ粒子（LNP）製剤を含む医薬組成物、化粧品組成物、及び薬物送達システムに用途を有する。従って、本明細書に提供するのは、本明細書に提供する複数のPEG脂質を含むLNP（すなわち、PEG脂質に関して87%以上の純度を有する複数のPEG脂質、例えば、式（I）の化合物に関して87%以上の純度を有する複数の式（I）の化合物）である。

【0011】

高純度のPEG脂質に加えて、本明細書に記載の任意の製剤または組成物（例えば、LNP製剤）は、PEG脂質以外の脂質を含み得る。ある特定の実施形態では、本明細書に提供するLNPは、さらに、イオン性アミノ脂質、ヘルパー脂質、及び／または構造脂質を含む。ある特定の実施形態では、本明細書に提供するLNPは、本明細書に提供する複数のPEG脂質（例えば、本明細書に提供する複数の式（I）の化合物）、イオン性アミノ脂質、ヘルパー脂質、及び構造脂質を含む。PEG脂質、イオン性アミノ脂質、ヘルパー脂質、及び構造脂質のいくつかの非限定的な例を本明細書に提供する。本明細書に提供するLNPは、治療薬の送達に有用であり、従って、1つ以上の薬剤（例えば、治療薬）を含み得る（例えば、カプセル化し得る）。

40

【0012】

本明細書に記載のPEG脂質及びLNPは、最先端の製剤と比較して、改善された物理的及び生物学的特性を有する場合がある。脂質ナノ粒子（LNP）は、対象への投与後に

50

自然免疫応答を誘発するのが一般的である。いくつかの例では、ホスファチジルコリン等のLNPの成分は、天然のIgM及び／またはIgG分子の産生を誘導する場合があり、これは、B1細胞、例えば、B1a及び／またはB1b細胞の活性化によって媒介され得る。これらの生物学的メカニズムは、加速血中クリアランス（ABC）及び用量制限毒性、例えば、急性期反応（APR）、ならびに補体活性化関連仮性アレルギー（CARPA）を含めたLNPが引き起こす薬物反応の一因となり得る。免疫系による認識、ひいてはクリアランス（例えば、ABC）の影響を受けにくいLNP製剤が開発された。いくつかの最先端のLNP製剤は、クリアランスプロファイルが改善されており、いくつかの例では、毒性プロファイルが改善されている。血中クリアランスの影響を受けにくいLNP製剤のいくつかの例については、2017年6月15日に公開された国際公開第WO2017/099823号を参照されたい。その全内容は、参照することにより本明細書に組み込まれる。

10

【0013】

本開示は、一つには、高純度PEG脂質を含むLNPが、身体による認識及びクリアランスの影響を受けにくいことを含め、改善された物理的及び生物学的特性を有するという発見に関する。例えば、ある特定の実施形態では、本明細書に記載のLNP製剤（すなわち、複数のPEG脂質を推奨純度87%以上で含む）は、純度が87%未満の複数のPEG脂質を含むLNP製剤と比較して、加速血中クリアランス（ABC）の影響を受けにくい。例えば、ある特定の実施形態では、本明細書に記載の複数の式（I）の化合物を含む（すなわち、推奨純度87%以上で含む）LNP製剤は、純度が87%未満の複数の式（I）の化合物を含むLNP製剤と比較して、加速血中クリアランス（ABC）の影響を受けにくい。本明細書に記載の高純度PEG脂質を含むLNP製剤はまた、より低純度の製剤と比較して、B細胞結合（例えば、B1a及び／またはB1b細胞）が減少及び／またはIgM結合が減少し得る。

20

【0014】

本開示はまた、本明細書に記載の高純度PEG脂質を含む医薬組成物及び化粧品組成物を提供する。別の態様では、本開示は、本明細書に記載の複数のLNPを含む組成物を提供する。

【0015】

別の態様では、本開示は、1つ以上の治療薬を対象に送達するための方法を提供し、該方法は、該対象に対して、本明細書に提供するLNPを投与することを含み、該LNPは、該目的の1つ以上の治療薬をカプセル化する。

30

【0016】

いくつかの例では、1つ以上の治療薬を送達するための方法は、
（i）薬剤の初回用量を対象に投与すること、
（ii）該薬剤の2回目以降の用量を該対象に投与することであるとともに、該2回目以降の投与を、初回または前回の投与から2週間以内に施すこと、及び
（iii）ステップ（ii）を1回以上繰り返すことを含み得る。
ある特定の実施形態では、該薬剤は、ABCを促進しないLNPとともに製剤化される。本明細書に記載の通り、かかるLNPは、本明細書に記載の高純度PEG脂質を含み得る。ある特定の実施形態では、2回目及びそれ以降の投与後の該薬剤の半減期は、初回投与後の該薬剤の半減期の少なくとも50%以上である。ある特定の実施形態では、2回目及びそれ以降の投与後の該薬剤の活性または血中濃度は、初回投与後の該薬剤の活性または血中濃度の少なくとも50%以上である。

40

【0017】

さらに別の態様では、本明細書に提供するものは、本明細書に提供するPEG脂質（例えば、式（I）の化合物）を調製するための方法である。

【0018】

本発明のある特定の実施形態の詳細は、下記の通り、発明を実施するための形態に記載する。本発明の他の特徴、目的、及び利点は、定義、実施例、図面、及び特許請求の範囲

50

から明らかになるであろう。

【0019】

本明細書の一部を構成する添付の図面は、本発明のいくつかの実施形態を説明し、その記載とともに、本発明の原理を説明するのに役立つ。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】式(I)のPEG脂質(別名HO-PEG-ステアレート、PEG-ステアレート、化合物(I))及び関連する不純物の構造。

【図2】様々な純度のPEG脂質で製剤化したLNPの動的光散乱(DSL)プロファイル(ロット番号5:純度97.8%、Corden:純度98.5%、BioVectra:純度86.6%、Sigma:純度43.8%)。DSLにより、純度が高いPEG脂質で製剤化したLNPほど、粒度分布(PSD)が鋭くなることが示される。

【図3】LNP中の脂質(HO-PEG-ステアレート、化合物(B)、コレステロール、DSPC)の超高速高分離液体クロマトグラフィー-荷電化粒子検出(UPLC-CA D)クロマトグラム。

【図4】様々な純度のPEG脂質を含むLNP製剤のヘパリン-セファロースカラム結合。

【図5】各LNP製剤のPEG放出は同じであることが分かった。各製剤について、すべてのPEGは最初の時点(30分)で放出される。

【図6】蛍光によるカプセル化の血液脱出インビトロ(BEEFI)アッセイを使用したアクセス可能なmRNAの測定量。より高純度の式(I)の化合物を用いた製剤は、より多くのアクセス可能なmRNA量をRibogreen検出によって示した。

【図7】高度に不純な式(I)のPEG脂質を使用したLNP製剤のPSD。LNPは、表7及び表8に従って製剤化した(実施例参照)。

【図8】様々な純度のPEG脂質で製剤化した蛍光タグ付きLNPのPSD。*Sigmaの化合物(I)を1回添加、最終製剤中約0.6~0.7mol%の化合物(I)。**Sigmaの化合物(I)を2回添加、最終製剤中約1.3~1.4mol%の化合物(I)。

【図9】様々な純度のPEG脂質を含むLNPでのApoE結合アッセイ。*Sigmaの化合物(I)を1回添加、最終製剤中約0.6~0.7mol%の化合物(I)。**Sigmaの化合物(I)を2回添加、最終製剤中約1.3~1.4mol%の化合物(I)。

【図10】様々な純度のPEG脂質を含むLNPでのIgMアッセイ。ナイーブ血清で測定したシグナルは、PCエпитープから生じる天然のIgMの結合を示す。*Sigmaの化合物(I)を1回添加、最終製剤中約0.6~0.7mol%の化合物(I)。**Sigmaの化合物(I)を2回添加、最終製剤中約1.3~1.4mol%の化合物(I)。より高純度のPEG脂質を含むLNPは、純度の低い製剤と比較して、かなり低いIgMへの結合を示す。

【図11】化合物(I)の例示的合成。

【図12A】化合物(I)のIRスペクトル。

【図12B】重水素化クロロホルム(CDCl₃)中での化合物(I)のプロトン(¹H)NMRスペクトル。

【図12C】重水素化クロロホルム(CDCl₃)中での化合物(I)の炭素(¹³C)NMRスペクトル。

【図12D】化合物(I)のMALDI-TOFスキャンマスペクトル。

【図13】式(I)の化合物(PEG2000ステアレート)の調製のための例示的な合成/精製方法を概説するフローチャートを示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

本開示は、1つには、例えば、医薬組成物、化粧品組成物、及び薬物送達システムに使用するための、例えば、脂質ナノ粒子(LNP)製剤で用いる、特定の純度のPEG脂質

10

20

30

40

50

(「高純度 P E G 脂質」) を提供する。本開示はまた、本明細書に記載の高純度 P E G 脂質を含む L N P、及びその使用方法を提供する。例えば、本明細書に提供する L N P は、薬剤 (例えば、治療薬) の対象への送達に有用である。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する L N P は、対象への投与後、たとえ感受性があつたとしても、加速血中クリアランス (A B C) の影響を受けにくい。

【0022】

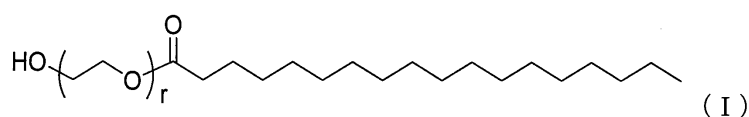
高純度 P E G 脂質

本明細書に提供するものは、P E G 脂質に関して 87% 以上の純度を有する複数の P E G 脂質である。「P E G 脂質」が本明細書で言及される場合 (本明細書では、「高純度 P E G 脂質」とも呼ばれる)、該 P E G 脂質の混合物が、該 P E G 脂質に関して禁止 (p r o s c r i b e d) / 推奨される 87% 以上の純度を有することを意味する。ある特定の実施形態では、該複数の P E G 脂質中の P E G 脂質は、同じ P E G 脂質である。ある特定の実施形態では、該複数の P E G 脂質は、P E G 脂質の混合物を含む。P E G 脂質とは、P E G (ポリエチレングリコール) 基を含む任意の脂質である。P E G 脂質の非限定的な例を本明細書に提供する。

【0023】

例えば、ある特定の実施形態では、P E G 脂質は、式 (I) の化合物：

【化2】



、またはその塩であり、式中、 r は、独立して、35 及び 55 を含めた 35 ~ 55 の整数である。

【0024】

本明細書に提供する複数の P E G 脂質は、他の成分、例えば、溶媒、担体、賦形剤等を含んでもよく、従って、溶液の形態であっても、組成物の形態であってもよい。該 P E G 脂質が溶液または組成物の一部である場合、禁止 (p r o s c r i b e d) / 推奨される純度 (例えば、87% 以上) は、該溶液または組成物の該 P E G 脂質成分に関するものであることを理解されたい。

【0025】

本明細書に記載の通り、該複数の P E G 脂質は、P E G 脂質に関して 87% を超える純度を有する。ある特定の実施形態では、該純度は 90% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 91% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 92% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 93% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 94% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 95% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 96% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 97% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 98% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 98.5% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.1% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.2% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.3% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.4% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.5% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.6% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.7% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.8% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.9% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 100% である。

【0026】

ある特定の実施形態では、該複数の P E G 脂質は、P E G 脂質に関して、87% 及び 1

00%を含めた87~100%の純度を有する。ある特定の実施形態では、該純度は、87%及び99.9%を含めた87~99.9%である。

【0027】

ある特定の実施形態では、該純度は、87%及び90%を含めた87~90%である。ある特定の実施形態では、該純度は、90%及び95%を含めた90~95%である。ある特定の実施形態では、該純度は、95%及び100%を含めた95~100%である。ある特定の実施形態では、該純度は、95%及び99.9%を含めた95~99.9%である。

【0028】

ある特定の実施形態では、該純度は、90%及び100%を含めた90~100%である。ある特定の実施形態では、該純度は、90%及び99.9%を含めた90~99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、91%及び99.9%を含めた91~99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、92%及び99.9%を含めた92~99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、93%及び99.9%を含めた93~99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、94%及び99.9%を含めた94~99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、95%及び99.9%を含めた95~99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、96%及び99.9%を含めた96~99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、97%及び99.9%を含めた97~99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、98%及び99.9%を含めた98~99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、99%及び99.9%を含めた99~99.9%である。

【0029】

ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、PEG脂質に関して、約87%の純度を有する。ある特定の実施形態では、該純度は約87.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約88%である。ある特定の実施形態では、該純度は約88.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約89%である。ある特定の実施形態では、該純度は約89.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約90%である。ある特定の実施形態では、該純度は約90.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約91%である。ある特定の実施形態では、該純度は約91.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約92%である。ある特定の実施形態では、該純度は約92.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約93%である。ある特定の実施形態では、該純度は約93.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約94%である。ある特定の実施形態では、該純度は約94.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約95%である。ある特定の実施形態では、該純度は約95.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約96%である。ある特定の実施形態では、該純度は約96.6%である。ある特定の実施形態では、該純度は約97%である。ある特定の実施形態では、該純度は約97.7%である。ある特定の実施形態では、該純度は約98%である。ある特定の実施形態では、該純度は約98.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約99%である。ある特定の実施形態では、該純度は約99.5%である。ある特定の実施形態では、該純度は約99.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は約100%である。ある特定の実施形態では、該純度は、約98.1%、98.2%、98.3%、98.4%、98.5%、98.6%、98.7%、98.8%、または98.9%である。ある特定の実施形態では、該純度は、約99.1%、99.2%、99.3%、99.4%、99.5%、99.6%、99.7%、99.8%、または99.9%である。

【0030】

ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、PEG脂質から本質的になる。

【0031】

ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、他の化合物を実質的に含まない。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、不純物を実質的に含まない。「不純物」という用語は、該PEG脂質以外の化合物を指す。ある特定の実施形態では、該複数のP

PEG脂質は、合計で13%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で12%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で11%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で10%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で9%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で8%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で7%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で6%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で5%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で4%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で3%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で2%未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、合計で1%未満の不純物を含む。

10

【0032】

ある特定の実施形態では、該不純物は、1つ以上の脂肪酸を含む。ある特定の実施形態では、該不純物は、1つ以上のPEGポリマーを含む。ある特定の実施形態では、該不純物は、1つ以上の脂肪酸及び1つ以上のPEGポリマーを含む。

【0033】

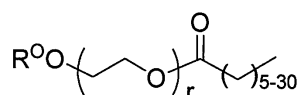
ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、PEGを実質的に含まない。ある特定の実施形態では、該複数のPEG脂質は、脂肪酸を実質的に含まない。「実質的に含まない」とは、不純物に関して本明細書で使用される場合、最大で0～5%の不純物が存在することを指す。ある特定の実施形態では、0～2%の不純物が存在し得る。ある特定の実施形態では、0～1%の不純物が存在し得る。

20

【0034】

ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、以下の式の化合物：

【化3】



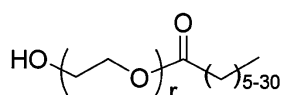
30

、またはその塩であり、式中、 r は、独立して、35及び55を含めた35～55の整数であり、 R^{O} は、水素、任意に置換されるアルキル、または酸素保護基である。

【0035】

ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、以下の式の化合物：

【化4】



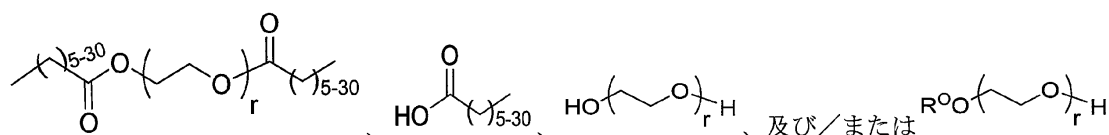
40

、またはその塩であり、式中、 r は、独立して、35及び55を含めた35～55の整数である。

【0036】

ある特定の実施形態では、該不純物は、以下：

【化5】



50

、またはそれらの塩のうちの1つ以上であり、式中、 r は、独立して、35及び55を含めた35～55の整数であり、 R^O は、水素、任意に置換されるアルキル、または酸素保護基である。

【0037】

本明細書に記載の通り、本発明は、1つには、高純度PEG脂質に関する。かかる種は、代替的にPEG化脂質と呼ばれることがある。PEG脂質の非限定的な例を本明細書に提供する。本発明において有用なPEG脂質のさらなる例を含めた他の実施形態については、2017年6月15日に公開された国際公開第WO2017/099823号を参照されたい。その全内容は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる。いくつかの実施形態では、本発明で有用なPEG脂質は、その内容が参照することにより全体として本明細書に組み込まれる、2012年7月26日に公開された国際公開第WO2012/099755号に記載のPEG化脂質であることができる。

【0038】

PEG脂質とは、ポリエチレングリコールで修飾された脂質である。PEG脂質は、PEG修飾ホスファチジルエタノールアミン、PEG修飾ホスファチジン酸、PEG修飾セラミド、PEG修飾ジアルキルアミン、PEG修飾ジアシルグリセロール、PEG修飾ジアルキルグリセロール、及びそれらの混合物からなる非限定的な群から選択され得る。例えば、PEG脂質は、PEG-c-DOMG、PEG-DMG、PEG-DLPE、PEG-DMPE、PEG-DPPC、またはPEG-DSPC脂質であり得る。いくつかの実施形態では、該PEG修飾脂質は、PEG-DMGの修飾形態である。

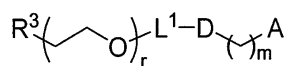
【0039】

本明細書に記載のこれら例示的なPEG脂質のいずれかは、PEG鎖上にヒドロキシル基を含むように修飾され得る。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、PEG-OH脂質である。本明細書で一般的に定義される通り、「PEG-OH脂質」（本明細書では「ヒドロキシーPEG化脂質」とも呼ばれる）は、脂質上に1つ以上のヒドロキシル（-OH）基を有するPEG化脂質である。ある特定の実施形態では、該PEG-OH脂質は、PEG鎖上に1つ以上のヒドロキシル基を含む。ある特定の実施形態では、PEG-OHまたはヒドロキシーPEG化脂質は、PEG鎖の末端に-OH基を含む。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0040】

ある特定の実施形態では、本発明において有用なPEG脂質は、式（III）の化合物である。本明細書に提供するのは、式（III）の化合物：

【化6】



（III）

、またはそれらの塩であり、式中、

R^3 は、 ---OR^O であり、

R^O は、水素、任意に置換されるアルキル、または酸素保護基であり、

r は、1及び100を含めた1～100の整数であり、

L^1 は、任意に置換される C_{1-10} アルキレンであり、ここで、該任意に置換される C_{1-10} アルキレンの少なくとも1つのメチレンは、独立して、任意に置換されるカルボシクリレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、 ---O--- 、 $\text{---N(R}^N\text{)---}$ 、 ---S--- 、 ---C(O)--- 、 $\text{---C(O)N(R}^N\text{)---}$ 、 $\text{---NR}^N\text{C(O)---}$ 、 ---C(O)O--- 、 ---OC(O)--- 、 ---OC(O)O--- 、 $\text{---OC(O)N(R}^N\text{)---}$ 、 $\text{---NR}^N\text{C(O)O---}$ 、または $\text{---NR}^N\text{C(O)N(R}^N\text{)---}$ で置き換えられ、

Dは、クリックケミストリーによって得られる部分、または生理的条件下で切断可能な部分であり、

mは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10であり、

Aは、式：

【化7】



10

のものであり、

L²の各場合は、独立して、結合または任意に置換されるC₁–6アルキレンであり、ここで、該任意に置換されるC₁–6アルキレンの1つのメチレン単位は、任意に、–O–、–N(R^N)–、–S–、–C(O)–、–C(O)N(R^N)–、–NR^NC(O)–、–C(O)O–、–OC(O)–、–OC(O)O–、–OC(O)N(R^N)–、–NR^NC(O)O–、または–NR^NC(O)N(R^N)–で置き換えられ、

R²の各場合は、独立して、任意に置換されるC₁–30アルキル、任意に置換されるC₁–30アルケニル、または任意に置換されるC₁–30アルキニルであり、任意に、ここで、R²の1つ以上のメチレン単位は、独立して、任意に置換されるカルボシクリレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、–N(R^N)–、–O–、–S–、–C(O)–、–C(O)N(R^N)–、–NR^NC(O)–、–NR^NC(O)N(R^N)–、–C(O)O–、–OC(O)–、–OC(O)O–、–OC(O)N(R^N)–、–NR^NC(O)O–、–C(O)S–、–SC(O)–、–C(=NR^N)–、–C(=NR^N)N(R^N)–、–NR^NC(=NR^N)–、–NR^NC(=NR^N)N(R^N)–、–C(S)–、–C(S)N(R^N)–、–NR^NC(S)–、–NR^NC(S)N(R^N)–、–S(O)–、–OS(O)–、–S(O)O–、–OS(O)O–、–OS(O)₂–、–S(O)₂O–、–OS(O)₂O–、–N(R^N)S(O)–、–S(O)N(R^N)–、–N(R^N)S(O)N(R^N)–、–OS(O)N(R^N)–、–N(R^N)S(O)O–、–S(O)₂–、–N(R^N)S(O)₂–、–S(O)₂N(R^N)–、–N(R^N)S(O)₂N(R^N)–、–OS(O)₂N(R^N)–、または–N(R^N)S(O)₂O–で置き換えられ、

20

30

R^Nの各場合は、独立して、水素、任意に置換されるアルキル、または窒素保護基であり、環Bは、任意に置換されるカルボシクリル、任意に置換されるヘテロシクリル、任意に置換されるアリール、または任意に置換されるヘテロアリールであり、

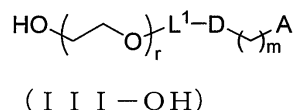
pは、1または2である。

【0041】

ある特定の実施形態では、式(III)の化合物は、PEG–OH脂質である（すなわち、R³は–OR^Oであり、R^Oは水素である）。ある特定の実施形態では、式(III)の化合物は、式(III–OH)のもの：

40

【化8】



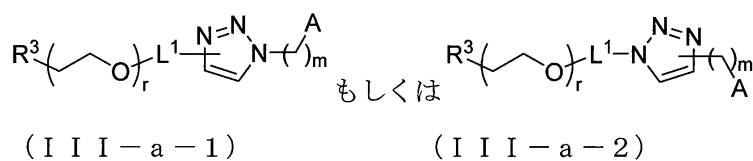
、またはその塩である。

【0042】

50

ある特定の実施形態では、Dは、クリックケミストリーによって得られる部分（例えば、トリアゾール）である。ある特定の実施形態では、式（I I I）の化合物は、式（I I I - a - 1）もしくは（I I I - a - 2）のもの：

【化 9】



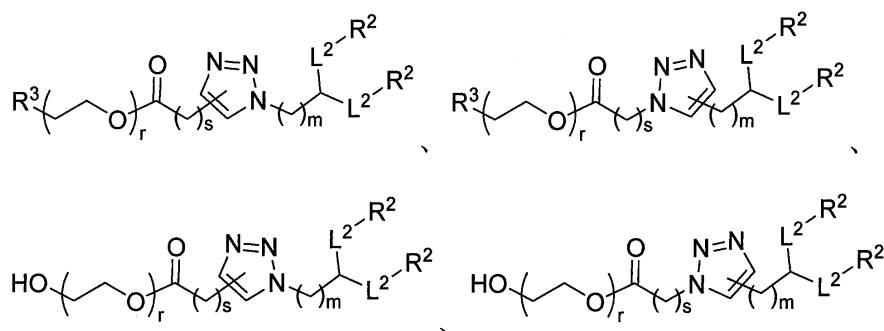
10

、またはその塩である。

【0043】

ある特定の実施形態では、式（I I I）の化合物は、以下の式のうちの1つのもの：

【化 10】



20

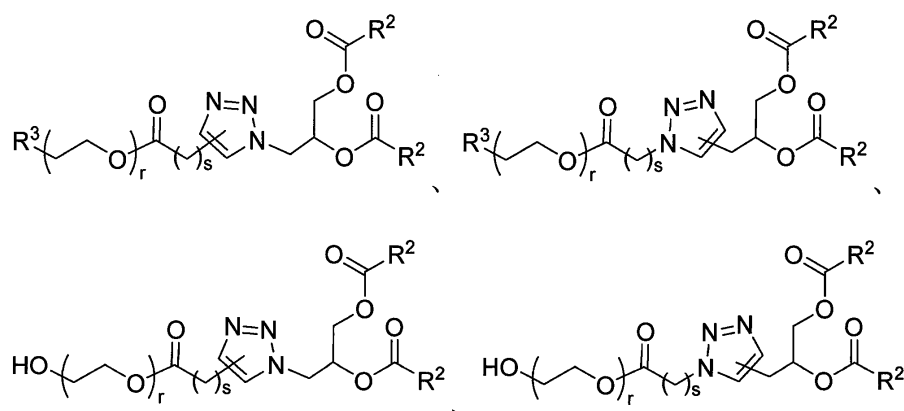
、またはその塩であり、式中、

sは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。

【0044】

ある特定の実施形態では、式（I I I）の化合物は、以下の式のうちの1つのもの：

【化 11】



40

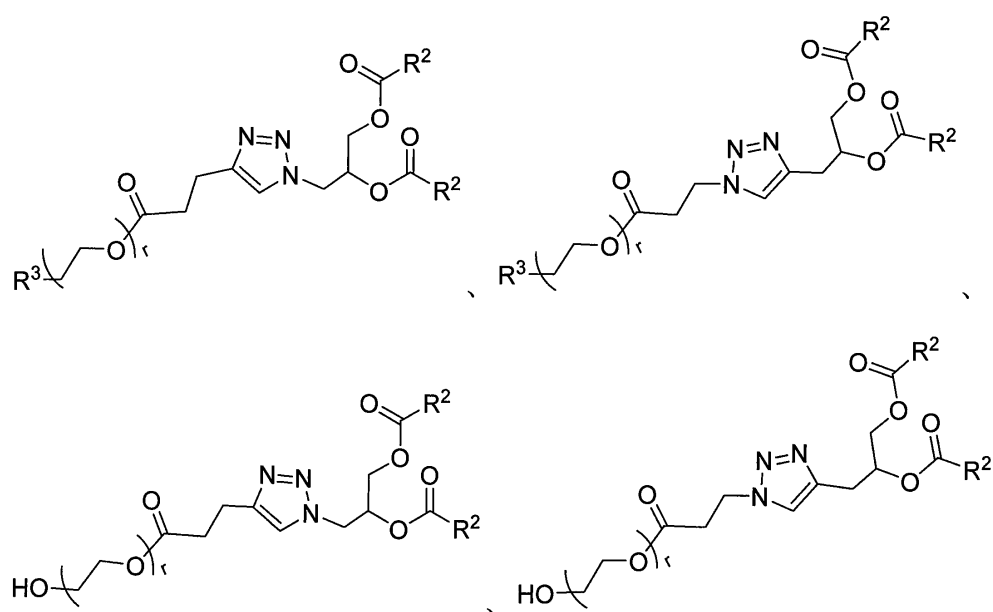
、またはその塩である。

【0045】

ある特定の実施形態では、式（I I I）の化合物は、以下の式のうちの1つのもの：

50

【化 1 2】



10

20

、またはその塩である。

【 0 0 4 6】

ある特定の実施形態では、式 (I I I) の化合物は、以下の式のうちの 1 つのもの：

30

40

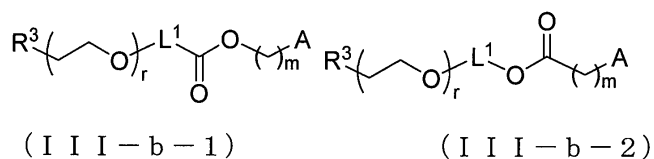
50

、またはその塩である。

【0047】

ある特定の実施形態では、Dは、生理的条件下で切断可能な部分（例えば、エステル、アミド、カーボネート、カルバメート、尿素）である。ある特定の実施形態では、式（ⅠⅠⅠ）の化合物は、式（ⅠⅠⅠ-b-1）もしくは（ⅠⅠⅠ-b-2）のもの：

【化14】



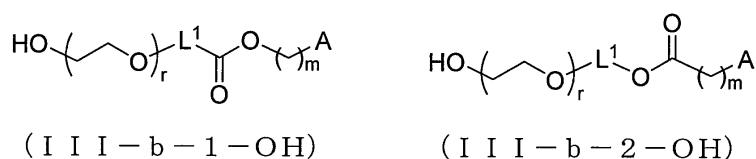
10

、またはその塩である。

【0048】

ある特定の実施形態では、式（ⅠⅠⅠ）の化合物は、式（ⅠⅠⅠ-b-1-OH）もしくは（ⅠⅠⅠ-b-2-OH）のもの：

【化15】



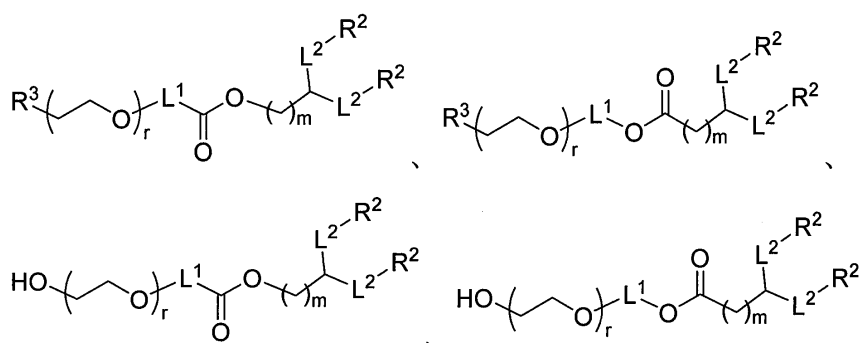
20

、またはその塩である。

【0049】

ある特定の実施形態では、式（ⅠⅠⅠ）の化合物は、以下の式のうちの1つのもの：

【化16】



30

40

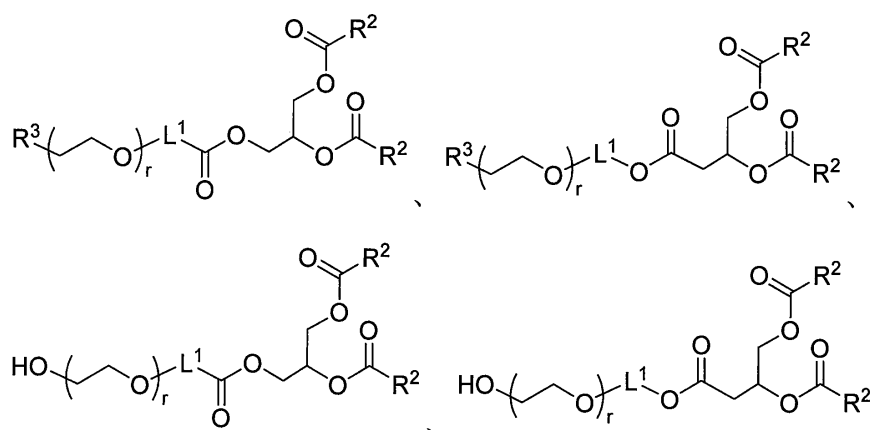
、またはその塩である。

【0050】

ある特定の実施形態では、式（ⅠⅠⅠ）の化合物は、以下の式のうちの1つのもの：

50

【化 1 7】



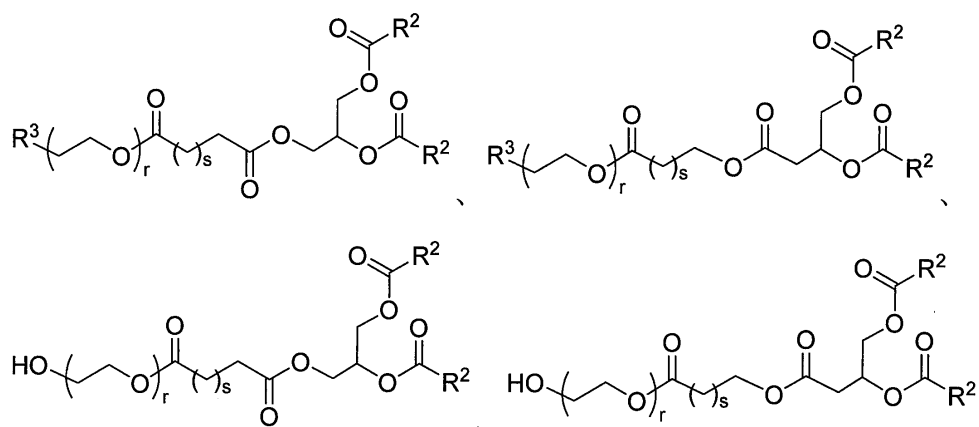
10

、またはその塩である。

【0051】

ある特定の実施形態では、式 (I I I) の化合物は、以下の式のうちの 1 つのもの：

【化 1 8】



20

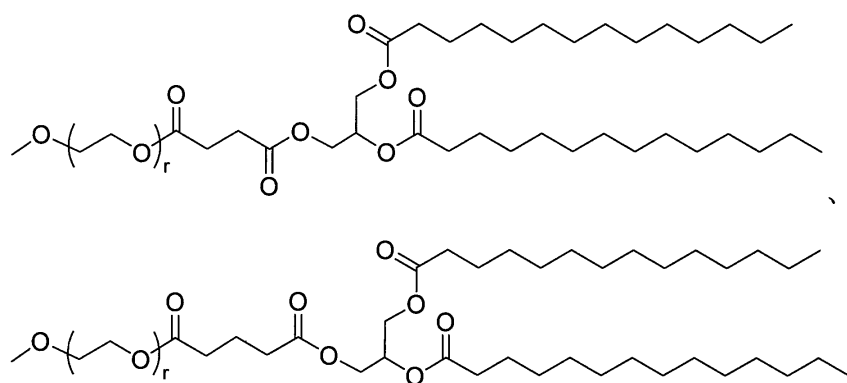
30

、またはその塩である。

【0052】

ある特定の実施形態では、式 (I I I) の化合物は、以下の式のうちの 1 つのもの：

【化 1 9】



40

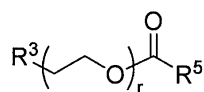
50

、またはその塩である。

【0053】

ある特定の実施形態では、本発明において有用なPEG脂質は、PEG化脂肪酸である。ある特定の実施形態では、本発明において有用なPEG脂質は、式(V)の化合物である。本明細書に提供するのは、式(V)の化合物：

【化20】



(V)

10

、またはその塩であり、式中、

R^3 は、 $-\text{OR}^0$ であり、

R^0 は、水素、任意に置換されるアルキルまたは酸素保護基であり、

r は、1及び100を含めた1～100の整数であり、

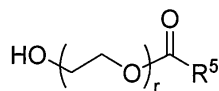
R^5 は、任意に置換される C_{10-40} アルキル、任意に置換される C_{10-40} アルケニル、または任意に置換される C_{10-40} アルキニルであり、任意に、 R^5 の1つ以上のメチレン基は、任意に置換されるカルボシクリレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、 $-\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{NR}^N\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^N\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{NR}^N\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{S}-$ 、 $-\text{SC}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}^N)-$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}^N)\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{NR}^N\text{C}(=\text{NR}^N)-$ 、 $-\text{NR}^N\text{C}(=\text{NR}^N)\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{C}(\text{S})-$ 、 $-\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{NR}^N\text{C}(\text{S})-$ 、 $-\text{NR}^N\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{O}-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})_2\text{O}-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^N)\text{S}(\text{O})-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^N)\text{S}(\text{O})\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^N)\text{S}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^N)\text{S}(\text{O})_2-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{N}(\text{R}^N)\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^N)-$ 、 $-\text{OS}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^N)-$ 、または $-\text{N}(\text{R}^N)\text{S}(\text{O})_2\text{O}-$ で置き換えられ、

R^N の各場合は、独立して、水素、任意に置換されるアルキル、または窒素保護基である。

【0054】

ある特定の実施形態では、式(V)の化合物は、式(V-OH)のもの：

【化21】



(V-OH)

40

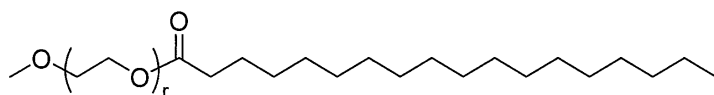
、またはその塩である。

【0055】

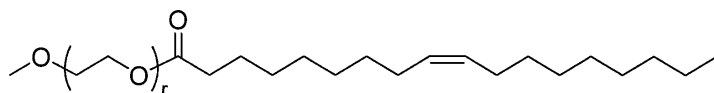
ある特定の実施形態では、式(V)の化合物は、以下の式のうちの1つのもの：

50

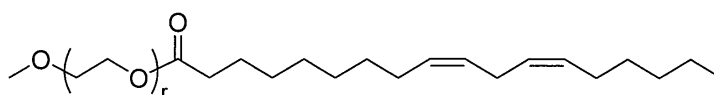
【化 2 2】



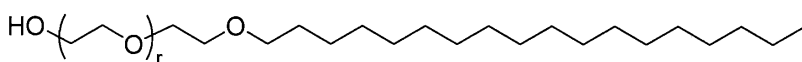
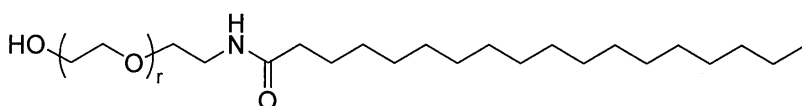
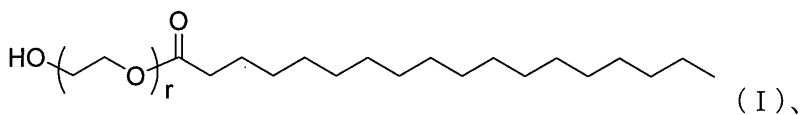
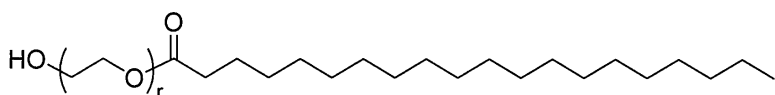
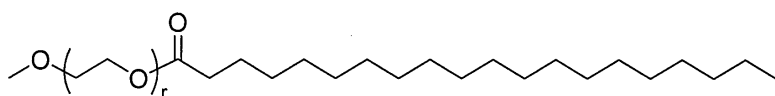
(C m p d 4 0 0)、



(C m p d 4 0 1)、



(C m p d 4 0 2)、

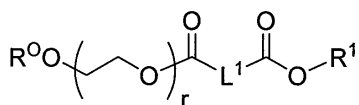


、またはその塩である。

【 0 0 5 6】

ある特定の実施形態では、本発明において有用な P E G 脂質は、式 (L - I) の P E G 脂質：

【化 2 3】



(L - I)

、またはそれらの医薬的に許容される塩であり、式中、

L¹ は、結合、任意に置換される C₁ - 3 アルキレン、任意に置換される C₁ - 3 ヘテロアルキレン、任意に置換される C₂ - 3 アルケニレン、任意に置換される C₂ - 3 アルキニレンであり、

10

20

30

40

50

R^1 は、任意に置換される C_{5-30} アルキル、任意に置換される C_{5-30} アルケニル、または任意に置換される C_{5-30} アルキニルであり、

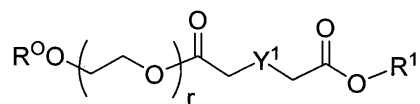
R^0 は、水素、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアシル、または酸素保護基であり、

r は、2及び100を含めた2～100の整数である。

【0057】

ある特定の実施形態では、式(L-I)のPEG脂質は、以下の式のもの：

【化24】



10

、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、

Y^1 は、結合、 $-CR_2-$ 、 $-O-$ 、 $-NR^N-$ 、または $-S-$ であり、

R の各場合は、独立して、水素、ハロゲン、または任意に置換されるアルキルであり、

R^N は、水素、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアシル、または窒素保護基である。

【0058】

ある特定の実施形態では、式(L-I)のPEG脂質は、以下の式のうちの1つのもの：

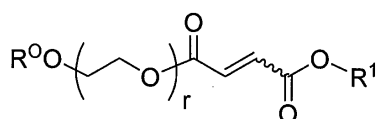
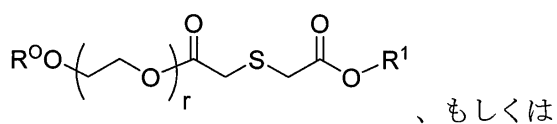
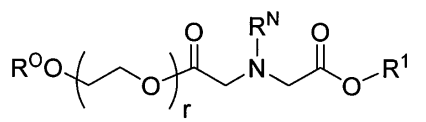
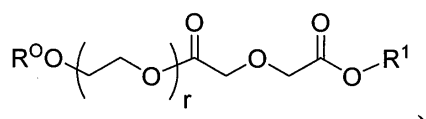
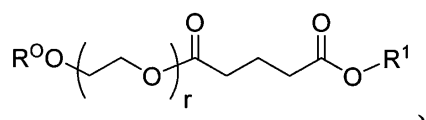
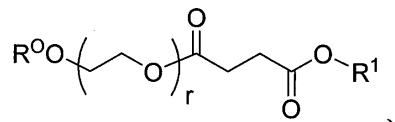
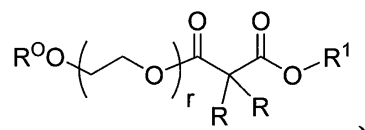
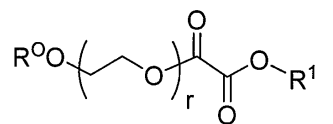
20

30

40

50

【化 2 5】



10

20

30

、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、

R の各場合は、独立して、水素、ハロゲン、または任意に置換されるアルキルである。

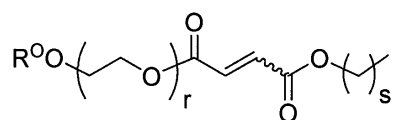
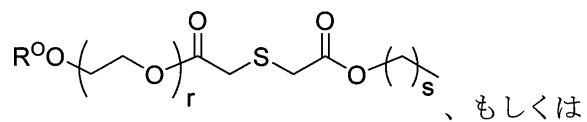
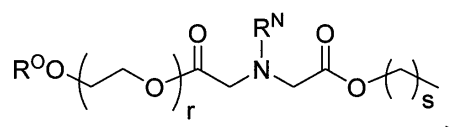
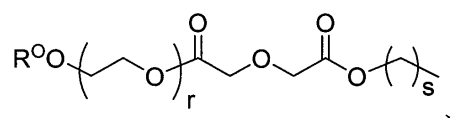
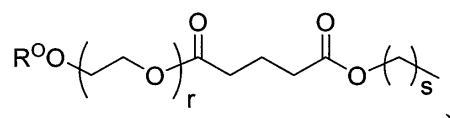
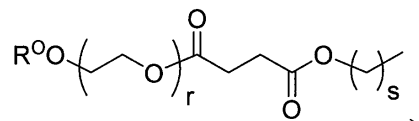
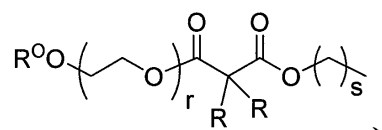
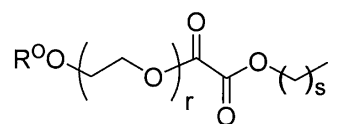
【0059】

ある特定の実施形態では、式（L-I）のPEG脂質は、以下の式のうちの1つのもの：

40

50

【化 2 6】



、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、
s は、5 及び 25 を含めた 5 ～ 25 の整数である。

【0060】

ある特定の実施形態では、式（L-I）のPEG脂質は、以下の式のうちの1つのもの：

10

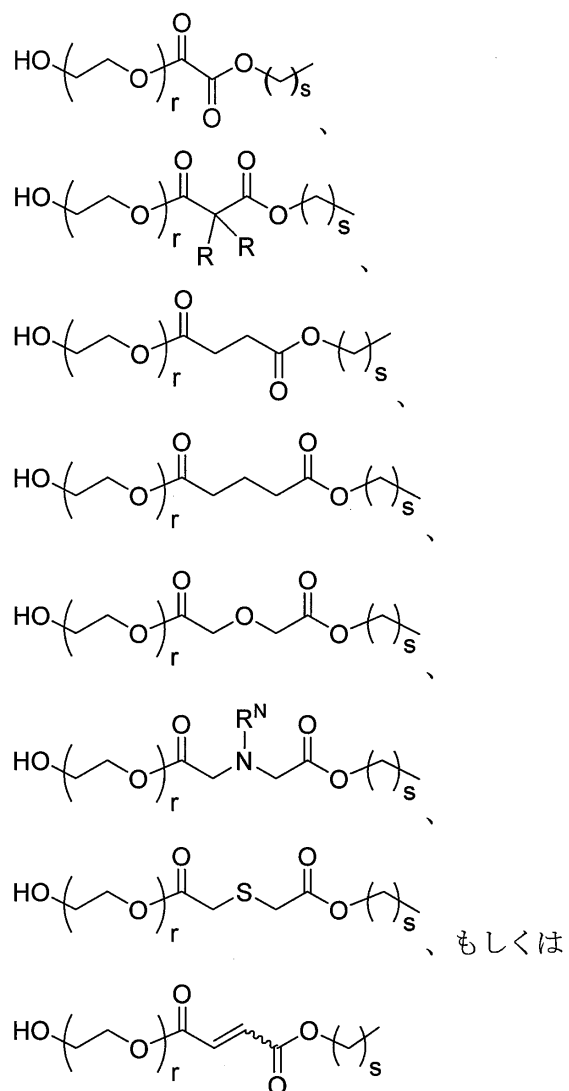
20

30

40

50

【化 2 7】



10

20

30

、またはその医薬的に許容される塩である。

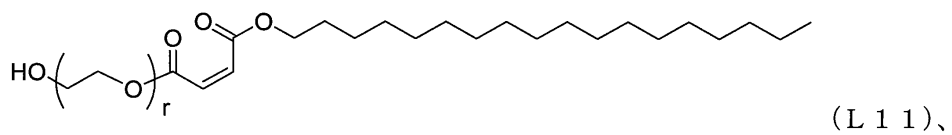
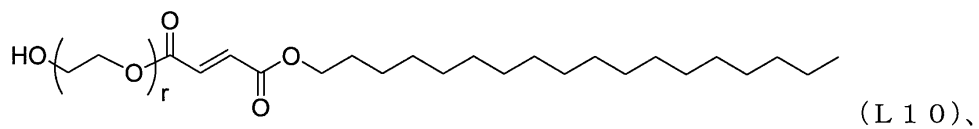
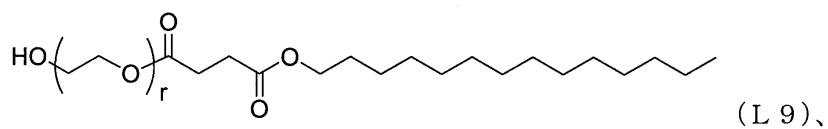
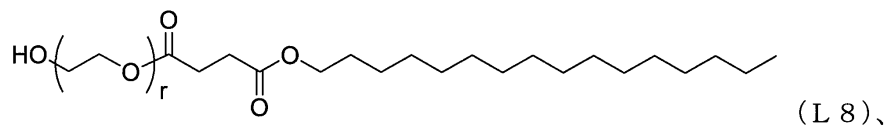
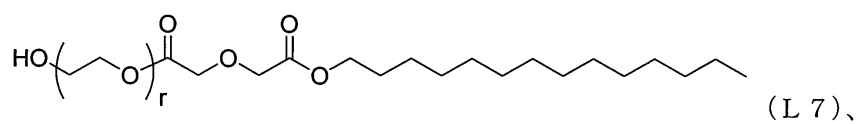
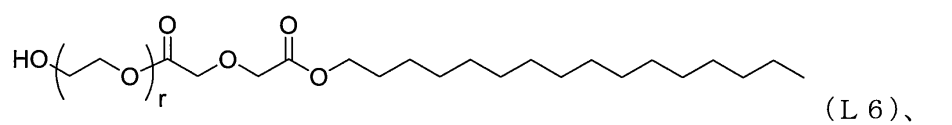
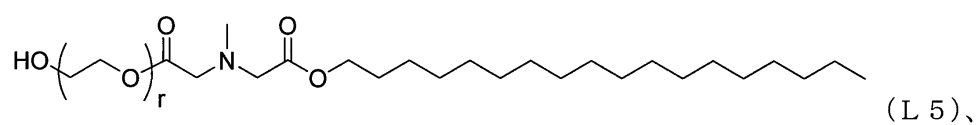
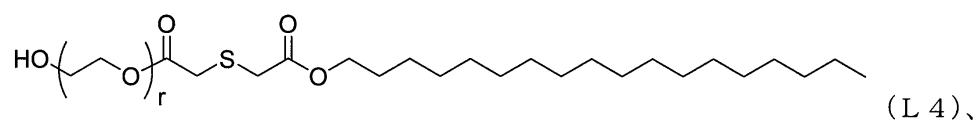
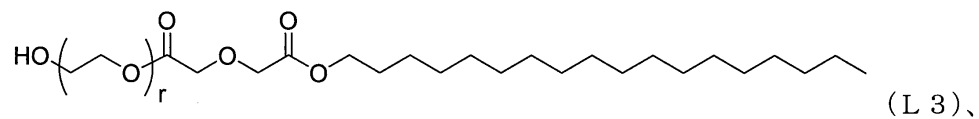
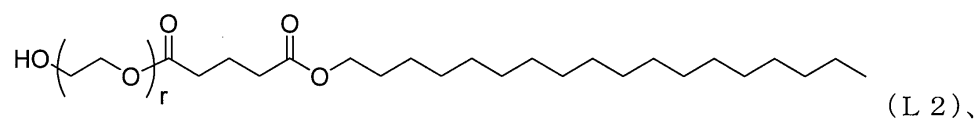
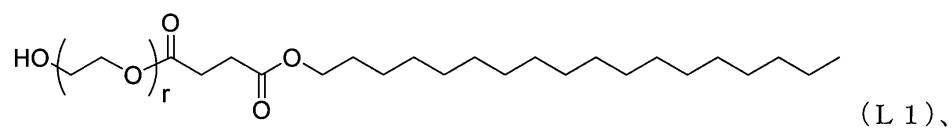
【0061】

ある特定の実施形態では、式（L-I）のPEG脂質は：

40

50

【化 2 8 - 1】



10

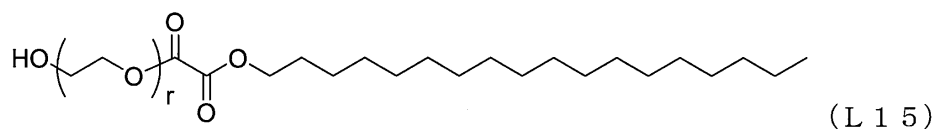
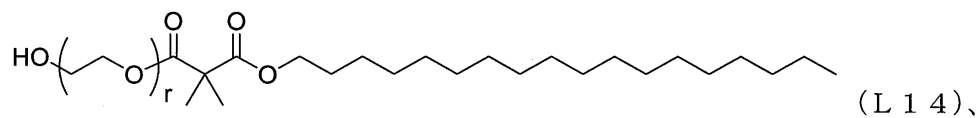
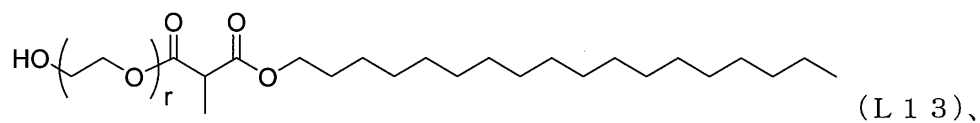
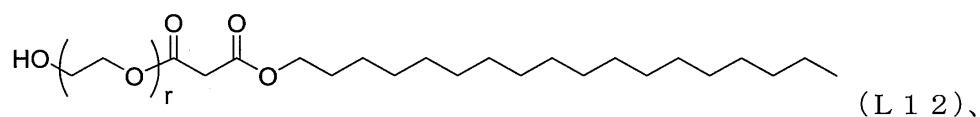
20

30

40

50

【化 2 8 - 2】

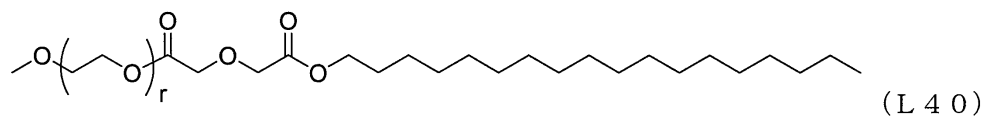


、及びそれらの医薬的に許容される塩からなる群から選択される。

【 0 0 6 2】

ある特定の実施形態では、式 (L - I) の P E G 脂質は、以下の式のもの：

【化 2 9】

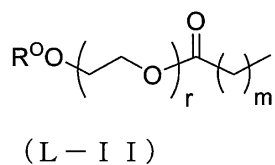


、またはその医薬的に許容される塩である。

【 0 0 6 3】

ある特定の実施形態では、本発明において有用な P E G 脂質は、式 (L - I I) の P E G 脂質：

【化 3 0】



、またはそれらの医薬的に許容される塩であり、式中、

R^{O} は、水素、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアシル、または酸素保護基であり、

r は、2 及び 1 0 0 を含めた 2 ~ 1 0 0 の整数であり、

m は、5 及び 1 5 を含めた 5 ~ 1 5 の整数、または 1 9 及び 3 0 を含めた 1 9 ~ 3 0 の整数である。

【 0 0 6 4】

ある特定の実施形態では、式 (L - I I) の P E G 脂質は、以下の式のうちの 1 つのもの：

10

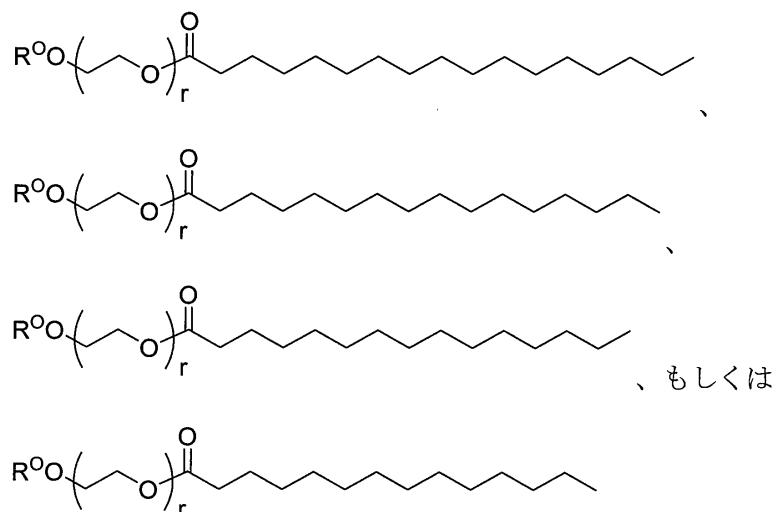
20

30

40

50

【化 3 1】



10

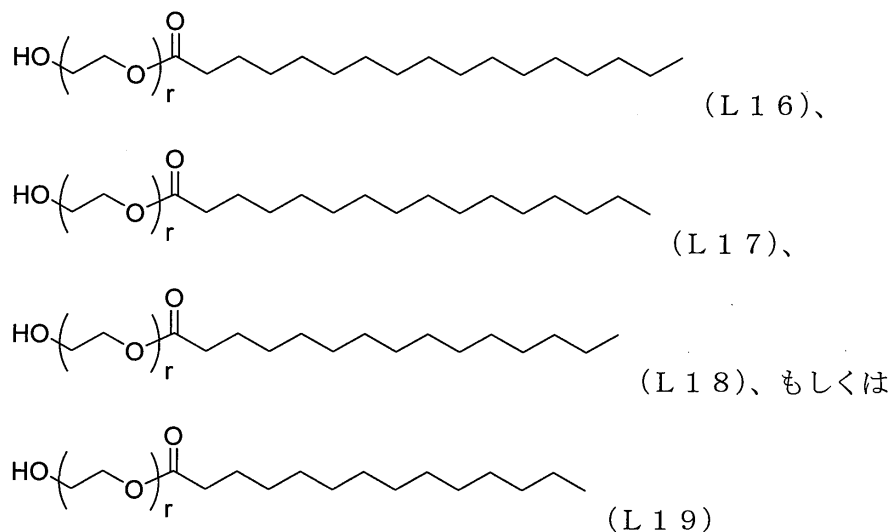
、またはその医薬的に許容される塩である。

【 0 0 6 5】

ある特定の実施形態では、式 (L-I I) の PEG 脂質は、以下の式のうちの 1 つのもの：

20

【化 3 2】



30

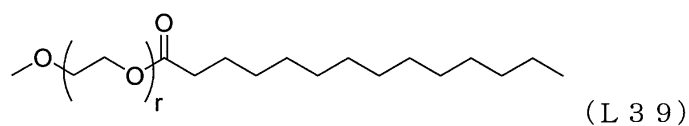
、またはその医薬的に許容される塩である。

40

【 0 0 6 6】

ある特定の実施形態では、式 (L-I I) の PEG 脂質は、以下の式のもの：

【化 3 3】



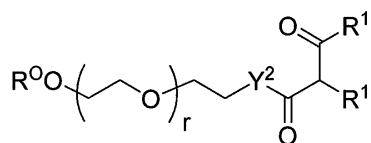
、またはその医薬的に許容される塩である。

50

【0067】

ある特定の実施形態では、本発明において有用なPEG脂質は、式(L-III)のPEG脂質：

【化34】



(L-III)

10

、またはそれらの医薬的に許容される塩であり、式中、

Y^2 は、 $-O-$ 、 $-NR^N-$ 、または $-S-$ であり、

R^1 の各場合は、独立して、任意に置換される C_5-30 アルキル、任意に置換される C_5-30 アルケニル、または任意に置換される C_5-30 アルキニルであり、

R^0 は、水素、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアシル、または酸素保護基であり、

R^N は、水素、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアシル、または窒素保護基であり、

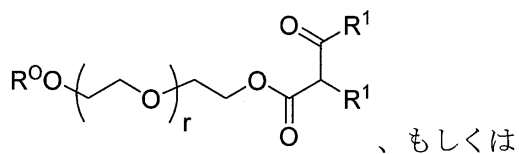
20

r は、2及び100を含めた2～100の整数である。

【0068】

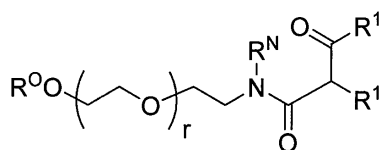
ある特定の実施形態では、式(L-III)のPEG脂質は、以下の式のうちの1つのもの：

【化35】



、もしくは

30



、またはその医薬的に許容される塩である。

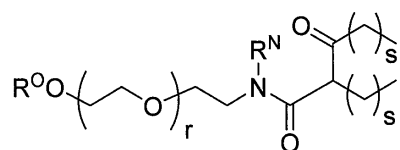
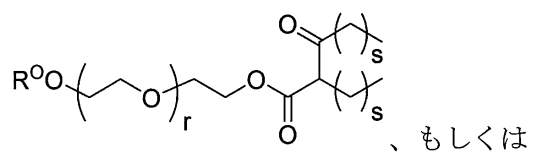
【0069】

ある特定の実施形態では、式(L-III)のPEG脂質は、以下の式のうちの1つのもの：

40

50

【化 3 6】



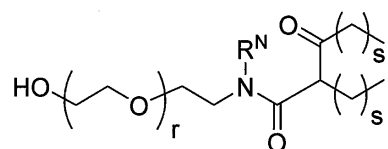
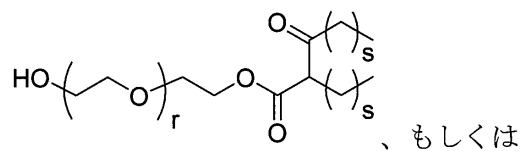
10

、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、
s の各場合は、独立して、5 及び 25 を含めた 5 ～ 25 の整数である。

【0070】

ある特定の実施形態では、式 (L-III) の PEG 脂質は、以下の式のうちの 1 つの
もの：

【化 3 7】



20

、またはその医薬的に許容される塩である。

【0071】

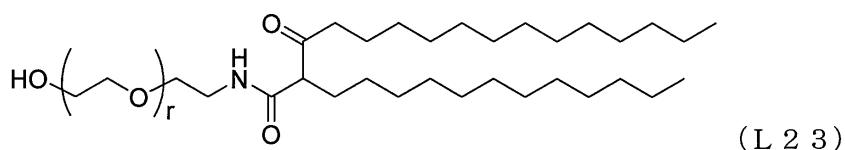
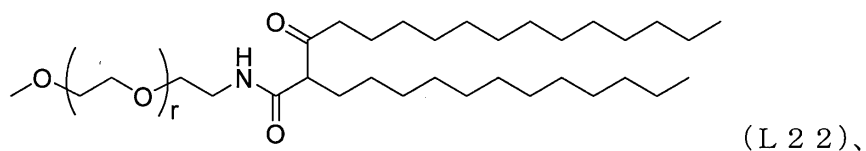
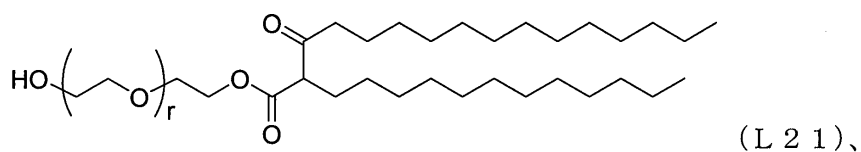
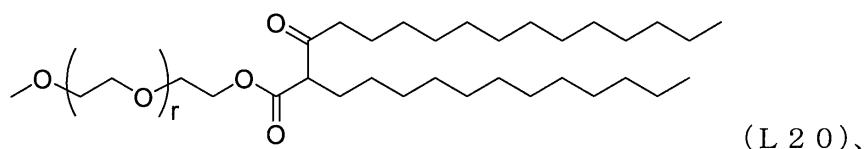
ある特定の実施形態では、式 (L-III) の PEG 脂質は：

30

40

50

【化 3 8】

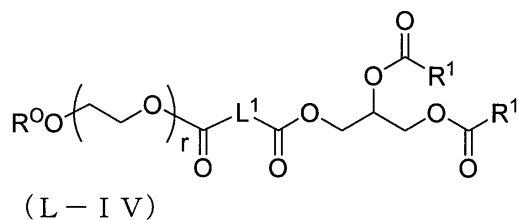


、及びそれらの医薬的に許容される塩からなる群から選択される。

【0072】

ある特定の実施形態では、本発明において有用なPEG脂質は、式(L-IV)のPEG脂質：

【化 3 9】



、またはそれらの医薬的に許容される塩であり、式中、

L^1 は、結合、任意に置換される C_{1-3} アルキレン、任意に置換される C_{1-3} ヘテロアルキレン、任意に置換される C_{2-3} アルケニレン、任意に置換される C_{2-3} アルキニレンであり、

R^1 の各場合は、独立して、任意に置換される C_{5-30} アルキル、任意に置換される C_{3-30} アルケニル、または任意に置換される C_{5-30} アルキニルであり、

R^O は、水素、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアシル、または酸素保護基であり、

R^N は、水素、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアシル、または窒素保護基であり、

r は、2及び100を含めた2～100の整数である。

【0073】

ある特定の実施形態では、式(L-IV)のPEG脂質は、以下の式のもの：

10

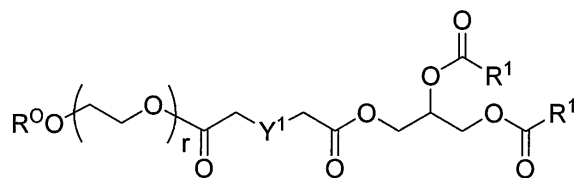
20

30

40

50

【化 4 0】



、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、

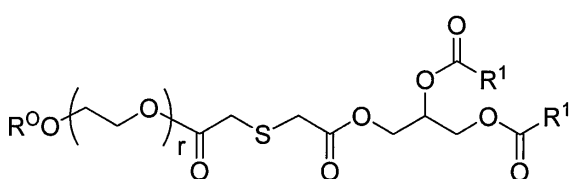
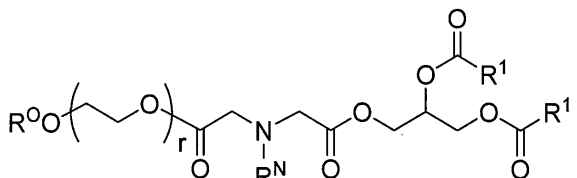
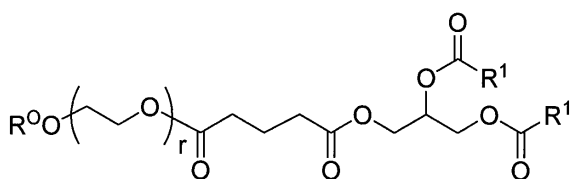
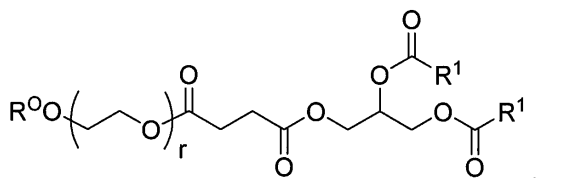
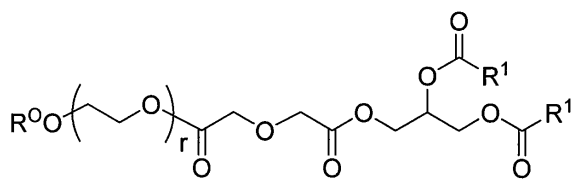
Y^1 は、結合、 $-\text{CR}_2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}^N-$ 、または $-\text{S}-$ であり、

R の各場合は、独立して、水素、ハロゲン、または任意に置換されるアルキルである。

【0074】

ある特定の実施形態では、式 (L-IV) の PEG 脂質は、以下の式のうちの 1 つのもの：

【化 41-1】



10

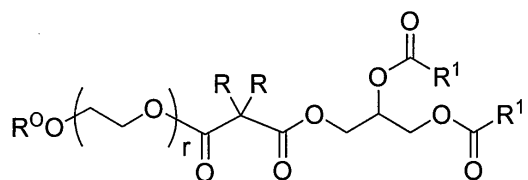
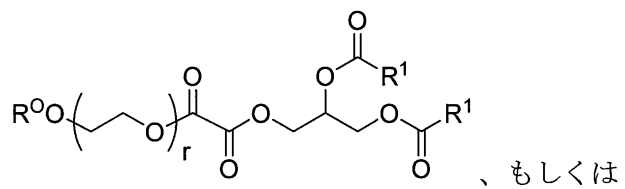
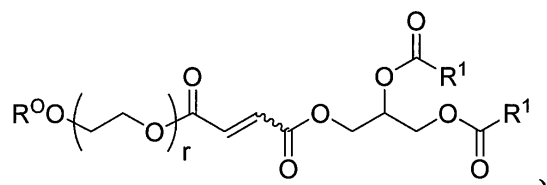
20

30

40

50

【化 4 1 - 2】



、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、
R の各場合は、独立して、水素、ハロゲン、または任意に置換されるアルキルである。

【 0 0 7 5】

ある特定の実施形態では、式 (L - IV) の PEG 脂質は、以下の式のうちの 1 つのもの：

10

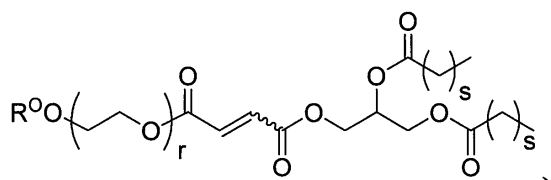
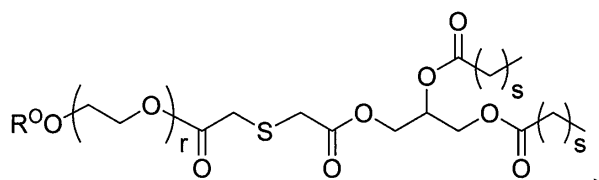
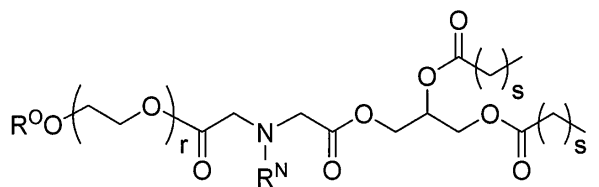
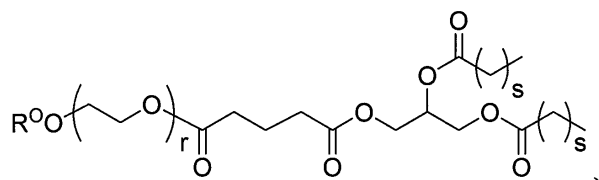
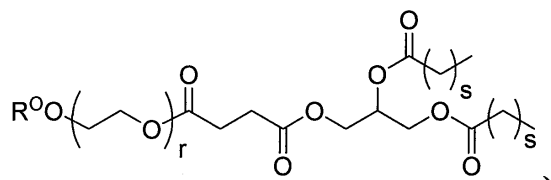
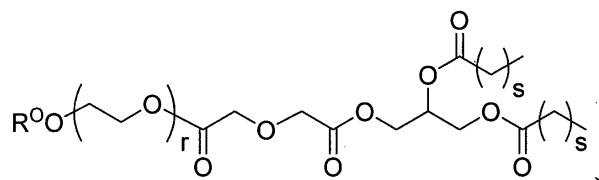
20

30

40

50

【化 4 2 - 1】



10

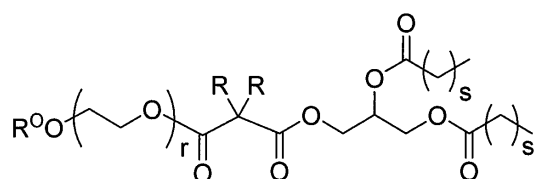
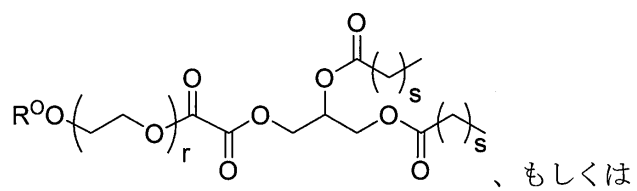
20

30

40

50

【化 4 2 - 2】



10

、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、
各 s は、独立して、5 及び 25 を含めた 5 ～ 25 の整数である。

【0076】

ある特定の実施形態では、式 (L - IV) の PEG 脂質は、以下の式のうちの 1 つのもの：

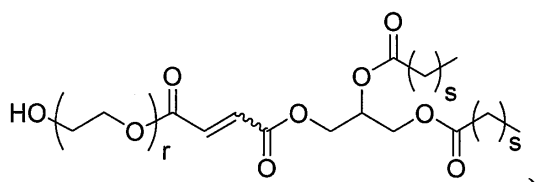
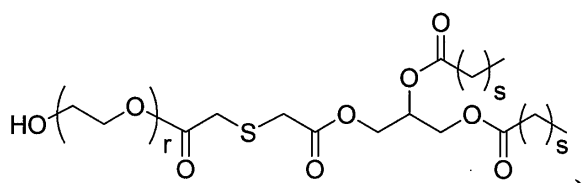
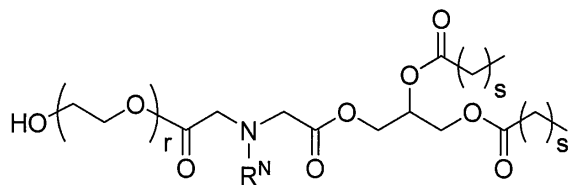
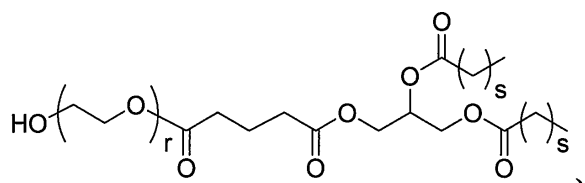
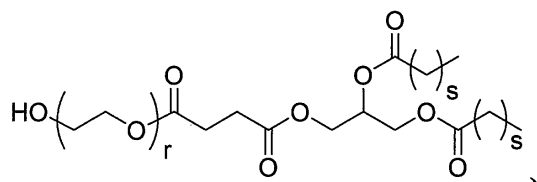
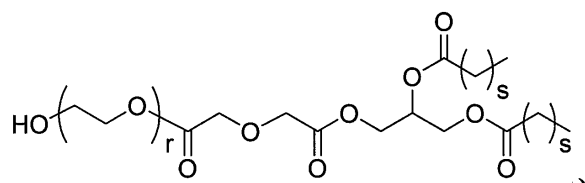
20

30

40

50

【化 4 3 - 1】



10

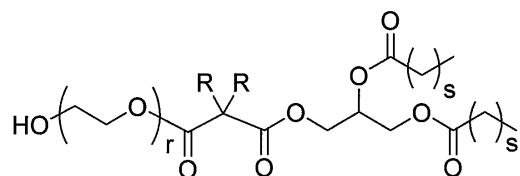
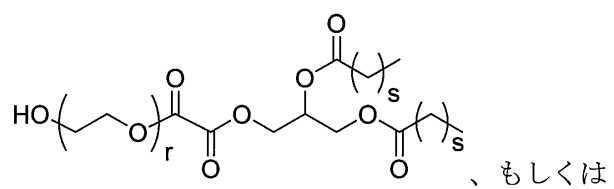
20

30

40

50

【化 4 3 - 2】



10

、またはその医薬的に許容される塩である。

【 0 0 7 7】

ある特定の実施形態では、式（L - I V）のPEG脂質は：

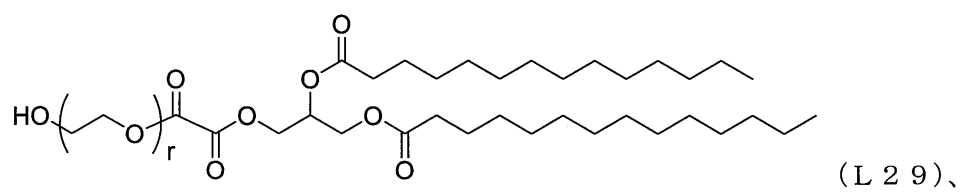
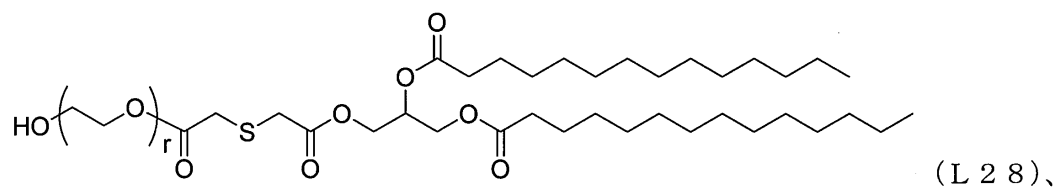
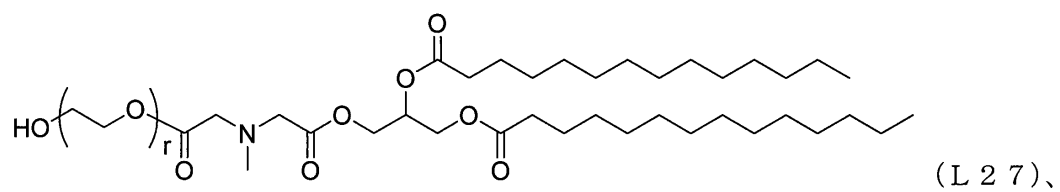
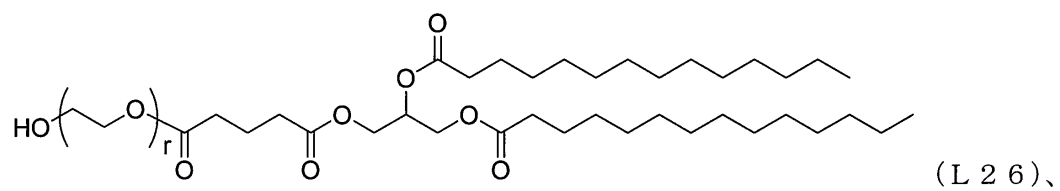
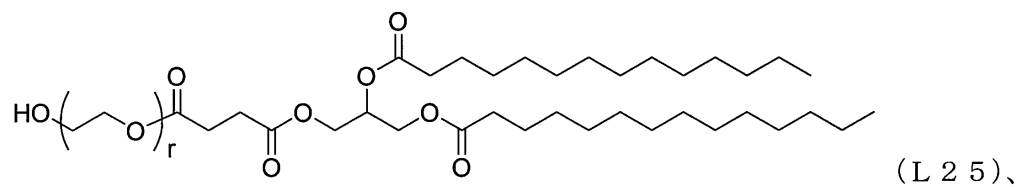
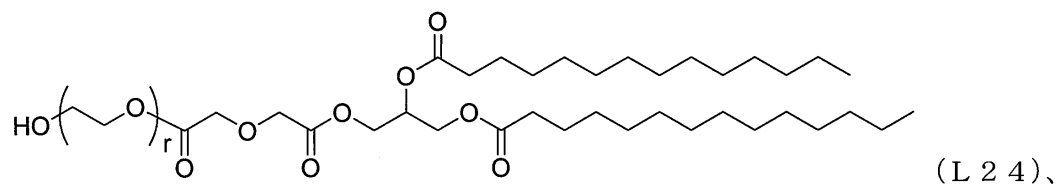
20

30

40

50

【化 4 4 - 1】



10

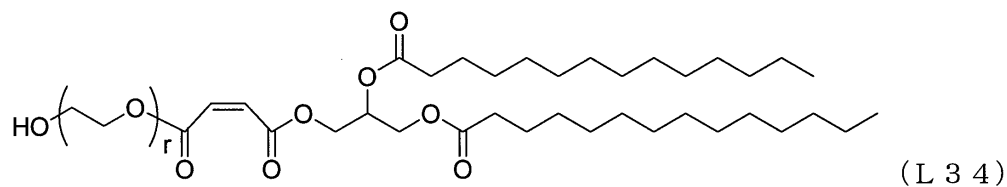
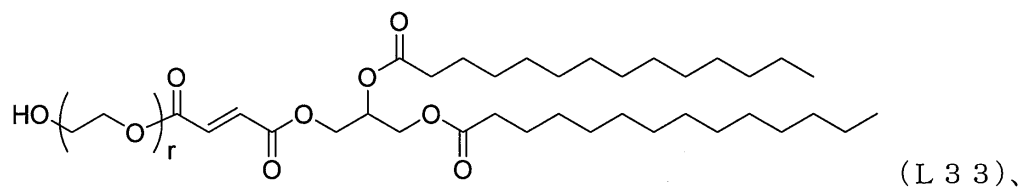
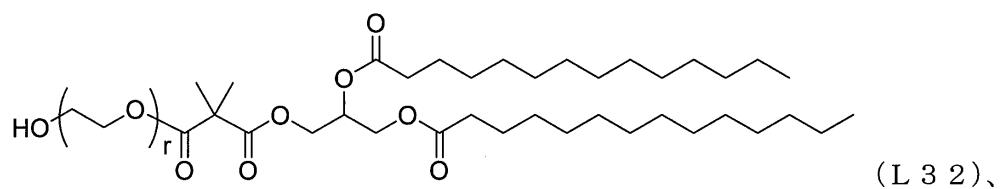
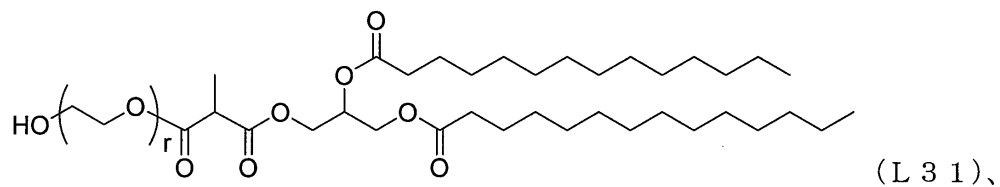
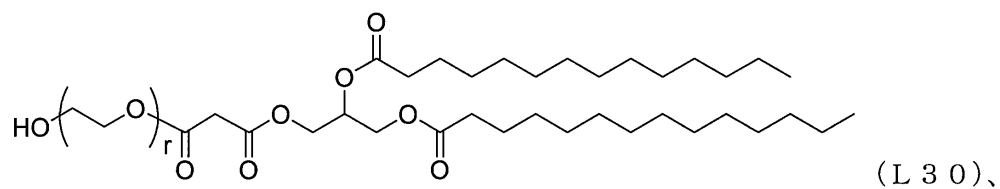
20

30

40

50

【化 4 4 - 2】

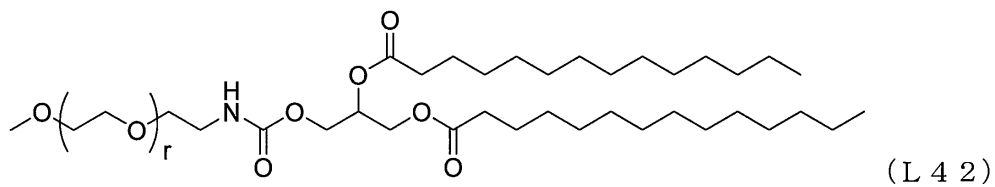
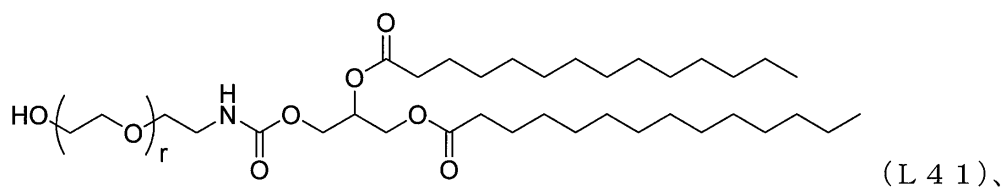


、及びそれらの医薬的に許容される塩からなる群から選択される。

【 0 0 7 8】

ある特定の実施形態では、該 P E G 脂質は：

【化 4 5】



10

20

30

40

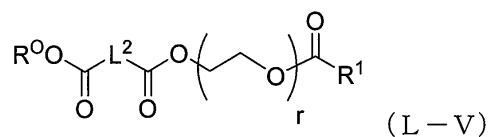
50

、及びそれらの医薬的に許容される塩からなる群から選択される。

【0079】

ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、式(L-V)のもの：

【化46】



10

、及びその医薬的に許容される塩であり、式中、

L²は、結合、任意に置換されるC₁-6アルキレン、任意に置換されるC₁-6ヘテロアルキレン、任意に置換されるC₂-6アルケニレン、任意に置換されるC₂-6アルキニレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、もしくは任意に置換されるカルボシクリレン、またはそれらの組み合わせであり、

R¹の各場合は、独立して、任意に置換されるC₅-30アルキル、任意に置換されるC₅-30アルケニル、または任意に置換されるC₅-30アルキニルであり、

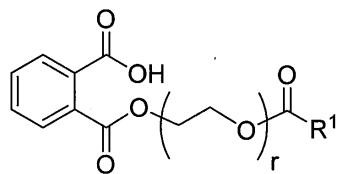
R⁰は、水素、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアシル、または酸素保護基であり、

rは、2及び100を含めた2~100の整数である。

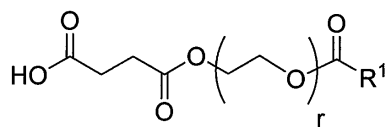
【0080】

ある特定の実施形態では、式(L-V)のPEG脂質は、以下の式のうちの1つのもの：

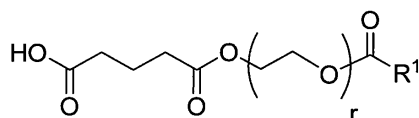
【化47】



30



、もしくは



40

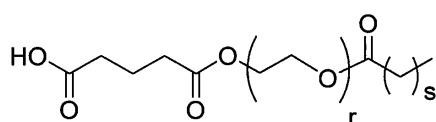
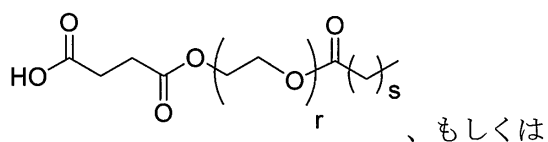
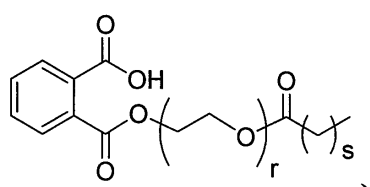
、またはその医薬的に許容される塩である。

【0081】

ある特定の実施形態では、式(L-V)のPEG脂質は、以下の式のうちの1つのもの：

50

【化 4 8】

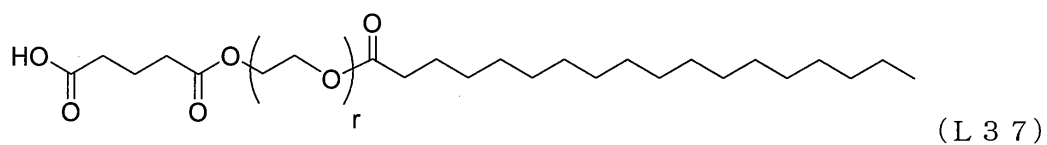
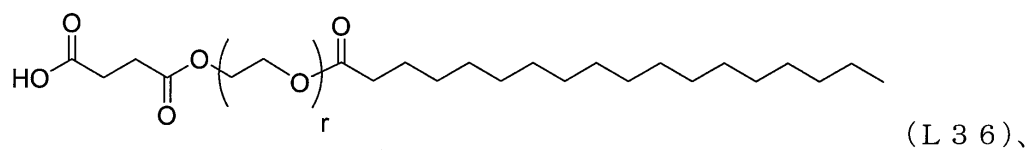
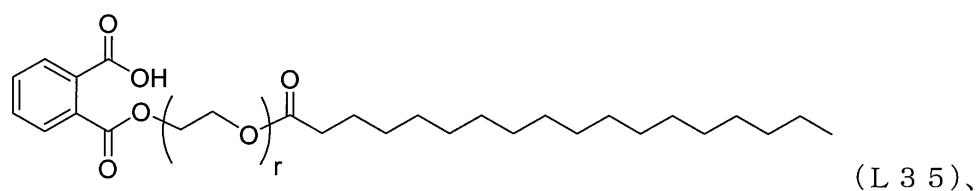


、またはその医薬的に許容される塩である。

【0082】

ある特定の実施形態では、式 (L-V) の PEG 脂質は：

【化 4 9】

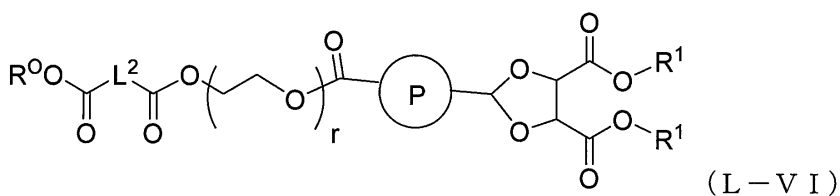


、及びそれらの医薬的に許容される塩からなる群から選択される。

【0083】

ある特定の実施形態では、式 (L-VI) の PEG 脂質は：

【化 5 0】



10

20

30

40

50

、及びその医薬的に許容される塩であり、式中、

L^2 は、結合、任意に置換される C_{1-6} アルキレン、任意に置換される C_{1-6} ヘテロアルキレン、任意に置換される C_{2-6} アルケニレン、任意に置換される C_{2-6} アルキニレン、任意に置換されるアリーレン、任意に置換されるヘテロアリーレン、任意に置換されるヘテロシクリレン、もしくは任意に置換されるカルボシクリレン、またはそれらの組み合わせであり、

環 P は、任意に置換されるアリール、任意に置換されるヘテロアリール、任意に置換されるヘテロシクリル、または任意に置換されるカルボシクリルであり、

R^1 の各場合は、独立して、任意に置換される C_{5-30} アルキル、任意に置換される C_{3-30} アルケニル、または任意に置換される C_{5-30} アルキニルであり、

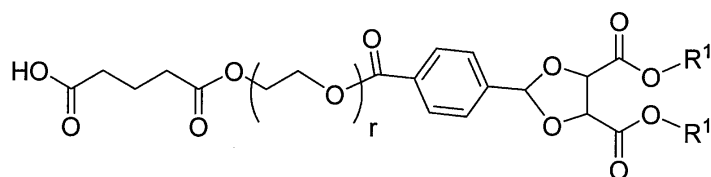
R^0 は、水素、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアシル、または酸素保護基であり、

r は、2 及び 100 を含めた 2 ～ 100 の整数である。

【0084】

ある特定の実施形態では、式 (L-VI) の PEG 脂質は、以下の式のもの：

【化51】

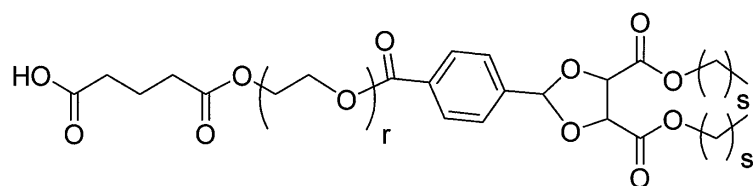


、またはその医薬的に許容される塩である。

【0085】

ある特定の実施形態では、式 (L-VI) の PEG 脂質は、以下の式のもの：

【化52】



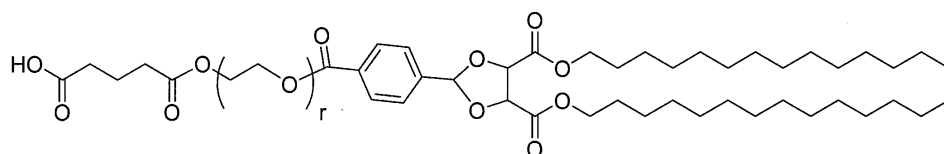
、またはその医薬的に許容される塩であり、式中、

各 s は、独立して、5 及び 25 を含めた 5 ～ 25 の整数である。

【0086】

ある特定の実施形態では、式 (L-VI) の PEG 脂質は、以下の式のもの：

【化53】



(L38)

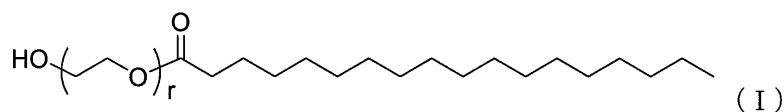
、またはその医薬的に許容される塩である。

【0087】

式 (I) の高純度 PEG 脂質

ある特定の実施形態では、該複数の PEG 脂質は、複数の式 (I) の化合物、またはそれらの塩である。本明細書に提供するのは、複数の式 (I) の化合物：

【化 5 4】



10

、またはそれらの塩であり、式中、 r は、独立して、35 及び 55 を含めた 35 ～ 55 の整数であり、複数の式 (I) の化合物は、式 (I) の化合物に関して 87 % 以上の純度を有する。

【0088】

本明細書で定義される通り、 r は、35 及び 55 を含めた 35 ～ 55 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、36 及び 54 を含めた 36 ～ 54 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、37 及び 53 を含めた 37 ～ 53 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、38 及び 52 を含めた 38 ～ 52 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、39 及び 51 を含めた 39 ～ 51 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、40 を含めた 40 からの整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、40 及び 50 を含めた 40 ～ 50 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、41 及び 49 を含めた 41 ～ 49 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、42 及び 48 を含めた 42 ～ 48 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、43 及び 57 を含めた 43 ～ 57 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して、44 及び 46 を含めた 44 ～ 46 の整数である。ある特定の実施形態では、 r は 45 である。

20

【0089】

ある特定の実施形態では、 r は、独立して、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、または 55 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 35 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 36 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 37 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 38 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 39 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 40 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 41 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 42 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 43 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 44 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 45 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 46 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 47 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 48 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 49 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 50 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 51 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 52 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 53 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 54 である。ある特定の実施形態では、 r は、独立して 55 である。

30

40

【0090】

「複数」の式 (I) の化合物は、 r の値が異なる（すなわち、異なる長さの PEG 鎖を有する）式 (I) の混合化合物を含み得ることを理解されたい。かかる場合、推奨される純度（87 % 以上、いくつかの実施形態を以下に提供する）とは、該混合物中のすべての式 (I) の化合物の総合を指す。例えば、約 98 % の純度の複数の式 (I) の化合物は、式 (I) の化合物を 98 % (mol %) 含み、該混合物中の式 (I) の化合物の各々は、独立して、 r の値が、35 及び 55 を含めた 35 ～ 55 である。ある特定の実施形態では

50

、該化合物の 20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、または 99% 超は、 r の値が 40 及び 50 を含めた 40～50 である。ある特定の実施形態では、該化合物の 20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、または 99% 超は、 r の値が 42 及び 48 を含めた 42～48 である。ある特定の実施形態では、該化合物の 20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、または 99% 超は、 r の値が 43 及び 46 を含めた 43～46 である。ある特定の実施形態では、該化合物の 20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、98%、または 99% 超は、 $r = 45$ である。

【0091】

本明細書に記載の通り、該複数の式 (I) の化合物、またはそれらの塩は、式 (I) の化合物、またはそれらの塩に関して 87% を超える純度を有する。ある特定の実施形態では、該純度は 90% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 91% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 92% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 93% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 94% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 95% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 96% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 97% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 98% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 98.5% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.1% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.2% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.3% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.4% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.5% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.6% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.7% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.8% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 99.9% を超える。ある特定の実施形態では、該純度は 100% である。

【0092】

ある特定の実施形態では、該複数の式 (I) の化合物、またはそれらの塩は、式 (I) の化合物、またはそれらの塩に関して、87% 及び 100% を含めた 87～100% の純度を有する。ある特定の実施形態では、該純度は、87% 及び 99.9% を含めた 87～99.9% である。

【0093】

ある特定の実施形態では、該純度は、87% 及び 90% を含めた 87～90% である。ある特定の実施形態では、該純度は、90% 及び 95% を含めた 90～95% である。ある特定の実施形態では、該純度は、95% 及び 100% を含めた 95～100% である。ある特定の実施形態では、該純度は、95% 及び 99.9% を含めた 95～99.9% である。

【0094】

ある特定の実施形態では、該純度は、90% 及び 100% を含めた 90～100% である。ある特定の実施形態では、該純度は、90% 及び 99.9% を含めた 90～99.9% である。ある特定の実施形態では、該純度は、91% 及び 99.9% を含めた 91～99.9% である。ある特定の実施形態では、該純度は、92% 及び 99.9% を含めた 92～99.9% である。ある特定の実施形態では、該純度は、93% 及び 99.9% を含めた 93～99.9% である。ある特定の実施形態では、該純度は、94% 及び 99.9% を含めた 94～99.9% である。ある特定の実施形態では、該純度は、95% 及び 99.9% を含めた 95～99.9% である。ある特定の実施形態では、該純度は、96% 及び 99.9% を含めた 96～99.9% である。ある特定の実施形態では、該純度は、97% 及び 99.9% を含めた 97～99.9% である。ある特定の実施形態では、該純度は、98% 及び 99.9% を含めた 98～99.9% である。ある特定の実施形態では、該純度は、99% 及び 99.9% を含めた 99～99.9% である。

【0095】

ある特定の実施形態では、該複数の式（Ⅰ）の化合物、またはそれらの塩は、式（Ⅰ）の化合物、またはそれらの塩に関して、約 87 % の純度を有する。ある特定の実施形態では、該純度は約 87.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 88 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 88.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 89 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 89.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 90 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 90.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 91 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 91.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 92 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 92.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 93 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 93.5 % である。ある特定の
10 実施形態では、該純度は約 94 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 94.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 95 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 95.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 96 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 96.6 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 97 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 97.7 % である。ある特定の
20 実施形態では、該純度は約 98 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 98.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 99 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 99.5 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 99.9 % である。ある特定の実施形態では、該純度は約 100 % である。ある特定の実施形態では、該純度は、約 98.1 %、98.2 %、98.3 %、98.4 %、98.5 %、98.6 %、98.7 %、98.8 %、または 98.9 % である。ある特定の実施形態では、該純度は、約 99.1 %、99.2 %、99.3 %、99.4 %、99.5 %、99.6 %、99.7 %、99.8 %、または 99.9 % である。

【0096】

ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、式（Ⅰ）の化合物、またはそれらの塩からなる。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、式（Ⅰ）の化合物、またはそれらの塩から本質的になる。

【0097】

ある特定の実施形態では、該複数の式（Ⅰ）の化合物、またはそれらの塩は、他の化合物を実質的に含まない。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、不純物を実質的に
30 含まない。「不純物」という用語は、式（Ⅰ）の化合物またはその塩以外の化合物を指す。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 13 % 未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 12 % 未満の不純物を含む。ある特定の
40 実施形態では、該複数の化合物は、合計で 11 % 未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 10 % 未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 9 % 未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 8 % 未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 7 % 未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 6 % 未満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 5 % 未
満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 4 % 未
満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 3 % 未
満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 2 % 未
満の不純物を含む。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、合計で 1 % 未
満の不純物を含む。

【0098】

ある特定の実施形態では、該複数の式（Ⅰ）の化合物中の該 PEG 脂質は、同じ化合物である。ある特定の実施形態では、該複数の PEG 脂質は、式（Ⅰ）の化合物の混合物を含む。本明細書に提供する複数の式（Ⅰ）の化合物は、他の成分、例えば、溶媒、担体、賦形剤等を含んでもよく、従って、溶液の形態であっても、組成物の形態であってもよい。式（Ⅰ）の化合物が溶液または組成物の一部である場合、禁止（proscribed）／推奨される純度（例えば、87 % 以上）は、該溶液または組成物の式（Ⅰ）の化成分

10

20

30

40

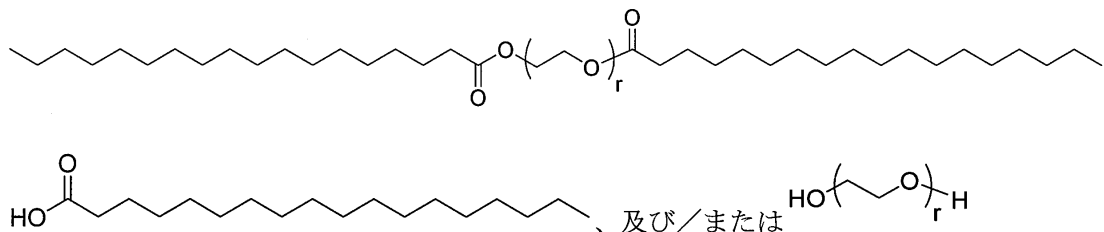
50

に関するものであることを理解されたい。

【0099】

ある特定の実施形態では、該不純物は、1つ以上の脂肪酸を含む。ある特定の実施形態では、該不純物は、1つ以上のPEGポリマーを含む。ある特定の実施形態では、該不純物は、1つ以上の脂肪酸及び／または1つ以上のPEGポリマーを含む。ある特定の実施形態では、該不純物は、以下：

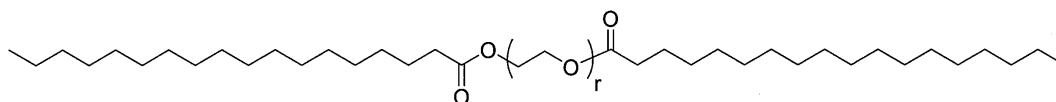
【化55】



10

のうちの1つ以上、またはそれらの塩であり、式中、 r は、独立して、35及び55を含めた35～55の整数である。ある特定の実施形態では、該不純物は、以下の式の化合物：

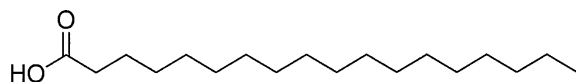
【化56】



20

、またはそれらの塩を含み、式中、 r は、独立して、35及び55を含めた35～55の整数である。ある特定の実施形態では、不純物は、以下の化合物：

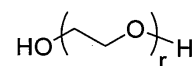
【化57】



30

、またはそれらの塩を含む。ある特定の実施形態では、該不純物は、以下の式のポリマー：

【化58】



、またはそれらの塩を含み、式中、 r は、独立して、35及び55を含めた35～55の整数である。

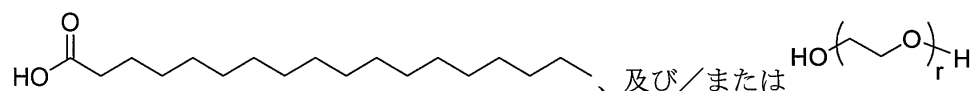
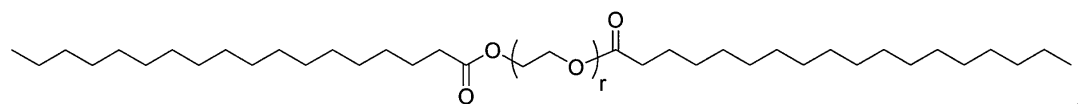
40

【0100】

ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、PEGを実質的に含まない。ある特定の実施形態では、該複数の化合物は、脂肪酸を実質的に含まない。ある特定の実施形態では、該複数の式(I)の化合物、またはそれらの塩は、以下：

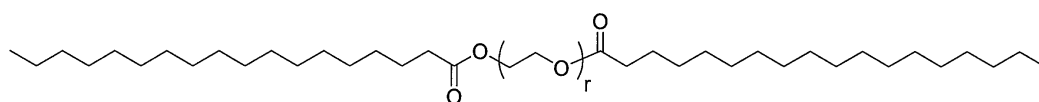
50

【化 5 9】



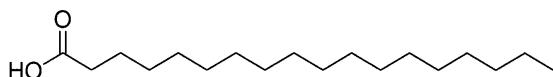
、またはそれらの塩のうちの1つ以上を実質的に含まず、ここで、 r は、独立して、35及び55を含めた35～55の整数である。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物、またはそれらの塩は、式：

【化 6 0】



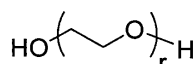
の化合物、またはそれらの塩を実質的に含まず、式中、 r は、独立して、35及び55を含めた35～55の整数である。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物、またはそれらの塩は、化合物：

【化 6 1】



、またはその塩を実質的に含まない。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物、またはそれらの塩は、式：

【化 6 2】



のポリマー、またはそれらの塩を実質的に含まず、式中、 r は、独立して、35及び55を含めた35～55の整数である。「実質的に含まない」とは、不純物に関して本明細書で使用される場合、最大で0～5%の不純物が存在することを指す。ある特定の実施形態では、0～2%の不純物が存在し得る。ある特定の実施形態では、0～1%の不純物が存在し得る。

【0101】

本明細書に提供するPEG脂質（例えば、式（I）の化合物）の多分散性指数（PDI）を測定することができる。「多分散性指数」は、混合物中の分子のサイズの不均一性の尺度を指し、「不均一性指数」または「分散度」とも呼ばれる。言い換えれば、それは、所与のポリマーサンプルの分子量分布の尺度である。PDIは、次式に基づいて計算される： $PDI = M_w / M_n$ 、ここで、 M_w は、重量平均分子量であり、 M_n は、数平均分子量である。ポリマーの混合物中のポリマー鎖（例えば、PEG鎖）が均一な鎖長に近づく、PDIは1の値に近づく。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、1.01、1.02、1.03、1.04、1.05、1.06、1.07、1.08、1.09、1.1、またはそれ以下のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、またはそれ以下のPDIを有する。ある特定

10

20

30

40

50

の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、1.0及び1.10を含めた1.0～1.10のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、1.02及び1.10を含めた1.02～1.10のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、1.0及び1.04を含めた1.0～1.04のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、1.02及び1.04を含めた1.02～1.04のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、1.10以下のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、1.04以下のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、約1.04のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、約1.03のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、約1.02のPDIを有する。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する複数のPEG脂質は、約1.01のPDIを有する。

10

【0102】

高純度PEG脂質を含む脂質ナノ粒子（LNP）

本明細書に提供するものは、本明細書に記載の高純度PEG脂質を含む脂質ナノ粒子（LNP）である。言い換えれば、本明細書に提供するものは、複数のPEG脂質を含む脂質ナノ粒子（LNP）であり、該複数のPEG脂質は、該LNPの該PEG脂質成分に関して87%以上の純度を有する。本明細書に記載の任意のPEG脂質は、本明細書に提供するLNPの高純度PEG脂質成分を構成し得る。

20

【0103】

「PEG脂質」または「高純度PEG脂質」が、LNP製剤の成分と見なされる場合、該PEG脂質の混合物が、該PEG脂質に関して禁止（proscribed）／推奨される87%以上の純度を有することを意味する。他のいくつかの実施形態（すなわち、推奨される純度）は、上記の節で提供されている。本明細書に提供するPEG脂質に加えて、該LNPは、1つ以上のさらなる脂質成分を含み得る。

【0104】

本明細書に提供するものは、本明細書に提供する複数のPEG脂質（例えば、本明細書に提供する純度が87%以上の複数の式（I）の化合物）を含む脂質ナノ粒子（LNP）である。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、該LNP中に、他の脂質に対してモル比0.15～15%で存在する。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、他の脂質に対してモル比0.15～5%で存在する。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、他の脂質に対してモル比1～5%で存在する。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、他の脂質に対してモル比0.15～2%で存在する。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、他の脂質に対してモル比1～2%で存在する。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、他の脂質に対してモル比約1%、1.1%、1.2%、1.3%、1.4%、1.5%、1.6%、1.7%、1.8%、1.9%、または2%で存在する。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、他の脂質に対してモル比約1.5%で存在する。

30

【0105】

PEG脂質の例を本明細書に提供するとともに、それらのいずれかを、推奨される87%以上の純度で 사용할 ことができる。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、本明細書に記載の複数の式（I）の化合物である。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、該LNP中に、他の脂質に対してモル比0.15～15%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、他の脂質に対してモル比0.15～5%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、他の脂質に対してモル比1～5%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、他の脂質に対してモル比0.15～2%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、他の脂質に対してモル比1～2%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、他の脂質に対してモル比約1%、1.1%、1.2%、1.3%、1.4%、1.5%、1.6%、1.7%、1.8%、1.9%、ま

40

50

たは2%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式(I)の化合物は、他の脂質に対してモル比約1.5%で存在する。

【0106】

本明細書に提供するLNPは、該高純度PEG脂質成分に加えて、任意の脂質(複数可)を含み得る。本明細書で一般的に定義される通り、「脂質」という用語は、疎水性または両親媒性を有する小分子を指す。脂質は、天然に存在するものでも合成のものでもよい。脂質のクラスの例としては、脂肪、ワックス、ステロール含有代謝物、ビタミン、脂肪酸、グリセロ脂質、グリセロリン脂質、スフィンゴ脂質、サッカロ脂質、及びポリケチド、ならびにプレノール脂質が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの例では、いくつかの脂質の両親媒性により、水性媒体中でリポソーム、小胞、または膜が形成される。

10

【0107】

ある特定の実施形態では、例えば、脂質ナノ粒子は、PEG脂質、イオン性アミノ脂質、ヘルパー脂質、及び構造脂質を含み得る。

【0108】

高純度PEG脂質及びイオン性アミノ脂質を含む脂質ナノ粒子(LNP)

ある特定の実施形態では、該LNPは、イオン性アミノ脂質(すなわち、カチオン性脂質)を含む。

【0109】

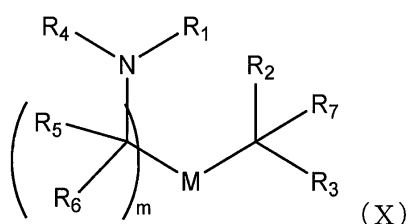
本明細書に提供するのは、本明細書に記載の高純度PEG脂質成分(すなわち、該PEG脂質成分に関して禁止(proscribed)/推奨される87%以上の純度を有する)、及びイオン性アミノ脂質を含むLNPである。ある特定の実施形態では、該LNPは、本明細書に記載の高純度PEG脂質成分、及び式(X)の化合物を含む。ある特定の実施形態では、該LNPは、本明細書に記載の複数の式(I)の化合物(すなわち、該PEG脂質成分に関して禁止(proscribed)/推奨される87%以上の純度を有する)及び式(X)の化合物を含む。

20

【0110】

式(X)の化合物は、以下の式:

【化63】



30

、またはその塩もしくは異性体を有し、式中、

R₁は、C₅-30アルキル、C₅-20アルケニル、-R*YR''、-YR''、及び-R''M', R'からなる群から選択され、

40

R₂及びR₃は、独立して、H、C₁-14アルキル、C₂-14アルケニル、-R*YR''、-YR''、及び-R*OR''からなる群から選択されるか、またはR₂及びR₃は、それらが結合している原子と一緒に、ヘテロ環もしくは炭素環を形成し、

R₄は、C₃-6炭素環、-(CH₂)_nQ、-(CH₂)_nCHQR、-CHQR、-CQ(R)₂、及び未置換C₁-6アルキルからなる群から選択され、ここで、Qは、炭素環、ヘテロ環、-OR、-O(CH₂)_nN(R)₂、-C(O)OR、-OC(O)R、-CX₃、-CX₂H、-CXH₂、-CN、-N(R)₂、-C(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)C(O)N(R)₂、-N(R)C(S)N(R)₂、-N(R)R₈、-O(CH₂)_nOR、-N(R)C(=NR₉)N(R)₂、-N(R)C(=CHR₉)N(R)₂、-OC(O)N(R)₂、-N(R)

50

) $C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR_9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 、及び $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択され、各 n は、独立して、1、2、3、4、及び5から選択され、

各 R_5 は、独立して、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及びHからなる群から選択され、

各 R_6 は、独立して、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及びHからなる群から選択され、

M 及び M' は、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され、

R_7 は、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及びHからなる群から選択され、

R_8 は、 C_{3-6} 炭素環及びヘテロ環からなる群から選択され、

R_9 は、H、CN、 NO_2 、 C_{1-6} アルキル、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 C_{2-6} アルケニル、 C_{3-6} 炭素環及びヘテロ環からなる群から選択され、

各 R は、独立して、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、及びHからなる群から選択され、

各 R' は、独立して、 C_{1-18} アルキル、 C_{2-18} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、及びHからなる群から選択され、

各 R'' は、独立して、 C_{3-14} アルキル及び C_{3-14} アルケニルからなる群から選択され、

各 R^* は、独立して、 C_{1-12} アルキル及び C_{2-12} アルケニルからなる群から選択され、

各 Y は、独立して、 C_{3-6} 炭素環であり、

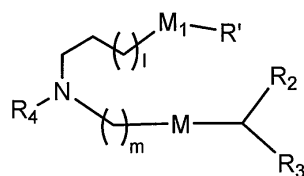
各 X は、独立して、F、Cl、Br、及びIからなる群から選択され、

m は、5、6、7、8、9、10、11、12、及び13から選択される。

【0111】

いくつかの実施形態では、式(X)の化合物は、式(XA)のもの：

【化64】



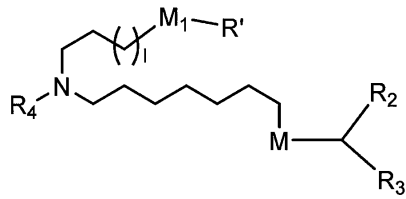
(XA)

、またはその塩もしくは異性体であり、式中、 l は、1、2、3、4、及び5から選択され、 m は、5、6、7、8、及び9から選択され、 M_1 は、結合または M' であり、 R_4 は、未置換 C_{1-3} アルキル、または $-(CH_2)_nQ$ であり、ここで、 Q は、OH、 $-NHC(S)N(R)_2$ 、 $-NHC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)R_8$ 、 $-NHC(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-NHC(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルであり、 M 及び M' は、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され、 R_2 及び R_3 は、独立して、H、 C_{1-14} アルキル、及び C_{2-14} アルケニルからなる群から選択される。

【0112】

ある特定の実施形態では、式（X）の化合物は、式（XI）のもの：

【化65】



(XI)

10

またはその塩もしくは異性体であり、式中、 l は、1、2、3、4、及び5から選択され、 M_1 は、結合または M' であり、 R_4 は、未置換 C_{1-3} アルキル、または $-(CH_2)_nQ$ であり、ここで、 n は、2、3、または4であり、 Q は、OH、 $-NHC(S)N(R)_2$ 、 $-NHC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)R_8$ 、 $-NHC(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-NHC(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルであり、 M 及び M' は、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基から選択され、 R_2 及び R_3 は、独立して、H、 C_{1-14} アルキル、及び C_{2-14} アルケニルからなる群から選択される。

20

【0113】

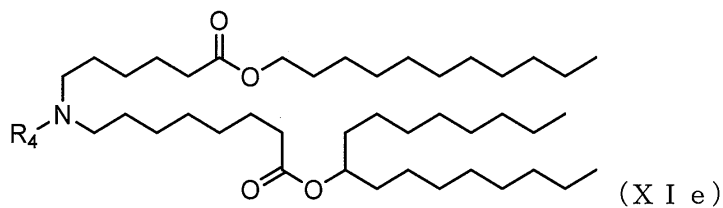
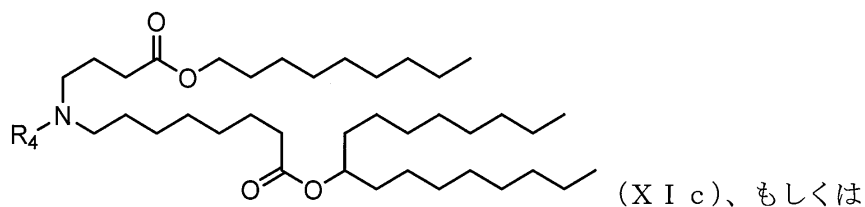
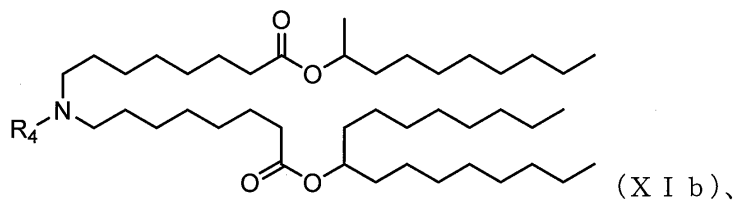
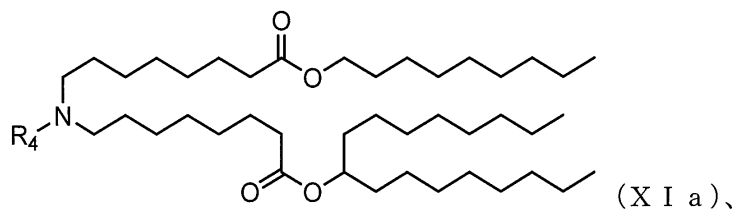
いくつかの実施形態では、式（X）の化合物は、式（XIa）、（XIb）、（XIc）、もしくは（XIe）のもの：

30

40

50

【化 6 6】

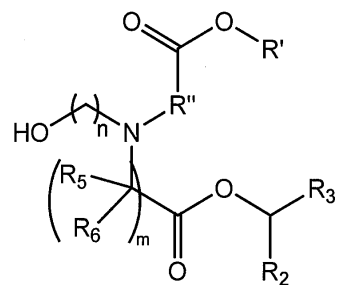


、またはその塩もしくは異性体であり、 R_4 は、本明細書に記載の通りである。

【0114】

ある特定の実施形態では、式 (X) の化合物は、式 (X I d) のもの：

【化 6 7】



(I I d)

、またはその塩もしくは異性体であり、式中、 n は、2、3、または4であり、 m 、 R' 、 R'' 、及び $R_2 \sim R_6$ は、本明細書に記載の通りである。例えば、 R_2 及び R_3 の各々は、独立して、 C_{5-14} アルキル及び C_{5-14} アルケニルからなる群から選択され得る。

【0115】

ある特定の実施形態では、式 (X) の化合物は、以下の構造：

10

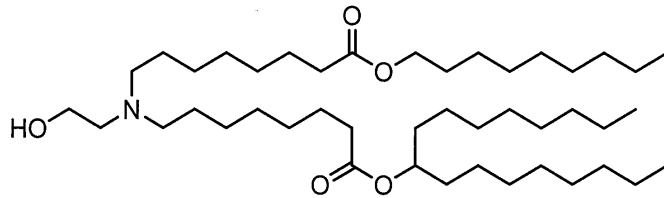
20

30

40

50

【化 6 8】



化合物 (B)

10

、またはその塩を有する。

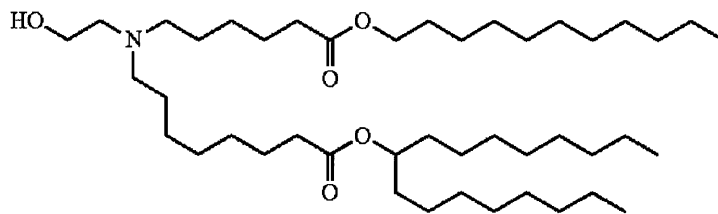
【 0 1 1 6】

ある特定の実施形態では、該 L N P は、本明細書に記載の高純度 P E G 脂質成分、及び化合物 (B) を含む。ある特定の実施形態では、該 L N P は、本明細書に記載の複数の式 (I) の化合物、及び化合物 (B) を含む。

【 0 1 1 7】

ある特定の実施形態では、式 (X) の化合物は、構造：

【化 6 9】



化合物 (C)

20

、またはその塩を有する。

【 0 1 1 8】

ある特定の実施形態では、該 L N P は、本明細書に記載の高純度 P E G 脂質成分、及び化合物 (C) を含む。ある特定の実施形態では、該 L N P は、本明細書に記載の複数の式 (I) の化合物、及び化合物 (C) を含む。

【 0 1 1 9】

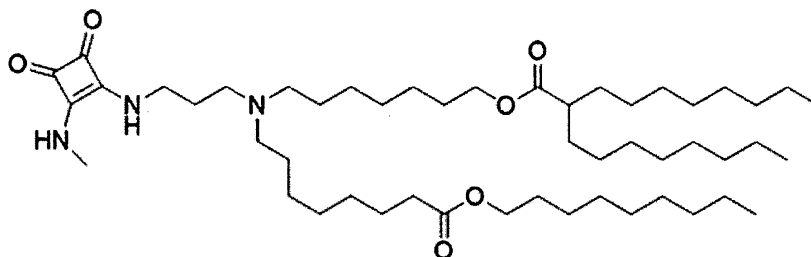
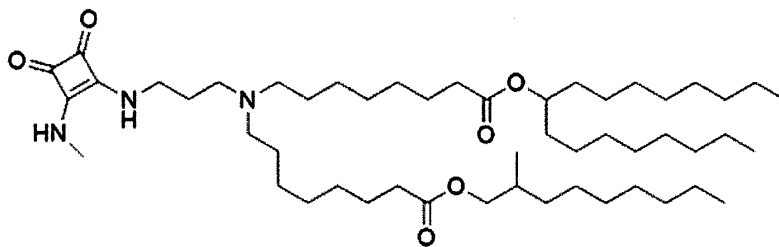
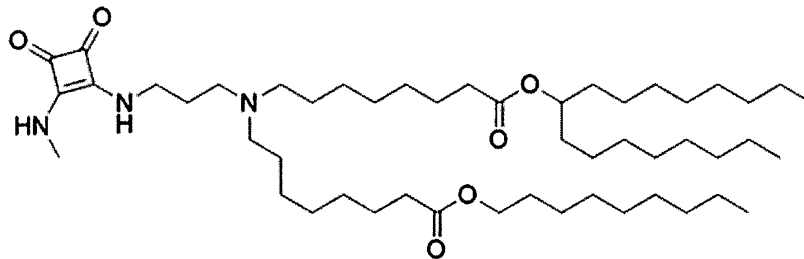
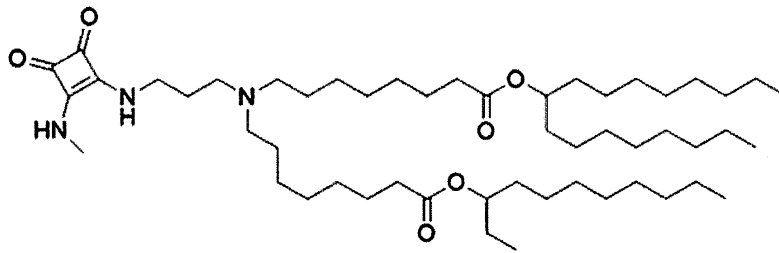
ある特定の実施形態では、式 (X) の化合物は、

30

40

50

【化 7 0】



、及びそれらの医薬的に許容される塩からなる群から選択される。ある特定の実施形態では、該 LNP は、本明細書に記載の高純度 PEG 脂質成分、及び前述の式 (X) の化合物のうちの 1 つを含む。ある特定の実施形態では、該 LNP は、本明細書に記載の複数の式 (I) の化合物、前述の式 (X) の化合物のうちの 1 つを含む。

【0120】

ある特定の実施形態では、該 LNP は、本明細書に記載の高純度 PEG 脂質成分（すなわち、該 PEG 脂質成分に関して禁止 (proscribed) / 推奨される 87% 以上の純度を有する）及び式 (Y) の化合物を含む。ある特定の実施形態では、該 LNP は、本明細書に記載の複数の式 (I) の化合物（すなわち、該 PEG 脂質成分に関して禁止 (proscribed) / 推奨される 87% 以上の純度を有する）及び式 (Y) の化合物を含む。

【0121】

式 (Y) の化合物は、以下の式：

10

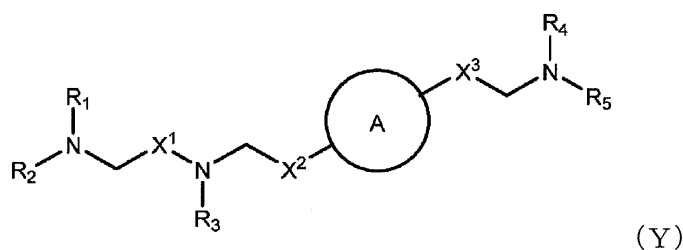
20

30

40

50

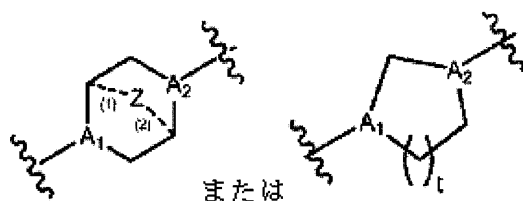
【化 7 1】



10

、またはその塩を有し、式中、
環 A は、

【化 7 2】



20

であり、

A_1 及び A_2 は、各々独立して、CH 及び N から選択され、

Z は、 CH_2 であるか、または存在せず、ここで、Z が CH_2 の場合、破線 (1) 及び (2) は、各々単結合を表し、Z が存在しない場合、破線 (1) 及び (2) はともに存在せず、

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、及び R_5 は、独立して、 C_5-20 アルキル、 C_5-20 アルケニル、 $-R''MR'$ 、 $-R''YR''$ 、 $-YR''$ 、及び $-R''OR''$ からなる群から選択され、

各 M は、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、アリール基、及びヘテロアリール基からなる群から選択され、

30

X_1 、 X_2 、及び X_3 は、独立して、結合、 $-CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2-$ 、 $-CHR-$ 、 $-CHY-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)-CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)-$ 、 $-C(O)O-CH_2-$ 、 $-OC(O)-CH_2-$ 、 $-CH_2C(O)O-$ 、 $-CH_2OC(O)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-C(S)-$ 、及び $-CH(SH)-$ からなる群から選択され、

各 Y は、独立して、 C_3-6 炭素環であり、

各 R^* は、独立して、 C_1-12 アルキル及び C_2-12 アルケニルからなる群から選択され、

40

各 R は、独立して、 C_1-3 アルキル及び C_3-6 炭素環からなる群から選択され、

各 R' は、独立して、 C_1-12 アルキル、 C_2-12 アルケニル、及び H からなる群から選択され、

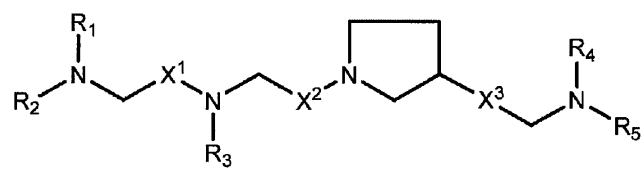
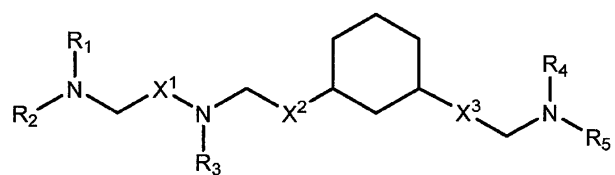
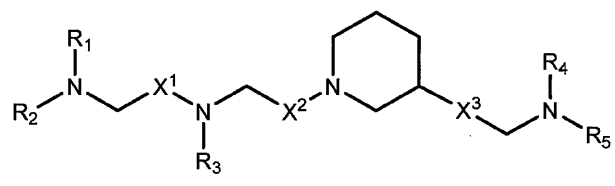
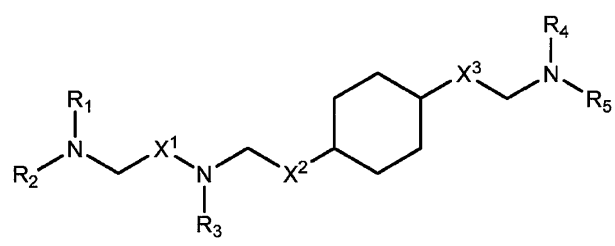
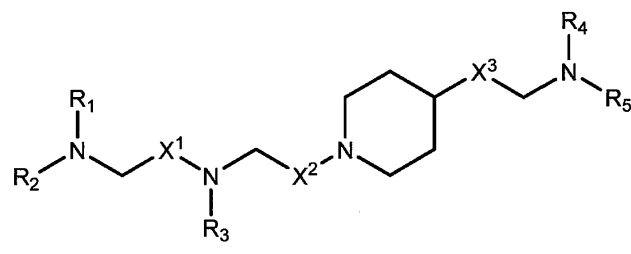
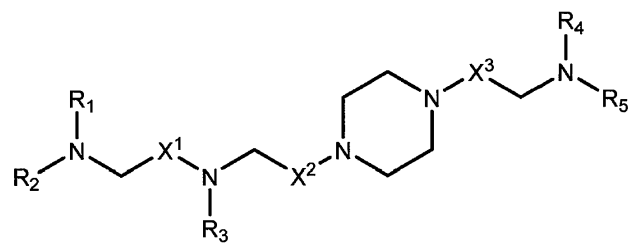
各 R'' は、独立して、 C_3-12 アルキル及び C_3-12 アルケニルからなる群から選択される。

【0122】

ある特定の実施形態では、式 (Y) の化合物は、式 (Ya1)、(Ya2)、(Ya3)、(Ya4)、(Ya5)、もしくは (Ya6) のうちの 1 つのもの：

50

【化 7 3】



、またはその塩もしくは立体異性体である。

【0 1 2 3】

ある特定の実施形態では、式 (Y) の化合物は、構造：

10

20

30

40

50

CCCCCCCCCN(CCCCCCCCCC)CC(=O)N1CCN(CC1)C(=O)CN(CCCCCCCCCC)CCN(CCCCCCCCCC)CCCCCCCCC

化合物 (A)

10

ある特定の実施形態では、該 L N P は、本明細書に記載の高純度 P E G 脂質成分、及び化合物（A）を含む。ある特定の実施形態では、該 L N P は、本明細書に記載の複数の式（I）の化合物、及び化合物（A）を含む。

式（X）及び（Y）の化合物のさらなる例は、例えば、2017年3月23日に公開された国際公開第WO2017/049245号、及び国際公開第WO2017/112865号に見出すことができる。これら各々の全内容は、参照することにより本明細書に組み込まれる。

20

ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質（例えば、式（X）もしくは（Y）の化合物、または化合物（A）、（B）、もしくは（C））は、他の脂質に対してモル比約25～65%で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約25～50%で存在する。

ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質（例えば、式（X）もしくは（Y）の化合物、または化合物（A）、（B）、もしくは（C））は、他の脂質に対してモル比約40%以下で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約35%以下で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約30%以下で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約25~40%で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約25~35%で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約30~40%で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約35~45%で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約40~50%で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約45~55%で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、または45%で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約30%で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約40%で存在する。

30

イオン性アミノ脂質（「カチオン性脂質」とも呼ばれる）の例を本明細書に提供する。イオン性／カチオン性脂質は、一般に、生理的 pH で正または部分正電荷を有し得る脂質である。ある特定の実施形態では、本発明において有用なイオン性アミノ脂質は、2017年3月23日に公開された国際公開第 WO 2017/049245 号、または国際公開第 WO 2017/112865 号に見出すことができる。これら各々の全内容は、参照す

50

ることにより本明細書に組み込まれる。

【0129】

ある特定の実施形態では、カチオン性及び／またはイオン性脂質は、3-（ジドデシルアミノ）-N1, N1, 4-トリドデシル-1-ピペラジンエタンアミン（KL10）、N1-[2-（ジドデシルアミノ）エチル] N1, N4, N4-トリドデシル-1, 4-ピペラジンジエタンアミン（KL22）、14, 25-ジトリドデシル-15, 18, 21, 24-テトラアザ-オクタトリアコンタン（KL25）、1, 2-ジリノレイルオキシ-N, N-ジメチルアミノプロパン（DLin-DMA）、2, 2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノメチル-[1, 3]-ジオキソラン（DLin-K-DMA）、ヘプタトリアコンター-6, 9, 28, 31-テトラエン-19-イル-4-（ジメチルアミノ）ブタノエート（DLin-MC3-DMA）、2, 2-ジリノレイル-4-（2-ジメチルアミノエチル）-[1, 3]-ジオキソラン（DLin-KC2-DMA）、1, 2-ジオレイルオキシ-N, N-ジメチルアミノプロパン（DODMA）、2-（{8-[(3β)-コレスト-5-エン-3-イルオキシ] オクチル} オキシ）-N, N-ジメチル-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-1-アミン（オクチル-CLinDMA）、(2R)-2-（{8-[(3β)-コレスト-5-エン-3-イルオキシ] オクチル} オキシ）-N, N-ジメチル-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-1-アミン（オクチル-CLinDMA (2R)）、及び(2S)-2-（{8-[(3β)-コレスト-5-エン-3-イルオキシ] オクチル} オキシ）-N, N-ジメチル-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-1-アミン（オクチル-CLinDMA (2S)）からなる非限定的な群から選択され得る。これらに加えて、カチオン性脂質はまた、環状アミン基を含む脂質であり得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0130】

1つの実施形態では、該カチオン性脂質は、国際公開第WO2012040184号、第WO2011153120号、第WO2011149733号、第WO2011090965号、第WO2011043913号、第WO2011022460号、第WO2012061259号、第WO2012054365号、第WO2012044638号、第WO2010080724号、第WO201021865号、第WO2008103276号、第WO2013086373号及び第WO2013086354号、米国特許第7, 893, 302号、第7, 404, 969号、第8, 283, 333号、及び第8, 466, 122号、ならびに米国特許公開第US20100036115号、第US20120202871号、第US20130064894号、第US20130129785号、第US20130150625号、第US20130178541号及び第S20130225836号に記載のカチオン性脂質が挙げられ得るが、これらに限定されない。これら各々の内容は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる。

【0131】

別の実施形態では、該カチオン性脂質は、国際公開第WO2012040184号、第WO2011153120号、第WO2011149733号、第WO2011090965号、第WO2011043913号、第WO2011022460号、第WO2012061259号、第WO2012054365号、第WO2012044638号及び第WO2013116126号または米国特許公開第US20130178541号及び第US20130225836号に記載の式Aから選択され得るが、これらに限定されない。これら各々の内容は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる。さらに別の実施形態では、該カチオン性脂質は、国際公開第WO2008103276号の式CLI-CLXXIX、米国特許第7, 893, 302号の式CLI-CLXXIX、米国特許第7, 404, 969号の式CLI-CLXXXXII及び米国特許公開第US20100036115号の式I-VI、米国特許公開第US20130123338号の式Iから選択され得るが、これらに限定されない。これらの各々は、参照することにより

全体として本明細書に組み込まれる。

【0132】

非限定的な例として、該カチオン性脂質は、(20Z, 23Z)-N, N-ジメチルノ
 ナコサ-20, 23-ジエン-10-アミン、(17Z, 20Z)-N, N-ジメチルヘ
 キサコサ-17, 20-ジエン-9-アミン、(1Z, 19Z)-N5N-ジメチルペン
 タコサ-16, 19-ジエン-8-アミン、(13Z, 16Z)-N, N-ジメチルドコ
 サ-13, 16-ジエン-5-アミン、(12Z, 15Z)-N, N-ジメチルヘンイコ
 サ-12, 15-ジエン-4-アミン、(14Z, 17Z)-N, N-ジメチルトリコサ
 -14, 17-ジエン-6-アミン、(15Z, 18Z)-N, N-ジメチルテトラコサ
 -15, 18-ジエン-7-アミン、(18Z, 21Z)-N, N-ジメチルヘプタコサ
 -18, 21-ジエン-10-アミン、(15Z, 18Z)-N, N-ジメチルテトラコ
 サ-15, 18-ジエン-5-アミン、(14Z, 17Z)-N, N-ジメチルトリコサ
 -14, 17-ジエン-4-アミン、(19Z, 22Z)-N, N-ジメチルオクタコサ
 -19, 22-ジエン-9-アミン、(18Z, 21Z)-N, N-ジメチルヘプタコサ
 -18, 21-ジエン-8-アミン、(17Z, 20Z)-N, N-ジメチルヘキサコサ
 -17, 20-ジエン-7-アミン、(16Z, 19Z)-N, N-ジメチルペンタコサ
 -16, 19-ジエン-6-アミン、(22Z, 25Z)-N, N-ジメチルヘントリア
 コンタ-22, 25-ジエン-10-アミン、(21Z, 24Z)-N, N-ジメチルト
 リアコンタ-21, 24-ジエン-9-アミン、(18Z)-N, N-ジメチルヘプタコ
 サ-18-エン-10-アミン、(17Z)-N, N-ジメチルヘキサコサ-17-エン
 -9-アミン、(19Z, 22Z)-N, N-ジメチルオクタコサ-19, 22-ジエン
 -7-アミン、N, N-ジメチルヘプタコサン-10-アミン、(20Z, 23Z)-N
 -エチル-N-メチルノナコサ-20, 23-ジエン-10-アミン、1-[(11Z,
 14Z)-1-ノニルイコサ-11, 14-ジエン-1-イル]ピロリジン、(20Z)
 -N, N-ジメチルヘプタコス-20-エン-10-アミン、(15Z)-N, N-ジメ
 チルエプタコス-15-エン-10-アミン、(14Z)-N, N-ジメチルノナコス
 -14-エン-10-アミン、(17Z)-N, N-ジメチルノナコス-17-エン-10
 -アミン、(24Z)-N, N-ジメチルトリトリアコンタ-24-エン-10-アミン
 、(20Z)-N, N-ジメチルノナコス-20-エン-10-アミン、(22Z)-N
 , N-ジメチルヘントリアコンタ-22-エン-10-アミン、(16Z)-N, N-ジ
 メチルペンタコス-16-エン-8-アミン、(12Z, 15Z)-N, N-ジメチル
 2-ノニルヘンイコス-12, 15-ジエン-1-アミン、(13Z, 16Z)-N, N
 -ジメチル-3-ノニルドコサ-13, 16-ジエン-1-アミン、N, N-ジメチル
 1-[(1S, 2R)-2-オクチルシクロプロピル]エプタデカン-8-アミン、1-
 [(1S, 2R)-2-ヘキシルシクロプロピル]-N, N-ジメチルノナデカン-10
 -アミン、N, N-ジメチル-1-[(1S, 2R)-2-オクチルシクロプロピル]ノ
 ナデカン-10-アミン、N, N-ジメチル-21-[(1S, 2R)-2-オクチルシ
 クロプロピル]ヘンイコサン-10-アミン、N, N-ジメチル-1-[(1S, 2S)
 -2-{[(1R, 2R)-2-ペンチルシクロプロピル]メチル}シクロプロピル]ノ
 ナデカン-10-アミン、N, N-ジメチル-1-[(1S, 2R)-2-オクチルシク
 ロプロピル]ヘキサデカン-8-アミン、N, N-ジメチル-[(1R, 2S)-2-ウ
 ンデシルシクロプロピル]テトラデカン-5-アミン、N, N-ジメチル-3-{7-
 [(1S, 2R)-2-オクチルシクロプロピル]ヘプチル}ドデカン-1-アミン、1-
 [(1R, 2S)-2-ヘプチルシクロプロピル]-N, N-ジメチルオクタデカン-9
 -アミン、1-[(1S, 2R)-2-デシルシクロプロピル]-N, N-ジメチルペン
 タデカン-6-アミン、N, N-ジメチル-1-[(1S, 2R)-2-オクチルシクロ
 プロピル]ペンタデカン-8-アミン、R-N, N-ジメチル-1-[(9Z, 12Z)
 -オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]-3-(オクチルオキシ)プロパン
 -2-アミン、S-N, N-ジメチル-1-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12
 -ジエン-1-イルオキシ]-3-(オクチルオキシ)プロパン-2-アミン、1-{2

10

20

30

40

50

- [(9Z, 12Z) - オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] - 1 - [(オク
 チルオキシ) メチル] エチル} ピロリジン、(2S) - N, N-ジメチル-1 - [(9
 Z, 12Z) - オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] - 3 - [(5Z) - オ
 クタ-5-エン-1-イルオキシ] プロパン-2-アミン、1 - {2 - [(9Z, 12Z)
) - オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] - 1 - [(オクチルオキシ) メチ
 ル] エチル} アゼチジン、(2S) - 1 - (ヘキシルオキシ) - N, N-ジメチル-3 -
 [(9Z, 12Z) - オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-2-
 アミン、(2S) - 1 - (ヘプチルオキシ) - N, N-ジメチル-3 - [(9Z, 12Z)
) - オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-2-アミン、N, N-
 ジメチル-1 - (ノニルオキシ) - 3 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ-9, 12-ジ
 エン-1-イルオキシ] プロパン-2-アミン、N, N-ジメチル-1 - [(9Z) - オ
 クタデカ-9-エン-1-イルオキシ] - 3 - (オクチルオキシ) プロパン-2-アミン
 、(2S) - N, N-ジメチル-1 - [(6Z, 9Z, 12Z) - オクタデカ-6, 9,
 12-トリエン-1-イルオキシ] - 3 - (オクチルオキシ) プロパン-2-アミン、(2
 S) - 1 - [(11Z, 14Z) - イコサ-11, 14-ジエン-1-イルオキシ] -
 N, N-ジメチル-3 - (ペンチルオキシ) プロパン-2-アミン、(2S) - 1 - (ヘ
 キシルオキシ) - 3 - [(11Z, 14Z) - イコサ-11, 14-ジエン-1-イルオ
 キシ] - N, N-ジメチルプロパン-2-アミン、1 - [(11Z, 14Z) - イコサ-
 11, 14-ジエン-1-イルオキシ] - N, N-ジメチル-3 - (オクチルオキシ) プ
 ロパン-2-アミン、1 - [(13Z, 16Z) - ドコサ-13, 16-ジエン-1-イル
 オキシ] - N, N-ジメチル-3 - (オクチルオキシ) プロパン-2-アミン、(2S)
) - 1 - [(13Z, 16Z) - ドコサ-13, 16-ジエン-1-イルオキシ] - 3 -
 (ヘキシルオキシ) - N, N-ジメチルプロパン-2-アミン、(2S) - 1 - [(13
 Z) - ドコサ-13-エン-1-イルオキシ] - 3 - (ヘキシルオキシ) - N, N-ジメ
 チルプロパン-2-アミン、1 - [(13Z) - ドコサ-13-エン-1-イルオキシ]
 - N, N-ジメチル-3 - (オクチルオキシ) プロパン-2-アミン、1 - [(9Z) -
 ヘキサデカ-9-エン-1-イルオキシ] - N, N-ジメチル-3 - (オクチルオキシ)
 プロパン-2-アミン、(2R) - N, N-ジメチル-H (1-メチルオクチル) オキシ
] - 3 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパ
 ン-2-アミン、(2R) - 1 - [(3, 7-ジメチルオクチル) オキシ] - N, N-ジ
 メチル-3 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プ
 ロパン-2-アミン、N, N-ジメチル-1 - (オクチルオキシ) - 3 - ({8 - [(1
 S, 2S) - 2 - {[(1R, 2R) - 2-ペンチルシクロプロピル] メチル} シクロプ
 ロピル] オクチル} オキシ) プロパン-2-アミン、N, N-ジメチル-1 - {[8 - (2
 -オクチルシクロプロピル) オクチル] オキシ} - 3 - (オクチルオキシ) プロパ
 ン-2-アミン及び(11E, 20Z, 23Z) - N, N-ジメチルノナコサ-11, 20,
 2-トリエン-10-アミンまたはその医薬的に許容される塩もしくは立体異性体から選
 択され得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0133】

1つの実施形態では、該脂質は、切断可能な脂質、例えば、参照することにより全体と
 して本明細書に組み込まれる国際公開第WO2012170889号に記載のものでよい
 。別の実施形態では、該脂質は、カチオン性脂質、例えば、これらに限定されないが、参
 照することによりその内容が全体として本明細書に組み込まれる米国特許出願第US20
 130064894号の式(I)でよい。1つの実施形態では、該カチオン性脂質は、当
 技術分野で既知の方法及び／または、その各々の内容が、参照することにより全体として
 本明細書に組み込まれる国際公開第WO2013086354号に記載の方法によって合
 成され得る。別の実施形態では、該カチオン性脂質は、トリアルキルカチオン性脂質であ
 り得る。トリアルキルカチオン性脂質の非限定的な例、ならびに該トリアルキルカチオン
 性脂質を作製及び使用する方法は、国際特許公開第WO2013126803号に記載さ
 れており、その内容は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる。

【0134】

いくつかの実施形態では、LNPは、脂質KL52（参照することにより全体として本明細書に組み込まれる米国出願公開第2012/0295832号に開示のアミノ脂質）を含む。LNP投与の活性及び／または安全性（ALT／AST、白血球数及びサイトカイン誘導のうちの1つ以上を調べることによって測定される）は、かかる脂質を組み込むことによって改善される可能性がある。KL52を含むLNPは、静脈内に及び／または1回以上投与され得る。いくつかの実施形態では、KL52を含むLNPの投与により、MC3を含むLNPと比較して、同等のまたは改善されたmRNA及び／またはタンパク質の発現がもたらされる。

【0135】

非限定的な例として、該LNPは、カチオン性ペプチドまたはポリペプチド、例えば、これらに限定されないが、ポリリジン、ポリオルニチン及び／またはポリアルギニン、ならびに各々が参照することにより全体として本明細書に組み込まれる国際公開第WO2012013326号または米国特許公開第US20130142818号に記載のカチオン性ペプチドが挙げられ得る。

【0136】

他のLNP成分

ある特定の実施形態では、該LNPは、ヘルパー脂質を含む。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、他の脂質に対してモル比約10～40％で存在する。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、他の脂質に対してモル比約10～20％で存在する。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、他の脂質に対してモル比約15～25％で存在する。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、他の脂質に対してモル比約20～30％で存在する。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、他の脂質に対してモル比約25～35％で存在する。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、他の脂質に対してモル比約30～40％で存在する。ある特定の実施形態では、該イオン性アミノ脂質は、他の脂質に対してモル比約15％、16％、17％、18％、19％、20％、21％、22％、23％、24％、25％、26％、27％、28％、29％、30％、31％、32％、33％、34％、または35％で存在する。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、他の脂質に対してモル比約10％で存在する。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、他の脂質に対してモル比約20％で存在する。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、他の脂質に対してモル比約30％で存在する。

【0137】

ヘルパー脂質の例を本明細書に提供する。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、リン脂質である。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、DSPCまたはその類似体である。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、DSPCである。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、DOPEである。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、オレイン酸またはその類似体である。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、オレイン酸である。

【0138】

本発明において有用なヘルパー脂質としては、中性及び／または非カチオン性脂質（例えば、生理的pHで中性または非カチオン性脂質である脂質）が挙げられる。ヘルパー脂質は、「非カチオン性」脂質とも呼ばれ得る。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、リン脂質である。

【0139】

本発明において有用なヘルパー脂質の例を含む他の実施形態については、その全内容が参照することにより本明細書に組み込まれる2017年6月15日に公開された国際公開第WO2017/099823号を参照されたい。

【0140】

本明細書で定義されるリン脂質は、リン酸基を含む任意の脂質である。リン脂質は、非カチオン性脂質のサブセットである。ナノ粒子組成物の脂質成分は、1つ以上のリン脂質

10

20

30

40

50

、例えば、1つ以上の（ポリ）不飽和脂質を含み得る。リン脂質は、1つ以上の脂質二重層に集合し得る。一般に、リン脂質は、リン脂質部分及び1つ以上の脂肪酸部分を含み得る。リン脂質部分は、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、2-リゾホスファチジルコリン、及びスフィンゴミエリンからなる非限定的な群から選択され得る。脂肪酸部分は、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、アルファ-リノレン酸、エルカ酸、フィタン酸、アラキジン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ベヘン酸、ドコサペンタエン酸、及びドコサヘキサエン酸からなる非限定的な群から選択され得る。分岐、酸化、環化、及びアルキンを含む修飾及び置換を有する天然種を含めた非天然種もまた企図される。例えば、リン脂質は、1つ以上のアルキン（例えば、1つ以上の二重結合が三重結合で置き換えられているアルケニル基）で官能化または架橋され得る。適切な反応条件下で、アルキン基は、アジドへの曝露時に銅触媒による付加環化を受ける可能性がある。かかる反応は、ナノ粒子組成物の脂質二重層を機能化して膜透過または細胞認識を促進するのに、またはナノ粒子組成物を標的化もしくは画像化部分（例えば、色素）等の有用な成分に結合するのに有用であり得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0141】

該組成物及び方法において有用なヘルパー脂質、特にリン脂質は、1, 2-ジステアロイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (DSPC)、1, 2-ジオレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (DOPE)、1, 2-ジリノレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (D LPC)、1, 2-ジミリストイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (D MPC)、1, 2-ジオレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (D OPC)、1, 2-ジパルミトイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (D PPC)、1, 2-ジウンデカノイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (D UPC)、1-パルミトイル-2-オレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (POPC)、1, 2-ジオ-オクタデセニル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (18:0 ジエテル PC)、1-オレオイル-2-コレステリルヘミスクシノイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (OChem s PC)、1-ヘキサデシル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン (C16 Lyso PC)、1, 2-ジリノレノイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン、1, 2-ジアラキドノイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン、1, 2-ジドコサヘキサエノイル-s n-グリセロ-3-ホスホコリン、1, 2-ジフィタノイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン (ME16.0 PE)、1, 2-ジステアロイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1, 2-ジリノレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1, 2-ジリノレノイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1, 2-ジアラキドノイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1, 2-ジドコサヘキサエノイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1, 2-ジオレオイル-s n-グリセロ-3-ホスホ-*r a c*- (1-グリセロール) ナトリウム塩 (DOPG)、及びスフィンゴミエリンからなる非限定的な群から選択され得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、DSPCを含む。ある特定の実施形態では、ナノ粒子組成物は、DOPEを含む。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物は、DSPC及びDOPEを両方含む。

【0142】

ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、脂肪酸である。該脂肪酸は、飽和でも不飽和でもよい。不飽和脂肪酸の例としては、ミリストレイン酸、パルミツール酸、サピエン酸、オレイン酸、エライジン酸、バクセン酸、リノール酸、リノエライジン酸、アルファ-リノエライジン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、エルカ酸、ドコサヘキサエン酸、またはそれらの任意のシス/トランス二重結合異性体が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、該脂質は、オレイン酸である。ある特定の実施形態では、該脂質は、オレイン酸の異性体である（例えば、その二重結合は、オレイン酸と比較して脂肪族鎖に沿った異なる位置にある）。ある特定の実施形態では、該脂質は、オ

レイン酸の類似体である（例えば、その脂肪族鎖は、オレイン酸の脂肪族鎖よりも1～10炭素長い、または1～10炭素短い）。飽和脂肪酸の例としては、カプリル酸、カプリン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ベヘン酸、リグノセリン酸、及びセロチン酸が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、オレイン酸類似体は、オレイン酸のカルボン酸部分が異なる基で置き換えられている化合物である。

【0143】

ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、脂肪酸のグリシン誘導体（例えば、N-パリトイルグリシン（palitoylglycine）またはN-オレオグリシン）である。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、グリセロ脂質（例えば、モノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリド）である。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、モノグリセリドである。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、ジグリセリドである。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、トリグリセリドである。ある特定の実施形態では、該ヘルパー脂質は、糖部分（例えば、単糖、二糖、多糖）を含む。

【0144】

ある特定の実施形態では、該LNPは、さらに構造脂質を含む。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約30～50%で存在する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約30～40%で存在する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約35～45%で存在する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約40～50%で存在する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約30～35%で存在する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約35～40%で存在する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約40～45%で存在する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約45～50%で存在する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約35%、35.5%、36%、36.5%、37%、37.5%、38%、38.5%、39%、39.5%、40%、40.5%、41%、41.5%、または42%で存在する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、他の脂質に対してモル比約38.5%で存在する。

【0145】

構造脂質の例を本明細書に提供する。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、ステロールである。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、コレステロールである。

【0146】

本発明において有用な構造脂質の非限定的な例を本明細書に提供する。該脂質ナノ粒子に構造脂質を組み込むことで、粒子内の他の脂質の凝集の軽減が促される可能性がある。構造脂質は、コレステロール、フェコステロール、シトステロール、エルゴステロール、カンペステロール、スチグマステロール、ブラシカステロール、トマチジン、トマチン、ウルソル酸、アルファートコフェロール、ホパノイド、フィトステロール、ステロイド、及びそれらの混合物からなる群から選択することができるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、該構造脂質は、ステロールである。本明細書で定義される通り、「ステロール」は、ステロイドアルコールからなるステロイドの亜群である。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、ステロイドである。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、コレステロールである。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、コレステロールの類似体である。ある特定の実施形態では、該構造脂質は、アルファートコフェロールである。

【0147】

本発明において有用なヘルパー脂質の例を含む他の実施形態については、その全内容が参照することにより本明細書に組み込まれる2017年6月15日に公開された国際公開第WO2017/099823号を参照されたい。

【0148】

ある特定の実施形態では、該 L N P は、本明細書に提供する複数の P E G 脂質（例えば、本明細書に提供する複数の式（I）の化合物）、イオン性アミノ脂質、ヘルパー脂質、及び構造脂質を含む。

【0149】

ある特定の実施形態では、該 L N P は、25～65%のイオン性アミノ脂質、約0.15～15%の本明細書に提供する P E G 脂質（例えば、本明細書に提供する複数の式（I）の化合物）、約30～50%の構造脂質、及び約10～40%のヘルパー脂質を含む。

【0150】

本開示に適用可能な多くの他の脂質及び L N P 製剤は、例えば、2017年6月15日に公開された国際公開第 W O 2 0 1 7 / 0 9 9 8 2 3 号に見出すことができ、その全内容は参照することにより本明細書に組み込まれる。

【0151】

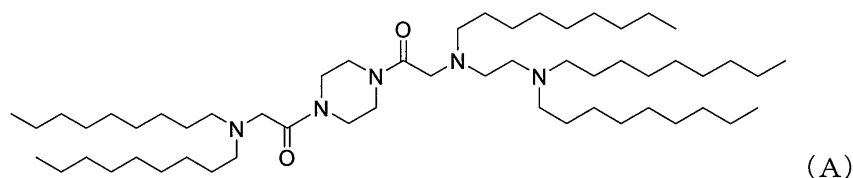
脂質ナノ粒子（L N P）のある特定の実施形態

本明細書に提供するものは、イオン性アミノ脂質、P E G 脂質、ヘルパー脂質（例えば、リン脂質）、及び構造脂質を含む脂質ナノ粒子（L N P）である。ある特定の実施形態では、該 L N P は、送達される薬剤を含む。

【0152】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供する L N P は、イオン性アミノ脂質である化合物（A）：

【化75】



(A)

、P E G 脂質、1，2-ジオレオイル-*s n*-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン（D O P E）（ヘルパー脂質）、及びコレステロール（構造脂質）を含む。

【0153】

ある特定の実施形態では、該 L N P は、化合物（A）、本明細書に記載の高純度 P E G 脂質（すなわち、本明細書に記載の純度87%以上を有する）、1，2-ジオレオイル-*s n*-グリセロール-3-ホスホエタノールアミン（D O P E）、及びコレステロールを含む。ある特定の実施形態では、該 L N P は、化合物（A）、本明細書に記載の複数の式（I）の化合物（すなわち、本明細書に記載の純度87%以上を有する）、D O P E、及びコレステロールを含む。

【0154】

ある特定の実施形態では、化合物（A）は、他の脂質に対してモル比40%以下で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（A）は、他の脂質に対してモル比20%及び40%を含めた20～40%で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（A）は、他の脂質に対してモル比25%及び35%を含めた25～35%で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（A）は、他の脂質に対してモル比約30%で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（A）は、他の脂質に対してモル比約40%で存在する。

【0155】

ある特定の実施形態では、該 P E G 脂質は、他の脂質に対してモル比0.15%及び15%を含めた0.15～15%で存在する。ある特定の実施形態では、該 P E G 脂質は、他の脂質に対してモル比1%及び2%を含めた1～2%で存在する。ある特定の実施形態では、該 P E G 脂質は、他の脂質に対してモル比約1.5%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、他の脂質に対してモル比0.15%及び15%

を含めた 0.15～1.5% で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式 (I) の化合物は、他の脂質に対してモル比 1% 及び 2% を含めた 1～2% で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式 (I) の化合物は、他の脂質に対してモル比約 1.5% で存在する。

【0156】

ある特定の実施形態では、DOPE は、他の脂質に対してモル比 20% 及び 40% を含めた 20～40% で存在する。ある特定の実施形態では、DOPE は、他の脂質に対してモル比 25% 及び 35% を含めた 25～35% で存在する。ある特定の実施形態では、DOPE は、他の脂質に対してモル比約 30% で存在する。

【0157】

ある特定の実施形態では、コレステロールは、他の脂質に対してモル比 30% 及び 50% を含めた 30～50% で存在する。ある特定の実施形態では、コレステロールは、他の脂質に対してモル比 35% 及び 40% を含めた 35～40% で存在する。ある特定の実施形態では、コレステロールは、他の脂質に対してモル比約 38.5% で存在する。

【0158】

ある特定の実施形態では、本明細書に提供する LNP は、モル比 40% 以下の化合物 (A)、0.15～1.5% の本明細書に記載の複数の式 (I) の化合物、20～40% の DOPE、及び 30～50% のコレステロールを含む。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する LNP は、モル比 20～40% の化合物 (A)、0.15～1.5% の本明細書に記載の複数の式 (I) の化合物、20～40% の DOPE、及び 30～50% のコレステロールを含む。ある特定の実施形態では、該 LNP は、モル比 25～35% の化合物 (A)、1～2% の複数の式 (I) の化合物、25～35% の DOPE、及び 35～42% のコレステロールを含む。

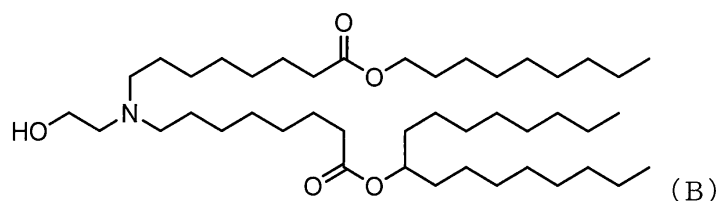
【0159】

ある特定の実施形態では、該 LNP は、化合物 (A)：式 (I) の化合物：DOPE：コレステロールを、モル比約 30：30：38.5：1.5 で含む。ある特定の実施形態では、該 LNP は、化合物 (A)：式 (I) の化合物：DOPE：コレステロールを、モル比約 40：20：38.5：1.5 で含む。

【0160】

同様に本明細書に提供するのは、イオン性アミノ脂質である化合物 (B)：

【化76】



、PEG脂質、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロール-3-ホスホコリン (DSPC) (ヘルパー脂質)、及びコレステロール (構造脂質) を含む LNP である。

【0161】

ある特定の実施形態では、該 LNP は、化合物 (B)、本明細書に記載の高純度 PEG 脂質 (すなわち、本明細書に記載の純度 87% 以上を有する)、DSPC、及びコレステロールを含む。ある特定の実施形態では、該 LNP は、化合物 (B)、本明細書に記載の複数の式 (I) の化合物 (すなわち、本明細書に記載の純度 87% 以上を有する)、DSPC、及びコレステロールを含む。

【0162】

ある特定の実施形態では、化合物 (B) は、他の脂質に対してモル比 20% 及び 50% を含めた 20～50% で存在する。ある特定の実施形態では、化合物 (B) は、他の脂質

に対してモル比 30% 及び 45% を含めた 30～45% で存在する。ある特定の実施形態では、化合物 (B) は、他の脂質に対してモル比 40% 以下で存在する。ある特定の実施形態では、化合物 (B) は、他の脂質に対してモル比 20% 及び 40% を含めた 20～40% で存在する。ある特定の実施形態では、化合物 (B) は、他の脂質に対してモル比 25% 及び 35% を含めた 25～35% で存在する。ある特定の実施形態では、化合物 (B) は、モル比約 30% で存在する。ある特定の実施形態では、化合物 (B) は、モル比約 40% で存在する。

【0163】

ある特定の実施形態では、該 PEG 脂質は、他の脂質に対してモル比 0.15% 及び 15% を含めた 0.15～15% で存在する。ある特定の実施形態では、該 PEG 脂質は、他の脂質に対してモル比 1% 及び 2% を含めた 1～2% で存在する。ある特定の実施形態では、該 PEG 脂質は、他の脂質に対してモル比約 1.5% で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式 (I) の化合物は、他の脂質に対してモル比 0.15% 及び 15% を含めた 0.15～15% で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式 (I) の化合物は、他の脂質に対してモル比 1% 及び 2% を含めた 1～2% で存在する。ある特定の実施形態では、式 (I) の化合物は、他の脂質に対してモル比約 1.5% で存在する。

【0164】

ある特定の実施形態では、DOPE は、他の脂質に対してモル比 20% 及び 40% を含めた 20～40% で存在する。ある特定の実施形態では、DOPE は、他の脂質に対してモル比 25% 及び 35% を含めた 25～35% で存在する。ある特定の実施形態では、DOPE は、他の脂質に対してモル比約 30% で存在する。

【0165】

ある特定の実施形態では、コレステロールは、他の脂質に対してモル比 30% 及び 50% を含めた 30～50% で存在する。ある特定の実施形態では、コレステロールは、他の脂質に対してモル比 35% 及び 40% を含めた 35～40% で存在する。ある特定の実施形態では、コレステロールは、他の脂質に対してモル比約 38.5% で存在する。

【0166】

ある特定の実施形態では、該 LNP は、モル比 40% 以下の化合物 (B)、0.15～15% の複数の式 (I) の化合物、20～40% の DOPE、及び 30～50% のコレステロールを含む。ある特定の実施形態では、該 LNP は、モル比 20～40% の化合物 (B)、0.15～15% の複数の式 (I) の化合物、20～40% の DOPE、及び 30～50% のコレステロールを含む。ある特定の実施形態では、該 LNP は、モル比 25～35% の化合物 (B)、1～2% の複数の式 (I) の化合物、25～35% の DOPE、及び 35～42% のコレステロールを含む。

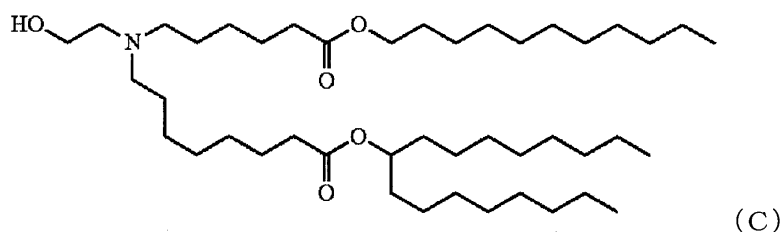
【0167】

ある特定の実施形態では、該 LNP は、化合物 (B) : 式 (I) の化合物 : DOPE : コレステロールを、モル比約 30 : 30 : 38.5 : 1.5 で含む。ある特定の実施形態では、該 LNP は、化合物 (B) : 式 (I) の化合物 : DOPE : コレステロールを、モル比約 40 : 20 : 38.5 : 1.5 で含む。

【0168】

同様に本明細書に提供するのは、イオン性アミノ脂質である化合物 (C) :

【化 77】



10

20

30

40

50

、PEG脂質、1，2-ジステアロイル-sn-グリセロール-3-ホスホコリン（DSPC）（ヘルパー脂質）、及びコレステロール（構造脂質）を含むLNPである。

【0169】

ある特定の実施形態では、該LNPは、化合物（C）、本明細書に記載の高純度PEG脂質（すなわち、本明細書に記載の純度87%以上を有する）、DSPC、及びコレステロールを含む。ある特定の実施形態では、該LNPは、化合物（C）、本明細書に記載の複数の式（I）の化合物（すなわち、本明細書に記載の純度87%以上を有する）、DSPC、及びコレステロールを含む。

【0170】

ある特定の実施形態では、化合物（C）は、他の脂質に対してモル比20%及び50%を含めた20～50%で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（C）は、他の脂質に対してモル比30%及び45%を含めた30～45%で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（C）は、他の脂質に対してモル比40%以下で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（C）は、他の脂質に対してモル比20%及び40%を含めた20～40%で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（C）は、他の脂質に対してモル比25%及び35%を含めた25～35%で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（C）は、他の脂質に対してモル比約30%で存在する。ある特定の実施形態では、化合物（C）は、他の脂質に対してモル比約40%で存在する。

10

【0171】

ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、他の脂質に対してモル比0.15%及び15%を含めた0.15～15%で存在する。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、他の脂質に対してモル比1%及び2%を含めた1～2%で存在する。ある特定の実施形態では、該PEG脂質は、他の脂質に対してモル比約1.5%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、他の脂質に対してモル比0.15%及び15%を含めた0.15～15%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、他の脂質に対してモル比1%及び2%を含めた1～2%で存在する。ある特定の実施形態では、該複数の式（I）の化合物は、他の脂質に対してモル比約1.5%で存在する。

20

【0172】

ある特定の実施形態では、DOPEは、他の脂質に対してモル比20%及び40%を含めた20～40%で存在する。ある特定の実施形態では、DOPEは、他の脂質に対してモル比25%及び35%を含めた25～35%で存在する。ある特定の実施形態では、DOPEは、他の脂質に対してモル比約30%で存在する。

30

【0173】

ある特定の実施形態では、コレステロールは、他の脂質に対してモル比30%及び50%を含めた30～50%で存在する。ある特定の実施形態では、コレステロールは、他の脂質に対してモル比35%及び40%を含めた35～40%で存在する。ある特定の実施形態では、コレステロールは、他の脂質に対してモル比約38.5%で存在する。

【0174】

ある特定の実施形態では、該LNPは、モル比40%以下の化合物（C）、0.15～15%の複数の式（I）の化合物、20～40%のDOPE、及び30～50%のコレステロールを含む。ある特定の実施形態では、該LNPは、モル比20～40%の化合物（C）、0.15～15%の複数の式（I）の化合物、20～40%のDOPE、及び30～50%のコレステロールを含む。ある特定の実施形態では、該LNPは、モル比25～35%の化合物（C）、1～2%の複数の式（I）の化合物、25～35%のDOPE、及び35～42%のコレステロールを含む。

40

【0175】

ある特定の実施形態では、該LNPは、化合物（C）：式（I）の化合物：DOPE：コレステロールを、モル比約30：30：38.5：1.5で含む。ある特定の実施形態では、該LNPは、化合物（C）：式（I）の化合物：DOPE：コレステロールを、モ

50

ル比約 40 : 20 : 38.5 : 1.5 で含む。

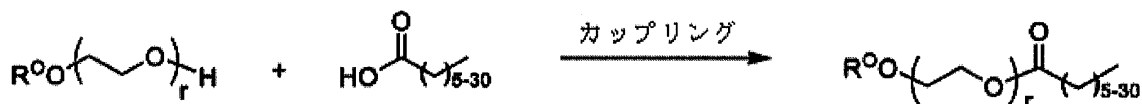
【0176】

PEG 脂質の調製方法

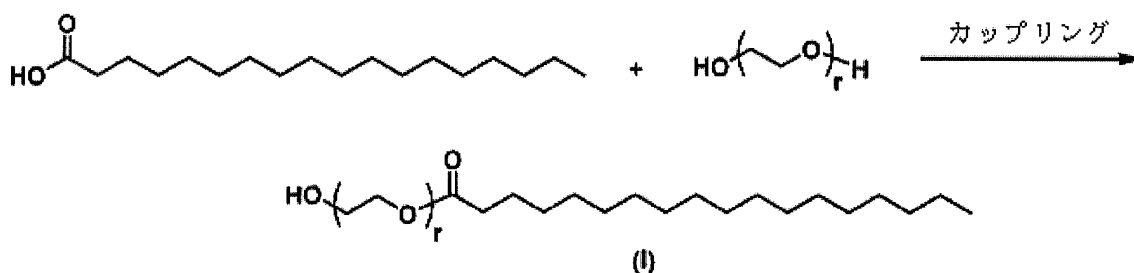
本明細書に提供するのは、式 (I) の化合物を含めた PEG 脂質の調製方法である。スキーム A 及びスキーム B に示す通り、該方法は、PEG 成分をカルボン酸成分と反応させ、PEG 脂質を得ることを含む。

【化 78】

スキーム A



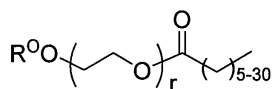
スキーム B



【0177】

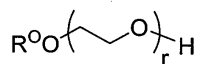
本明細書に提供するのは、式：

【化 79】



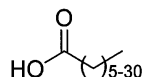
の化合物、またはその塩の調製方法であり、該方法は、式：

【化 80】



の化合物、またはその塩を、式：

【化 81】



の化合物、またはその塩と反応させることを含み、式中、 r は、35 及び 55 を含めた 35 ~ 55 の整数であり、 R^{O} は、水素、任意に置換されるアルキル、または酸素保護基である。

【0178】

ある特定の実施形態では、該方法は、式 (I) の化合物：

10

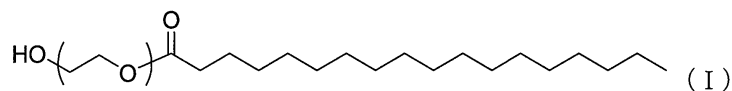
20

30

40

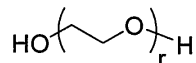
50

【化 8 2】



、またはその塩の調製方法であり、該方法は、式：

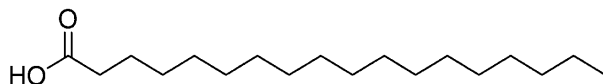
【化 8 3】



10

の化合物、またはその塩を、式：

【化 8 4】



の化合物、またはその塩と反応させることを含み、式中、 r は、35 及び 55 を含めた 35 ～ 55 の整数である。

20

【0179】

ある特定の実施形態では、1 当量超の該 PEG 成分が使用される（該カルボン酸成分に対して）。ある特定の実施形態では、1 ～ 20 当量の該 PEG 成分が使用される。ある特定の実施形態では、1 ～ 10 当量の該 PEG 成分が使用される。ある特定の実施形態では、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 当量の該 PEG 成分が使用される。ある特定の実施形態では、約 2 当量の該 PEG 成分が使用される。ある特定の実施形態では、約 10 当量の該カルボン酸成分が使用される。

【0180】

ある特定の実施形態では、該反応は、カルボキシル活性化試薬の存在下で行われる。カルボキシル活性化試薬とは、求核試薬（例えば、アルコール、アミン）による付加のためにカルボキシル基を活性化することが可能な試薬である。カルボキシル活性化試薬は、当技術分野で既知である。ある特定の実施形態では、該カルボキシル活性化試薬は、カルボジイミドである。ある特定の実施形態では、該試薬は、N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC）である。ある特定の実施形態では、該試薬は、N, N'-ジイソプロピルカルボジイミド（DIC）である。ある特定の実施形態では、該試薬は、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド（EDC）である。ある特定の実施形態では、該試薬は、カルボジイミドの塩酸塩である。ある特定の実施形態では、該試薬は、EDC の塩酸塩（EDC · HCl）である。ある特定の実施形態では、1 当量超（該カルボン酸成分に対して）の該カルボキシル活性化剤（例えば、EDC またはその塩）が使用される。ある特定の実施形態では、1 及び 2 当量を含めた 1 ～ 2 当量が使用される。ある特定の実施形態では、約 1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または 2.0 当量が使用される。ある特定の実施形態では、約 1.5 当量が使用される。

30

40

【0181】

ある特定の実施形態では、該反応は、塩基の存在下で行われる。ある特定の実施形態では、該塩基は、アミン塩基である。ある特定の実施形態では、該塩基は、トリアルキルアミン塩基である。ある特定の実施形態では、該塩基は、ピリジン塩基である。ある特定の実施形態では、該塩基は、4-ジメチルアミノピリジン（DMAPI）である。ある特定の実施形態では、1 当量未満（該カルボン酸成分に対して）の該塩基（例えば、DMAPI）が使用される。ある特定の実施形態では、0.01 及び 1.0 当量を含めた 0.01 ～ 1

50

・ 0 当量が使用される。ある特定の実施形態では、約 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、または 1.0 当量が使用される。ある特定の
実施形態では、約 0.2 当量が使用される。

【0182】

ある特定の実施形態では、該反応は、カルボキシル活性化試薬及び塩基の存在下で行われる。ある特定の実施形態では、該反応は、EDC 及び塩基の存在下で行われる。ある特定の
実施形態では、該反応は、EDC 及び DMA P の存在下で行われる。ある特定の
実施形態では、該反応は、EDC・HCl 及び DMA P の存在下で行われる。

【0183】

ある特定の実施形態では、該反応は、溶媒中で行われる。溶媒の非限定的な例を以下に
提供する。ある特定の実施形態では、該溶媒は、ジクロロメタン（DCM）である。ある
特定の
実施形態では、該反応は、室温付近で行われる。ある特定の
実施形態では、該反応は、室温より低い温度で行われる。ある特定の
実施形態では、該反応は、温度約 0℃～ほぼ室温で行われる。ある特定の
実施形態では、該反応は、温度約 0℃～約 20℃で行われ
る。

【0184】

ある特定の実施形態では、該反応は、EDC・HCl 及び DMA P の存在下、DCM 中
で行われる。ある特定の
実施形態では、該反応は、EDC・HCl 及び DMA P の存在下
、DCM 中、室温より低い温度で行われる。ある特定の
実施形態では、該反応は、EDC
・HCl 及び DMA P の存在下、DCM 中、温度約 0℃～約 20℃で行われる。ある特定の
実施形態では、該反応は、以下の条件下で行われる：1 当量のカルボン酸及び 2.0 当
量の PEG 成分、1.5 当量の EDC・HCl 及び 0.2 当量の DMA P の存在下、DC
M 中、温度約 0℃～約 20℃。

【0185】

ある特定の実施形態では、該 PEG 脂質は、抽出（すなわち、ワークアップ）によって
精製される。ある特定の
実施形態では、該 PEG 脂質は、3 層抽出によって精製される。
ある特定の
実施形態では、該 PEG 脂質は、3 層抽出に続いてカラムクロマトグラフィー
によって精製される。ある特定の
実施形態では、該 3 層抽出は、PEG 脂質混合物を、ア
セトニトリル、水（または水溶液）、メチル tert-ブチルエーテル（MTBE）、及
びヘプタン間で分配することを含む。ある特定の
実施形態では、カラムクロマトグラフィー
による精製ステップは、逆相超高速高分離液体クロマトグラフィー（UPLC）である。

【0186】

一般的な反応パラメータ：以下の実施形態は、上記及び本明細書に記載のすべての合成
方法（すなわち、PEG 脂質の調製方法）に適用される。

【0187】

本明細書に提供及び記載する反応は、1 つ以上の試薬を含み得る。ある特定の
実施形態
では、試薬は、触媒量で存在し得る。ある特定の
実施形態では、触媒量は、0～1 mol
%、0～5 mol %、0～10 mol %、1～5 mol %、1～10 mol %、5～10
mol %、10～20 mol %、20～30 mol %、30～40 mol %、40～50
mol %、50～60 mol %、60～70 mol %、70～80 mol %、80～90
mol %、または 90～99 mol % である。ある特定の
実施形態では、試薬は、化学量
論量（すなわち、約 1 当量）で存在し得る。ある特定の
実施形態では、試薬は、過剰量（
すなわち、1 当量を超える）で存在し得る。ある特定の
実施形態では、該過剰量は、約 1
・1、1.2、1.3、1.4、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4
・5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9
・5、10、15、または 20 当量である。ある特定の
実施形態では、該過剰量は、約 1
・1～2、2～3、3～4、4～5、1.1～5、5～10、10～15、15～20、
または 10～20 当量である。ある特定の
実施形態では、該過剰量は、20 当量を超える。

【0188】

本明細書に記載の反応は、任意の温度で行われ得る。ある特定の
実施形態では、反応は

、室温（*rt*）（ 21°C または 70°F ）付近で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、室温より低い温度（例えば、 $-100^{\circ}\text{C}\sim 21^{\circ}\text{C}$ ）で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、 -78°C またはその付近で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、 -10°C またはその付近で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、 0°C 付近で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、約 $-78^{\circ}\text{C}\sim$ ほぼ室温で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、約 $-10^{\circ}\text{C}\sim$ ほぼ室温で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、約 $0^{\circ}\text{C}\sim$ ほぼ室温で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、室温より高温で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、 30 、 40 、 50 、 60 、 70 、 80 、 110 、 120 、 130 、 140 、または 150°C で行われる。ある特定の実施形態では、反応は、 150°C より高温で行われる。

10

【0189】

本明細書に記載の反応は、溶媒または溶媒混合物（すなわち、共溶媒）中で行われ得る。溶媒は、極性でも非極性でもよく、プロトン性でも非プロトン性でもよい。任意の溶媒を本明細書に記載の反応で使用してもよく、該反応は、特定の溶媒または溶媒の組み合わせに限定されない。本明細書に記載の方法において有用な一般的な有機溶媒としては、アセトン、アセトニトリル、ベンゼン、ベンゾニトリル、1-ブタノール、2-ブタノン、酢酸ブチル、*tert*-ブチルメチルエーテル、二硫化炭素、四塩化炭素、クロロベンゼン、1-クロロブタン、クロロホルム、シクロヘキサン、シクロペンタン、1, 2-ジクロロベンゼン、1, 2-ジクロロエタン、ジクロロメタン（DCM）、N, N-ジメチルアセトアミド、N, N-ジメチルホルムアミド（DMF）、1, 3-ジメチル-3, 4, 5, 6-テトラヒドロ-2-ピリミジノン（DMPU）、1, 4-ジオキサン、1, 3-ジオキサン、ジエチルエーテル、2-エトキシエチルエーテル、酢酸エチル、エチルアルコール、エチレングリコール、ジメチルエーテル、ヘプタン、*n*-ヘキサン、ヘキサン、ヘキサメチルホスホルアミド（HMPA）、2-メトキシエタノール、2-メトキシエチルアセテート、メチルアルコール、2-メチルブタン、4-メチル-2-ペンタノン、2-メチル-1-プロパノール、2-メチル-2-プロパノール、1-メチル-2-ピロリジノン、ジメチルスルホキシド（DMSO）、ニトロメタン、1-オクタノール、ペンタン、3-ペンタノン、1-プロパノール、2-プロパノール、ピリジン、テトラクロロエチレン、テトラヒドロフラン（THF）、2-メチルテトラヒドロフラン、トルエン、トリクロロベンゼン、1, 1, 2-トリクロロトリフルオロエタン、2, 2, 4-トリメチルペンタン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、N, N-ジイソプロピルエチルアミン、ジイソプロピルアミン、水、*o*-キシレン、*p*-キシレンが挙げられるが、これらに限定されない。

20

30

【0190】

本明細書に記載の反応は、任意の時間にわたって行われ得る。ある特定の実施形態では、反応は、数秒間、数分間、数時間、または数日間行うことができる。

【0191】

本明細書に記載の方法を使用して、任意の化学収率で化合物を調製することができる。ある特定の実施形態では、化合物は、収率 $1\sim 10\%$ 、 $10\sim 20\%$ 、 $20\sim 30\%$ 、 $30\sim 40\%$ 、 $40\sim 50\%$ 、 $50\sim 60\%$ 、 $60\sim 70\%$ 、 $70\sim 80\%$ 、 $80\sim 90\%$ 、または $90\sim 100\%$ で生成される。ある特定の実施形態では、該収率は、1つの合成ステップ後の収率パーセントである。ある特定の実施形態では、該収率は、2つ以上の合成ステップ（例えば、2、3、4、または5つの合成ステップ）後の収率パーセントである。

40

【0192】

本明細書に記載の方法は、さらに、1つ以上の精製ステップを含み得る。例えば、ある特定の実施形態では、本明細書に記載の方法によって生成される化合物は、クロマトグラフィー、抽出、濾過、沈殿、結晶化、または当技術分野で既知の他の任意の方法によって精製され得る。ある特定の実施形態では、化合物または混合物は、精製することなく次の合成ステップに繰り越される（すなわち、粗製）。

50

【0193】

本明細書に提供する合成方法は、任意の規模で（すなわち、任意の量の生成物を得るために）行うことができる。ある特定の実施形態では、該方法は、小規模合成または大規模プロセスの製造に適用可能である。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する反応は、1 g未満の生成物を得るために行われる。ある特定の実施形態では、本明細書に提供する反応は、1 g、2 g、5 g、10 g、15 g、20 g、25 g、30 g、40 g、50 g、100 g、200 g、500 g、または1 kgより多くの生成物を得るために行われる。

【0194】

治療薬の送達方法

同様に本明細書に提供するものは、1つ以上の治療薬を対象に送達するための方法を提供し、該方法は、該対象に対して、本明細書に記載のLNPを投与することを含み、該LNPは、該目的の1つ以上の治療薬をカプセル化する。

【0195】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のLNPは、クリアランスの影響を受けにくい場合があり、ひいては、インビボ半減期が長い場合がある。これは、特に、該組成物が慢性的な投与を含めた反復投与を目的としている場合であり、さらにより具体的には、かかる反復投与が数日または数週間以内に行われる場合である。重要なことには、これらの組成物は、観察される加速血中クリアランス（ABC）現象の影響を受けにくい、またはこれを完全に回避する。ABCは、ある特定の外的に投与された薬剤が、2回目及びそれ以降の投与後に血中から急速に除去される現象である。本現象は、1つには、脂質付加された薬剤、リポソーム、または他の脂質系送達媒体、及び脂質でカプセル化された薬剤を含むがこれらに限定されない、様々な脂質含有組成物で観察されている。ABCに対するこの耐性により、これらの化合物及び組成物は、数日または1～2週間を含めた短期間内の反復使用を含等の、インビボでの反復使用に特に適したものになる。この安定性の向上及び／または半減期の延長は、1つには、これらの組成物が、B1a及び／またはB1b細胞及び／または従来のB細胞、pDC、及び／または血小板を活性化できないことによる。B1a細胞は通常、血中IgMの形で天然抗体を分泌する役割を果たす。IgMは多反応性であり、これは、様々な抗原に結合することができることを意味するが、各々に対する親和性は比較的低い。

【0196】

インビボ投与された脂質ナノ粒子等の一部の脂質付加された薬剤または脂質含有製剤は、ABCを誘発し、ABCの対象となることが分かった。また、LNPの初回用量の投与後に、自然免疫応答の生成に関与する1つ以上の細胞（本明細書ではセンサーと呼ばれる）がかかる薬剤に結合し、活性化され、その後、ABC及び毒性を促進する免疫因子（本明細書ではエフェクターと呼ばれる）のカスケードを開始することも分かった。例えば、B1a及びB1b細胞は、LNPに結合し、活性化され（単独で、または他のセンサー、例えばpDC及び／またはエフェクター、例えばIL6の存在下）、LNPに結合する天然のIgMを分泌する。対象における既存の天然のIgMもまたLNPを認識してこれに結合し、それによって補体結合を誘発する可能性がある。初回用量の投与後、天然のIgMの産生は、該LNPの投与から1～2時間以内に始まる。通常、約2～3週間までに、該天然のIgMは、IgMの自然の半減期により、その系から除去される。天然のIgGは、LNPの投与後約96時間から産生される。ナイーブな設定で投与された場合、該薬剤は、B1a細胞もしくはB1b細胞または天然のIgGの活性化後に産生される天然のIgMによって比較的妨げられずにその生物学的効果を発揮することができる。天然のIgM及び天然のIgGは非特異的であるため、抗PEG IgM及び抗PEG IgGとは異なる。

【0197】

ABCに関連するメカニズムのさらなる詳細については、2017年6月15日に公開された国際公開第WO2017/099823号を参照されたい。その全内容は、参照す

10

20

30

40

50

ることにより本明細書に組み込まれる。

【0198】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のLNP（すなわち、複数のPEG脂質を本明細書に記載の特定の純度で含む）は、純度が87%未満の複数のPEG脂質を含むLNPと比較して、加速血中クリアランス（ABC）の影響を受けにくい。例えば、ある特定の実施形態では、本明細書に記載の複数の式（I）の化合物を含むLNP製剤は、純度が87%未満の複数の式（I）の化合物を含むLNP製剤と比較して、ABCの影響を受けにくい。

【0199】

本明細書に記載の通り、本開示は、ABCを促進しない化合物及び組成物を提供する。これらは、さらに、B1a及び／またはB1b細胞、血小板、及び／またはpDCを活性化することができないとして、ならびに任意に従来のB細胞も活性化することができないとして特徴づけられ得る。これらの脂質ナノ粒子は、特に、反復投与を必要とする用途、特に、短期間に（例えば、1～2週間以内に）行われる反復投与に望ましい。これは、例えば、該薬剤が、規則的な短い間隔で対象に投与される核酸ベースの治療薬の場合である。

【0200】

本明細書に提供するLNPは、いくつかの例では、CD5（+）媒介免疫応答を引き起こさない可能性がある。本明細書で使用される、CD5（+）媒介免疫応答とは、B1a及び／またはB1b細胞によって媒介される免疫応答である。かかる応答としては、ABC応答、急性期反応、天然のIgM及び／またはIgGの誘導等が挙げられ得る。

【0201】

本明細書に提供するLNPは、いくつかの例では、CD19（+）媒介免疫応答を引き起こさない可能性がある。本明細書で使用される、CD19（+）媒介免疫応答とは、従来のCD19（+）、CD5（-）B細胞によって媒介される免疫応答である。かかる応答としては、IgMの誘導、IgGの誘導、メモリーB細胞の誘導、ABC応答、タンパク質がLNP内にカプセル化され得る抗タンパク質反応等を含めた抗薬物抗体（ADA）反応が挙げられ得る。

【0202】

B1a細胞は、自然免疫に関与するB細胞のサブセットである。これらの細胞は、血中IgMの原料であり、天然の抗体または天然の血清抗体と呼ばれる。天然のIgM抗体は、多くの抗原に対する親和性が弱いという特徴があるため、複数の抗原に結合するそれらの能力を示す「多特異性」または「多反応性」と呼ばれる。B1a細胞は、IgGを産生することができない。さらに、それらはメモリー細胞に発達しないため、適応免疫応答に寄与しない。しかしながら、それらは、活性化後にIgMを分泌することができる。分泌されたIgMは、通常、約2～3週間で除去され、その時点で該免疫系は、すでに投与された抗原に対して比較的ナイーブになる。この期間の後（例えば、最初の曝露から約3週間後）に同じ抗原が提示された場合、該抗原は、急速には除去されない。しかしながら、重要なことには、該抗原がその期間内（例えば、2週間以内、1週間以内、または数日以内等）に提示された場合、該抗原は急速に除去される。この連続投与間の先延ばしが、ある特定の脂質含有治療薬または診断薬を使用に適さなくしている。

【0203】

ヒトでは、B1a細胞は、CD19（+）、CD20（+）、CD27（+）、CD43（+）、CD70（-）及びCD5（+）である。マウスでは、B1a細胞は、CD19（+）、CD5（+）、及びCD45B細胞アイソフォームB220（+）である。通常、B1a細胞を他の従来のB細胞と区別するのはCD5の発現である。B1a細胞は、高レベルのCD5を発現する場合があります。これを基にして、低レベルまたは検出できないレベルのCD5を発現するB-1b細胞等の他のB-1細胞と区別され得る。CD5は、汎T細胞表面糖タンパク質である。B1a細胞は、脂肪酸トランスロカーゼとしても知られるCD36も発現する。CD36は、クラスBスカベンジャー受容体ファミリーの成員である。CD36は、酸化低密度リポタンパク質、天然リポタンパク質、酸化リン脂質、

10

20

30

40

50

及び長鎖脂肪酸を含めた多くのリガンドに結合することができる。

【0204】

B1b細胞は、自然免疫に関与するB細胞の別のサブセットである。これらの細胞は、血中の天然のIgMの別の原料である。PSを含めたいくつかの抗原は、B1bの活性化を通してT細胞とは無関係の免疫を誘導することが可能である。CD27は、通常、抗原活性化に応答してB1b細胞で上方制御される。B1a細胞と同様、B1b細胞は、通常、脾臓や腹腔等の特定の体の部位にあり、血中にはごく少量である。該B1bが分泌した天然のIgMは通常、約2〜3週間で除去され、その時点で該免疫系は、すでに投与された抗原に対して比較的ナイーブになる。この期間の後（例えば、最初の曝露から約3週間後）に同じ抗原が提示された場合、該抗原は、急速には除去されない。しかしながら、重要なことには、該抗原がその期間内（例えば、2週間以内、1週間以内、または数日以内等）に提示された場合、該抗原は急速に除去される。この連続投与間の先延ばしが、ある特定の脂質含有治療薬または診断薬の使用に適さなくしている。

10

【0205】

いくつかの実施形態では、B1a及び／またはB1b細胞の活性化を遮断することが望ましい。B1a及び／またはB1b細胞の活性化を遮断するための1つの方法は、脂質ナノ粒子のどの成分がB細胞の活性化を促進するかを特定し、それらの成分を中和することを含む。本明細書では、少なくともPEG及びホスファチジルコリン（PC）が、B1a及びB1b細胞の他の細胞との相互作用及び／または活性化に寄与することが分かった。PEGは、B1細胞及び血小板の間の凝集の促進に関与する可能性があり、これが活性化につながり得る。PC（LNPのヘルパー脂質）もまた、おそらくB細胞表面のCD36受容体との相互作用を介したB1細胞の活性化に関与している。多くの粒子がPEG-脂質代替物を有し、PEGレス、及び／またはPC置換脂質（例えば、オレイン酸またはその類似体）が設計及び試験されている。本明細書に記載の通り、本明細書に提供される推奨される純度のPEG脂質を利用することは、LNPによる天然のIgMの産生及び／またはB細胞の活性化を減少させることによるABCの防止に有用である。従って、本発明は、B細胞の誘因を排除する設計の結果として、ABCが減少したLNPを包含する。

20

【0206】

B1a及び／またはB1b細胞の活性化を遮断する別の方法は、LNPが誘導する免疫応答を阻害する薬剤の使用を含む。これらのタイプの薬剤を以下に詳細に論じる。いくつかの実施形態では、これらの薬剤は、B1a／B1b細胞と該LNPまたは血小板またはpDC間の相互作用を遮断する。例えば、該薬剤は、該相互作用を物理的に遮断する抗体または他の結合剤であり得る。この例は、CD36またはCD6に結合する抗体である。該薬剤は、活性化後または活性化前にB1a／B1b細胞のシグナル伝達を防止または無効にする化合物でもあり得る。例えば、B細胞とLNPまたは他の免疫細胞との相互作用の結果であるB1a／B1bシグナル伝達カスケードにおける1つ以上の成分を遮断することが可能である。他の実施形態では、該薬剤は、活性化後のB1a／B1b細胞によって産生される1つ以上のエフェクターに作用し得る。これらのエフェクターとしては、例えば、天然のIgM及びサイトカインが挙げられる。

30

【0207】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の複数のPEG脂質を含むLNPは、純度が87%未満の複数のPEG脂質を含むLNP製剤と比較して、B細胞（例えば、B1a、B1b細胞）の結合及び／または活性化が低い。例えば、ある特定の実施形態では、本明細書に記載の複数の式（I）の化合物を含むLNPは、純度が87%未満の複数の式（I）の化合物を含むLNP製剤と比較して、B細胞（例えば、B1a、B1b細胞）の結合及び／または活性化結合が低い。

40

【0208】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の複数のPEG脂質を含むLNPは、純度が87%未満の複数のPEG脂質を含むLNP製剤と比較して、IgM結合が低い。例えば、ある特定の実施形態では、本明細書に記載の複数の式（I）の化合物を含むLNPは、

50

純度が87%未満の複数の式(I)の化合物を含むLNP製剤と比較して、IgM結合が低い。

【0209】

いくつかの例では、1つ以上の治療薬を送達するための方法は、

- (i) 薬剤の初回用量を対象に投与すること、
 - (ii) 該薬剤の2回目以降の用量を該対象に投与することであるとともに、該2回目以降の投与を、初回または前回の投与から2週間以内に施すこと、及び
 - (iii) ステップ(ii)を1回以上繰り返すことを含む場合があり、
- ここで、該薬剤は、ABCを促進しないLNPとともに製剤化される。

【0210】

対象に薬剤を送達するための別の方法は、

- (i) 薬剤の初回用量を対象に投与すること、
 - (ii) 該薬剤の2回目以降の用量を該対象に投与することであるとともに、該2回目以降の投与を、初回または前回の投与から2週間以内に施すこと、及び
 - (iii) ステップ(ii)を1回以上繰り返すことを含み、
- ここで、2回目及びそれ以降の投与後の該薬剤の半減期は、初回投与後の該薬剤の半減期の少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上である。

【0211】

対象に薬剤を送達するためのさらに別の方法は、

- (i) 薬剤の初回用量を対象に投与すること、
 - (ii) 該薬剤の2回目以降の用量を該対象に投与することであるとともに、該2回目以降の投与を、初回または前回の投与から2週間以内に施すこと、及び
 - (iii) ステップ(ii)を1回以上繰り返すことを含み、
- ここで、2回目及びそれ以降の投与後の該薬剤の活性または血中濃度は、初回投与後の該薬剤の活性または血中濃度の少なくとも50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%またはそれ以上である。

【0212】

2回目以降の投与は、初回または前回の投与から1週間以内、または6日以内、または5日以内、または4日以内、または3日以内、または2日以内、または1日以内に投与され得る。薬剤は、2回以上、3回以上、4回以上等投与され得る。薬剤投与は、従って、1回、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回、9回、10回、またはそれ以上反復され得る。該薬剤は、その意図された目的に応じて、慢性的または急性に投与され得る。

【0213】

生物活性剤の2回目及びそれ以降の投与は、該2回目以降の投与後、少なくとも1日、2日、3日、4日、5日、6日、または7日間、初回投与の活性の少なくとも50%の活性、または初回投与の少なくとも60%、または初回投与の少なくとも70%、または初回投与の少なくとも75%、または初回投与の少なくとも80%、または初回投与の少なくとも85%、または初回投与の少なくとも90%、または初回投与の少なくとも95%、またはそれ以上を維持し得る。

【0214】

本明細書に記載の方法のいずれかにおける初回投与と2回目の投与の間隔は、2週間以内、例えば、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1日未満であり得る。いくつかの例では、該対象は、本明細書に記載の方法のいずれかにおいて、1日1回、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、または21日に1回投与される。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0215】

該生物活性剤がmRNA（治療用mRNAまたはワクチン抗原をコードするmRNA）である場合、該mRNAをカプセル化するLNPのABCを低減する方法は、初回用量、

10

20

30

40

50

及び／または2回目の用量（ならびに後続の用量）に、少量のLNPを使用して行うことができる。該低用量は、0.3mg/kg以下、例えば、0.2mg/kg、または0.1mg/kgであり得る。いくつかの例では、初回用量、2回目の用量、またはその両方は、0.1～0.3mg/kgに及ぶ。

【0216】

同様に本明細書に提供するのは、特に、該生物活性剤が治療薬である場合に、該生物活性剤から恩恵を受ける状態を有するまたは有するリスクのある対象の治療方法である。代替的に、方法は、対象の診断方法であってもよく、その場合、該生物活性剤は、診断薬である。

【0217】

LNP製剤

本明細書に記載の脂質ナノ粒子（LNP）の形成は、当技術分野で既知の任意の方法によって達成され得る。例えば、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる米国公開第2012/0178702号に記載の通り。脂質ナノ粒子組成物及びそれらの作製方法の非限定的な例は、例えば、Semple et al. (2010) Nat. Biotechnol. 28:172-176、Jayarama et al. (2012), Angew. Chem. Int. Ed., 51:8529-8533、及びMaier et al. (2013) Molecular Therapy 21, 1570-1578（これらの各々の内容は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる）に記載されている。

【0218】

1つの実施形態では、該LNP製剤は、各々の内容が参照することにより全体として本明細書に組み込まれる国際公開第WO2011/127255号またはWO2008/103276号に記載の方法によって製剤化され得る。非限定的な例として、WO2011/127255及び／またはWO2008/103276に記載のLNP製剤。これらの各々は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる。1つの実施形態では、本明細書に記載のLNP製剤は、ポリカチオン性組成物を含み得る。非限定的な例として、該ポリカチオン性組成物は、参照することによりその内容が全体として本明細書に組み込まれる米国特許公開第US20050222064号の式1～60から選択され得る。

【0219】

1つの実施形態では、該脂質ナノ粒子は、その各々が参照することにより全体として本明細書に組み込まれる米国特許公開第US2013/0156845号、及び国際公開第WO2013/093648号または第WO2012/024526号に記載の方法によって製剤化され得る。

【0220】

本明細書に記載の脂質ナノ粒子は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる米国特許公開第US20130164400号に記載のシステム及び／または方法により、無菌環境で作製され得る。

【0221】

1つの実施形態では、該LNP製剤は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる米国特許第8,492,359号に記載の核酸脂質粒子等のナノ粒子に製剤化され得る。

【0222】

ナノ粒子組成物は、任意に、1つ以上のコーティングを含み得る。例えば、ナノ粒子組成物は、コーティングを有するカプセル、フィルム、または錠剤に製剤化され得る。本明細書に記載の組成物を含むカプセル、フィルム、または錠剤は、任意の有用なサイズ、引張強度、硬度、または密度を有し得る。

【0223】

いくつかの実施形態では、かかるLNPは、マイクロ流体ミキサーを含む方法を使用して合成される。例示的なマイクロ流体ミキサーとしては、Microinnova (Al

10

20

30

40

50

lerheiligen bei Wildon, Austria) 製のものが挙げられるがこれらに限定されないスリットインターデジタルマイクロミキサー及び／またはスタガードヘリンボーンマイクロミキサー (SHM) (Zhigaltsev, I. V. et al., Bottom-up design and synthesis of limit size lipid nanoparticle systems with aqueous and triglyceride cores using millisecond microfluidic mixingが公開されている (Langmuir. 2012. 28:3633-40、Belliveau, N. M. et al., Microfluidic synthesis of highly potent limit-size lipid nanoparticles for in vivo delivery of siRNA. Molecular Therapy-Nucleic Acids. 2012. 1:e37、Chen, D. et al., Rapid discovery of potent siRNA-containing lipid nanoparticles enabled by controlled microfluidic formulation. J Am Chem Soc. 2012. 134 (16): 6948-51、これらの各々は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる) が挙げられ得るが、これらに限定されない。

【0224】

いくつかの実施形態では、SHMを含むLNPの生成方法は、さらに、少なくとも2つの投入された流れを混合することを含み、ここでは、混合は、微細構造が誘導するカオス的移流 (MICA) によって生じる。本方法によれば、流体の流れは、ヘリンボーンパターンに存在する流路を介して流れ、これが旋回流を引き起こし、互いの周りに流体を保持する。本方法は、流体混合用の表面を含むこともあり、該表面は、流体の循環の間に向きを変える。SHMを用いたLNPの生成方法としては、各々が参照することにより全体として本明細書に組み込まれる米国出願公開第2004/0262223号及び第2012/0276209号に開示のものが挙げられる。

【0225】

1つの実施形態では、該脂質ナノ粒子は、マイクロミキサー、例えば、限定されないが、Institut fur Mikrotechnik Mainz GmbH, Mainz Germany製Slit Interdigital Microstructured Mixer (SIMM-V2) またはStandard Slit Interdigital Micro Mixer (SSIMM) またはCaterpillar (CPMM) またはImpinging-jet (IJMM) を用いて製剤化され得る。

【0226】

1つの実施形態では、該脂質ナノ粒子は、マイクロ流体技術を用いて創出される (Whitesides, George M. The Origins and the Future of Microfluidics. Nature, 2006 442:368-373、及びAbraham et al. Chaotic Mixer for Microchannels. Science, 2002 295:647-651参照、これらの各々は、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる)。非限定的な例として、制御されたマイクロ流体製剤化は、低レイノルズ数でマイクロ流路内の定常圧力駆動流の流れを混合するための受動的を含む (例えば、Abraham et al. Chaotic Mixer for Microchannels. Science, 2002 295:647-651参照、参照することにより全体として本明細書に組み込まれる)。

【0227】

1つの実施形態では、本発明のmRNAは、Harvard Apparatus (Holliston, MA) またはDolomite Microfluidics (Royston, UK) 製のもの等であるがこれらに限定されないマイクロミキサーチップを用いて創出される脂質ナノ粒子に製剤化され得る。マイクロミキサーチップは、分割及び

再結合機構による２つ以上の流体の流れの急速混合に使用され得る。

【０２２８】

１つの実施形態では、該脂質ナノ粒子は、直径約１０～約１００ｎｍ、例えば、これらに限定されないが、約１０～約２０ｎｍ、約１０～約３０ｎｍ、約１０～約４０ｎｍ、約１０～約５０ｎｍ、約１０～約６０ｎｍ、約１０～約７０ｎｍ、約１０～約８０ｎｍ、約１０～約９０ｎｍ、約２０～約３０ｎｍ、約２０～約４０ｎｍ、約２０～約５０ｎｍ、約２０～約６０ｎｍ、約２０～約７０ｎｍ、約２０～約８０ｎｍ、約２０～約９０ｎｍ、約２０～約１００ｎｍ、約３０～約４０ｎｍ、約３０～約５０ｎｍ、約３０～約６０ｎｍ、約３０～約７０ｎｍ、約３０～約８０ｎｍ、約３０～約９０ｎｍ、約３０～約１００ｎｍ、約４０～約５０ｎｍ、約４０～約６０ｎｍ、約４０～約７０ｎｍ、約４０～約８０ｎｍ、約４０～約９０ｎｍ、約４０～約１００ｎｍ、約５０～約６０ｎｍ、約５０～約７０ｎｍ、約５０～約８０ｎｍ、約５０～約９０ｎｍ、約５０～約１００ｎｍ、約６０～約７０ｎｍ、約６０～約８０ｎｍ、約６０～約９０ｎｍ、約６０～約１００ｎｍ、約７０～約８０ｎｍ、約７０～約９０ｎｍ、約７０～約１００ｎｍ、約８０～約９０ｎｍ、約８０～約１００ｎｍ及び／または約９０～約１００ｎｍを有し得る。１つの実施形態では、該脂質ナノ粒子は、直径約１０～５００ｎｍを有し得る。１つの実施形態では、該脂質ナノ粒子は、直径１００ｎｍ超、１５０ｎｍ超、２００ｎｍ超、２５０ｎｍ超、３００ｎｍ超、３５０ｎｍ超、４００ｎｍ超、４５０ｎｍ超、５００ｎｍ超、５５０ｎｍ超、６００ｎｍ超、６５０ｎｍ超、７００ｎｍ超、７５０ｎｍ超、８００ｎｍ超、８５０ｎｍ超、９００ｎｍ超、９５０ｎｍ超または１０００ｎｍ超を有し得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【０２２９】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子（例えば、脂質ナノ粒子）は、平均径１０～５００ｎｍ、２０～４００ｎｍ、３０～３００ｎｍ、または４０～２００ｎｍを有する。いくつかの実施形態では、ナノ粒子（例えば、脂質ナノ粒子）は、平均径５０～１５０ｎｍ、５０～２００ｎｍ、８０～１００ｎｍ、または８０～２００ｎｍを有する。

【０２３０】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の脂質ナノ粒子は、直径０．１μｍ未満から１００ｎｍまで、例えば、限定されないが、０．１μｍ未満、１．０μｍ未満、５μｍ未満、１０μｍ未満、１５μｍ未満、２０μｍ未満、２５μｍ未満、３０μｍ未満、３５μｍ未満、４０μｍ未満、５０μｍ未満、５５μｍ未満、６０μｍ未満、６５μｍ未満、７０μｍ未満、７５μｍ未満、８０μｍ未満、８５μｍ未満、９０μｍ未満、９５μｍ未満、１００μｍ未満、１２５μｍ未満、１５０μｍ未満、１７５μｍ未満、２００μｍ未満、２２５μｍ未満、２５０μｍ未満、２７５μｍ未満、３００μｍ未満、３２５μｍ未満、３５０μｍ未満、３７５μｍ未満、４００μｍ未満、４２５μｍ未満、４５０μｍ未満、４７５μｍ未満、５００μｍ未満、５２５μｍ未満、５５０μｍ未満、５７５μｍ未満、６００μｍ未満、６２５μｍ未満、６５０μｍ未満、６７５μｍ未満、７００μｍ未満、７２５μｍ未満、７５０μｍ未満、７７５μｍ未満、８００μｍ未満、８２５μｍ未満、８５０μｍ未満、８７５μｍ未満、９００μｍ未満、９２５μｍ未満、９５０μｍ未満、９７５μｍを有し得る。

【０２３１】

別の実施形態では、ＬＮＰは、直径約１ｎｍ～約１００ｎｍ、約１ｎｍ～約１０ｎｍ、約１ｎｍ～約２０ｎｍ、約１ｎｍ～約３０ｎｍ、約１ｎｍ～約４０ｎｍ、約１ｎｍ～約５０ｎｍ、約１ｎｍ～約６０ｎｍ、約１ｎｍ～約７０ｎｍ、約１ｎｍ～約８０ｎｍ、約１ｎｍ～約９０ｎｍ、約５ｎｍ～約１００ｎｍ、約５ｎｍ～約１０ｎｍ、約５ｎｍ～約２０ｎｍ、約５ｎｍ～約３０ｎｍ、約５ｎｍ～約４０ｎｍ、約５ｎｍ～約５０ｎｍ、約５ｎｍ～約６０ｎｍ、約５ｎｍ～約７０ｎｍ、約５ｎｍ～約８０ｎｍ、約５ｎｍ～約９０ｎｍ、約１０～約５０ｎｍ、約２０～約５０ｎｍ、約３０～約５０ｎｍ、約４０～約５０ｎｍ、約２０～約６０ｎｍ、約３０～約６０ｎｍ、約４０～約６０ｎｍ、約２０～約７０ｎｍ、約３０～約７０ｎｍ、約４０～約７０ｎｍ、約５０～約７０ｎｍ、約６０～約７０ｎｍ、約

20～約80nm、約30～約80nm、約40～約80nm、約50～約80nm、約60～約80nm、約20～約90nm、約30～約90nm、約40～約90nm、約50～約90nm、約60～約90nm及び／または約70～約90nmを有し得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0232】

ナノ粒子組成物は、比較的均一であり得る。多分散性指数を使用して、ナノ粒子組成物の均一性、例えば、該ナノ粒子組成物の粒度分布を示してもよい。小さい（例えば、0.3未満の）多分散性指数は、通常、狭い粒度分布を示す。ナノ粒子組成物は、多分散性指数約0～約0.25、例えば、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24、または0.25を有し得る。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物の多分散性指数は、約0.10～約0.20であり得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0233】

ナノ粒子組成物のゼータ電位を使用して、該組成物の運動電位を示してもよい。例えば、ゼータ電位は、ナノ粒子組成物の表面電荷を表し得る。比較的低い正または負の電荷を有するナノ粒子組成物が一般に望ましく、より高い電荷を有する種は、細胞、組織、及び体内の他の要素と不必要に相互作用する可能性がある。いくつかの実施形態では、ナノ粒子組成物のゼータ電位は、約-10mV～約+20mV、約-10mV～約+15mV、約-10mV～約+10mV、約-10mV～約+5mV、約-10mV～約0mV、約-10mV～約-5mV、約-5mV～約+20mV、約-5mV～約+15mV、約-5mV～約+10mV、約-5mV～約+5mV、約-5mV～約0mV、約0mV～約+20mV、約0mV～約+15mV、約0mV～約+10mV、約0mV～約+5mV、約+5mV～約+20mV、約+5mV～約+15mV、または約+5mV～約+10mVであり得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0234】

治療薬のカプセル化効率は、調製後にナノ粒子組成物にカプセル化されたまたはこれと会合した治療薬の量を最初に提供された量と比較して表す。カプセル化効率は、高い（例えば、100%に近い）ことが望ましい。カプセル化効率は、例えば、該ナノ粒子組成物を含む溶液における該治療薬の量を、1つ以上の有機溶媒または界面活性剤での該ナノ粒子組成物の破壊前後で比較することによって測定され得る。蛍光を使用して、溶液中の遊離の治療薬（例えば、核酸）の量が測定され得る。本明細書に記載のナノ粒子組成物の場合、治療薬のカプセル化効率は、少なくとも50%、例えば、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%であり得る。いくつかの実施形態では、該カプセル化効率は、少なくとも80%であり得る。ある特定の実施形態では、該カプセル化効率は、少なくとも90%であり得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0235】

いくつかの実施形態では、該脂質ナノ粒子は、ポリダイバーシティ（polydiversity）値0.4未満を有する。いくつかの実施形態では、該脂質ナノ粒子は、中性pHで正味の中性電荷を有する。いくつかの実施形態では、該脂質ナノ粒子は、平均径50～200nmを有する。

【0236】

脂質ナノ粒子製剤の特性は、該カチオン性脂質成分の選択、該カチオン性脂質の飽和度、該非カチオン性脂質成分の選択、該非カチオン性脂質の飽和度、該構造脂質成分の選択、該PEG化の性質、すべての成分の比及びサイズ等の生物物理パラメータが挙げられるがこれらに限定されない要因の影響を受け得る。本明細書に記載の通り、PEG脂質成分の純度もまた、LNPの特性及び性能にとって重要である。

【0237】

ある特定の実施形態では、脂質ナノ粒子（LNP）がリン脂質を含み、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、または核酸をカプセル化する場合、該LNPは、N/P比を有する。「N/P比」とは、ナノ粒子中の正電荷を有するポリマーアミン（例えば、リン脂質上のホスファチジルコリン基からの窒素）（「N」）と、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、または核酸剤中のリン酸基（「P」）との比を指す。LNPのN/P比は、その正味の表面電荷、サイズ、安定性、インビボ活性等の多くの特性に影響を与え得る。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のLNPは、N/P比1.0及び10.0を含めた1.0～10.0を有する。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のLNPは、N/P比約1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、または10.0を有する。ある特定の実施形態では、該N/P比は、1.0及び5.0を含めた1.0～5.0である。ある特定の実施形態では、該N/P比は、2.0及び5.0を含めた2.0～5.0である。ある特定の実施形態では、該N/P比は、2.0及び4.0を含めた2.0～4.0である。ある特定の実施形態では、該N/P比は、約2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8、2.9、3.0、3.1、3.2、3.3、3.4、3.5、3.6、3.7、3.8、3.9、または4.0である。ある特定の実施形態では、該N/P比は、2.5及び3.5を含めた2.5～3.5である。ある特定の実施形態では、該N/P比は、約2.0である。ある特定の実施形態では、該N/P比は、約3.0である。ある特定の実施形態では、該N/P比は、約4.0である。ある特定の実施形態では、該N/P比は、約5.0である。

【0238】

薬剤及び治療薬

本開示は、様々な薬剤を対象に送達するため、本明細書に提供するLNP及び／または本明細書に提供する様々な併用療法が使用され得ることを企図している。かかる薬剤は、通常、生物活性剤である。生物活性剤は、インビボで効果を発揮する薬剤、好ましくは、例えば、望ましい免疫調節、免疫刺激、免疫阻害、殺細胞、細胞保存、改変された遺伝子発現、タンパク質置換等の有益な効果を発揮する薬剤である。生物活性剤としては、予防薬、治療薬、及び診断薬が挙げられるが、これらに限定されない。生物活性剤としては、免疫調節剤、例えば、免疫賦活剤または免疫抑制剤、抗原、抗体及び抗体断片、例えば、抗原結合抗体断片、アジュバント、サイトカイン、例えば、インターロイキン、抗細菌剤、抗ウイルス剤、抗真菌剤、抗寄生虫剤、抗がん剤、抗炎症剤等が挙げられる。

【0239】

かかる薬剤は、限定されないが、核酸、タンパク質またはペプチド、小有機化合物、炭水化物及び／または多糖類等であり得る。それらは、細胞、特に、かかる核酸もしくはタンパク質が欠損している、またはかかる核酸もしくはタンパク質の変異型を有する細胞において、核酸及び／またはタンパク質を発現するために使用され得る。それらは、細胞または生物に固有ではない核酸またはタンパク質を導入及び発現するために使用される場合があり、例えば、免疫付与またはワクチン接種プロトコルとの関連で行われ得る。この点で、該核酸またはタンパク質は、それが投与される対象に対して異物でよく（例えば、かかる対象において天然に存在しない、または全く天然に存在しない）、それは、かかる核酸またはタンパク質に対する免疫応答を誘導及び／または強化するために該対象に投与される。本明細書に提供する核酸は、かかる目的のために使用され得る。

【0240】

他の生物活性剤は、単独で使用される場合も、かかる核酸またはタンパク質と一緒に使用される場合もあり、かかる核酸またはタンパク質と一緒に製剤化されることを含み、本開示のLNPに製剤化されることを含む。

【0241】

本明細書で使用される、「核酸」という用語は、核酸塩基及び酸性部分を含む化合物、例えば、ヌクレオシド、ヌクレオチド、またはヌクレオチドのポリマーを指す。通常、高

分子核酸、例えば、3つ以上のヌクレオチドを含む核酸分子は、隣接するヌクレオチドがホスホジエステル結合を介して互いに連結されている線状分子である。いくつかの実施形態では、「核酸」は、個々の核酸残基（例えば、ヌクレオチド及び／またはヌクレオシド）を指す。いくつかの実施形態では、「核酸」は、3つ以上の個々のヌクレオチド残基を含むオリゴヌクレオチド鎖を指す。本明細書で使用される、「オリゴヌクレオチド」及び「ポリヌクレオチド」という用語は、同義で使用される場合があり、ヌクレオチドのポリマー（例えば、少なくとも3つのヌクレオチドのストリング）を指す。いくつかの実施形態では、「核酸」は、RNAならびに一本鎖及び／または二本鎖DNAを包含する。核酸配列は、特に明記しない限り、5'から3'の向きで示される。

【0242】

核酸には、ヌクレオチドのポリマーを含む任意の化合物及び／または物質が含まれる。これらのポリマーはポリヌクレオチドと呼ばれる。核酸は、例えば、リボ核酸（RNA）、デオキシリボ核酸（DNA）、トレオース核酸（TNA）、グリコール核酸（GNA）、ペプチド核酸（PNA）、ロックド核酸（LNA、 β -D-リボ構成を有するLNA、 α -L-リボ構成を有する α -LNA（LNAのジアステレオマー）、2'-アミノ官能化を有する2'-アミノ-LNA、及び2'-アミノ官能化を有する2'-アミノ- α -LNA）、エチレン核酸（ENA）、シクロヘキセニル核酸（CENA）またはそれらのキメラもしくは組み合わせでもよいし、これらを含んでもよい。

【0243】

核酸は、例えば、ゲノム、転写物、mRNA、tRNA、rRNA、siRNA、snRNA、プラスミド、コスミド、染色体、クロマチド、または他の天然に存在する核酸分子との関連で、天然に存在するものでもよい。他方では、核酸分子は、天然に存在しない分子、例えば、組み換えDNAもしくはRNA、人工染色体、改変ゲノム、もしくはその断片、または合成DNA、RNA、DNA/RNAハイブリッドであり得るか、または天然に存在しないヌクレオチドもしくはヌクレオシドを含む。核酸は、天然源から精製することも、組み換え発現系を用いて製造し、任意に精製することも、化学的に合成することもできる。

【0244】

さらに、「核酸」、「DNA」、「RNA」という用語、及び／または同様の用語は、核酸類似体、すなわち、ホスホジエステル骨格以外を有する類似体を含む。

【0245】

適切な場合、例えば、化学的に合成された分子の場合、核酸は、ヌクレオシド類似体、例えば、化学的に修飾された塩基または糖、及び骨格修飾を有する類似体を含み得る。いくつかの実施形態では、核酸は、天然のヌクレオシド（例えば、アデノシン、チミジン、グアノシン、シチジン、ウリジン、デオキシアデノシン、デオキシチミジン、デオキシグアノシン、及びデオキシシチジン）、ヌクレオシド類似体（例えば、2'-アミノアデノシン、2'-チオチミジン、イノシン、ピロロ-ピリミジン、3-メチルアデノシン、5-メチルシチジン、2'-アミノアデノシン、C5-プロモウリジン、C5-フルオロウリジン、C5-ヨードウリジン、C5-プロピニル-ウリジン、C5-プロピニル-シチジン、C5-メチルシチジン、2'-アミノアデノシン、7-デアザアデノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソアデノシン、8-オキソグアノシン、O(6)-メチルグアニン、及び2'-チオシチジン）、化学的に修飾された塩基、生物学的に修飾された塩基（例えば、メチル化塩基）、挿入された塩基、修飾された糖（例えば、2'-フルオロリボース、リボース、2'-デオキシリボース、アラビノース、及びヘキソース）、及び／または修飾されたリン酸基（例えば、ホスホロチオエート及び5'-N-ホスホルアミダイト結合）であるか、またはこれらを含む。

【0246】

「ヌクレオシド」は、糖分子（例えば、ペントースもしくはリボース）またはその誘導体を、有機塩基（例えば、プリンもしくはピリミジン）またはその誘導体（本明細書では「核酸塩基」とも呼ばれる）と組み合わせて含む化合物を指す。「ヌクレオチド」は、リ

10

20

30

40

50

ン酸基を含むヌクレオシドを指す。修飾ヌクレオチドは、1つ以上の修飾または非天然ヌクレオシドを含めるため、任意の有用な方法で、例えば、化学的に、酵素的に、または組み換え的に合成され得る。ポリヌクレオチドは、連結されたヌクレオシドの領域（複数可）を含み得る。かかる領域は、可変骨格結合を有し得る。該結合は、標準的なホスホジエステル結合であってよく、この場合、該ポリヌクレオチドは、ヌクレオチドの領域を含む。

【0247】

修飾ヌクレオチドの塩基対合は、標準的なアデノシン-チミン、アデノシン-ウラシル、またはグアノシン-シトシン塩基対だけでなく、非標準または修飾塩基を含むヌクレオチド及び／または修飾ヌクレオチド間で形成される塩基対も包含し、ここで、水素結合供与体と水素結合受容体の配置により、非標準塩基と標準塩基間、または2つの相補的非標準塩基構造間の水素結合が可能になる。かかる非標準塩基対合の一例は、修飾ヌクレオチドイノシンとアデニン、シトシンまたはウラシル間の塩基対合である。塩基／糖またはリンカーの任意の組み合わせが、本開示のポリヌクレオチドに組み込まれ得る。

【0248】

当業者には、特に断りのない限り、本出願に記載のポリヌクレオチド配列が、代表的なDNA配列において「T」を列挙するが、配列がRNAを表す場合、「T」は「U」で置き換えられることが理解されよう。

【0249】

本明細書に記載の治療薬において有用なポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）の修飾としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：2-メチルチオ-N6-(cis-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン、2-メチルチオ-N6-メチルアデノシン、2-メチルチオ-N6-トレオニルカルバモイルアデノシン、N6-グリシニルカルバモイルアデノシン、N6-イソペンテニルアデノシン、N6-メチルアデノシン、N6-トレオニルカルバモイルアデノシン、1,2'-O-ジメチルアデノシン、1-メチルアデノシン、2'-O-メチルアデノシン、2'-O-リボシルアデノシン（リン酸）、2-メチルアデノシン、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデノシン、2-メチルチオ-N6-ヒドロキシノルバリルカルバモイルアデノシン、2'-O-メチルアデノシン、2'-O-リボシルアデノシン（リン酸）、イソペンテニルアデノシン、N6-(cis-ヒドロキシイソペンテニル)アデノシン、N6,2'-O-ジメチルアデノシン、N6,2'-O-ジメチルアデノシン、N6,N6,2'-O-トリメチルアデノシン、N6,N6-ジメチルアデノシン、N6-アセチルアデノシン、N6-ヒドロキシノルバリルカルバモイルアデノシン、N6-メチル-N6-トレオニルカルバモイルアデノシン、2-メチルアデノシン、2-メチルチオ-N6-イソペンテニルアデノシン、7-デアザ-アデノシン、N1-メチル-アデノシン、N6,N6-(ジメチル)アデニン、N6-cis-ヒドロキシイソペンテニル-アデノシン、 α -チオ-アデノシン、2-(アミノ)アデニン、2-(アミノプロピル)アデニン、2-(メチルチオ)-N6-(イソペンテニル)アデニン、2-(アルキル)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-(ハ口)アデニン、2-(ハ口)アデニン、2-(プロピル)アデニン、2'-アミノ-2'-デオキシ-ATP、2'-アジド-2'-デオキシ-ATP、2'-デオキシ-2'-a-アミノアデノシンTP、2'-デオキシ-2'-a-アジドアデノシンTP、6-(アルキル)アデニン、6-(メチル)アデニン、6-(アルキル)アデニン、6-(メチル)アデニン、7-(デアザ)アデニン、8-(アルケニル)アデニン、8-(アルキニル)アデニン、8-(アミノ)アデニン、8-(チオアルキル)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-(ハ口)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、8-アジド-アデノシン、アザアデニン、デアザアデニン、N6-(メチル)アデニン、N6-(イソペンチル)アデニン、7-デアザ-8-アザ-アデノシン、7-メチルアデニン、1-デアザアデノシンTP、2'-フルオロ-N6-Bz-デオキシアデノシンTP、2'-OMe-2'-アミノ-ATP、2'-O-メチル-

10

20

30

40

50

N 6 - B z - デオキシアデノシン T P、2' - a - エチニルアデノシン T P、2 - アミノア
 デニン、2 - アミノアデノシン T P、2 - アミノ - A T P、2' - a - トリフルオロメチル
 アデノシン T P、2 - アジドアデノシン T P、2' - b - エチニルアデノシン T P、2 - ブ
 ロモアデノシン T P、2' - b - トリフルオロメチルアデノシン T P、2 - クロロアデノシ
 ン T P、2' - デオキシ - 2'、2' - ジフルオロアデノシン T P、2' - デオキシ - 2' - a
 - メルカプトアデノシン T P、2' - デオキシ - 2' - a - チオメトキシアデノシン T P、
 2' - デオキシ - 2' - b - アミノアデノシン T P、2' - デオキシ - 2' - b - アジドアデノ
 シン T P、2' - デオキシ - 2' - b - ブロモアデノシン T P、2' - デオキシ - 2' - b - ク
 ロロアデノシン T P、2' - デオキシ - 2' - b - フルオロアデノシン T P、2' - デオキシ
 - 2' - b - ヨードアデノシン T P、2' - デオキシ - 2' - b - メルカプトアデノシン T P 10
 、2' - デオキシ - 2' - b - チオメトキシアデノシン T P、2 - フルオロアデノシン T P
 、2 - ヨードアデノシン T P、2 - メルカプトアデノシン T P、2 - メトキシ - アデニン
 、2 - メチルチオ - アデニン、2 - トリフルオロメチルアデノシン T P、3 - デアザ - 3
 - ブロモアデノシン T P、3 - デアザ - 3 - クロロアデノシン T P、3 - デアザ - 3 - フ
 ルオロアデノシン T P、3 - デアザ - 3 - ヨードアデノシン T P、3 - デアザアデノシン
 T P、4' - アジドアデノシン T P、4' - カルボサイクリックアデノシン T P、4' - エチ
 ニルアデノシン T P、5' - ホモ - アデノシン T P、8 - アザ - A T P、8 - ブロモ - アデ
 ノシン T P、8 - トリフルオロメチルアデノシン T P、9 - デアザアデノシン T P、2 -
 アミノプリン、7 - デアザ - 2、6 - ジアミノプリン、7 - デアザ - 8 - アザ - 2、6 -
 ジアミノプリン、7 - デアザ - 8 - アザ - 2 - アミノプリン、2、6 - ジアミノプリン、 20
 7 - デアザ - 8 - アザ - アデニン、7 - デアザ - 2 - アミノプリン、2 - チオシチジン、
 3 - メチルシチジン、5 - ホルミルシチジン、5 - ヒドロキシメチルシチジン、5 - メチ
 ルシチジン、N 4 - アセチルシチジン、2' - O - メチルシチジン、2' - O - メチルシチ
 ジン、5、2' - O - ジメチルシチジン、5 - ホルミル - 2' - O - メチルシチジン、リシ
 ジン、N 4、2' - O - ジメチルシチジン、N 4 - アセチル - 2' - O - メチルシチジン、
 N 4 - メチルシチジン、N 4、N 4 - ジメチル - 2' - O Me - シチジン T P、4 - メチル
 シチジン、5 - アザ - シチジン、プソイド - イソ - シチジン、ピロロ - シチジン、 α - チ
 オ - シチジン、2 - (チオ) シトシン、2' - アミノ - 2' - デオキシ - C T P、2' - アジ
 ド - 2' - デオキシ - C T P、2' - デオキシ - 2' - a - アミノシチジン T P、2' - デオキ
 シ - 2' - a - アジドシチジン T P、3 - (デアザ) - 5 - (アザ) シトシン、3 - (メチ
 ル) シトシン、3 - (アルキル) シトシン、3 - (デアザ) - 5 - (アザ) シトシン、3
 - (メチル) シチジン、4、2' - O - ジメチルシチジン、5 - (ハ口) シトシン、5 - (30
 メチル) 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
 、5 - (アルキル) シトシン、5 - (アルキニル) シトシン、5 - (ハ口) 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、5 - ブロモ - シチジ
 ン、5 - ヨード - シチジン、5 - プロピニルシトシン、6 - (アゾ) シトシン、6 - アザ
 - シチジン、アザシトシン、デアザシトシン、N 4 - (アセチル) シトシン、1 - メチル
 - 1 - デアザ - プソイドイソシチジン、1 - メチル - プソイドイソシチジン、2 - メトキ
 シ - 5 - メチル - シチジン、2 - メトキシ - シチジン、2 - チオ - 5 - メチル - シチジン
 、4 - メトキシ - 1 - メチル - プソイドイソシチジン、4 - メトキシ - プソイドイソシチ
 ジン、4 - チオ - 1 - メチル - 1 - デアザ - プソイドイソシチジン、4 - チオ - 1 - メチ
 ル - プソイドイソシチジン、4 - チオ - プソイドイソシチジン、5 - アザ - ゼブラリン、
 5 - メチル - ゼブラリン、ピロロ - プソイドイソシチジン、ゼブラリン、(E) - 5 - (40
 2 - ブロモ - ビニル) シチジン T P、2、2' - アンヒドロ - シチジン T P 塩酸塩、2' -
 フルオロ - N 4 - B z - シチジン T P、2' - フルオロ - N 4 - アセチル - シチジン T P、
 2' - O - メチル - N 4 - アセチル - シチジン T P、2' - O - メチル - N 4 - B z - シチ
 ジン T P、2' - a - エチニルシチジン T P、2' - a - トリフルオロメチルシチジン T P
 、2' - b - エチニルシチジン T P、2' - b - トリフルオロメチルシチジン T P、2' - デ
 オキシ - 2'、2' - ジフルオロシチジン T P、2' - デオキシ - 2' - a - メルカプトシチジ
 ン T P、2' - デオキシ - 2' - a - チオメトキシシチジン T P、2' - デオキシ - 2' - b - 50

アミノシチジンTP、2'-デオキシ-2'-b-アジドシチジンTP、2'-デオキシ-2'-
 -b-ブロモシチジンTP、2'-デオキシ-2'-b-クロロシチジンTP、2'-デオキ
 シ-2'-b-フルオロシチジンTP、2'-デオキシ-2'-b-ヨードシチジンTP、2'
 -デオキシ-2'-b-メルカプトシチジンTP、2'-デオキシ-2'-b-チオメトキシ
 シチジンTP、2'-O-メチル-5-(1-プロピニル)シチジンTP、3'-エチニル
 シチジンTP、4'-アジドシチジンTP、4'-カルボサイクリックシチジンTP、4'-
 エチニルシチジンTP、5-(1-プロピニル)アラシチジンTP、5-(2-クロロ
 -フェニル)-2-チオシチジンTP、5-(4-アミノフェニル)-2-チオシチジ
 ンTP、5-アミノアリル-CTP、5-シアノシチジンTP、5-エチニルアラシチ
 ジンTP、5-エチニルシチジンTP、5'-ホモシチジンTP、5-メトキシシチジン
 TP、5-トリフルオロメチルシチジンTP、N4-アミノシチジンTP、N4-ベ
 ンゾイルシチジンTP、プソイドイソシチジン、7-メチルグアノシン、N2, 2'-O
 -ジメチルグアノシン、N2-メチルグアノシン、ワイオシン、1, 2'-O-ジメチルグ
 アノシン、1-メチルグアノシン、2'-O-メチルグアノシン、2'-O-リボシルグア
 ノシン(リン酸)、2'-O-メチルグアノシン、2'-O-リボシルグアノシン(リン酸
)、7-アミノメチル-7-デアザグアノシン、7-シアノ-7-デアザグアノシン、ア
 ルケオシン、メチルワイオシン、N2, 7-ジメチルグアノシン、N2, N2, 2'-O-
 トリメチルグアノシン、N2, N2, 7-トリメチルグアノシン、N2, N2-ジメチル
 グアノシン、N2, 7, 2'-O-トリメチルグアノシン、6-チオ-グアノシン、7-デ
 アザ-グアノシン、8-オキソ-グアノシン、N1-メチル-グアノシン、 α -チオ-グ
 アノシン、2-(プロピル)グアニン、2-(アルキル)グアニン、2'-アミノ-2'-
 デオキシ-GTP、2'-アジド-2'-デオキシ-GTP、2'-デオキシ-2'-a-アミ
 ノグアノシンTP、2'-デオキシ-2'-a-アジドグアノシンTP、6-(メチル)グ
 アニン、6-(アルキル)グアニン、6-(メチル)グアニン、6-メチル-グアノシン
 、7-(アルキル)グアニン、7-(デアザ)グアニン、7-(メチル)グアニン、7-
 (アルキル)グアニン、7-(デアザ)グアニン、7-(メチル)グアニン、8-(アル
 キル)グアニン、8-(アルキニル)グアニン、8-(ハロ)グアニン、8-(チオアル
 キル)グアニン、8-(アルケニル)グアニン、8-(アルキル)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、アザグアニ
 ン、デアザグアニン、N-(メチル)グアニン、N-(メチル)グアニン、1-メチル-
 6-チオ-グアノシン、6-メトキシ-グアノシン、6-チオ-7-デアザ-8-アザ-
 グアノシン、6-チオ-7-デアザ-グアノシン、6-チオ-7-メチル-グアノシン、
 7-デアザ-8-アザ-グアノシン、7-メチル-8-オキソ-グアノシン、N2, N2
 -ジメチル-6-チオ-グアノシン、N2-メチル-6-チオ-グアノシン、1-Me-
 GTP、2'-フルオロ-N2-イソブチル-グアノシンTP、2'-O-メチル-N2-
 イソブチル-グアノシンTP、2'-a-エチニルグアノシンTP、2'-a-トリフルオ
 ロメチルグアノシンTP、2'-b-エチニルグアノシンTP、2'-b-トリフルオロメ
 チルグアノシンTP、2'-デオキシ-2', 2'-ジフルオログアノシンTP、2'-デオキ
 シ-2'-a-メルカプトグアノシンTP、2'-デオキシ-2'-a-チオメトキシグアノ
 シンTP、2'-デオキシ-2'-b-アミノグアノシンTP、2'-デオキシ-2'-b-ア
 ジドグアノシンTP、2'-デオキシ-2'-b-ブromoグアノシンTP、2'-デオキシ-
 2'-b-クロログアノシンTP、2'-デオキシ-2'-b-フルオログアノシンTP、2'
 -デオキシ-2'-b-ヨードグアノシンTP、2'
 ' -デオキシ-2'-b-メルカプトグアノシンTP、2'-デオキシ-2'-b-チオメトキ
 シグアノシンTP、4'-アジドグアノシンTP、4'-カルボサイクリックグアノシンT
 P、4'-エチニルグアノシンTP、5'-ホモ-グアノシンTP、8-ブromo-グアノシ
 ンTP、9-デアザグアノシンTP、N2-イソブチル-グアノシンTP、1-メチルイ
 ノシン、イノシン、1, 2'-O-ジメチルイノシン、2'-O-メチルイノシン、7-メ
 チルイノシン、2'-O-メチルイノシン、エポキシキューオシン、ガラクトシル-キュー

10

20

30

40

50

オシン、マンノシルキューオシン、キューオシン、アリルアミノチミジン、アザチミジン、デアザチミジン、デオキシチミジン、2'-O-メチルウリジン、2-チオウリジン、3-メチルウリジン、5-カルボキシメチルウリジン、5-ヒドロキシウリジン、5-メチルウリジン、5-タウリノメチル-2-チオウリジン、5-タウリノメチルウリジン、ジヒドロウリジン、プソイドウリジン、(3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)ウリジン、1-メチル-3-(3-アミノ-5-カルボキシプロピル)プソイドウリジン、1-メチルプソイドウリジン、1-メチル-プソイドウリジン、2'-O-メチルウリジン、2'-O-メチルプソイドウリジン、2'-O-メチルウリジン、2-チオ-2'-O-メチルウリジン、3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)ウリジン、3, 2'-O-ジメチルウリジン、3-メチル-プソイド-ウリジンTP、4-チオウリジン、5-(カルボキシヒドロキシメチル)ウリジン、5-(カルボキシヒドロキシメチル)ウリジンメチルエステル、5, 2'-O-ジメチルウリジン、5, 6-ジヒドロ-ウリジン、5-アミノメチル-2-チオウリジン、5-カルバモイルメチル-2'-O-メチルウリジン、5-カルバモイルメチルウリジン、5-カルボキシヒドロキシメチルウリジン、5-カルボキシヒドロキシメチルウリジンメチルエステル、5-カルボキシメチルアミノメチル-2'-O-メチルウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-カルボキシメチルアミノメチルウリジン、5-カルバモイルメチルウリジンTP、5-メトキシカルボニルメチル-2'-O-メチルウリジン、5-メトキシカルボニルメチル-2-チオウリジン、5-メトキシカルボニルメチルウリジン、5-メチルウリジン)、5-メトキシウリジン、5-メチル-2-チオウリジン、5-メチルアミノメチル-2-セレノウリジン、5-メチルアミノメチル-2-チオウリジン、5-メチルアミノメチルウリジン、5-メチルジヒドロウリジン、5-オキシ酢酸-ウリジンTP、5-オキシ酢酸-メチルエステル-ウリジンTP、N1-メチル-プソイド-ウリジン、ウリジン-5-オキシ酢酸、ウリジン-5-オキシ酢酸メチルエステル、3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)-ウリジンTP、5-(イソペンテニルアミノメチル)-2-チオウリジンTP、5-(イソペンテニルアミノメチル)-2'-O-メチルウリジンTP、5-(イソペンテニルアミノメチル)ウリジンTP、5-プロピニルウラシル、 α -チオ-ウリジン、1-(アミノアルキルアミノカルボニルエチレニル)-2-(チオ)-プソイドウラシル、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)プソイドウラシル、1-(アミノアルキルアミノカルボニルエチレニル)-4-(チオ)プソイドウラシル、1-(アミノカルボニルエチレニル)-2-(チオ)-プソイドウラシル、1-(アミノカルボニルエチレニル)-2, 4-(ジチオ)プソイドウラシル、1-(アミノカルボニルエチレニル)-4-(チオ)プソイドウラシル、1置換2-(チオ)-プソイドウラシル、1置換2, 4-(ジチオ)プソイドウラシル、1置換4-(チオ)プソイドウラシル、1置換プソイドウラシル、1-(アミノアルキルアミノカルボニルエチレニル)-2-(チオ)-プソイドウラシル、1-メチル-3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)プソイドウリジンTP、1-メチル-3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)プソイド-UTP、1-メチル-プソイド-UTP、2-(チオ)プソイドウラシル、2'-デオキシウリジン、2'-フルオロウリジン、2-(チオ)ウラシル、2, 4-(ジチオ)プソイドウラシル、2'-メチル、2'-アミノ、2'-アジド、2'-フルオロ-グアノシン、2'-アミノ-2'-デオキシ-UTP、2'-アジド-2'-デオキシ-UTP、2'-アジド-デオキシウリジンTP、2'-O-メチルプソイドウリジン、2'-デオキシウリジン、2'-フルオロウリジン、2'-デオキシ-2'-a-アミノウリジンTP、2'-デオキシ-2'-a-アジドウリジンTP、2-メチルプソイドウリジン、3-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)ウラシル、4-(チオ)プソイドウラシル、4-(チオ)プソイドウラシル、4-(チオ)ウラシル、4-チオウラシル、5-(1, 3-ジアゾール-1-アルキル)ウラシル、5-(2-アミノプロピル)ウラシル、5-(アミノアルキル)ウラシ

10

20

30

40

50

ル、5-(ジメチルアミノアルキル)ウラシル、5-(グアニジニウムアルキル)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-(メチル)-2,4-(ジチオ)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)-2-(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-(メチルアミノメチル)-4-(チオ)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、5-(2-アミノプロピル)ウラシル、5-(アルキル)-2-(チオ)プソイドウラシル、5-(アルキル)-2,4-(ジチオ)プソイドウラシル、5-(アルキル)-4-(チオ)プソイドウラシル、5-(アルキル)プソイドウラシル、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-(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-(グアニジニウムアルキル)ウラシル、5-(ハロ)ウラシル、5-(1,3-ジアゾール-1-アルキル)ウラシル、5-(メトキシ)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-(メチル)-2,4-(ジチオ)ウラシル、5-(メチル)-4-(チオ)ウラシル、5-(メチル)-2-(チオ)プソイドウラシル、5-(メチル)-2,4-(ジチオ)プソイドウラシル、5-(メチル)-4-(チオ)プソイドウラシル、5-(メチル)プソイドウラシル、5-(メチルアミノメチル)-2-(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-(メチルアミノメチル)-4-(チオ)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、5-アミノアリル-ウリジン、5-ブromo-ウリジン、5-ヨード-ウリジン、5-ウラシル、6-(アゾ)ウラシル、6-(アゾ)ウラシル、6-アザ-ウリジン、アリルアミノ-ウラシル、アザウラシル、デアザウラシル、N3-(メチル)ウラシル、プソイド-UTP-1-2-エタン酸、プソイドウラシル、4-チオ-プソイド-UTP、1-カルボキシメチル-プソイドウリジン、1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、1-プロピニル-ウリジン、1-タウリノメチル-1-メチル-ウリジン、1-タウリノメチル-4-チオ-ウリジン、1-タウリノメチル-プソイドウリジン、2-メトキシ-4-チオ-プソイドウリジン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、2-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオ-ジヒドロプソイドウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-プソイドウリジン、4-メトキシ-2-チオ-プソイドウリジン、4-メトキシ-プソイドウリジン、4-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、4-チオ-プソイドウリジン、5-アザ-ウリジン、ジヒドロプソイドウリジン、(±)1-(2-ヒドロキシプロピル)プソイドウリジンTP、(2R)-1-(2-ヒドロキシプロピル)プソイドウリジンTP、(2S)-1-(2-ヒドロキシプロピル)プソイドウリジンTP、(E)-5-(2-ブromo-ビニル)アラ-ウリジンTP、(E)-5-(2-ブromo-ビニル)ウリジンTP、(Z)-5-(2-ブromo-ビニル)アラ-ウリジンTP、(Z)-5-(2-ブromo-ビニル)ウリジンTP、1-(2,2,2-トリフルオロエチル)-プソイド-UTP、1-(2,2,3,3,3-ペンタフルオロプロピル)プソイドウリジンTP、1-(2,2-ジエトキシエチル)プソイドウリジンTP、1-(2,4,6-トリメチルベンジル)プソイドウリジンTP、1-(2,4,6-トリメチル-ベンジル)プソイド-UTP、1-(2,4,6-トリメチル-フェニル)プソイド-UTP、1-(2-アミノ-2-カルボキシエチル)プソイド-UTP、1-(2-アミノ-エチル)プソイド-UTP、1-(2-ヒドロキシエチル)プソイドウリジンTP、1-(2-メトキシエチル)プソイドウリジンTP、1-(3,4-ビス-トリフルオロメトキシベンジル)プソイドウリジンTP、1-(3,4-ジメトキシベンジル)プソイドウリジンTP、1-(3-アミノ-3-カルボキシプロピル)プソイド-UTP、1-(3-アミノ-プロピル)プソイド-UTP、1-(3-シクロプロピル-プロパー-2-イニル)プソイドウリジンTP、1-(4-アミノ-4-カルボキシブチル)プソイド-UTP、1-(4-アミノ

10

20

30

40

50

-ベンジル) プソイド-UTP、1-(4-アミノ-ブチル) プソイド-UTP、1-(4-アミノ-フェニル) プソイド-UTP、1-(4-アジドベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-ブromoベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-クロロベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-フルオロベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-ヨードベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-メタンスルホニルベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-メトキシベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-メトキシ-ベンジル) プソイド-UTP、1-(4-メトキシ-フェニル) プソイド-UTP、1-(4-メチルベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-メチル-ベンジル) プソイド-UTP、1-(4-ニトロベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-ニトロ-ベンジル) プソイド-UTP、1-(4-ニトロ-フェニル) プソイド-UTP、1-(4-チオメトキシベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-トリフルオロメトキシベンジル) プソイドウリジンTP、1-(4-トリフルオロメチルベンジル) プソイドウリジンTP、1-(5-アミノ-ペンチル) プソイド-UTP、1-(6-アミノ-ヘキシル) プソイド-UTP、1,6-ジメチル-プソイド-UTP、1-[3-(2-{2-[2-(2-アミノエトキシ)-エトキシ]-エトキシ}-エトキシ)-プロピオニル] プソイドウリジンTP、1-{3-[2-(2-アミノエトキシ)-エトキシ]-プロピオニル} プソイドウリジンTP、1-アセチルプソイドウリジンTP、1-アルキル-6-(1-プロピニル)-プソイド-UTP、1-アルキル-6-(2-プロピニル)-プソイド-UTP、1-アルキル-6-アリル-プソイド-UTP、1-アルキル-6-エチニル-プソイド-UTP、1-アルキル-6-ホモアリル-プソイド-UTP、1-アルキル-6-ビニル-プソイド-UTP、1-アリルプソイドウリジンTP、1-アミノメチル-プソイド

-UTP、1-ベンゾイルプソイドウリジンTP、1-ベンジルオキシメチルプソイドウリジンTP、1-ベンジル-プソイド-UTP、1-ビオチニル-PEG2-プソイドウリジンTP、1-ビオチニルプソイドウリジンTP、1-ブチル-プソイド-UTP、1-シアノメチルプソイドウリジンTP、1-シクロブチルメチル-プソイド-UTP、1-シクロブチル-プソイド-UTP、1-シクロヘブチルメチル-プソイド-UTP、1-シクロヘブチル-プソイド-UTP、1-シクロヘキシルメチル-プソイド-UTP、1-シクロヘキシル-プソイド-UTP、1-シクロオクチルメチル-プソイド-UTP、1-シクロオクチル-プソイド-UTP、1-シクロペンチルメチル-プソイド-UTP、1-シクロペンチル-プソイド-UTP、1-シクロプロピルメチル-プソイド-UTP、1-シクロプロピル-プソイド-UTP、1-エチル-プソイド-UTP、1-ヘキシル-プソイド-UTP、1-ホモアリルプソイドウリジンTP、1-ヒドロキシメチルプソイドウリジンTP、1-イソ-プロピル-プソイド-UTP、1-Me-2-チオ-プソイド-UTP、1-Me-4-チオ-プソイド-UTP、1-Me-アルファ-チオ-プソイド-UTP、1-メタンスルホニルメチルプソイドウリジンTP、1-メトキシメチルプソイドウリジンTP、1-メチル-6-(2,2,2-トリフルオロエチル) プソイド-UTP、1-メチル-6-(4-モルホリノ)-プソイド-UTP、1-メチル-6-(4-チオモルホリノ)-プソイド-UTP、1-メチル-6-(置換フェニル) プソイド-UTP、1-メチル-6-アミノ-プソイド-UTP、1-メチル-6-アジド-プソイド-UTP、1-メチル-6-ブromo-プソイド-UTP、1-メチル-6-ブチル-プソイド-UTP、1-メチル-6-クロロ-プソイド-UTP、1-メチル-6-シアノ-プソイド-UTP、1-メチル-6-ジメチルアミノ-プソイド-UTP、1-メチル-6-エトキシ-プソイド-UTP、1-メチル-6-エチルカルボキシレート-プソイド-UTP、1-メチル-6-エチル-プソイド-UTP、1-メチル-6-フルオロ-プソイド-UTP、1-メチル-6-ホルミル-プソイド-UTP、1-メチル-6-ヒドロキシアミノ-プソイド-UTP、1-メチル-6-ヒドロキシ-プソイド-UTP、1-メチル-6-ヨード-プソイド-UTP、1-メチル-6-イソ-プロピル-プソイド-UTP、1-メチル-6-メトキシ-プソイド-UTP、1-メチル-6-メチルアミノ-プソイド-UTP、1-メチル-6-フェニル-プソイド-UTP、

10

20

30

40

50

1-メチル-6-プロピル-ブソイド-UTP、1-メチル-6-tert-ブチル-ブ
 ソイド-UTP、1-メチル-6-トリフルオロメトキシ-ブソイド-UTP、1-メチ
 ル-6-トリフルオロメチル-ブソイド-UTP、1-モルホリノメチルブソイドウリジ
 ンTP、1-ペンチル-ブソイド-UTP、1-フェニル-ブソイド-UTP、1-ピバ
 ロイルブソイドウリジンTP、1-プロパルギルブソイドウリジンTP、1-プロピル-
 ブソイド-UTP、1-プロピニル-ブソイドウリジン、1-p-トリル-ブソイド-U
 TP、1-tert-ブチル-ブソイド-UTP、1-チオメトキシメチルブソイドウリ
 ジンTP、1-チオモルホリノメチルブソイドウリジンTP、1-トリフルオロアセチル
 ブソイドウリジンTP、1-トリフルオロメチル-ブソイド-UTP、1-ビニルブソイ
 ドウリジンTP、2, 2'-アンヒドロ-ウリジンTP、2'-ブロモードオキシウリジン
 TP、2'-F-5-メチル-2'-デオキシ-UTP、2'-OMe-5-Me-UTP、
 2'-OMe-ブソイド-UTP、2'-a-エチニルウリジンTP、2'-a-トリフルオ
 ロメチルウリジンTP、2'-b-エチニルウリジンTP、2'-b-トリフルオロメチル
 ウリジンTP、2'-デオキシ-2', 2'-ジフルオロウリジンTP、2'-デオキシ-2'
 -a-メルカプトウリジンTP、2'-デオキシ-2'-a-チオメトキシウリジンTP、
 2'-デオキシ-2'-b-アミノウリジンTP、2'-デオキシ-2'-b-アジドウリジン
 TP、2'-デオキシ-2'-b-ブロモウリジンTP、2'-デオキシ-2'-b-クロロウ
 リジンTP、2'-デオキシ-2'-b-フルオロウリジンTP、2'-デオキシ-2'-b-
 ヨードウリジンTP、2'-デオキシ-2'-b-メルカプトウリジンTP、2'-デオキシ
 -2'-b-チオメトキシウリジンTP、2-メトキシ-4-チオ-ウリジン、2-メトキシ
 ウリジン、2'-O-メチル-5-(1-プロピニル)ウリジンTP、3-アルキル-ブ
 ソイド-UTP、4'-アジドウリジンTP、4'-カルボサイクリックウリジンTP、4'
 -エチニルウリジンTP、5-(1-プロピニル)アラ-ウリジンTP、5-(2-フラ
 ニル)ウリジンTP、5-シアノウリジンTP、5-ジメチルアミノウリジンTP、5'-
 ホモ-ウリジンTP、5-ヨード-2'-フルオロ-デオキシウリジンTP、5-フェニル
 エチニルウリジンTP、5-トリジュウテロメチル-6-ジュウテロウリジンTP、5-
 トリフルオロメチル-ウリジンTP、5-ビニルアラウリジンTP、6-(2, 2, 2-
 トリフルオロエチル)-ブソイド-UTP、6-(4-モルホリノ)-ブソイド-UTP
 、6-(4-チオモルホリノ)-ブソイド-UTP、6-(置換-フェニル)-ブソイド
 -UTP、6-アミノ-ブソイド-UTP、6-アジド-ブソイド-UTP、6-ブロモ
 -ブソイド-UTP、6-ブチル-ブソイド-UTP、6-クロロ-ブソイド-UTP、
 6-シアノ-ブソイド-UTP、6-ジメチルアミノ-ブソイド-UTP、6-エトキシ
 -ブソイド-UTP、6-エチルカルボキシレート-ブソイド-UTP、6-エチル-ブ
 ソイド-UTP、6-フルオロ-ブソイド-UTP、6-ホルミル-ブソイド-UTP、
 6-ヒドロキシアミノ-ブソイド-UTP、6-ヒドロキシ-ブソイド-UTP、6-ヨ
 ード-ブソイド-UTP、6-イソ-プロピル-ブソイド-UTP、6-メトキシ-ブソ
 イド-UTP、6-メチルアミノ-ブソイド-UTP、6-メチル-ブソイド-UTP、
 6-フェニル-ブソイド-UTP、6-フェニル-ブソイド-UTP、6-プロピル-ブ
 ソイド-UTP、6-tert-ブチル-ブソイド-UTP、6-トリフルオロメトキシ
 -ブソイド-UTP、6-トリフルオロメチル-ブソイド-UTP、アルファ-チオ-ブ
 ソイド-UTP、ブソイドウリジン-1-(4-メチルベンゼンスルホン酸)TP、ブソ
 イドウリジン-1-(4-メチル安息香酸)TP、ブソイドウリジンTP-1-[3-(
 2-エトキシ)]プロピオン酸、ブソイドウリジンTP-1-[3-{2-(2-[2-(
 2-エトキシ)-エトキシ]-エトキシ)-エトキシ}]プロピオン酸、ブソイドウリ
 ジンTP-1-[3-{2-(2-[2-{2-(2-エトキシ)-エトキシ]-エトキシ)-エトキシ}]
 -エトキシ]-エトキシ}]プロピオン酸、ブソイドウリジンTP-1-[3-{2-
 -(2-[2-エトキシ]-エトキシ)-エトキシ}]プロピオン酸、ブソイドウリジ
 ンTP-1-[3-{2-(2-エトキシ)-エトキシ}]プロピオン酸、ブソイドウリジ
 ンTP-1-メチルホスホン酸、ブソイドウリジンTP-1-メチルホスホン酸ジエチル
 エステル、ブソイド-UTP-N1-3-プロピオン酸、ブソイド-UTP-N1-4-

ブタン酸、プソイドーUTP-N1-5-ペンタン酸、プソイドーUTP-N1-6-ヘ
 キサン酸、プソイドーUTP-N1-7-ヘプタン酸、プソイドーUTP-N1-メチル
 -p-安息香酸、プソイドーUTP-N1-p-安息香酸、ワイブトシン、ヒドロキシワ
 イブトシン、イソワイオシン、ペルオキシワイブトシン、不完全修飾型 (undermo
 d i f i e d) ヒドロキシワイブトシン、4-デメチルワイオシン、2, 6-(ジアミノ
) プリン、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)-フェノチアジン-1-イル、1, 3-(ジアザ)-
 2-(オキソ)-フェノキサジン-1-イル、1, 3, 5-(トリアザ)-2, 6-(ジ
 オキサ)-ナフタレン、2-(アミノ) プリン、2, 4, 5-(トリメチル) フェニル、
 2'-メチル、2'-アミノ、2'-アジド、2'-フルオロ-シチジン、2'-メチル、2' 40
 アミノ、2'-アジド、2'-フルオロ-アデニン、2'-メチル、2'-アミノ、2'-アジ
 ド、2'-フルオロ-ウリジン、2'-アミノ-2'-デオキシリボース、2-アミノ-6-
 クロロ-プリン、2-アザ-イノシニル、2'-アジド-2'-デオキシリボース、2'-フ
 ルオロ-2'-デオキシリボース、2'-フルオロ-修飾塩基、2'-O-メチル-リボース
 、2-オキソ-7-アミノピリドピリミジン-3-イル、2-オキソ-ピリドピリミジン
 -3-イル、2-ピリジノン、3-ニトロピロール、3-(メチル)-7-(プロピニル
) イソカルボスチリリル、3-(メチル) イソカルボスチリリル、4-(フルオロ)-6
 -(メチル) ベンゾイミダゾール、4-(メチル) ベンゾイミダゾール、4-(メチル)
 インドリル、4, 6-(ジメチル) インドリル、5-ニトロインドール、5置換ピリミジ
 ン、5-(メチル) イソカルボスチリリル、5-ニトロインドール、6-(アザ) ピリミ
 ジン、6-(アゾ) チミン、6-(メチル)-7-(アザ) インドリル、6-クロロ-プ
 リン、6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-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)-フェノチアジン-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
 ザ) インドリル、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-(アザ)-2-(チオ)-3-(アザ)-フェノチアジン-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)-フェノチアジン-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-(プロピニル) 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、7-デアザ-イノシニル、
 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)-フェノキサジン-1-イル、9-(メチル)
 -イミジゾピリジニル、アミノインドリル、アントラセニル、ビス-オルト-(アミノ
 アルキルヒドロキシ)-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル、ビス-
 オルト-置換-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル、ジフルオロト
 リル、ヒポキサンチン、イミジゾピリジニル、イノシニル、イソカルボスチリリル、イソ
 グアニシン (I s o g u a n i s i n e)、N2-置換プリン、N6-メチル-2-アミ
 ノ-プリン、N6-置換プリン、N-アルキル化誘導体、ナフタレニル、ニトロベンゾイ
 ミダゾリル、ニトロイミダゾリル、ニトロインダゾリル、ニトロピラゾリル、ヌブラリン
 (N u b u l a r i n e)、O6-置換プリン、O-アルキル化誘導体、オルト-(アミ
 ノアルキルヒドロキシ)-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル、オル
 ト-置換-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル、オキソホルミシン

20

30

40

50

TP、パラ（アミノアルキルヒドロキシ）-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル、パラ置換-6-フェニル-ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル、ペンタセニル、フェナントラセニル、フェニル、プロピニル-7-（アザ）インドリル、ピレニル、ピリドピリミジン-3-イル、ピリドピリミジン-3-イル、2-オキソ-7-アミノ-ピリドピリミジン-3-イル、ピロロ-ピリミジン-2-オン-3-イル、ピロロピリミジニル、ピロロピリジニル、スチルベンジル、置換1, 2, 4-トリアゾール、テトラセニル、ツベルシジン、キサントシン-5'-TP、2-チオ-ゼブラリン、5-アザ-2-チオ-ゼブラリン、7-デアザ-2-アミノ-プリン、ピリジン-4-オンリボヌクレオシド、2-アミノ-リボシド-TP、ホルミシンATP、ホルミシンB TP、ピロロシンTP、2'-OH-アラ-アデノシンTP、2'-OH-アラ-シチジンTP、2'-OH-アラ-ウリジンTP、2'-OH-アラ-グアノシンTP、5-（2-カルボメトキシピニル）ウリジンTP、及びN6-（19-アミノ-ペンタオキサノナデシル）アデノシンTP。

【0250】

いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、前述の修飾核酸塩基のうちの少なくとも2つ（例えば、2つ、3つ、4つまたはそれ以上）の組み合わせを含む。

【0251】

いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）中の修飾核酸塩基は、プソイドウリジン（ψ）、N1-メチルプソイドウリジン（m1ψ）、N1-エチルプソイドウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、2-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、2-チオ-5-アザ-ウリジン、2-チオ-ジヒドロプソイドウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-プソイドウリジン、4-メトキシ-2-チオ-プソイドウリジン、4-メトキシ-プソイドウリジン、4-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、4-チオ-プソイドウリジン、5-アザ-ウリジン、ジヒドロプソイドウリジン、5-メチルウリジン）、5-メトキシウリジン及び2'-O-メチルウリジンからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、前述の修飾核酸塩基のうちの少なくとも2つ（例えば、2つ、3つ、4つまたはそれ以上）の組み合わせを含む。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0252】

いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）中の修飾核酸塩基は、1-メチル-プソイドウリジン（m1ψ）、5-メトキシ-ウリジン（m5U）、5-メチル-シチジン（m5C）、プソイドウリジン（ψ）、α-チオ-グアノシン及びα-チオ-アデノシンからなる群から選択される。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチドは、前述の修飾核酸塩基のうちの少なくとも2つ（例えば、2つ、3つ、4つまたはそれ以上）の組み合わせを含む。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0253】

いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、プソイドウリジン（ψ）及び5-メチル-シチジン（m5C）を含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、1-メチル-プソイドウリジン（m1ψ）を含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、1-メチル-プソイドウリジン（m1ψ）及び5-メチル-シチジン（m5C）を含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、2-チオウリジン（s2U）を含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオ

10

20

30

40

50

チド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、2-チオウリジン及び5-メチル-シチジン（m5C）を含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、メトキシ-ウリジン（mo5U）を含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、5-メトキシ-ウリジン（mo5U）及び5-メチル-シチジン（m5C）を含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、2'-O-メチルウリジンを含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、2'-O-メチルウリジン及び5-メチル-シチジン（m5C）を含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、N6-メチル-アデノシン（m6A）を含む。いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、N6-メチル-アデノシン（m6A）及び5-メチル-シチジン（m5C）を含む。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0254】

いくつかの実施形態では、該ポリヌクレオチド（例えば、RNAポリヌクレオチド、例えば、mRNAポリヌクレオチド）は、特定の修飾について均一に修飾される（例えば、完全に修飾される、すなわち、全配列を通して修飾される）。例えば、ポリヌクレオチドは、5-メチル-シチジン（m5C）で均一に修飾され得る。つまり、当該mRNA配列のすべてのシトシン残基が5-メチル-シチジン（m5C）で置き換えられる。同様に、ポリヌクレオチドは、上記のいずれかの修飾残基で置き換えることにより、当該配列に存在する任意のタイプのヌクレオシド残基に関して均一に修飾され得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0255】

いくつかの実施形態では、該修飾核酸塩基は、修飾シトシンである。修飾シトシンを有する核酸塩基及びヌクレオシドの例としては、N4-アセチル-シチジン（ac4C）、5-メチル-シチジン（m5C）、5-ハロ-シチジン（例えば、5-ヨード-シチジン）、5-ヒドロキシメチル-シチジン（hm5C）、1-メチル-プソイドイソシチジン、2-チオ-シチジン（s2C）、2-チオ-5-メチル-シチジンが挙げられる。

【0256】

いくつかの実施形態では、修飾核酸塩基は、修飾ウリジンである。修飾ウリジンを有する核酸塩基及びヌクレオシドの例としては、5-シアノウリジンまたは4'-チオウリジンが挙げられる。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0257】

いくつかの実施形態では、修飾核酸塩基は、修飾アデニンである。修飾アデニンを有する核酸塩基及びヌクレオシドの例としては、7-デアザ-アデニン、1-メチル-アデノシン（m1A）、2-メチル-アデニン（m2A）、N6-メチル-アデノシン（m6A）、及び2,6-ジアミノプリンが挙げられる。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0258】

いくつかの実施形態では、修飾核酸塩基は、修飾グアニンである。修飾グアニンを有する核酸塩基及びヌクレオシドの例としては、イノシン（I）、1-メチル-イノシン（m1I）、ワイオシン（imG）、メチルワイオシン（mimG）、7-デアザ-グアノシン、7-シアノ-7-デアザ-グアノシン（preQ0）、7-アミノメチル-7-デアザ-グアノシン（preQ1）、7-メチル-グアノシン（m7G）、1-メチル-グアノシン（m1G）、8-オキソ-グアノシン、7-メチル-8-オキソ-グアノシンが挙げられる。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0259】

いくつかの実施形態では、ポリヌクレオチドは、メッセンジャーRNA（mRNA）と

して機能する。「メッセンジャーRNA」(mRNA)は、(少なくとも1つの)ポリペプチド(アミノ酸の天然、非天然、または修飾ポリマー)をコードする任意のポリヌクレオチドを指し、インビトロ、インビボ、インサイチュまたはエキソビボで、コードされたポリペプチドを生成するために翻訳され得る。mRNA分子の主要成分としては、通常、少なくとも1つのコード領域、5'非翻訳領域(UTR)、3'UTR、5'キャップ、及びポリAテールが挙げられる。ポリヌクレオチドは、mRNAとして機能し得るが、核酸ベースの治療法を使用した効果的なポリペプチド発現の既存の問題を克服するのに役立つ機能的及び／または構造的設計特性において、野生型mRNAと区別され得る。

【0260】

本明細書に提供するmRNAは、少なくとも1つの目的のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有する少なくとも1つ(1つ以上)のリボ核酸(RNA)ポリヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、mRNAのRNAポリヌクレオチドは、2~10、2~9、2~8、2~7、2~6、2~5、2~4、2~3、3~10、3~9、3~8、3~7、3~6、3~5、3~4、4~10、4~9、4~8、4~7、4~6、4~5、5~10、5~9、5~8、5~7、5~6、6~10、6~9、6~8、6~7、7~10、7~9、7~8、8~10、8~9または9~10個のポリペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、mRNAのRNAポリヌクレオチドは、少なくとも10、20、30、40、50、60、70、80、90または100個のポリペプチドをコードする。いくつかの実施形態では、mRNAのRNAポリヌクレオチドは、少なくとも100個または少なくとも200個のポリペプチドをコードする。

【0261】

いくつかの実施形態では、該核酸は、治療用mRNAである。本明細書で使用される、「治療用mRNA」という用語は、治療用タンパク質をコードするmRNAを指す。治療用タンパク質は、疾患を治療したり、疾患の兆候や症状を改善したりするために、宿主細胞または対象における様々な効果を媒介する。例えば、治療用タンパク質は、欠損しているまたは異常なタンパク質を置き換える場合も、内因性タンパク質の機能を増強する場合も、細胞に新しい機能を与える(例えば、内因性細胞活性を阻害または活性化する場合も、別の治療用化合物のための送達剤として作用する場合もある(例えば、抗体薬物複合体)。治療用mRNAは、以下の疾患及び状態の治療に有用であり得る：細菌感染症、ウイルス感染症、寄生虫感染症、細胞増殖障害、遺伝性疾患、及び自己免疫疾患。

【0262】

従って、本発明の構造は、治療薬としても使用される場合もあれば、予防薬としても使用される場合もある。それらを医薬で用いるために提供する。例えば、本明細書に記載の構造のmRNAは、対象に投与することができ、そこで、該ポリヌクレオチドは、インビボで翻訳され、治療用ペプチドを産生する。ヒト及び他の哺乳類の疾患または状態の診断、治療または予防のための組成物、方法、キット、及び試薬を提供する。本発明の活性治療薬としては、構造、構造を含む細胞、または該構造に含まれるポリヌクレオチドから翻訳されるポリペプチドが挙げられる。

【0263】

該構造は、細胞、組織または生物における翻訳のために誘導され得る。かかる翻訳は、インビボでも、エキソビボでも、培養中でも、インビトロでもよい。該細胞、組織または生物は、各々がペプチドをコードする少なくとも1つの翻訳可能領域を有するmRNAポリヌクレオチドを含む構造を含む組成物の有効量と接触される。

【0264】

該構造の「有効量」は、少なくとも部分的に、標的組織、標的細胞タイプ、投与手段、ポリヌクレオチドの物理的特性(例えば、サイズ、及び修飾ヌクレオシドの程度)ならびに該核酸の他の成分、ならびに他の決定要因に基づいて提供される。一般に、該核酸の有効量は、細胞内でペプチド産生を誘導または強化する。

【0265】

本発明のmRNAは、生物製剤、抗体、ワクチン、治療用タンパク質もしくはペプチド

、細胞浸透性ペプチド、分泌タンパク質、原形質膜タンパク質、細胞質もしくは細胞骨格タンパク質、細胞内膜結合タンパク質、核タンパク質、ヒト疾患に関連するタンパク質、標的化部分または治療指標が特定されていないが研究及び発見の分野で有用性があるヒトゲノムによってコードされるタンパク質が挙げられるがこれらに限定されないいくつかの標的カテゴリーのいずれかから選択される目的のポリペプチドをコードするように設計され得る。「治療用タンパク質」とは、細胞に投与された場合に、治療的、診断的、及び／または予防的効果を有し、及び／または所望の生物学的及び／または薬理学的効果を誘発するタンパク質を指す。

【0266】

本明細書に開示するmRNAは、1つ以上の生物製剤をコードし得る。本明細書で使用される、「生物製剤」は、本明細書に提供する方法によって生成されるポリペプチド系の分子であり、重篤なまたは生命を脅かす疾患または病状を治療、治癒、軽減、予防、または診断するために使用され得る。生物製剤としては、本発明によれば、アレルゲンエキス（例えば、アレルギー注射及び検査用）、血液成分、遺伝子治療薬、移植に使用されるヒト組織または細胞生産物、ワクチン、モノクローナル抗体、サイトカイン、成長因子、酵素、血栓溶解剤、及び免疫調節剤がとりわけ挙げられるが、これらに限定されない。

【0267】

本発明によれば、現在販売されている、または開発中の1つ以上の生物製剤は、本発明のmRNAによってコードされ得る。理論に拘束されることを望むものではないが、既知の生物製剤のコード化ポリヌクレオチドを本発明のmRNAに組み込むことは、少なくとも部分的に、構築物の設計の特異性、純度及び／または選択性により、治療効果を改善する。

【0268】

本明細書に開示するmRNAは、1つ以上の抗体またはその断片をコードし得る。「抗体」という用語は、モノクローナル抗体（免疫グロブリンFc領域を有する完全長抗体を含む）、ポリエピトープ特異性を有する抗体組成物、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体、ダイアボディ、一本鎖分子）、ならびに抗体断片を含む。「免疫グロブリン」（Ig）という用語は、本明細書では「抗体」と同義で使用される。本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体集団から得られる抗体を指す。すなわち、該集団を構成する個々の抗体は、微量で存在する可能性のある自然発生する変異及び／または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）を除いて同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原部位に対する。

【0269】

本明細書におけるモノクローナル抗体は特に、重鎖及び／または軽鎖の一部が、特定の種由来の抗体、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または相同である一方、当該鎖（複数可）の残部が、別の種由来の抗体、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または相同である「キメラ」抗体（免疫グロブリン）、ならびに、所望の生物活性を示す限り、かかる抗体の断片を含む。本明細書における目的のキメラ抗体としては、非ヒト霊長類（例えば、旧世界ザル、サル等）由来の可変ドメインの抗原結合配列及びヒト定常領域の配列を含む「霊長類化」抗体が挙げられるが、これに限定されない。

【0270】

「抗体断片」は、無傷の抗体の一部、好ましくは、無傷の抗体の抗原結合及び／または可変領域を含む。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片、ダイアボディ、線状抗体、ナノボディ、一本鎖抗体分子及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられる。

【0271】

免疫グロブリンの5つのクラス、すなわち、IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMのいずれかは、本発明のmRNAによってコードされる場合があり、それぞれ、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ及びミューに指定される重鎖を含む。同様に含まれるの

10

20

30

40

50

は、サブクラスであるガンマ及びミューをコードするポリヌクレオチド配列である。従って、抗体のサブクラスのいずれかは、部分的に、または全体的にコードされる場合があり、以下のサブクラスを含む：I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1 及び I g A 2。本発明によれば、現在販売されている、または開発中の1つ以上の抗体もしくは断片は、本発明のmRNAによってコードされ得る。

【0272】

本発明のmRNAにおいてコードされる抗体は、血液、心臓血管、CNS、中毒（抗毒素を含む）、皮膚病、内分泌、胃腸、医用画像、筋骨格、腫瘍、免疫、呼吸、感覚、及び抗感染等であるがこれらに限定されない多くの治療分野における状態または疾患を治療するために使用され得る。

【0273】

1つの実施形態では、本明細書に開示するmRNAは、モノクローナル抗体及び／またはそのバリエーションをコードし得る。抗体のバリエーションとしては、置換型バリエーション、保存アミノ酸置換、挿入バリエーション、欠失バリエーション及び／または共有結合性誘導体を挙げることができるが、これらに限定されない。1つの実施形態では、本明細書に開示するmRNAは、免疫グロブリンFc領域をコードし得る。別の実施形態では、該mRNAは、バリエーションの免疫グロブリンFc領域をコードし得る。

【0274】

本明細書に開示するmRNAは、1つ以上のワクチン抗原をコードし得る。本明細書で使用される、「ワクチン抗原」は、特定の疾患または感染性因子に対する免疫を改良する生物学的製剤である。本発明によれば、現在販売されている、または開発中の1つ以上のワクチン抗原は、本発明のmRNAによってコードされ得る。本発明のmRNAにおいてコードされるワクチン抗原は、がん、アレルギー、及び感染性疾患等であるがこれらに限定されない多くの治療分野における状態または疾患の治療に使用され得る。

【0275】

本発明のmRNAは、1つ以上の抗菌性ペプチド（AMP）または抗ウイルス性ペプチド（AVP）をコードするように設計され得る。AMP及びAVPは、微生物、無脊椎動物、植物、両生類、鳥類、魚類、及び哺乳類等であるがこれらに限定されない広範囲の動物から単離され、特徴づけられている。本明細書に記載の抗菌性ポリペプチドは、細胞融合及び／または1つ以上のエンベロープウイルス（例えば、HIV、HCV）によるウイルスの進入を遮断し得る。例えば、該抗菌性ポリペプチドは、領域、例えば、ウイルスエンベロープ・タンパク質の膜貫通サブユニット、例えば、HIV-1 gp120またはgp41の少なくとも約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、または60アミノ酸の連続配列に対応する合成ペプチドを含んでも、これらであってもよい。HIV-1 gp120またはgp41のアミノ酸及びヌクレオチド配列は、例えば、Kuiken et al., (2008). "HIV Sequence Compendium," Los Alamos National Laboratoryに記載されている。

【0276】

いくつかの実施形態では、該抗菌性ポリペプチドは、対応するウイルスタンパク質配列に対して少なくとも約75%、80%、85%、90%、95%、100%の配列相同性を有し得る。いくつかの実施形態では、該抗菌性ポリペプチドは、対応するウイルスタンパク質配列に対して少なくとも約75%、80%、85%、90%、95%、または100%の配列相同性を有し得る。

【0277】

他の実施形態では、該抗菌性ポリペプチドは、領域、例えば、カプシド結合タンパク質の結合ドメインの少なくとも約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、または60アミノ酸の連続配列に対応する合成ペプチドを含んでも、これらであってもよい。いくつかの実施形態では、該抗菌性ポリペプチドは、該カプシド結合タンパク質の対応する配列に対して、少なくとも約75%、80%、85%、90%、95

10

20

30

40

50

%、または100%の配列相同性を有し得る。

【0278】

本明細書に記載の抗菌性ポリペプチドは、プロテアーゼ二量体化を遮断し、機能タンパク質へのウイルスプロタンパク質の開裂（例えば、HIV Gag-pol プロセッシング）を阻害する場合があります、それにより、1つ以上のエンベロープウイルス（例えば、HIV、HCV）の放出を防ぐ。いくつかの実施形態では、該抗菌性ポリペプチドは、対応するウイルスタンパク質配列に対して少なくとも約75%、80%、85%、90%、95%、100%の配列相同性を有し得る。

【0279】

他の実施形態では、該抗菌性ポリペプチドは、領域、例えば、プロテアーゼ結合タンパク質の結合ドメインの少なくとも約5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、または60アミノ酸の連続配列に対応する合成ペプチドを含んでも、これからなってもよい。いくつかの実施形態では、該抗菌性ポリペプチドは、該プロテアーゼ結合タンパク質の対応する配列に対して、少なくとも約75%、80%、85%、90%、95%、100%の配列相同性を有し得る。

【0280】

該mRNAワクチン抗原または抗菌性ポリペプチドが治療し得る感染性疾患の非限定的なリストを以下に示す：ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、マイコバクテリア感染症につながるHIV、エイズ関連悪液質、エイズ関連サイトメガロウイルス感染症、HIV関連腎症、リポジストロフィー、エイズ関連クリプトコッカス髄膜炎、エイズ関連好中球減少症、Pneumocystis jirovecii (Pneumocystis carinii) 感染症、エイズ関連トキソプラズマ症、A、B、C、D、もしくはE型肝炎、ヘルペス、带状疱疹（水痘）、風疹（風疹ウイルス）、黄熱病、デング熱等（フラビウイルス）、流感（インフルエンザウイルス）、出血性感染症（マールブルグもしくはエボラウイルス）、細菌感染症、例えば、レジオネラ症（Legionella）、胃潰瘍（Helicobacter）、コレラ（Vibrio）、E. coli 感染症、ブドウ球菌感染症、サルモネラ感染症もしくは連鎖球菌感染症、破傷風（Clostridium tetani）、原虫感染症（マラリア、睡眠病、リーシュマニア症、トキソプラズマ症、すなわち、マラリア原虫、トリパノソーマ、リーシュマニア、及びトキソプラズマによって引き起こされる感染症）、ジフテリア、ハンセン病、麻疹、百日咳、狂犬病、破傷風、結核、腸チフス、水痘、下痢性感染症、例えば、アメーバ症、Clostridium difficile 関連の下痢（CDAD）、クリプトスポリジア症、ランブル鞭毛虫症、サイクロスポーラ症及び口タウイルス胃腸炎、脳炎、例えば、日本脳炎、西部ウマ脳炎及びダニ媒介脳炎（TBE）、真菌性皮膚疾患、例えば、カンジダ症、爪真菌症、頭部白癬／頭皮白癬、体白癬／体部白癬、頑癬／いんきんたむし、スポロトリクム症及び足白癬／水虫、髄膜炎、例えば、Haemophilus influenza b 型（Hib）、髄膜炎、ウイルス、髄膜炎菌感染症及び肺炎球菌感染症、顧みられない熱帯病、例えば、アルゼンチン出血熱、リーシュマニア症、線虫／回虫感染症、ロスリバーウイルス感染症及び西ナイルウイルス（WNV）疾患、非HIV STD、例えば、トリコモナス症、ヒトパピローマウイルス（HPV）感染症、性行為感染クラミジア症、軟性下疳及び梅毒、非腐敗性細菌感染症、例えば、蜂巣炎、ライム病、MRSA 感染症、シュドモナス、ブドウ球菌感染症、ボタン熱、レプトスピラ症、リウマチ熱、ボツリヌス中毒症、リケッチア病及び乳様突起炎、寄生虫感染症、例えば、囊虫症、エキノコックス症、吸虫／ジストマ感染症、旋毛虫症、バベシア症、ハイポデルマ症、裂頭条虫症及びトリパノソーマ症、呼吸器感染症、例えば、アデノウイルス感染症、アスペルギルス感染症、トリ（H5N1）インフルエンザ、インフルエンザ、RSV 感染症、重症急性呼吸器症候群（SARS）、副鼻腔炎、レジオネラ症、コクシジオイデス症及びブタ（H1N1）インフルエンザ、敗血症、例えば、菌血症、敗血症／敗血症性ショック、未熟児における敗血症、尿路感染症、例えば、膣感染症（細菌性）、膣感染症（真菌性）及び淋菌感染症、ウイルス性皮膚疾患、例えば、B19 パルボウイルス感染症、イボ、性器ヘルペス、口腔顔面ヘルペス

10

20

30

40

50

、帯状疱疹、内耳感染症、胎児サイトメガロウイルス症候群、食品由来疾病、例えば、ブルセラ症 (*Brucella* 種)、*Clostridium perfringens* (イブシロントキシン)、*E. coli* O157:H7 (*Escherichia coli*)、サルモネラ症 (*Salmonella* 種)、細菌性赤痢 (*Shingella*)、ビブリオ症及びリステリア症、バイオテロリズム及び潜在的流行病、例えばエボラ出血熱、ラッサ熱、マールブルグ出血熱、ペスト、炭疽ニパウイルス病、ハンタウイルス、天然痘、鼻疽 (*Burkholderia mallei*)、類鼻疽 (*Burkholderia pseudomallei*)、オウム病 (*Chlamydia psittaci*)、Q熱 (*Coxiella burnetii*)、野兔病 (*Fancisella tularensis*)、風疹、おたふく風邪ならびにポリオ。

10

【0281】

本明細書に開示する mRNA は、1つ以上の有効性が認められた、もしくは「試験中の」治療用タンパク質またはペプチドをコードし得る。本発明によれば、現在販売されている、または開発中の1つ以上の治療用タンパク質またはペプチドは、本発明の mRNA によってコードされ得る。本発明の mRNA においてコードされる治療用タンパク質及びペプチドは、血液、心臓血管、CNS、中毒（抗毒素を含む）、皮膚病、内分泌、遺伝、尿生殖器、胃腸、筋骨格、腫瘍、及び免疫、呼吸、感覚ならびに抗感染等であるがこれらに限定されない多くの治療分野における状態または疾患を治療するために使用され得る。

【0282】

本明細書に開示する mRNA は、1つ以上の細胞透過性ポリペプチドをコードし得る。本明細書で使用される、「細胞透過性ポリペプチド」または CPP は、分子の細胞取り込みを促進し得るポリペプチドを指す。本発明の細胞透過性ポリペプチドは、1つ以上の検出可能な標識を含んでもよい。該ポリペプチドは、部分的に標識されてもよいし、全体にわたって完全に標識されてもよい。該 mRNA は、該検出可能な標識を完全にまたは部分的にコードする場合もあれば、全くコードしない場合もある。該細胞透過性ペプチドはまた、シグナル配列を含んでもよい。本明細書で使用される、「シグナル配列」とは、タンパク質翻訳の過程で新生タンパク質のアミノ末端で結合するアミノ酸残基の配列を指す。該シグナル配列は、該細胞透過性ポリペプチドの分泌をシグナル伝達するために使用され得る。

20

【0283】

1つの実施形態では、該 mRNA はまた、融合タンパク質をコードし得る。該融合タンパク質は、荷電タンパク質を治療用タンパク質に作動可能に連結することによって創出され得る。本明細書で使用される、「作動可能に連結される」とは、該治療用タンパク質及び該荷電タンパク質が、細胞に導入された際に該複合体の発現を可能にする方法で接続されることを指す。本明細書で使用される、「荷電タンパク質」は、正、負、または全体として中性の電荷を有するタンパク質を指す。好ましくは、該治療用タンパク質は、融合タンパク質の形成において、該荷電タンパク質に共有結合され得る。表面電荷の合計または表面アミノ酸に対する比は、およそ 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、または 0.9 でよい。

30

【0284】

該 mRNA によってコードされる細胞透過性ポリペプチドは、翻訳後に複合体を形成し得る。該複合体は、該細胞透過性ポリペプチドに連結された、例えば、共有結合された荷電タンパク質を含み得る。

40

【0285】

1つの実施形態では、該細胞透過性ポリペプチドは、第一のドメイン及び第二のドメインを含み得る。該第一のドメインは、過荷電ポリペプチドを含み得る。該第二のドメインは、タンパク質結合パートナーを含み得る。本明細書で使用される、「タンパク質結合パートナー」としては、抗体及びその機能的断片、骨格タンパク質、またはペプチドが挙げられるがこれに限定されない。該細胞透過性ポリペプチドはさらに、該タンパク質結合パートナーのための細胞内結合パートナーを含み得る。該細胞透過性ポリペプチドは、該 m

50

R N Aが導入され得る細胞から分泌可能であり得る。該細胞透過性ポリペプチドはまた、該第一の細胞を透過することが可能であり得る。

【0286】

1つの実施形態では、該mRNAは、タンパク質結合パートナーを含み得る細胞透過性ポリペプチドをコードし得る。該タンパク質結合パートナーとしては、抗体、過荷電抗体または機能的断片を挙げることができるがこれに限定されない。該mRNAは、該タンパク質結合パートナーを含む細胞透過性ポリペプチドが導入される細胞に導入され得る。

【0287】

本開示のいくつかの実施形態は、少なくとも1つの抗原性ポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームを有する少なくとも1つのリボ核酸(RNA)ポリヌクレオチドを含む治療用mRNAを提供し、該RNAのRNAポリヌクレオチドは、少なくとも1つの化学的修飾を含む。いくつかの実施形態では、該化学的修飾は、プソイドウリジン、N1-メチルプソイドウリジン(m1ψ)、N1-エチルプソイドウリジン、2-チオウリジン、4'-チオウリジン、5-メチルシトシン、2-チオ-1-メチル-1-デアザ-プソイドウリジン、2-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、2-チオ-5-アザウリジン、2-チオ-ジヒドロプソイドウリジン、2-チオ-ジヒドロウリジン、2-チオ-プソイドウリジン、4-メトキシ-2-チオ-プソイドウリジン、4-メトキシ-プソイドウリジン、4-チオ-1-メチル-プソイドウリジン、4-チオ-プソイドウリジン、5-アザウリジン、ジヒドロプソイドウリジン、5-メチルウリジン、5-メトキシウリジン、及び2'-O-メチルウリジンから選択される。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0288】

本開示の前述のポリヌクレオチドのいずれかは、いくつかの実施形態では、コドン最適化される。コドン最適化方法は、当技術分野で知られており、本明細書に示す通りに使用され得る。コドン最適化は、いくつかの実施形態では、標的及び宿主有機体におけるコドン頻度を一致させ、適切な折り畳みを確保するため、GC含量にバイアスをかけてmRNAの安定性を高め、もしくは二次構造を低減するため、遺伝子構成もしくは発現を損ない得るタンデムリピートコドンもしくは塩基の連続を最小にするため、転写及び翻訳調節領域をカスタマイズするため、タンパク質輸送配列を挿入もしくは除去するため、コードされるタンパク質の翻訳後修飾部位(例えば、グリコシル化部位)を除去/付加するため、タンパク質ドメインを付加、除去、もしくは入れ替えるため、制限酵素認識部位を挿入もしくは削除するため、リボソーム結合部位及びmRNA分解部位を修飾するため、翻訳速度を調節し、タンパク質の様々なドメインを正確に折り畳むため、または、該ポリヌクレオチド内の問題のある二次構造を低減もしくは取り除くために使用され得る。コドン最適化ツール、アルゴリズム及びサービスは、当技術分野で知られており、非限定的な例としては、GeneArt(Life Technologies)、DNA2.0(Menlo Park CA)からのサービス、及び/または独自方法が挙げられる。いくつかの実施形態では、該オープンリーディングフレーム(ORF)配列は、最適化アルゴリズムを用いて最適化される。

【0289】

いくつかの実施形態では、コドン最適化配列は、自然発生または野生型配列(例えば、目的のポリペプチドもしくはタンパク質(例えば、抗原タンパク質もしくはポリペプチド)をコードする自然発生または野生型mRNA配列)に対して95%未満の配列同一性を共有する。いくつかの実施形態では、コドン最適化配列は、自然発生または野生型配列(例えば、目的のポリペプチドもしくはタンパク質(例えば、抗原タンパク質もしくはポリペプチド)をコードする自然発生または野生型mRNA配列)に対して90%未満の配列同一性を共有する。いくつかの実施形態では、コドン最適化配列は、自然発生または野生型配列(例えば、目的のポリペプチドもしくはタンパク質(例えば、抗原タンパク質もしくはポリペプチド)をコードする自然発生または野生型mRNA配列)に対して85%未満の配列同一性を共有する。いくつかの実施形態では、コドン最適化配列は、自然発生ま

たは野生型配列（例えば、目的のポリペプチドもしくはタンパク質（例えば、抗原タンパク質もしくはポリペプチド）をコードする自然発生または野生型mRNA配列）に対して80%未満の配列同一性を共有する。いくつかの実施形態では、コドン最適化配列は、自然発生または野生型配列（例えば、目的のポリペプチドもしくはタンパク質（例えば、抗原タンパク質もしくはポリペプチド）をコードする自然発生または野生型mRNA配列）に対して75%未満の配列同一性を共有する。

【0290】

いくつかの実施形態では、コドン最適化配列は、自然発生または野生型配列（例えば、目的のポリペプチドもしくはタンパク質（例えば、抗原タンパク質もしくはポリペプチド）をコードする自然発生または野生型mRNA配列）に対して65%～85%（例えば、約67%～約85%もしくは約67%～約80%）の配列同一性を共有する。いくつかの実施形態では、コドン最適化配列は、自然発生または野生型配列（例えば、目的のポリペプチドもしくはタンパク質（例えば、抗原タンパク質もしくはポリペプチド）をコードする自然発生または野生型mRNA配列）に対して65%～75または約80%の配列同一性を共有する。

【0291】

いくつかの実施形態では、コドン最適化RNAは、例えば、G/Cレベルが高められたものでよい。核酸分子のG/C含量は、RNAの安定性に影響を与え得る。グアニン（G）及び／またはシトシン（C）残基の量が増加したRNAは、大量のアデニン（A）及びチミン（T）またはウラシル（U）ヌクレオチドを含む核酸より機能的に安定であり得る。WO02/098443は、翻訳領域における配列の修飾によって安定化されたmRNAを含む医薬組成物を開示している。遺伝暗号の縮退のため、該修飾は、得られるアミノ酸を変更することなくRNAの安定性をさらに高めるものに既存のコドンを置換することによって機能する。該方法は、該RNAのコード領域に限定される。

【0292】

本明細書で使用される、ポリペプチドに言及する場合のアミノ酸系の実施形態に関して「部位」という用語は、「アミノ酸残基」及び「アミノ酸側鎖」と同意語として用いられる。本明細書で使用される、ポリヌクレオチドに言及する場合のヌクレオチド系の実施形態に関して「部位」という用語は、「ヌクレオチド」と同意語として用いられる。ある部位は、当該ポリペプチドもしくはポリヌクレオチド系分子内で修飾、操作、変更、誘導体化、または変化され得るペプチド、もしくはポリペプチド、またはポリヌクレオチド内の位置を表す。

【0293】

本明細書で使用される、ポリペプチドもしくはポリヌクレオチドを指す場合の「末端（termini）」または「末端（terminus）」という用語は、それぞれ、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドの端を指す。かかる端は、該ポリペプチドもしくはポリヌクレオチドの最初または最後の部位のみに限定されず、当該末端領域の追加のアミノ酸またはヌクレオチドも含み得る。ポリペプチド系分子は、N末端（遊離のアミノ基（NH₂）を備えたアミノ酸で終端される）及びC末端（遊離のカルボキシル基（COOH）を備えたアミノ酸で終端される）の両方を有することを特徴とし得る。タンパク質は、いくつかの場合では、ジスルフィド結合によって、または非共有結合力によって一緒にされた複数のポリペプチド鎖で構成される（マルチマー、オリゴマー）。これらのタンパク質は、複数のN及びC末端を有する。代替的に、ポリペプチドの末端は、それらが場合によっては、非ポリペプチド系部分、例えば、有機コンジュゲートで開始または終端するように修飾され得る。

【0294】

当業者には認められるように、タンパク質断片、機能タンパク質ドメイン、及び相同タンパク質もまた、目的のポリペプチドの範囲内であると見なされる。例えば、本明細書に提供するのは、アミノ酸長が10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、または100を超える、比較タンパク質の任意のタンパク質断片（比較ポリペプ

10

20

30

40

50

チド配列より少なくとも1アミノ酸残基短いがそれ以外は同一であるポリペプチド配列を意味する)である。別の例では、本明細書に記載の配列のいずれかに対して40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、または100%同一の20、30、40、50、または100アミノ酸のストレッチを含む任意のタンパク質を、本開示に従って使用することができる。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、本明細書に提供するまたは参照する配列のいずれかに示す通り、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超える突然変異を含む。別の例では、本明細書に記載の配列のいずれかに対して80%超、90%、95%、または100%同一の20、30、40、50、または100アミノ酸のストレッチを含む任意のタンパク質であって、本明細書に記載の配列のいずれかに対して80%、75%、70%、65%、または60%未満同一の5、10、15、20、25、または30アミノ酸のストレッチを有するタンパク質を本開示に従って使用することができる。

【0295】

本開示において有用なポリペプチドまたはポリヌクレオチド分子は、比較分子(例えば、比較ポリペプチドまたは比較ポリヌクレオチド)と、例えば、当技術分野において記載されている分子(例えば、人工的に作り出されるまたは設計される分子または野生型分子)と、ある特定の配列相同性または同一性を共有し得る。当技術分野で知られる「同一性」という用語は、2つ以上のポリペプチドまたはポリヌクレオチドの配列間の関係を指し、該配列を比較して決定される。当技術分野では、同一性はまた、それらの間の配列相関性の程度も意味し、2つ以上のアミノ酸残基または核酸残基のストリング間の一致数によって決定される。同一性は、特定の数学的モデルまたはコンピュータプログラム(例えば、「アルゴリズム」)によって対処される、ギャップアラインメント(もしあれば)を有する2つ以上の配列の小さい方の間の完全な一致のパーセントを測定する。関連するペプチドの同一性は、既知の方法で容易に計算することができる。ポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列に適用される「%同一性」は、当該配列を整列させ、必要に応じてギャップを導入して最大パーセント同一性を達成した後の第二の配列のアミノ酸配列または核酸配列における残基と同一の、アミノ酸または核酸の候補配列における残基(アミノ酸残基または核酸残基)のパーセンテージと定義される。該アラインメントのための方法及びコンピュータプログラムは、当技術分野で周知である。同一性は、パーセント同一性の計算に依存するが、該計算に導入されるギャップ及びペナルティによって値が異なり得ることが理解される。一般に、特定のポリヌクレオチドまたはポリペプチドのバリエーションは、特定の比較ポリヌクレオチドまたはポリペプチドに対して、本明細書に記載の当業者に知られる配列アラインメントプログラム及びパラメータによって決定される、少なくとも40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%であるが100%未満の配列同一性を有する。かかるアラインメント用のツールとしては、BLASTスイート(Stephen F. Altschul, et al (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402)のものが挙げられる。別のよく知られたローカルアラインメント技術は、Smith-Waterman algorithm (Smith, T. F. & Waterman, M. S. (1981) "Identification of common molecular subsequences." J. Mol. Biol. 147:195-197)を基にしている。動的計画法に基づく一般的なグローバルアラインメント技術は、Needleman-Wunschアルゴリズム(Needleman, S. B. & Wunsch, C. D. (1970) "A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequences of two proteins." J. Mol. Biol. 48:443-453.)である。さらに最近では、Fast Optimal Global Sequence A

10

20

30

40

50

L i g n m e n t A l g o r i t h m (F O G S A A) が開発され、これは、その称するところでは、Needleman-Wunschアルゴリズムを含めた他の最適グローバルアラインメント法よりも速く、ヌクレオチド及びタンパク質配列のグローバルアラインメントを生じる。他のツールは、とりわけ以下の「同一性」の定義において、本明細書に記載する。

【0296】

本明細書で使用される、「相同性」という用語は、ポリマー分子間、例えば、核酸分子（例えば、DNA分子及び／またはRNA分子）間及び／またはポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。一致する残基のアラインメントによって決定される類似性または同一性の閾値を共有するポリマー分子（例えば、核酸分子（例えば、DNA分子及び／またはRNA分子）及び／またはポリペプチド分子）を相同と呼ぶ。相同性は、分子間の関係を示す定性的な用語であり、定量的な類似性または同一性を基にすることができる。類似性または同一性は、2つの比較配列間の配列の一致の程度を決める定量的な用語である。いくつかの実施形態では、ポリマー分子は、それらの配列が、少なくとも25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または99%同一または類似である場合に互いに「相同」と見なされる。「相同」という用語は、必然的に、少なくとも2つの配列（ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列）間の比較を指す。2つのポリヌクレオチド配列は、それらがコードするポリペプチドが、少なくとも20アミノ酸の少なくとも1つのストレッチについて、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、またはさらに99%である場合に相同と見なされる。いくつかの実施形態では、相同ポリヌクレオチド配列は、少なくとも4～5個の独自に特定されるアミノ酸のストレッチをコードする能力を特徴とする。60ヌクレオチド長未満のポリヌクレオチド配列については、相同性は、少なくとも4～5個の独自に特定されるアミノ酸のストレッチをコードする能力によって決定される。2つのタンパク質配列は、該タンパク質が、少なくとも20アミノ酸の少なくとも1つのストレッチについて、少なくとも50%、60%、70%、80%、または90%同一である場合に相同であると見なされる。

【0297】

相同性は、比較配列が共通の起源から進化中に枝分かれしたことを暗示する。「ホモログ」という用語は、共通の祖先配列からの系統が、第二のアミノ酸配列または核酸配列と関連する第一のアミノ酸配列または核酸配列（例えば、遺伝子（DNAもしくはRNA）またはタンパク質配列）を指す。「ホモログ」という用語は、種形成事象によって分離された遺伝子及び／またはタンパク質間の関係、または遺伝子複製事象によって分離された遺伝子及び／またはタンパク質間の関係に適用され得る。「オルソログ」は、種形成によって共通の祖先遺伝子（またはタンパク質）から進化した異なる種における遺伝子（またはタンパク質）である。通常、オルソログは、進化の過程で同じ機能を保持する。「パラログ」は、ゲノム内の複製によって関連付けられる遺伝子（またはタンパク質）である。オルソログは、進化の過程で同じ機能を保持するが、パラログは、たとえ本来の機能と関連していたとしても新たな機能を進化させる。

【0298】

「同一性」という用語は、ポリマー分子間、例えば、ポリヌクレオチド分子（例えば、DNA分子及び／またはRNA分子）間、及び／またはポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。DNA分子及び／またはRNA分子）間、及び／またはポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。2つのポリ核酸配列間のパーセント同一性の計算は、例えば、最適な比較目的のために2つの配列を整列させることによって行うことができる（例えば、最適アラインメントのためにギャップを第一及び第二の核酸配列の一方または両方に導入してもよいし、非同一配列を比較目的のために無視してもよい）。ある特定の実施形態では、比較目的のために整列させた配列の長さは、比較配列の長さの少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、または100%である。対応するヌク

レオチド位置でのヌクレオチドを次に比較する。第一の配列における位置が、第二の配列の対応する位置と同じヌクレオチドで占められている場合、該分子はその位置で同一である。2つの配列間のパーセント同一性は、ギャップ数、及び、該2つの配列の最適アラインメントのために導入される必要がある各ギャップの長さを考慮に入れて、該配列によって共有される同一位置の数の関数である。配列の比較及び2つの配列間のパーセント同一性の決定は、数学的アルゴリズムを用いて達成することができる。例えば、2つの核酸配列間のパーセント同一性は、各々が参照することにより本明細書に組み込まれる、Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988、Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993、Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987、Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994、及びSequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991に記載のもの等の方法を用いて決定することができる。例えば、2つの核酸配列間のパーセント同一性は、PAM120重み付け残基表、ギャップ長ペナルティ12及びギャップペナルティ4を用いたALIGNプログラム（バージョン2.0）に組み込まれた、Meyers及びMillerのアルゴリズム（CABIOS, 1989, 4:11-17）を用いて決定することができる。2つの核酸配列間のパーセント同一性は、代替的に、NWSgapdna.CMPマトリックスを用いたGCGソフトウェアパッケージのGAPプログラムを用いて決定することができる。配列間のパーセント同一性を決定するために一般的に使用される方法としては、参照することにより本明細書に組み込まれる、Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J Applied Math., 48:1073 (1988)に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されない。同一性を決定するための技術は、公開されているコンピュータプログラムに体系化されている。2つの配列間の相同性を決定するための例示的なコンピュータソフトウェアとしては、GCGプログラムパッケージ、Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12 (1), 387 (1984)、BLASTP、BLASTN、及びFASTA Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215, 403 (1990)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0299】

免疫調節剤は、免疫賦活剤でも免疫抑制剤でもよい。免疫賦活剤は、単独であるか別の薬剤との併用であるかにかかわらず、それが投与される対象において免疫応答を刺激する（既存の免疫応答を高めることを含む）薬剤である。例としては、抗原、アジュバント（例えば、TLRリガンド、例えば、イミキモド、イミダゾキノリン、非メチル化CpGジヌクレオチドを含む核酸、モノホスホリルリポドAまたは他のリポ多糖誘導体、一本鎖または二本鎖RNA、フラジェリン、ムラミルジペプチド）、インターロイキン（例えば、IL-2、IL-7、IL-15（もしくはこれらサイトカインのスーパーアゴニスト／変異型）、IL-12、IFN-ガンマ、IFN-アルファ、GM-CSF、FLT3リガンド等）を含めたサイトカイン、免疫賦活抗体（例えば、抗CTLA-4、抗CD28、抗CD3、もしくはこれら分子の一本鎖／抗体断片）等が挙げられる。

【0300】

免疫抑制剤は、単独であるか別の薬剤との併用であるかにかかわらず、それが投与される対象において免疫応答を阻害する薬剤である。例としては、ステロイド、レチノイン酸、デキサメタゾン、シクロホスファミド、抗CD3抗体または抗体断片、及び他の免疫抑制剤が挙げられる。

【0301】

アジュバントは、免疫応答を高める薬剤である。該アジュバントは、制限なく、ミョウバン（例えば、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム）、QS21等のQ.saponariaの木の樹皮から精製されるサポニン（HPLC分別による21番目のピークに溶出する糖脂質、Antigenics, Inc., Worcester, Mass.）、ポリ〔ジ（カルボキシラトフェノキシ）ホスファゼン〕（PCPPポリマー、Virus Research Institute, USA）、Flt3リガンド、リーシュマニア延長因子（精製リーシュマニアタンパク質、Corixa Corporation, Seattle, Wash.）、ISCOMS（混合サポニン、脂質を含み、抗原を保持することができる細孔を有するウイルスサイズの粒子を形成する免疫賦活性複合体、CSL, Melbourne, Australia）、Pam3Cys、SB-AS4（ミョウバン及びMPLを含むSmithKline Beechamアジュバントシステム#4、SBB, Belgium）、CRL1005等のミセルを形成する非イオン性ブロックコポリマー（これらは、両側にポリオキシエチレン鎖が配置された疎水性ポリオキシプロピレンの直鎖を含む、Vaxcel, Inc., Norcross, Ga.）、ならびにMontanide IMS（例えば、IMS 1312、可溶性免疫賦活薬と混合された水性ナノ粒子、Seppic）でよい。

【0302】

アジュバントはTLRリガンドでよい。TLR3を介して作用するアジュバントとしては、制限なく、二本鎖RNAが挙げられる。TLR4を介して作用するアジュバントとしては、制限なく、リポ多糖誘導体、例えば、モノホスホリルリポドA（MPLA、Ribi ImmunoChem Research, Inc., Hamilton, Mont.）及びムラミルジペプチド（MDP、Ribi）ならびにトレオニルムラミルジペプチド（t-MDP、Ribi）、OM-174（リポドAに関連するグルコサミン二糖、OM Pharma SA, Meyrin, Switzerland）が挙げられる。TLR5を介して作用するアジュバントとしては、制限なく、フラジェリンが挙げられる。TLR7及び／またはTLR8を介して作用するアジュバントとしては、一本鎖RNA、オリゴリボヌクレオチド（ORN）、合成低分子量化合物、例えば、イミダゾキノリンアミン（例えば、イミキモド、レシキモド）が挙げられる。TLR9を介して作用するアジュバントとしては、ウイルスもしくは細菌起源のDNA、または合成オリゴデオキシヌクレオチド（ODN）、例えば、CpG ODNが挙げられる。別のアジュバントのクラスは、ホスホロチオエートを含む分子、例えば、ホスホロチオエートヌクレオチド類似体及びホスホロチオエート骨格結合を含む核酸である。

【0303】

該抗原は、制限なく、がん抗原、自己抗原、微生物抗原、アレルゲン、または環境抗原であり得る。該抗原は、本質的にペプチド、脂質、または炭水化物でもよいが、そのように限定されない。

【0304】

がん抗原は、がん細胞によって優先的に発現される抗原（すなわち、それはがん細胞において非がん細胞よりも高レベルで発現される）であり、いくつかの例では、それはがん細胞によってのみ発現される。該がん抗原は、がん細胞内で、または該がん細胞の表面で発現され得る。該がん抗原は、MART-1/Melan-A、gp100、アデノシンデアミナーゼ結合タンパク質（ADAbp）、FAP、シクロフィリンb、結腸直腸関連抗原（CRC）—C017-1A/GA733、がん胎児抗原（CEA）、CAP-1、CAP-2、etv6、AML1、前立腺特異抗原（PSA）、PSA-1、PSA-2、PSA-3、前立腺特異的膜抗原（PSMA）、T細胞受容体／CD3-ゼータ鎖、及びCD20でよい。該がん抗原は、MAGE-A1、MAGE-A2、MAGE-A3、MAGE-A4、MAGE-A5、MAGE-A6、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A9、MAGE-A10、MAGE-A11、MAGE-A12、MAGE-Xp2（MAGE-B2）、MAGE-Xp3（MAGE-B3）、MAGE-Xp4

(MAGE-B4)、MAGE-C1、MAGE-C2、MAGE-C3、MAGE-C4、MAGE-C5)からなる群から選択され得る。該がん抗原は、GAGE-1、GAGE-2、GAGE-3、GAGE-4、GAGE-5、GAGE-6、GAGE-7、GAGE-8、GAGE-9からなる群から選択され得る。該がん抗原は、BAGE、RAGE、LAGE-1、NAG、GnT-V、MUM-1、CDK4、チロシナーゼ、p53、MUCファミリー、HER2/neu、p21ras、RCAS1、 α -フェトプロテイン、E-カドヘリン、 α -カテニン、 β -カテニン、 γ -カテニン、p120ctn、gp100Pmel117、PRAME、NY-ESO-1、cdc27、大腸腺腫症タンパク質(APC)、フォドリン、コネクシン37、Ig-イディオタイプ、p15、gp75、GM2ガングリオシド、GD2ガングリオシド、ヒトパピローマウイルスタンパク質、腫瘍抗原のSmadファミリー、lmp-1、P1A、EBVコード核抗原(EBNA)-1、脳グリコーゲンホスホリラーゼ、SSX-1、SSX-2(HOM-MEL-40)、SSX-1、SSX-4、SSX-5、SCP-1及びCT-7、CD20、ならびにc-erbB-2からなる群から選択され得る。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

【0305】

微生物抗原は、微生物種、例えば、制限なく、細菌、ウイルス、真菌、寄生虫及びマイコバクテリア種由来の抗原である。従って、微生物抗原としては、細菌抗原、ウイルス抗原、真菌抗原、寄生虫抗原、及びマイコバクテリア抗原が挙げられる。細菌、ウイルス、真菌、寄生虫及びマイコバクテリア種の例を本明細書に提供する。該微生物抗原は、微生物種の一部であってもよいし、微生物全体であってもよい。

【0306】

抗がん剤は、短期間のみだとしても、がんに関連する症状を全体的にまたは部分的に阻害することを含め、がんの発生または進行を少なくとも部分的に阻害する薬剤である。いくつかの抗がん剤は、DNA損傷剤として分類することができ、これらには、トポイソメラーゼ阻害剤(例えば、エトポシド、ランプトテシン、トポテカン、テニポシド、ミトキサントロン)、DNAアルキル化剤(例えば、シスプラチン、メクロレタミン、シクロホスファミド、イホスファミド、メルファラン、コラUMBシル、ブスルファン、チオテパ、カルムスチン、ロムスチン、カルボプラチン、ダカルバジン、プロカルバジン)、DNA鎖切断誘発剤(例えば、ブレオマイシン、ドキシソルビシン、ダウノルビシン、イダルビシン、マイトマイシンC)、微小管阻害薬(例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン)、代謝拮抗剤(例えば、シタラビン、メトトレキサート、ヒドロキシ尿素、5-フルオロウラシル、フロクスウリジン、6-チオグアニン、6-メルカプトプリン、フルダラビン、ペントスタチン、クロロデオキシアデノシン)、アントラサイクリン、ピンカルカロイド、またはエピドポフィロトキシンが含まれる。

【0307】

抗がん剤の例としては、制限なく、アシピシン、アクリルピシン、アコダゾール塩酸塩、アクロニン、アドゼレシン、アルデスロイキン、アルトレタミン、アムボマイシン、アメタントロン酢酸塩、アミノグルテチミド、アムサクリン、アナストロゾール、アントラマイシン、アスパラギナーゼ、アスペルリン、アザシチジン、アゼテパ、アゾトマイシン、バチマスタット、ベンゾデパ、ピカルタミド、ビスアントレン塩酸塩、ビスナフィドジメシラート、ビゼレシン、硫酸ブレオマイシン、ボルテゾミブ(VELCADE)、ブレキナルナトリウム、プロピリミン、ブスルファン、カクチノマイシン、カルステロン、カラセミド、カルベチマー、カルボプラチン(白金含有レジメン)、カルムスチン、カルビシン塩酸塩、カルゼレシン、セデフィンゴル、クロラムブシル、シロレマイシン、シスプラチン(白金含有レジメン)、クラドリビン、メシル酸クリスナトール、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デシタビン、ドキシソルマプラチン、デザグアニン、ジアジクオン、ドセタキセル(TAXOTERE)、ドキシソルビシン、ドロロキシフェン、ドロモスタノロン、ズアゾマイシン、エダトレキセート、エフロルニチン、エルサミトルシン、エンロプラチン、エンプロマート、エピプロ

ピジン、エピルピシン、エルブロゾール、エルロチニブ (TARCEVA)、エソルピシン、エストラムスチン、エタニダゾール、エトポシド、エトプリン、ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フロクスウリジン、フルダラビン、5-フルオロウラシル、フルロシタビン、ホスキドン、フォストリエシン、ゲフィチニブ (IRESSA)、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、イダルピシン、イホスファミド、イルモホシン、メシル酸イマチニブ (GLEEVEC)、インターフェロンアルファ-2a、インターフェロンアルファ-2b、インターフェロンアルファ-n1、インターフェロンアルファ-n3、インターフェロンベクター-Ia、インターフェロンガンマー-Ib、イプロプラチン、イリノテカン、ランレオチド、レナリドマイド (REVLIMID、REVIMID)、レトロゾール、ロイプロリド、リアロゾール、ロメトレキソール、ロムスチン、ロソキサントロン、マソプロコール、メイタンシン、メクロレタミン、メゲストロール、メレンゲストロール、メルファラン、メノガリル、メルカプトプリン、メトトレキサート、メトプリン、メツレデパ、メチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリソール、ミトマルシン、マイトマイシン、ミトスベル、ミトタン、ミトキサントロン、ミコフェノール酸、ノコダゾール、ノガラマイシン、オルマブラチン、オキシスラン、パクリタキセル、ペメトレキセド (ALIMTA)、ペガスパルガーゼ、ペリオマイシン、ペンタムスチン、ペントモン、ペプロマイシン、ペルホスファミド、ピボプロマン、ピボスルファン、イセチオン酸ピリトレキシム、ピロキサントロン、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマー、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、プロカルバジン、ピューロマイシン、ピラゾフリン、リボプリン、ログレチミド、サフィンゴール、セムスチン、シムトラゼン、シトグルシド、スパルホサート、スパルソマイシン、スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロプラチン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、スロフェヌア、タリソマイシン、タムスロシン、タキソール、タキソテール、テコガラン、テガフル、テロキサントロン、テモポルフィン、テモゾロミド (TEMODAR)、テニポシド、テロキシロン、テストラクトン、サリドマイド (THALOMID) 及びその誘導体、チアミプリン、チオグアニン、チオテパ、チアゾフリン、チラパザミン、トポテカン、トレミフェン、トレストロン、トリシリピン、トレメトレキサート、トリプトレリン、ツプロゾール、ウラシルマスタード、ウレデパ、バプレオチド、ベルテポルフィン、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、ビネピジン、ビングリシナート、ビンロイロシン、ビノレルビン、ビンロシジン、ビンゾリジン、ボロゾール、ゼニブラチン、ジノスタチン、ゾルピシンが挙げられる。

【0308】

該抗がん剤は、制限なく、チロシンキナーゼ阻害剤、CDK阻害剤、MAPキナーゼ阻害剤、またはEGFR阻害剤を含めた酵素阻害剤であり得る。該チロシンキナーゼ阻害剤は、制限なく、ゲニステイン (4', 5, 7-トリヒドロキシイソフラボン)、チルホスチン25 (3, 4, 5-トリヒドロキシフェニル)、メチレン] -プロパンジニトリル、ハービマイシンA、ダイゼイン (4', 7-ジヒドロキシイソフラボン)、AG-126、trans-1-(3'-カルボキシ-4'-ヒドロキシフェニル)-2-(2'', 5''-ジヒドロキシフェニル)エタン、またはHDBA (2-ヒドロキシ-5-(2, 5-ジヒドロキシベンジルアミノ)-2-ヒドロキシ安息香酸)でよい。該CDK阻害剤は、制限なく、p21、p27、p57、p15、p16、p18、またはp19でよい。該MAPキナーゼ阻害剤は、制限なく、KY12420 (C₂₃H₂₄O₈)、CNI-1493、PD98059、または4-(4-フルオロフェニル)-2-(4-メチルスルフィニルフェニル)-5-(4-ピリジル)1H-イミダゾールでよい。該EGFR阻害剤は、制限なく、エルロチニブ (TARCEVA)、ゲフィチニブ (IRESSA)、WHI-P97 (キナゾリン誘導体)、LFM-A12 (レフルノミド代謝産物類似体)、ABX-EGF、ラパチニブ、カネルチニブ、ZD-6474 (ZACTIMA)、AEE788、及びAG1458でよい。

【0309】

該抗がん剤は、VEGF阻害剤でよく、制限なく、ベバシズマブ (AVASTIN)、

ラニビズマブ (LUCENTIS)、ペガブタニブ (MACUGEN)、ソラフェニブ、スニチニブ (SUTENT)、バタラニブ、ZD-6474 (ZACTIMA)、アネコルタブ (RETAANE)、乳酸スクアラミン、及びセマフォリンを含む。

【0310】

該抗がん剤は、抗体または抗体断片でよく、制限なく、ベバシズマブ (AVASTIN)、トラスツズマブ (HERCEPTIN)、アレムツズマブ (CAMPATH、B細胞慢性リンパ性白血病の治療に適応される)、ゲムツズマブ (MYLOTARG、hP67・6、抗CD33、急性骨髄性白血病等の白血病の治療に適応される)、リツキシマブ (RITUXAN)、トシツモマブ (BEXXAR、抗CD20、B細胞悪性腫瘍の治療に適応される)、MDX-210 (HER-2/neuがん遺伝子タンパク質産物及び免疫グロブリンG (IgG) に対するI型Fc受容体 (Fcガンマリ) に同時に結合する二重特異性抗体)、オレゴボマブ (OVAREX、卵巣癌の治療に適応される)、エドレコロマブ (PANOREX)、ダクリズマブ (ZENAPAX)、パリビズマブ (SYNAGIS、RSV感染症等の呼吸器疾患の治療に適応される)、イブリツモマブチウキセタン (ZEVALIN、非ホジキンリンパ腫の治療に適応される)、セツキシマブ (ERBITUX)、MDX-447、MDX-22、MDX-220 (抗TAG-72)、IOR-C5、IOR-T6 (抗CD1)、IOR EGF/R3、セロゴバブ (ONCOSCINT OV103)、エプラツズマブ (LYMPHOCIDE)、ペムツモマブ (THERAGYN)、及びグリオマブーH (脳癌、メラノーマの治療に適応される) が挙げられるがこれらに限定されない抗体または抗体断片を含む。

【0311】

本明細書では造影剤と呼ばれる場合がある診断薬は、シグナルを直接または間接的に発し、それにより、インビボでのその検出を可能にする薬剤である。診断薬、例えば、コントラスト剤及び放射性薬剤は、医用画像技術、例えば、核医学検査及び磁気共鳴画像法 (MRI) を用いて検出することができる。磁気共鳴画像法 (MRI) 用の造影剤としては、Gd (DOTA)、酸化鉄または金ナノ粒子が挙げられ、核医学用の造影剤としては、 ^{201}Tl 、ガンマ放射性核種 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ が挙げられ、陽電子放出断層撮影 (PET) 用の造影剤としては、陽電子放出同位体、 (^{18}F) -フルオロデオキシグルコース ($(^{18}\text{F})\text{FDG}$)、 (^{18}F) -フルオリド、銅64、ガドアミド、及びPb (II) の放射性同位体、例えば、 ^{203}Pb 、及び ^{111}In 、インビボ蛍光イメージング用の造影剤、例えば、蛍光色素または色素コンジュゲートナノ粒子が挙げられる。他の実施形態では、送達される薬剤は、診断薬にコンジュゲートされるか、融合されるか、混合されるか、または結合される。

【0312】

該化合物及び組成物は、本明細書で企図する薬剤の送達から恩恵を受けやすい任意の対象のタイプに実質的に投与され得る。ヒト対象は、本発明のいくつかの実施形態では、好ましい対象である。対象には、動物、例えば、ペット (例えば、イヌ、ネコ、ウサギ、フェレット等)、家畜または農場動物 (例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、ニワトリ及び他の家禽)、ウマ、例えば、サラブレッドのウマ、実験動物 (例えば、マウス、ラット、ウサギ等) 等も含まれる。対象には、魚類及び他の水生動物種も含まれる。

【0313】

該薬剤が送達される対象は、正常な対象でよい。代替的に、該対象は、1つ以上の特定の薬剤の局所的送達から診断することができる、または恩恵を受ける可能性がある状態を有していてもよいし、その進行のリスクがあってもよい。かかる状態としては、がん (例えば、固形腫瘍がん)、感染症 (特に、体内の特定の領域または組織に局限される感染症)、自己免疫疾患、アレルギーまたはアレルギー状態、喘息、移植片拒絶反応等が挙げられる。いくつかの実施形態では、該対象は、遺伝子欠陥と診断されており、核酸ベースの治療薬を投与されている。

【0314】

薬剤は、全身的に投与されても局所的に投与されてもよい。薬剤は、有効量で投与され

得る。有効量は、医学的に望ましい結果を提供するのに十分な該薬剤の用量である。該有効量は、治療される特定の状態、治療される対象の年齢及び健康状態、状態の重症度、治療期間、併用または混合療法（もしあれば）の性質、具体的な投与経路、ならびに医療従事者の知識及び見解の範囲内の同様の因子によって異なる。一般に、最大投与量、すなわち、健全な医学的判断に従う最大の安全量が使用されることが好ましい。

【0315】

本発明は、医薬組成物を提供する。医薬組成物は、薬剤を含み、送達媒体、ナノ粒子等を好ましくは医薬的に許容される担体中に含んでもよい無菌の組成物である。「医薬的に許容される担体」という用語は、ヒトまたは本発明が企図する他の対象に対する投与に適した1つ以上の相溶性のある固体もしくは液体充填剤、希釈剤、または封入物質を意味する。「担体」という用語は、投与を容易にするために細胞、ナノ粒子及び薬剤（複数可）が混合される有機もしくは無機の天然または合成成分を意味する。医薬組成物の成分は、それらの所望の医薬的効率を実質的に損なう相互作用が起きないようにする方法で混合される。

10

【0316】

該化合物及び組成物は、それらを全身的に送達することが望ましい場合、注射による、例えば、ボラス注入または持続注入による非経口投与用に製剤化され得る。注射用製剤は、単位剤形、例えば、アンプルまたは複数回投与容器に含んでもよい。医薬非経口製剤は、成分の水溶液を含む。水性注射懸濁液は、該懸濁液の粘度を高める物質、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、またはデキストランを含んでもよい。代替的に、成分の懸濁液は、油性の懸濁液、例えば、当技術分野で知られるもの、または、本開示に基づいて当業者に容易に明らかになるものとして調製され得る。

20

【0317】

本開示はさらに、通常当該対象の治療に適応される薬剤を含めた1つ以上の第二の薬剤と一緒にLNPの使用を企図する。

【0318】

いくつかの例では、該LNPは、該第二の薬剤と実質的に同時に投与され得る。実質的に同時にとは、LNPが第二の薬剤の投与と時間的に接近して、例えば、1時間で、30分以内に、10分以内に、または5分以内に対象に投与されることを意味する。

【0319】

いくつかの例では、該第二の薬剤（複数可）は、該LNPの前に投与され得る。例えば、該第二の薬剤（複数可）は、該LNPの投与前の24時間以内、または18時間以内、または12時間以内、または6時間以内、または3時間以内、または2時間以内に投与され得る。該第二の薬剤（複数可）は、LNP投与の18～24時間前、またはLNP投与の12～18時間前、またはLNP投与の6～12時間前、またはLNP投与の2～6時間前に投与され得る。

30

【0320】

LNP投与の2時間以上前に1つ以上の第二の薬剤を投与されている対象は、かかる薬剤（複数可）で予備投薬治療を受けたと呼ばれ得る。LNP投与の前1時間以内に1つ以上の第二の薬剤を投与されている対象は、かかる薬剤（複数可）で同時投薬治療を受けたと呼ばれ得る。

40

【0321】

いくつかの例では、該第二の薬剤（複数可）は、当該対象に対して持続して、必要に応じて、または一定のスケジュール（例えば、毎日、2日に1回等）で投与され得る。

【0322】

他の例では、該第二の薬剤は、該LNPの投与の前または後に投与され得る。

【0323】

かかる第二の薬剤としては、抗ヒスタミン剤、抗血小板薬、及び抗ステロイド性抗炎症薬を挙げることができるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、該LNPは、コルチコステロイド、例えば、これに限定されないがデキサメタゾンとともに製剤化さ

50

れず、対象は、これによる予備投薬治療も同時投薬治療も受けない。

【0324】

ある特定の実施形態では、抗炎症及び抗血小板作用を有する単一の第二の薬剤が用いられる。かかる薬剤の一例はアスピリンである。

【0325】

ある特定の実施形態では、アスピリン、クロピドログレル (Plavix (登録商標))、及び抗ヒスタミン剤、例えば、これに限定されないが、ジフェンヒドラミン (ベナドリル)、フェキソフェナジン (アレグラ)、ロラタジン (クラリチン)、またはセチリジンの組み合わせが用いられる。1つ以上の第二の薬剤は、LNPの投与あたり1回投与され得る一方、他のものはより頻繁に投与され得る。例えば、クロピドログレル (Plavix (登録商標)) は、LNPの投与あたり1回投与され得る一方、アスピリン及び／または抗ヒスタミン剤は毎日投与され得る。

10

【0326】

抗ヒスタミン剤には、H1受容体アンタゴニスト及びH1受容体逆アゴニストが含まれる。H1受容体アンタゴニストの例としては、アクリバスチン、アリメマジン、酒石酸アリメマジン、アンタゾリン、アステミゾール、アザタジン、マレイン酸アザタジン、アゼラスチン、バミピン、ベンズキナミド、ベポタスチン、ベシル酸ベポタスチン、ピラスチン、プロマジン、ブロムフェニラミン、ブクリジン、カルビノキサミン、クロルフェノキサミン、クロルシクリジン、シンノペンタゾン、ヒスタピロジン、クロロジフェンヒドラミン、クロロピラミン、クロロフェナミン、クロルプロマジン、シンナリジン、クレマスチン、クレミゾール、クロシニジン、シクリジン、シプロヘプタジン、デスロラタジン、デブトロピン、デスクロルフェニラミン、デクスブロムフェニラミン、ジメンヒドリナート、ジメチンデン、ジメトチアジン、ジフェンヒドラミン (ベネドリル)、ジフェニルピラリン、ドキシピン、ドキシラミン、エバスチン、エフレチリジン、エンブラミン、エメダスチン、エピナスチン、フェキソフェナジン (アレグラ)、フルナリジン、ホモクロルシクリジン、ヒドロキシジン、イソチペンジル、ケトチフェン、レボカバスチン (第2世代)、ロラタジン (クラリチン)、メブヒドロリン、メクロジン、メピラミン、メキタジン、メトジラジン、ミルタザピン、ミゾラスチン、ニアプラジン、オロパタジン、オルフェナドリン、オキサトミド、オキソメマジン、ペミロラスト、フェニンダミン、フェニラミン、フェニルトロキサキン、ピメチキセン、ピプリンヒドリナート、プロメタジン、プロピオマジン、ピロブタミン、クエチアピン、キフェナジン、ルパタジン、セタスチン、テルフェナジン、テニルジアミン、チエチルペラジン、トンジルアミン、トルプロパミン、トリメトベンズアミン、トリペレナミン、トリプロリジン及びトリトクアリンが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0327】

H1受容体逆アゴニストの例としては、ピラミン、セチリジン、レボセチリジン、及びデスロラタジンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0328】

抗血小板薬としては、活性化阻害剤、凝集阻害剤、接着アンタゴニスト、抗凝固薬 (血小板を直接標的としない)、及び血小板算定または数を低減する薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0329】

活性化阻害剤の例としては、(1) トロンビン受容体 PAR-1 阻害剤、例えば、SCH 530348 (ボラパクサル)、E-5555 (アトパキサール)、SCH 79797、FR171113、RWJ 56110、BMS-200661、RWJ-58259、SCH 205831、Pipal-7 ペプデュシン、P1pal-12 ペプデュシン、(2) トロンビン受容体 PAR-4 阻害剤、例えば、ML 354、tcY-NH2、P4pal-10 ペプデュシン、P4pal-i1 ペプデュシン、(3) FSLLR Y-NH2 (PAR-2 ペプチドアンタゴニスト)、(4) TxA2 受容体アンタゴニスト、例えば、AH 23, 848、SQ 29, 548、または R 68, 070、S-145

40

50

2、イオサルタン、セラトロダスト、(5) トロンボキサン受容体アンタゴニスト、例えば、テルトロバン、(6) ADP P2Y12受容体阻害剤、例えば、チクロピジン、クロピドグレル、プラスグレル、チカグレロル、カングレロル、エリノグレル、AZD6140、AR-C69931、CoA、(7) ADP P2Y1受容体阻害剤、例えば、A2P5P、A3P5P、MRS2179、MRS2279、MRS2500、パルミトイル-CoA (P2Y12にも作用する)、及びThalji et al. 2010によるSAR研究からの他の化合物、(8) 5-HT2Aアンタゴニスト、例えば、R-1012444、ナフチドロフリル、サルボグレラート、AT-1015、(9) トロンボキサンシンターゼ阻害剤、例えば、ダゾキシベン、CS-518 (TXA2シンターゼ阻害剤)、SB 203580、U63557A、イミダゾ (1, 5-2) ピリジン-5-ヘキサノ酸、(10) COX-1阻害剤、例えば、アスピリン、NCX-4016、リドグレル、S18886、ピコタミド、ラマトロバン (TXA2受容体アンタゴニストでもある)、SC-560、FR122047、モフェゾラク、P6、TFAP、イブプロフェン及びナプロキセン (COX-2阻害剤でもある)、(11) COX-2阻害剤、例えば、トリフルサル (COX-1及びPDE阻害剤でもある)、エトリコキシブ、ロフェコキシブ、セレコキシブ、メロキシカム、ならびに(12) PI3K阻害剤、例えば、AZD6482が挙げられるが、これらに限定されない。

【0330】

凝集阻害剤の例としては、(1) GPIa/I Ia阻害剤、例えば、EMS16、(2) GPVI阻害剤、例えば、モノクローナル抗体及びmAb 12A5のFab断片、(3) GPIIb/IIIa阻害剤、例えば、アブシキシマブ、エプチフィバチド、チロフィバン、(4) PDE阻害剤、例えば、ジピリダモール (アデノシン再取り込み阻害剤でもある)、シロスタゾール (cAMPの増加及びPKA活性化をもたらすPDE3阻害剤)、ならびに(5) ADP受容体アンタゴニストが挙げられるが、これらに限定されない。他の血小板凝集阻害剤としては、アスピリン、クロピドグレル (Plavix (登録商標))、アスピリン/プラバスタチン、シロスタゾール、プラスグレル、アスピリン/ジピリダモール、チカグレロル、カングレロル、エリノグレル、ジピリダモール、及びチクロピジンが挙げられる。

【0331】

接着アンタゴニスト (フィブリノゲンに対する) の例としては、C1qTNF関連タンパク質-1、DZ-697b、RG12986が挙げられるが、これらに限定されない。

【0332】

非血小板型抗凝固薬の例としては、ワルファリン、Xa因子阻害剤、例えば、リバロキサバン、アピキサバン、エドキサバン、ベトリキサバン、ダレキサバン、オタミキサバン、トロンビン阻害剤、例えば、ビバリルジン、ヒルジン、ダビガトラン、レピルジン、デシルジン、アルガトロバン、メラガトラン、ダビガトラン、CDSO3、FDSO3、SDSO3、及びSidhuらの論文によって報告された追加の硫酸ベンゾフランアロステリック阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0333】

血小板算定または数を低減する薬剤の例としては、(1) cAMPホスホジエステラーゼ阻害剤 (例えば、アナグレリド)、6, 7-ジクロロ-1, 5-ジヒドロイミダゾ [2, 1-b] キナゾリン-2 (3H) -オンまたは6, 7-ジクロロ-1, 2, 3, 5-テトラヒドロイミダゾ [2, 1-b] キナゾリン-2-オン (米国特許第3, 932, 407号、第4, 146, 718号、RE31, 617、Haematologica 1992 77: 40-3)、(2) 血小板もしくは巨核細胞が特異的に発現する細胞表面受容体に対する抗体、例えば、糖タンパク質IIb/IIIa受容体抗体、(3) ほとんどの化学療法抗がん剤、例えば、ブスルファン (Br. J. Haematol. 1986 62: 229-37)、ヒドロキシ尿素 (N Engl J Med 1995 332: 1132-6)、ヘプスルファン、リン32 (Br J Radiol 1997 70: 1169-73)、ピポブロマン (Scand J. Haematol 1986 37

10

20

30

40

50

：306-9）、シクロホスファミド（J Cell Physiol 1982 112：222-8）、ある特定のアルキル化剤及びある特定の代謝拮抗剤、（4）サイトカイン、成長因子及びインターロイキン、例えば、アルファインターフェロン（Cancer Immunol Immunother 1987 25：266-73）、ガンマインターフェロン、形質転換成長因子-ベータ、好中球活性化ペプチド-2及びその類似体（米国特許第5,472,944号）、マクロファージ炎症性タンパク質及びその類似体（米国特許第5,306,709号）、（5）血小板もしくは巨核細胞のいずれかが分泌する化合物、例えば、血小板第4因子（米国特許第5,185,323号）、形質転換成長因子-ベータ、巨核細胞が産生する12~17kDの糖タンパク質、トロンビン及びトロンボスポンジンならびにそのアミノ（1~174アミノ酸）末端断片（J Lab Clin Med 1997 129：231-8）、ならびに（6）抗ケロイド剤、例えば、トラニラスト（リザベン）（J Dermatol 1998 25：706-9）、フォルスコリン及び脾臓抗成熟因子（米国特許第4,088,753号）を含めた他の薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。

【0334】

抗血小板薬はまた、抗血栓薬、血栓溶解薬、直接トロンビン阻害薬、糖タンパク質IIb/IIa受容体阻害薬、細胞接着分子に結合し、白血球がかかる分子に付着する能力を阻害する薬剤、カルシウムチャネル遮断薬、ベータアドレナリン受容体遮断薬、シクロオキシゲナーゼ-2阻害薬、及びアンジオテンシン系阻害薬としても特徴づけられ得る。

【0335】

抗血栓薬は、複数の潜在的機序を介して血栓形成を防止する薬剤として定義され、それらとしては、血栓溶解薬、抗凝固薬、及び血小板機能の阻害薬が挙げられる。

【0336】

血栓溶解薬は、通常は酵素作用によるフィブリンの溶解を介して、血栓（例えば、血塊）を溶解する薬剤と定義される。血栓溶解薬の例としては、アンクロド、アニストレプラゼ、乳酸ビソブリン、ブリノラゼ、ハーゲマン因子（即ち、第XII因子）断片、モルシドミン、プラスミノゲン活性化因子、例えば、ストレプトキナーゼ、組織プラスミノゲン活性化因子（TPA）及びウロキナーゼ、ならびにプラスミン及びプラスミノゲンが挙げられるが、これらに限定されない。抗凝固薬にはまた、第Xa因子、TFPI因子、第VIIa因子、第IXc因子、第Va因子、第VIIIa因子の阻害薬、ならびに他の凝固因子の阻害薬が含まれる。

【0337】

抗凝固薬は、血塊の形成に必須の因子の産生、沈着、開裂及び／または活性化に悪影響を与えることによって凝固経路を阻害する薬剤である。抗凝固薬としては、ビタミンKアンタゴニスト、例えば、クマリン及びクマリン誘導体（例えば、ワルファリンナトリウム）、グリコサミノグリカン、例えば、未分画の形態及び低分子量の形態の両方のヘパリン、アルデパリンナトリウム、ビバリルジン、プロミンジオン、クマリン、ダルテパリンナトリウム、デシルジン、ジクマロール、リアポラートナトリウム、メシル酸ナファモスタット、フェンプロクモン、スルファチド、及びチンザパリンナトリウムが挙げられるが、これらに限定されない。

【0338】

他の「抗凝固」及び／または「血栓溶解」薬としては、プラスミノゲン、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、アニソイル化プラスミノゲン-ストレプトキナーゼ活性化剤複合体、プロウロキナーゼ（Pro-UK）、rTPA（アルテプラゼまたはアクチバ-ゼ、rは組み換えを意味する）、rPro-UK、アボキナーゼ、エミナーゼ、ストレプターゼ、塩酸アナグレリド、ビバリルジン、ダルテパリンナトリウム、ダナパロイドナトリウム、塩酸ダゾキシベン、硫酸エフェガトラン、エノキサパリンナトリウム、イフェトロバン、イフェトロバンナトリウム、チンザパリンナトリウム、レタプラゼ、トリフェナグレール、ワルファリン、デキストランが挙げられる。

【0339】

10

20

30

40

50

さらに他の抗凝固薬としては、アンクロド、抗凝固剤クエン酸デキストロース溶液、抗凝固剤クエン酸リン酸デキストロースアデニン溶液、抗凝固剤クエン酸リン酸デキストロース溶液、抗凝固剤ヘパリン溶液、抗凝固剤クエン酸ナトリウム溶液、アルデバリンナトリウム、ブロムインジオン、デシルジン、ジクマロール、ヘパリンカルシウム、ヘパリンナトリウム、リアポラートナトリウム、メシル酸ナファモスタット、フェンプロクモンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0340】

血塊溶解剤としては、組織プラスミノゲン活性化因子、ストレプトキナーゼ、及びニモジピンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0341】

血小板機能阻害薬は、成熟血小板がそれらの正常な生理学的役割（すなわち、それらの正常機能）を果たす能力を損なう薬剤である。血小板は、通常、複数の生理学的過程、例えば、接着、例えば、細胞実体及び非細胞実体に対するもの、凝集、例えば、血塊を形成する目的のもの、ならびに成長因子（例えば、血小板由来成長因子（PDGF））及び血小板粒子状成分等の因子の放出に関与する。血小板機能阻害剤の1つの下位カテゴリーは、血小板凝集の阻害剤であり、これは、血小板がそれら自体で、または他の細胞及び非細胞成分と物理的に会合する能力を低減または中断し、それにより、血小板が血栓を形成する能力をなくす化合物である。

【0342】

血小板機能の有用な阻害剤の例としては、アカデシン、アナグレリド、アニパミル、アルガトロバン、アスピリン、クロピドグレル、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、例えば、非ステロイド系抗炎症薬及び合成化合物FR-122047、ダナパロイドナトリウム、塩酸ダゾキシベン、ジアデノシン5', 5', 5'-P1, P4-四リン酸（Ap4A）類似体、ジフィブロチド、塩酸ジラゼブ、1, 2-及び1, 3-グリセリルジニトレート、ジピリダモール、ドーバミン及び3-メトキシチラミン、硫酸エフェガトラン、エノキサパリンナトリウム、グルカゴン、糖タンパク質IIb/IIaアンタゴニスト、例えば、Ro-43-8857及びL-700, 462、イフェトロバン、イフェトロバンナトリウム、イロプロスト、イソカルバサイクリンメチルエステル、イソソルビド-5-モノニトレート、イタジグレル、ケタンセリン及びBM-13, 177、ラミフィバン、リファリジン、モルシドミン、ニフェジピン、オキサグレラート、PGE、血小板活性化因子アンタゴニスト、例えば、レキシパファント、プロスタサイクリン（PGI₂）、ピラジン、ピリジノールカルバメート、ReoPro（すなわち、アブシキシマブ）、スルフィンピラゾン、合成化合物BN-50727、BN-52021、CV-4151、E-5510、FK-409、GU-7、KB-2796、KBT-3022、KC-404、KF-4939、OP-41483、TRK-100、TA-3090、TFC-612及びZK-36374、2, 4, 5, 7-テトラチアオクタン、2, 4, 5, 7-テトラチアオクタン2, 2-ジオキシド、2, 4, 5-トリチアヘキサン、テオフィリン、ペントキシフィリン、トロンボキサン及びトロンボキサンシンテターゼ阻害剤、例えば、ピコタミド及びスロトロバン、チクロピジン、チロフィバン、トラピジル及びチクロピジン、トリフェナグレル、トリリノレイン、3-置換5, 6-ビス（4-メトキシフェニル）-1, 2, 4-トリアジン、及び糖タンパク質IIb/IIaに対する抗体、ならびに米国特許第5, 440, 020号に開示のもの、ならびに抗セロトニン薬、クロピドグレル、スルフィンピラゾン、アスピリン、ジピリダモール、クロフィブラート、ピリジノールカルバメート、PGE、グルカゴン、抗セロトニン薬、カフェイン、テオフィリン、ペントキシフェリン、チクロピジンが挙げられるが、これらに限定されない。

【0343】

「直接トロンビン阻害剤」としては、ヒルジン、ヒルゲン、ヒルログ、アルガトロバン、PPACK、トロンビンアプタマーが挙げられる。

【0344】

「糖タンパク質IIb/IIa受容体阻害剤」は、抗体及び非抗体の両方であり、R

10

20

30

40

50

eoPro（アブキシマブ）、ラミフィバン、チロフィバンを含むが、これらに限定されない。

【0345】

「カルシウムチャネル遮断薬」は、様々な疾患の抑制において重要な治療価値を有する化学的に多様なクラスの化合物である（Fleckenstein, *Cir. Res.* v. 52, (suppl. 1), p. 13-16 (1983)、Fleckenstein, *Experimental Facts and Therapeutic Prospects*, John Wiley, New York (1983)、McCall, D., *Curr Pract Cardiol*, v. 10, p. 1-11 (1985)）。カルシウムチャネル遮断薬は、細胞のカルシウムチャネルを調整することによって細胞内へのカルシウムの進入を妨害または減速する薬物の混成群である（Remington, *The Science and Practice of Pharmacy*, Nineteenth Edition, Mack Publishing Company, Eaton, PA, p. 963 (1995)）。ほとんどの現在入手可能な本発明に照らして有用なカルシウムチャネル遮断薬は、薬物の3つの主要な化学基、すなわち、ジヒドロピリジン、例えば、ニフェジピン、フェニルアルキルアミン、例えば、ベラパミル、及びベンゾチアゼピン、例えば、ジルチアゼムのうちの1つに属する。本発明に照らして有用な他のカルシウムチャネル遮断薬としては、アムリノン、アムロジピン、ベンシクラン、フェロジピン、フェンジリン、フルナリジン、イスラジピン、ニカルジピン、ニモジピン、ペルヘキシレン、ガロパミル、チアパミル及びチアパミル類似体（例えば、1993 RO-11-2933）、フェニトイン、バルビツレート、ならびにペプチドダイノルフィン、オメガーコノトキシン、及びオメガーアガトキシン等、及び／またはそれらの医薬的に許容される塩が挙げられるが、これらに限定されない。

【0346】

「ベーターアドレナリン受容体遮断薬」は、狭心症、高血圧、及び心不整脈におけるカテコールアミンの心臓血管への影響に拮抗する薬物のクラスである。ベーターアドレナリン受容体遮断薬としては、アテノロール、アセブトロール、アルブレノロール、ベフノロール、ベタキソロール、ブニトロロール、カルテオロール、セリプロロール、ヘドロキサロール、インデノロール、ラベタロール、レボブノロール、メビンドロール、メチプラノール、メチンドール、メトプロロール、メトリゾラノロール、オクスプレノロール、ピンドロール、プロプラノロール、プラクトロール、プラクトロール、ソタロール、ナドロール、チプレノロール、トマロロール、チモロール、ブプラノロール、ペンブトロール、トリメプラノール、2-（3-（1, 1-ジメチルエチル）-アミノ-2-ヒドロキシプロポキシ）-3-ピリデンカルボニトリル（pyridenecarbonitril）HCl、1-ブチルアミノ-3-（2, 5-ジクロロフェノキシ）-2-プロパノール、1-イソプロピルアミノ-3-（4-（2-シクロプロピルメトキシエチル）フェノキシ）-2-プロパノール、3-イソプロピルアミノ-1-（7-メチルインダン-4-イルオキシ）-2-ブタノール、2-（3-（ α -ブチルアミノ-2-ヒドロキシ-プロピルチオ）-4-（5-カルバモイル-2-チエニル）チアゾール、7-（2-ヒドロキシ-3-（ α -ブチルアミノプロポキシ）フタリド）が挙げられるが、これらに限定されない。上記に示した化合物は、異性体混合物として、またはそれらのそれぞれの左旋性もしくは右旋性型で使用する事ができる。

【0347】

シクロオキシゲナーゼ-2（COX-2）は、最近同定されたシクロオキシゲナーゼの型である。「シクロオキシゲナーゼ」は、アラキドン酸から様々なプロスタグランジン及びトロンボキサンを産生するほとんどの組織に存在する酵素複合体である。非ステロイド系抗炎症薬は、それらの抗炎症性、鎮痛及び解熱作用のほとんどを発揮し、シクロオキシゲナーゼ（プロスタグランジンG/Hシンターゼ及び／またはプロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼとしても知られる）の阻害を介して、ホルモンが誘発する子宮収縮及びある特定のタイプのがんの増殖を阻害する。当初は、シクロオキシゲナーゼの1つ

の型のみ、すなわち、「構成酵素」またはシクロオキシゲナーゼー１（COX－１）が知られていた。それは、最初はウシ精囊で識別された。

【0348】

シクロオキシゲナーゼー２（COX－２）は、最初はニワトリ、マウス及びヒト源からクローニングされ、配列決定され、特徴づけられた（例えば、米国特許第5,543,297号、1996年8月6日発行、Cromlishら、Merck Frosst Canada, Inc., Kirkland, CA, 発明の名称：“Human cyclooxygenase-2 cDNA and assays for evaluating cyclooxygenase-2 activity”参照）。

【0349】

複数の選択的「COX－２阻害剤」が当技術分野で知られている。これらとしては、すべてMerck Frosst Canada, Inc. (Kirkland, CA)に譲渡された、米国特許第5,474,995号“Phenyl heterocycles as cox-2 inhibitors”、米国特許第5,521,213号“Diaryl bicyclic heterocycles as inhibitors of cyclooxygenase-2”、米国特許第5,536,752号“Phenyl heterocycles as COX-2 inhibitors”、米国特許第5,550,142号“Phenyl heterocycles as COX-2 inhibitors”、米国特許第5,552,422号“Aryl substituted 5,5 fused aromatic nitrogen compounds as anti-inflammatory agents”、米国特許第5,604,253号“N-benzylindol-3-yl propanoic acid derivatives as cyclooxygenase inhibitors”、米国特許第5,604,260号“5-methanesulfonamido-1-indanones as an inhibitor of cyclooxygenase-2”、米国特許第5,639,780号“N-benzyl indol-3-yl butanoic acid derivatives as cyclooxygenase inhibitors”、米国特許第5,677,318号“Diphenyl-1,2-3-thiadiazoles as anti-inflammatory agents”、米国特許第5,691,374号“Diaryl-5-oxygenated-2-(5H)-furanones as COX-2 inhibitors”、米国特許第5,698,584号“3,4-diaryl-2-hydroxy-2,5-dihydrofuran s as prodrugs to COX-2 inhibitors”、米国特許第5,710,140号“Phenyl heterocycles as COX-2 inhibitors”、米国特許第5,733,909号“Diphenyl stilbenes as prodrugs to COX-2 inhibitors”、米国特許第5,789,413号“Alkylated styrenes as prodrugs to COX-2 inhibitors”、米国特許第5,817,700号“Bisaryl cyclobutenes derivatives as cyclooxygenase inhibitors”、米国特許第5,849,943号“Stilbene derivatives useful as cyclooxygenase-2 inhibitors”、米国特許第5,861,419号“Substituted pyridines as selective cyclooxygenase-2 inhibitors”、米国特許第5,922,742号“Pyridinyl-2-cyclopenten-1-ones as selective cyclooxygenase-2 inhibitors”、米国特許第5,925,631号“Alkylated styrenes as prodrugs to COX-2 inhibitors”に記載のCOX－２阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。さらなるCOX－２阻害剤はまた、米国特許第5,643,933号、G. D. Searle & Co. (Skokie, IL)に譲渡された、発明の名称“Substituted sulfonylpheny

10

20

30

40

50

l heterocycles as cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase inhibitors”にも記載されている。アスピリンは、COX-2阻害剤の一例である。

【0350】

上記で示した複数のCOX-2阻害剤は、選択的COX-2阻害剤のプロドラッグであり、インビボでの活性かつ選択的なCOX-2阻害剤への変換により、それらの作用を発揮する。上記で示したCOX-2阻害剤のプロドラッグから形成される活性かつ選択的なCOX-2阻害剤は、1995年1月5日公開のWO95/00501、1995年7月13日公開のWO95/18799、及び1995年12月12日に発行された米国特許第5,474,995号に詳細に記載されている。米国特許第5,543,297号、発明の名称：“Human cyclooxygenase-2 cDNA and assays for evaluating cyclooxygenase-2 activity”の教示を前提とすると、当業者には、薬剤が選択的COX-2阻害剤であるか、COX-2阻害剤の前駆体、ひいては本発明の一部であるかを判断することが可能である。

10

【0351】

非ステロイド系抗炎症薬としては、ナプロキセンナトリウム、ジクロフェナク、スリンダク、オキサプロジン、ジフルニサル、アスピリン、ピロキシカム、インドメタシン、エトドラク、イブプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェン、メフェナム酸、ナブメトン、トルメチンナトリウム、及びケトロラクトロメタミンが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0352】

ある特定の実施形態では、該LNPは、LNPによって誘発される免疫応答を阻害する1つ以上の第二の薬剤を含んでもよく、該第二の薬剤は、例えば、センサーへの結合を阻害するか、またはセンサーの活性を阻害し、例えば、天然のIgMの産生、天然のIgGの産生、B1a細胞の活性化、B1b細胞の活性化、及び／または血小板及びまたは樹状細胞の活性化、または任意のエフェクターの活性もしくは産生を阻害する。該第二の薬剤は、代替的に、LNPによって誘発される免疫応答を阻害する薬剤と呼ばれる。いくつかの例では、該第二の薬剤は、LNPに結合する天然のIgMの産生を阻害する場合もあれば、かかる天然のIgMを中和する場合もある。他の例では、該第二の薬剤は、B1a細胞の活性化を阻害する場合もあれば、B1a細胞を除去する場合もある。例えば、かかる第二の薬剤は、CD36が挙げられるがこれに限定されないB1a細胞の表面受容体を阻害し得る。代替的にまたはさらに、該第二の薬剤は、IgMのその標的に対する結合を妨害し得る。他の実施形態では、該第二の薬剤は、該LNPに結合する天然のIgGの産生を阻害する場合もあれば、かかる天然のIgGを中和する場合もあり、IgGのその標的に対する結合を妨害する場合もある。他の例では、該第二の薬剤は、B1b細胞の活性化を阻害する場合もあれば、B1b細胞を除去する場合もある。

30

【0353】

いくつかの実施形態では、該第二の薬剤は、LNPによる天然のIgM、IgGの産生、及び／またはB1a及び／またはB1b細胞の活性化を阻害する薬剤であり得る。かかる薬剤は、B1a細胞（例えば、CD36及びC5a）またはB1b細胞の表面受容体のアンタゴニスト、例えば、該表面受容体に結合し、その同族リガンド（例えば、ある特定のLNPにおけるホスファチジルコリン等の脂質成分）に対するその結合を妨害する抗体または小分子阻害剤でよい。

40

【0354】

他の実施形態では、該第二の薬剤は、LNPによる血小板及び／または補体系（古典経路または第二経路）の活性化を阻害する薬剤でよい。かかる薬剤は、CD36アンタゴニスト、TLRアンタゴニスト、または該補体カスケードにおける任意の成分のアンタゴニストでよい。かかるアンタゴニストは、当該標的の1つに対して特異的なアンタゴニスト抗体でよい。いくつかの例では、該アンタゴニストは、補体系の1つ以上のセリンプロテアーゼ成分を標的とするプロテアーゼ阻害剤でよい。他のCD36アンタゴニストとして

50

は、サルビアノール酸もしくはその代謝産物（例えば、RA及びDSS）、3-シンナモイルインドール、13-ペンチルベルベリン、ヘキサレリン、またはDHA等のある特定の脂肪酸が挙げられるが、これらに限定されない。

【0355】

本開示は、本明細書に提供するLNPのいずれかとの1つ以上の前述の第二の薬剤の使用を企図すると理解されたい。

【0356】

化学的定義

特定の官能基及び化学用語の定義を以下にさらに詳細に記載する。化学元素は、the Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed.、内表紙に従って識別され、特定の官能基は、概してその中に記載の通りに定義される。さらに、有機化学の一般原則、ならびに特定の官能基及び反応性は、Organic Chemistry, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito, 1999、Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry, 5th Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001、La rock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers, Inc., New York, 1989、及びCar ruthers, Some Modern Methods of Organic Sy nthesis, 3rd Edition, Cambridge University Press, Cambridge, 1987に記載される。

【0357】

本明細書に記載の化合物は、1つ以上の不斉中心を含むことができ、それ故、様々な立体異性体、例えば、エナンチオマー及び／またはジアステレオマーで存在することができる。例えば、本明細書に記載の化合物は、個々のエナンチオマー、ジアステレオマーまたは幾何異性体の形態でもよいし、ラセミ混合物及び1つ以上の立体異性体が濃縮された混合物を含めた立体異性体の混合物の形態でもよい。異性体は、キラル高圧液体クロマトグラフィー（HPLC）ならびにキラルな塩の形成及び結晶化を含めた当技術分野で知られる方法で混合物から単離してもよいし、好ましい異性体を不斉合成によって調製してもよい。例えば、Jacques et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley Interscience, New York, 1981)、Wil en et al., Tetrahedron 33:2725 (1977)、El iel, E. L. Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962)、及びWil en, S. H., Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (E. L. El iel, Ed., Uni v. of Notre Dame Press, Notre Dame, IN 1972)を参照されたい。本発明は、さらに、他の異性体を実質的に含まない個々の異性体としての化合物、及び代替的に、様々な異性体の混合物としての化合物を包含する。

【0358】

式中、

【化85】

~~~~~

は、それに対して直接結合する部分の立体化学が特定されていない単結合であり、

10

20

30

40

50

【化 8 6】

---

は、存在しないかまたは単結合であり、

【化 8 7】

---

または

【化 8 8】

---

は、単結合もしくは二重結合である。

【0 3 5 9】

特に明記しない限り、本明細書に示す構造は、1つ以上の同位体濃縮原子の存在下においてのみが異なる化合物を含むこともまた意図する。例えば、水素の重水素もしくは三重水素による置換、 $^{19}\text{F}$ の $^{18}\text{F}$ による置換、または $^{12}\text{C}$ の $^{13}\text{C}$ もしくは $^{14}\text{C}$ による置換以外の本構造を有する化合物は、本開示の範囲内である。かかる化合物は、例えば、生物学的アッセイにおける分析ツールまたはプローブとして有用である。

【0 3 6 0】

値の範囲が記載される場合、各値及び当該範囲内の部分的な範囲を包含することを意図する。例えば、「 $\text{C}_{1-6}$ アルキル」は、 $\text{C}_1$ 、 $\text{C}_2$ 、 $\text{C}_3$ 、 $\text{C}_4$ 、 $\text{C}_5$ 、 $\text{C}_6$ 、 $\text{C}_{1-6}$ 、 $\text{C}_{1-5}$ 、 $\text{C}_{1-4}$ 、 $\text{C}_{1-3}$ 、 $\text{C}_{1-2}$ 、 $\text{C}_{2-6}$ 、 $\text{C}_{2-5}$ 、 $\text{C}_{2-4}$ 、 $\text{C}_{2-3}$ 、 $\text{C}_{3-6}$ 、 $\text{C}_{3-5}$ 、 $\text{C}_{3-4}$ 、 $\text{C}_{4-6}$ 、 $\text{C}_{4-5}$ 、及び $\text{C}_{5-6}$ アルキルを包含することを意図する。

【0 3 6 1】

「脂肪族」という用語は、アルキル、アルケニル、アルキニル、及び炭素環基を指す。同様に、「ヘテロ脂肪族」という用語は、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、及びヘテロ環基を指す。

【0 3 6 2】

「アルキル」という用語は、1～10個の炭素原子を有する直鎖または分岐飽和炭化水素基のラジカルを指す（「 $\text{C}_{1-10}$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は1～9個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_{1-9}$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は1～8個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_{1-8}$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は1～7個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_{1-7}$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は1～6個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_{1-6}$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は1～5個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_{1-5}$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は1～4個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_{1-4}$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は1～3個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_{1-3}$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は1～2個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_{1-2}$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は1個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_1$ アルキル」）。いくつかの実施形態では、アルキル基は2～6個の炭素原子を有する（「 $\text{C}_{2-6}$ アルキル」）。 $\text{C}_{1-6}$ アルキル基の例としては、メチル（ $\text{C}_1$ ）、エチル（ $\text{C}_2$ ）、プロピル（ $\text{C}_3$ ）（例えば、*n*-プロピル、イソプロピル）、ブチル（ $\text{C}_4$ ）（例えば、*n*-ブチル、*tert*-ブチル、*sec*-ブチル、イソブチル）、ペンチル（ $\text{C}_5$ ）（例えば、*n*-ペンチル、3-ペンタニル、アミル、ネオペンチル、3-メチル-2-ブタニル、第三アミル）、及びヘキシル（ $\text{C}_6$ ）（例えば、*n*-ヘキシル）が挙げられる。アルキル基のさらなる例としては、*n*-ヘプチル（ $\text{C}_7$ ）、*n*-オクチル（ $\text{C}_8$ ）等が

10

20

30

40

50

挙げられる。特別の定めのない限り、アルキル基の各場合は、独立して、未置換（「未置換のアルキル」）であるか、または1つ以上の置換基（例えば、F等のハロゲン）で置換される（「置換アルキル」）。ある特定の実施形態では、該アルキル基は、未置換のC<sub>1</sub>–10アルキル（例えば、未置換のC<sub>1</sub>–6アルキル、例えば、–CH<sub>3</sub>（Me）、未置換のエチル（Et）、未置換のプロピル（Pr、例えば、未置換のn–プロピル（n–Pr）、未置換のイソプロピル（i–Pr））、未置換のブチル（Bu、例えば、未置換のn–ブチル（n–Bu）、未置換のtert–ブチル（tert–Buまたはt–Bu）、未置換のsec–ブチル（sec–Bu）、未置換のイソブチル（i–Bu））である。ある特定の実施形態では、該アルキル基は、置換C<sub>1</sub>–10アルキル（例えば、置換C<sub>1</sub>–6アルキル、例えば、–CF<sub>3</sub>、Bn）である。

10

#### 【0363】

「ハロアルキル」という用語は、置換アルキル基であり、この場合、1つ以上の水素原子が、独立して、ハロゲン、例えば、フルオロ、ブロモ、クロロ、またはヨードで置換される。いくつかの実施形態では、該ハロアルキル部分は、1～8個の炭素原子を有する（「C<sub>1</sub>–8ハロアルキル」）。いくつかの実施形態では、該ハロアルキル部分は、1～6個の炭素原子を有する（「C<sub>1</sub>–6ハロアルキル」）。いくつかの実施形態では、該ハロアルキル部分は、1～4個の炭素原子を有する（「C<sub>1</sub>–4ハロアルキル」）。いくつかの実施形態では、該ハロアルキル部分は、1～3個の炭素原子を有する（「C<sub>1</sub>–3ハロアルキル」）。いくつかの実施形態では、該ハロアルキル部分は、1～2個の炭素原子を有する（「C<sub>1</sub>–2ハロアルキル」）。ハロアルキル基の例としては、–CHF<sub>2</sub>、–CH<sub>2</sub>F、–CF<sub>3</sub>、–CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、–CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、–CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、–CCl<sub>3</sub>、–CFCl<sub>2</sub>、–CF<sub>2</sub>Cl等が挙げられる。

20

#### 【0364】

「ヘテロアルキル」という用語は、酸素、窒素、もしくは硫黄から選択される少なくとも1個のヘテロ原子（例えば、1、2、3、もしくは4個のヘテロ原子）を、親鎖の中（すなわち、隣接する炭素原子間に挿入）及び／または1つ以上の末端位置（複数可）にさらに含むアルキル基を指す。ある特定の実施形態では、ヘテロアルキル基は、1～10個の炭素原子及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基を指す（「ヘテロC<sub>1</sub>–10アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、1～9個の炭素原子及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基である（「ヘテロC<sub>1</sub>–9アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、1～8個の炭素原子及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基である（「ヘテロC<sub>1</sub>–8アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、1～7個の炭素原子及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基である（「ヘテロC<sub>1</sub>–7アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、1～6個の炭素原子及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基である（「ヘテロC<sub>1</sub>–6アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、1～5個の炭素原子及び1または2個のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基である（「ヘテロC<sub>1</sub>–5アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、1～4個の炭素原子及び1または2個のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基である（「ヘテロC<sub>1</sub>–4アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、1～3個の炭素原子及び1個のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基である（「ヘテロC<sub>1</sub>–3アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、1～2個の炭素原子及び1個のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基である（「ヘテロC<sub>1</sub>–2アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、1個の炭素原子及び1個のヘテロ原子を有する飽和基である（「ヘテロC<sub>1</sub>アルキル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキル基は、2～6個の炭素原子及び1または2個のヘテロ原子を親鎖内に有する飽和基である（「ヘテロC<sub>2</sub>–6アルキル」）。特に明記しない限り、ヘテロアルキル基の各場合は、独立して、未置換（「未置換のヘテロアルキル」）であるか、または1つ以上の置換基で置換される（「置換ヘテロアルキル」）。ある特定の実施形態では、該ヘテロアルキル基は、未置換のヘテロC<sub>1</sub>–10アルキルである。ある特定の実施形態では、該ヘテロアルキル基は、置換ヘテロC<sub>1</sub>–10アルキル

30

40

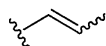
50

ルである。

### 【0365】

「アルケニル」という用語は、2～10個の炭素原子及び1つ以上の炭素間二重結合（例えば、1、2、3、または4個の二重結合）を有する直鎖または分岐炭化水素基のラジカルを指す。いくつかの実施形態では、アルケニル基は2～9個の炭素原子を有する（「 $C_{2-9}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、アルケニル基は2～8個の炭素原子を有する（「 $C_{2-8}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、アルケニル基は2～7個の炭素原子を有する（「 $C_{2-7}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、アルケニル基は2～6個の炭素原子を有する（「 $C_{2-6}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、アルケニル基は2～5個の炭素原子を有する（「 $C_{2-5}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、アルケニル基は2～4個の炭素原子を有する（「 $C_{2-4}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、アルケニル基は2～3個の炭素原子を有する（「 $C_{2-3}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、アルケニル基は2個の炭素原子を有する（「 $C_2$ アルケニル」）。該1つ以上の炭素間二重結合は、内部（例えば、2-ブテニルにおいて）でも末端（例えば、1-ブテニルにおいて）でもよい。 $C_{2-4}$ アルケニル基の例としては、エテニル（ $C_2$ ）、1-プロペニル（ $C_3$ ）、2-プロペニル（ $C_3$ ）、1-ブテニル（ $C_4$ ）、2-ブテニル（ $C_4$ ）、ブタジエニル（ $C_4$ ）等が挙げられる。 $C_{2-6}$ アルケニル基の例としては、上述の $C_{2-4}$ アルケニル基ならびにペンテニル（ $C_5$ ）、ペンタジエニル（ $C_5$ ）、ヘキセニル（ $C_6$ ）等が挙げられる。アルケニルのさらなる例としては、ヘプテニル（ $C_7$ ）、オクテニル（ $C_8$ ）、オクタトリエニル（ $C_8$ ）等が挙げられる。特別の定めのない限り、アルケニル基の各場合は、独立して、未置換（「未置換のアルケニル」）であるか、または1つ以上の置換基で置換される（「置換アルケニル」）。ある特定の実施形態では、該アルケニル基は、未置換の $C_{2-10}$ アルケニルである。ある特定の実施形態では、該アルケニル基は、置換 $C_{2-10}$ アルケニルである。アルケニル基では、立体化学が特定されていない $C=C$ 二重結合（例えば、 $-CH=CHCH_3$ または

### 【化89】



)は、(E)-二重結合でも(Z)-二重結合でもよい。

### 【0366】

「ヘテロアルケニル」という用語は、酸素、窒素、もしくは硫黄から選択される少なくとも1個のヘテロ原子（例えば、1、2、3、もしくは4個のヘテロ原子）を、親鎖の中（すなわち、隣接する炭素原子間に挿入）及び／または1つ以上の末端位置（複数可）にさらに含むアルケニル基を指す。ある特定の実施形態では、ヘテロアルケニル基は、2～10個の炭素原子、少なくとも1つの二重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する基を指す（「ヘテロ $C_{2-10}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルケニル基は、2～9個の炭素原子、少なくとも1つの二重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-9}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルケニル基は、2～8個の炭素原子、少なくとも1つの二重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-8}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルケニル基は、2～7個の炭素原子、少なくとも1つの二重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-7}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルケニル基は、2～6個の炭素原子、少なくとも1つの二重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-6}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルケニル基は、2～5個の炭素原子、少なくとも1つの二重結合、及び1または2個のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-5}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルケニル基は、2～4個の炭素原子、少なくとも1つの二重結合、及び1または2個のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-4}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルケニル基は、2～3個の炭素原子、少なくとも1つの

二重結合、及び1個のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-3}$ アルケニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルケニル基は、2～6個の炭素原子、少なくとも1つの二重結合、及び1または2個のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-6}$ アルケニル」）。特に明記しない限り、ヘテロアルケニル基の各場合は、独立して、未置換（「未置換のヘテロアルケニル」）であるか、または1つ以上の置換基で置換される（「置換ヘテロアルケニル」）。ある特定の実施形態では、該ヘテロアルケニル基は、未置換のヘテロ $C_{2-10}$ アルケニルである。ある特定の実施形態では、該ヘテロアルケニル基は、置換ヘテロ $C_{2-10}$ アルケニルである。

【0367】

「アルキニル」という用語は、2～10個の炭素原子及び1つ以上の炭素間三重結合（例えば、1、2、3、または4個の三重結合）を有する直鎖または分岐炭化水素基のラジカルを指す（「 $C_{2-10}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、アルキニル基は2～9個の炭素原子を有する（「 $C_{2-9}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、アルキニル基は2～8個の炭素原子を有する（「 $C_{2-8}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、アルキニル基は2～7個の炭素原子を有する（「 $C_{2-7}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、アルキニル基は2～6個の炭素原子を有する（「 $C_{2-6}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、アルキニル基は2～5個の炭素原子を有する（「 $C_{2-5}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、アルキニル基は2～4個の炭素原子を有する（「 $C_{2-4}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、アルキニル基は2～3個の炭素原子を有する（「 $C_{2-3}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、アルキニル基は2個の炭素原子を有する（「 $C_2$ アルキニル」）。該1つ以上の炭素間三重結合は、内部（例えば、2-ブチニルにおいて）でも末端（例えば、1-ブチニルにおいて）でもよい。 $C_{2-4}$ アルキニル基の例としては、制限なく、エチニル（ $C_2$ ）、1-プロピニル（ $C_3$ ）、2-プロピニル（ $C_3$ ）、1-ブチニル（ $C_4$ ）、2-ブチニル（ $C_4$ ）等が挙げられる。 $C_{2-6}$ アルケニル基の例としては、上述の $C_{2-4}$ アルキニル基ならびにペンチニル（ $C_5$ ）、ヘキシニル（ $C_6$ ）等が挙げられる。アルキニルのさらなる例としては、ヘプチニル（ $C_7$ ）、オクチニル（ $C_8$ ）等が挙げられる。特別の定めのない限り、アルキニル基の各場合は、独立して、未置換（「未置換のアルキニル」）であるか、または1つ以上の置換基で置換される（「置換アルキニル」）。ある特定の実施形態では、該アルキニル基は、未置換の $C_{2-10}$ アルキニルである。ある特定の実施形態では、該アルキニル基は、置換 $C_{2-10}$ アルキニルである。

【0368】

「ヘテロアルキニル」という用語は、酸素、窒素、もしくは硫黄から選択される少なくとも1個のヘテロ原子（例えば、1、2、3、もしくは4個のヘテロ原子）を、親鎖の中（すなわち、隣接する炭素原子間に挿入）及び／または1つ以上の末端位置（複数可）にさらに含むアルキニル基を指す。ある特定の実施形態では、ヘテロアルキニル基は、2～10個の炭素原子、少なくとも1つの三重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する基を指す（「ヘテロ $C_{2-10}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキニル基は、2～9個の炭素原子、少なくとも1つの三重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-9}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキニル基は、2～8個の炭素原子、少なくとも1つの三重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-8}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキニル基は、2～7個の炭素原子、少なくとも1つの三重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-7}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキニル基は、2～6個の炭素原子、少なくとも1つの三重結合、及び1個以上のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-6}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキニル基は、2～5個の炭素原子、少なくとも1つの三重結合、及び1または2個のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-5}$ アルキニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキニル基は、2～4個の炭素原子、少なくとも1つの三重結合、及び1または2個のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロ $C_{2-4}$ アルキニル」）。い

くつかの実施形態では、ヘテロアルキニル基は、2～3個の炭素原子、少なくとも1つの三重結合、及び1個のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロC<sub>2-3</sub>アルキニル」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアルキニル基は、2～6個の炭素原子、少なくとも1つの三重結合、及び1または2個のヘテロ原子を親鎖内に有する（「ヘテロC<sub>2-6</sub>アルキニル」）。特に明記しない限り、ヘテロアルキニル基の各場合は、独立して、未置換（「未置換のヘテロアルキニル」）であるか、または1つ以上の置換基で置換される（「置換ヘテロアルキニル」）。ある特定の実施形態では、該ヘテロアルキニル基は、未置換のヘテロC<sub>2-10</sub>アルキニルである。ある特定の実施形態では、該ヘテロアルキニル基は、置換ヘテロC<sub>2-10</sub>アルキニルである。

#### 【0369】

「カルボシクリル」または「炭素環式」という用語は、3～14個の環炭素原子を有する非芳香族環状炭化水素基（「C<sub>3-14</sub>カルボシクリル」）の、該非芳香族環系にヘテロ原子がないラジカルを指す。いくつかの実施形態では、カルボシクリル基は、3～10個の環炭素原子を有する（「C<sub>3-10</sub>カルボシクリル」）。いくつかの実施形態では、カルボシクリル基は、3～8個の環炭素原子を有する（「C<sub>3-8</sub>カルボシクリル」）。いくつかの実施形態では、カルボシクリル基は、3～7個の環炭素原子を有する（「C<sub>3-7</sub>カルボシクリル」）。いくつかの実施形態では、カルボシクリル基は、3～6個の環炭素原子を有する（「C<sub>3-6</sub>カルボシクリル」）。いくつかの実施形態では、カルボシクリル基は、4～6個の環炭素原子を有する（「C<sub>4-6</sub>カルボシクリル」）。いくつかの実施形態では、カルボシクリル基は、5～6個の環炭素原子を有する（「C<sub>5-6</sub>カルボシクリル」）。いくつかの実施形態では、カルボシクリル基は、5～10個の環炭素原子を有する（「C<sub>5-10</sub>カルボシクリル」）。例示的なC<sub>3-6</sub>カルボシクリル基としては、制限なく、シクロプロピル（C<sub>3</sub>）、シクロプロペニル（C<sub>3</sub>）、シクロブチル（C<sub>4</sub>）、シクロブテニル（C<sub>4</sub>）、シクロペンチル（C<sub>5</sub>）、シクロペンテニル（C<sub>5</sub>）、シクロヘキシル（C<sub>6</sub>）、シクロヘキセニル（C<sub>6</sub>）、シクロヘキサジエニル（C<sub>6</sub>）等が挙げられる。例示的なC<sub>3-8</sub>カルボシクリル基としては、制限なく、上述のC<sub>3-6</sub>カルボシクリル基、ならびにシクロヘプチル（C<sub>7</sub>）、シクロヘプテニル（C<sub>7</sub>）、シクロヘプタジエニル（C<sub>7</sub>）、シクロヘプタトリエニル（C<sub>7</sub>）、シクロオクチル（C<sub>8</sub>）、シクロオクテニル（C<sub>8</sub>）、ビスクロ[2.2.1]ヘプタニル（C<sub>7</sub>）、ビスクロ[2.2.2]オクタニル（C<sub>8</sub>）等が挙げられる。例示的なC<sub>3-10</sub>カルボシクリル基としては、制限なく、上述のC<sub>3-8</sub>カルボシクリル基、ならびにシクロノニル（C<sub>9</sub>）、シクロノネニル（C<sub>9</sub>）、シクロデシル（C<sub>10</sub>）、シクロデセニル（C<sub>10</sub>）、オクタヒドロ-1H-インデニル（C<sub>9</sub>）、デカヒドロナフタレニル（C<sub>10</sub>）、スピロ[4.5]デカニル（C<sub>10</sub>）等が挙げられる。前述の例が示す通り、ある特定の実施形態では、該カルボシクリル基は、単環式（「単環式カルボシクリル」）または多環式（例えば、縮合、架橋、もしくはスピロ環系、例えば、二環系（「二環式カルボシクリル」）または三環系（「三環式カルボシクリル」）を含む）のいずれかであり、飽和でもよいし、1つ以上の炭素間二重結合または三重結合を含んでもよい。「カルボシクリル」はまた、上記で定義されるカルボシクリル環が、結合点が該カルボシクリル環上で1つ以上のアリールまたはヘテロアリール基と縮合する環系も含み、かかる場合では、炭素数は、依然として該炭素環式環系における炭素数を指定する。特別の定めのない限り、カルボシクリル基の各場合は、独立して、未置換（「未置換のカルボシクリル」）であるか、または1つ以上の置換基で置換される（「置換カルボシクリル」）。ある特定の実施形態では、該カルボシクリル基は、未置換のC<sub>3-14</sub>カルボシクリルである。ある特定の実施形態では、該カルボシクリル基は、置換C<sub>3-14</sub>カルボシクリルである。

#### 【0370】

いくつかの実施形態では、「カルボシクリル」は、3～14個の環炭素原子を有する単環式飽和カルボシクリル基である（「C<sub>3-14</sub>シクロアルキル」）。いくつかの実施形態では、シクロアルキル基は、3～10個の環炭素原子を有する（「C<sub>3-10</sub>シクロアルキル」）。いくつかの実施形態では、シクロアルキル基は、3～8個の環炭素原子を有する

10

20

30

40

50

(「 $C_3-8$ シクロアルキル」)。いくつかの実施形態では、シクロアルキル基は、3～6個の環炭素原子を有する(「 $C_3-6$ シクロアルキル」)。いくつかの実施形態では、シクロアルキル基は、4～6個の環炭素原子を有する(「 $C_4-6$ シクロアルキル」)。いくつかの実施形態では、シクロアルキル基は、5～6個の環炭素原子を有する(「 $C_5-6$ シクロアルキル」)。いくつかの実施形態では、シクロアルキル基は、5～10個の環炭素原子を有する(「 $C_5-10$ シクロアルキル」)。  $C_5-6$ シクロアルキル基の例としては、シクロペンチル( $C_5$ )及びシクロヘキシル( $C_6$ )が挙げられる。 $C_3-6$ シクロアルキル基の例としては、上述の  $C_5-6$ シクロアルキル基、ならびにシクロプロピル( $C_3$ )及びシクロブチル( $C_4$ )が挙げられる。 $C_3-8$ シクロアルキル基の例としては、上述の  $C_3-6$ シクロアルキル基、ならびにシクロヘプチル( $C_7$ )及びシクロオクチル( $C_8$ )が挙げられる。特別の定めのない限り、シクロアルキル基の各場合は、独立して、未置換(「未置換のシクロアルキル」)であるか、または1つ以上の置換基で置換される(「置換シクロアルキル」)。ある特定の実施形態では、該シクロアルキル基は、未置換の  $C_3-14$ シクロアルキルである。ある特定の実施形態では、該シクロアルキル基は、置換  $C_3-14$ シクロアルキルである。

#### 【0371】

「ヘテロシクリル」または「ヘテロ環式」という用語は、環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する3～14員の非芳香族環系のラジカルを指し、この場合、各ヘテロ原子は独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される(「3～14員のヘテロシクリル」)。1個以上の窒素原子を含むヘテロシクリル基では、結合点は、価数に応じて炭素原子でも窒素原子でもよい。ヘテロシクリル基は、単環式(「単環式ヘテロシクリル」)または多環式(例えば、縮合、架橋、もしくはスピロ環系、例えば、二環系(「二環式ヘテロシクリル」)または三環系(「三環式ヘテロシクリル」)のいずれかでよく、飽和でもよい、1つ以上の炭素間二重結合または三重結合を含んでもよい。ヘテロシクリル多環式環系は、1つまたは両方の環に1個以上のヘテロ原子を含むことができる。「ヘテロシクリル」はまた、上記で定義されるヘテロシクリル環が、結合点が該カルボシクリルまたはヘテロシクリル環上のいずれかで1つ以上のカルボシクリル基と縮合する環系、または、上記で定義されるヘテロシクリル環が、結合点が該ヘテロシクリル環上で1つ以上のアリアルもしくはヘテロアリアル基と縮合する環系も含み、かかる場合では、環員数は、依然として該ヘテロシクリル環系における環員数を指定する。特別の定めのない限り、ヘテロシクリルの各場合は、独立して、未置換(「未置換のヘテロシクリル」)であるか、または1つ以上の置換基で置換される(「置換ヘテロシクリル」)。ある特定の実施形態では、該ヘテロシクリル基は、未置換の3～14員ヘテロシクリルである。ある特定の実施形態では、該ヘテロシクリル基は、置換3～14員ヘテロシクリルである。

#### 【0372】

いくつかの実施形態では、ヘテロシクリル基は、環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～10員の非芳香族環系であり、この場合、各ヘテロ原子は独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される(「5～10員のヘテロシクリル」)。いくつかの実施形態では、ヘテロシクリル基は、環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～8員の非芳香族環系であり、この場合、各ヘテロ原子は独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される(「5～8員のヘテロシクリル」)。いくつかの実施形態では、ヘテロシクリル基は、環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～6員の非芳香族環系であり、この場合、各ヘテロ原子は独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される(「5～6員のヘテロシクリル」)。いくつかの実施形態では、該5～6員のヘテロシクリルは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1～3個の環ヘテロ原子を有する。いくつかの実施形態では、該5～6員のヘテロシクリルは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1～2個の環ヘテロ原子を有する。いくつかの実施形態では、該5～6員のヘテロシクリルは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1個の環ヘテロ原子を有する。各可能性は、本発明の別々の実施形態を表す。

#### 【0373】

1 個のヘテロ原子を含む例示的な 3 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、アジリジニル、オキシラニル、及びチイラニルが挙げられる。1 個のヘテロ原子を含む例示的な 4 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、アゼチジニル、オキセタニル、及びチエタニルが挙げられる。1 個のヘテロ原子を含む例示的な 5 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、テトラヒドロフラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチオフエニル、ジヒドロチオフエニル、ピロリジニル、ジヒドロピロリル、及びピロリル-2, 5-ジオンが挙げられる。2 個のヘテロ原子を含む例示的な 5 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、ジオキサニル、オキサチオラニル及びジチオラニルが挙げられる。3 個のヘテロ原子を含む例示的な 5 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、トリアゾリニル、オキサジアゾリニル、及びチアアジアゾリニルが挙げられる。1 個のヘテロ原子を含む例示的な 6 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、ピペリジニル、テトラヒドロピラニル、ジヒドロピリジニル、及びチアニルが挙げられる。2 個のヘテロ原子を含む例示的な 6 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、ピペラジニル、モルホリニル、ジチアニル、及びジオキサニルが挙げられる。2 個のヘテロ原子を含む例示的な 6 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、トリアジナニルが挙げられる。1 個のヘテロ原子を含む例示的な 7 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、アゼパニル、オキセパニル及びチエパニルが挙げられる。1 個のヘテロ原子を含む例示的な 8 員のヘテロシクリル基としては、制限なく、アゾカニル、オキセカニル及びチオカニルが挙げられる。例示的な二環式ヘテロシクリル基としては、制限なく、インドリニル、イソインドリニル、ジヒドロベンゾフラニル、ジヒドロベンゾチエニル、テトラヒドロベンゾチエニル、テトラヒドロベンゾフラニル、テトラヒドロインドリル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、デカヒドロイソキノリニル、オクタヒドロクロメニル、オクタヒドロイソクロメニル、デカヒドロナフチリジニル、デカヒドロ-1, 8-ナフチリジニル、オクタヒドロピロロ [3, 2-b] ピロール、インドリニル、フタルイミジル、ナフタルイミジル、クロマニル、クロメニル、1H-ベンゾ [e] [1, 4] ジアゼピニル、1, 4, 5, 7-テトラヒドロピラノ [3, 4-b] ピロリル、5, 6-ジヒドロ-4H-フロ [3, 2-b] ピロリル、6, 7-ジヒドロ-5H-フロ [3, 2-b] ピラニル、5, 7-ジヒドロ-4H-チエノ [2, 3-c] ピラニル、2, 3-ジヒドロ-1H-ピロロ [2, 3-b] ピリジニル、2, 3-ジヒドロフロ [2, 3-b] ピリジニル、4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-1H-ピロロ [2, 3-b] ピリジニル、4, 5, 6, 7-テトラヒドロフロ [3, 2-c] ピリジニル、4, 5, 6, 7-テトラヒドロチエノ [3, 2-b] ピリジニル、1, 2, 3, 4-テトラヒドロ-1, 6-ナフチリジニル等が挙げられる。

#### 【0374】

「アリール」という用語は、6～14 個の環炭素原子を有する単環式または多環式（例えば、二環式もしくは三環式） $4n+2$  芳香環系（例えば、環状アレイで共有される 6、10、または 14 個の  $\pi$  電子を有する）の、該芳香環系にヘテロ原子がないラジカルを指す（「 $C_{6-14}$  アリール」）。いくつかの実施形態では、アリール基は、6 個の環炭素原子を有する（「 $C_6$  アリール」、例えば、フェニル）。いくつかの実施形態では、アリール基は、10 個の環炭素原子を有する（「 $C_{10}$  アリール」、例えば、1-ナフチル及び 2-ナフチル等のナフチル）。いくつかの実施形態では、アリール基は、14 個の環炭素原子を有する（「 $C_{14}$  アリール」、例えば、アントラシル）。「アリール」はまた、上記で定義されるアリール環が、結合ラジカルまたは点が該アリール環上で 1 つ以上のカルボシクリルまたはヘテロシクリル基と縮合する環系も含み、かかる場合では、炭素原子数は、依然として該アリール環系における炭素原子数を指定する。特別の定めのない限り、アリール基の各場合は、独立して、未置換（「未置換のアリール」）であるか、または 1 つ以上の置換基で置換される（「置換アリール」）。ある特定の実施形態では、該アリール基は、未置換の  $C_{6-14}$  アリールである。ある特定の実施形態では、該アリール基は、置換  $C_{6-14}$  アリールである。

#### 【0375】

「ヘテロアリール」という用語は、当該芳香環系に環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～14員の単環式または多環式（例えば、二環式、三環式） $4n+2$ 芳香環系（例えば、環状アレイで共有される6、10、または14個の $\pi$ 電子を有する）のラジカルを指し、この場合、各ヘテロ原子は独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される（「5～14員のヘテロアリール」）。1個以上の窒素原子を含むヘテロアリール基では、結合点は、価数に応じて炭素原子でも窒素原子でもよい。ヘテロアリール多環式環系は、1つまたは両方の環に1個以上のヘテロ原子を含むことができる。「ヘテロアリール」は、上記で定義されるヘテロアリール環が、結合点が該ヘテロアリール環上で1つ以上のカルボシクリルまたはヘテロシクリル基と縮合する環系を含み、かかる場合では、環員数は、依然として該ヘテロアリール環系における環員数を指定する。「ヘテロアリール」はまた、上記で定義されるヘテロアリール環が、結合点が該アリールまたはヘテロアリール環上のいずれかである1つ以上のアリール基と縮合する環系も含み、かかる場合では、環員数は、該縮合多環式（アリール／ヘテロアリール）環系における環員数を指定する。1つの環がヘテロ原子を含まない多環式ヘテロアリール基（例えば、インドリル、キノリニル、カルバゾリル等）の結合点は、いずれかの環、すなわち、ヘテロ原子を有する環（例えば、2-インドリル）、またはヘテロ原子を含まない環（例えば、5-インドリル）のいずれかにおいてよい。

【0376】

いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は、芳香環系に環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～10員の芳香環系であり、この場合、各ヘテロ原子は独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される（「5～10員のヘテロアリール」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は、芳香環系に環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～8員の芳香環系であり、この場合、各ヘテロ原子は独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される（「5～8員のヘテロアリール」）。いくつかの実施形態では、ヘテロアリール基は、芳香環系に環炭素原子及び1～4個の環ヘテロ原子を有する5～6員の芳香環系であり、この場合、各ヘテロ原子は独立して、窒素、酸素、及び硫黄から選択される（「5～6員のヘテロアリール」）。いくつかの実施形態では、該5～6員のヘテロアリールは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1～3個の環ヘテロ原子を有する。いくつかの実施形態では、該5～6員のヘテロアリールは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1～2個の環ヘテロ原子を有する。いくつかの実施形態では、該5～6員のヘテロアリールは、窒素、酸素、及び硫黄から選択される1個の環ヘテロ原子を有する。特別の定めのない限り、ヘテロアリール基の各場合は、独立して、未置換（「未置換のヘテロアリール」）であるか、または1つ以上の置換基で置換される（「置換ヘテロアリール」）。ある特定の実施形態では、該ヘテロアリール基は、未置換の5～14員ヘテロアリールである。ある特定の実施形態では、該ヘテロアリール基は、置換5～14員ヘテロアリールである。

【0377】

1個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロアリール基としては、制限なく、ピロリル、フラニル、及びチオフエニルが挙げられる。2個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロアリール基としては、制限なく、イミダゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、及びイソチアゾリルが挙げられる。3個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロアリール基としては、制限なく、トリアゾリル、オキサジアゾリル、及びチアジアゾリルが挙げられる。4個のヘテロ原子を含む例示的な5員のヘテロアリール基としては、制限なく、テトラゾリルが挙げられる。1個のヘテロ原子を含む例示的な6員のヘテロアリール基としては、制限なく、ピリジニルが挙げられる。2個のヘテロ原子を含む例示的な6員のヘテロアリール基としては、制限なく、ピリダジニル、ピリミジニル、及びピラジニルが挙げられる。3または4個のヘテロ原子を含む例示的な6員のヘテロアリール基としては、制限なく、それぞれ、トリアジニル及びテトラジニルが挙げられる。1個のヘテロ原子を含む例示的な7員のヘテロアリール基としては、制限なく、アゼピニル、オキセピニル、及びチエピニルが挙げられる。例示的な5，6-二環式ヘテ

10

20

30

40

50

ロアリアル基としては、制限なく、インドリル、イソインドリル、インダゾリル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾチオフェニル、イソベンゾチオフェニル、ベンゾフラニル、ベンゾイソフラニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾイソオキサゾリル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンズチアゾリル、ベンゾイソチアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、インドリジニル、及びプリニルが挙げられる。例示的な6, 6-二環式ヘテロアリアル基としては、制限なく、ナフチリジニル、プテリジニル、キノリニル、イソキノリニル、シンノリニル、キノキサリニル、フタラジニル、及びキナゾリニルが挙げられる。例示的な三環式ヘテロアリアル基としては、制限なく、フェナントリジニル、ジベンゾフラニル、カルバゾリル、アクリジニル、フェノチアジニル、フェノキサジニル及びフェナジニルが挙げられる。

10

#### 【0378】

「不飽和結合」という用語は、二重または三重結合を指す。「不飽和」または「部分不飽和」という用語は、少なくとも1つの二重または三重結合を含む部分を指す。「飽和」という用語は、二重結合も三重結合も含まない部分、すなわち、単結合のみを含む部分を指す。

#### 【0379】

基に末尾「エン」を加えることは、当該基が二価の部分であることを示し、例えば、アルキレンは、アルキルの二価の部分であり、アルケニレンは、アルケニルの二価の部分であり、アルキニレンは、アルキニルの二価の部分であり、ヘテロアルキレンは、ヘテロアルキルの二価の部分であり、ヘテロアルケニレンは、ヘテロアルケニルの二価の部分であり、ヘテロアルキニレンは、ヘテロアルキニルの二価の部分であり、カルボシクリレンは、カルボシクリルの二価の部分であり、ヘテロシクリレンは、ヘテロシクリルの二価の部分であり、アリーレンは、アリールの二価の部分であり、ヘテロアリーレンは、ヘテロアリールの二価の部分である。

20

#### 【0380】

基は、明確に特別の定めのない限り、任意に置換される。「任意に置換される」という表現は、置換されるまたは未置換であることを指す。ある特定の実施形態では、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリール基は、任意に置換される。「任意に置換される」は、置換でも未置換でもよい基を指す（例えば、「置換」もしくは「未置換」アルキル、「置換」もしくは「未置換」アルケニル、「置換」もしくは「未置換」アルキニル、「置換」もしくは「未置換」ヘテロアルキル、「置換」もしくは「未置換」ヘテロアルケニル、「置換」もしくは「未置換」ヘテロアルキニル、「置換」もしくは「未置換」カルボシクリル、「置換」もしくは「未置換」ヘテロシクリル、「置換」もしくは「未置換」アリール、または「置換」もしくは「未置換」ヘテロアリール基）。一般に、「置換」という用語は、基に存在する少なくとも1つの水素が、許容される置換基、例えば、置換後に安定化合物、例えば、転位、環化、脱離、または他の反応による等の変換を自然に受けない化合物をもたらす置換基で置換されることを意味する。特に断りのない限り、「置換される」基は、当該基の1つ以上の置換可能な位置に置換基を有し、任意の所定の構造の2か所以上が置換される場合、当該置換基は、各位置で同一または異なるかのいずれかである。「置換される」という用語は、有機化合物のすべての許容される置換基での置換を含むことを企図し、安定化合物の形成をもたらす本明細書に記載の置換基のいずれかを含む。本発明は、安定化合物に至るようなありとあらゆる組み合わせを企図する。本発明の目的のため、窒素等のヘテロ原子は、水素置換基、及び／または、当該ヘテロ原子の価数を満たし、安定部分の形成をもたらす本明細書に記載の任意の適切な置換基を有し得る。本発明は、いかなる方法によっても、本明細書に記載の例示的な置換基によって限定されることを意図しない。

30

40

#### 【0381】

例示的な炭素原子の置換基としては、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{aa}$ 、 $-ON(R^{bb})_2$ 、 $-N(R^{bb})_2$ 、 $-N(R^{bb})$

50

$\text{)}_3^+ \text{X}^-$ 、 $-\text{N}(\text{OR}^{\text{c c}})\text{R}^{\text{b b}}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{SSR}^{\text{c c}}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{C}(\text{OR}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{OCO}_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2$ 、 $-\text{NR}^{\text{b b}}\text{C}(=\text{O})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{b b}}\text{CO}_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{b b}}\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}^{\text{b b}})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}^{\text{b b}})\text{OR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{OC}(=\text{NR}^{\text{b b}})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{OC}(=\text{NR}^{\text{b b}})\text{OR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}^{\text{b b}})\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2$ 、 $-\text{OC}(=\text{NR}^{\text{b b}})\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2$ 、 $-\text{NR}^{\text{b b}}\text{C}(=\text{NR}^{\text{b b}})\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{b b}}\text{SO}_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{NR}^{\text{b b}}\text{SO}_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{SO}_2\text{OR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{OSO}_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{OS}(=\text{O})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{Si}(\text{R}^{\text{a a}})_3$ 、 $-\text{OSi}(\text{R}^{\text{a a}})_3$ 、 $-\text{C}(=\text{S})\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{SR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{C}(=\text{S})\text{SR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{SC}(=\text{S})\text{SR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{SC}(=\text{O})\text{SR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{SR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{SC}(=\text{O})\text{OR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{SC}(=\text{O})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{R}^{\text{a a}})_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{R}^{\text{a a}})_2$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2)_2$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2)_2$ 、 $-\text{NR}^{\text{b b}}\text{P}(=\text{O})(\text{R}^{\text{a a}})_2$ 、 $-\text{NR}^{\text{b b}}\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{NR}^{\text{b b}}\text{P}(=\text{O})(\text{N}(\text{R}^{\text{b b}})_2)_2$ 、 $-\text{P}(\text{R}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{P}(\text{OR}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{P}(\text{R}^{\text{c c}})_3^+ \text{X}^-$ 、 $-\text{P}(\text{OR}^{\text{c c}})_3^+ \text{X}^-$ 、 $-\text{P}(\text{R}^{\text{c c}})_4$ 、 $-\text{P}(\text{OR}^{\text{c c}})_4$ 、 $-\text{OP}(\text{R}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{R}^{\text{c c}})_3^+ \text{X}^-$ 、 $-\text{OP}(\text{OR}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{OP}(\text{OR}^{\text{c c}})_3^+ \text{X}^-$ 、 $-\text{OP}(\text{R}^{\text{c c}})_4$ 、 $-\text{OP}(\text{OR}^{\text{c c}})_4$ 、 $-\text{B}(\text{R}^{\text{a a}})_2$ 、 $-\text{B}(\text{OR}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{BR}^{\text{a a}}(\text{OR}^{\text{c c}})$ 、 $\text{C}_{1-10}$ アルキル、 $\text{C}_{1-10}$ パーハロアルキル、 $\text{C}_{2-10}$ アルケニル、 $\text{C}_{2-10}$ アルキニル、ヘテロ $\text{C}_{1-10}$ アルキル、ヘテロ $\text{C}_{2-10}$ アルケニル、ヘテロ $\text{C}_{2-10}$ アルキニル、 $\text{C}_{3-10}$ カルボシクリル、3～14員のヘテロシクリル、 $\text{C}_{6-14}$ アリール、及び5～14員のヘテロアリールが挙げられるがこれらに限定されず、この場合、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、独立して、0、1、2、3、4、もしくは5個の $\text{R}^{\text{d d}}$ 基で置換され、 $\text{X}^-$ は対イオンであり、または、炭素原子上の2つのジェミナル水素は、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 $=\text{NN}(\text{R}^{\text{b b}})_2$ 、 $=\text{NNR}^{\text{b b}}\text{C}(=\text{O})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $=\text{NNR}^{\text{b b}}\text{C}(=\text{O})\text{OR}^{\text{a a}}$ 、 $=\text{NNR}^{\text{b b}}\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $=\text{NR}^{\text{b b}}$ 、もしくは $=\text{NOR}^{\text{c c}}$ の基で交換され、 $\text{R}^{\text{a a}}$ の各場合は、独立して、 $\text{C}_{1-10}$ アルキル、 $\text{C}_{1-10}$ パーハロアルキル、 $\text{C}_{2-10}$ アルケニル、 $\text{C}_{2-10}$ アルキニル、ヘテロ $\text{C}_{1-10}$ アルキル、ヘテロ $\text{C}_{2-10}$ アルケニル、ヘテロ $\text{C}_{2-10}$ アルキニル、 $\text{C}_{3-10}$ カルボシクリル、3～14員のヘテロシクリル、 $\text{C}_{6-14}$ アリール、及び5～14員のヘテロアリールから選択されるか、または2つの $\text{R}^{\text{a a}}$ 基が一緒になって3～14員のヘテロシクリルもしくは5～14員のヘテロアリール環を形成し、この場合、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、独立して、0、1、2、3、4、もしくは5個の $\text{R}^{\text{d d}}$ 基で置換され、 $\text{R}^{\text{b b}}$ の各場合は、独立して、水素、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{N}(\text{R}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}^{\text{c c}})\text{OR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{C}(=\text{NR}^{\text{c c}})\text{N}(\text{R}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{N}(\text{R}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^{\text{c c}}$ 、 $-\text{SO}_2\text{OR}^{\text{c c}}$ 、 $-\text{SOR}^{\text{a a}}$ 、 $-\text{C}(=\text{S})\text{N}(\text{R}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{SR}^{\text{c c}}$ 、 $-\text{C}(=\text{S})\text{SR}^{\text{c c}}$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{R}^{\text{a a}})_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^{\text{c c}})_2$ 、 $-\text{P}(=\text{O})(\text{N}(\text{R}^{\text{c c}})_2)_2$ 、 $\text{C}_{1-10}$ アルキル、 $\text{C}_{1-10}$ パーハロアルキル、 $\text{C}_{2-10}$ アルケニル、 $\text{C}_{2-10}$ アルキニル、ヘテロ $\text{C}_{1-10}$ アルキル、ヘテロ $\text{C}_{2-10}$ アルケニル、ヘテロ $\text{C}_{2-10}$ アルキニル、 $\text{C}_{3-10}$ カルボシクリル、3～14員のヘテロシクリル、 $\text{C}_{6-14}$ アリール、及び5～14員のヘテロアリールから選択されるか、または2つの $\text{R}^{\text{b b}}$ 基が一緒になって3～14員のヘテロシクリルもしくは5～14員のヘテロアリール環を形成し、この場合、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリー

10

20

30

40

50

ル、及びヘテロアリールは、独立して、0、1、2、3、4、もしくは5個の $R^{dd}$ 基で置換され、 $X^-$ は対イオンであり、

$R^{cc}$ の各場合は、独立して、水素、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ パーハロアルキル、 $C_{2-10}$ 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員のヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリール、及び5～14員のヘテロアリールから選択されるか、または2つの $R^{cc}$ 基が一緒になって3～14員のヘテロシクリルもしくは5～14員のヘテロアリール環を形成し、この場合、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、独立して、0、1、2、3、4、もしくは5個の $R^{dd}$ 基で置換され、

$R^{dd}$ の各場合は、独立して、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-OH$ 、 $-OR^{ee}$ 、 $-ON(R^{ff})_2$ 、 $-N(R^{ff})_2$ 、 $-N(R^{ff})_3^+X^-$ 、 $-N(OR^{ee})R^{ff}$ 、 $-SH$ 、 $-SR^{ee}$ 、 $-SSR^{ee}$ 、 $-C(=O)R^{ee}$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2R^{ee}$ 、 $-OC(=O)R^{ee}$ 、 $-OCO_2R^{ee}$ 、 $-C(=O)N(R^{ff})_2$ 、 $-OC(=O)N(R^{ff})_2$ 、 $-NR^{ff}C(=O)R^{ee}$ 、 $-NR^{ff}CO_2R^{ee}$ 、 $-NR^{ff}C(=O)N(R^{ff})_2$ 、 $-C(=NR^{ff})OR^{ee}$ 、 $-OC(=NR^{ff})R^{ee}$ 、 $-OC(=NR^{ff})OR^{ee}$ 、 $-C(=NR^{ff})N(R^{ff})_2$ 、 $-OC(=NR^{ff})N(R^{ff})_2$ 、 $-NR^{ff}C(=NR^{ff})N(R^{ff})_2$ 、 $-NR^{ff}SO_2R^{ee}$ 、 $-SO_2N(R^{ff})_2$ 、 $-SO_2R^{ee}$ 、 $-SO_2OR^{ee}$ 、 $-OSO_2R^{ee}$ 、 $-S(=O)R^{ee}$ 、 $-Si(R^{ee})_3$ 、 $-OSi(R^{ee})_3$ 、 $-C(=S)N(R^{ff})_2$ 、 $-C(=O)SR^{ee}$ 、 $-C(=S)SR^{ee}$ 、 $-SC(=S)SR^{ee}$ 、 $-P(=O)(OR^{ee})_2$ 、 $-P(=O)(R^{ee})_2$ 、 $-OP(=O)(R^{ee})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{ee})_2$ 、 $C_{1-6}$ アルキル、 $C_{1-6}$ パーハロアルキル、 $C_{2-6}$ アルケニル、 $C_{2-6}$ アルキニル、ヘテロ $C_{1-6}$ アルキル、ヘテロ $C_{2-6}$ アルケニル、ヘテロ $C_{2-6}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、3～10員のヘテロシクリル、 $C_{6-10}$ アリール、5～10員のヘテロアリールから選択され、この場合、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、独立して、0、1、2、3、4、もしくは5個の $R^{gg}$ 基で置換されるか、または、2つのジェミナル $R^{dd}$ 置換基が一緒になって $=O$ もしくは $=S$ を形成することができ、 $X^-$ は対イオンであり、

$R^{ee}$ の各場合は、独立して、 $C_{1-6}$ アルキル、 $C_{1-6}$ パーハロアルキル、 $C_{2-6}$ アルケニル、 $C_{2-6}$ アルキニル、ヘテロ $C_{1-6}$ アルキル、ヘテロ $C_{2-6}$ アルケニル、ヘテロ $C_{2-6}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、 $C_{6-10}$ アリール、3～10員のヘテロシクリル、及び3～10員のヘテロアリールから選択され、この場合、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、独立して、0、1、2、3、4、または5個の $R^{gg}$ 基で置換され、

$R^{ff}$ の各場合は、独立して、水素、 $C_{1-6}$ アルキル、 $C_{1-6}$ パーハロアルキル、 $C_{2-6}$ アルケニル、 $C_{2-6}$ アルキニル、ヘテロ $C_{1-6}$ アルキル、ヘテロ $C_{2-6}$ アルケニル、ヘテロ $C_{2-6}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、3～10員のヘテロシクリル、 $C_{6-10}$ アリール及び5～10員のヘテロアリールから選択されるか、または2つの $R^{ff}$ 基が一緒になって3～10員のヘテロシクリルもしくは5～10員のヘテロアリール環を形成し、この場合、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、独立して、0、1、2、3、4、もしくは5個の $R^{gg}$ 基で置換され、

$R^{gg}$ の各場合は、独立して、ハロゲン、 $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-SO_2H$ 、 $-SO_3H$ 、 $-OH$ 、 $-OC_{1-6}$ アルキル、 $-ON(C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-N(C_{1-6}$ アルキル) $_3^+X^-$ 、 $-NH(C_{1-6}$ アルキル) $_2^+X^-$ 、 $-NH_2(C_{1-6}$ アルキル) $^+X^-$ 、 $-NH_3^+X^-$ 、 $-N(OC_{1-6}$ アルキル)( $C_{1-6}$

10

20

30

40

50

アルキル)、 $-N(OH)$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-NH(OH)$ 、 $-SH$ 、 $-SC_{1-6}$ アルキル、 $-SS$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-C(=O)$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-OC(=O)$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-OCO_2$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)N$  ( $C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-OC(=O)NH$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-NHC(=O)$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-N$  ( $C_{1-6}$ アルキル)  $C(=O)$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-NHCO_2$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-NHC(=O)N$  ( $C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-NHC(=O)NH$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-C(=NH)O$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-OC(=NH)$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-OC(=NH)OC_{1-6}$ アルキル、 $-C(=NH)N$  ( $C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-C(=NH)NH$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-OC(=NH)N$  ( $C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-OC(NH)NH$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-OC(NH)NH_2$ 、 $-NHC(NH)N$  ( $C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-NHC(=NH)NH_2$ 、 $-NH SO_2$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-SO_2N$  ( $C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-SO_2NH$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2C_{1-6}$ アルキル、 $-SO_2OC_{1-6}$ アルキル、 $-OSO_2C_{1-6}$ アルキル、 $-SOC_{1-6}$ アルキル、 $-Si$  ( $C_{1-6}$ アルキル) $_3$ 、 $-OSi$  ( $C_{1-6}$ アルキル) $_3$ 、 $-C(=S)N$  ( $C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $C(=S)NH$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $C(=S)NH_2$ 、 $-C(=O)S$  ( $C_{1-6}$ アルキル)、 $-C(=S)SC_{1-6}$ アルキル、 $-SC(=S)SC_{1-6}$ アルキル、 $-P(=O)(OC_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-P(=O)(C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-OP(=O)(C_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $-OP(=O)(OC_{1-6}$ アルキル) $_2$ 、 $C_{1-6}$ アルキル、 $C_{1-6}$ パーハロアルキル、 $C_2-$

$_6$ アルケニル、 $C_{2-6}$ アルキニル、ヘテロ $C_{1-6}$ アルキル、ヘテロ $C_{2-6}$ アルケニル、ヘテロ $C_{2-6}$ アルキニル、 $C_{3-10}$ カルボシクリル、 $C_{6-10}$ アリール、3～10員のヘテロシクリル、5～10員のヘテロアリールであるか、または、2つのジェミナルR<sub>g</sub>置換基が一緒になって=Oもしくは=Sを形成することができ、 $X^-$ は対イオンである。

#### 【0382】

「ハロ」または「ハロゲン」という用語は、フッ素（フルオロ、 $-F$ ）、塩素（クロロ、 $-Cl$ ）、臭素（ブロモ、 $-Br$ ）、またはヨウ素（ヨード、 $-I$ ）を指す。

#### 【0383】

「ヒドロキシル」または「ヒドロキシ」という用語は、 $-OH$ 基を指す。従って、「置換ヒドロキシル」または「置換ヒドロキシ」という用語は、親分子に直接結合する酸素原子が、水素以外の基で置換されるヒドロキシル基を指し、 $-OR^{aa}$ 、 $-ON(R^{bb})_2$ 、 $-OC(=O)SR^{aa}$ 、 $-OC(=O)R^{aa}$ 、 $-OCO_2R^{aa}$ 、 $-OC(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-OC(=NR^{bb})R^{aa}$ 、 $-OC(=NR^{bb})OR^{aa}$ 、 $-OC(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ 、 $-OS(=O)R^{aa}$ 、 $-OSO_2R^{aa}$ 、 $-OSi(R^{aa})_3$ 、 $-OP(R^{cc})_2$ 、 $-OP(R^{cc})_3^+X^-$ 、 $-OP(OR^{cc})_2$ 、 $-OP(OR^{cc})_3^+X^-$ 、 $-OP(=O)(R^{aa})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{cc})_2$ 、及び $-OP(=O)(N(R^{bb}))_2$ から選択される基を含み、 $X^-$ 、 $R^{aa}$ 、 $R^{bb}$ 、及び $R^{cc}$ は、本明細書で定義される通りである。

#### 【0384】

「アミノ」という用語は、 $-NH_2$ 基を指す。従って、「置換アミノ」という用語は、一置換アミノ、二置換アミノ、または三置換アミノを指す。ある特定の実施形態では、「置換アミノ」は、一置換アミノまたは二置換アミノ基である。

#### 【0385】

「一置換アミノ」という用語は、親分子に直接結合する窒素原子が、1つの水素及び1つの水素以外の基で置換されるアミノ基を指し、 $-NH(R^{bb})$ 、 $-NHC(=O)R^{aa}$ 、 $-NHCO_2R^{aa}$ 、 $-NHC(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-NHC(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ 、 $-NH SO_2R^{aa}$ 、 $-NHP(=O)(OR^{cc})_2$ 、及び $-NHP(=O)(N(R^{bb})_2)_2$ から選択される基を含み、 $R^{aa}$ 、 $R^{bb}$ 及び $R^{cc}$ は、本明細書で

定義される通りであるが、 $-NH(R^{bb})$  基の  $R^{bb}$  は、水素ではない。

【0386】

「二置換アミノ」という用語は、親分子に直接結合する窒素原子が、2つの水素以外の基で置換されるアミノ基を指し、 $-N(R^{bb})_2$ 、 $-NR^{bb}C(=O)R^{aa}$ 、 $-NR^{bb}CO_2R^{aa}$ 、 $-NR^{bb}C(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-NR^{bb}C(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ 、 $-NR^{bb}SO_2R^{aa}$ 、 $-NR^{bb}P(=O)(OR^{cc})_2$ 、及び  $-NR^{bb}P(=O)(N(R^{bb})_2)_2$  から選択される基を含み、 $R^{aa}$ 、 $R^{bb}$ 、及び  $R^{cc}$  は、本明細書で定義される通りであるが、ただし、親分子に直接結合する窒素原子は、水素で置換されない。

【0387】

「三置換アミノ」という用語は、親分子に直接結合する窒素原子が、3つの基で置換されるアミノ基を指し、 $-N(R^{bb})_3$  及び  $-N(R^{bb})_3^+X^-$  から選択される基を含み、 $R^{bb}$  及び  $X^-$  は、本明細書で定義される通りである。

【0388】

「スルホニル」という用語は、 $-SO_2N(R^{bb})_2$ 、 $-SO_2R^{aa}$ 、及び  $-SO_2OR^{aa}$  から選択される基を指し、 $R^{aa}$  及び  $R^{bb}$  は、本明細書で定義される通りである。

【0389】

「スルフィニル」という用語は、 $-S(=O)R^{aa}$  基を指し、 $R^{aa}$  は、本明細書で定義される通りである。

【0390】

「アシル」という用語は、一般式  $-C(=O)R^{X1}$ 、 $-C(=O)OR^{X1}$ 、 $-C(=O)-O-C(=O)R^{X1}$ 、 $-C(=O)SR^{X1}$ 、 $-C(=O)N(R^{X1})_2$ 、 $-C(=S)R^{X1}$ 、 $-C(=S)N(R^{X1})_2$ 、及び  $-C(=S)S(R^{X1})$ 、 $-C(=NR^{X1})R^{X1}$ 、 $-C(=NR^{X1})OR^{X1}$ 、 $-C(=NR^{X1})SR^{X1}$ 、ならびに  $-C(=NR^{X1})N(R^{X1})_2$  を有する基を指し、式中、 $R^{X1}$  は、水素、ハロゲン、置換もしくは未置換のヒドロキシル、置換もしくは未置換のチオール、置換もしくは未置換のアミノ、置換もしくは未置換のアシル、環式もしくは非環式、置換もしくは未置換、分岐もしくは非分岐の脂肪族、環式もしくは非環式、置換もしくは未置換、分岐もしくは非分岐のヘテロ脂肪族、環式もしくは非環式、置換もしくは未置換、分岐もしくは非分岐のアルキル、環式もしくは非環式、置換もしくは未置換、分岐もしくは非分岐のアルケニル、置換もしくは未置換のアルキニル、置換もしくは未置換のアリール、置換もしくは未置換のヘテロアリール、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、モノもしくはジ脂肪族アミノ、モノもしくはジヘテロ脂肪族アミノ、モノもしくはジアルキルアミノ、モノもしくはジヘテロアルキルアミノ、モノもしくはジアリールアミノ、またはモノもしくはジヘテロアリールアミノであるか、あるいは、2つの  $R^{X1}$  基が一緒になって、5～6員のヘテロ環式環を形成する。例示的なアシル基としては、アルデヒド ( $-CHO$ )、カルボン酸 ( $-CO_2H$ )、ケトン、ハロゲン化アシル、エステル、アミド、イミン、カーボネート、カルバメート、及び尿素が挙げられる。アシル置換基としては、安定部分の形成をもたらす本明細書に記載の置換基のいずれか（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、ヘテロ環式、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキシ、イミノ、チオオキシ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシ、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシ等、これらの各々はさらに置換されていてもいなくても

10

20

30

40

50

よい) が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0391】

「カルボニル」という用語は、親分子に直接結合する炭素が  $sp^2$  混成であり、酸素、窒素、または硫黄原子で置換される基、例えば、ケトン ( $-C(=O)R^{aa}$ )、カルボン酸 ( $-CO_2H$ )、アルデヒド ( $-CHO$ )、エステル ( $-CO_2R^{aa}$ 、 $-C(=O)SR^{aa}$ 、 $-C(=S)SR^{aa}$ )、アミド ( $-C(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=O)NR^{bb}SO_2R^{aa}$ 、 $-C(=S)N(R^{bb})_2$ )、及びイミン ( $-C(=NR^{bb})R^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})OR^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ ) から選択される基を指し、 $R^{aa}$  及び  $R^{bb}$  は、本明細書で定義される通りである。

#### 【0392】

窒素原子は、価数に応じて置換されても未置換でもよく、第1級、第2級、第3級、及び第4級窒素原子を含むことができる。例示的な窒素原子の置換基としては、水素、 $-OH$ 、 $-OR^{aa}$ 、 $-N(R^{cc})_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(=O)R^{aa}$ 、 $-C(=O)N(R^{cc})_2$ 、 $-CO_2R^{aa}$ 、 $-SO_2R^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})R^{aa}$ 、 $-C(=NR^{cc})OR^{aa}$ 、 $-C(=NR^{cc})N(R^{cc})_2$ 、 $-SO_2N(R^{cc})_2$ 、 $-SO_2R^{cc}$ 、 $-SO_2OR^{cc}$ 、 $-SOR^{aa}$ 、 $-C(=S)N(R^{cc})_2$ 、 $-C(=O)SR^{cc}$ 、 $-C(=S)SR^{cc}$ 、 $-P(=O)(OR^{cc})_2$ 、 $-P(=O)(R^{aa})_2$ 、 $-P(=O)(N(R^{cc})_2)_2$ 、 $C_{1-10}$ アルキル、 $C_{1-10}$ パーハロアルキル、 $C_{2-10}$ 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員のヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリール、及び5～14員のヘテロアリールが挙げられるがこれらに限定されず、または、N原子に結合する2つの $R^{cc}$ 基が一緒になって3～14員のヘテロシクリルもしくは5～14員のヘテロアリール環を形成し、この場合、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、カルボシクリル、ヘテロシクリル、アリール、及びヘテロアリールは、独立して、0、1、2、3、4、もしくは5個の $R^{dd}$ 基で置換され、 $R^{aa}$ 、 $R^{bb}$ 、 $R^{cc}$ 及び $R^{dd}$ は、上記で定義される通りである。

#### 【0393】

ある特定の実施形態では、窒素原子上に存在する置換基は、窒素保護基（本明細書では、「アミノ保護基」とも呼ばれる）である。窒素保護基としては、 $-OH$ 、 $-OR^{aa}$ 、 $-N(R^{cc})_2$ 、 $-C(=O)R^{aa}$ 、 $-C(=O)N(R^{cc})_2$ 、 $-CO_2R^{aa}$ 、 $-SO_2R^{aa}$ 、 $-C(=NR^{cc})R^{aa}$ 、 $-C(=NR^{cc})OR^{aa}$ 、 $-C(=NR^{cc})N(R^{cc})_2$ 、 $-SO_2N(R^{cc})_2$ 、 $-SO_2R^{cc}$ 、 $-SO_2OR^{cc}$ 、 $-SOR^{aa}$ 、 $-C(=S)N(R^{cc})_2$ 、 $-C(=O)SR^{cc}$ 、 $-C(=S)SR^{cc}$ 、 $C_{1-10}$ アルキル（例えば、アラルキル、ヘテロアラルキル）、 $C_{2-10}$ 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員のヘテロシクリル、 $C_{6-14}$ アリール、及び5～14員のヘテロアリール基が挙げられるがこれらに限定されず、この場合、各アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、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、0、1、2、3、4、または5個の $R^{dd}$ 基で置換され、 $R^{aa}$ 、 $R^{bb}$ 、 $R^{cc}$ 及び $R^{dd}$ は、本明細書で定義される通りである。窒素保護基は、当技術分野で周知であり、参照することにより本明細書に組み込まれる *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley & Sons, 1999 に詳細に記載されているものを含む。

#### 【0394】

例えば、アミド基（例えば、 $-C(=O)R^{aa}$ ）等の窒素保護基としては、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)ベンズアミドが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0395】

カルバメート基 (例えば、 $-C(=O)OR^{aa}$ ) 等の窒素保護基としては、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-*t*-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-ハロエチルカルバメート、1,1-ジメチル-2,2-ジブromoエチルカルバメート (DB-*t*-BOC)、1,1-ジメチル-2,2-トリクロロエチルカルバメート (TCBOC)、1-メチル-1-(4-ビフェニル)エチルカルバメート (Bpoc)、1-(3,5-ジ-*t*-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、*t*-ブチルカルバメート (BOCまたは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-ジチアニル)]メチルカルバメート (Dmoc)、4-メチルチオフエニルカルバメート (Mtpc)、2,4-ジメチルチオフエニルカルバメート (Bmpc)、2-ホスホニオエチルカルバメート (Peoc)、2-トリフェニルホスホニオイソプロピルカルバメート (Ppoc)、1,1-ジメチル-2-シアノエチルカルバメート、m-クロロ-p-アシルオ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-ベンゾ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 (Tcroc)、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-デシルオキシベンジルカルバメート、2,2-ジメトキ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

10

20

30

40

50

(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、イソボルニルカルバメート、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-トリメ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挙げられるが、これらに限定されない。

10

#### 【0396】

スルホンアミド基(例えば、 $-S(=O)_2R^{aa}$ )等の窒素保護基としては、p-トルエンスルホンアミド(Ts)、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(Mtr)、2,4,6-トリメトキシベンゼンスルホンアミド(Mtb)、2,6-ジメチル-4-メトキシベンゼンスルホンアミド(Pme)、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(Mte)、4-メトキシベンゼンスルホンアミド(Mbs)、2,4,6-トリメチルベンゼンスルホンアミド(Mts)、2,6-ジメトキシ-4-メチルベンゼンスルホンアミド(imds)、2,2,5,7,8-ペンタメチルクロマン-6-スルホンアミド(Pmc)、メタンスルホンアミド(Ms)、 $\beta$ -トリメチルシリルエタンスルホンアミド(SES)、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(DNMBs)、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挙げられるが、これらに限定されない。

20

#### 【0397】

他の窒素保護基としては、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-ジチアスクシンイミド(Dts)、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物(STABASE)、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、4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-ボラン誘導体、N-ジフェニルボリン酸誘導体、N-[フェニル(ペンタアシルクロミウム-またはタングステン)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

30

40

50

エニルホスフィンアミド (D p p)、ジメチルチオホスフィンアミド (M p t)、ジフェニルチオホスフィンアミド (P p t)、ジアルキルホスホロアミデート、ジベンジルホスホロアミデート、ジフェニルホスホロアミデート、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 (N p s)、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 (N p y s) が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0398】

ある特定の実施形態では、酸素原子上に存在する置換基は、酸素保護基（本明細書では「ヒドロキシル保護基」とも呼ばれる）である。酸素保護基としては、 $-R^{aa}$ 、 $-N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=O)SR^{aa}$ 、 $-C(=O)R^{aa}$ 、 $-CO_2R^{aa}$ 、 $-C(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=NR^{bb})R^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})OR^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ 、 $-S(=O)R^{aa}$ 、 $-SO_2R^{aa}$ 、 $-Si(R^{aa})_3$ 、 $-P(R^c)_2$ 、 $-P(R^c)_3^+X^-$ 、 $-P(OR^c)_2$ 、 $-P(OR^c)_3^+X^-$ 、 $-P(=O)(R^{aa})_2$ 、 $-P(=O)(OR^c)_2$ 、及び $-P(=O)(N(R^{bb})_2)_2$  が挙げられるがこれらに限定されず、ここで、 $X^-$ 、 $R^{aa}$ 、 $R^{bb}$ 、及び $R^c$ は、本明細書で定義される通りである。酸素保護基は、当技術分野で周知であり、参照することにより本明細書に組み込まれる *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley & Sons, 1999 に詳細に記載されているものを含む。

#### 【0399】

例示的な酸素保護基としては、メチル、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)、グアイアコールメチル (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romotetra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-メトキシピペリジン-4-イル (CTMP)、1, 4-ジオキササン-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romofenasil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)キサントニル、9-(9-フェニル-10-オキソ)アントリル、1, 3-ベンゾジチオラン-2-イル、ベンゾイソチアゾリル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)、トリイソプロピルシリル(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、*tert*-ブチルジメチルシリル(TBDMS)、*tert*-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)、*tert*-ブチルメトキシフェニルシリル(TBMPS)、ホルメート、ベンゾイルホルメート、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-オキソペンタノエート(レプリネート)、4, 4-(エチレンジチオ)ペンタノエート(レプリノイルジチオアセタール)、ピバロエート、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(メシエート)、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)、エチルカーボネート、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(TMSEC)、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)、イソブチルカーボネート、ビニルカーボネート、アリルカーボネート、*tert*-ブチルカーボネート(BOCまたはBoc)、*p*-ニトロフェニルカーボネート、ベンジルカーボネート、*p*-メトキシベンジルカーボネート、3, 4-ジメトキシベンジルカーボネート、*o*-ニトロベンジルカーボネート、*p*-ニトロベンジルカーボネート、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、モノスクシノエート、(E)-2-メチル-2-ブテノエート、*o*-(メトキシアシル)ベンゾエート、 $\alpha$ -ナフトエート、ニトレート、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フェネート、スルフェート、メタンスルホネート(メシレート)、ベンジルスルホネート、及びトシレート(Ts)が挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0400】

ある特定の実施形態では、硫黄原子上に存在する置換基は、硫黄保護基(「チオール保護基」とも呼ばれる)である。硫黄保護基としては、 $-R^{aa}$ 、 $-N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=O)SR^{aa}$ 、 $-C(=O)R^{aa}$ 、 $-CO_2R^{aa}$ 、 $-C(=O)N(R^{bb})_2$ 、 $-C(=NR^{bb})R^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})OR^{aa}$ 、 $-C(=NR^{bb})N(R^{bb})_2$ 、 $-S(=O)R^{aa}$ 、 $-SO_2R^{aa}$ 、 $-Si(R^{aa})_3$ 、 $-P(R^{cc})_2$ 、 $-P(R^{cc})_3^+X^-$ 、 $-P(OR^{cc})_2$ 、 $-P(OR^{cc})_3^+X^-$ 、 $-P(=O)(R^{aa})_2$ 、 $-P(=O)(OR^{cc})_2$ 、及び $-P(=O)(N(R^{bb})_2)_2$ が挙げられるがこれらに限定されず、ここで、 $R^{aa}$ 、 $R^{bb}$ 、及び $R^{cc}$ は、本明細書で定義される通りである。硫黄保護基は、当技術分野で周知であり、参照することにより本明細書に組み込まれるProtecting Groups in Organic Synthesis, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3<sup>rd</sup> edition, John Wiley & Sons, 1999に詳細に記載されているものを含む。

## 【0401】

「対イオン」または「アニオン性対イオン」は、電気的中性を維持するため、正電荷を持つ基と会合した負電荷を持つ基である。アニオン性対イオンは、一価（すなわち、1つの形式負電荷を含む）でよい。アニオン性対イオンはまた、多価（すなわち、複数の形式負電荷を含む）、例えば、二価または三価でもよい。例示的な対イオンとしては、ハロゲン化物イオン（例えば、 $F^-$ 、 $Cl^-$ 、 $Br^-$ 、 $I^-$ ）、 $NO_3^-$ 、 $ClO_4^-$ 、 $OH^-$ 、 $H_2PO_4^-$ 、 $HCO_3^-$ 、 $HSO_4^-$ 、スルホネートイオン（例えば、メタンスルホネート、トリフルオロメタンスルホネート、p-トルエンスルホネート、ベンゼンスルホネート、10-カンファースルホネート、ナフタレン-2-スルホネート、ナフタレン-1-スルホン酸-5-スルホネート、エタン-1-スルホン酸-2-スルホネート等）、カルボキシレートイオン（例えば、アセテート、プロパノエート、ベンゾエート、グリセレート、ラクテート、タルトレート、グリコレート、グルコネート等）、 $BF_4^-$ 、 $PF_4^-$ 、 $PF_6^-$ 、 $AsF_6^-$ 、 $SbF_6^-$ 、 $B[3,5-(CF_3)_2C_6H_3]_4^-$ 、 $B(C_6F_5)_4^-$ 、 $BPh_4^-$ 、 $Al(OC(CF_3)_3)_4^-$ 、ならびにカーボネートアニオン（例えば、 $CB_{11}H_{12}^-$ または $(HCB_{11}Me_5Br_6)^-$ ）が挙げられる。多価でありうる例示的な対イオンとしては、 $CO_3^{2-}$ 、 $HPO_4^{2-}$ 、 $PO_4^{3-}$ 、 $B_4O_7^{2-}$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $S_2O_3^{2-}$ 、カルボキシレートアニオン（例えば、タルトレート、シトレート、フマレート、マレエート、マレート、マロネート、グルコネート、スクシネート、グルタレート、アジペート、ピメレート、スベレート、アゼレート、セバケート、サリチレート、フタレート、アルパルテート、グルタメート等）、及びカルボランが挙げられる。

## 【0402】

本明細書で使用される、「少なくとも1つの例」という成句の使用は、1、2、3、4、またはそれより多い例を指すが、範囲、例えば、端点を含めて、1～4、1～3、1～2、2～4、2～3、または3～4の例も包含する。

## 【0403】

これら及び他の例示的な置換基を、全体にわたってより詳細に記載する。本発明は、いかなる方法によっても上記例示的な置換基のリストにより限定されることを意図しない。

## 【0404】

本明細書で使用される、「塩」という用語は、ありとあらゆる塩を指し、医薬的に許容される塩を包含する。

## 【0405】

「医薬的に許容される塩」という用語は、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応等なくヒト及び下等動物の組織と接触する用途に適し、合理的なリスク・ベネフィット比に見合った塩を指す。医薬的に許容される塩は、当技術分野で周知である。例えば、Bergeらは、参照することにより本明細書に組み込まれるJ. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19において医薬的に許容される塩を詳細に記載している。本発明の化合物の医薬的に許容される塩としては、適切な無機及び有機酸ならびに塩基由来のものが挙げられる。医薬的に許容される、非毒性酸付加塩の例は、無機酸、例えば、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸、及び過塩素酸、または有機酸、例えば、酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸、もしくはマロン酸で形成される、または、イオン交換等の当技術分野で知られる他の方法を用いて形成されるアミノ基の塩である。他の医薬的に許容される塩としては、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、グルコン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサノ酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシーエタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸

塩、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩等が挙げられる。適切な塩基由来の塩としては、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、アンモニウム塩、及び $N^+(C_{1-4}\text{アルキル})_4^-$ 塩が挙げられる。代表的なアルカリまたはアルカリ土類金属塩は、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム等を含む。さらなる医薬的に許容される塩は、適切な場合、対イオン、例えば、ハロゲン化物、ヒドロキシド、カルボキシレート、スルフェート、ホスフェート、ニトレート、低級アルキルスルホネート、及びアリールスルホネートを用いて形成される非毒性のアンモニウム、4級アンモニウム、及びアミンカチオンを含む。

10

【実施例】

【0406】

高純度PEG脂質の製剤化及び性能

様々な純度のPEG脂質のバッチを試験した。小規模ロット（グラムスケール）の高度に精製された化合物（I）（式（I）の化合物、HO-PEG-ステアレート）を作製し、化合物（B）／化合物（I）のLNPの生産に向けて、化合物（I）成分用の市販原料の調査により、2つの選択肢、すなわち、（a）Sigma等の供給元からのバルクHO-PEG-ステアレートの調達、または（b）CordenもしくはBiovectra等の特殊業者からのカスタム合成の要請が、調達のために利用可能であることが示された。

20

【0407】

これら2つの選択肢を比較することにより、供給源に依存するHO-PEG-ステアレートの化学的純度の違いが明らかになった（表1）。化学的影響の違いは理解されておらず、これまで報告されていない。化学的純度の劇的な違いは、製剤化及びプロセス開発、ならびに生物学的性能における化合物（I）の純度の重要性の実証を必然的に伴う。

【0408】

30

40

50

## 【表 1】

表 1. HO-PEG-ステアレート（化合物（I））の化学的純度

| 供給源       | ロット番号         | 脂質純度親ピーク% |
|-----------|---------------|-----------|
| 合成物       | ロット番号 1       | 97.7%、n=3 |
|           | ロット番号 2       | 96.2%、n=3 |
|           | ロット番号 3       | 97.0%、n=3 |
|           | ロット番号 4       | 90.3%、n=3 |
|           | ロット番号 5       | 97.8%、n=3 |
|           | ロット番号 6       | 98.0%、n=3 |
|           | ロット番号 7       | 71.2%、n=3 |
|           | ロット番号 8       | 97.8%、n=3 |
| Corden    | ロット番号 9       | 98.5%、n=3 |
| BioVectra | ロット番号 10      | 86.6%、n=3 |
| Sigma     | PEG-40-ステアレート | 43.8%、n=3 |

## 【0409】

推奨される化合物（I）の化学的純度を特定するため、低、中、及び高純度の化合物（I）を使用してLNPを製剤化し、これらの製剤をインビトロ及びインビボ試験に供することにより、製剤化及びプロセス開発経験ならびに生物学的性能における読み取りを評価した。

## 【0410】

## 材料及び方法

定義：DOSY NMR：拡散順序分光法核磁気共鳴、UPLC-CAD：荷電化粒子検出器を備えた超高速高分離液体クロマトグラフィー、BEEFI：蛍光挿入によるカプセル化からの生物物理学的脱出、DLS：動的光散乱、PEG：ポリエチレングリコール、G5-eGFP及びG5-hEPO：Moderna mRNA第5世代高感度緑色蛍光タンパク質及びヒトエリスロポエチンタンパク質。

## 【0411】

10

20

30

40

50

## 【表 2 - 1】

表 2 A. 材料

| 材料                                                                                                           | 供給源                                                                                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 化合物 (I) (ロット番号ロット番号 1、w<br>b u - 2 4 9、ロット番号 3)                                                              | M o d e r n a   D e l i v e r y   C<br>h e m i s t r y   G r o u p                    |
| 化合物 (I) (ロット番号ロット番号 4、ロ<br>ット番号 5、ロット番号 6、ロット番号 7、<br>ロット番号 8)                                               | M o d e r n a   S c a l e - u p   P<br>r o c e s s   C h e m i s t r y   G<br>r o u p |
| 化合物 (I) (ロット番号ロット番号 9)                                                                                       | C o r d e n                                                                           |
| 化合物 (I) (ロット番号 1 0)                                                                                          | B i o V e c t r a                                                                     |
| PEG-40-ステアレート (カタログ番<br>号 P 3 4 4 0   S I G M A)                                                             | S i g m a   A l d r i c h                                                             |
| OL-6 6                                                                                                       | M o d e r n a   S c a l e - u p   P<br>r o c e s s   C h e m i s t r y                |
| 化合物 (B) (ロット番号 Y Z - 6 2 5 - 2<br>0 8)                                                                       | O r g a n i x                                                                         |
| 1, 2-ジステアロイル-sn-グリセロ<br>-3-ホスホコリン (DSPC) (カタログ<br>番号 8 5 0 3 6 5)                                            | A v a n t i   P o l a r   L i p i d<br>s                                              |
| コレステロール (カタログ番号 7 0 0 0 0<br>0)                                                                              | A v a n t i   P o l a r   L i p i d<br>s                                              |
| 1, 2-ジミリストイル-sn-グリセロ<br>ール、メトキシポリエチレングリコール (P<br>E G 2 k - D M G) (カタログ番号 SUNB<br>R I G H T (登録商標) GM-0 2 0) | N O F   A m e r i c a   C o r p o r<br>a t i o n                                      |

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

|                                                                                                                                     |                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| N-（カルボニル-メトキシポリエチレン<br>グリコール2000）-1，2-ジステア<br>ロイル-s n-グリセロール-3-ホスホエタ<br>ノールアミン（PEG2k-DSPE）（カ<br>タログ番号SUNBRIGHT（登録商標）<br>DSPE-020CN） | NOF America Corpor<br>ation |
| 1，2-ジオレオイル-s n-グリセロール<br>3-ホスホエタノールアミン-N-（リサ<br>ミンローダミンBスルホニル）（アンモニウ<br>ム塩）（ローダミン-DOPE）（カタログ<br>番号810150）                           | Avanti Polar Lipid<br>s     |
| G5-eGFP及びG5-hEPO                                                                                                                    | Moderna Production<br>Team  |

10

20

【0412】

30

40

50

## 【表 3】

表 2 B. 分析方法

| 試験                              | 方法／機器                                                 |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 化学的純度                           | UPLC、Thermo Fisher Vanquish                           |
| 製剤の調製                           | マイクロ流体ナノ沈殿、NanoAssembler、Precision Nanosystems        |
| 粒度分布及び多分散性                      | 動的光散乱、Wyatt DynaPro Plate Reader II                   |
| 液体定量                            | UPLC-CAD、Thermo Fisher Vanquish                       |
| mRNA定量                          | UPLC、Thermo Fisher Vanquish                           |
| カプセル化効率及びBEEFI（インビトロmRNA脱出アッセイ） | Quant-iT（商標）Ribogreenアッセイ、Synergy BioTek Plate Reader |
| ヘパリンーセファロース結合アッセイ               | UPLC                                                  |
| PEG拡散                           | DOSY NMR、Bruker 300 MHz NMR分光計                        |
| インビトロでの取り込み及び発現                 | HeLa細胞のインキュベーション、OPERAシステムでの生細胞の画像化及び定量化              |
| IgM結合及びApoE結合                   | ビーズベースのフローサイトメトリーアッセイ、BD Fortessa                     |

## 【0413】

## LNP製剤の調製及び特性評価

カチオン性脂質成分として化合物（B）及びPEG成分として式（I）の化合物（化合物（I））を含む脂質ナノ粒子（LNP）は、免疫系を刺激することなくタンパク質発現を維持する。この化合物（B）／化合物（I）の組み合わせでは、タンパク質発現は、化合物（B）／化合物（I）によりヒト肝細胞及びクッパー細胞の両方で観察され、抗PEG IgMレベル及び補体活性化は依然として低い（げっ歯類）。

## 【0414】

脂質を、総脂質濃度12.5mMに、モル比50：10：38.5：1.5（化合物（B）：DSPC：コレステロール：PEG-脂質）にてエタノールに溶解した。mRNAは、6.25mMの酢酸ナトリウム緩衝液（pH5）で0.125mg/mLに希釈した。NanoAssemblerを使用して、その脂質溶液及びmRNA溶液をマイクロ流体

チップ上で3:1（水性：エタノール）の比で混合した。製剤を、透析カセット内で、リン酸緩衝生理食塩水（pH7.2）に対して終夜（約12～18時間）透析した。続いて、製剤を、MWCO100kDaのAmicon超遠心フィルターを使用して濃縮し、0.22μmのSuporメンブレンを使用してシリンジ濾過した。

【0415】

脂質成分及び製剤を、多くの分析技術で分析した。脂質成分の化学的純度は、Thermo Fisher Vanquishシステムにて、超高速高分離液体クロマトグラフィー（UPLC）法を使用して特定した。粒子の粒度分布径及び多分散性指数（PDI）は、Wyatt DynaPro Plate reader IIにて、動的光散乱（DLS）を使用して測定した。カプセル化効率及びエンドソーム脱出のレベルは、Synergy BioTekのプレートリーダーを用いて、蛍光によるプレートベースのアッセイ、Quant-iT（商標）Ribogreenアッセイによって特定した。製剤の脂質の定量及びmRNAの定量は、超高速高分離液体クロマトグラフィーによって特定した。製剤の表面特性は、超高速高分離液体クロマトグラフィーシステムでのヘパリン-セファロース結合アッセイによって特定した。PEG拡散は、300MHz NMR Bruker Avance III分光計にて、DOSY NMRを使用して測定した。Hela細胞への製剤のインビトロでの取り込み及び発現は、生細胞の画像化及びOPERA顕微鏡システムでの定量化を使用して特定した。IgM結合及びApoE結合は、BD Fortessaでのビーズベースのフローサイトメトリーアッセイを使用して測定した。インビボ実験は、IACUCプロトコルに従って社内の薬理学チームが実施した。

【0416】

PEG脂質純度のインビボ試験

化合物（I）の化学的純度が、複数回投与時の発現、B細胞活性化、及び抗PEG IgM産生に与える影響を初期評価するためのインビボ設計の概要を表3に示す。

【0417】

10

20

30

40

50

## 【表 4】

表 3. 化合物 (I) の化学的純度評価のためのインビボ試験設計

| 群 | サンプル<br>(バッチ、純度)                  | 投 与<br>回数 | 動物数 | 用量レベル (mg<br>/ kg) | 用 量 体 積<br>(mL) | 用量濃度 (mg<br>/ mL) |
|---|-----------------------------------|-----------|-----|--------------------|-----------------|-------------------|
| 1 | 化合物 (B) / PEG DMG                 | 3         | 8   | 0.5                | 0.1             | 0.1               |
| 2 | 化合物 (B) / 化合物 (I) (ロット番号 5、98%)   | 3         | 8   | 0.5                | 0.1             | 0.1               |
| 3 | 化合物 (B) / 化合物 (I) (BioVectra、87%) | 3         | 8   | 0.5                | 0.1             | 0.1               |
| 4 | 化合物 (B) / 化合物 (I) (Sigma、44%)     | 3         | 8   | 0.5                | 0.1             | 0.1               |
| 5 | 化合物 (B) / 化合物 (I) (2x Sigma、44%)  | 3         | 8   | 0.5                | 0.1             | 0.1               |
| 6 | 化合物 (B) / PEG DSPE                | 3         | 8   | 0.5                | 0.1             | 0.1               |
| 7 | 1x PBS                            | 3         | 3   | 0.5                | 0.1             | 0.1               |

各群のエンドポイントは次の通りである：(a) 各投与の6時間後 hEPO ELISA、(b) 2回目及び3回目の投与の96時間後、抗PEG IgM、(c) B細胞活性化、3回目の投与の24時間後に各投与群から3つの脾臓

## 【0418】

## 貯蔵安定性の予測

化合物 (I) の化学的純度が LNP の安定性に与える影響を、各製剤を凍結可能な緩衝液 (例えば、20 mM Tris 8%スクロース) に保存し、そのバイアルを -20℃ の冷凍庫で凍結させることにより調べた。粒子成長の評価は、1、2、及び3回の凍結融解時の時間ゼロ後に行った。粒度及び PDI 測定に加えて、エンドポイントの特性評価には、DOSY NMR 分光法による %EE 及び PEG 放出が含まれる。

## 【0419】

10

20

30

40

50

## 【表 5】

表 4. 化合物 (I) の化学的純度が製剤の凍結融解に対する安定性に与える影響

| 群 | サンプル<br>(バッチ、純度)                       | 緩衝液の保存                   | [mRNA] mg/mL | バイアル量 (mL) |
|---|----------------------------------------|--------------------------|--------------|------------|
| 1 | 化合物 (B) / PEG<br>DMG                   | 20 mM Tris 8%スクロース、-20°C | 0.5          | 0.5        |
| 2 | 化合物 (B) / 化合物<br>(I) (ロット番号 5、<br>98%) | 20 mM Tris 8%スクロース、-20°C | 0.5          | 0.5        |
| 3 | 化合物 (B) / 化合物<br>(I) (BioVectra、87%)   | 20 mM Tris 8%スクロース、-20°C | 0.5          | 0.5        |
| 4 | 化合物 (B) / 化合物<br>(I) (Sigma、44%)       | 20 mM Tris 8%スクロース、-20°C | 0.5          | 0.5        |
| 5 | 化合物 (B) / 化合物<br>(I) (2x Sigma、44%)    | 20 mM Tris 8%スクロース、-20°C | 0.5          | 0.5        |

## 【0420】

## データ及び考察

化学的純度は製剤の性能及び原薬 (DS) 及び製剤 (DP) の製造に影響を与える可能性があるため、化合物 (I) の DS の特性を次の基準で評価した：(a) 原薬の製造／プロセス経験、(b) 化学的純度が生物学的性能に与える影響。開発からのデータ、ならびにインビトロ及びインビボキャンペーンを利用して、操作ウィンドウのサイズに関する理解を深めた。

## 【0421】

## (a) 製剤化プロセス経験

異なる純度の化合物 (I) を含む製剤は、製剤化の過程で同じようにはふるまわなかった (表 5)。化合物 (I) のロットのロット番号 7 (純度 71%) は、原液に溶解せず、それ以上使用しなかった。OL-66 LNP は、マイクロ流体混合の直後に沈殿した。成功した製剤は、同様の %EE 及び PSD を示したが (表 5)、それらの実際の DLS プロファイルは、極めて異なる粒度分布を示す (図 2)。nd = 未定。

## 【0422】

10

20

30

40

50

## 【表 6】

表 5. 異なる化学的純度の化合物 (I) を使用した製剤化経験

| 群 | 名称                  | Moderna 脂<br>質純度% | 透析後 (0.2 $\mu$ m 濾過) |      |     |
|---|---------------------|-------------------|----------------------|------|-----|
|   |                     |                   | 径 (nm)               | PDI  | %EE |
| 1 | 86-56 Cord<br>en    | 99                | 89.7                 | 0.16 | 98  |
| 2 | 86-56 ロット番<br>号 5   | 98                | 92.1                 | 0.16 | 97  |
| 3 | 86-56 BioV<br>ectra | 87                | 94.4                 | 0.18 | 98  |
| 4 | 86-56 Sigm<br>a     | 44                | 99.3                 | 0.19 | 97  |
| 4 | 86-56 ロット番<br>号 7   | 71                | n/d                  | n/d  | n/d |
| 5 | 86-66               | 97                | n/d                  | n/d  | n/d |

## 【0423】

LNP に組み込まれる脂質の実際の量は、化合物 (I) の初期開始純度に依存することが分かった (表 6 及び図 3)。

## 【0424】

【表 7】

表 6. LNPにおける脂質の定量

|                             | 総脂質m<br>g/mL | 化 合 物<br>(I) m o<br>l % | 化 合 物<br>(B) m<br>o l % | コレステ<br>ロール m<br>o l % | D S P<br>C m o<br>l % | [mRN<br>A] m g<br>/mL | 計算脂質：mR<br>NA w t : w<br>t | 理論脂質：mR<br>NA w t : w<br>t |
|-----------------------------|--------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------------|
| 86-5<br>6 Cor<br>den        | 14.4<br>66   | 1.72%                   | 49.4<br>4%              | 39.4<br>4%             | 9.4<br>0%             | 0.73<br>7             | 19.62                      | 20.83                      |
| 86-5<br>6 ロット<br>番号5        | 12.9<br>15   | 1.74%                   | 50.3<br>6%              | 38.5<br>4%             | 9.3<br>5%             | 0.66<br>8             | 19.35                      | 20.83                      |
| 86-5<br>6 Bio<br>Vect<br>ra | 11.1<br>31   | 1.55%                   | 50.4<br>2%              | 38.5<br>5%             | 9.4<br>8%             | 0.58<br>0             | 19.20                      | 20.83                      |
| 86-5<br>6 Sig<br>ma         | 11.6<br>48   | 0.69%                   | 51.0<br>0%              | 39.0<br>3%             | 9.2<br>8%             | 0.61<br>7             | 18.88                      | 20.83                      |

## 【0425】

すべての製剤は、ヘパリンーセファロースカラムに対して同様の結合を有する（図4）。これは、このクロマトグラフィーアッセイでは、表面特性の違いを検出できないことを示している。マウス血清中でインキュベートした異なる製剤の各々におけるLNPからのPEG放出速度もまた、DOSY-NMR分光法では互いに区別できないことが分かった（図5）。PEG放出前の表面特性は互いに区別できなかったが、PEG脂質がLNPから放出された後、mRNA脱出を測定するインビトロアッセイにより、高純度の化合物（I）を使用した製剤がRibogreen検出によってより多くのアクセス可能なmRNAを示したことが実証された（図6）。

## 【0426】

化合物（I）のSigmaのロットは化学的純度が非常に低いため、このロットを使用し、純度の不足を考慮（SigmaのPEG-脂質の量を調整し、理論上のmol%に一致するように添加）すると、同様の物理化学的特性の製剤が得られた（表7及び8、図7）。同様のLNPのPEG放出がDOSY-NMR分光法によって観察された。

## 【0427】

10

20

30

40

50

## 【表 8】

表 7. 高度に不純な化合物 (I) を使用した化合物 (I) を使用した製剤化経験

| 群 | 名称                | 製剤組成物                                                  | mol % | Moderna 脂<br>質純度% | 透析後 (0.2 μm 濾過) |        |      |
|---|-------------------|--------------------------------------------------------|-------|-------------------|-----------------|--------|------|
|   |                   |                                                        |       |                   | 径 (nm)          | PDI    | % EE |
| 7 | 86-56 Sigma<br>ma | 化合物 (B): DS<br>PC: Chol: 50:10:<br>化合物 (I)<br>38.5:1.5 |       | 44 (2 倍量の PEG 脂質) | 91              | 0.1697 |      |

10

## 【0428】

## 【表 9】

表 8. 高度に不純な化合物 (I) を使用した製剤からの脂質定量

|                   | 総脂質<br>mg/mL | 化合物<br>(I) mol % | 化合物<br>(B) mol % | コレステ<br>ロール mol % | DS PC<br>mol % | [mRNA]<br>mg/mL | 計算脂質: mRNA<br>wt: wt | 理論脂質: mRNA<br>wt: wt |
|-------------------|--------------|------------------|------------------|-------------------|----------------|-----------------|----------------------|----------------------|
| 86-56 Sigma<br>ma | 17.822       | 1.37%            | 50.38%           | 38.40%            | 9.85%          | 0.718           | 24.79                | 20.83                |

20

## 【0429】

インビトロ蛍光アッセイ用に調製した製剤は、非標識化合物 (I) の LNP と同様の物理化学的特性を有することが分かった (表 9)。非標識 DLS データの通り、実際のプロファイルは、Z 平均及び PDI のみが報告された場合にははっきりしない相違を示した (図 8)。nd = 未定。

30

40

50

## 【表 10】

表 9. 蛍光化合物 (I) の LNP を使用した製剤化経験

| 群    | 名称                     | 製剤組成物                                            | mol%                       | M o d e r<br>n a 脂質純<br>度% | 透析後 (0.2 μm 濾過) |      |          |
|------|------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------|------|----------|
|      |                        |                                                  |                            |                            | 径 (nm)          | PDI  | % E<br>E |
| 65-1 | 86 PEG<br>DMG          | 化合物 (B): DSPC :<br>Chol: Rhod-DO<br>PE: PEG-DMG  | 50:10:<br>38.4:0.<br>1:1.5 | nd                         | 71.2            | 0.19 | 97       |
| 65-2 | 86-56<br>Corde<br>n    | 化合物 (B): DSPC :<br>Chol: Rhod-DO<br>PE: 化合物 (I)  | 50:10:<br>38.4:0.<br>1:1.5 | 99                         | 97.5            | 0.18 | 96       |
| 65-3 | 86-56<br>ロット番号<br>5    | 化合物 (B): DSPC :<br>Chol: Rhod-DO<br>PE: 化合物 (I)  | 50:10:<br>38.4:0.<br>1:1.5 | 98                         | 93.2            | 0.19 | 96       |
| 65-4 | 86-56<br>BioVe<br>ctra | 化合物 (B): DSPC :<br>Chol: Rhod-DO<br>PE: 化合物 (I)  | 50:10:<br>38.4:0.<br>1:1.5 | 87                         | 97.9            | 0.2  | 97       |
| 65-5 | 86-56<br>Sigma<br>*    | 化合物 (B): DSPC :<br>Chol: Rhod-DO<br>PE: 化合物 (I)  | 50:10:<br>38.4:0.<br>1:1.5 | 44                         | 105.<br>5       | 0.22 | 97       |
| 65-6 | 86-56<br>Sigma<br>**   | 化合物 (B): DSPC :<br>Chol: Rhod-DO<br>PE: 化合物 (I)  | 50:10:<br>38.4:0.<br>1:1.5 | 44                         | 86.6            | 0.2  | 95       |
| 65-7 | 86 PEG<br>DSPE         | 化合物 (B): DSPC :<br>Chol: Rhod-DO<br>PE: PEG DSPE | 50:10:<br>38.4:0.<br>1:1.5 | nd                         | 69.4            | 0.17 | 98       |

\*Sigma の化合物 (I) を 1 回添加、最終製剤中約 0.6~0.7 mol% の化合物 (I)。\*\*

Sigma の化合物 (I) を 2 回添加、最終製剤中約 1.3~1.4 mol% の化合物 (I)。

## 【0430】

## (b) 化学的純度が生物学的性能に与える影響

化学的純度がインビボ性能に与える影響を予測するため、製剤をインビトロ及びインビボで試験した。ApoE 結合パネルは、低 IgM 及び高 IgM 含有血清中の製剤に対して同様の結合を示した。ApoE 結合は、化合物 (I) の純度レベルの低下とともに低下する (図 9)。免疫応答への影響は、IgM 活性化アッセイで検討した (図 10)。純度レベルが < 87% の化合物 (I) を含む製剤は、IgM 結合が高く、これは、インビボでの性能が損なわれる化合物 (I) の純度の閾値が存在することを明確に示している。純粋な化合物 (I) と比較して、不純な化合物 (I) を含む LNP の ApoE 結合が低く、IgM 結合が高いことは、純度が生物学的性能に影響を与える上で重要な役割を果たすことを示唆する。

## 【0431】

製造可能性の評価に基づいて、化学的純度の許容範囲は87%以上であると推定される。この下限は、製剤を処理する実証済みの能力及び免疫応答IgMの最小化に基づいている。

## 【0432】

## PEG脂質の合成

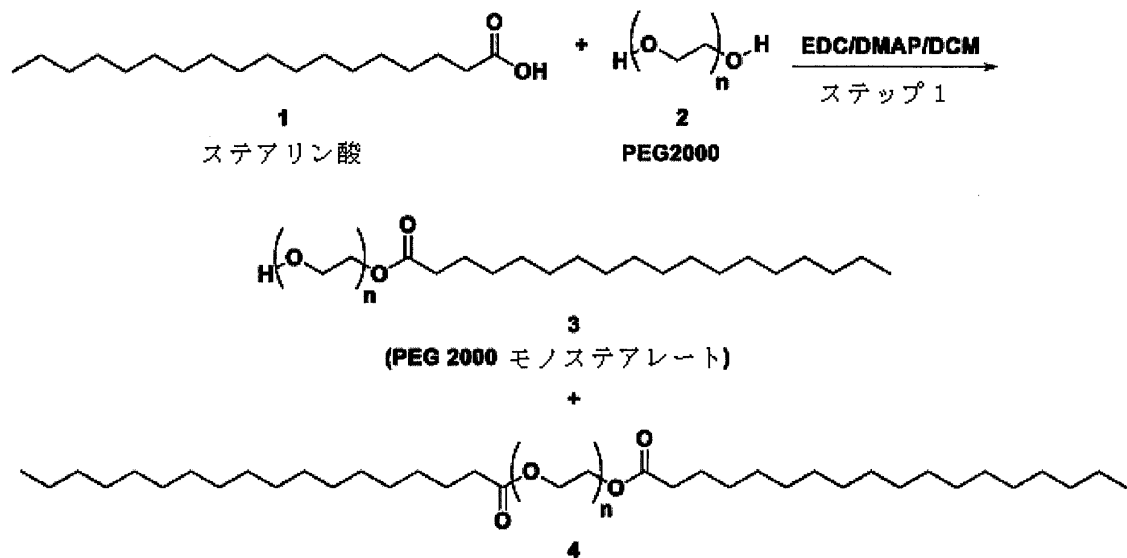
化合物(I)の例示的な製造プロトコルは、スキームAに示す通り、ステアリン酸(1)とポリエチレングリコール2000(2)とのカップリング反応を含む収束的合成である。この合成プロセスは、現在の適正製造基準(cGMPまたはGMP)条件下で実行される1段階合成である。この反応は、ジクロロメタン(DCM)中、4-(ジメチルアミノ)ピリジン(DMAP)、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC)を使用して、1を2でエステル化した後、ワークアップ及び精製により、化合物(I)を生成することを含む。

## 【0433】

反応物の大部分が消費されるまで、薄層クロマトグラフィー(TLC)及び荷電化粒子検出による超高压高分離クロマトグラフィー(UPLC-CAD)を使用してこの反応を観察する。カラムクロマトグラフィーによる精製中、画分をUPLC-CADによって分析し、 $\geq 97.5$ 面積%の純度基準が満たされた場合に混合する。プロセス内制御に関するさらなる情報を以下に示す。

## 【化90】

## スキームA



## 【0434】

ステアリン酸(1当量)、PEG2000(2当量)及びEDCのジクロロメタン中での反応。ステアリン酸(5.0g)、PEG2000(70.3g)及びDMAP(429mg)のDCM(125mL)混合物を、氷浴によって $< 5^{\circ}\text{C}$ に冷却した。 $< 5^{\circ}\text{C}$ で、EDC(5.05g)を $< 5^{\circ}\text{C}$ の反応混合物に加え、その混合物をこの温度で10分間撹拌した。DCM(125mL)をこの反応混合物に $< 5^{\circ}\text{C}$ にて25分間かけて滴下し、その反応混合物を $20^{\circ}\text{C}$ まで加温し、終夜撹拌した。その反応溶液を氷浴により $< 5^{\circ}\text{C}$ に冷却した。5%NaHCO<sub>3</sub>溶液(125mL、6.25gのNaHCO<sub>3</sub>及び118.75gの水を混合して調製)をその反応溶液に $< 5^{\circ}\text{C}$ にて15分間かけて滴下した。この反応混合物を、氷浴を取り除くことにより常温まで加温した。有機層(エマルジョン)を水

層（無色混濁）から分離し、5%  $\text{NaHCO}_3$  / 5%  $\text{NaCl}$  溶液（125 mL、6.25 g の  $\text{NaHCO}_3$ 、6.25 g の  $\text{NaCl}$  及び 118.75 g の水を混合して調製）で洗浄した。この不透明有機層を無色水層（pH 試験紙による pH 8）から分離し、35℃にて真空中で濃縮し、オフホワイトの固体を得た。このオフホワイトの固体を  $\text{MeCN}$  で希釈し、35℃で熟成し、真空中、35℃で濃縮し、80.8 g（203%）のオフホワイトの固体を得た。このオフホワイトの固体を、 $\text{MeCN}$ （400 mL）、水（200 mL）、TBME（200 mL）及び *n*-ヘプタン（200 mL）の混合物に溶解した。明確な三元相が30分で生じた。LCMSにより、上層には生成物が含まれておらず、中間層にはPEG 2000 モノステアレートが含まれていることが示される。下層は、PEG 2000 及び PEG 2000 モノステアレートを1:1の比で含む。中間層を真空中、35℃で濃縮した後、 $\text{MeCN}$  と共蒸発させ、PEG 2000 モノステアレート（32.51 g、収率81.6%、UPLC-CAD 純度92.1%）をオフホワイトの固体として得た。

#### 【0435】

ステアリン酸（1当量）、PEG 2000（10当量）及びEDCのジクロロメタン中での反応。ステアリン酸（2.13 g）、PEG 2000（150 g）及びDMAP（183 mg）のDCM（135 mL）混合物を、<5℃に冷却した。EDC（2.15 g）を<5℃の反応混合物に加え、その混合物をこの温度で10分間攪拌した。DCM（135 mL）を<5℃にて30分間かけてこの反応混合物に滴下した。この反応混合物をこの温度で10分間攪拌し、その後20℃まで加温し、16時間攪拌した。23℃にて、1% ブライン溶液（2.7 g の  $\text{NaCl}$  及び 270 mL の混合物）を23℃で2分間かけてその反応混合物に加えた。LCMSでは、水層への生成物の損失は示されない。その有機層を水層から分離し、1% ブライン溶液（2.7 g の  $\text{NaCl}$  及び 270 mL の混合物）で洗浄した。この有機層を分離し、真空中、35℃で濃縮してオフホワイトの固体を得、これをさらに $\text{MeCN}$ （250 mL）で希釈し、35℃で20分間熟成し、真空中、35℃で濃縮してオフホワイトの固体を得た（98.7 g、収率582%）。その固体を $\text{MeCN}$ （500 mL）、2% ブライン溶液（10 g の  $\text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$  500 mL）、MTBE（250 mL）及び *n*-ヘプタン（250 mL）に分配し、明確な3層相分離を得た。その中間層を、真空中、35℃で濃縮し、PEG 2000 モノステアレートを得た（12.3 g、収率72.7%、UPLC-CAD 純度93.90%）。

#### 【0436】

図13は、例示的な合成／精製方法のフローチャートを示す。

#### 【0437】

材料の管理

化合物（I）の合成に用いる出発物質を表10に示す。

#### 【0438】

10

20

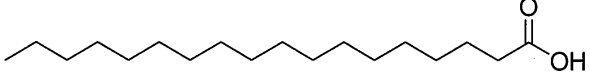
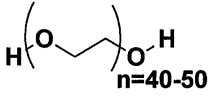
30

40

50

## 【表 1 1】

表 1 0 : 化合物 ( I ) の出発物質

| 出発物質  | 分子式 (分子量)                                    | 化学構造                                                                                                |
|-------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 化合物 1 | $C_{18}H_{36}O_2$<br>(284.48)                | <br>ステアリン酸        |
| 化合物 2 | $HO-[C_2H_4O_2]_n-C_{18}H_{35}O$ (2047-2484) | <br>ポリオキシエチレン 2000 |

10

## 【0439】

出発物質である化合物 1 (Emery Oleochemicals, Malaysia) 及び化合物 2 (Clariant, Germany) の製造者の仕様書を表 1 1 に示す。化合物 (I) の製造に用いる原料を表 1 2 及びに示す。

20

## 【0440】

表。

30

40

50

## 【表 1 2】

表 1 1 : 出発物質の仕様書

| 物質       | 製造者及び住所                                                                                                                                                 | 試験 | 方法                            | 合格判定基準                      |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|-------------------------------|-----------------------------|
| 化合物<br>1 | Emery Oleochemicals Sdn.<br>Bhd<br>Telok Panglima Garang, Lot 4, Jalan Perak<br>Kawasan Perusahaan, Telok Panglima Garang 42500<br>Selangor<br>Malaysia | 外観 | 目視                            | 固体                          |
|          |                                                                                                                                                         | 色  | 目視                            | オフホワイトから白色                  |
|          |                                                                                                                                                         | 識別 | MS                            | $M = 284.5 \pm 1.5$ m/z     |
|          |                                                                                                                                                         |    | $^1\text{H-NMR}$ (CDC $l_3$ ) | 参照と同等                       |
|          |                                                                                                                                                         | 純度 | UPLC-CAD                      | $\geq 98\%$                 |
|          |                                                                                                                                                         |    | LoD                           | $\leq 1.0\%$                |
| 化合物<br>2 | Clariant Produkte GmbH<br>Werk Gendorf<br>Industrieparkstrasse 1<br>84508 Burgkirchen<br>Germany                                                        | 外観 | 目視                            | 固体                          |
|          |                                                                                                                                                         | 色  | 目視                            | オフホワイトから白色                  |
|          |                                                                                                                                                         | 識別 | MS                            | $M = 1982.02 \pm 218.5$ m/z |
|          |                                                                                                                                                         |    | $^1\text{H-NMR}$ (CDC $l_3$ ) | 参照と同等                       |
|          |                                                                                                                                                         | 純度 | UPLC-CAD                      | $\geq 98.0\%$               |
|          |                                                                                                                                                         |    | LoD                           | $\leq 1.0\%$                |

## 【0 4 4 1】

10

20

30

40

50

## 【表 1 3】

表 1 2 : 試薬の仕様書

| 物質                                                      | 試験        | 方法         | 合格判定基準                |
|---------------------------------------------------------|-----------|------------|-----------------------|
| 4-(ジメチルアミノ)ピリジン ( $C_7H_{10}N_2$ )                      | 外観        | 目視         | 固体                    |
|                                                         | 色         | 目視         | 淡黄色からオフホワイト           |
|                                                         | 識別        | MS (ESI 正) | 122.17 ± 1 u          |
|                                                         | 純度        | アッセイ       | ≥ 99 %                |
| N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 ( $C_8H_{18}ClN_3$ ) | 外観        | 目視         | 固体                    |
|                                                         | 色         | 目視         | オフホワイトから白色            |
|                                                         | 識別        | MS (ESI 正) | 159.25 ± 1 u (遊離塩基形態) |
|                                                         | 純度        | 銀滴定アッセイ    | ≥ 98 %                |
| 重炭酸ナトリウム ( $NaHCO_3$ )                                  | 外観        | 目視         | 結晶性固体                 |
|                                                         | 色         | 目視         | 白色                    |
|                                                         | 識別炭酸ナトリウム | Ph. Eur.   | 正<br>pH NMT 8.6       |
|                                                         | 純度        | アッセイ       | ≥ 99 %                |
| 塩化ナトリウム ( $NaCl$ )                                      | 外観        | 目視         | 固体                    |
|                                                         | 色         | 目視         | 白色                    |
|                                                         | 識別        | MS (ESI 負) | 58.44 ± 1 u           |
|                                                         | 純度        | 銀滴定アッセイ    | ≥ 99.5 %              |

## 【0 4 4 2】

10

20

30

40

50

## 【表 1 4 - 1】

表 1 3 : 溶媒仕様書

| 物質                                                             | 試験    | 方法                                  | 合格判定基準           |
|----------------------------------------------------------------|-------|-------------------------------------|------------------|
| アセトニトリル (C<br>H <sub>3</sub> CN)                               | 外観    | 目視                                  | 液体               |
|                                                                | 色     | 目視                                  | 無色透明             |
|                                                                | 識別    | I R スペクトル                           | 参照標準と同等          |
|                                                                | 純度    | GLC (面積%)                           | ≥ 99.5 %         |
|                                                                |       | 屈折率 (n <sup>20</sup> )              | 1.344 ± 0.002    |
|                                                                | 追加の試験 | 不揮発性物質 (w/w)                        | 最大 0.005 % (w/w) |
| メタノール (CH <sub>4</sub><br>O)                                   | 外観    | 目視                                  | 透明な液体            |
|                                                                | 色     | 目視                                  | 無色               |
|                                                                | 識別    | I R スペクトル                           | 参照標準と同等          |
|                                                                | 純度    | GLC (面積%)                           | ≥ 99.9 % (面積%)   |
|                                                                |       | 屈折率 (n <sup>20</sup> )              | 1.329 ± 0.001    |
| 塩化メチレン (CH<br><sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> )                   | 外観    | 目視                                  | 透明な液体            |
|                                                                | 色     | 目視                                  | 無色               |
|                                                                | 識別    | I R スペクトル                           | 参照標準と同等          |
|                                                                | 純度    | GLC                                 | ≥ 99.5 % (面積%)   |
|                                                                |       | 屈折率 (n <sup>20</sup> )              | 1.424 ± 0.001    |
| メチル t e r t -<br>ブチルエーテル (C<br><sub>5</sub> H <sub>12</sub> O) | 外観    | 目視                                  | 透明な液体            |
|                                                                | 色     | 目視                                  | 無色               |
|                                                                | 識別    | I R スペクトル                           | 参照標準と同等          |
|                                                                |       | GLC (面積%)                           | ≥ 99.8 % (面積%)   |
|                                                                |       | 水 (KF)                              | ≤ 0.1 %          |
|                                                                |       | 屈折率 (n <sub>D</sub> <sup>20</sup> ) | 1.369 ± 0.002    |
|                                                                |       | ペルオキシド                              | ≤ 50 mg/L        |

10

20

30

40

50

【表 1 4 - 2】

|                                             |       |              |                                    |
|---------------------------------------------|-------|--------------|------------------------------------|
| n－ヘプタン<br>(C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> ) | 外観    | 目視           | 液体                                 |
|                                             | 色     | 目視           | 無色                                 |
|                                             | 識別    | I R スペクトル    | 参照標準と同等                            |
|                                             | アッセイ  | GC           | ≧ 99 %                             |
|                                             |       | 水 (KF)       | ≦ 0. 01 %                          |
| 精製水 (H <sub>2</sub> O)                      | 外観    | USP、Ph. Eur. | 無色透明液体                             |
|                                             | TOC   | USP、Ph. Eur. | 要件を満たす                             |
|                                             | 伝導度   | USP、Ph. Eur. | 要件を満たす                             |
|                                             | 総数    | USP、Ph. Eur. | 警報限界≧ 5 CFU／mL<br>処理限界≧ 100 CFU／mL |
|                                             | 内毒素   | USP、Ph. Eur. | ≦ 0. 25 EU／mL                      |
|                                             | 重金属   | USP、Ph. Eur. | NMT 0. 1 ppm                       |
|                                             | ニトレート | USP、Ph. Eur. | NMT 0. 2 ppm                       |

## 【0 4 4 3】

化合物 (I) 製造プロセスのプロセス内制御を表 1 4 に示す。

## 【0 4 4 4】

10

20

30

40

50

## 【表 15 - 1】

表 14：化合物（I）製造プロセスのプロセス内制御

| 番号 | プロセス内制御                     | 方法            | 目的                             | 仕様                                                           |
|----|-----------------------------|---------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 1  | 転化の確認                       | TLC及びCAD-UPLC | 化合物 1 及び化合物 2 の出発物質の十分な転化を確認する | CAD-UPLC：化合物 1 に関して $\leq 5$ 面積%<br>化合物（I）に関して $\geq 40$ 面積% |
| 2  | 洗浄液の NaHCO <sub>3</sub> を確認 | TLC           | 洗浄液に生成物が含まれていないことを確認する。        | 最後のすすぎ液に化合物（I）の生成物が検出されない                                    |
| 3  | 粗生成物の純度確認                   | TLC及びCAD-UPLC | 粗生成物の純度を確認する。                  | CAD-UPLC：40～60 面積%の化合物（I）                                    |
| 4  | n-ヘプタン洗浄液の確認                | TLC           | 化合物（I）がないことを確認する               | すすぎ液に化合物（I）が検出されない                                           |
| 5  | 洗浄水溶液の確認                    | TLC           | 水相に少量の生成物しか存在しないことを確認する。       | H <sub>2</sub> O中に化合物（I）の生成物が検出されない。                         |
| 6  | 粗生成物の純度確認                   | TLC及びCAD-UPLC | 粗生成物の純度を確認する。                  | CAD-UPLC：50～99 面積%の化合物（I）                                    |

10

20

30

40

50

【表 15 - 2】

|   |                |                          |                                                                                                   |                                          |
|---|----------------|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 7 | カラム画分の純度確認     | T L C 及び C A D - U P L C | カラム画分の純度を確認する。<br>(様々な試験プールを画分から取り、T L C により純粋であると判断される画分を溶媒の蒸発に供し、C A D - U P L C で分析し、純度を特定する)。 | C A D - U P L C : $\geq$ 95 面積% の化合物 (I) |
| 8 | ラインクリアランス画分の確認 | T L C                    | 精製ステップを終了するために、溶出液に生成物がないことを確認する                                                                  | 溶出液に化合物 (I) の生成物がない                      |

## 【0445】

プロセス最適化の要約：(1) プロセス最適化のためのラン前の小規模な習熟、(2) 毒物学的研究のため、約200グラムの非GMP材料の製造、その一部が、一次参照標準として認定された。(3) 270gのGMP材料の製造。

## 【0446】

これら化合物ポリ(エチレングリコール)2000(PEG2000、化合物1)及びステアリン酸(化合物2)をGMP出発物質として指定した。HPLC-CAD純度法を、プロセス内及びリリース試験を支援するために開発した。このHPLC-CAD法は、GMPロットG0545のリリース試験の前に認定された。いくつかの最適化を確立し、続いて以下に要約するように実施した。出発物質であるPEG2000(化合物1)及びステアリン酸(化合物2)はどちらも市販されており、上記の通り認定業者から購入した。合成プロセスの習熟により、198グラムの非GMP材料が単離され、そのうち30グラムの一次参照物質がその後認定された。

## 【0447】

GMPバッチ合成の説明を図Bに示す。それぞれ、2250グラム及び160グラムのGMP出発物質、PEG2000(化合物1)及びステアリン酸(化合物2)を購入し、GMPロットG0545の製造に使用した。これら2種の出発物質と、GMPステップで使用したすべての試薬／溶媒を、規定の仕様に従ってリリースした。化合物1は、リリース仕様の一部として、数平均分子量、重量平均分子量の主平均を特定するためにMALDI-MSを使用してリリースした。化合物2は、リリース仕様の一部として、確立されたGC純度法を使用してリリースした。GMP合成前の習熟ランにより、適切なIPC分析点の確立も可能であった。

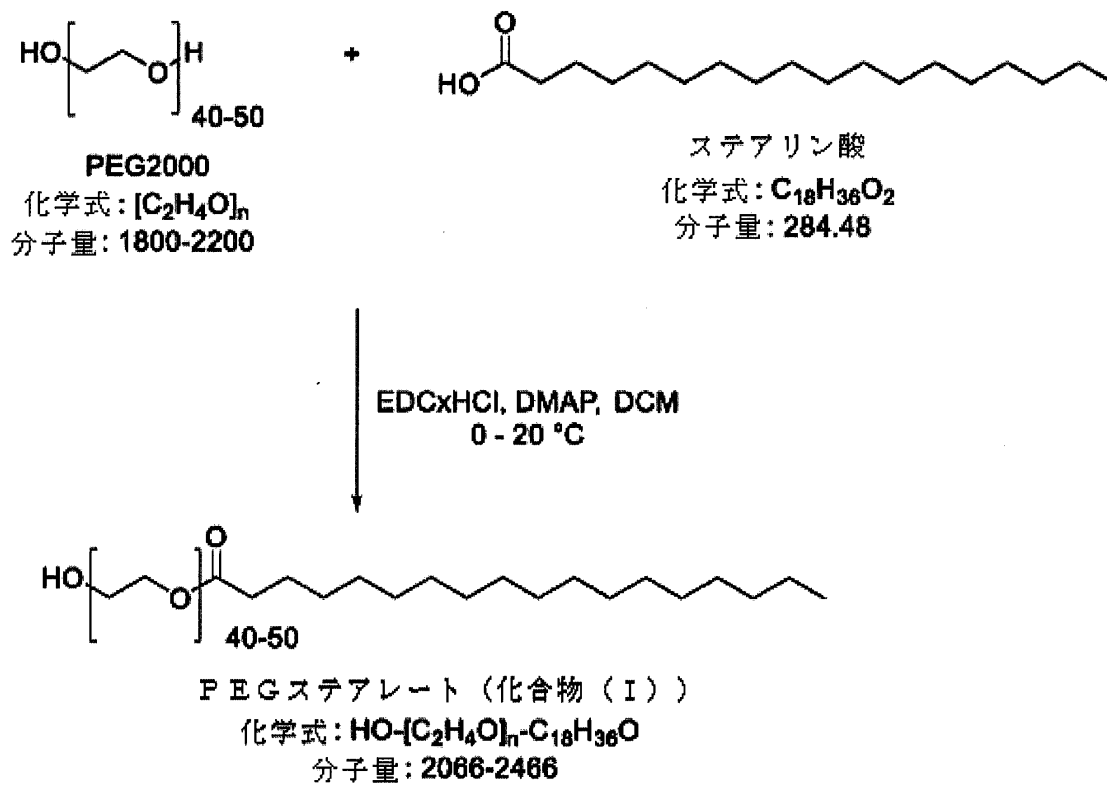
## 【0448】

化合物(I)のGMP合成は、GMP施設にてR&D規模で実施し、カラムクロマトグラフィーによる精製は、キョラボのGMP施設内で実施した。化合物(I)のGMP生成物を単離し(ロットG0545、270g、最終ステップで収率21%)、所定の仕様と対照してリリースした。参照標準、非GMP及びGMP化合物(I)ロットの品質特性を表15、表16、及び表17に要約し、比較する。RT：保持時間(RRT化合物(I)=1.00)、NQ：未定量。NT：未試験。

## 【0449】

【化 9 1】

図 B



【 0 4 5 0 】

10

20

30

40

50

【表 16-1】

表 15.

| 試験      | 方法                  | 合格判定基準                  | ロットSTD-00287 (参照標準)             |
|---------|---------------------|-------------------------|---------------------------------|
| 外観      | 目視                  | 固体                      | 固体                              |
| 色       | 目視                  | 白色からオフホワイト              | 白色                              |
| 識別      | MS (MALDI)          | $M_n = 2047 - 2484 m/z$ | 2300                            |
|         | UPLC-CAD            | 主ピークのRTが参照に対応する         | 主ピークのRTが参照に対応する                 |
|         | IR                  | 参照と同等                   | 参照と同等                           |
|         | $^1\text{H-NMR}$    | 構造に従う                   | 構造に従う                           |
|         | $^{13}\text{C-NMR}$ | NT                      | NT                              |
| 純度      | UPLC-CAD            | $\geq 90$ 面積%           | 97.9                            |
| アッセイ    | UPLC-CAD            | $90 \sim 110\% w/w$     | 97.6                            |
| 水       | カール・フィッシャー          | $\leq 3.0\% w/w$        | 0.20                            |
| 強熱残分    | USP<281>、EP2.4.14   | $\leq 0.1\% w/w$        | 0.07                            |
| 融点      | USP<741>            | 報告範囲 [°C]               | 54.2~54.7                       |
| ペルオキシド  | 測光                  | 報告結果                    | NQ. ( $< 0.8 \text{ mmol/kg}$ ) |
| 残留溶媒    |                     |                         |                                 |
| アセトニトリル | ヘッドスペースGC-FID       | $\leq 410 \text{ ppm}$  | $< 100$ (NQ)                    |
| MTBE    |                     | $\leq 5000 \text{ ppm}$ | $< 10$ (NQ)                     |
| ジクロロメタン |                     | $\leq 600 \text{ ppm}$  | 248                             |
| n-ヘプタン  |                     | $\leq 5000 \text{ ppm}$ | $< 10$ (NQ)                     |
| メタノール   |                     | $\leq 3000 \text{ ppm}$ | $< 100$ (NQ)                    |
| アセトン    |                     | $\leq 5000 \text{ ppm}$ | NT                              |

【表 1 6 - 2】

| 元素の不純物     |                               |                  |               |
|------------|-------------------------------|------------------|---------------|
| ヒ素（A s）    | I C P－MS                      | ≦ 1． 5 p p m     | < 0． 0 5 （NQ） |
| カドミウム（C d） |                               | ≦ 0． 2 p p m     | < 0． 0 5 （NQ） |
| コバルト（C o）  |                               | ≦ 0． 5 p p m     | < 0． 0 5 （NQ） |
| 銅（C u）     |                               | ≦ 3 0 p p m      | 0． 0 5        |
| 水銀（H g）    |                               | ≦ 0． 3 p p m     | < 0． 0 5 （NQ） |
| リチウム（L i）  |                               | ≦ 2 5 p p m      | < 0． 0 5 （NQ） |
| ニッケル（N i）  |                               | ≦ 2 p p m        | 0． 0 5        |
| 鉛（P b）     |                               | ≦ 0． 5 p p m     | < 0． 0 5 （NQ） |
| アンチモン（S b） |                               | ≦ 9 p p m        | < 0． 0 5 （NQ） |
| バナジウム（V）   |                               | ≦ 1 p p m        | < 0． 0 5 （NQ） |
| 鉄（F e）     |                               | 報告結果（p p m）      | 0． 8 4        |
| ケイ素（S i）   |                               | 報告結果（p p m）      | 7． 2 3        |
| 微生物限度      |                               |                  |               |
| TAMC       | U S P< 6 1 >、E P<br>2． 6． 1 2 | ≦ 1 0 0 C F U／ g | N T           |
| TYMC       |                               | ≦ 1 0 0 C F U／ g | N T           |
| 細菌内毒素      | U S P< 8 5 >、E P<br>2． 6． 1 4 | ≦ 2 0 E U／ g     | N T           |

【0 4 5 1】

10

20

30

40

50

【表 17-1】

表 16.

|         |                     |                          |                   |
|---------|---------------------|--------------------------|-------------------|
| 試験      | ロット RD-01341 (非GMP) | ロット JLI-000099-11 (非GMP) | ロット G0545 (GMP)   |
| 外観      | 固体                  | 固体                       | 固体                |
| 色       | 白色                  | 白色                       | 白色                |
| 識別      | 2356                | 2322                     | 2313              |
|         | 主ピークのRTが参照に対応する     | 主ピークのRTが参照に対応する          | 主ピークのRTが参照に対応する   |
|         | 参照と同等               | 参照と同等                    | 参照と同等             |
|         | 構造に従う               | 構造に従う                    | 構造に従う             |
|         | NT                  | NT                       | NT                |
| 純度      | 97.6                | 95.3                     | 98.2              |
| アッセイ    | 97.3                | 95.2                     | 99.9              |
| 水       | 0.20                | 0.10                     | 0.26              |
| 強熱残分    | 0.06                | 0.02                     | <0.01             |
| 融点      | 53.9~54.5           | 53.6~54.1                | 53.9~54.4         |
| ペルオキシド  | NQ. (<0.8mmol/kg)   | NQ. (<0.8mmol/kg)        | NQ. (<0.8mmol/kg) |
| 残留溶媒    | 残留溶媒                |                          |                   |
| アセトニトリル | <100 (NQ)           | <100 (NQ)                | <100 (NQ)         |
| MTBE    | <10 (NQ)            | <10 (NQ)                 | 10                |
| ジクロロメタン | 397                 | <100 (NQ)                | <100 (NQ)         |
| n-ヘプタン  | <10 (NQ)            | <10 (NQ)                 | <10 (NQ)          |
| メタノール   | <100 (NQ)           | <100 (NQ)                | <100 (NQ)         |
| アセトン    | NT                  | NT                       | <50 (NQ)          |

10

20

30

40

50

【表 17-2】

| 元素の不純物      | 元素の不純物         |                |                 |
|-------------|----------------|----------------|-----------------|
| ヒ素 (A s)    | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q)  |
| カドミウム (C d) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q)  |
| コバルト (C o)  | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q)  |
| 銅 (C u)     | 0. 0 6         | 0. 1 2         | 0. 1 1          |
| 水銀 (H g)    | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q)  |
| リチウム (L i)  | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q)  |
| ニッケル (N i)  | 0. 1 9         | 0. 3 7         | 0. 0 8          |
| 鉛 (P b)     | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q)  |
| アンチモン (S b) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q)  |
| バナジウム (V)   | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q) | < 0. 0 5 (N Q)  |
| 鉄 (F e)     | 1. 7           | 3. 8           | 0. 3 2          |
| ケイ素 (S i)   | 7. 0           | 6. 1           | < 5. 0 0 (N Q)  |
| 微生物限度       | 微生物限度          |                |                 |
| TAMC        | NT             | NT             | < 1 0 C F U / g |
| TYMC        | NT             | NT             | < 1 0 C F U / g |
| 細菌内毒素       | NT             | NT             | < 1 0 E U / g   |

【 0 4 5 2 】

10

20

30

40

50

## 【表 18】

表 17：化合物（I）に関連する不純物のバッチ分析データ

| RRT<br>化合物（I）は<br>RRT 1.00<br>である | CADによる面積%                  |                           |                                |                        |
|-----------------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------------|------------------------|
|                                   | ロットSTD-0<br>0287<br>(参照標準) | ロットRD-01<br>341<br>(非GMP) | ロットJLI-0<br>00099-11<br>(非GMP) | ロットGO<br>545 (G<br>MP) |
| 0.55～0.<br>56                     | 0.43                       | 0.40                      | 2.35                           | 0.14                   |
| 0.90                              | 0.13                       | 0.13                      | 0.17                           | ND                     |
| 0.93                              | 0.29                       | 0.29                      | 0.29                           | 0.30                   |
| 0.96～0.<br>97                     | 0.33                       | 0.32                      | 0.26                           | 0.26                   |
| 1.04                              | 0.23                       | 0.23                      | 0.34                           | 0.39                   |
| 1.08～1.<br>09                     | 0.45                       | 0.43                      | 0.40                           | 0.47                   |
| 1.35                              | ND                         | ND                        | 0.36                           | ND                     |
| 1.37～1.<br>38                     | 0.22                       | 0.61                      | 0.52                           | 0.22                   |
| 合計                                | 2.1                        | 2.4                       | 4.7                            | 1.78                   |

## 【0453】

## 構造及び他の特徴の解明

化合物（I）の構造を、以下の分析手順、すなわち、赤外分光法、 $^1\text{H}$ 及び $^{13}\text{C}$ 核磁気共鳴（NMR）分光法、及びMALDI-TOF質量分析を使用して解明した。すべての分析及び分光データを、参照標準用に収集した。

## 【0454】

化合物（I）の赤外線（IR）吸収スペクトルは、Corden Pharma LLCによるPerkin Elmer分光計で記録した。スペクトルを図12Aに示し、バンドの帰属を表18に示す。

## 【0455】

## 【表 19】

表 18. IR のバンド帰属

| 波数 ( $\text{cm}^{-1}$ ) | 官能基                           |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1059.9、1103.1           | C-O-C (PEG)                   |
| 1240.7                  | C-O-C (エステル)                  |
| 1466.3                  | $\text{CH}_2$                 |
| 1736.3                  | C=O                           |
| 2883.3                  | $\text{CH}_2$ 、 $\text{CH}_3$ |

10

## 【0456】

化合物 (I) の  $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルは、Bruker DPX 300 にて、周波数 300 MHz ( $^1\text{H}$ ) 及び 75 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) で取得し、重水素化クロロホルム ( $\text{CDCl}_3$ ) 中で測定した。自由誘導減衰 (FID) は、フーリエ変換アプリケーションソフトウェア Bruker Topspin 1.3 / ICON-NMR を使用して処理した。化合物 (I) の  $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル (それぞれ、図 12B 及び図 12C) とともに、化合物 (I) のピーク帰属 (それぞれ、表 19 及び表 20) を以下に示す。観察された  $^1\text{H}$  及び  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル帰属は、水素及び炭素のナンバリングによると、化合物 (I) の構造と一致する。

20

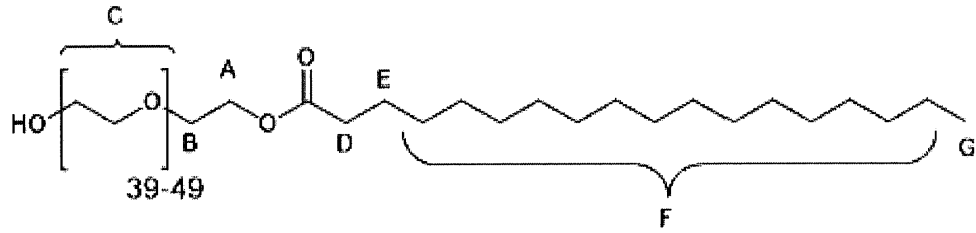
## 【0457】

30

40

50

## 【表 2 0】

表 1 9.  $^1\text{H}$  NMR 帰属

| d [ p p<br>m] | 説明             | 帰属                                                                                                     |
|---------------|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4. 3          | 三重項、2<br>H     | $-\text{OCH}_2-\underline{\text{CH}_2}-\text{O}-(\text{CO})-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ (プロトン帰属A)         |
| 3. 7 3        | 多重項、2<br>H     | $-\text{O}-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-\text{O}-(\text{CO})-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ (プロトン帰属B) |
| 3. 6 5        | 多重項、1<br>8 4 H | $-\underline{\text{CH}_2}-$ グリコール (プロトン帰属C – A及びB以外の全PEG単位)                                            |
| 2. 2 5        | 三重項、2<br>H     | $-\text{O}-(\text{CO})-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_2-$ (プロトン帰属D)                                 |
| 1. 6 2        | 多重項、2<br>H     | $-\text{O}-(\text{CO})-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2}-$ (プロトン帰属E)                                 |
| 1. 2 3        | 一重項、2<br>8 H   | $-\underline{\text{CH}_2}-$ ステアリン酸 (プロトン帰属F – D及びE以外の全ステアリン酸CH <sub>2</sub> 単位)                        |
| 0. 8          | 三重項、3<br>H     | $-\underline{\text{CH}_3}$ (プロトン帰属G)                                                                   |

## 【 0 4 5 8 】

10

20

30

40

50



#### 均等物及び範囲

特許請求の範囲では、「a」、「an」、及び「the」等の冠詞は、それとは反対の指示がない限り、または文脈が明らかにそうではないことを示さない限り、1つまたは複数を意味し得る。群の1つ以上の成員間に「または」を含む請求項または説明は、それとは反対の指示がない限り、または文脈が明らかにそうではないことを示さない限り、該群の成員の1つ、複数、またはすべてが、所与の生成物もしくはプロセスに存在し、使用され、または関連する場合に満たされていると見なされる。本発明は、該群の正確に1つの成員が所与の生成物もしくはプロセスに存在し、使用され、または関連する実施形態を含む。本発明は、該群の複数の、またはすべての成員が所与の生成物もしくはプロセスに存在し、使用され、または関連する実施形態を含む。

10

#### 【0461】

さらに、本発明は、列挙された請求項のうちの1つ以上からの1つ以上の制限、要素、節、記述用語が別の請求項に導入されるすべての変化形、組み合わせ、及び順列を包含する。例えば、別の請求項に従属する任意の請求項は、同一の基本請求項に従属する任意の他の請求項に見出される1つ以上の制限を含むように修正され得る。要素が、一覧として、例えば、マーカッシュ群形式で提示される場合、該要素の各亜群も開示され、任意の要素（複数可）を該群から除くことができる。一般に、本発明、または本発明の態様が特定の要素及び／または特徴を含むと見なされる場合、本発明のある特定の実施形態または本発明の態様が、かかる要素及び／または特徴からなる、または本質的になることを理解されたい。簡潔にするため、それらの実施形態は、本明細書では一語一語具体的に記載していない。

20

#### 【0462】

「含む (comprising)」及び「含む (containing)」という用語は、オープンであることを意図しており、さらなる要素またはステップの含有を許容することもまた留意される。範囲が与えられている場合、端点が含まれる。さらに、特に明記しない限り、または文脈及び当業者の理解から明らかでない限り、範囲で表される値は、本発明の異なる実施形態において規定される範囲内の任意の特定の値または部分的な範囲を、文脈が明らかにそうではないことを示さない限り、該範囲の下限の単位の10分の1までと見なすことができる。

#### 【0463】

本出願は、様々な発行特許、公開特許出願、雑誌論文、及び他の刊行物を参照し、これらはすべて、参照することにより本明細書に組み込まれる。組み込まれた参考文献のいずれかと本明細書が矛盾する場合は、本明細書が優先するものとする。さらに、先行技術の範囲に入る本発明の任意の特定の実施形態は、請求項の任意の1項以上から明らかに除外され得る。かかる実施形態は、当業者に既知であると見なされるため、除外が明らかに本明細書に記載されていない場合であっても除外され得る。本発明のいずれの特定の実施形態も、先行技術の存在に関連するかどうかに関わらず、あらゆる理由により、任意の請求項から除外することができる。

30

#### 【0464】

当業者には、通常の実験のみを用いて、本明細書に記載の特定の実施形態に対する多くの均等物が認識され、または、確認することができるであろう。本明細書に記載の本実施形態の範囲は、上記説明に限定されることを意図するものではなく、添付の特許請求の範囲に記載される通りである。当業者には、以下の特許請求の範囲に定義する本発明の趣旨からも範囲からも逸脱することなく、本記載に対して様々な変更及び修正が行われ得ることが理解されよう。

40



【図 5】

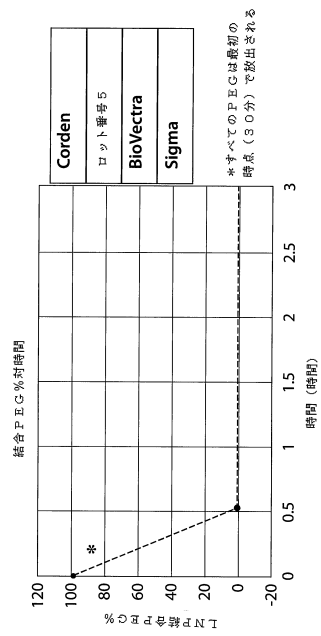


Figure 5

【図 6】

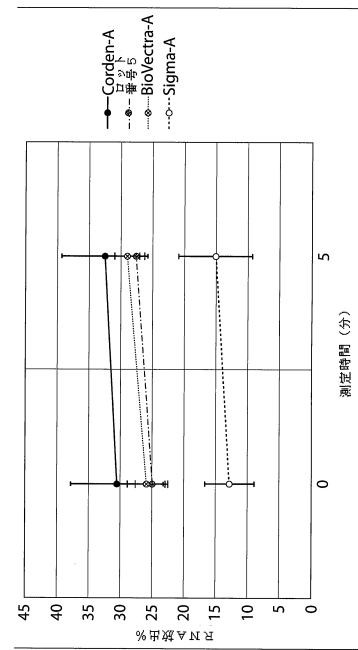


Figure 6

【図 7】

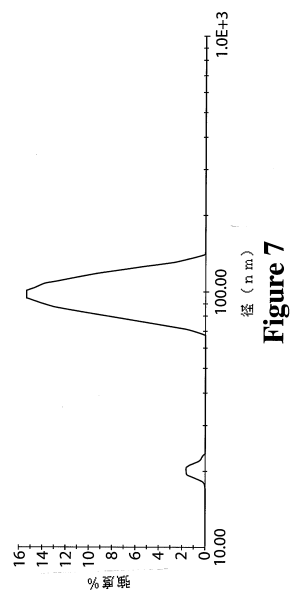


Figure 7

【図 8】

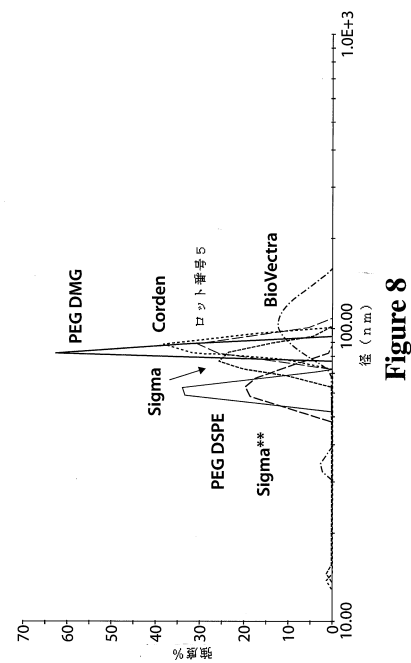


Figure 8

10

20

30

40

50

【図 9】

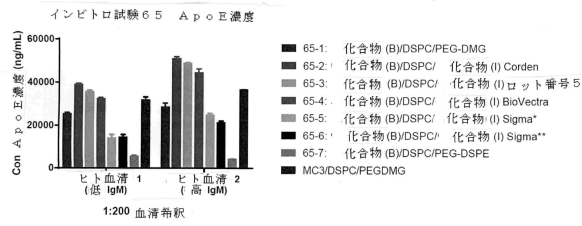


Figure 9

【図 10】

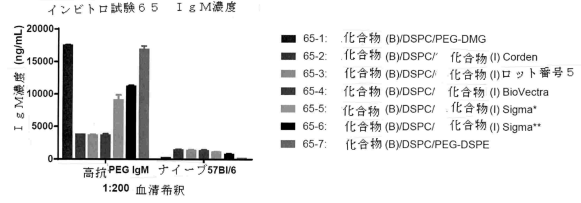


Figure 10

【図 11】

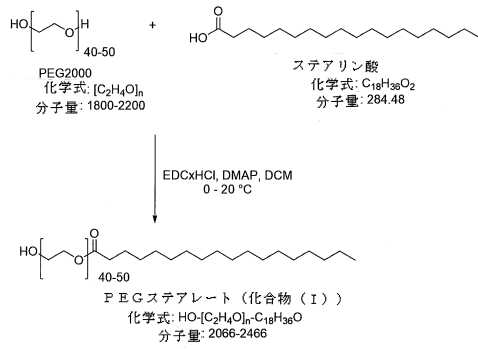
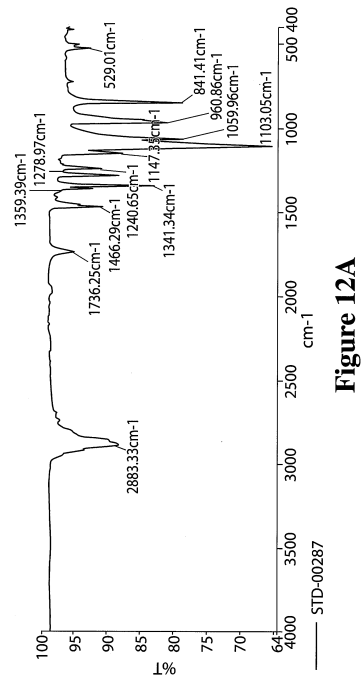


Figure 11

【図 12 A】



10

20

30

40

50



## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

## F I

|                |                |                  |                |                |              |
|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|--------------|
| <b>A 6 1 K</b> | <b>47/24</b>   | <b>(2006.01)</b> | <b>A 6 1 K</b> | <b>47/24</b>   |              |
| <b>A 6 1 K</b> | <b>47/28</b>   | <b>(2006.01)</b> | <b>A 6 1 K</b> | <b>47/28</b>   |              |
| <b>A 6 1 K</b> | <b>31/7105</b> | <b>(2006.01)</b> | <b>A 6 1 K</b> | <b>31/7105</b> |              |
| <b>A 6 1 K</b> | <b>48/00</b>   | <b>(2006.01)</b> | <b>A 6 1 K</b> | <b>48/00</b>   |              |
| <b>A 6 1 P</b> | <b>43/00</b>   | <b>(2006.01)</b> | <b>A 6 1 P</b> | <b>43/00</b>   | <b>1 1 1</b> |
| <b>A 6 1 P</b> | <b>37/06</b>   | <b>(2006.01)</b> | <b>A 6 1 P</b> | <b>37/06</b>   |              |

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (72)発明者 ジン・リム

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02421・レキシントン・ルーズベルト・ロード・31

## (72)発明者 ユージーン・チュン

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02067・シャロン・リンカーン・ロード・23

## (72)発明者 ジャクリーン・ミルトン

アメリカ合衆国・マサチューセッツ・02145・サマービル・テンプル・ロード・93

審査官 中川 裕文

## (56)参考文献 国際公開第2017/099823 (WO, A1)

特開2002-069821 (JP, A)

特開平06-287137 (JP, A)

Yong Hwa Lee et al., Separation and determination of polyethylene glycol fatty acid esters in cosmetics by a reversed-phase HPLC/ELSD, Talanta, 2008年, Vol. 74, Pages 1615-1620., doi:10.1016/j.talanta.2007.10.020, Available online 18 October 2007.

モノステアリン酸ポリエチレングリコール, 医薬品添加物規格2018, 2018年03月29日, 772ページ

## (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 0 8 G 6 5 / 0 0 - 6 7 / 0 4

C 0 8 K 3 / 0 0 - 1 3 / 0 8

C 0 8 L 1 / 0 0 - 1 0 1 / 1 4

A 6 1 K

A 6 1 P