(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-527542
(P2024-527542A)
(43)公表日　令和6年7月25日(2024.7.25)

(51)国際特許分類			FI			テーマコード（参考）
C07H 21/04 (2006.01)			C07H	21/04	A	4C057
C12N 15/11 (2006.01)			C07H	21/04	Z ZNA	
			C12N	15/11	Z	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全68頁）

(21)出願番号　特願2023-580484(P2023-580484)
(86)(22)出願日　令和4年6月29日(2022.6.29)
(85)翻訳文提出日　令和6年2月26日(2024.2.26)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/035539
(87)国際公開番号　WO2023/278589
(87)国際公開日　令和5年1月5日(2023.1.5)
(31)優先権主張番号　63/217,137
(32)優先日　令和3年6月30日(2021.6.30)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　595104323
アイオーニス ファーマシューティカルズ， インコーポレーテッド
Ｉｏｎｉｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ，Ｉｎｃ．
アメリカ合衆国カリフォルニア州９２０１０，カールズバッド，ガゼル コート２８５５
(74)代理人　100118902
弁理士　山本 修
(74)代理人　100106208
弁理士　宮前 徹
(74)代理人　100196508
弁理士　松尾 淳一
(74)代理人　100107386
最終頁に続く

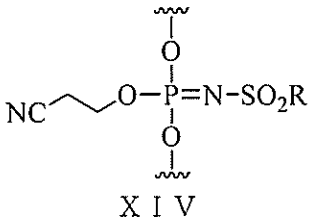
(54)【発明の名称】　結合修飾オリゴマー化合物の合成のための方法

(57)【要約】
本開示は、少なくとも１個の修飾ヌクレオシド間連結基を有する修飾オリゴヌクレオチド、及び修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）を合成する方法を提供する。ある特定の実施形態では、本開示は、１個または複数のスルホニルホスホロアミデート結合を含むオリゴヌクレオチドの合成において使用するためのある特定のスルホニルアジドの安定化された配合物を提供する。一部の実施形態は、修飾オリゴヌクレオチドの合成において使用され得る高エネルギー試薬の安定化された組成物を提供することにより、その安全なプロセス規模の調製を可能にする。
【選択図】なし

10

20

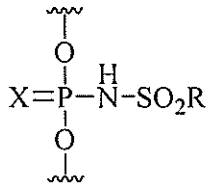
【特許請求の範囲】
【請求項１】
修飾オリゴヌクレオチドを調製する方法であって、亜リン酸トリエステルヌクレオシド間結合を有する第１のオリゴヌクレオチド中間体を、少なくとも１つの安定剤、及びスルホニル酸化剤を含む酸化溶液に接触させて、式ＸＩＶのヌクレオシド間連結基を有する第２のオリゴヌクレオチド中間体を形成させることを含み、
【化１】



ＸＩＶ

式中、
Ｒが、アリール、置換アリール、複素環、置換複素環、芳香族複素環、置換芳香族複素環、ジアゾール、置換ジアゾール、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、Ｃ１～Ｃ２０アルキル、Ｃ１～Ｃ６アルケニル、Ｃ１～Ｃ６アルキニル、置換Ｃ１～Ｃ２０アルキル、置換Ｃ１～Ｃ６アルケニル、置換Ｃ１～Ｃ６アルキニル、及びコンジュゲート基から選択される、
前記方法。
【請求項２】
Ｒがメチルであり、前記スルホニル酸化剤が、メタンスルホニルアジド（ＭｓＮ３）である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記酸化溶液が、前記少なくとも１つの安定剤を含む、請求項１～２のいずれかに記載の方法。
【請求項４】
前記酸化溶液が、前記少なくとも１つの安定剤を含まない、請求項１～２のいずれかに記載の方法。
【請求項５】
前記酸化溶液が、アセトニトリル、トルエン、ジクロロメタン、ピリジン、Ｎ－メチル－２－ピロリドン、及びそれらの組み合わせから選択される溶媒を含む、請求項１～４のいずれかに記載の方法。
【請求項６】
前記少なくとも１つの安定剤が、スルホラン及びリン酸トリフェニル（ＴＰＰ）から選択される、請求項１～５のいずれかに記載の方法。
【請求項７】
少なくとも１つの安定剤がスルホランであり、任意選択で、スルホランが唯一の安定剤である、請求項１～６のいずれかに記載の方法。
【請求項８】
少なくとも１つの安定剤がＴＰＰであり、任意選択で、ＴＰＰが唯一の安定剤である、請求項１～７のいずれかに記載の方法。
【請求項９】
少なくとも１つの安定剤が非架橋ポリマーである、請求項１～８のいずれかに記載の方法。
【請求項１０】
前記非架橋ポリマーがポリスチレンである、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記酸化溶液及び前記少なくとも１つの安定剤から前記溶媒を蒸発させることによって

得られる残渣が、５００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、請求項１～１０のいずれかに記載の方法。
【請求項１２】
前記酸化溶液及び前記少なくとも１つの安定剤から前記溶媒を蒸発させることによって得られる残渣が、３００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、請求項１～１１のいずれかに記載の方法。
【請求項１３】
前記酸化溶液が、前記スルホニル酸化剤に対して０．１～１０当量の前記少なくとも１つの安定剤を含む、先行請求項のいずれかに記載の方法。
【請求項１４】
前記酸化溶液が、前記スルホニル酸化剤に対して１～１０当量の前記少なくとも１つの安定剤を含む、請求項１３に記載の方法。
【請求項１５】
前記酸化溶液が、前記スルホニル酸化剤に対して３～６当量の前記少なくとも１つの安定剤を含む、請求項１３に記載の方法。
【請求項１６】
前記酸化溶液が、前記スルホニル酸化剤に対して４～５当量の前記少なくとも１つの安定剤を含む、請求項１３に記載の方法。
【請求項１７】
前記酸化溶液が、０．１～１０Ｍの前記スルホニル酸化剤を含む、先行請求項のいずれかに記載の方法。
【請求項１８】
前記酸化溶液が、０．５～５Ｍの前記スルホニル酸化剤を含む、先行請求項のいずれかに記載の方法。
【請求項１９】
前記酸化溶液が、０．６～１．５Ｍの前記スルホニル酸化剤を含む、先行請求項のいずれかに記載の方法。
【請求項２０】
式Ｉの少なくとも１個のヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドを合成する方法であって、
【化２】



Ｉ

式中、式Ｉの各ヌクレオシド間結合について独立して、
Ｘが、Ｏ及びＳから選択され、
Ｒが、アリール、置換アリール、複素環、置換複素環、芳香族複素環、置換芳香族複素環、ジアゾール、置換ジアゾール、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシ、Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルケニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキニル、及びコンジュゲート基から選択され、
前記方法が、
ａ）第１のブロックされたヒドロキシル基を結合させた固体支持体を用意するステップと、
ｂ）第１の遊離ヒドロキシル基をもたらすように、前記第１のブロックされたヒドロキシル基を脱ブロックするための脱ブロッキング剤を反応物に添加するステップと、

ｃ）亜リン酸トリエステル連結ヌクレオシドをもたらすように、ヌクレオシドを、前記第１の遊離ヒドロキシル基にてカップリングさせるように前記反応物に添加するステップであって、前記ヌクレオシドが、ホスホロアミダイト基及び第２のブロックされたヒドロキシル基を含む、前記添加するステップと、

ｄ）前記反応物に、

１．リン酸トリエステルヌクレオソード間（ｉｎｔｅｒｎｕｃｌｅｏｓｏｄｅ）結合を生成するための標準的な酸化剤、

２．チオリン酸トリエステルヌクレオシド間結合を生成するための標準的な硫化剤、または

３．スルホニルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を生成するためのスルホニル酸化剤及び少なくとも１つの安定剤、

を添加するステップと、

ｅ）任意選択で、いずれの未反応の遊離ヒドロキシル基もキャップするために、前記スルホニル（ｓｕｆｏｎｙｌ）ホスホロアミデート結合、前記リン酸トリエステル結合、または前記チオリン酸トリエステル結合を、キャッピング試薬で処理するステップと、

ｆ）前記修飾オリゴヌクレオチドをもたらすように、ステップｂ）からｅ）を、少なくとも１つの反復がステップ（ｄ）３を含むことを条件として、既定の回数だけ反復的に繰り返すステップと、

ｇ）前記修飾オリゴヌクレオチドをアセトニトリル中のトリエチルアミンまたはジエチルアミンで処理するステップと、

ｈ）任意選択で、前記修飾オリゴヌクレオチドを前記固体支持体から切断するために、前記修飾オリゴヌクレオチドを水酸化アンモニウムで処理するステップと、

を含み、

それによって、式Ｉの少なくとも１個のヌクレオシド間結合を含む前記修飾オリゴヌクレオチドが合成される、

前記方法。

【請求項２１】

各Ｒがメチルである、請求項２０に記載の方法。

【請求項２２】

前記スルホニル酸化剤が、メタンスルホニルアジドであり、前記酸化溶液が、前記メタンスルホニルアジド及び前記少なくとも１つの安定剤を含む、請求項２０または２１に記載の方法。

【請求項２３】

前記少なくとも１つの安定剤がスルホランであり、任意選択で、スルホランが唯一の安定剤である、請求項２０～２２のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２４】

前記少なくとも１つの安定剤がＴＰＰであり、任意選択で、ＴＰＰが唯一の安定剤である、請求項２０～２２のいずれか１項に記載の方法。

【請求項２５】

前記スルホニル酸化剤及び前記少なくとも１つの安定剤を含む前記溶液からの前記溶媒の蒸発によって得られる残渣が、５００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、請求項２０～２４のいずれかに記載の方法。

【請求項２６】

前記スルホニル酸化剤及び前記少なくとも１つの安定剤を含む前記溶液からの前記溶媒の蒸発によって得られる残渣が、３００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、請求項２０～２４のいずれかに記載の方法。

【請求項２７】

各ＸがＯである、請求項２０～２６のいずれかに記載の方法。

【請求項２８】

前記キャッピング試薬が無水酢酸である、請求項２０～２７のいずれか１項に記載の方

法。
【請求項２９】
保護基を除去すると共に、前記修飾オリゴヌクレオチドを前記固体支持体から切断するために、前記修飾オリゴヌクレオチドを水酸化アンモニウムで処理することを含む、請求項２０～２８のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３０】
前記修飾オリゴヌクレオチドが、１２～２５個の連結したヌクレオシドを含む、請求項２０～２９のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３１】
前記修飾オリゴヌクレオチドが、ホスホロチオエート及びメシルホスホロアミデート、ならびに任意選択でホスホジエステルヌクレオシド間結合（複数可）を含む、請求項１～３０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３２】
前記修飾オリゴヌクレオチドが、ホスホジエステル、ホスホロチオエート、及びメシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合（複数可）から選択されるヌクレオシド間結合を含み、他のヌクレオシド間結合を何ら含まない、請求項１～３０のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３３】
前記修飾オリゴヌクレオチドが、立体標準的糖部分、ｃＥｔ糖部分、２’－ＭＯＥ糖部分、２’－ＯＭｅ糖部分、２’－Ｆ糖部分、２’－ＮＭＡ糖部分、及び／またはβ－Ｄ－２’－デオキシリボシル糖部分を含む、請求項１～３２のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３４】
式Ｉまたは式ＸＩＶの前記ヌクレオシド間結合が、ｃＥｔ糖部分、２’－ＭＯＥ糖部分、２’－ＯＭｅ糖部分、２’－Ｆ糖部分、２’－ＮＭＡ糖部分、及び／またはβ－Ｄ－２’－デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドに隣接する、請求項１～３３のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３５】
式Ｉまたは式ＸＩＶの前記ヌクレオシド間結合が、アデニン、シトシン、５－メチルシトシン、グアニン、チミン、またはウラシル核酸塩基を含むヌクレオシドに隣接する、請求項１～３４のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３６】
コンジュゲートされた修飾オリゴヌクレオチドを形成させるためにコンジュゲート基を結合させることをさらに含む、請求項１～３５のいずれか１項に記載の方法。
【請求項３７】
前記コンジュゲート基が、細胞標的化部分を含む、請求項３６に記載の方法。
【請求項３８】
前記細胞標的化部分が、ＴｆＲに対して親和性を有する、請求項３７に記載の方法。
【請求項３９】
前記細胞標的化部分が、アシアロ糖タンパク質受容体（ＡＳＧＰＲ）に対して親和性を有する、請求項３８に記載の方法。
【請求項４０】
請求項２０～３９のいずれか１項に記載の方法によって合成される修飾オリゴヌクレオチド、または前記修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物。
【請求項４１】
請求項１～１９のいずれか１項に記載の方法によって合成されるヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチド、または前記修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物。
【請求項４２】
メタンスルホニルアジド及びスルホランを含むかまたはそれから本質的になる、安定化された組成物。

【請求項４３】
溶媒をさらに含む、請求項４２に記載の組成物。
【請求項４４】
前記溶媒がアセトニトリルである、請求項４３に記載の組成物。
【請求項４５】
トルエンをさらに含む、請求項４２～４４のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４６】
前記組成物が、メタンスルホニルアジドに対して０．１～１０当量のスルホランを含む、請求項４２～４５のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４７】
前記組成物が、メタンスルホニルアジドに対して１～１０当量のスルホランを含む、請求項４２～４５のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４８】
前記組成物が、メタンスルホニルアジドに対して３～６当量のスルホランを含む、請求項４２～４５のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項４９】
前記組成物が、メタンスルホニルアジドに対して４～５当量のスルホランを含む、請求項４２～４５のいずれか１項に記載の組成物。
【請求項５０】
前記組成物が、５００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、請求項４２～４９のいずれか１項に記載の組成物、またはその蒸発残渣。
【請求項５１】
前記組成物が、３００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、請求項４２～４９のいずれか１項に記載の組成物、またはその蒸発残渣。
【請求項５２】
前記組成物が、衝撃に際して爆発性でない、請求項４２～４９のいずれか１項に記載の組成物、またはその蒸発残渣。
【請求項５３】
メタンスルホニルアジド、スルホラン、及びアセトニトリルからなる、請求項４２に記載の組成物。
【請求項５４】
請求項４２～５３のいずれか１項に記載の組成物に接触している、固体支持体に結合したオリゴヌクレオチド中間体。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
配列表
本願は、配列表と共に電子形式で出願されている。この配列表は、２０２２年６月２９日に作成された１ｋｂのサイズのＤＶＣＭ００４８ＷＯＳＥＱ＿ＳＴ２５．ｔｘｔと題されるファイルとして提供される。この配列表の電子形式の情報は、参照によりその全体が本明細書に援用される。
【０００２】
本開示は、少なくとも１個の修飾ヌクレオシド間連結基を有する修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）の合成のための安定化された試薬組成物を提供する。
【背景技術】
【０００３】
アンチセンス技術の背後にある原理は、アンチセンス化合物が標的核酸にハイブリダイズし、標的核酸の量、活性、及び／または機能を調節することである。例えば、ある特定の事例では、アンチセンス化合物は、標的の転写または翻訳の変化をもたらす。発現のか

かる調節は、例えば、標的ＲＮＡの分解または占有に基づく阻害によって達成され得る。分解によるＲＮＡ標的機能の調節の一例は、ＤＮＡ様アンチセンス化合物とのハイブリダイゼーション時の標的ＲＮＡのＲＮａｓｅ　Ｈに基づく分解である。

【０００４】

標的分解による遺伝子発現の調節の別の例は、ＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）である。ＲＮＡｉとは、ＲＮＡ誘導サイレンシング複合体（ＲＩＳＣ）を利用する機構を介したアンチセンス媒介性遺伝子サイレンシングを指す。ＲＮＡ標的機能の調節のさらなる例は、マイクロＲＮＡによって自然に用いられる機構等の占有に基づく機構によるものである。マイクロＲＮＡは、タンパク質コードＲＮＡの発現を制御する低分子非コードＲＮＡである。アンチセンス化合物のマイクロＲＮＡへの結合は、そのマイクロＲＮＡがそのメッセンジャーＲＮＡ標的に結合するのを阻止し、故にマイクロＲＮＡの機能に干渉する。マイクロＲＮＡ模倣体は、生来のマイクロＲＮＡ機能を強化することができる。ある特定のアンチセンス化合物は、プレｍＲＮＡのスプライシングを変化させる。遺伝子発現の調節の別の例は、ＣＲＩＳＰＲ系におけるアンチセンス化合物の使用である。特定の機構を問わず、配列特異性は、標的の検証及び遺伝子の機能化のためのツール、ならびに疾患の病理発生に関与する遺伝子の発現を選択的に調節する治療薬として、アンチセンス化合物を魅力的なものにする。

【０００５】

アンチセンス技術は、１つまたは複数の特定の遺伝子産物の発現を調節するのに有効な手段であり、したがって、いくつかの治療用途、診断用途、及び研究用途に独特に有用であることが判明し得る。化学修飾ヌクレオシドをアンチセンス化合物に組み込んで、標的核酸のヌクレアーゼ耐性、忍容性、薬物動態、または親和性等の１つまたは複数の特性を強化してもよい。コンジュゲート基をアンチセンス化合物に結合させて、薬物動態、薬力学、ならびに目的とする細胞及び／または組織内への取込み等の１つまたは複数の特性を強化してもよい。

【０００６】

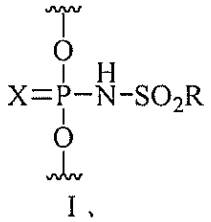
オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物は、複数ステップによるプロセスで化学合成される。置換スルホニルアジドは、結合修飾オリゴヌクレオチドの合成のための有用な試薬であるが、それらは高エネルギー材料であり得、とりわけ製造規模で取り扱いが危険な可能性がある。規模に応じて潜在的に危険な化学的性質を改善するための新たな安定化された試薬組成物及び反応条件の開発は、重要な課題のままである。

【発明の概要】

【０００７】

本開示は、ヌクレオシド間連結基を介して連結された連結ヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）を合成する方法を提供し、該ヌクレオシド間連結基のうちの少なくとも１個が、式Ｉを有し、

【化１】



Ｉ、

式中、Ｘ及びＲは、本明細書で定義される通りである。該方法は、安定化材料を高エネルギー試薬の組成物に添加することを含んでもよい。

【発明を実施するための形態】

【０００８】

上述の一般的な説明及び以下の詳細な説明はいずれも、例示的かつ説明的なものに過ぎず、特許請求されるような実施形態を制限するものではないことを理解されたい。本明細書では、単数形の使用は、別途明確な定めのない限り、複数形を含む。本明細書で使用されるとき、「または」の使用は、別途定めのない限り、「及び／または」を意味する。さらに、「含むこと」という用語、ならびに「含む」及び「含まれる」等の他の形態の使用は、限定するものではない。

【０００９】

本明細書で使用される節の見出しは、構成目的のために過ぎず、記載される主題を限定するものと解釈されるべきではない。特許、特許出願、記事、書籍、論文、ならびにＧｅｎＢａｎｋ及びＮＣＢＩ参照配列レコードを含むがこれらに限定されない、本出願で引用される全ての文書、または文書の一部分は、本明細書で考察される文書の部分に関して、ならびにそれらの全体が、参照により本明細書に明示的に援用される。

【００１０】

本明細書に含まれる各配列番号に定められる配列は、糖部分、ヌクレオシド間結合、または核酸塩基に対するいずれの修飾からも独立していることが理解される。したがって、配列番号によって定義される化合物は、独立して、糖部分、ヌクレオシド間結合、または核酸塩基に対する１つまたは複数の修飾を含んでもよい。この出願に添付される配列表は、各配列を必要に応じて「ＲＮＡ」または「ＤＮＡ」のいずれかとして特定しているが、実際には、それらの配列は化学修飾の任意の組み合わせで修飾され得る。当業者であれば、修飾オリゴヌクレオチドを説明するための「ＲＮＡ」または「ＤＮＡ」のような指定が、ある特定の事例において恣意的であることを容易に理解しよう。例えば、２’－ＯＨ（Ｈ）糖部分及びチミン塩基を含むヌクレオシドを含むオリゴヌクレオチドは、修飾糖（ＤＮＡの１つの２’－Ｈに代わる２’－ＯＨ）を有するＤＮＡとして、または修飾塩基（ＲＮＡのウラシルに代わるチミン（メチル化ウラシル））を有するＲＮＡとして記載され得る。したがって、配列表にある核酸配列を含むがこれらに限定されない、本明細書に提供される核酸配列は、修飾核酸塩基を有するかかる核酸を含むがこれらに限定されない、天然または修飾ＲＮＡ及び／またはＤＮＡの任意の組み合わせを含有する核酸を包含することを意図する。さらなる例として、かつ限定されないが、核酸塩基配列「ＡＴＣＧＡＴＣＧ」を有する修飾オリゴヌクレオチドは、修飾または未修飾のいずれかにかかわらず、かかる核酸塩基配列を有する任意の修飾オリゴヌクレオチドを包含し、これには、ＲＮＡ塩基を含むかかる化合物、例えば、配列「ＡＵＣＧＡＵＣＧ」を有する化合物、ならびに何らかのＤＮＡ塩基及び何らかのＲＮＡ塩基、例えば、「ＡＵＣＧＡＴＣＧ」を有する化合物、ならびに他の修飾核酸塩基、例えば、「ＡＴ^{m}ＣＧＡＵＣＧ」（式中、^{m}Ｃは、５位にメチル基を含むシトシン塩基を示す）を有する修飾オリゴヌクレオチドが含まれるが、これらに限定されない。

【００１１】

本明細書で使用されるとき、フラノシル糖部分またはフラノシル糖部分を含むヌクレオシドを参照しての「２’置換」とは、フラノシル糖部分またはフラノシル糖部分を含むヌクレオシドが、２’位にＨまたはＯＨ以外の置換基を含み、非二環式フラノシル糖部分であることを意味する。２’置換フラノシル糖部分は、オリゴヌクレオチドの関連にあるとき、核酸塩基及び／またはヌクレオシド間結合（複数可）以外に、フラノシル糖部分の他の位置に追加の置換基を含まない。

【００１２】

本明細書で使用されるとき、フラノシル糖部分またはフラノシル糖部分を含むヌクレオシドを参照しての「４’置換」とは、フラノシル糖部分またはフラノシル糖部分を含むヌクレオシドが、４’位にＨ以外の置換基を含み、非二環式フラノシル糖部分であることを意味する。４’置換フラノシル糖部分は、オリゴヌクレオチドの関連にあるとき、核酸塩基及び／またはヌクレオシド間結合（複数可）以外に、フラノシル糖部分の他の位置に追加の置換基を含まない。

【００１３】

本明細書で使用されるとき、フラノシル糖部分またはフラノシル糖部分を含むヌクレオシドを参照しての「５’置換」とは、フラノシル糖部分またはフラノシル糖部分を含むヌクレオシドが、５’位にＨ以外の置換基を含み、非二環式フラノシル糖部分であることを意味する。５’置換フラノシル糖部分は、オリゴヌクレオチドの関連にあるとき、核酸塩基及び／またはヌクレオシド間結合（複数可）以外に、フラノシル糖部分の他の位置に追加の置換基を含まない。

【００１４】

本明細書で使用されるとき、「投与」または「投与すること」とは、本明細書に提供される化合物または組成物を、その意図される役目を果たすように対象に導入する経路を指す。使用され得る投与経路の例としては、吸入、皮下注射、髄腔内注射による投与、及び経口投与が挙げられるが、これらに限定されない。

【００１５】

本明細書で使用されるとき、「アンチセンス活性」とは、アンチセンスオリゴヌクレオチドのその標的核酸へのハイブリダイゼーションに帰すことができる任意の検出可能及び／または測定可能な変化を意味する。ある特定の実施形態では、アンチセンス活性は、アンチセンスオリゴヌクレオチドの不在下での標的核酸レベルまたは標的タンパク質レベルと比較した、標的核酸またはかかる標的核酸によってコードされるタンパク質の量または発現の減少である。

【００１６】

本明細書で使用されるとき、「アンチセンス剤」とは、アンチセンスオリゴヌクレオチド、またはアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド二重鎖を意味する。

【００１７】

本明細書で使用されるとき、「アンチセンス化合物」とは、アンチセンスオリゴヌクレオチド、またはアンチセンスオリゴヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド二重鎖を意味する。

【００１８】

本明細書で使用されるとき、「アンチセンスオリゴヌクレオチド」とは、標的核酸に相補的であり、少なくとも１つのアンチセンス活性を達成することができるオリゴヌクレオチドを意味する。アンチセンスオリゴヌクレオチドには、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチド及びＲＮａｓｅ　Ｈアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドが含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、センスオリゴヌクレオチドと対合して、オリゴヌクレオチド二重鎖を形成する。ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、対合せず、一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、コンジュゲート基を含む。

【００１９】

本明細書で使用されるとき、「人工ｍＲＮＡ化合物」とは、１つまたは複数のコドンを含む核酸塩基配列を有する修飾オリゴヌクレオチド、またはその一部分である。

【００２０】

本明細書で使用されるとき、「二環式ヌクレオシド」または「ＢＮＡ」とは、二環式糖部分を含むヌクレオシドを意味する。本明細書で使用されるとき、「二環式糖」または「二環式糖部分」とは、２つの環を含む修飾糖部分を意味し、ここで、第２の環は、第１の環内の原子のうちの２個をつなげる架橋を介して形成され、それによって二環式構造を形成する。ある特定の実施形態では、二環式糖部分の第１の環は、フラノシル部分であり、二環式糖部分は、修飾された二環式フラノシル糖部分である。ある特定の実施形態では、二環式糖部分は、フラノシル部分を含まない。

【００２１】

本明細書で使用されるとき、「キャッピング試薬」とは、オリゴヌクレオチドの合成、例えば、固体支持体上での合成中にヒドロキシル基を保護するのに有効な試薬を意味する

。ある特定の実施形態では、キャッピング試薬は、無水酢酸であってもよい。キャッピング試薬は、塩基及び溶媒を含む組成物中で送達されてもよい。例えば、キャッピング試薬組成物は、無水酢酸及びアセトニトリル、またはピリジン、Ｎ－メチルイミダゾール（ＮＭＩ）、及びアセトニトリルを含んでもよい。

【００２２】

本明細書で使用されるとき、「ｃＥｔ」または「拘束エチル」または「ｃＥｔ糖部分」とは、二環式糖部分を意味し、ここで、二環式糖部分の第１の環は、リボシル糖部分であり、二環式糖の第２の環は、４’炭素と２’炭素とをつなげる架橋を介して形成され、架橋は、式４’－ＣＨ（CH_3）－Ｏ－２’を有し、架橋のメチル基は、Ｓ配置にある。ｃＥｔ二環式糖部分は、β－Ｄ配置にある。

【００２３】

本明細書で使用されるとき、オリゴヌクレオチドを参照しての「相補的」とは、かかるオリゴヌクレオチドまたはその１つもしくは複数の領域の核酸塩基及び別の核酸またはその１つもしくは複数の領域の核酸塩基の少なくとも７０％が、当該オリゴヌクレオチド及び他方の核酸の核酸塩基配列が反対方向にアライメントされるときに、互いに水素結合可能であることを意味する。相補的な核酸塩基は、互いに水素結合を形成することができる核酸塩基対である。相補的な核酸塩基対には、アデニン（Ａ）とチミン（Ｔ）、アデニン（Ａ）とウラシル（Ｕ）、シトシン（Ｃ）とグアニン（Ｇ）、５－メチルシトシン（ｍＣ）とグアニン（Ｇ）が含まれる。相補的なオリゴヌクレオチド及び／または核酸は、各ヌクレオシドにおいて核酸塩基相補性を有する必要はない。むしろ、いくつかのミスマッチが許容される。本明細書で使用されるとき、オリゴヌクレオチドを参照しての「完全に相補的」または「１００％相補的」とは、かかるオリゴヌクレオチドが別のオリゴヌクレオチドまたは核酸に対して、オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドにおいて相補的であることを意味する。

【００２４】

本明細書で使用されるとき、「コンジュゲート基」とは、コンジュゲート部分及びコンジュゲートリンカーからなる原子団を意味する。

【００２５】

本明細書で使用されるとき、「コンジュゲート部分」とは、コンジュゲート部分を欠いた同一の分子と比較して、薬力学、薬物動態、安定性、結合、吸収、組織分布、細胞分布、細胞取込み、電荷、及びクリアランスを含むがこれらに限定されない、分子の１つまたは複数の特性を改変する原子団を意味する。

【００２６】

本明細書で使用されるとき、「コンジュゲートリンカー」とは、少なくとも１つの結合を含む原子団を意味する。

【００２７】

本明細書で使用されるとき、「ＣＲＩＳＰＲ化合物」とは、ＤＮＡ認識部分及びｔｒａｃｒＲＮＡ認識部分を含む修飾オリゴヌクレオチドを意味する。本明細書で使用されるとき、「ＤＮＡ認識部分」とは、ＤＮＡ標的に相補的である核酸塩基配列である。本明細書で使用されるとき、「ｔｒａｃｒＲＮＡ認識部分」とは、ｔｒａｃｒＲＮＡに結合した、またはそれに結合することができる核酸塩基配列である。ｃｒＲＮＡのｔｒａｃｒＲＮＡ認識部分は、ハイブリダイゼーションまたは共有結合を介してｔｒａｃｒＲＮＡに結合し得る。

【００２８】

本明細書で使用されるとき、培養細胞に対するオリゴマー化合物または親オリゴマー化合物の効果の関連における「細胞毒性（ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ）」または「細胞毒性（ｃｙｔｏｔｏｘｉｃｉｔｙ）」とは、培養細胞への１０μＭ以下のオリゴマー化合物または親オリゴマー化合物の適用に次ぐ、同じ条件下で培養されたがオリゴマー化合物または親オリゴマー化合物を適用されていない細胞と比べた、カスパーゼ活性化の少なくとも２倍の増加を意味する。ある特定の実施形態では、細胞毒性は、標準的なインビトロ細胞毒性ア

ッセイを使用して測定される。
【００２９】
本明細書で使用されるとき、「デオキシ領域」とは、ヌクレオシドの少なくとも７０％が立体標準的（ｓｔｅｒｅｏ－ｓｔａｎｄａｒｄ）ＤＮＡヌクレオシドである、５～１２個の連続するヌクレオチドの領域を意味する。ある特定の実施形態では、各ヌクレオシドは、立体標準的ＤＮＡヌクレオシド（β－Ｄ－２’－デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシド）、式Ｉ～ＶＩＩの立体非標準的（ｓｔｅｒｅｏ－ｎｏｎ－ｓｔａｎｄａｒｄ）ヌクレオシド、二環式ヌクレオシド、及び置換立体標準的ヌクレオシドから選択される。ある特定の実施形態では、デオキシ領域は、ＲＮａｓｅ　Ｈ活性を補助する。ある特定の実施形態では、デオキシ領域は、ギャップマーのギャップである。
【００３０】
本明細書で使用されるとき、「二本鎖アンチセンス化合物」とは、互いに相補的であり二重鎖を形成する２つのオリゴマー化合物を含み、２つの該オリゴマー化合物のうちの一方がアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む、アンチセンス化合物を意味する。
【００３１】
本明細書で使用されるとき、「発現」は、遺伝子のコードされた情報が、細胞内に存在しそこで作動する構造に変換される、全ての機能を含む。かかる構造には、転写産物及び翻訳産物が含まれるが、これらに限定されない。本明細書で使用されるとき、「発現の調節」とは、遺伝子の転写産物または翻訳産物の量または活性の任意の変化を意味する。かかる変化は、調節前の発現レベルと比べた任意の量の増加または低減であり得る。
【００３２】
本明細書で使用されるとき、「ギャップマー」とは、５’領域と３’領域との間に位置付けられた、ＲＮａｓｅ　Ｈ切断を補助する複数のヌクレオシドを含む中心領域を有するオリゴヌクレオチドを意味する。本明細書では、５’領域及び３’領域のヌクレオシドは各々、２’置換フラノシル糖部分または二環式糖部分を含み、中心領域の最も３’側及び５’側のヌクレオシドは各々、２’－デオキシフラノシル糖部分または糖代用物から独立して選択される糖部分を含む。中心領域の位置は、中心領域のヌクレオシドの順序を指し、中心領域の５’末端から開始して数えられる。故に、中心領域の最も５’側のヌクレオシドは、中心領域の１位にある。「中心領域」は、「ギャップ」と称される場合があり、「５’領域」及び「３’領域」は、「ウィング」と称される場合がある。ギャップマーのギャップは、デオキシ領域である。
【００３３】
本明細書で使用されるとき、マウスの関連における「肝毒性」とは、３００単位／リットル超である血漿中ＡＬＴレベルを意味する。マウスに投与されるオリゴマー化合物または親オリゴマー化合物の肝毒性は、１～１５０ｍｇ／ｋｇの該化合物の少なくとも１回投薬から２４時間～２週間後にマウスの血漿中ＡＬＴレベルを測定することによって決定される。
【００３４】
本明細書で使用されるとき、ヒトの関連における「肝毒性」とは、１５０単位／リットル超である血漿中ＡＬＴレベルを意味する。ヒトに投与されるオリゴマー化合物または親オリゴマー化合物の肝毒性は、１０～３００ｍｇの該化合物の少なくとも１回投薬から２４時間～２週間後にヒトの血漿中ＡＬＴレベルを測定することによって決定される。
【００３５】
本明細書で使用されるとき、「ハイブリダイゼーション」とは、相補的なオリゴヌクレオチド及び／または核酸の対合またはアニーリングを意味する。特定の機構に限定されるものではないが、最も一般的なハイブリダイゼーションの機構は水素結合を伴い、これは相補的な核酸塩基間のワトソン・クリック型、フーグスティーン型、または逆フーグスティーン型の水素結合であり得る。
【００３６】
本明細書で使用されるとき、「発現または活性を阻害すること」とは、未処理の試料ま

たは対照試料における発現または活性と比べた発現または活性の低減または遮断を指し、必ずしも発現または活性の完全な排除を示すものではない。

【００３７】

本明細書で使用されるとき、「ヌクレオシド間結合」または「ヌクレオシド間連結基」とは、オリゴヌクレオチドにおいて隣接するヌクレオシド間で共有結合を形成する基または結合を意味する。本明細書で使用されるとき、「修飾ヌクレオシド間結合」とは、天然に存在するホスホジエステルヌクレオシド間結合以外の任意のヌクレオシド間結合を意味する。「ホスホロチオエート結合」とは、ホスホジエステルの非架橋酸素原子のうちの１個が硫黄原子と置き換えられている、修飾ヌクレオシド間結合を意味する。修飾ヌクレオシド間結合は、リン原子を含有する場合も、含有しない場合もある。「中性ヌクレオシド間結合」とは、ｐＨ＝７．０の緩衝水溶液中で負に帯電したリン酸を有しない修飾ヌクレオシド間結合である。修飾ヌクレオシド間結合は、任意選択で、コンジュゲート基を含んでもよい。

【００３８】

本明細書で使用されるとき、「連結ヌクレオシド」とは、連続的な配列でつながっているヌクレオシドである（すなわち、連結されているヌクレオシド間に追加のヌクレオシドが何ら存在しない）。

【００３９】

本明細書で使用されるとき、「最大耐量」とは、許容できない副作用を引き起すことのない、化合物の最高用量を意味する。ある特定の実施形態では、最大耐量は、標準的なアッセイによって測定したときに正常上限値の３倍のＡＬＴ上昇を引き起すことのない、修飾オリゴヌクレオチドの最高用量である。

【００４０】

本明細書で使用されるとき、「調節すること」とは、細胞、組織、臓器、または生物において特徴を変化させるかまたは調整することを指す。

【００４１】

本明細書で使用されるとき、「ＭＯＥ」とは、Ｏ－メトキシエチルを意味する。「２’－ＭＯＥ」または「２’－Ｏ－メトキシエチル」とは、フラノシル環の２’位にある２’－$OCH_2CH_2OCH_3$基を意味する。ある特定の実施形態では、２’－$OCH_2CH_2OCH_3$基は、リボシル環の２’－ＯＨ基に代わるか、または２’－デオキシリボシル環内の２’－Ｈに代わる。「２’－ＭＯＥ糖部分」とは、フラノシル糖部分の２’－ＯＨ基の代わりに２’－$OCH_2CH_2OCH_3$基を有する糖部分である。別途指示されない限り、２’－ＭＯＥ糖部分は、β－Ｄリボシル配置にある。

【００４２】

本明細書で使用されるとき、「２’－ＯＭｅ糖部分」とは、フラノシル糖部分の２’－ＯＨ基の代わりに２’－CH_3基を有する糖部分である。別途指示されない限り、２’－ＯＭｅ糖部分は、β－Ｄリボシル配置にあり、「立体標準的２’ＯＭｅ糖部分」である。

【００４３】

本明細書で使用されるとき、「２’－Ｆ糖部分」とは、フラノシル糖部分の２’－ＯＨ基の代わりに２’－Ｆ基を有する糖部分である。別途指示されない限り、２’－Ｆ糖部分は、β－Ｄリボシル配置にあり、「立体標準的２’－Ｆ糖部分」である。

【００４４】

本明細書で使用されるとき、「モチーフ」とは、オリゴヌクレオチドにおける未修飾及び／または修飾糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合のパターンを意味する。

【００４５】

本明細書で使用されるとき、「天然に存在する」とは、自然界に見出されることを意味する。

【００４６】

本明細書で使用されるとき、「核酸塩基」とは、未修飾核酸塩基または修飾核酸塩基を

意味する。本明細書で使用されるとき、「未修飾核酸塩基」は、アデニン（Ａ）、チミン（Ｔ）、シトシン（Ｃ）、ウラシル（Ｕ）、またはグアニン（Ｇ）である。本明細書で使用されるとき、修飾核酸塩基は、少なくとも１つの未修飾核酸塩基と対合することができる原子団である。普遍的塩基は、これら５つの未修飾核酸塩基のうちのいずれか１つと対合し得る核酸塩基である。５－メチルシトシン（^{m}Ｃ）は、修飾核酸塩基の一例である。

【００４７】

本明細書で使用されるとき、「核酸塩基配列」とは、いずれの糖部分またはヌクレオシド間結合の修飾からも独立した、核酸またはオリゴヌクレオチドにおける連続する核酸塩基の順序を意味する。

【００４８】

本明細書で使用されるとき、「ヌクレオシド」とは、核酸塩基及び糖部分を含む部分を意味する。核酸塩基及び糖部分は、各々独立して、未修飾であるかまたは修飾されている。本明細書で使用されるとき、「修飾ヌクレオシド」とは、修飾核酸塩基及び／または修飾糖部分を含むヌクレオシドを意味する。修飾ヌクレオシドは、コンジュゲート基を含んでもよい。

【００４９】

本明細書で使用されるとき、「オリゴマー化合物」とは、（１）オリゴヌクレオチド（一本鎖オリゴマー化合物）または互いにハイブリダイズした２つのオリゴヌクレオチド（二本鎖オリゴマー化合物）、及び（２）任意選択で、一本鎖オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチドまたは二本鎖オリゴマー化合物のオリゴヌクレオチドの一方もしくは両方に結合され得る、コンジュゲート基または末端基等の１つまたは複数の追加の特徴からなる、化合物を意味する。

【００５０】

本明細書で使用されるとき、「オリゴヌクレオチド」とは、ヌクレオシド間結合を介してつなげられた連結ヌクレオシドの鎖を意味し、ここで、各ヌクレオシド及びヌクレオシド間結合は、修飾されていても、または未修飾であってもよい。別途指示されない限り、オリゴヌクレオチドは、１２～８０個の連結ヌクレオシド、及び任意選択でコンジュゲート基または末端基からなる。本明細書で使用されるとき、「修飾オリゴヌクレオチド」とは、少なくとも１個のヌクレオシド（修飾ヌクレオシド）またはヌクレオシド間結合（修飾ヌクレオシド間結合）が修飾されているオリゴヌクレオチドを意味する。本明細書で使用されるとき、「未修飾オリゴヌクレオチド」とは、いずれのヌクレオシド修飾またはヌクレオシド間修飾も含まないオリゴヌクレオチドを意味する。オリゴヌクレオチドは、オリゴマー化合物であり、オリゴヌクレオチドは、追加の特徴を有するオリゴマー化合物に組み込まれてもよい。オリゴヌクレオチドまたは修飾オリゴヌクレオチドは、それを固体支持体に連結するリンカー基を含んでもよい。リンカーは、Ｒａｖｉｋｕｍａｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｏｒｇ．Ｐｒｏｃｅｓｓ　Ｒｅｓ．Ｄｅｖ．２００８，１２，３，３９９－４１０に記載されるようなものであってもよい。

【００５１】

本明細書で使用されるとき、「オリゴヌクレオチド中間体」とは、オリゴヌクレオチドの合成中に生じ、最終的にかかるオリゴヌクレオチドの一部分を形成することになる化合物またはその一部分を意味する。オリゴヌクレオチド中間体には、本明細書に記載の連結ヌクレオシド、ヌクレオシド間結合、コンジュゲート基、及び修飾体、ならびにそれらの前駆体が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド中間体は、固体支持体に結合させたヒドロキシ基である。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド中間体は、固体支持体に結合させたいくつかの連結したヌクレオシドである。

【００５２】

本明細書で使用されるとき、「薬学的組成物」とは、対象への投与に好適な物質の混合物を意味する。例えば、薬学的組成物は、アンチセンス化合物及び水溶液を含んでもよい。

【００５３】
本明細書で使用されるとき、「ＲＮＡｉ剤」とは、少なくとも部分的にＲＩＳＣまたはＡｇｏ２を介して、標的核酸及び／または標的核酸によってコードされるタンパク質を調節するように作用する、アンチセンス剤を意味する。ＲＮＡｉ剤には、二本鎖ｓｉＲＮＡ、一本鎖ＲＮＡ（ｓｓＲＮＡ）、及びマイクロＲＮＡ模倣体を含めたマイクロＲＮＡが含まれるが、これらに限定されない。ＲＮＡｉ剤は、コンジュゲート基及び／または末端基を含んでもよい。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉ剤は、標的核酸の量、活性、及び／またはスプライシングを調節する。ＲＮＡｉ剤という用語は、ＲＮａｓｅ　Ｈを介して作用するアンチセンス剤は除外する。
【００５４】
本明細書で使用されるとき、「ＲＮＡｉオリゴヌクレオチド」とは、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドまたはＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチドを意味する。
【００５５】
本明細書で使用されるとき、「ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチド」とは、標的配列に相補的であり、ＲＮＡｉに好適な少なくとも１つの化学修飾を含む領域を含む、オリゴヌクレオチドを意味する。
【００５６】
本明細書で使用されるとき、「ＲＮＡｉアンチセンスオリゴマー化合物」とは、標的配列に相補的であり、ＲＮＡｉに好適な少なくとも１つの化学修飾を含む領域を含む、一本鎖オリゴマー化合物を意味する。
【００５７】
本明細書で使用されるとき、「ＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチド」とは、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドのある領域に相補的な領域を含み、かかるＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドと二重鎖を形成することができる、オリゴヌクレオチドを意味する。
【００５８】
本明細書で使用されるとき、「ＲＮＡｉセンスオリゴマー化合物」とは、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチド及び／またはＲＮＡｉアンチセンスオリゴマー化合物のある領域に相補的な領域を含み、かかるＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチド及び／またはＲＮＡｉアンチセンスオリゴマー化合物と二重鎖を形成することができる、一本鎖オリゴマー化合物を意味する。
【００５９】
ＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチド及び／またはＲＮＡｉセンスオリゴマー化合物と、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチド及び／またはＲＮＡｉアンチセンスオリゴマー化合物によって形成される二重鎖は、二本鎖ＲＮＡｉ化合物（ｄｓＲＮＡｉ）または短鎖干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）と称される。
【００６０】
本明細書で使用されるとき、「ＲＮａｓｅ　Ｈ剤」とは、少なくとも部分的にＲＮａｓｅ　Ｈを介して、標的核酸及び／または標的核酸によってコードされるタンパク質を調節するように作用する、アンチセンス剤を意味する。ある特定の実施形態では、ＲＮａｓｅ　Ｈ剤は、一本鎖である。ある特定の実施形態では、ＲＮａｓｅ　Ｈ剤は、二本鎖である。ＲＮａｓｅ　Ｈ化合物は、コンジュゲート基及び／または末端基を含んでもよい。ある特定の実施形態では、ＲＮａｓｅ　Ｈ剤は、標的核酸の量または活性を調節する。ＲＮａｓｅ　Ｈ剤という用語は、主にＲＩＳＣ／Ａｇｏ２を介して作用するアンチセンス剤は除外する。
【００６１】
本明細書で使用されるとき、「ＲＮａｓｅ　Ｈアンチセンス修飾オリゴヌクレオチド」とは、標的配列に相補的であり、ＲＮａｓｅ　Ｈ媒介性の核酸分解に好適な少なくとも１つの化学修飾を含む領域を含む、オリゴヌクレオチドを意味する。
【００６２】

本明細書で使用されるとき、「ＲＮＡｉ化合物」とは、少なくとも部分的にＲＩＳＣまたはＡｇｏ２を介して、標的核酸及び／または標的核酸によってコードされるタンパク質を調節するように作用する、アンチセンス化合物を意味する。ＲＮＡｉ化合物には、二本鎖ｓｉＲＮＡ、一本鎖ＲＮＡ（ｓｓＲＮＡ）、及びマイクロＲＮＡ模倣体を含めたマイクロＲＮＡが含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉ化合物は、標的核酸の量、活性、及び／またはスプライシングを調節する。ＲＮＡｉ化合物という用語は、ＲＮａｓｅ　Ｈを介して作用するアンチセンスオリゴヌクレオチドは除外する。

【００６３】

本明細書で使用されるとき、アンチセンス化合物を参照しての「一本鎖」という用語は、第２のオリゴマー化合物と対合して二重鎖を形成することのない、１つのオリゴマー化合物からなるような化合物を意味する。オリゴヌクレオチドを参照しての「自己相補的」とは、それ自体に少なくとも部分的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを意味する。１つのオリゴマー化合物からなり、当該オリゴマー化合物の当該オリゴヌクレオチドが自己相補的である化合物は、一本鎖化合物である。一本鎖アンチセンスまたはオリゴマー化合物は、相補的なオリゴマー化合物に結合して、二重鎖を形成することが可能であり得、その場合、当該化合物は、もはや一本鎖ではなくなる。

【００６４】

本明細書で使用されるとき、「安定化リン酸基」とは、生物学的条件下で、未修飾ヌクレオシドの未修飾５’リン酸の安定性と比べてオリゴヌクレオチドの５’末端ヌクレオシドの５’リン酸部分の安定化をもたらす、５’化学部分を指す。５’リン酸基のかかる安定化には、ホスファターゼによる除去への耐性が含まれるが、これらに限定されない。安定化リン酸基には、５’－ビニルホスホネート及び５’－シクロプロピルホスホネートが含まれるが、これらに限定されない。

【００６５】

本明細書で使用されるとき、「安定剤」とは、反応混合物を含むがこれらに限定されない溶液中に存在するときに、爆発のリスクを低減する物質を指す。

【００６６】

本明細書で使用されるとき、「標準的な酸化剤」とは、塩基性溶媒、３－ピコリン、ピリジン、２，６－ルチジン等の塩基性溶媒とヨウ素及び水との混合物、ヨウ素、ＮＭＩ、塩基性溶媒、及び水の混合物を含むがこれらに限定されない、リンヌクレオシド間結合を酸化するための、オリゴヌクレオチド合成の技術分野で十分に理解されている酸化剤を指す。酸化方法のさらなる例及び説明は、ＷＯ２０２０２３６６１８Ａ１に記載されており、同文献の開示はその全体が本明細書に援用される。

【００６７】

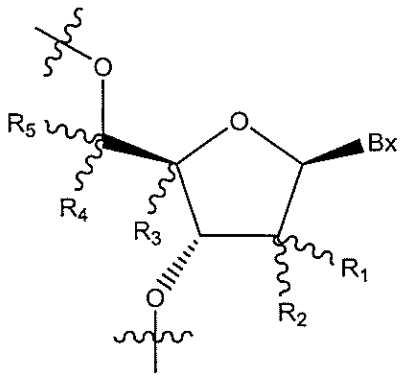
本明細書で使用されるとき、「標準的な硫化剤」とは、フェンアセチルジスルフィド（ｐｈｅｎａｃｅｔｙｌｄｉｌｓｕｌｆｉｄｅ）またはキサンタンヒドリドを含むがこれらに限定されない、リンヌクレオシド間結合を硫化するための、オリゴヌクレオチド合成の技術分野で十分に理解されている試薬を指す。酸化方法のさらなる例及び説明は、ＷＯ２０２０２３６６１８Ａ１に記載されており、同文献の開示はその全体が本明細書に援用される。

【００６８】

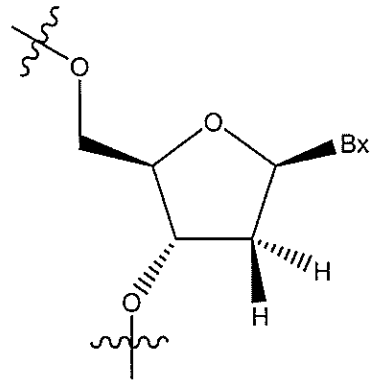
本明細書で使用されるとき、「立体標準的ヌクレオシド」とは、下記に示されるような天然に存在するＤＮＡ及びＲＮＡの配置を有する非二環式フラノシル糖部分を含むヌクレオシドを意味する。「立体標準的ＤＮＡヌクレオシド」とは、β－Ｄ－２’－デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドである。「立体標準的ＲＮＡヌクレオシド」とは、β－Ｄ－リボシル糖部分を含むヌクレオシドである。「置換立体標準的ヌクレオシド」とは、立体標準的ＤＮＡまたは立体標準的ＲＮＡヌクレオシド以外の立体標準的ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、R_1は、２’置換基であり、R_2～R_5は各々、Ｈである。ある特定の実施形態では、２’置換基は、ＯＭｅ、Ｆ、$OCH_2CH_2OCH_3$、Ｏ

－アルキル、ＳＭｅ、またはＮＭＡから選択される。ある特定の実施形態では、R_1～R_4は、Ｈであり、R_5は、メチル、アリル、またはエチルから選択される５’置換基である。ある特定の実施形態では、複素環式塩基部分Ｂｘは、ウラシル、チミン、シトシン、５－メチルシトシン、アデニン、またはグアニンから選択される。ある特定の実施形態では、複素環式塩基部分Ｂｘは、ウラシル、チミン、シトシン、５－メチルシトシン、アデニン、またはグアニン以外である。

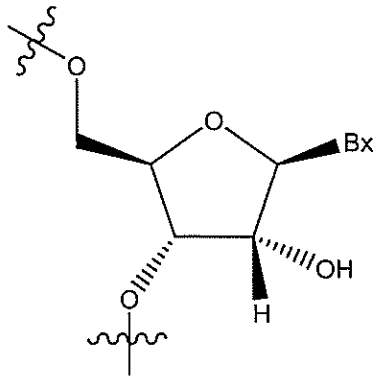
【化２】



立体標準的ヌクレオシド



立体標準的ＤＮＡヌクレオシド



立体標準的ＲＮＡヌクレオシド

【００６９】

本明細書で使用されるとき、「立体非標準的ヌクレオシド」とは、立体標準的糖部分の配置以外の配置を有する非二環式フラノシル糖部分を含むヌクレオシドを意味する。ある特定の実施形態では、「立体非標準的ヌクレオシド」は、２’－β－Ｌ－デオキシリボシル糖部分、２’－α－Ｄ－デオキシリボシル糖部分、２’－α－Ｌ－デオキシリボシル糖部分、２’－β－Ｄ－デオキシキシロシル糖部分、２’－β－Ｌ－デオキシキシロシル糖部分、２’－α－Ｄ－デオキシキシロシル糖部分、２’－α－Ｌ－デオキシキシロシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｄ－アラビノシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｄ－キシロシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｄ－リボシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｄ－アラビノシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｄ－キシロシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｌ－リボシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｌ－キシロシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｌ－アラビノシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｌ－キシロシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｌ－リボシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｌ－アラビノシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｄ－リキソシル（ｌｙｘｏｓｙｌ）糖部分、２’－フルオロ－α－Ｄ－リキソシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｌ－リキソシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｌ－リキソシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｄ－アラビノシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｄ－キシロシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｄ－リボシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｄ－アラビノシ

ル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｄ－キシロシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｌ－リボシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｌ－キシロシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｌ－アラビノシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｌ－キシロシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｌ－リボシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｌ－アラビノシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｄ－リキソシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｄ－リキソシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｌ－リキソシル糖部分、または２’－Ｏ－メチル－β－Ｌ－リキソシル糖部分である。

【００７０】

本明細書で使用されるとき、「立体標準的糖部分」とは、立体標準的ヌクレオシドの糖部分を意味する。

【００７１】

本明細書で使用されるとき、「立体非標準的糖部分」とは、立体非標準的ヌクレオシドの糖部分を意味する。

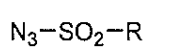
【００７２】

本明細書で使用されるとき、「置換立体非標準的ヌクレオシド」とは、天然ＲＮＡまたはＤＮＡに対応する置換基以外の置換基を含む立体非標準的ヌクレオシドを意味する。ある特定の実施形態では、置換立体非標準的ヌクレオシドは、２’－フルオロ－β－Ｄ－アラビノシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｄ－キシロシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｄ－リボシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｄ－アラビノシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｄ－キシロシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｌ－リボシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｌ－キシロシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｌ－アラビノシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｌ－キシロシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｌ－リボシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｌ－アラビノシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｄ－リキソシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｄ－リキソシル糖部分、２’－フルオロ－α－Ｌ－リキソシル糖部分、２’－フルオロ－β－Ｌ－リキソシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｄ－アラビノシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｄ－キシロシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｄ－リボシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｄ－アラビノシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｄ－キシロシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｌ－リボシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｌ－キシロシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｌ－アラビノシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｌ－キシロシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｌ－リボシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｌ－アラビノシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－β－Ｄ－リキソシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｄ－リキソシル糖部分、２’－Ｏ－メチル－α－Ｌ－リキソシル糖部分、または２’－Ｏ－メチル－β－Ｌ－リキソシル糖部分である。

【００７３】

本明細書で使用されるとき、「スルホニル酸化剤」とは、亜リン酸トリエステルからホスホロアミデートへの変換をもたらすことができる薬剤を意味する。ある特定の実施形態では、スルホニル酸化剤は、構造

【化３】



を有し、式中、Ｒは、式Ｉに関して定義される通りである。ある特定の実施形態では、Ｒはメチルであり、スルホニル酸化剤は、メタンスルホニルアジド（「ＭｓＮ$_3$」）である。

【００７４】

本明細書で使用されるとき、「糖部分」とは、未修飾糖部分または修飾糖部分を意味する。本明細書で使用されるとき、「未修飾糖部分」とは、天然に存在するＲＮＡに見出されるようなβ－Ｄ－リボシル部分、または天然に存在するＤＮＡに見出されるようなβ－Ｄ－２’－デオキシリボシル糖部分を意味する。本明細書で使用されるとき、「修飾糖部分」または「修飾糖」とは、β－Ｄ－リボシルまたはβ－Ｄ－２’－デオキシリボシル以

外の糖代用物またはフラノシル糖部分を意味する。修飾フラノシル糖部分は、糖部分のある特定の位置（複数可）が修飾もしくは置換されていても、または置換されていなくてもよく、それらは、立体非標準的糖部分である場合も、そうでない場合もある。修飾フラノシル糖部分には、二環式糖及び非二環式糖が含まれる。本明細書で使用されるとき、「糖代用物」とは、フラノシルまたはテトラヒドロフラニル環を含まず（「フラノシル糖部分」ではない）、オリゴヌクレオチドにおいて核酸塩基をヌクレオシド間結合、コンジュゲート基、または末端基等の別の基に連結することができる、修飾糖部分を意味する。糖代用物を含む修飾ヌクレオシドは、オリゴヌクレオチド内の１つまたは複数の位置に組み込むことができ、かかるオリゴヌクレオチドは、相補的なオリゴマー化合物または核酸にハイブリダイズすることができる。

【００７５】

本明細書で使用されるとき、「標的核酸」、「標的ＲＮＡ」、「標的ＲＮＡ転写物」、及び「核酸標的」とは、これに影響を与えるようにアンチセンス化合物等のオリゴマー化合物が設計されている核酸を意味する。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、１つよりも多くのＲＮＡに相補的である核酸塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを含み、これらのＲＮＡのうちの１つのみがオリゴマー化合物の標的ＲＮＡである。ある特定の実施形態では、標的ＲＮＡは、オリゴマー化合物が投与される種に存在するＲＮＡである。

【００７６】

本明細書で使用されるとき、「治療指数」とは、毒性を引き起こす量に対する、治療効果を引き起こす化合物の量の比較を意味する。高い治療指数を有する化合物は、強力な有効性及び低い毒性を有する。ある特定の実施形態では、化合物の治療指数を増加させることで、安全に投与され得る化合物の量が増加する。

【００７７】

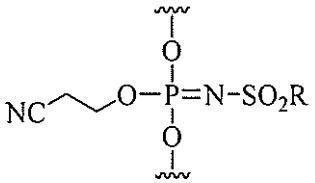
ある特定の実施形態

本開示は、以下の日限定的な実施形態を提供する。

【００７８】

実施形態１：亜リン酸トリエステルヌクレオシド間結合を有する第１のオリゴヌクレオチド中間体を、少なくとも１つの安定剤、及びスルホニル酸化剤を含む酸化溶液に接触させて、式ＸＩＶのヌクレオシド間連結基を有する第２のオリゴヌクレオチド中間体を形成させることを含み、

【化４】



ＸＩＶ

式中、

Ｒが、アリール、置換アリール、複素環、置換複素環、芳香族複素環、置換芳香族複素環、ジアゾール、置換ジアゾール、C_1～C_6アルコキシ、C_1～C_{20}アルキル、C_1～C_6アルケニル、C_1～C_6アルキニル、置換C_1～C_{20}アルキル、置換C_1～C_6アルケニル、置換C_1～C_6アルキニル、及びコンジュゲート基から選択される、方法。

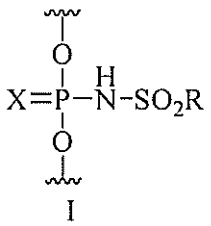
【００７９】

実施形態２：前記スルホニル酸化剤が、メタンスルホニルアジド（MsN_3）である、実施形態１に記載の方法。

【００８０】

実施形態３：酸化溶液が、前記少なくとも１つの安定剤を含む、実施形態１～２のいず

れかに記載の方法。
【００８１】
実施形態４：前記酸化溶液が、前記少なくとも１つの安定剤を含まない、実施形態１～２のいずれかに記載の方法。
【００８２】
実施形態５：前記酸化溶液が、アセトニトリル、トルエン、ジクロロメタン、ピリジン、Ｎ－メチル－２－ピロリドン、及びそれらの組み合わせから選択される溶媒を含む、実施形態１～４のいずれかに記載の方法。
【００８３】
実施形態６：前記少なくとも１つの安定剤が、ナフタレン、スルホラン、及びリン酸トリフェニルから選択される、実施形態１～５のいずれかに記載の方法。
【００８４】
実施形態７：前記少なくとも１つの安定剤が、リン酸トリフェニル（ＴＰＰ）である、実施形態１～５のいずれかに記載の方法。
【００８５】
実施形態８：前記少なくとも１つの安定剤がＴＰＰである、実施形態１～７のいずれかに記載の方法。
【００８６】
実施形態９：
【００８７】
実施形態１０：少なくとも１つの安定剤が非架橋ポリマーである、実施形態１～９のいずれかに記載の方法。
【００８８】
実施形態１１：前記非架橋ポリマーがポリスチレンである、実施形態１０に記載の方法。
【００８９】
実施形態１２：前記酸化溶液及び前記少なくとも１つの安定剤から前記溶媒を蒸発させることによって得られる残渣が、５００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、実施形態１～１１のいずれかに記載の方法。
【００９０】
実施形態１３：前記酸化溶液及び前記少なくとも１つの安定剤から前記溶媒を蒸発させることによって得られる残渣が、３００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、実施形態１～１１のいずれかに記載の方法。
【００９１】
実施形態１４：式Ｉの少なくとも１個のヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドを合成する方法であって、
【化５】



式Ｉ

式中、式Ｉの各ヌクレオシド間結合について独立して、
Ｘが、ＯまたはＳから選択され、
Ｒが、アリール、置換アリール、複素環、置換複素環、芳香族複素環、置換芳香族複素環、ジアゾール、置換ジアゾール、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシ、Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$ア

ルケニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキニル、及びコンジュゲート基から選択され、
前記方法が、
ａ）ブロックされたヒドロキシル基を結合させた固体支持体を用意するステップと、
ｂ）遊離ヒドロキシル基をもたらすように、前記ブロックされたヒドロキシル基を脱ブロックするための脱ブロッキング剤を反応物に添加するステップと、
ｃ）亜リン酸トリエステル連結ヌクレオシドをもたらすように、ヌクレオシドを、前記遊離ヒドロキシル基にてカップリングさせるように前記反応物に添加するステップであって、前記ヌクレオシドが、ホスホロアミダイト基及びブロックされたヒドロキシル基を含む、前記添加するステップと、
ｄ）前記反応物に、
１．リン酸トリエステルヌクレオソード間（ｉｎｔｅｒｎｕｃｌｅｏｓｏｄｅ）結合を生成するための標準的な酸化剤、
２．チオリン酸トリエステルヌクレオシド間結合を生成するための標準的な硫化剤、または
３．スルホニルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を生成するためのスルホニル酸化剤、及びＴＰＰから選択される少なくとも１つの安定剤、
を添加するステップと、
ｅ）任意選択で、いずれの未反応の遊離ヒドロキシル基もキャップするために、前記スルホニル（ｓｕｆｏｎｙｌ）ホスホロアミデート結合、前記リン酸トリエステル結合、または前記チオリン酸トリエステル結合を、キャッピング試薬の混合物で処理するステップと、
ｆ）前記修飾オリゴヌクレオチドをもたらすように、ステップｂ）からｅ）を、少なくとも１つの反復がステップ（ｄ）３を含むことを条件として、既定の回数だけ反復的に繰り返すステップと、
ｇ）前記修飾オリゴヌクレオチドをアセトニトリル中のトリエチルアミンで処理するステップと、
を含み、
それによって、式Ｉの少なくとも１個のヌクレオシド間結合を含む前記修飾オリゴヌクレオチドが合成される、
前記方法。

【００９２】
実施形態１５：スルホニル酸化剤が、メタンスルホニルアジド及び前記少なくとも１つの安定剤を含む酸化溶液中にある、実施形態１４に記載の方法。

【００９３】
実施形態１６：

【００９４】
実施形態１７：前記少なくとも１つの安定剤がＴＰＰである、実施形態１５～１６のいずれかに記載の方法。

【００９５】
実施形態１８：前記スルホニル酸化剤及び前記少なくとも１つの安定剤を含む前記溶液からの溶媒の蒸発によって得られる残渣が、５００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、実施形態１４～１７のいずれかに記載の方法。

【００９６】
実施形態１９：前記スルホニル酸化剤及び前記少なくとも１つの安定剤を含む前記溶液からの溶媒の蒸発によって得られる残渣が、３００Ｊ．ｇ$^{-1}$未満の燃焼エネルギーを有する、実施形態１４～１７のいずれかに記載の方法。

【００９７】
実施形態２０：ＸがＯであり、Ｒがメチルである、実施形態１４～１９のいずれかに記載の方法。

【００９８】

実施形態２１：前記修飾オリゴヌクレオチドが、１２～２５個の連結したヌクレオシドを含む、実施形態１～２０のいずれかに記載の方法。

【００９９】

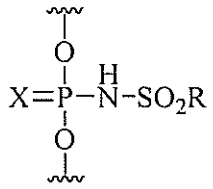
実施形態２２：保護基を除去すると共に、前記修飾オリゴヌクレオチドを前記固体支持体から切断するために、前記修飾オリゴヌクレオチドを水酸化アンモニウムで処理することを含む、実施形態１４～２１のいずれかに記載の方法。

【０１００】

ある特定の化合物

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の化合物は、連結ヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなり、式Ｉの服なくとも１個のヌクレオシド間連結基を有する、オリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）であり、

【化６】



Ｉ

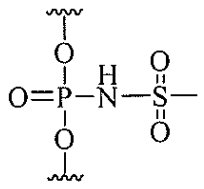
式中、Ｘが、ＯまたはＳから選択され、

Ｒが、アリール、置換アリール、複素環、置換複素環、芳香族複素環、置換芳香族複素環、ジアゾール、置換ジアゾール、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシ、Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルケニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキニル、及びコンジュゲート基から選択される。ある特定の実施形態では、ＸはＯであり、Ｒはメチルであり、式Ｉのヌクレオシド間連結基は、下記の式ＩＩのヌクレオシド間連結基である。

【０１０１】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の化合物は、連結ヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなり、式ＩＩの少なくとも１個のヌクレオシド間連結基、

【化７】



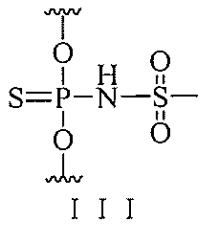
ＩＩ

（メシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合）を有する、オリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）である。

【０１０２】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の化合物は、連結ヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなり、式ＩＩＩの少なくとも１個のヌクレオシド間連結基を有する、オリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）である。

【化８】

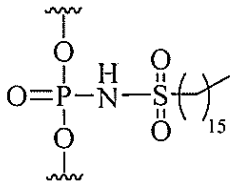


ＩＩＩ

【０１０３】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の化合物は、連結ヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなり、式ＩＶの少なくとも１個のヌクレオシド間連結基を有する、オリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）である。

【化９】



ＩＶ

【０１０４】

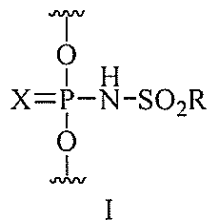
修飾オリゴヌクレオチドは、未修飾オリゴヌクレオチドと比べて少なくとも１つの修飾を含む（すなわち、少なくとも１個の修飾ヌクレオシド（修飾糖部分、立体非標準的ヌクレオシド、及び／または修飾核酸塩基を含む）及び／または少なくとも１個の修飾ヌクレオシド間結合を含む）。ある特定の実施形態では、修飾ヌクレオシド間結合は、式Ｉ～ＩＶのうちのいずれかを有する修飾ヌクレオシド間連結基である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の化合物は、式Ｉ～ＩＶのうちのいずれかを有する少なくとも１個の修飾ヌクレオシド間連結基を有するオリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）である。

【０１０５】

オリゴヌクレオチドの合成のためのある特定のプロセス

本開示は、式Ｉの少なくとも１個の修飾ヌクレオシド間結合を含むオリゴヌクレオチドを調製するための合成方法を提供する。

【化１０】



Ｉ

【０１０６】

本開示はまた、かかるオリゴヌクレオチドを含むオリゴマー化合物を調製するための合成方法も提供し、ここで、かかるオリゴマー化合物は、切断可能なリンカーを介してオリゴヌクレオチドに結合させたコンジュゲート部分を含む。ある特定の実施形態では、切断可能なリンカーは、リン酸ジエステル結合である。ある特定の実施形態では、式Ｉの少な

くとも１個のヌクレオシド間結合と、少なくとも１個のホスホロチオエートジエステル結合及び／または少なくとも１個のリン酸ジエステル結合との両方を有するオリゴヌクレオチドは、１つまたは複数の所望の特性を有する。ある特定の実施形態では、式Ｉの少なくとも１個のヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオチドは、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、式Ｉの少なくとも１個のヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオチドは、核酸標的のスプライシングを調節するために使用される。ある特定の実施形態では、式Ｉの少なくとも１個のヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオチドは、ＲＮＡｉ化合物である。かかるＲＮＡｉ化合物は、二本鎖または一本鎖であり得る。かかるオリゴヌクレオチドは、本明細書に記載の特徴、修飾ヌクレオシド、及びヌクレオシドモチーフのうちのいずれを含んでもよい。

【０１０７】

したがって、かかるオリゴヌクレオチドは、本明細書に記載の修飾糖部分のうちのいずれ及び／または修飾核酸塩基のうちのいずれを含んでもよい。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の合成プロセスは、コンジュゲート基を含むオリゴマー化合物を合成するために使用される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の合成プロセスは、１つまたは複数のＮ－アセチルガラクトサミン残基を含むコンジュゲート基を含むオリゴマー化合物を合成するために使用される。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のプロセスを使用して合成されるオリゴマー化合物は、ギャップマーである。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のプロセスを使用して合成されるオリゴマー化合物は、ＲＮＡｉ化合物である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のプロセスを使用して合成されるオリゴマー化合物は、一本鎖である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のプロセスを使用して合成されるオリゴマー化合物は、二本鎖である。ある特定の実施形態では、本明細書に記載のプロセスを使用して合成される化合物は、動物への投与用に製剤化される。

【０１０８】

スルホニルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を含むオリゴヌクレオチドの合成のためのある特定の試薬

本開示は、１個または複数のスルホニルホスホロアミデート結合を含むオリゴヌクレオチドの合成において使用するための、ある特定のスルホニル酸化剤、例えば、スルホニルアジドを提供する。本開示はさらに、スルホニルホスホロアミデート結合形成反応に導入され得る安定剤を提供する。ある特定の実施形態では、安定剤は、スルホニル酸化剤、例えば、スルホニルアジドの導入の前に、それと同時に、またはそれに後続して結合形成反応に導入されてもよい。ある特定の実施形態では、１つよりも多くの安定剤が結合形成反応に導入されてもよい。ある特定の実施形態では、安定剤は、スルホニルアジドの使用に関連するエネルギー事象を改善し得る。ある特定の実施形態では、安定剤は、立体的にかさ高い化合物であり得る。ある特定の実施形態では、安定剤は、低燃焼性の特性を有する。ある特定の実施形態では、安定剤は、低揮発性を有し、室温で固体または半固体であり得る。ある特定の実施形態では、スルホニルアジド及び安定剤は、結合形成反応への導入前に溶媒または溶媒混合物中に溶解させてもよい。本開示に従って有用であり得る溶媒には、アセトニトリル（ＭｅＣＮ）、ジクロロメタン（ＤＣＭ）、トルエン、ピリジン、Ｎ－メチル－２－ピロリドン（ＮＭＰ）、及びそれらの混合物が含まれるが、これらに限定されない。本開示に従って有用であり得る溶媒には、アセトニトリル（ＭｅＣＮ）、トルエン、ジクロロメタン（ＤＣＭ）、トルエン、ピリジン、Ｎ－メチル－２－ピロリドン（ＮＭＰ）、及びそれらの混合物が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、溶媒は、アセトニトリル及びトルエンである。ある特定の実施形態では、安定剤は、室温で固体または液体であり得る。本開示において有用であり得る安定剤には、ナフタレン、スルホラン、及びリン酸トリフェニル（ＴＰＰ）が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、本開示において使用するための安定剤は、ポリスチレンを含むがこれに限定されない非架橋ポリマーである。本明細書で企図される追加の安定剤には、可溶性ポリマー、ろう、トリグリセリド、及びパラフィンろうが含まれる。

【０１０９】
安定剤は、溶媒の蒸発時にスルホニル酸化剤と均一混合物を形成すべきである。結晶化を生じやすい安定剤は、好適であると考えられない。故に、ジフェニルスルホン（ＤＰＳ）は、結晶を形成することが見出されたため、好適でない。
【０１１０】
一般に、本明細書に記載の安定剤は、メタンスルホニルアジド等のスルホニル酸化剤の反応中に生み出される発熱を低減する。スルホニル酸化剤の量に対する安定剤の量は、決定され得る。ある特定の実施形態では、安定剤の量は、合成において安全に取り扱い、利用することができる組成物を提供する。安定剤は、プロセス規模に応じたオリゴヌクレオチドの合成を可能にする量であり得、例えば、オリゴヌクレオチドは、臨床試験を実施するのに十分な量で合成され得る。安定剤は、溶媒または水性洗浄によって容易に除去可能であり得る。治療用オリゴヌクレオチドの合成において使用されるような安定剤は、ＧＭＰプロトコルに適合するものであり得る。ある特定の実施形態では、安定剤は、例えば、メタンスルホニルアジドがスルホニル酸化剤である場合に、衝撃に際して爆発のリスクを有しない組成物を提供する。
【０１１１】
また、本明細書では、メタンスルホニルアジド及び安定剤を含む安定化された組成物も提供される。ある特定の実施形態では、スルホラン及びメタンスルホニルアジドを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる安定化された組成物が提供される。安定化された組成物は、溶媒をさらに含んでもよい。ある特定の実施形態では、スルホラン、メタンスルホニルアジド、及び任意選択でアセトニトリルを含むか、それから本質的になるか、またはそれからなる安定化された組成物が提供される。安定化された組成物は、任意選択で、本明細書に記載されるような、ホスホロアミデートヌクレオシド間結合を含有するオリゴマー化合物の合成において使用するためのオリゴヌクレオチド中間体を担持する固体支持体に接触して配置されてもよい。
【０１１２】
ある特定の実施形態では、本明細書に記載のプロセスは、連結ヌクレオシドからなるオリゴヌクレオチドを含むかまたはそれからなるオリゴマー化合物を合成するのに有用である。本開示は、本明細書に記載の任意の数の修飾を有するオリゴヌクレオチドの合成において使用するための試薬を提供する。
【０１１３】
故に、ある特定の実施形態は、メタンスルホニルアジド及びスルホランを含む安定化された組成物が提供される。該組成物は、メタンスルホニルアジドに対して０．１～１００当量、０．１～１０当量、１～１０当量、３～６当量、４～５当量、１～２当量、２～３当量、３～４当量、５～６当量、６～７当量、７～８当量、８～９当量、もしくは９～１０当量のスルホラン、またはメタンスルホニルアジドに対して約１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０当量のスルホランを含んでもよい。安定化された組成物中のメタンスルホニルアジドの濃度は、０．１～１０Ｍ、例えば、０．５～１０Ｍ、０．５～５Ｍ、０．１～５Ｍ、０．３～１．５Ｍ、０．４～０．６Ｍ、０．１～０．２Ｍ、０．２～０．３Ｍ、０．３～０．４Ｍ、０．４～０．５Ｍ、０．４～０．６Ｍ、０．５～０．６Ｍ、０．６～０．７Ｍ、０．７～０．８Ｍ、０．８～０．９Ｍ、０．９～１Ｍ、１～１．１Ｍ、１～１．２Ｍ、１．１～１．２Ｍ、１．１～１．３Ｍ、１．２～１．３Ｍ、１～１．５Ｍ、１．３～１．４Ｍ、１．４～１．５Ｍ、または約０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、もしくは２Ｍであってもよい。安定化された組成物中のスルホランの濃度は、０．１～２０Ｍ、例えば、１～２０Ｍ、１～１０Ｍ、３～６Ｍ、４～５Ｍ、１～２Ｍ、２～３Ｍ、３～４Ｍ、５～６Ｍ、６～７Ｍ、７～８Ｍ、８～９Ｍ、もしくは９～１０Ｍ、または約１、２、３、４、５、６、７、８、９、もしくは１０Ｍであってもよい。
【０１１４】
Ｉ．修飾

Ａ．修飾ヌクレオシド

修飾ヌクレオシドは、立体非標準的ヌクレオシド、もしくは修飾糖部分、もしくは修飾核酸塩基、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

【０１１５】

１．ある特定の修飾糖部分

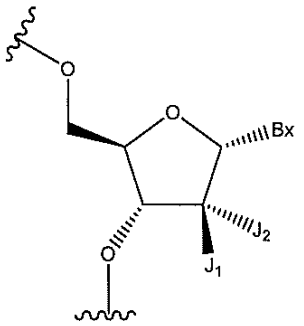
ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、立体非標準的糖部分である。ある特定の実施形態では、糖部分は、置換されたフラノシル立体標準的糖部分である。ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、二環式または三環式フラノシル糖部分である。ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、糖代用物である。かかる糖代用物は、他のタイプの修飾糖部分の置換に対応する１つまたは複数の置換を含んでもよい。

【０１１６】

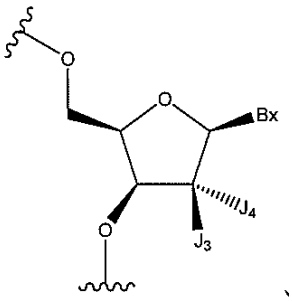
ａ．立体非標準的糖部分

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、下記の式Ｖ～ＸＩに示される立体非標準的糖部分であり、

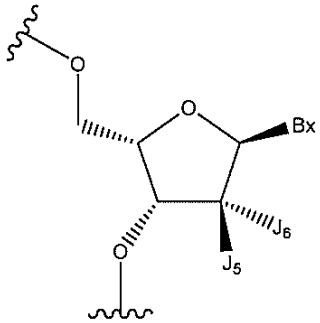
【化１１】



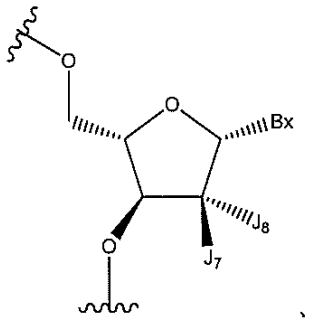
V、



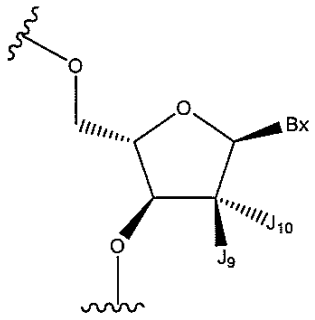
VI、



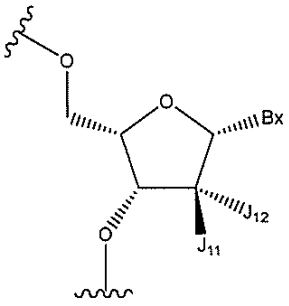
VII、



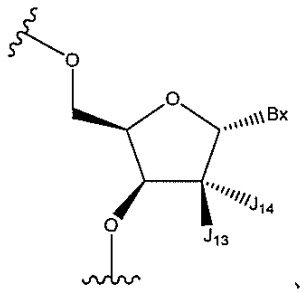
VIII、



IX、



X、



XI、

式中、

J_1及びJ_2のうちの一方が、Hであり、J_1及びJ_2のうちの他方が、H、OH、F、OCH_3、$OCH_2CH_2OCH_3$、O－C_1～C_6アルコキシ、及びSCH_3から選択され、

J_3及びJ_4のうちの一方が、Hであり、J_3及びJ_4のうちの他方が、H、OH、F、OCH_3、$OCH_2CH_2OCH_3$、O－C_1～C_6アルコキシ、及びSCH_3から選択され、

J_5及びJ_6のうちの一方が、Hであり、J_5及びJ_6のうちの他方が、H、OH、F、OCH_3、$OCH_2CH_2OCH_3$、O－C_1～C_6アルコキシ、及びSCH_3から選

択され、
J_7及びJ_8のうちの一方が、Ｈであり、J_7及びJ_8のうちの他方が、Ｈ、ＯＨ、Ｆ、OCH_3、$OCH_2CH_2OCH_3$、Ｏ－C_1～C_6アルコキシ、及びSCH_3から選択され、
J_9及びJ_{10}のうちの一方が、Ｈであり、J_9及びJ_{10}のうちの他方が、Ｈ、ＯＨ、Ｆ、OCH_3、$OCH_2CH_2OCH_3$、Ｏ－C_1～C_6アルコキシ、及びSCH_3から選択され、
J_{11}及びJ_{12}のうちの一方が、Ｈであり、J_{11}及びJ_{12}のうちの他方が、Ｈ、ＯＨ、Ｆ、OCH_3、$OCH_2CH_2OCH_3$、Ｏ－C_1～C_6アルコキシ、及びSCH_3から選択され、
J_{13}及びJ_{14}のうちの一方が、Ｈであり、J_{13}及びJ_{14}のうちの他方が、Ｈ、ＯＨ、Ｆ、OCH_3、$OCH_2CH_2OCH_3$、Ｏ－C_1～C_6アルコキシ、及びSCH_3から選択され、
Ｂｘが、複素環式塩基部分である。

【０１１７】

ある特定の立体非標準的糖部分は、例えば、Ｓｅｔｈ　ｅｔ　ａｌ．，ＷＯ２０２０／０７２９９１及びＳｅｔｈ　ｅｔ　ａｌ．，ＷＯ２０１９／１５７５３１において以前に記載されており、同文献の両方は参照によりそれらの全体が本明細書に援用される。

【０１１８】

ｂ．置換立体標準的糖部分

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、２’、３’、４’、及び／または５’位の置換基を含むがこれらに限定されない１つまたは複数の非環式置換基を含む、置換立体標準的フラノシル糖部分である。ある特定の実施形態では、フラノシル糖部分は、リボシル糖部分である。ある特定の実施形態では、置換立体標準的糖部分の１つまたは複数の非環式置換基は、分岐している。置換立体標準的糖部分に好適な２’置換基の例としては、２’－Ｆ、２’－OCH_3（「２’－ＯＭｅ」または「２’－Ｏ－メチル」）、及び２’－Ｏ（$C_2H_2OCH_3$（「２’－ＭＯＥ」）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、２’置換基は、ハロ、アリル、アミノ、アジド、ＳＨ、ＣＮ、ＯＣＮ、CF_3、OCF_3、Ｏ－C_1～C_{10}アルコキシ、Ｏ－C_1～C_{10}置換アルコキシ、C_1～C_{10}アルキル、C_1～C_{10}置換アルキル、Ｓ－アルキル、Ｎ（R_m）－アルキル、Ｏ－アルケニル、Ｓ－アルケニル、Ｎ（R_m）－アルケニル、Ｏ－アルキニル、Ｓ－アルキニル、Ｎ（R_m）－アルキニル、Ｏ－アルキレニル－Ｏ－アルキル、アルキニル、アルカリル、アラルキル、Ｏ－アルカリル、Ｏ－アラルキル、Ｏ（CH_2）$_2$$SCH_3$、Ｏ（$CH_2$）$_2$ＯＮ（$R_m$）（$R_n$）、または$OCH_2C$（＝Ｏ）－Ｎ（$R_m$）（$R_n$）（式中、各$R_m$及び$R_n$は、独立して、Ｈ、アミノ保護基、または置換もしくは非置換C_1～C_{10}アルキルである）、ならびにＣｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．６，５３１，５８４、Ｃｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，８５９，２２１、及びＣｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．６，００５，０８７に記載される２’置換基の中から選択される。これらの２’－置換基のある特定の実施形態は、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ（NO_2）、チオール、チオアルコキシ、チオアルキル、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルの中から独立して選択される１つまたは複数の置換基でさらに置換され得る。３’置換基の例としては、３’－メチルが挙げられる（Ｆｒｉｅｒ，ｅｔ　ａｌ．，Ｔｈｅ　ｕｐｓ　ａｎｄ　ｄｏｗｎｓ　ｏｆ　ｎｕｃｌｅｉｃ　ａｃｉｄ　ｄｕｐｌｅｘ　ｓｔａｂｉｌｉｔｙ：ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ－ｓｔａｂｉｌｉｔｙ　ｓｔｕｄｉｅｓ　ｏｎ　ｃｈｅｍｉｃａｌｌｙ－ｍｏｄｉｆｉｅｄ　ＤＮＡ：ＲＮＡ　ｄｕｐｌｅｘｅｓ．Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，２５，４４２９－４４４３，１９９７を参照されたい）。置換立体標準的糖部分に好適な４’置換基の例としては、アルコキシ（例えば、メトキシ）、アルキル、及びＭａｎｏｈａｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＷＯ２０１５／１０６１２８に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。置換立体標準的糖部分に好適な５’置換基の例としては、５’－メチル（Ｒま

たはＳ）、５’－アリル、５’－エチル、５’－ビニル、及び５’－メトキシが挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、非二環式修飾糖は、１つよりも多くの非架橋糖置換基、例えば、２’－Ｆ－５’－メチル糖部分、ならびにＭｉｇａｗａ ｅｔ ａｌ．，ＷＯ２００８／１０１１５７及びＲａｊｅｅｖ ｅｔ ａｌ．，ＵＳ２０１３／０２０３８３６に記載される修飾糖部分及び修飾ヌクレオシドを含む。２’，４’－ジフルオロ修飾糖部分は、Ｍａｒｔｉｎｅｚ－Ｍｏｎｔｅｒｏ，ｅｔ ａｌ．，Ｒｉｇｉｄ ２’，４’－ｄｉｆｌｕｏｒｏｒｉｂｏｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ：ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，ｃｏｎｆｏｒｍａｔｉｏｎａｌ ａｎａｌｙｓｉｓ，ａｎｄ ｉｎｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ ｉｎｔｏ ｎａｓｃｅｎｔ ＲＮＡ ｂｙ ＨＣＶ ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ．Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２０１４，７９：５６２７－５６３５に記載されている。２’修飾（ＯＭｅまたはＦ）及び４’修飾（ＯＭｅまたはＦ）を含む修飾糖部分もまた、Ｍａｌｅｋ－Ａｄａｍｉａｎ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ，２０１８，８３：９８３９－９８４９に記載されている。

【０１１９】

ある特定の実施形態では、２’置換立体標準的ヌクレオシドは、Ｆ、NH_2、N_3、OCF_3、OCH_3、SCH_3、$O(CH_2)_3NH_2$、$CH_2CH=CH_2$、$OCH_2CH=CH_2$、$OCH_2CH_2OCH_3$、$O(CH_2)_2SCH_3$、$O(CH_2)_2ON(R_m)(R_n)$、$O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$、及びＮ置換アセトアミド（$OCH_2C(=O)-N(R_m)(R_n)$）（式中、各$R_m$及び$R_n$は、独立して、Ｈ、アミノ保護基、または置換もしくは非置換C_1～C_{10}アルキルである）から選択される非架橋２’置換基を含む糖部分を含む。

【０１２０】

ある特定の実施形態では、２’置換立体標準的ヌクレオシドは、Ｆ、OCF_3、OCH_3、$OCH_2CH_2OCH_3$、$O(CH_2)_2SCH_3$、$O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$、$O(CH_2)_2O(CH_2)_2N(CH_3)_2$、及び$OCH_2C(=O)-N(H)CH_3$（「ＮＭＡ」）から選択される非架橋２’置換基を含む糖部分を含む。

【０１２１】

ある特定の実施形態では、２’置換立体標準的ヌクレオシドは、Ｆ、OCH_3、及び$OCH_2CH_2OCH_3$から選択される２’置換基を含む糖部分を含む。

【０１２２】

ある特定の実施形態では、２’－デオキシリボースの４’ＯがＳで置換されて、４’－チオＤＮＡを生成し得る（Ｔａｋａｈａｓｈｉ，ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２００９，３７：１３５３－１３６２を参照されたい）。この修飾は、本明細書に詳述される他の修飾と組み合わされ得る。ある特定のかかる実施形態では、糖部分は、２’位がさらに修飾されている。ある特定の実施形態では、糖部分は、２’－フルオロを含む。この糖部分を有するチミジンが、Ｗａｔｔｓ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．２００６，７１（３）：９２１－９２５（４’－Ｓ－フルオロ５－メチルアラウリジンまたはＦＡＭＵ）に記載されている。

【０１２３】

ｃ．二環式ヌクレオシド

ある特定のヌクレオシドは、第２の環を形成して二環式糖部分をもたらす架橋糖置換基を含む、修飾糖部分を含む。ある特定のかかる実施形態では、二環式糖部分は、４’フラノース環原子と２’フラノース環原子との間に４’から２’の架橋を含む。ある特定のかかる実施形態では、フラノース環は、リボース環である。かかる４’から２’を架橋する糖置換基を含む糖部分の例としては、４’－CH_2－２’、４’－$(CH_2)_2$－２’、４’－$(CH_2)_3$－２’、４’－CH_2－Ｏ－２’（「ＬＮＡ」）、４’－CH_2－Ｓ－２’、４’－$(CH_2)_2$－Ｏ－２’（「ＥＮＡ」）、４’－$CH(CH_3)$－Ｏ－２’（Ｓ配置にある場合「拘束エチル」または「ｃＥｔ」と称される）、４’－CH_2－Ｏ－CH_2－２’、４’－CH_2－Ｎ（Ｒ）－２’、４’－$CH(CH_2OCH_3)$－Ｏ－２’（「拘束ＭＯＥ」または「ｃＭＯＥ」）及びその類似体（例えば、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，３９９，８

４５、Ｂｈａｔ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，５６９，６８６、Ｓｗａｙｚｅ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，７４１，４５７、及びＳｗａｙｚｅ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，０２２，１９３を参照されたい）、４’－Ｃ（ＣＨ３）（ＣＨ３）－Ｏ－２’及びその類似体（例えば、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，２７８，２８３を参照されたい）、４’－ＣＨ２－Ｎ（ＯＣＨ３）－２’及びその類似体（例えば、Ｐｒａｋａｓｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，２７８，４２５を参照されたい）、４’－ＣＨ２－Ｏ－Ｎ（ＣＨ３）－２’（例えば、Ａｌｌｅｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，６９６，３４５及びＡｌｌｅｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，１２４，７４５を参照されたい）、４’－ＣＨ２－Ｃ（Ｈ）（ＣＨ３）－２’（例えば、Ｚｈｏｕ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００９，７４，１１８－１３４を参照されたい）、４’－ＣＨ２－Ｃ（＝ＣＨ２）－２’及びその類似体（例えば、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，２７８，４２６を参照されたい）、４’－Ｃ（ＲａＲｂ）－Ｎ（Ｒ）－Ｏ－２’、４’－Ｃ（ＲａＲｂ）－Ｏ－Ｎ（Ｒ）－２’、４’－ＣＨ２－Ｏ－Ｎ（Ｒ）－２’、及び４’－ＣＨ２－Ｎ（Ｒ）－Ｏ－２’（式中、各Ｒ、Ｒａ、及びＲｂは、独立して、Ｈ、保護基、またはＣ１～Ｃ１２アルキルである）（例えば、Ｉｍａｎｉｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，４２７，６７２を参照されたい）、４’－Ｃ（＝Ｏ）－Ｎ（ＣＨ３）２－２’、４’－Ｃ（＝Ｏ）－Ｎ（Ｒ２）－２’、４’－Ｃ（＝Ｓ）－Ｎ（Ｒ２）－２’及びその類似体（例えば、Ｏｂｉｋａ ｅｔ ａｌ．，ＷＯ２０１１０５２４３６Ａ１、Ｙｕｓｕｋｅの ＷＯ２０１７０１８３６０Ａ１を参照されたい）を含む二環式糖が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２４】

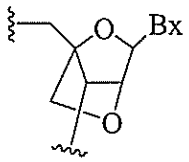
追加の二環式糖部分は、当該技術分野で既知であり、例えば、Ｆｒｅｉｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，１９９７，２５（２２），４４２９－４４４３、Ａｌｂａｅｋ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００６，７１，７７３１－７７４０、Ｓｉｎｇｈ ｅｔ ａｌ．，Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．，１９９８，４，４５５－４５６、Ｋｏｓｈｋｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ，１９９８，５４，３６０７－３６３０、Ｋｕｍａｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，１９９８，８，２２１９－２２２２、Ｓｉｎｇｈ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，１９９８，６３，１００３５－１００３９、Ｓｒｉｖａｓｔａｖａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，２０１７，１２９，８３６２－８３７９、Ｅｌａｙａｄｉ ｅｔ ａｌ．，；Ｃｈｒｉｓｔｉａｎｓｅｎ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１９９８，１２０，５４５８－５４６３、Ｗｅｎｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，０５３，２０７、Ｉｍａｎｉｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．６，２６８，４９０、Ｉｍａｎｉｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．６，７７０，７４８、Ｉｍａｎｉｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．ＲＥ４４，７７９、Ｗｅｎｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．６，７９４，４９９、Ｗｅｎｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．６，６７０，４６１、Ｗｅｎｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，０３４，１３３、Ｗｅｎｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，０８０，６４４、Ｗｅｎｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，０３４，９０９、Ｗｅｎｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，１５３，３６５、Ｗｅｎｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，５７２，５８２、及びＲａｍａｓａｍｙ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．６，５２５，１９１、Ｔｏｒｓｔｅｎ ｅｔ ａｌ．，ＷＯ２００４／１０６３５６、Ｗｅｎｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，ＷＯ１９９９／０１４２２６、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，ＷＯ２００７／１３４１８１、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，５４７，６８４、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，６６６，８５４、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，０８８，７４６、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，７５０，１３１、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，０３０，４６７、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，２６８，９８０、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，５４６，５５６、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，５３０，６４０、Ｍｉｇａｗａ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．９，０１２，４２１、Ｓｅｔｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，５０１，８０５、ならびにＡｌｌｅｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，米国特許公開第ＵＳ２００８／００３９６１８号及びＭｉｇａｗａ ｅｔ ａｌ．，同第ＵＳ２０１５／０１９１７２７号を

参照されたい。

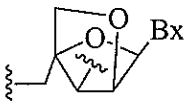
【０１２５】

ある特定の実施形態では、二環式糖部分及びかかる二環式糖部分を組み込むヌクレオシドは、異性体配置によってさらに定義される。例えば、ＬＮＡヌクレオシド（本明細書に記載される）は、α－Ｌ配置またはβ－Ｄ配置にあり得る。

【化１２】



LNA (β-D-配置)
架橋 = 4'-CH_2-O-2'



α-*L*-LNA (α-*L*-配置)
架橋 = 4'-CH_2-O-2'

α－Ｌ－メチレンオキシ（４’－CH_2－Ｏ－２’）またはα－Ｌ－ＬＮＡ二環式ヌクレオシドが、アンチセンスオリゴヌクレオチドに組み込まれ、これはアンチセンス活性を示した（Ｆｒｉｅｄｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２００３，２１，６３６５－６３７２）。本明細書において、二環式ヌクレオシドの一般的説明は、両方の異性体配置を含む。本明細書の例示される実施形態において特定の二環式ヌクレオシド（例えば、ＬＮＡ）の位置が特定される場合、別途明記されない限り、それらはβ－Ｄ配置にある。

【０１２６】

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、１つまたは複数の非架橋糖置換基及び１つまたは複数の架橋糖置換基（例えば、５’置換及び４’－２’架橋糖）を含む。

【０１２７】

フラノシル環の位置に続く、「２’置換」または「２’－４’置換」等の「置換」という用語は、それが、オリゴヌクレオチドにおける未修飾糖部分に見出される置換基以外の置換基を有する唯一の位置（複数可）であることを示す。

【０１２８】

ｄ．糖代用物

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、糖代用物である。ある特定のかかる実施形態では、糖部分の酸素原子は、例えば、硫黄、炭素、または窒素原子と置き換えられている、ある特定のかかる実施形態では、かかる修飾糖部分はまた、本明細書に記載されるような架橋及び／または非架橋置換基も含む。例えば、ある特定の糖代用物は、４’硫黄原子ならびに２’位（例えば、Ｂｈａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，８７５，７３３及びＢｈａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．７，９３９，６７７を参照されたい）及び／または５’位における置換を含む。

【０１２９】

ある特定の実施形態では、糖代用物は、５個の原子以外を有する環を含む。例えば、ある特定の実施形態では、糖代用物は、６員のテトラヒドロピラン（「ＴＨＰ」）を含む。かかるテトラヒドロピランは、さらに修飾または置換されてもよい。かかる修飾テトラヒドロピランを含むヌクレオシドには、ヘキシトール核酸（「ＨＮＡ」）、アルトリトール核酸（「ＡＮＡ」）、マンニトール核酸（「ＭＮＡ」）（例えば、Ｌｅｕｍａｎｎ，ＣＪ．Ｂｉｏｏｒｇ．＆Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２００２，１０，８４１－８５４を参照されたい）、フルオロＨＮＡ（「Ｆ－ＨＮＡ」（例えば、Ｓｗａｙｚｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，０８８，９０４、Ｓｗａｙｚｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，４４０，８０３、Ｓｗａｙｚｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．８，７９６，４３７、及びＳｗａｙｚｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．９，００５，９０６を参照されたい）、Ｆ－ＨＮＡはまた、Ｆ－ＴＨＰまたは３’－フルオロテトラヒドロピランとも称され得る）が含まれるが、これらに限定され

ない。

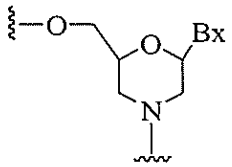
【０１３０】

ある特定の実施形態では、糖代用物は、ヘテロ原子を何ら有しない環を含む。例えば、ビシクロ［３．１．０］－ヘキサンを含むヌクレオシドが記載されている（例えば、Ｍａｒｑｕｅｚ、ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．１９９６，３９：３７３９－３７４９を参照されたい）。

【０１３１】

ある特定の実施形態では、糖代用物は、５個よりも多くの原子及び１個よりも多くのヘテロ原子を有する環を含む。例えば、モルホリノ糖部分を含むヌクレオシド、及びオリゴヌクレオチドにおけるそれらの使用が報告されている（例えば、Ｂｒａａｓｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，２００２，４１，４５０３－４５１０、ならびにＳｕｍｍｅｒｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，６９８，６８５、Ｓｕｍｍｅｒｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，１６６，３１５、Ｓｕｍｍｅｒｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，１８５，４４４、及びＳｕｍｍｅｒｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，０３４，５０６を参照されたい）。本明細書で使用されるとき、「モルホリノ」という用語は、以下の構造を含む糖代用物を意味する。

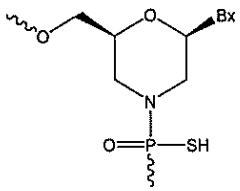
【化１３】



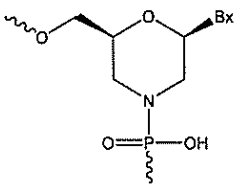
【０１３２】

ある特定の実施形態では、モルホリノは、例えば、上記のモルホリノ構造から種々の置換基を付加するかまたは変更することによって、修飾されてもよい。かかる糖代用物は、本明細書で「修飾モルホリノ」と称される。ある特定の実施形態では、モルホリノ残基は、ヌクレオシド間結合を含めた全ヌクレオチドを置き換え、下記に示される構造を有し、ここで、Ｂｘは、複素環式塩基部分である。

【化１４】



モルホリノPS

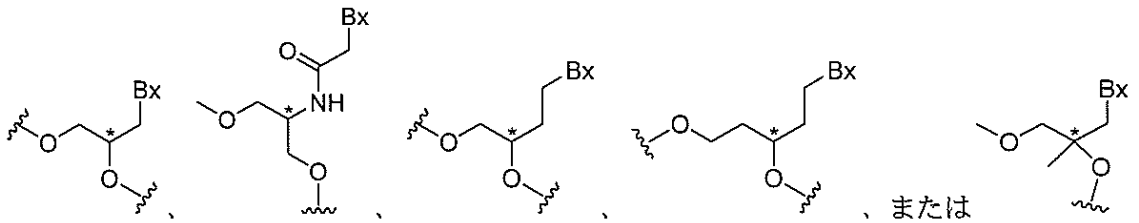


モルホリノPO

【０１３３】

特定の実施形態では、糖代用物は非環式部分を含む。かかる非環式糖代用物を含むヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドの例としては、ペプチド核酸（「ＰＮＡ」）、非環式ブチル核酸（例えば、Ｋｕｍａｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｏｒｇ．Ｂｉｏｍｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２０１３，１１，５８５３－５８６５を参照されたい）、グリコール核酸（「ＧＮＡ」、Ｓｃｈｌｅｇｅｌ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．２０１７，１３９：８５３７－８５４６を参照されたい）、ならびにＭａｎｏｈａｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＷＯ２０１１／１３３８７６に記載されるヌクレオシド及びオリゴヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、非環式糖代用物は、

【化１５】



から選択される。

【０１３４】

修飾ヌクレオシドに使用され得る多くの他の二環式糖及び三環式糖ならびに糖代用物環系が、当該技術分野で既知である。ある特定のかかる環系は、Ｈａｎｅｓｓｉａｎ，ｅｔａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２０１３，７８：９０５１－９０６３に記載され、これにはｂｃＤＮＡ及びｔｃＤＮＡが含まれる。６’－フルオロ等のｂｃＤＮＡ及びｔｃＤＮＡに対する修飾もまた記載されている（Ｄｏｇｏｖｉｃ ａｎｄ Ｌｅｕｍａｎｎ，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２０１４，７９：１２７１－１２７９）。

【０１３５】

ｅ．コンジュゲートされたヌクレオシド及び末端基

ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、コンジュゲート基及び／または末端基を含む。修飾糖部分は、コンジュゲートリンカーを介してコンジュゲート基に連結される。ある特定の実施形態では、修飾フラノシル糖部分は、２’、３’、または５’位に結合させたコンジュゲート基を含む。ある特定の実施形態では、ヌクレオシドの最も３’側の糖部分が、コンジュゲート基または末端基で修飾される。ある特定の実施形態では、ヌクレオシドの最も５’側の糖部分が、コンジュゲート基または末端基で修飾される。ある特定の実施形態では、ヌクレオシドの３’末端近くの糖部分が、コンジュゲート基で修飾される。ある特定の実施形態では、ヌクレオシドの５’末端近くの糖部分が、コンジュゲート基で修飾される。

【０１３６】

末端基の例としては、コンジュゲート基、キャッピング基、リン酸基、保護基、修飾または未修飾ヌクレオシド、及び独立して修飾または未修飾である２個以上のヌクレオシドが挙げられるが、これらに限定されない。

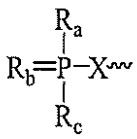
【０１３７】

ある特定の実施形態では、５’末端の末端基は、安定化リン酸基を含む。ある特定のかかる実施形態では、安定化リン酸基のリン原子が、リン－炭素結合を介して５’末端ヌクレオシドに結合される。ある特定の実施形態では、そのリン－炭素結合の炭素が今度は、ヌクレオシドの５’位に結合している。

【０１３８】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下の式を有する５’安定化リン酸基を含み、

【化１６】



式中、

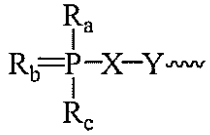
R_a及びR_cが、各々独立して、ＯＨ、ＳＨ、C_1～C_6アルキル、置換C_1～C_6ア

ルキル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、置換Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、アミノ、または置換アミノであり、
Ｒｂが、ＯまたはＳであり、
Ｘが、置換または非置換Ｃであり、式中、Ｘが、５’末端ヌクレオシドに結合される。ある特定の実施形態では、Ｘは、５’末端ヌクレオシドの５’位の原子に結合している。ある特定のかかる実施形態では、５’原子は、炭素であり、Ｘと５’末端ヌクレオシドの５’炭素との間の結合は、炭素－炭素単結合である。ある特定の実施形態では、それは、炭素－炭素二重結合である。ある特定の実施形態では、それは、炭素－炭素三重結合である。ある特定の実施形態では、５’炭素は、置換されている。ある特定の実施形態では、Ｘは、置換されている。ある特定の実施形態では、Ｘは、置換されていない。

【０１３９】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、以下の式を有する５’安定化リン酸基を含み、

【化１７】



式中、
Ｒａ及びＲｃが、各々独立して、ＯＨ、ＳＨ、Ｃ１～Ｃ６アルキル、置換Ｃ１～Ｃ６アルキル、Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、置換Ｃ１～Ｃ６アルコキシ、アミノ、または置換アミノであり、
Ｒｂが、ＯまたはＳであり、
Ｘが、置換または非置換Ｃであり、
Ｙが、Ｃ、Ｓ、及びＮから選択される。ある特定の実施形態では、Ｙは、置換または非置換Ｃである。ＸとＹとの間の結合は、単結合、二重結合、または三重結合であり得る。

【０１４０】

ある特定の５’安定化リン酸基は、例えば、Ｐｒａｋａｓｈ　ｅｔ　ａｌ．，ＷＯ２０１１／１３９６９９及びＰｒａｋａｓｈ　ｅｔ　ａｌ．，ＷＯ２０１１／１３９７０２（参照によりそれらの全体がこれにより本明細書に援用される）において以前に記載されている。

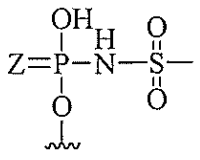
【０１４１】

ある特定の実施形態では、安定化リン酸基は、５’－ビニルホスホネートまたは５’－シクロプロピルホスホネートである。

【０１４２】

ある特定の実施形態では、５’末端の末端基は、式ＸＩＩを有する５’－メシルホスホロアミデートであり、

【化１８】



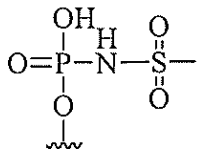
ＸＩＩ

式中、Ｚが、ＯまたはＳである。

【０１４３】

ある特定の実施形態では、５’末端の末端基は、式ＸＩＩＩを有する５’－メシルホスホロアミデートである。

【化１９】



ＸＩＩＩ

【０１４４】

２．修飾核酸塩基

ある特定の実施形態では、修飾核酸塩基は、５置換ピリミジン、６－アザピリミジン、アルキルまたはアルキニル置換ピリミジン、アルキル置換プリン、ならびにＮ－２、Ｎ－６、及びＯ－６置換プリンから選択される。ある特定の実施形態では、修飾核酸塩基は、２－アミノプロピルアデニン、５－ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、２－アミノアデニン、６－Ｎ－メチルグアニン、６－Ｎ－メチルアデニン、２－プロピルアデニン、２－チオウラシル、２－チオチミン及び２－チオシトシン、５－プロピニル（－Ｃ≡Ｃ－ＣＨ$_3$）ウラシル、５－プロピニルシトシン、６－アゾウラシル、６－アゾシトシン、６－アゾチミン、５－リボシルウラシル（シュードウラシル）、４－チオウラシル、８－ハロ、８－アミノ、８－チオール、８－チオアルキル、８－ヒドロキシル、８－アザ及び他の８置換プリン、５－ハロ、特に５－ブロモ、５－トリフルオロメチル、５－ハロウラシル、及び５－ハロシトシン、７－メチルグアニン、７－メチルアデニン、２－Ｆ－アデニン、２－アミノアデニン、７－デアザグアニン、７－デアザアデニン、３－デアザグアニン、３－デアザアデニン、６－Ｎ－ベンゾイルアデニン、２－Ｎ－イソブチリルグアニン、４－Ｎ－ベンゾイルシトシン、４－Ｎ－ベンゾイルウラシル、５－メチル４－Ｎ－ベンゾイルシトシン、５－メチル４－Ｎ－ベンゾイルウラシル、普遍的塩基、疎水性塩基、無差別（ｐｒｏｍｉｓｃｕｏｕｓ）塩基、サイズ拡張型（ｓｉｚｅ－ｅｘｐａｎｄｅｄ）塩基、ならびにフッ素化塩基から選択される。さらなる修飾核酸塩基には、１，３－ジアザフェノキサジン－２－オン、１，３－ジアザフェノチアジン－２－オン、及び９－（２－アミノエトキシ）－１，３－ジアザフェノキサジン－２－オン（Ｇ－クランプ）等の三環式ピリミジンが含まれる。修飾核酸塩基には、プリンまたはピリミジン塩基が、他の複素環、例えば、７－デアザ－アデニン、７－デアザグアノシン、２－アミノピリジン、及び２－ピリドンに置換される塩基も含まれ得る。さらなる核酸塩基には、Ｍｅｒｉｇａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．３，６８７，８０８に開示されるもの、Ｔｈｅ Ｃｏｎｃｉｓｅ Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ Ｏｆ Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ａｎｄ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，Ｋｒｏｓｃｈｗｉｔｚ，Ｊ．Ｉ．，Ｅｄ．，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，１９９０，８５８－８５９、Ｅｎｇｌｉｓｃｈ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｇｅｗａｎｄｔｅ Ｃｈｅｍｉｅ，Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｅｄｉｔｉｏｎ，１９９１，３０，６１３、Ｓａｎｇｈｖｉ，Ｙ．Ｓ．，Ｃｈａｐｔｅｒ １５，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｃｒｏｏｋｅ，Ｓ．Ｔ．ａｎｄ Ｌｅｂｌｅｕ，Ｂ．，Ｅｄｓ．，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，１９９３，２７３－２８８に開示されるもの、ならびにＣｈａｐｔｅｒｓ ６ ａｎｄ １５，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｄｒｕｇ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｃｒｏｏｋｅ Ｓ．Ｔ．，Ｅｄ．，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，２００８，１６３－１６６ ａｎｄ ４４２－４４３に開示されるものが含まれる。ある特定の実施形態では、修飾ヌクレオシドは、２つの核酸塩基を有する双頭型（ｄｏｕｂｌｅ－ｈｅａｄｅｄ）ヌクレオシドを含む。かかる化合物は、Ｓｏｒｉｎａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ，２０１４ ７９：８０２０－８０３０に詳細に記載される。

【０１４５】
上述の修飾核酸塩基ならびに他の修飾核酸塩基のうちのある特定の修飾核酸塩基の調製について教示する刊行物には、限定されないが、Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，ＵＳ２００３／０１５８４０３、Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，ＵＳ２００３／０１７５９０６、Ｄｉｎｈ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．４，８４５，２０５、Ｓｐｉｅｌｖｏｇｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，１３０，３０２、Ｒｏｇｅｒｓ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，１３４，０６６、Ｂｉｓｃｈｏｆｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，１７５，２７３、Ｕｒｄｅａ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，３６７，０６６、Ｂｅｎｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，４３２，２７２、Ｍａｔｔｅｕｃｃｉ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，４３４，２５７、Ｇｍｅｉｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，４５７，１８７、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，４５９，２５５、Ｆｒｏｅｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，４８４，９０８、Ｍａｔｔｅｕｃｃｉ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，５０２，１７７、Ｈａｗｋｉｎｓ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，５２５，７１１、Ｈａｒａｌａｍｂｉｄｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，５５２，５４０、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，５８７，４６９、Ｆｒｏｅｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，５９４，１２１、Ｓｗｉｔｚｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，５９６，０９１、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，６１４，６１７、Ｆｒｏｅｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，６４５，９８５、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，６８１，９４１、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，８１１，５３４、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，７５０，６９２、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，９４８，９０３、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，５８７，４７０、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，４５７，１９１、Ｍａｔｔｅｕｃｃｉ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，７６３，５８８、Ｆｒｏｅｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，８３０，６５３、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．５，８０８，０２７、Ｃｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，６，１６６，１９９、及びＭａｔｔｅｕｃｃｉ ｅｔ ａｌ．，Ｕ．Ｓ．６，００５，０９６が含まれる。

【０１４６】
ある特定の実施形態では、化合物は、１つまたは複数の修飾核酸塩基を含む、標的核酸に相補的な修飾オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。ある特定の実施形態では、修飾核酸塩基は、５－メチルシトシンである。ある特定の実施形態では、各シトシンは、５－メチルシトシンである。

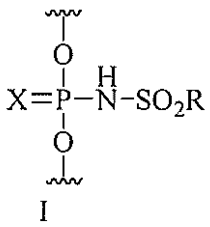
【０１４７】
Ｂ．修飾ヌクレオシド間結合
ａ．式Ｉのヌクレオシド間結合
ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドが、１つまたは複数の望ましい特性のため、式Ｉを有するかかるヌクレオシド間結合を欠いた化合物よりも選択される。ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、強化された細胞取込みを有する。ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、標的核酸に対する強化された親和性を有する。ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、ヌクレアーゼの存在下で増加した安定性を有する。ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、強化された細胞取込み、標的核酸に対する強化された親和性、及びヌクレアーゼの存在下で増加した安定性を有する。ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、強化された生物学的利用能を有する。ある特定の実

施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、強化されたＲＮａｓｅ　Ｈ活性を有する。ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、強化されたＲＮＡｉ活性を有する。ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、強化されたＣＲＩＳＰＲ活性を有する。ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、ある特定のタンパク質との低減された相互作用を有する。ある特定の実施形態では、式Ｉを有する１個または複数の修飾ヌクレオシド間結合を有する、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、ある特定のタンパク質との増加した相互作用を有する。式Ｉ（式ＩＩ～ＩＶを含むがこれらに限定されない）の少なくとも１個のヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオチドを作製する方法を使用して、上記の特性のうちのいずれかを有するオリゴマー化合物を作製してもよい。

【０１４８】

ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）は、式Ｉを有する１つまたは複数の修飾ヌクレオシド間結合を含む、標的核酸に相補的な修飾オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなり

【化２０】



Ｉ

式中、式Ｉの各ヌクレオシド間結合について独立して、

Ｘが、ＯまたはＳから選択され、

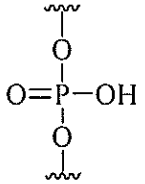
Ｒが、アリール、置換アリール、複素環、置換複素環、芳香族複素環、置換芳香族複素環、ジアゾール、置換ジアゾール、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルコキシ、Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルケニル、Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_{20}$アルキル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルケニル、置換Ｃ$_1$～Ｃ$_6$アルキニル、及びコンジュゲート基から選択される。

【０１４９】

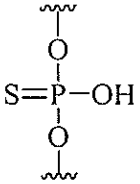
他のヌクレオシド間結合

ある特定の実施形態では、アンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉの１個または複数のヌクレオシド間結合及び式Ｉのものではない１個または複数のヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態では、かかるヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエート結合である。ある特定の実施形態では、式Ｉの少なくとも１個のヌクレオシド間結合以外の、オリゴマー化合物の各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、式Ｉの少なくとも１個のヌクレオシド間結合以外の、オリゴマー化合物の各ヌクレオシド間結合は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合またはホスホジエステルヌクレオシド間結合である。

【化２１】



ホスホジエステルヌクレオシド間連結基



ホスホロチオエートヌクレオシド間連結基

【０１５０】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドは、任意のヌクレオシド間結合を使用して一緒に連結されてもよい。ヌクレオシド間結合の２つの主要なクラスは、リン原子の存否によって定義される。代表的なリン含有ヌクレオシド間結合には、未修飾ホスホジエステルヌクレオシド間結合、修飾ホスホトリエステル、例えば、ＴＨＰホスホトリエステル及びイソプロピルホスホトリエステル、ホスホネート、例えば、メチルホスホネート、イソプロピルホスホネート、イソブチルホスホネート、ならびにホスホノアセテート、ホスホロアミデート、ホスホロチオエート、及びホスホロジチオエート（「ＨＳ－Ｐ＝Ｓ」）が含まれる。代表的なリン非含有ヌクレオシド間結合には、メチレンメチルイミノ（－ＣＨ$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）－Ｏ－ＣＨ$_2$－）、チオジエステル、チオノカルバメート（ｔｈｉｏｎｏｃａｒｂａｍａｔｅ）（－Ｏ－Ｃ（＝Ｏ）（ＮＨ）－Ｓ－）；シロキサン（－Ｏ－ＳｉＨ$_2$－Ｏ－）；ホルムアセタール、チオアセトアミド（ＴＡＮＡ）、アルト－チオホルムアセタール、グリシンアミド、及びＮ，Ｎ’－ジメチルヒドラジン（－ＣＨ$_2$－Ｎ（ＣＨ$_3$）－Ｎ（ＣＨ$_3$）－）が含まれるが、これらに限定されない。天然に存在するリン酸結合と比較して、修飾ヌクレオシド間結合は、オリゴヌクレオチドのヌクレアーゼ耐性を変化させる、典型的には増加させるために使用され得る。リン含有及びリン非含有ヌクレオシド間結合の調製方法は、当業者に周知である。

【０１５１】

中性ヌクレオシド間結合には、限定されないが、ホスホトリエステル、ホスホネート、ＭＭＩ（３’－ＣＨ２－Ｎ（ＣＨ３）－Ｏ－５’）、アミド－３（３’－ＣＨ２－Ｃ（＝Ｏ）－Ｎ（Ｈ）－５’）、アミド－４（３’－ＣＨ２－Ｎ（Ｈ）－Ｃ（＝Ｏ）－５’）、ホルムアセタール（３’－Ｏ－ＣＨ２－Ｏ－５’）、メトキシプロピル、及びチオホルムアセタール（３’－Ｓ－ＣＨ２－Ｏ－５’）が含まれる。さらなる中性ヌクレオシド間結合には、シロキサン（ジアルキルシロキサン）、カルボン酸エステル、カルボキサミド、スルフィド、スルホン酸エステル、及びアミドを含む、非イオン結合が含まれる（例えば、Ｃａｒｂｏｈｙｄｒａｔｅ Ｍｏｄｉｆｉｃａｔｉｏｎｓ ｉｎ Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ；Ｙ．Ｓ．Ｓａｎｇｈｖｉ ａｎｄ Ｐ．Ｄ．Ｃｏｏｋ，Ｅｄｓ．，ＡＣＳ Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ Ｓｅｒｉｅｓ ５８０；Ｃｈａｐｔｅｒｓ ３ ａｎｄ ４，４０－６５を参照されたい）。さらなる中性ヌクレオシド間結合には、混合のＮ、Ｏ、Ｓ、及びＣＨ２成分部分を含む非イオン結合が含まれる。

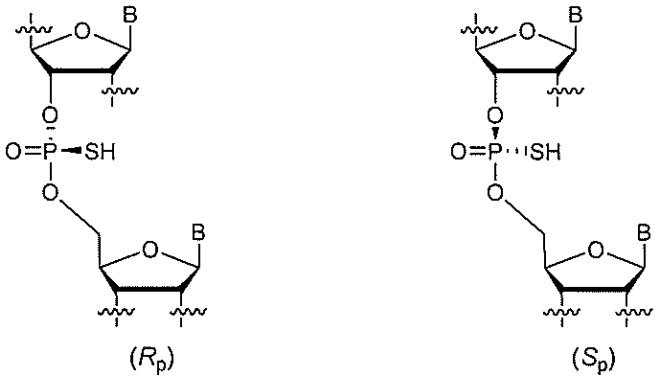
【０１５２】

ｂ．キラルヌクレオシド間結合

キラル中心を有する代表的なヌクレオシド間結合には、アルキルホスホネート及びホスホロチオエートが含まれるが、これらに限定されない。キラル中心を有するヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドは、立体的にランダムなヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの集団として、または特定の立体化学的配置にあるホスホロチオエート結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの集団として調製され得る。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合の全てが立体的にランダムである、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む。かかる修飾オリゴヌクレオチドは、各ホスホロチオエート結合の立体化学的配置のランダムな選択をもたらす合成方法を使用して生成され得る。本明細書に記載の全てのホスホロチオエー

ト結合は、別途明記されない限り立体的にランダムである。それでも、当業者には十分に理解されるように、それぞれ個々のホスホロチオエートのそれぞれ個々のオリゴヌクレオチド分子は、規定の立体配置を有する。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、独立して選択される特定の立体化学的配置にある１つまたは複数の特定のホスホロチオエートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドが濃縮される。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団における分子の少なくとも６５％に存在する。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団における分子の少なくとも７０％に存在する。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団における分子の少なくとも８０％に存在する。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団における分子の少なくとも９０％に存在する。ある特定の実施形態では、特定のホスホロチオエート結合の特定の配置は、集団における分子の少なくとも９９％に存在する。かかるキラル的に濃縮された修飾オリゴヌクレオチドの集団は、当該技術分野で既知の合成方法、例えば、Ｏｋａ　ｅｔ　ａｌ．，ＪＡＣＳ　１２５，８３０７（２００３）、Ｗａｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎｕｃ．Ａｃｉｄ．Ｒｅｓ．４２，１３４５６（２０１４）、及びＷＯ２０１７／０１５５５５に記載される方法を使用して生成され得る。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、（Ｓｐ）配置にある少なくとも１つの示されるホスホロチオエートを有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの集団は、（Ｒｐ）配置にある少なくとも１つのホスホロチオエートを有する修飾オリゴヌクレオチドについて濃縮されている。ある特定の実施形態では、（Ｒｐ）及び／または（Ｓｐ）ホスホロチオエートを含む修飾オリゴヌクレオチドは、それぞれ以下の式のうちの１つまたは複数を含み、式中「Ｂ」は、核酸塩基を示す。

【化２２】



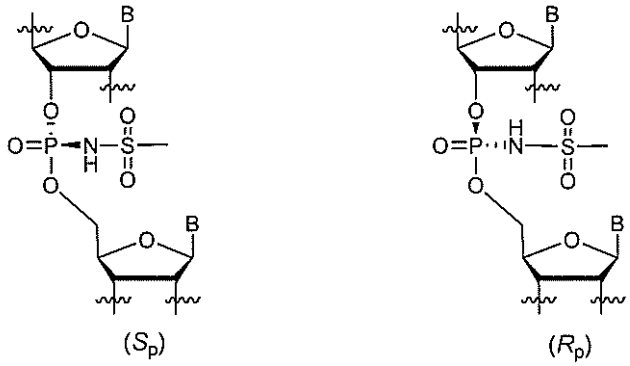
【０１５３】

別途指示されない限り、本明細書に記載の修飾オリゴヌクレオチドのキラルヌクレオシド間結合は、立体的にランダムであり得るか、または特定の立体化学的配置にあり得る。

【０１５４】

ある特定の実施形態では、式Ｉのヌクレオシド間結合は、キラル中心を含んでもよい。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、下記に示されるような、式ＩＩのキラル結合を含む。

【化２３】

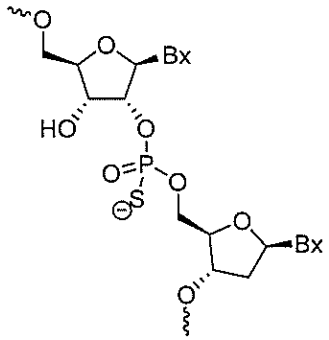


【０１５５】

ｃ．５’から３’のヌクレオシド間結合の代替例

ある特定の実施形態では、核酸は、標準的な３’から５’の結合ではなく２’から５’に連結され得る。かかる結合は、下記に例示される。

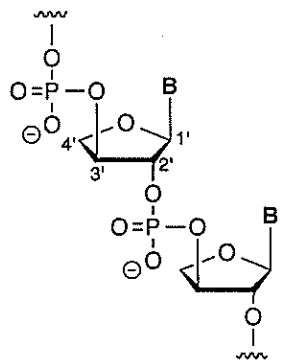
【化２４】



【０１５６】

ある特定の実施形態では、ヌクレオシドは、２’，３’－ホスホジエステル結合によって連結され得る。ある特定のかかる実施形態では、これらのヌクレオシドは、トレオフラノシルヌクレオシド（ＴＮＡ）である（Ｂａｌａ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．２０１７，８２：５９１０－５９１６を参照されたい）。ＴＮＡ結合は、下記に示される。

【化２５】

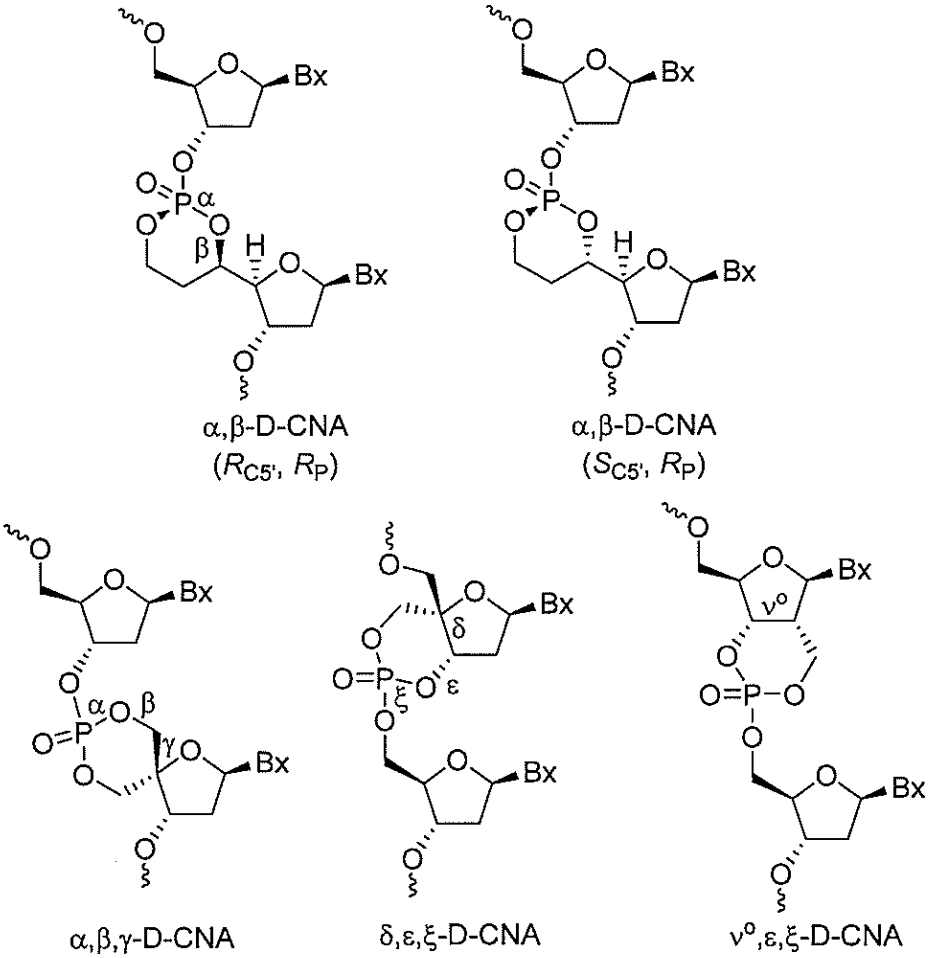


トレオース核酸
(TNA)

【０１５７】

追加の修飾結合には、下記に示される、α，β－Ｄ－ＣＮＡタイプの結合及び関連する立体構造的に拘束された結合が含まれる。かかる分子の合成は、以前に記載されている（Ｄｕｐｏｕｙ，ｅｔ ａｌ．，Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔ．Ｅｄ．Ｅｎｇｌ．，２０１４，４５：３６２３－３６２７、Ｂｏｒｓｔｉｎｇ，ｅｔ ａｌ．Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ，２００４，６０：１０９５５－１０９６６、Ｏｓｔｅｒｇａａｒｄ，ｅｔ ａｌ．，ＡＣＳ Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．２０１４，９：１９７５－１９７９、Ｄｕｐｏｕｙ，ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．．，２００８，１２８５－１２９４、Ｍａｒｔｉｎｅｚ，ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ，２０１１，６：ｅ２５５１０、Ｄｕｐｏｕｙ，ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ．Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，２００７，５２５６－５２６４、Ｂｏｉｓｓｏｎｎｅｔ，ｅｔ ａｌ．，Ｎｅｗ Ｊ．Ｃｈｅｍ．，２０１１，３５：１５２８－１５３３を参照されたい）。

【化２６】

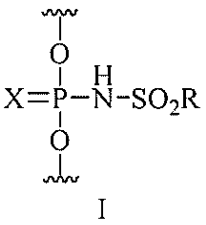


【０１５８】

ｄ．コンジュゲート基を有する結合

ある特定の実施形態では、ヌクレオシド間連結基は、コンジュゲート基を含んでもよい。ある特定の実施形態では、式Ｉのヌクレオシド間連結基は、コンジュゲート基を含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドのコンジュゲート基は、式Ｉを有する修飾ヌクレオシド間を介して、修飾オリゴヌクレオチドの残部に結合されてもよく、

【化２７】



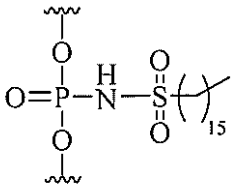
Ｉ

式中、Ｒは、コンジュゲート基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、炭水化物または炭水化物クラスターを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、Ｎ－アセチルガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、脂質を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、Ｃ１０～Ｃ２０アルキルを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、Ｃ１６アルキルを含む。

【０１５９】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基を含むヌクレオシド間連結基は、式ＩＶを有する。

【化２８】



ＩＶ

【０１６０】

ＩＩ．ある特定のモチーフ

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。修飾オリゴヌクレオチドは、それらのモチーフ、例えば、未修飾及び／または修飾糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合のパターンにより説明され得る。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、１つまたは複数の立体非標準的ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、１つまたは複数の立体標準的ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾糖を含む１つまたは複数の修飾ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾核酸塩基を含む１つまたは複数の修飾ヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、１つまたは複数の修飾ヌクレオシド間結合を含む。かかる実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの修飾、未修飾、及び別様に修飾された糖部分、核酸塩基、及び／またはヌクレオシド間結合は、パターンまたはモチーフを規定する。ある特定の実施形態では、糖部分、核酸塩基、及びヌクレオシド間結合のパターンまたはモチーフは各々、互いに独立している。故に、修飾オリゴヌクレオチドは、その糖モチーフ、核酸塩基モチーフ、及び／またはヌクレオシド間結合モチーフにより説明され得る（本明細書で使用されるとき、核酸塩基モチーフは、核酸塩基の配列から独立した核酸塩基に対する修飾を説明する）。

【０１６１】

Ａ．ある特定の糖モチーフ

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って規定のパターンまたは糖モチーフで配置された１つまたは複数のタイプの修飾糖及び／または未修飾糖部分を含む。ある特定の事例では、かかる糖モチーフには、限定されないが、本明細書で考察される糖修飾のうちのいずれかが含まれる。

【０１６２】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、ギャップマーを含むか、またはそれからなる。ギャップマーの糖モチーフは、ギャップマーの領域、すなわち、５’領域、中心領域（ギャップ）、及び３’領域を規定する。中心領域は、ヌクレオシドの介在を伴わずに５’領域及び３’領域に直接連結されている。中心領域は、デオキシ領域である。中心領域の５’末端から最初の位置（１位）のヌクレオシド及び中心領域の最後の位置のヌクレオシドは、それぞれ５’領域及び３’領域に隣接し、各々、２’－デオキシフラノシル糖部分または糖代用物から独立して選択される糖部分を含む。ある特定の実施形態では、中心領域の１位のヌクレオシド及び中心領域の最後の位置のヌクレオシドは、式Ｉ～ＶＩＩのうちのいずれかを有する立体標準的ＤＮＡヌクレオシドまたは立体非標準的ＤＮＡヌクレオシドから選択される、ＤＮＡヌクレオシドであり、式中、各Ｊは、Ｈである。ある特定の実施形態では、５’領域及び３’領域に隣接する中心領域の最初の位置及び最後の位置のヌクレオシドは、立体標準的ＤＮＡヌクレオシドである。中心領域の最初の位置及び最後の位置のヌクレオシドとは異なり、中心領域内の他の位置のヌクレオシドは、２’置換フラノシル糖部分または置換立体非標準的糖部分または二環式糖部分を含んでもよい。ある特定の実施形態では、中心領域内の各ヌクレオシドが、ＲＮａｓｅ　Ｈ切断を補助する。ある特定の実施形態では、中心領域内の複数のヌクレオシドが、ＲＮａｓｅ　Ｈ切断を補助する。

【０１６３】

本明細書では、ギャップマーのこれら３つの領域の長さ（ヌクレオシドの数）は、［５’領域におけるヌクレオシドの数］－［中心領域におけるヌクレオシドの数］－［３’領域におけるヌクレオシドの数］という表記を使用して提供され得る。故に、３－１０－３ギャップマーは、３’領域及び５’領域の各々における３個の連結ヌクレオシド、ならびに中心領域における１０個の連結ヌクレオシドからなる。かかる命名の後に特定の修飾が続く場合、その修飾は、各５’領域及び３’領域の各糖部分の修飾であり、中心領域ヌクレオシドは、立体標準的ＤＮＡ糖部分を含む。故に、５－１０－５　ＭＯＥギャップマーは、５’領域における各々２’－ＭＯＥ－立体標準的糖部分を含む５個の連結ヌクレオシド、中心領域における各々立体標準的ＤＮＡ糖部分を含む１０個の連結ヌクレオシド、及び３’領域における各々２’－ＭＯＥ－立体標準的糖部分を含む５個の連結ヌクレオシドからなる。ギャップの２位に置換立体非標準的ヌクレオシドを有する５－１０－５　ＭＯＥギャップマーは、ギャップの２番目のヌクレオシドが立体標準的ＤＮＡヌクレオシドではなく置換立体非標準的ヌクレオシドである、１０ヌクレオシドのギャップを有する。かかるオリゴヌクレオチドはまた、５－１－１－８－５　ＭＯＥ／置換立体非標準的／ＭＯＥギャップマーとしても説明され得る。３－１０－３　ｃＥｔギャップマーは、５’領域における各々ｃＥｔを含む３個の連結ヌクレオシド、中心領域における各々立体標準的ＤＮＡ糖部分を含む１０個の連結ヌクレオシド、及び３’領域における各々ｃＥｔを含む３個の連結ヌクレオシドからなる。ギャップの２位に置換立体非標準的ヌクレオシドを有する３－１０－３　ｃＥｔギャップマーは、ギャップの２番目のヌクレオシドが立体標準的ＤＮＡヌクレオシドではなく置換立体非標準的ヌクレオシドである、１０ヌクレオシドのギャップを有する。かかるオリゴヌクレオチドはまた、３－１－１－８－３　ｃＥｔ／置換立体非標準的／ｃＥｔギャップマーとしても説明され得る。

【０１６４】

３－１０－３　ｃＥｔギャップマーの糖モチーフはまた、ｋｋｋ－ｄ（１０）－ｋｋｋという表記によって表されてもよく、式中、各「ｋ」は、ｃＥｔを表し、各「ｄ」は、２

’－β－Ｄ－デオキシリボシル糖部分を表す。この糖モチーフは、核酸塩基配列、ヌクレオシド間結合モチーフ、及びいずれの核酸塩基修飾からも独立している。５－１０－５ＭＯＥギャップマーはまた、ｅｅｅｅｅ－ｄ（１０）－ｅｅｅｅｅまたはｅ（５）－ｄ（１０）－ｅ（５）という表記によって表されてもよく、式中、各「ｅ」は、２’－ＭＯＥ－β－Ｄ－リボフラノシル糖部分を表し、各「ｄ」は、２’－β－Ｄ－デオキシリボシル糖部分を表す。

【０１６５】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチド、またはその一部分の各ヌクレオシドは、２’置換糖部分、二環式糖部分、糖代用物、または２’－デオキシリボシル糖部分を含む。ある特定の実施形態では、２’置換糖部分は、２’－ＭＯＥ糖部分、２’－ＮＭＡ糖部分、２’－ＯＭｅ糖部分、及び２’－Ｆ糖部分から選択される。ある特定の実施形態では、二環式糖部分は、ｃＥｔ糖部分及びＬＮＡ糖部分から選択される。ある特定の実施形態では、糖代用物は、モルホリノ、修飾モルホリノ、ＰＮＡ、ＴＨＰ、及びＦ－ＨＮＡから選択される。

【０１６６】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾糖部分を含む少なくとも１２個、少なくとも１３個、少なくとも１４個、少なくとも１５個、少なくとも１６個、少なくとも１７個、少なくとも１８個、少なくとも１９個、または少なくとも２０個のヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、修飾糖部分は、２’置換糖部分、二環式糖部分、または糖代用物から独立して選択される。ある特定の実施形態では、２’置換糖部分は、２’－ＭＯＥ糖部分、２’－ＮＭＡ糖部分、２’－ＯＭｅ糖部分、及び２’－Ｆ糖部分から選択される。ある特定の実施形態では、二環式糖部分は、ｃＥｔ糖部分及びＬＮＡ糖部分から選択される。ある特定の実施形態では、糖代用物は、モルホリノ、修飾モルホリノ、ＴＨＰ、及びＦ－ＨＮＡから選択される。

【０１６７】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、修飾糖部分を含む（「完全修飾オリゴヌクレオチド」）。ある特定の実施形態では、完全修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、２’置換糖部分、二環式糖部分、または糖代用物を含む。ある特定の実施形態では、２’置換糖部分は、２’－ＭＯＥ糖部分、２’－ＮＭＡ糖部分、２’－ＯＭｅ糖部分、及び２’－Ｆ糖部分から選択される。ある特定の実施形態では、二環式糖部分は、ｃＥｔ糖部分及びＬＮＡ糖部分から選択される。ある特定の実施形態では、糖代用物は、モルホリノ、修飾モルホリノ、ＴＨＰ、及びＦ－ＨＮＡから選択される。ある特定の実施形態では、完全修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシドは、同じ修飾糖部分を含む（「均一修飾糖モチーフ」）。ある特定の実施形態では、均一修飾糖モチーフは、７～２０ヌクレオシドの長さである。ある特定の実施形態では、均一修飾糖モチーフの各ヌクレオシドは、２’置換糖部分、二環式糖部分、または糖代用物を含む。ある特定の実施形態では、２’置換糖部分は、２’－ＭＯＥ糖部分、２’－ＮＭＡ糖部分、２’－ＯＭｅ糖部分、及び２’－Ｆ糖部分から選択される。ある特定の実施形態では、二環式糖部分は、ｃＥｔ糖部分及びＬＮＡ糖部分から選択される。ある特定の実施形態では、糖代用物は、モルホリノ、修飾モルホリノ、ＴＨＰ、及びＦ－ＨＮＡから選択される。ある特定の実施形態では、少なくとも１つの完全修飾糖モチーフを有する修飾オリゴヌクレオチドはまた、少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、または少なくとも４個の２’－デオキシリボヌクレオシドを含んでもよい。

【０１６８】

Ｂ．ある特定の核酸塩基モチーフ

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って規定のパターンまたはモチーフで配置された修飾及び／または未修飾核酸塩基を含む。ある特定の実施形態では、各核酸塩基が修飾されている。ある特定の実施形態では、核酸塩

基のうちのいずれも修飾されていない。ある特定の実施形態では、各プリンまたは各ピリミジンが修飾されている。ある特定の実施形態では、各アデニンが修飾されている。ある特定の実施形態では、各グアニンが修飾されている。ある特定の実施形態では、各チミンが修飾されている。ある特定の実施形態では、各ウラシルが修飾されている。ある特定の実施形態では、各シトシンが修飾されている。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドにおけるシトシン核酸塩基の一部または全てが、５－メチルシトシンである。

【０１６９】

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、修飾核酸塩基のブロックを含む。ある特定のかかる実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの３’末端にある。ある特定の実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの３’末端から３ヌクレオシド以内にある。ある特定の実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの５’末端にある。ある特定の実施形態では、ブロックは、オリゴヌクレオチドの５’末端から３ヌクレオシド以内にある。

【０１７０】

ある特定の実施形態では、修飾核酸塩基を含む１個のヌクレオシドは、修飾オリゴヌクレオチドの中心領域にある。ある特定のかかる実施形態では、該ヌクレオシドの糖部分は、２’－β－Ｄ－デオキシリボシル部分である。ある特定のかかる実施形態では、修飾核酸塩基は、５－メチルシトシン、２－チオピリミジン、２－チオチミン、６－メチルアデニン、イノシン、シュードウラシル、または５－プロピンピリミジンから選択される。

【０１７１】

Ｃ．ある特定のヌクレオシド間結合モチーフ

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドまたはその領域に沿って規定のパターンまたはモチーフで配置された修飾及び／または未修飾ヌクレオシド間結合を含む。ある特定の実施形態では、１つまたは２つの最も５’側のヌクレオシド間結合は、式Ｉのヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、１つまたは２つの最も３’側のヌクレオシド間結合は、式Ｉのヌクレオシド間結合である。ある特定の実施形態では、各ヌクレオシド間結合は、式Ｉのヌクレオシド間結合、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合、及びホスホジエステルヌクレオシド間結合から選択される。ある特定の実施形態では、各ヌクレオシド間結合は、式Ｉのヌクレオシド間結合及びホスホジエステルヌクレオシド間結合から選択される。

【０１７２】

ある特定の実施形態では、各ホスホロチオエートヌクレオシド間結合は、独立して、立体的にランダムなホスホロチオエート、（Ｓｐ）ホスホロチオエート、及び（Ｒｐ）ホスホロチオエートから選択される。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドの中心領域内のヌクレオシド間結合は全て、修飾されている。ある特定のかかる実施形態では、ホスホロチオエート結合の全てが、立体的にランダムである。ある特定の実施形態では、５’領域及び３’領域におけるホスホロチオエート結合の全てが、（Ｓｐ）ホスホロチオエートであり、中心領域は、少なくとも１つのＳｐ、Ｓｐ、ＲｐモチーフＦを含む。ある特定の実施形態では、修飾されたオリゴヌクレオチドの集団は、そのようなヌクレオシド間結合モチーフを含む修飾されたオリゴヌクレオチドが濃縮されている。

【０１７３】

ある特定の実施形態では、二本鎖アンチセンス化合物は、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチド及びＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチドを含む二本鎖ＲＮＡｉ化合物であり、該ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチド及び／または該ＲＮＡｉセンスオリゴマー化合物の一方または両方が、式Ｉを有する１つまたは複数の修飾ヌクレオシド間連結基を有する。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、または少なくとも６個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。ある特定の実施形態で

は、ＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、少なくとも５個、または少なくとも６個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。

【０１７４】

ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する厳密に１個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する厳密に２個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する厳密に３個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する厳密に４個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。

【０１７５】

ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する厳密に１個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する厳密に２個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する厳密に３個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する厳密に４個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉセンス修飾オリゴヌクレオチドは、式Ｉを有する厳密に５個の修飾ヌクレオシド間連結基を含む。

【０１７６】

ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドの最も３’側の５個のヌクレオシド間連結基のうちの少なくとも１個は、式Ｉを有する修飾ヌクレオシド間連結基である。ある特定の実施形態では、ＲＮＡｉアンチセンス修飾オリゴヌクレオチドの最も３’側の５個のヌクレオシド間連結基のうちの少なくとも２個は、式Ｉを有する修飾ヌクレオシド間連結基である。

【０１７７】

Ｄ．ある特定の修飾オリゴヌクレオチド

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、修飾オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。ある特定の実施形態では、上記の修飾（糖、核酸塩基、ヌクレオシド間結合）は、修飾オリゴヌクレオチドに組み込まれる。ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、それらの修飾、モチーフ、及び全長によって特徴が明らかにされる。ある特定の実施形態では、かかるパラメータは各々、互いに独立している。故に、別途指示されない限り、修飾オリゴヌクレオチドの各ヌクレオシド間結合は、修飾されていても、または未修飾であってもよく、糖部分の修飾パターンに従う場合も、従わない場合もある。同様に、かかる修飾オリゴヌクレオチドは、糖修飾のパターンから独立した１つまたは複数の修飾核酸塩基を含んでもよい。さらに、ある特定の事例では、修飾オリゴヌクレオチドは、全長または範囲により、かつ２つ以上の領域（例えば、指定の糖修飾を有するヌクレオシドの領域）の長さまたは長さの範囲により説明され、かかる状況では、各範囲について数を選択することにより、全長が指定の範囲から外れるオリゴヌクレオチドがもたらされる可能性があり得る。かかる状況では、両方の要素が満たされなければならない。例えば、ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、１５～２０個の連結ヌクレオシドからなり、かつ３つの領域またはセグメントＡ、Ｂ、及びＣからなる糖モチーフを有し、ここで、領域またはセグメントＡは、指定の糖部分を有する２～６個の連結ヌクレオシドからなり、領域またはセグメントＢは、指定の糖部分を有する６～１０個の連結ヌクレオシドからなり、領域またはセグメントＣは、指定の糖部分を有する２～６個の連結ヌクレオシドからなる。かかる実施形態では、Ａ及びＣが各々６個の連結されたヌクレオシドからなり、かつＢが１０個の連結されたヌクレオシドからなる修飾オリゴヌクレオチドは、かかるオリゴヌクレオチドの全長が該修飾オリゴヌクレオチドの全長の上限２０を超える２２であ

るため、（ヌクレオシドのそれらの数がＡ、Ｂ、及びＣについての要件内で許容されるとしても）含まれない。別途指示されない限り、全ての修飾は、オリゴヌクレオチド配列において修飾核酸塩基５－メチルシトシンが必然的に「Ｃ」であることを除いて、核酸塩基配列から独立している。ある特定の実施形態では、ＤＮＡ配列にＴを含むＤＮＡヌクレオシドまたはＤＮＡ様ヌクレオシドが、ＲＮＡ様ヌクレオシドと置き換えられる場合、核酸塩基Ｔは、核酸塩基Ｕと置き換えられる。これらの化合物の各々は、同一の標的ＲＮＡを有する。

【０１７８】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、Ｘ～Ｙ個の連結ヌクレオシドからなり、ここで、Ｘは、その範囲内の最小数のヌクレオシドを表し、Ｙは、その範囲内の最大数のヌクレオシドを表す。ある特定のかかる実施形態では、Ｘ及びＹは、各々独立して、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、及び５０から選択されるが、但し、Ｘ≦Ｙであることを条件とする。例えば、ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、１２～１３個、１２～１４個、１２～１５個、１２～１６個、１２～１７個、１２～１８個、１２～１９個、１２～２０個、１２～２１個、１２～２２個、１２～２３個、１２～２４個、１２～２５個、１２～２６個、１２～２７個、１２～２８個、１２～２９個、１２～３０個、１３～１４個、１３～１５個、１３～１６個、１３～１７個、１３～１８個、１３～１９個、１３～２０個、１３～２１個、１３～２２個、１３～２３個、１３～２４個、１３～２５個、１３～２６個、１３～２７個、１３～２８個、１３～２９個、１３～３０個、１４～１５個、１４～１６個、１４～１７個、１４～１８個、１４～１９個、１４～２０個、１４～２１個、１４～２２個、１４～２３個、１４～２４個、１４～２５個、１４～２６個、１４～２７個、１４～２８個、１４～２９個、１４～３０個、１５～１６個、１５～１７個、１５～１８個、１５～１９個、１５～２０個、１５～２１個、１５～２２個、１５～２３個、１５～２４個、１５～２５個、１５～２６個、１５～２７個、１５～２８個、１５～２９個、１５～３０個、１６～１７個、１６～１８個、１６～１９個、１６～２０個、１６～２１個、１６～２２個、１６～２３個、１６～２４個、１６～２５個、１６～２６個、１６～２７個、１６～２８個、１６～２９個、１６～３０個、１７～１８個、１７～１９個、１７～２０個、１７～２１個、１７～２２個、１７～２３個、１７～２４個、１７～２５個、１７～２６個、１７～２７個、１７～２８個、１７～２９個、１７～３０個、１８～１９個、１８～２０個、１８～２１個、１８～２２個、１８～２３個、１８～２４個、１８～２５個、１８～２６個、１８～２７個、１８～２８個、１８～２９個、１８～３０個、１９～２０個、１９～２１個、１９～２２個、１９～２３個、１９～２４個、１９～２５個、１９～２６個、１９～２９個、１９～２８個、１９～２９個、１９～３０個、２０～２１個、２０～２２個、２０～２３個、２０～２４個、２０～２５個、２０～２６個、２０～２７個、２０～２８個、２０～２９個、２０～３０個、２１～２２個、２１～２３個、２１～２４個、２１～２５個、２１～２６個、２１～２７個、２１～２８個、２１～２９個、２１～３０個、２２～２３個、２２～２４個、２２～２５個、２２～２６個、２２～２７個、２２～２８個、２２～２９個、２２～３０個、２３～２４個、２３～２５個、２３～２６個、２３～２７個、２３～２８個、２３～２９個、２３～３０個、２４～２５個、２４～２６個、２４～２７個、２４～２８個、２４～２９個、２４～３０個、２５～２６個、２５～２７個、２５～２８個、２５～２９個、２５～３０個、２６～２７個、２６～２８個、２６～２９個、２６～３０個、２７～２８個、２７～２９個、２７～３０個、２８～２９個、２８～３０個、または２９～３０個の連結ヌクレオシドからなる。

【０１７９】

ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、第２のオリゴヌクレオチド、または標的核酸等の特定される参照核酸に相補的である核酸塩基配列を有する。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドのある領域は、第２のオリゴヌクレオチド、または標的核

酸等の特定される参照核酸に相補的である核酸塩基配列を有する。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドのある領域または全長の核酸塩基配列は、第２のオリゴヌクレオチド、または標的核酸等の核酸に少なくとも７０％、少なくとも８０％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または１００％相補的である。

【０１８０】

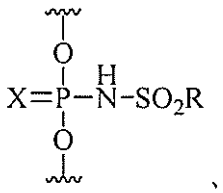
ＩＩＩ．ある特定のコンジュゲートされた化合物

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、任意選択でコンジュゲート基を含む修飾オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。コンジュゲート基は、オリゴヌクレオチドのどちらかの末端もしくは両端及び／または任意の内部位置に結合され得る。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、修飾オリゴヌクレオチドのヌクレオシドの２’位に結合される。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドのどちらかの末端または両端に結合させたコンジュゲート基は、末端基である。ある特定のかかる実施形態では、コンジュゲート部分または末端基は、オリゴヌクレオチドの３’末端及び／または５’末端にて結合される。ある特定のかかる実施形態では、コンジュゲート部分（または末端基）は、オリゴヌクレオチドの３’末端にて結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート部分は、オリゴヌクレオチドの３’末端付近に結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート部分（または末端基）は、オリゴヌクレオチドの５’末端にて結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート部分は、オリゴヌクレオチドの５’末端付近に結合される。

【０１８１】

ある特定の実施形態では、少なくとも１個のヌクレオシド間結合は、式Ｉを有し、

【化２９】



、

式中、Ｒは、コンジュゲート基を含む。ある特定の実施形態では、Ｒは、C_{16}である。

【０１８２】

Ａ．ある特定のコンジュゲート基及びコンジュゲート部分

ある特定の実施形態では、修飾オリゴヌクレオチドは、１つまたは複数のコンジュゲート部分またはコンジュゲート基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、薬力学、薬物動態、安定性、結合、吸収、組織分布、細胞分布、細胞取込み、電荷、及びクリアランスを含むがこれらに限定されない、分子の１つまたは複数の特性を改変する。ある特定の実施形態では、コンジュゲート部分は、分子に新たな特性、例えば、分子の検出を可能にするフルオロフォアまたはレポーター基を与える。

【０１８３】

ある特定のコンジュゲート基、例えば、コレステロール部分（Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１９８９，８６，６５５３－６５５６）、コール酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，１９９４，４，１０５３－１０６０）、チオエーテル、例えば、ヘキシル－Ｓ－トリチルチオール（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１９９２，６６０，３０６－３０９、Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔｔ．，１９９３，３，２７６５－２７７０）、チオコレステロール（Ｏｂｅｒｈａｕｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９２，２０，５３３－５３８）、脂肪族鎖、例えば、ドデカ

ン－ジオールもしくはウンデシル残基（Ｓａｉｓｏｎ－Ｂｅｈｍｏａｒａｓ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊ．，１９９１，１０，１１１１－１１１８、Ｋａｂａｎｏｖ　ｅｔ　ａｌ．，ＦＥＢＳ　Ｌｅｔｔ．，１９９０，２５９，３２７－３３０、Ｓｖｉｎａｒｃｈｕｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｅ，１９９３，７５，４９－５４）、リン脂質、例えば、ジ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロールもしくはトリエチル－アンモニウム１，２－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－Ｈ－ホスホネート（Ｍａｎｏｈａｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ　Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６，３６５１－３６５４、Ｓｈｅａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，１９９０，１８，３７７７－３７８３）、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖（Ｍａｎｏｈａｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ＆Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１９９５，１４，９６９－９７３）、またはアダマンタン酢酸、パルミチル部分（Ｍｉｓｈｒａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ，１９９５，１２６４，２２９－２３７）、オクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ－カルボニル－オキシコレステロール部分（Ｃｒｏｏｋｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．，１９９６，ｉ，９２３－９３７）、トコフェロール基（Ｎｉｓｈｉｎａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ，２０１５，４，ｅ２２０；ｄｏｉ：１０．１０３８／ｍｔｎａ．２０１４．７２及びＮｉｓｈｉｎａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｔｈｅｒａｐｙ，２００８，１６，７３４－７４０）、またはＧａｌＮＡｃクラスター（例えば、ＷＯ２０１４／１７９６２０）が、以前に記載されている。

【０１８４】

ａ．コンジュゲート部分

コンジュゲート部分には、限定されないが、インターカレーター、レポーター分子、ポリアミン、ポリアミド、ペプチド、炭水化物（例えば、ＧａｌＮＡｃ）、ビタミン部分、ポリエチレングリコール、チオエーテル、ポリエーテル、コレステロール、チオコレステロール、コール酸部分、葉酸、脂質、リン脂質、ビオチン、フェナジン、フェナントリジン、アントラキノン、アダマンタン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、フルオロフォア、及び色素が含まれる。

【０１８５】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート部分は、有効成分（ａｃｔｉｖｅ　ｄｒｕｇ　ｓｕｂｓｔａｎｃｅ）、例えば、アスピリン、ワーファリン、フェニルブタゾン、イブプロフェン、スプロフェン、フェンブフェン、ケトプロフェン、（Ｓ）－（＋）－プラノプロフェン、カルプロフェン、ダンシルサルコシン、２，３，５－トリヨード安息香酸、フィンゴリモド、フルフェナム酸、フォリン酸、ベンゾチアジアジン、クロロチアジド、ジアゼピン、インドメタシン、バルビツレート、セファロスポリン、サルファ薬、糖尿病治療薬、抗菌薬または抗生物質を含む。

【０１８６】

ｂ．コンジュゲートリンカー

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、コンジュゲート部分を修飾オリゴヌクレオチドの残部に結合させるコンジュゲートリンカーを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、単化学結合である（すなわち、コンジュゲート部分は、単結合によるコンジュゲートリンカーを介して修飾オリゴヌクレオチドの残部に結合される）。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、ヒドロカルビル鎖等の鎖構造、またはエチレングリコール、ヌクレオシド、もしくはアミノ酸単位等の繰り返し単位のオリゴマーを含む。

【０１８７】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル、及びヒドロキシルアミノから選択される１つまたは複数の基を含む。ある特定のそのような実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキル基、アミノ基、オキソ基、アミド基、及びエー

テル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキル及びアミド基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、アルキル及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、少なくとも１つのリン部分を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、少なくとも１つのリン酸基を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、少なくとも１つの中性連結基を含む。

【０１８８】

ある特定の実施形態では、上述のコンジュゲートリンカーを含めたコンジュゲートリンカーは、二官能性連結部分、例えば、コンジュゲート基を本明細書に提供されるオリゴヌクレオチド等のオリゴマー化合物に結合させるのに有用であることが当該技術分野で知られているものである。一般に、二官能性連結部分は、少なくとも２つの官能基を含む。官能基のうちの一方は、オリゴマー化合物上の特定の部位に結合するように選択され、他方は、コンジュゲート基に結合するように選択される。二官能性連結部分に使用される官能基の例としては、求核基と反応させるための求電子剤及び求電子基と反応させるための求核剤が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、二官能性連結部分は、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、チオール、アルキル、アルケニル、及びアルキニルから選択される１つまたは複数の基を含む。

【０１８９】

コンジュゲートリンカーの例としては、ピロリジン、８－アミノ－３，６－ジオキサオクタン酸（ＡＤＯ）、スクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（ＳＭＣＣ）、及び６－アミノヘキサン酸（ＡＨＥＸまたはＡＨＡ）が挙げられるが、これらに限定されない。他のコンジュゲートリンカーには、置換もしくは非置換Ｃ１～Ｃ１０アルキル、置換もしくは非置換Ｃ２～Ｃ１０アルケニル、または置換もしくは非置換Ｃ２～Ｃ１０アルキニルが含まれるが、これらに限定されず、ここで、好ましい置換基の非限定的なリストには、ヒドロキシル、アミノ、アルコキシ、カルボキシ、ベンジル、フェニル、ニトロ、チオール、チオアルコキシ、ハロゲン、アルキル、アリール、アルケニル、及びアルキニルが含まれる。

【０１９０】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、１～１０個のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、かかるリンカーヌクレオシドは、修飾ヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、かかるリンカーヌクレオシドは、修飾糖部分を含む。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは、未修飾である。ある特定の実施形態では、リンカーヌクレオシドは、プリン、置換プリン、ピリミジン、または置換ピリミジンから選択される、任意選択で保護される複素環式塩基を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ウラシル、チミン、シトシン、４－Ｎ－ベンゾイルシトシン、５－メチルシトシン、４－Ｎ－ベンゾイル－５－メチルシトシン、アデニン、６－Ｎ－ベンゾイルアデニン、グアニン、及び２－Ｎ－イソブチリルグアニンから選択されるヌクレオシドである。典型的には、リンカーヌクレオシドは、標的組織に到達した後にオリゴマー化合物から切断されることが望ましい。したがって、リンカーヌクレオシドは典型的には、切断可能な結合を介して互いにかつオリゴマー化合物の残部に連結される。ある特定の実施形態では、かかる切断可能な結合は、ホスホジエステル結合である。

【０１９１】

別途指示されない限り、コンジュゲートリンカーは、１０個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、５個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、３個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、２個以下のリンカーヌクレオシドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲートリンカーは、わずか１個のリンカーヌクレオシドを含む。

【０１９２】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基またはコンジュゲート部分がオリゴヌクレ

オチドの残部から切断されることが望ましい。例えば、ある特定の状況では、特定のコンジュゲート部分を含むオリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）または修飾オリゴヌクレオチドは、特定の細胞種に取り込まれる方がよいが、ひとたび該化合物が取り込まれると、コンジュゲート基が切断されて、コンジュゲートされていないオリゴヌクレオチドが放出されることが望ましい。故に、ある特定のコンジュゲート部分は、典型的にはコンジュゲートリンカー内にある、１つまたは複数の切断可能な部分を含んでもよい。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、切断可能な結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、少なくとも１つの切断可能な結合を含む原子団である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、１つ、２つ、３つ、４つ、または４つよりも多くの切断可能な結合を有する原子団を含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、リソソーム等の細胞の内部または細胞内区画で選択的に切断される。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ヌクレアーゼ等の内在性酵素によって選択的に切断される。

【０１９３】

ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、アミド、エステル、エーテル、ホスホジエステルの一方もしくは両方のエステル、リン酸エステル、カルバメート、またはジスルフィドの中から選択される。ある特定の実施形態では、切断可能な結合は、ホスホジエステルの一方または両方のエステルである。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、リン酸またはホスホジエステルを含む。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、オリゴヌクレオチドとコンジュゲート部分またはコンジュゲート基との間のリン酸またはホスホジエステル結合である。

【０１９４】

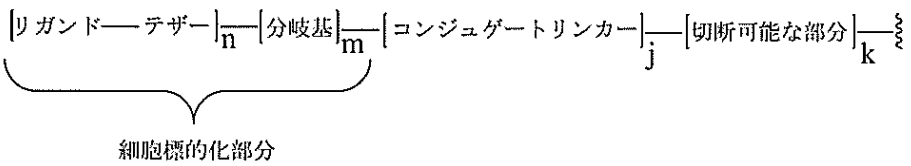
ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、１つまたは複数のリンカーヌクレオシドを含むか、またはそれからなる。ある特定のかかる実施形態では、１つまたは複数のリンカーヌクレオシドは、切断可能な結合を介して互いに及び／またはオリゴマー化合物の残部に連結される。ある特定の実施形態では、かかる切断可能な結合は、未修飾ホスホジエステル結合である。ある特定の実施形態では、切断可能な部分は、ホスホジエステルヌクレオシド間結合によってオリゴヌクレオチドの３’末端ヌクレオシドまたは５’末端ヌクレオシドのいずれかに結合させ、かつホスホジエステルまたはホスホロチオエート結合によってコンジュゲートリンカーまたはコンジュゲート部分の残部に共有結合させた２’－デオキシフラノシルを含む、ヌクレオシドである。ある特定のかかる実施形態では、切断可能な部分は、２’－β－Ｄ－デオキシリボシル糖部分を含むヌクレオシドである。ある特定のかかる実施形態では、切断可能な部分は、２’－デオキシアデノシンである。

【０１９５】

ｃ．ある特定の細胞標的化コンジュゲート部分

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、細胞標的化コンジュゲート部分を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、下記の一般式を有し、

【化３０】



式中、ｎは１～約３であり、ｎが１である場合ｍは０であり、ｎが２以上である場合ｍは１であり、ｊは１または０であり、ｋは１または０である。

【０１９６】

ある特定の実施形態では、ｎは１であり、ｊは１であり、ｋは０である。ある特定の実施形態では、ｎは１であり、ｊは０であり、ｋは１である。ある特定の実施形態では、ｎ

は１であり、ｊは１であり、ｋは１である。ある特定の実施形態では、ｎは２であり、ｊは１であり、ｋは０である。ある特定の実施形態では、ｎは２であり、ｊは０であり、ｋは１である。ある特定の実施形態では、ｎは２であり、ｊは１であり、ｋは１である。ある特定の実施形態では、ｎは３であり、ｊは１であり、ｋは０である。ある特定の実施形態では、ｎは３であり、ｊは０であり、ｋは１である。ある特定の実施形態では、ｎは３であり、ｊは１であり、ｋは１である。

【０１９７】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、少なくとも１つのテザーリガンドを有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合させた２つのテザーリガンドを含む。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、分岐基に共有結合させた３つのテザーリガンドを含む。

【０１９８】

ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル、及びヒドロキシルアミノ基から選択される１つまたは複数の基を含む分岐基を含む。ある特定の実施形態では、分岐基は、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、ジスルフィド、ポリエチレングリコール、エーテル、チオエーテル、及びヒドロキシルアミノ基から選択される基を含む分岐状脂肪族基を含む。ある特定のかかる実施形態では、分岐状脂肪族基は、アルキル、アミノ、オキソ、アミド、及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定のかかる実施形態では、分岐状脂肪族基は、アルキル、アミノ、及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定のかかる実施形態では、分岐状脂肪族基は、アルキル及びエーテル基から選択される基を含む。ある特定の実施形態では、分岐基は、単環式または多環式環系を含む。

【０１９９】

ある特定の実施形態では、細胞標的化部分の各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル、置換アルキル、エーテル、チオエーテル、ジスルフィド、アミノ、オキソ、アミド、ホスホジエステル、及びポリエチレングリコールから選択される１つまたは複数の基を含む。ある特定の実施形態では、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル、エーテル、チオエーテル、ジスルフィド、アミノ、オキソ、アミド、及びポリエチレングリコールから選択される１つまたは複数の基を含む直鎖状脂肪族基である。ある特定の実施形態では、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル、ホスホジエステル、エーテル、アミノ、オキソ、及びアミドから選択される１つまたは複数の基を含む直鎖状脂肪族基である。ある特定の実施形態では、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル、エーテル、アミノ、オキソ、及びアミドから選択される１つまたは複数の基を含む直鎖状脂肪族基である。ある特定の実施形態では、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル、アミノ、及びオキソから選択される１つまたは複数の基を含む直鎖状脂肪族基である。ある特定の実施形態では、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル及びオキソから選択される１つまたは複数の基を含む直鎖状脂肪族基である。ある特定の実施形態では、各テザーは、任意の組み合わせで、アルキル及びホスホジエステルから選択される１つまたは複数の基を含む直鎖状脂肪族基である。ある特定の実施形態では、各テザーは、少なくとも１つのリン連結基または中性連結基を含む。ある特定の実施形態では、各テザーは、約６～約２０原子の長さの鎖を含む。ある特定の実施形態では、各テザーは、約１０～約１８原子の長さの鎖を含む。ある特定の実施形態では、各テザーは、約１０原子の鎖長を含む。

【０２００】

ある特定の実施形態では、細胞標的化部分の各リガンドは、標的細胞上の少なくとも１つの受容体型に対して親和性を有する。ある特定の実施形態では、各リガンドは、哺乳類の肺細胞の表面上の少なくとも１つの受容体型に対して親和性を有する。

【０２０１】

ある特定の実施形態では、細胞標的化部分は、アシアロ糖タンパク質受容体（ＡＳＧＰＲ）に対して親和性を有する。ある特定の実施形態では、細胞標的化部分の各リガンドは、炭水化物、炭水化物誘導体、修飾炭水化物、多糖類、修飾多糖類、または多糖誘導体で

ある。ある特定のかかる実施形態では、コンジュゲート基は、炭水化物クラスターを含む（例えば、Ｍａｉｅｒ ｅｔ ａｌ．，“Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ Ｃｏｎｊｕｇａｔｅｄ ｔｏ ａ Ｍｕｌｔｉｖａｌｅｎｔ Ｃａｒｂｏｈｙｄｒａｔｅ Ｃｌｕｓｔｅｒ ｆｏｒ Ｃｅｌｌｕｌａｒ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ，”Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，２００３，１４，１８－２９、またはＲｅｎｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，“Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ｏｆ Ｎｏｖｅｌ Ｎ－Ａｃｅｔｙｌｇａｌａｃｔｏｓａｍｉｎｅ－Ｔｅｒｍｉｎａｔｅｄ Ｇｌｙｃｏｌｉｐｉｄｓ ｆｏｒ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ Ｌｉｐｏｐｒｏｔｅｉｎｓ ｔｏ ｔｈｅ Ｈｅｐａｔｉｃ Ａｓｉａｇｌｙｃｏｐｒｏｔｅｉｎ Ｒｅｃｅｐｔｏｒ，”Ｊ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．２００４，４７，５７９８－５８０８を参照されたく、同文献は参照によりそれらの全体が本明細書に援用される）。ある特定のかかる実施形態では、各リガンドは、アミノ糖またはチオ糖である。例えば、アミノ糖は、シアル酸、α－Ｄ－ガラクトサミン、β－ムラミン酸、２－デオキシ－２－メチルアミノ－Ｌ－グルコピラノース、４，６－ジデオキシ－４－ホルムアミド－２，３－ジ－Ｏ－メチル－Ｄ－マンノピラノース、２－デオキシ－２－スルホアミノ－Ｄ－グルコピラノース及びＮ－スルホ－Ｄ－グルコサミン、ならびにＮ－グリコリル－α－ノイラミン酸等の、当該技術分野で既知のいくつもの化合物から選択されてもよい。例えば、チオ糖は、５－チオ－β－Ｄ－グルコピラノース、メチル２，３，４－トリ－Ｏ－アセチル－１－チオ－６－Ｏ－トリチル－α－Ｄ－グルコピラノシド、４－チオ－β－Ｄ－ガラクトピラノース、及びエチル３，４，６，７－テトラ－Ｏ－アセチル－２－デオキシ－１，５－ジチオ－α－Ｄ－グルコ－ヘプトピラノシドから選択されてもよい。

【０２０２】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のオリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）または修飾オリゴヌクレオチドは、以下の参考文献のうちのいずれかに見出されるコンジュゲート基を含む：Ｌｅｅ，Ｃａｒｂｏｈｙｄｒ Ｒｅｓ，１９７８，６７，５０９－５１４、Ｃｏｎｎｏｌｌｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，１９８２，２５７，９３９－９４５、Ｐａｖｉａ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ Ｊ Ｐｅｐ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｒｅｓ，１９８３，２２，５３９－５４８、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ，１９８４，２３，４２５５－４２６１、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｇｌｙｃｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｊ，１９８７，４，３１７－３２８、Ｔｏｙｏｋｕｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ，１９９０，３１，２６７３－２６７６、Ｂｉｅｓｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ，１９９５，３８，１５３８－１５４６、Ｖａｌｅｎｔｉｊｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ，１９９７，５３，７５９－７７０、Ｋｉｍ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ，１９９７，３８，３４８７－３４９０、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ Ｃｈｅｍ，１９９７，８，７６２－７６５、Ｋａｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｇｌｙｃｏｂｉｏｌ，２００１，１１，８２１－８２９、Ｒｅｎｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ，２００１，２７６，３７５７７－３７５８４、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ，２００３，３６２，３８－４３、Ｗｅｓｔｅｒｌｉｎｄ ｅｔ ａｌ．，Ｇｌｙｃｏｃｏｎｊ Ｊ，２００４，２１，２２７－２４１、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ Ｌｅｔｔ，２００６，１６（１９），５１３２－５１３５、Ｍａｉｅｒｈｏｆｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ，２００７，１５，７６６１－７６７６、Ｋｈｏｒｅｖ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ，２００８，１６，５２１６－５２３１、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ，２０１１，１９，２４９４－２５００、Ｋｏｒｎｉｌｏｖａ ｅｔ ａｌ．，Ａｎａｌｙｔ Ｂｉｏｃｈｅｍ，２０１２，４２５，４３－４６、Ｐｕｊｏｌ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｇｅｗ Ｃｈｅｍｉｅ Ｉｎｔ Ｅｄ Ｅｎｇｌ，２０１２，５１，７４４５－７４４８、Ｂｉｅｓｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ，１９９５，３８，１８４６－１８５２、Ｓｌｉｅｄｒｅｇｔ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ，１９９９，４２，６０９－６１８、Ｒｅｎｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ

Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ，２００４，４７，５７９８－５８０８、Ｒｅｎｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｒｔｅｒｉｏｓｃｌｅｒ Ｔｈｒｏｍｂ Ｖａｓｃ Ｂｉｏｌ，２００６，２６，１６９－１７５、ｖａｎ Ｒｏｓｓｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ，２００４，１１，４５７－４６４、Ｓａｔｏ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ａｍ Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ，２００４，１２６，１４０１３－１４０２２、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｏｒｇ Ｃｈｅｍ，２０１２，７７，７５６４－７５７１、Ｂｉｅｓｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，ＦＡＳＥＢ Ｊ，２０００，１４，１７８４－１７９２、Ｒａｊｕｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ Ｃｈｅｍ，１９９７，８，９３５－９４０、Ｄｕｆｆ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ，２０００，３１３，２９７－３２１、Ｍａｉｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ Ｃｈｅｍ，２００３，１４，１８－２９、Ｊａｙａｐｒａｋａｓｈ ｅｔ ａｌ．，Ｏｒｇ Ｌｅｔｔ，２０１０，１２，５４１０－５４１３、Ｍａｎｏｈａｒａｎ，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｖ，２００２，１２，１０３－１２８、Ｍｅｒｗｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ Ｃｈｅｍ，１９９４，５，６１２－６２０、Ｔｏｍｉｙａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ Ｍｅｄ Ｃｈｅｍ，２０１３，２１，５２７５－５２８１、国際出願第ＷＯ１９９８／０１３３８１号、ＷＯ２０１１／０３８３５６、ＷＯ１９９７／０４６０９８、ＷＯ２００８／０９８７８８、ＷＯ２００４／１０１６１９、ＷＯ２０１２／０３７２５４、ＷＯ２０１１／１２００５３、ＷＯ２０１１／１００１３１、ＷＯ２０１１／１６３１２１、ＷＯ２０１２／１７７９４７、ＷＯ２０１３／０３３２３０、ＷＯ２０１３／０７５０３５、ＷＯ２０１２／０８３１８５、ＷＯ２０１２／０８３０４６、ＷＯ２００９／０８２６０７、ＷＯ２００９／１３４４８７、ＷＯ２０１０／１４４７４０、ＷＯ２０１０／１４８０１３、ＷＯ１９９７／０２０５６３、ＷＯ２０１０／０８８５３７、ＷＯ２００２／０４３７７１、ＷＯ２０１０／１２９７０９、ＷＯ２０１２／０６８１８７、ＷＯ２００９／１２６９３３、ＷＯ２００４／０２４７５７、ＷＯ２０１０／０５４４０６、ＷＯ２０１２／０８９３５２、ＷＯ２０１２／０８９６０２、ＷＯ２０１３／１６６１２１、ＷＯ２０１３／１６５８１６、米国特許第４，７５１，２１９号、第８，５５２，１６３号、第６，９０８，９０３号、第７，２６２，１７７号、第５，９９４，５１７号、第６，３００，３１９号、第８，１０６，０２２号、第７，４９１，８０５号、第７，４９１，８０５号、第７，５８２，７４４号、第８，１３７，６９５号、第６，３８３，８１２号、第６，５２５，０３１号、第６，６６０，７２０号、第７，７２３，５０９号、第８，５４１，５４８号、第８，３４４，１２５号、第８，３１３，７７２号、第８，３４９，３０８号、第８，４５０，４６７号、第８，５０１，９３０号、第８，１５８，６０１号、第７，２６２，１７７号、第６，９０６，１８２号、第６，６２０，９１６号、第８，４３５，４９１号、第８，４０４，８６２号、第７，８５１，６１５号、公開された米国特許出願公開第ＵＳ２０１１／００９７２６４号、ＵＳ２０１１／００９７２６５、ＵＳ２０１３／０００４４２７、ＵＳ２００５／０１６４２３５、ＵＳ２００６／０１４８７４０、ＵＳ２００８／０２８１０４４、ＵＳ２０１０／０２４０７３０、ＵＳ２００３／０１１９７２４、ＵＳ２００６／０１８３８８６、ＵＳ２００８／０２０６８６９、ＵＳ２０１１／０２６９８１４、ＵＳ２００９／０２８６９７３、ＵＳ２０１１／０２０７７９９、ＵＳ２０１２／０１３６０４２、ＵＳ２０１２／０１６５３９３、ＵＳ２００８／０２８１０４１、ＵＳ２００９／０２０３１３５、ＵＳ２０１２／００３５１１５、ＵＳ２０１２／００９５０７５、ＵＳ２０１２／０１０１１４８、ＵＳ２０１２／０１２８７６０、ＵＳ２０１２／０１５７５０９、ＵＳ２０１２／０２３０９３８、ＵＳ２０１３／０１０９８１７、ＵＳ２０１３／０１２１９５４、ＵＳ２０１３／０１７８５１２、ＵＳ２０１３／０２３６９６８、ＵＳ２０１１／０１２３５２０、ＵＳ２００３／００７７８２９、ＵＳ２００８／０１０８８０１、及びＵＳ２００９／０２０３１３２。

【０２０３】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、Ｎ－アセチルガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）を含む。

【０２０４】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、第１の修飾オリゴヌクレオチドの５’末端にて第１の修飾オリゴヌクレオチドに結合される。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、修飾オリゴヌクレオチドの３’末端にて第１の修飾オリゴヌクレオチドに結合される。

【０２０５】

ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、トランスフェリン受容体（ＴｆＲ）、別名ＴｆＲ１及びＣＤ７１に対して親和性を有する細胞標的化部分を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、抗ＴｆＲ１抗体またはその断片を含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、ＴｆＲ１に結合することができるペプチドを含む。ある特定の実施形態では、コンジュゲート基は、ＴｆＲ１に結合することができるアプタマーを含む。

【０２０６】

組成物、及び薬学的組成物の製剤化方法

本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチドは、薬学的組成物の調製のために、薬学的に許容される活性または不活性物質と混和されてもよい。組成物、及び薬学的組成物の製剤化方法は、投与経路、疾患の程度、または投与すべき用量を含むがこれらに限定されない、いくつかの基準に依存する。

【０２０７】

ある特定の実施形態は、１つまたは複数のオリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）またはその塩を含む薬学的組成物を提供する。ある特定のかかる実施形態では、薬学的組成物は、薬学的に許容される好適な希釈剤または担体を含む。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、滅菌食塩液及び１つまたは複数のオリゴマー化合物を含む。ある特定の実施形態では、かかる薬学的組成物は、滅菌食塩液及び１つまたは複数のオリゴマー化合物からなる。ある特定の実施形態では、滅菌食塩水は、医薬品グレードの食塩水である。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、１つまたは複数のオリゴマー化合物及び滅菌水を含む。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、１つのオリゴマー化合物及び滅菌水からなる。ある特定の実施形態では、滅菌水は、医薬品グレードの水である。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、１つまたは複数のオリゴマー化合物及びリン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）を含むか、またはそれらからなる。ある特定の実施形態では、薬学的組成物は、１つまたは複数のオリゴマー化合物及び滅菌ＰＢＳからなる。ある特定の実施形態では、滅菌ＰＢＳは、医薬品グレードのＰＢＳである。組成物、及び薬学的組成物の製剤化方法は、投与経路、疾患の程度、または投与すべき用量を含むがこれらに限定されない、いくつかの基準に依存する。

【０２０８】

標的核酸に相補的な本明細書に記載のオリゴマー化合物は、薬学的組成物が注射に好適であるように、オリゴマー化合物を薬学的に許容される好適な希釈剤もしくは担体及び／または追加の構成成分と組み合わせることによって、薬学的組成物において利用することができる。ある特定の実施形態では、薬学的に許容される希釈剤は、リン酸緩衝食塩水である。したがって、一実施形態では、本明細書に記載の方法において、標的核酸に相補的なオリゴマー化合物及び薬学的に許容される希釈剤を含む、薬学的組成物が用いられる。ある特定の実施形態では、薬学的に許容される希釈剤は、リン酸緩衝食塩水である。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、本明細書に提供される修飾オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。

【０２０９】

本明細書に提供されるオリゴマー化合物（アンチセンス剤またはその一部分であるオリゴマー化合物を含む）を含む薬学的組成物は、ヒトを含めた動物に投与されると、生物学的に活性な代謝産物またはその残基を（直接的または間接的に）提供することができる、任意の薬学的に許容される塩、エステルもしくはかかるエステルの塩、または任意の他のオリゴヌクレオチドを包含する。ある特定の実施形態では、オリゴマー化合物は、修飾オリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。したがって、例えば、本開示はまた、

化合物の薬学的に許容される塩、プロドラッグ、かかるプロドラッグの薬学的に許容される塩、及び他の生物学的同等物も対象とする。薬学的に許容される好適な塩には、ナトリウム塩及びカリウム塩が含まれるが、これらに限定されない。

【０２１０】

標的核酸、標的領域、及びヌクレオチド配列

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のアンチセンス剤、オリゴマー化合物、または修飾オリゴヌクレオチドは、標的核酸に相補的である領域を含むオリゴヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。ある特定の実施形態では、標的核酸は、内在性ＲＮＡ分子である。ある特定の実施形態では、標的核酸は、タンパク質をコードする。ある特定のかかる実施形態では、標的核酸は、イントロン領域、エキソン領域、及び非翻訳領域を含むｍＲＮＡ及びプレｍＲＮＡから選択される。ある特定の実施形態では、標的ＲＮＡは、ｍＲＮＡである。ある特定の実施形態では、標的核酸は、プレｍＲＮＡである。ある特定の実施形態では、プレｍＲＮＡ及び対応するｍＲＮＡは両方とも、単一の化合物の標的核酸である。ある特定のかかる実施形態では、標的領域は、全体が標的プレｍＲＮＡのイントロン内にある。ある特定の実施形態では、標的領域は、イントロン／エキソンの連結部にまたがる。ある特定の実施形態では、標的領域は、少なくとも５０％がイントロン内にある。ある特定の実施形態では、標的核酸は、マイクロＲＮＡである。ある特定の実施形態では、標的領域は、遺伝子の５’ＵＴＲにある。ある特定の実施形態では、標的領域は、標的核酸の翻訳抑制エレメント領域内にある。

【０２１１】

ある特定の化合物

本明細書に記載のある特定の化合物（例えば、アンチセンス剤、オリゴマー化合物、及び修飾オリゴヌクレオチド）は、１つまたは複数の不斉中心を有し、故に、エナンチオマー、ジアステレオマー、及び絶対立体化学の点で（Ｒ）もしくは（Ｓ）、糖アノマーに対するようなαもしくはβ、またはアミノ酸に対するような（Ｄ）もしくは（Ｌ）等と定義され得る他の立体異性体配置を生じさせる。ある特定の立体異性体配置を有するように描かれるかまたは説明される、本明細書に提供される化合物は、示される化合物のみを含む。未定義の立体化学構造で描かれるかまたは説明される、本明細書に提供される化合物は、それらの立体的にランダムな形態及び光学的に純粋な形態を含めた、考えられる全てのかかる異性体を含む。別途指示されない限り、本明細書に提供される化合物の全ての互変異性形態が含まれる。

【０２１２】

本明細書に記載される化合物は、１個または複数の原子が示される元素の非放射性同位体または放射性同位体と置き換えられている変形形態を含む。例えば、水素原子を含む本明細書の化合物は、^{1}Ｈ水素原子の各々について、考えられる全てのジュウテリウム置換を包含する。本明細書の化合物により包含される同位体の置換には、^{1}Ｈに代わる^{2}Ｈまたは^{3}Ｈ、^{12}Ｃに代わる^{13}Ｃまたは^{14}Ｃ、^{14}Ｎに代わる^{15}Ｎ、^{16}Ｏに代わる^{17}Ｏまたは^{18}Ｏ、及び^{32}Ｓに代わる^{33}Ｓ、^{34}Ｓ、^{35}Ｓ、または^{36}Ｓが含まれるがこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、非放射性同位体の置換は、治療ツールまたは研究ツールとしての使用に有益である新たな特性をオリゴマー化合物に与え得る。ある特定の実施形態では、放射性同位体の置換は、化合物をイメージング等の研究目的または診断目的に好適なものにし得る。

【実施例】

【０２１３】

以下の実施例は、本発明のある特定の態様を例示することを意図しており、本発明をいかようにも限定することは意図しない。

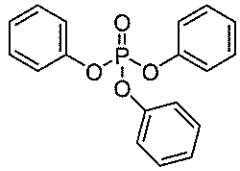
【０２１４】

実施例１：酸化溶液の調製

各々、スルホニル酸化剤であるメタンスルホニルアジド（メシルアジド、ＭｓＮ$_{3}$）を含む、５つの酸化溶液を調製した。１つの酸化溶液は安定剤を含有せず（対照溶液）、４

つの酸化溶液は各々、安定剤を含んでいた。試験した安定剤は、トリフェニルリン酸（ＴＰＰ）及びジフェニルスルホン（ＤＰＳ）であった。

【化３１】



トリフェニルリン酸 (TPP)

ジフェニルスルホンの使用は、結晶性材料が形成されることが観察されたため推奨されない。

【０２１５】

溶液を下記に記載されるように、また表１に明記される濃度で調製した。全ての溶液は５℃で保管した。

【表１】

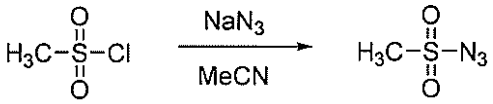
表１：酸化溶液

酸化溶液	スルホニル酸化剤 MsN_3(M)	安定剤	溶媒
1	0.5	なし	1:1アセトニトリル対トルエン
2	0.5	TPP、1.0M	1:1アセトニトリル対トルエン

【０２１６】

アセトニトリル中１．０ＭのＭｓＮ$_3$の調製

【化３２】



ＮａＮ$_3$（５．４ｇ、８３ｍｍｏｌ、１当量）を脱水アセトニトリル（ＭｅＣＮ、８０ｍＬ）中に縣濁させ、窒素下で撹拌しながら０℃まで冷却した。メシルクロリド（１０ｇ、６．７５ｍｌ、８８．３ｍｍｏｌ、１．０５当量）を滴加し、反応物を３時間かけて室温まで昇温させた。反応物を濾過して不溶性塩を除去することにより、所望のＭｅＣＮ中１．０ＭのＭｓＮ$_3$溶液を得た。

【０２１７】

酸化溶液１の調製

２０ｍＬのトルエン及び２０ｍＬのＭｅＣＮ中１．０ＭのＭｓＮ$_3$（上述）を５０ｍＬの琥珀色のボトルに加えた。ボトルをパラフィルムで覆い、蓋をした。溶液を手で旋回させることによって混合した。

【０２１８】

酸化溶液２の調製

１０ｍＬのトルエン中２．０ＭのＴＰＰ及び１０ｍＬのＭｅＣＮ中１．０ＭのＭｓＮ$_3$（上述）を５０ｍＬの琥珀色のボトルに加えた。ボトルをパラフィルムで覆い、蓋をした

。溶液を手で旋回させることによって混合した。

【０２１９】

実施例２：酸化溶液の熱力学的分析

上述した酸化溶液１～３を、標準プロトコルを使用してＤｅｋｒａ（ｄｅｋｒａ．ｕｓ／ｐｒｏｃｅｓｓ－ｓａｆｅｔｙ）によって試験した。簡潔に述べると、溶媒を各酸化溶液から除去し、対応する残渣を、それらの組成物の熱を決定するために示差走査熱量測定（ＤＳＣ）によって評価した。この試験は、あらゆるエネルギー事象の開始温度及びそれらの事象に関連する総エネルギーを決定する。各事象は、下記の表２において別々の行に記載され、残渣が加熱されるときに残渣のエンタルピーに正（吸熱）の変化があったか、負（発熱）の変化があったかに関して標示される。３００Ｊ．ｇ$^{-1}$超の分解エネルギーは、高エネルギー性材料を示し、５００Ｊ．ｇ$^{-1}$超の分解エネルギーは、材料が爆発特性を有する可能性があることを示唆する。

【０２２０】

各溶液の０．４００ｍＬの分量を室温で一晩蒸発させて、残渣をもたらし、それをＤＳＣ試験で使用した。試験試料を、密封された高圧金るつぼに装入した。同型の空るつぼを基準として使用した。試料及び基準るつぼをＭｅｔｔｌｅｒ　Ｔｏｌｅｄｏ　ＤＳＣ　３＋炉に入れ、それを２５℃の開始温度まで加熱した。るつぼが炉と平衡化した時点で、それらを５℃／分の一定速度で４００℃まで加熱した。試料るつぼ及び基準るつぼからの熱流を試験全体にわたって記録した。試料内のいずれの発熱活動も、基準るつぼと比べた試料るつぼからのより大きな熱流をもたらすことになる。開始温度、終了温度、及びピーク温度を記録し、これを表２に提供する。

【表２】

表２：酸化溶液のＤＳＣ結果

残渣源	事象	開始温度 (℃)	ピーク温度 (℃)	終了温度 (℃)	エネルギー ($J\ g^{-1}$)
酸化溶液1	発熱	100.8	185.0	218.4	2083.12
	発熱	218.7	240.4	255.0	146.14
	発熱	297.0	352.7	371.9	66.63
酸化溶液2	発熱	142.0	192.8	219.1	259.32
	発熱	234.0	295.4	326.2	117.09

【０２２１】

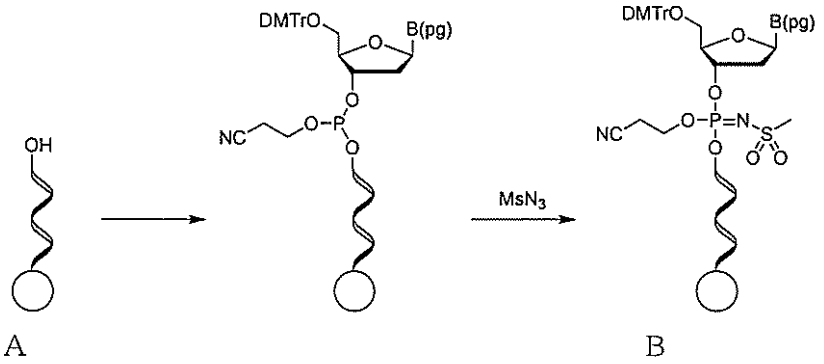
上記に示されるように、ＴＰＰ（酸化溶液２）を含有する残渣は、いずれの固体安定剤も含まない対照溶液（酸化溶液１）からの残渣よりも低い燃焼エネルギーを有する。

【０２２２】

実施例３：メシルアジド溶液を使用した酸化的メシル化を介したメシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの合成

以下の図は、酸化剤としてメシルアジドを使用したオリゴヌクレオチド合成の一般的で俯瞰的なスキームを示す。白黒のリボンとして表示されるオリゴヌクレオチド中間体が、固体支持体（円として示される）に結合される。ホスホロアミダイトモノマーが、標準的技法を使用してオリゴヌクレオチド上に導入される。下記の図における「Ｂ（ｐｇ）」は、一般的な保護基（複数可）を有する可変の核酸塩基を表す。第２の一般ステップにおいてメシルアジドを酸化剤として使用することで、ホスホトリエステル結合の酸化がもたらされて、メシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合が得られる。

【化３３】



メシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドは、実施例１に記載される酸化溶液を使用して調製した。

【０２２３】

オリゴヌクレオチド中間体である化合物Ａは、標準的技法を使用して合成した。化合物Ａは、核酸塩基配列（５’から３’）：ＴＧＧＴＴＡＴＧＡＣＴＣＡ（配列番号１）を有する１３ヌクレオシド長の修飾オリゴヌクレオチド中間体である。化合物Ａの糖モチーフは、（５’から３’）：ｄｄｄｄｄｄｄｄｄｅｅｅｅｅであり、式中、各「ｄ」は、２’－β－Ｄ－デオキシリボシル糖部分を表し、各「ｅ」は、２’－ＭＯＥ糖部分を表す。化合物Ａのヌクレオシド間結合モチーフは、（５’から３’）：ｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓであり、式中、各「ｓ」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表す。各シトシン残基は、５－メチルシトシンである。化合物Ａの５’－ＯＨは、ジメトキシトリチル（ＤＭＴ）保護基でキャップされる。化合物Ａの連結ヌクレオシドは、固体支持体に結合される。

【０２２４】

２つの２’－β－Ｄ－デオキシリボシルチミジンヌクレオシドを、メシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を介して化合物Ａにつなげた。修飾オリゴヌクレオチドは、ＡＫＴＡ　Ｏｌｉｇｏｐｉｌｏｔ　１０（３５μｍｏｌ規模）で合成した。デオキシＴホスホロアミダイトを１：１のＭｅＣＮ／トルエン（ｖ／ｖ）中に溶解させ、モレキュラーシーブで乾燥させた。トルエン中１５％ＤＣＡを使用して、ＤＭＴ保護基を修飾オリゴヌクレオチド中間体から除去した。３当量のアミダイト及びアミダイトに対して１０当量の活性化剤（アセトニトリル中１Ｍの４，５－ジシアノイミダゾール及び０．１ＭのＮ－メチルイミダゾール）を使用して、デオキシＴホスホロアミダイトをカップリングさせ、カップリング溶液を６分間再循環させた。ＭｅＣＮでフラッシュした後、MsN_3を含む酸化溶液を添加し（２５当量）、２５分間再循環させ、続いてＭｅＣＮで洗浄した。洗浄後、反応混合物をＭｅＣＮ中２０％無水酢酸（キャップＡ）、及びＮ－メチルイミダゾールのＭｅＣＮ／ピリジン溶液（２：５：３ｖ／ｖ／ｖ、キャップＢ）で処理して、あらゆるカップリング不成功物をキャップした。第２のメシル連結チミジンヌクレオシドを組み込むためにこのサイクルを繰り返した。

【０２２５】

修飾オリゴヌクレオチド中間体である化合物Ｂを固体支持体から切断し、標準的技法を使用して脱保護して、最終的な修飾オリゴヌクレオチドを得た。化合物Ｂは、配列（５’から３’）：ＴＴＴＧＧＴＴＡＴＧＡＣＴＣＡ（配列番号２）を有する１５ヌクレオシド長の修飾オリゴヌクレオチドである。化合物Ｂの糖モチーフは、（５’から３’）：ｄｄｄｄｄｄｄｄｄｄｅｅｅｅｅであり、式中、各「ｄ」は、２’－β－Ｄ－デオキシリボシル糖部分を表し、各「ｅ」は、２’－ＭＯＥ糖部分を表す。化合物Ｂのヌクレオシド間結合モチーフは、（５’から３’）：ｚｚｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓｓであり、式中、各「ｓ」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「ｚ」は、メシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を表す。各シトシン残基は、５－メチルシトシンである。

【０２２６】

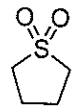
酸化溶液１～５を各々使用して化合物Ｂを別個に合成して、化合物Ｂ１、Ｂ２、Ｂ３、Ｂ４、及びＢ５と類似的に標示される生成物をもたらした。化合物Ｂ１～Ｂ５をＵＶクロマトグラフィー及び液体クロマトグラフィー－質量分析法によって分析した。酸化的メシル化ステップにおいて、酸化溶液２（１：１のトルエン対ＭｅＣＮ中のＴＰＰ）は、反応の完了、及び化合物Ｂ１（対照溶液を使用して合成した）と比較して許容される純度をもたらした。酸化溶液２、３、及び４中で、安定剤は、カップリングに対して有害作用を何ら有しないようであり、メシルアジドを取り扱うことの危険なリスクを低減する可能性がある。

【０２２７】

実施例４：スルホランを安定剤として含むアセトニトリル中のメタンスルホニルアジド溶液の調製

スルホランを安定剤として含む、アセトニトリル中のスルホニル酸化剤MsN_3を含む酸化溶液を調製した。スルホランの構造を下記に示す。

【化３４】



スルホラン

【０２２８】

溶液は、下記に記載される２つの方法を使用して調製した。

【０２２９】

方法１

N_2下でオーバーヘッドスターラー（Ｔｅｆｌｏｎ月形羽根車、ガラスシャフト）を備えた１０００ｍＬの三口丸底フラスコに、NaN_3（７０．５８ｇ、１．０９ｍｏｌ）、及び脱水ＭｅＣＮ（５１７ｍＬ）を充填した。撹拌を室温でＩＫＡオーバーヘッドスターラーにおいて約２．５の設定で開始して、約５分間経ってから、フラスコを氷浴中に浸漬した。メシルクロリド（８０．０ｍＬ、１．０３ｍｏｌ）を、添加漏斗を介して約３０分間にわたって滴加した。メシルクロリドの添加が完了すると、反応物を氷浴から取り出し、室温で一晩撹拌させた。

【０２３０】

^1H　ＮＭＲによるメシルクロリドに対する化学シフト（予想値：３．８ｐｐｍ）の不在に基づいて、反応が完了したことが確認された。MsN_3の濃度は、分析標準として炭酸エチレンを使用した定量ＮＭＲによって２．０８２Ｍであると決定された。

【０２３１】

次いで、反応物をボトルトップフィルターに通して、Ｔｅｆｌｏｎコート磁気撹拌棒を備えた風袋計量済みポリコートガラスボトル中に濾過した。濾過ケークを少量のＭｅＣＮ（約１０ｍＬ）ですすいだ。次いで、融解させたスルホラン（６２１．２８ｇ、５．１７ｍｏｌ）をボトルに充填した。混合物を撹拌し、溶液の質量及び密度を決定し、これを使用して溶液を１０３４ｍＬの総体積までＭｅＣＮで希釈した。

【０２３２】

方法２

N_2下でオーバーヘッドスターラー（Ｔｅｆｌｏｎ月形羽根車、ガラスシャフト）を備えた１０００ｍＬの三口丸底フラスコに、NaN_3（３５．２９ｇ、５４３ｍｍｏｌ）、融解させたスルホラン（２４６ｇ、２．５９ｍｏｌ）、及び脱水ＭｅＣＮ（２７０ｍＬ）を充填した。撹拌を室温でＩＫＡオーバーヘッドスターラーにおいて約２．５の設定で開始して、約５分間経ってから、フラスコを氷浴中に浸漬した。メシルクロリド（４０．０ｍＬ、５１７ｍｍｏｌ）を、添加漏斗を介して約３０分間にわたって滴加した。メシルク

ロリドの添加が完了すると、反応物を氷浴から取り出し、室温で一晩撹拌させた。

【０２３３】

^{1}Ｈ　ＮＭＲによるメシルクロリドに対する化学シフト（予想値：３．８ｐｐｍ）の不在に基づいて、反応が完了したことが確認された。MsN_3の濃度は、分析標準として炭酸エチレンを使用した定量ＮＭＲによって反応混合物中０．９４３Ｍであると決定された。

【０２３４】

次いで、反応物をボトルトップフィルターに通して、風袋計量済みポリコートガラスボトル中に濾過し、さらに希釈することなく保管した。

【０２３５】

実施例５：メシルアジド溶液を使用した酸化的メシル化を介したメシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドの合成

メシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を含む修飾オリゴヌクレオチドは、スルホランを含むアセトニトリル中のMsN_3の溶液を使用して調製した。

【０２３６】

修飾オリゴヌクレオチドは、ポリスチレン系ＮｉｔｔｏＰｈａｓｅ　ＨＬ　ＵｎｙＬｉｎｋｅｒ支持体（４０５μｍｏｌ／ｇ）を使用してＡＫＴＡ　Ｏｌｉｇｏｐｉｌｏｔ　１０（４０μｍｏｌ規模）で合成した。完全に保護されたヌクレオシドホスホロアミダイトを、本明細書において実施例３で上述した標準的な固相修飾オリゴヌクレオチド合成条件を使用して組み込んだ。ＤＮＡアミダイトを１：１のＭｅＣＮ／トルエン中に０．１Ｍで溶解させ、６分間のリサイクリング時間を使用して組み込んだ。ＭｅＣＮ中１Ｍの４，５－ジシアノイミダゾールと０．１ＭのＮ－メチルイミダゾールを活性化剤として使用した。トルエン中１５％ジクロロ酢酸を使用してＤＭＴ保護基を除去した。ＭｅＣＮ中２０％無水酢酸及びＮ－メチルイミダゾール／ピリジン／ＭｅＣＮ（２０：３０：５０）をカップリング不成功物のキャッピングに使用した。

【０２３７】

Ｐ（ＩＩＩ）種の酸化を以下のように実施した：ホスホジエステル結合に対してはピリジン／H_2O（９：１）中０．０５Ｍのヨウ素；またはホスホロチオエート結合に対しては１：１のピリジン：ＭｅＣＮ中０．１Ｍのキサンタンヒドリド。メシルホスホロアミデート結合の組み込みのために、修飾オリゴヌクレオチド中間体を１：１のＭｅＣＮ：スルホラン中０．６５ＭのMsN_3またはＭｅＣＮ中０．６５ＭのMsN_3で処理し、２５分間再循環させた。

【０２３８】

合成の終結後、トルエン中２０％ジエチルアミンを使用してシアノエチル保護基を除去し、残った保護基を、固体支持体を濃アンモニア水中に懸濁させて、５５℃で１４時間加熱することによって切断した。支持体を濾過によって除去し、粗混合物を、精製、脱トリチル化、脱塩を組み合わせた方法を使用してＨＰＬＣによって精製した。塩基性ＲＳＲ（逆相、ＳＡＸ、逆相）法の間、試料は、H_2O中でＲＰカラム（ＤｕＰｏｎｔ　ＸＴ３０）に負荷した。次いで、不成功物の溶出を、１：１（Ａ：８０％ＭｅＯＨ／水、Ｂ：２．５ＭのＮａＣｌ、５０ｍＭのＮａＯＨ）を用いてＲＰカラムで実施した。次いで、ＤＭＴ切断を、６％ＤＣＡを用いてＲＰカラムで実施し、続いて水で洗浄した。次に、脱トリチル化された化合物を、８０％ＭｅＯＨを用いてＳＡＸカラムに負荷した。ＲＰカラムは５０ｍＭのＮａＯＨで平衡化した。次いで、ＳＡＸ勾配を、Ａ及びＢ緩衝液（Ａ：５０ｍＭのＮａＯＨ、Ｂ：５０ｍＭのＮａＯＨ、２．５ＭのＮａＣｌ）を用いて０から５０％で実施した。ひとたびＵＶ吸光度の閾値に達すると、化合物を次いでＲＰカラムに負荷し直した。カチオン交換のためにＮａＣｌ（２５０ｍＭ）をＲＰカラムに通してフラッシュし、脱塩のために水をカラムに流し、最終化合物を１：１のＭｅＣＮ：水で溶出した。

【０２３９】

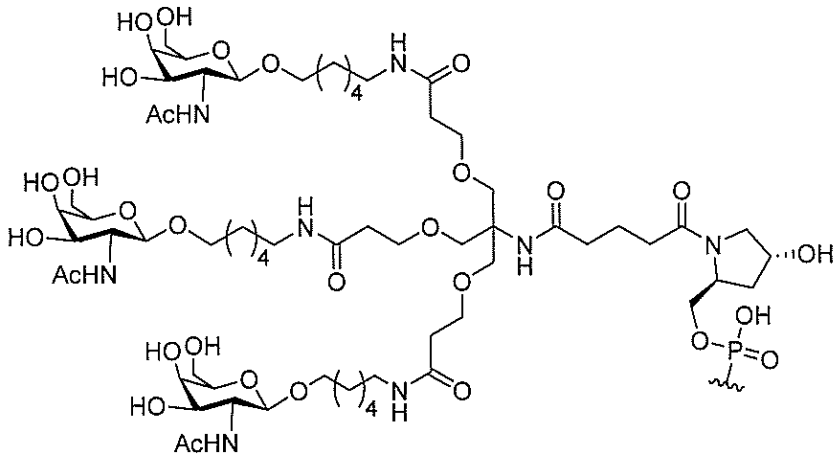
スルホランあり及びなしでの合成後の生成物純度の比較

本明細書で上述した標準的技法を使用して、修飾オリゴヌクレオチド化合物１６３３４７５をスルホランあり及びなしで合成し、各ロットをロットの純度に関して分析した。

【０２４０】

化合物１６３３４７５は、核酸塩基配列（５’から３’）：ＧＣＡＴＧＴＴＣＴＣＡＣＡＴＴＡ（配列番号３）を有する１６ヌクレオシド長の修飾オリゴヌクレオチド中間体である。化合物１６３３４７５の糖モチーフは、（５’から３’）：ｋｋｋｄｄｄｄｄｄｄｄｄｄｋｋｋであり、式中、各「ｄ」は、２’－β－Ｄ－デオキシリボシル糖部分を表し、各「ｋ」は、ｃＥｔ糖部分を表す。化合物１６３３４７５のヌクレオシド間結合モチーフは、（５’から３’）：ｓｓｓｚｚｚｚｓｓｓｓｓｓｓｓであり、式中、各「ｓ」は、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合を表し、各「ｚ」は、メシルホスホロアミデートヌクレオシド間結合を表す。各シトシン残基は、５－メチルシトシンである。化合物１６３３４７５は、下記に示されるように、ホスホジエステル結合を介して修飾オリゴヌクレオチドの３’末端の酸素にコンジュゲートされた３ＴＨＡＧＮｈｐ部分をさらに含有する。

【化３５】



３ＴＨＡＧＮｈｐ

【０２４１】

各修飾オリゴヌクレオチドのロットの試料を、およそ１ｍｇ／ｍＬの濃度でH_2O中０．０１％のトリエチルアミン中で作製した。試料を、エレクトロスプレー質量分析計にインターフェースで接続された、バイナリポンプ、オンラインデガッサ、加熱カラムチャンバ、オートサンプラ、及び多波長ＵＶ検出器を装備したＡｇｉｌｅｎｔ　１２００シリーズにおいてイオン対ＨＰＬＣ／質量分析法（ＩＰ－ＨＰＬＣ／ＭＳ）によって分析した。分析は、Ｗａｔｅｒｓ（Ｍｉｌｆｏｒｄ，ＭＡ，ＵＳＡ）ＸＢｒｉｄｇｅ（商標）ＨＰＬＣカラム（１８Ｃ、３．５μｍ、２．１×１５０ｍｍ、Ｗａｔｅｒｓ　Ｐ／Ｎ１８６００３０２３）を使用して実施した。１０％アセトニトリル中５ｍＭの酢酸トリブチルアンモニウムと１μＭのＥＤＴＡ（移動相Ａ）及び８０％アセトニトリル中５ｍＭの酢酸トリブチルアンモニウムと１μＭのＥＤＴＡ（移動相Ｂ）の線形勾配を、下記の表に記載されるように使用した。

【表３】

表３

ＨＰＬＣ線形勾配、流量：０．２５ｍＬ／分

時間(分)	移動相A(%)	移動相B(%)
0	55	45
22	20	80
25	20	80
26	55	45

【０２４２】
カラム溶出液のＵＶ吸光度は、４００ｎｍの基準波長を使用して、２６０ｎｍで測定した。カラム溶出液はＥＳＩ－ＭＳに直接導入した。ＥＳＩ源はネガティブモードで操作し、走査質量シグナル（ｍ／ｚ）範囲は（全長生成物質量）／４±１５０．０であった。キャピラリー電圧＝４０００Ｖ、乾燥ガス温度＝２６０℃、乾燥ガス流量＝１２Ｌ／分、ネブライザー圧力＝２５ｐｓｉ、フラグメンター電圧＝１００Ｖ。
【０２４３】
ＵＶ純度を算出するために、２６０ｎｍでの全長生成物（主ＵＶピーク）、早期に溶出する不純物、及び後期に溶出する不純物のＵＶピークを特定し、ＯｐｅｎＬａｂ ＣｈｅｍＳｔａｔｉｏｎバージョンＣ．０１．０９で積分した。主ＵＶピークの面積を２６０ｎｍでの全てのピークの面積の和に対して正規化し、これをＵＶ純度（％）として下記の表に提示する。ＭＳ純度を算出するために、全長生成物のｍ／ｚ及び全ての不純物のｍ／ｚを主ＵＶピーク内で特定した。各構成成分の質量シグナルについてのイオンクロマトグラムを抽出し、積分した。全長生成物のシグナルの面積を構成成分のシグナルの和に対して正規化し、これをＭＳ純度（％）として下記に提示する。各表は、異なる分析を代表する。
【０２４４】
１．５Ｍのスルホランありまたはなしでの$MeCN$中０．６５ＭのMsN_3を使用した化合物１６３３４７５の合成は、類似の品質の修飾オリゴヌクレオチドを生成した。ＵＶ及びＭＳ純度を表４に提供する。使用した合成条件は、MsN_3酸化溶液を保持する溶媒を除いて同じであった。
【表４】

表４
ＵＶ及び質量分析法によって分析した、１．５Ｍのスルホランあり及びなしで合成された化合物１６３３４７５の純度比較（２つのロットの平均）

分析	スルホランなし	1.5Mのスルホラン
UV純度(%)	88	87
MS純度(%)	76	79

【０２４５】
実施例６：スルホランの存在下でのメシルアジドの熱力学的分析
スルホランによって安定化された酸化溶液MsN_3を、標準ＤＳＣプロトコルを使用してＮａｌａｓ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（ｎａｌａｓｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ．ｃｏｍ／ｐｒｏｃｅｓｓ－ｓｃａｌｅ－ｕｐ）によって試験した。
【０２４６】
各溶液の一部分を室温で一晩蒸発させて、残渣をもたらし、それをＤＳＣ試験で使用した。分析は、ＤＳＣ２５（Ｗａｔｅｒｓ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）を使用して実施した。試験試料を、密封された高圧金るつぼに装入した。同型の空るつぼを基準として使用した。試料及び基準るつぼを炉に入れ、それを３０℃の開始温度まで加熱した。るつぼが炉と平衡化した時点で、それらを５℃／分の一定速度で５００℃まで加熱した。試料るつぼ及び基準るつぼからの熱流を試験全体にわたって記録し、ＴＲＩＯＳソフトウェアを使用して分析した。結果をエネルギー流として下記の表に提示し、事象が発熱（エンタルピーにおける負の変化）または吸熱（エンタルピーにおける正の変化）として提示される。３００Ｊｇ$^{-1}$超の分解エネルギーは、高エネルギー性材料を示し、５００Ｊｇ$^{-1}$超の分解エネルギーは、材料が爆発特性を有する可能性があることを示唆する。下記の表に示されるように、スルホランを含有する残渣は、純MsN_3よりも低い燃焼エネルギーを有する。

【表５】

表５：スルホランによって安定化されたＭｓＮ$_3$のＤＳＣ結果

材料	事象	エネルギー流(J g^{-1})	開始温度(℃)
純MsN_3	発熱	2083	100.8℃
MeCN中1.1MのMsN_3、4.4Mのスルホラン溶液	発熱	463	138.4℃

【０２４７】

実施例７：スルホランの存在下でのメシルアジドの衝撃感度分析

スルホランによって安定化されたＭｓＮ$_3$の酸化溶液を、衝撃感度に対する標準プロトコルを使用してＮａｌａｓ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（ｎａｌａｓｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ．ｃｏｍ／ｐｒｏｃｅｓｓ－ｓｃａｌｅ－ｕｐ）によって試験した。簡潔に述べると、材料の試料をＢＡＭ　Ｆａｌｌ　Ｈａｍｍｅｒ　Ａｐｐａｒａｔｕｓに配置し、種々のエネルギー量で衝撃を加えた。制限衝撃エネルギーを決定するために、試料を発火、火炎、または爆発に関して観察した。スルホランを含むＭｓＮ$_3$、及び純ＭｓＮ$_3$の観察を下記の表に提示する。

【０２４８】

衝撃試験により、ＭｓＮ$_3$：スルホランの約１：１（ｗ／ｗ）混合物は、ＭｓＮ$_3$の爆発特性を軽減するようである。

【表６】

表６：スルホランの存在下でのＭｓＮ$_3$に対する衝撃試験の結果

材料	メシルアジド(重量%)	衝撃エネルギー(J)	観察
純MsN_3	>99.0	<1	爆発 (発火、発煙、臭気)
MsN_3/スルホラン	46.5	2.5	全てのレベルで軽度の反応、5J及び10Jで分解 (臭気)

【配列表】

<u>２０２４５２７５４２０００００１．ａｐｐ</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/35539

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC - INV. C12N 15/10, C12N 15/113, C07H 21/00; ADD. C12N 15/11 (2022.01)
CPC - INV. C12N 15/10, C12N 15/113, C07H 21/00; ADD. C12N 15/11

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MIROSHNICHENKO et al. "Mesyl phosphoramidate antisense oligonucleotides as an alternative to phosphorothioates with improved biochemical and biological properties", PNAS. 2019. vol. 116, no. 4, pp 1229-1234, especially: pg 1230, col 2, para; pg 1230, Fig. 1A, mu-ODN.	1-4
A	PATUTINA et al. "Mesyl phosphoramidate backbone modified antisense oligonucleotides targeting miR-21 with enhanced in vivo therapeutic potency", PNAS. 2020. vol. 117, no. 51, pp 32370-32379, especially: pg 32371, Fig. 1A, mesylphosphoramidate; pg 32377, col 1, para 3.	1-4
A	YAMANA et al. "2'-Pyrene modified oligonucleotide provides a highly sensitive fluorescent probe of RNA", Nucleic Acids Research. 1999. Vol. 27, No. 11 2387-2392, especially: abstract; pg 2388, col 1, para 3; pg 2388, col 1, para 4.	1-4
P/X	US 2022/0186222 A1 (IONIS PHARMACEUTICALS INC) 16 June 2022 (16.06.2022), entire document.	1-4

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
28 October 2022	NOV 18 2022
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Kari Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/35539

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/35539

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☒ Claims Nos.: 5-19, 23-41 and 46-54
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(see extra sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-4

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 22/35539

--Box III - Lack of Unity--

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I: Claims 1-4, directed to a method of preparing a modified oligonucleotide comprising contacting a first oligonucleotide intermediate having a phosphite triester internucleoside linkage with at least one stabilizing agent and with an oxidizing solution comprising a sulfonyl oxidizing agent to form a second oligonucleotide intermediate having an internucleoside linking group of Formula XIV.

Group II: Claims 20-22, directed to a method of synthesizing a modified oligonucleotide comprising at least one internucleoside linkage of Formula I.

Group III: Claims 42-45, directed to a stabilized composition comprising or consisting essentially of methanesulfonyl azide and sulfolane.

The inventions listed as Groups I, II, and III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features

Group I requires a method of preparing a modified oligonucleotide comprising contacting a first oligonucleotide intermediate having a phosphite triester internucleoside linkage with at least one stabilizing agent and with an oxidizing solution comprising a sulfonyl oxidizing agent to form a second oligonucleotide intermediate having an internucleoside linking group of Formula XIV, which is not required by Groups II-III.

Group II requires a method of synthesizing a modified oligonucleotide comprising at least one internucleoside linkage of Formula I, which is not required by Group I or Group III.

Group III requires a stabilized composition comprising or consisting essentially of methanesulfonyl azide and sulfolane, which is not required by Groups I-II.

Shared Common Features

The only feature shared by Groups I and II that would otherwise unify the groups is a method of synthesizing a modified oligonucleotide. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art, because the shared technical feature is anticipated by the article entitled "2'-Pyrene modified oligonucleotide provides a highly sensitive fluorescent probe of RNA" by Yamana et al. (hereinafter 'Yamana').

Yamana teaches a method of synthesizing a modified oligonucleotide (abstract, Oligonucleotide 9mers containing 2'-O-(1-pyrenylmethyl)uridine [U(pyr)] at the center position were synthesized by using a protected U(pyr) phosphoramidite. The UV melting behaviors indicate that the pyrene-modified oligonucleotides can bind to both their complementary DNA and RNA in aqueous solution; see also p 2388, col 1, para 3, Synthesis of 54-O-dimethoxytrityl-24-O-(1- pyrenylmethyl)-uridine-34-O-(2-cyanoethyl)-N,N-diisopropylphosphoramidite (54-DMT-U(pyr) amidite)).

As the technical features were known in the art at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups. Groups I, II, and III therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Cont. of item 4: Claims 5-19, 23-41 and 46-54 are unsearchable because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IQ,IR,IS,IT,JM,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）

１．ＴＥＦＬＯＮ

弁理士　泉谷 玲子

(72)発明者　ロドリゲス，アンドリュー・エイ

アメリカ合衆国カリフォルニア州９２０１０，カールズバッド，ガゼル・コート ２８５５

Ｆターム（参考）　4C057　AA18 BB02 BB05 BB10 DD01 MM01 MM04 MM05 MM10