

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-520201

(P2023-520201A)

(43)公表日 令和5年5月16日(2023.5.16)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 H 19/06 (2006.01)	C 0 7 H 19/06	4 C 0 5 7
C 0 7 H 1/00 (2006.01)	C 0 7 H 1/00	C S P
C 0 7 H 19/16 (2006.01)	C 0 7 H 19/16	
C 0 7 H 21/00 (2006.01)	C 0 7 H 21/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全84頁)

(21)出願番号	特願2022-559478(P2022-559478)	(71)出願人	507042604
(86)(22)出願日	令和3年3月30日(2021.3.30)		ヤンセン バイオファーマ インク.
(85)翻訳文提出日	令和4年11月21日(2022.11.21)		アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォル
(86)国際出願番号	PCT/IB2021/052595		ニア州 サウス サン フランシスコ イー
(87)国際公開番号	WO2021/198883		スト グランド アベニュー 2 6 0 2階
(87)国際公開日	令和3年10月7日(2021.10.7)	(74)代理人	100092783
(31)優先権主張番号	63/003,067		弁理士 小林 浩
(32)優先日	令和2年3月31日(2020.3.31)	(74)代理人	100120134
(33)優先権主張国・地域又は機関			弁理士 大森 規雄
	米国(US)	(74)代理人	100110663
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		弁理士 杉山 共永
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(	(72)発明者	ジョン, ミンホン
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 4
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		0 8 0, サウス サン フランシスコ, グ
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		ランド アベニュー 2 6 0 イー., ヤ
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 オリゴヌクレオチド及び関連化合物の合成

(57)【要約】

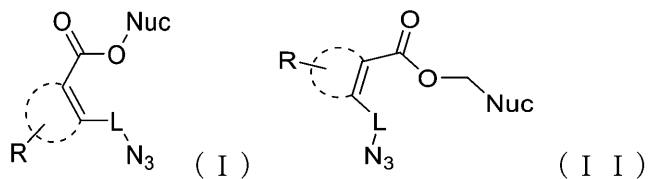
アジドメチル部分を有する切断可能な支持体上で、新しい中間体を介してオリゴヌクレオチドを合成する方法が開示される。本方法は、複数の反応サイクルを含み、これらの各々は、ヌクレオシド又はオリゴヌクレオチドサブユニットを、アジドメチル部分及びヌクレオシドホスホロアミダイト又はオリゴヌクレオチドホスホロアミダイトを有する切断可能な支持体上で逐次カップリングすること、キャッピングすること、酸化／チオール化 (thiolation) すること、及びデブロッキングすること、続いて、全ての他の保護基を未変化に保ちながら、アジドメチル支持体を直交切断することを含む。本方法は、固相又は液相のいずれかのオリゴ合成のための支持体部分と組み合わせて使用することができる。可溶性支持体は、均質な反応及び単純な沈殿による効率的な分離を容易にする。本方法はまた、オリゴヌクレオチドコンジュゲートの合成に有用な新規の中間体を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) 若しくは (II)

【化 1】



10

によって表される化合物、又はその塩であって、式中、

Nuc が、モノマーヌクレオシド若しくはヌクレオチド、又はオリゴマーヌクレオシド若しくはヌクレオチドであり、

L が、ハロゲンから選択される 1 つ又は 2 つ以上の置換基で任意選択的に置換された C₁ ~ C₄ アルキルであり、

破線曲線

【化 2】



20

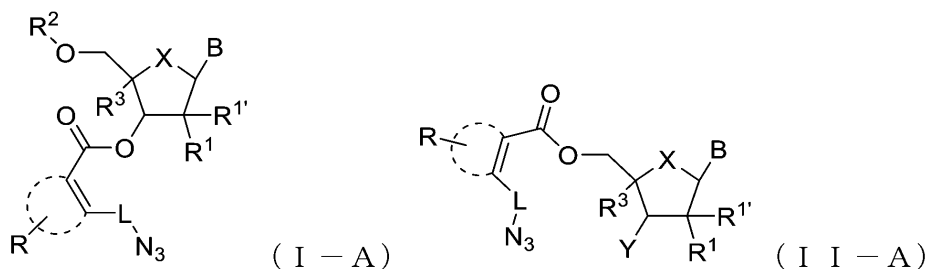
が、環状部分を表し、

R が、1 つ又は 2 つ以上のリンカーを介して前記環状部分に任意選択的に結合された支持体部分である、化合物。

【請求項 2】

式 (I-A) 若しくは (II-A)

【化 3】



30

の構造を有するか、又はその塩であり、式中、

X が、O、S、NR'、及び C (R₂ から選択され、

Y が、OH、OR'、OPG、NHPG、及び NHR' から選択され、

B が、任意選択的に保護された核酸塩基であり、

R¹ 及び R^{1'} が、H、OPG、F、OR'、及び O (CR₂)₁₋₂ OCR₃ から独立して選択され、

40

R² が、H、低級アルキル、低級ハロアルキル、PG、任意選択的に保護されたヌクレオチド、プロドラッグ部分、及び任意選択的に保護されたオリゴヌクレオチドから選択され、

R³ が、H、OPG、F、及び OR' から選択されるか、又は R¹ 及び R³ が一緒に、任意選択的に置換された 2 ~ 4 個の原子架橋を形成し、

R' が、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

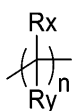
R'' が、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PG が、保護基である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

50

L が、
【化 4】



の構造を有し、式中、R x 及び R y が、H、Me、Et、Pr、及び Bu からなる群から独立して選択されるか、又は R x、C、及び R y が一緒に、4～6 員環を形成し、n o が、1～4 の整数である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

L が、メチレンである、請求項 1 に記載の化合物。

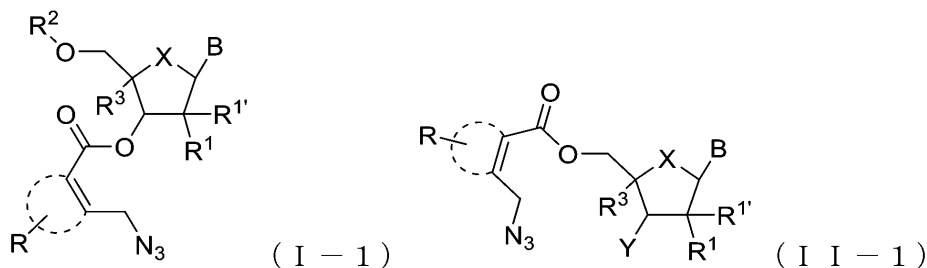
【請求項 5】

L が、エチレンである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

式 (I-1) 若しくは (II-1)

【化 5】



の構造を有するか、又はその塩である、請求項 1 に記載の化合物。

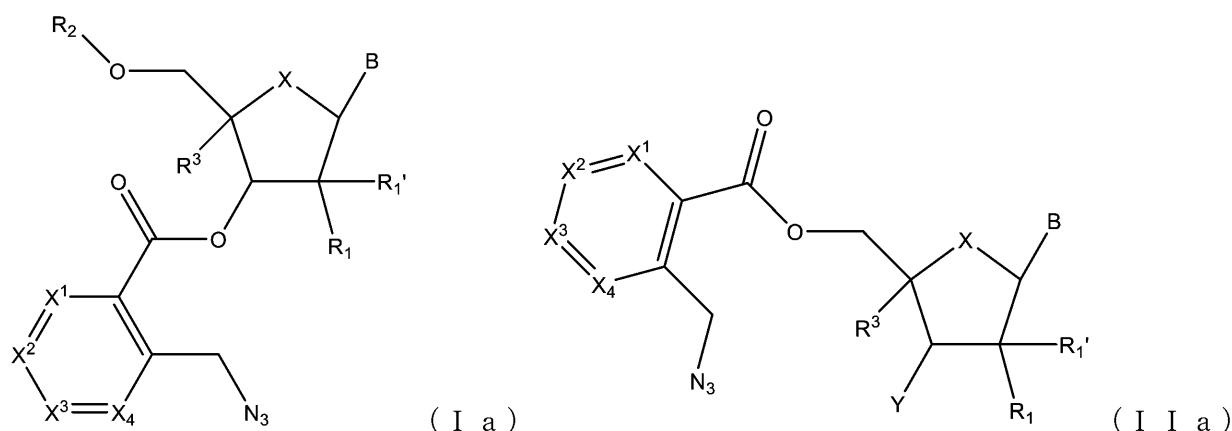
【請求項 7】

前記支持体部分が、固体支持体部分又は可溶性支持体部分である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 8】

前記化合物が、式 (Ia) 又は (IIa) によって表され、

【化 6】



式中、

X¹、X²、X³、及び X⁴ が、CR、CR⁴、及び N から独立して選択され、

X¹、X²、X³、及び X⁴ のうちの少なくとも 1 つが、CR であり、2 つの隣接する X¹、X²、X³、及び X⁴ が、任意選択的に、置換された環を形成し、

R⁴ が、H、アルキル、アルコキシル、アリール、ハロゲン化物、NO₂、及び置換カルボニルから独立して選択される、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 9】

X が、O であり、 R^1 が、F 又は OR' ' であり、 R' が、H である、請求項 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の化合物。

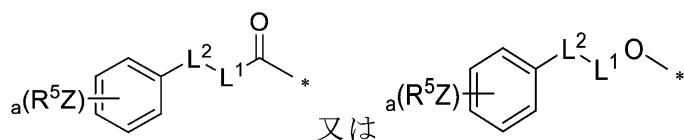
【請求項 10】

R が、1 つ又は 2 つ以上のリンカーを介して任意選択的に結合された可溶性支持体部分である、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 11】

R が、

【化 7】



10

によって表され、

式中、

L^1 が、結合、任意選択的に置換された C 1 ～ 6 アルキレン基、任意選択的に置換された C 2 ～ 6 アルケニレン基、任意選択的に置換された C 2 ～ 6 アルキニレン基、任意選択的に置換されたシクロアルキル基、任意選択的に置換された C 6 ～ 10 アリール、任意選択的に置換された 5 ～ 10 員ヘテロアリール、及び任意選択的に置換された 4 ～ 8 員複素環式基から選択され、

20

L^2 が、単結合、-O-、又は-N(R')-、及びC(O)から選択され、

各 Z が、O、NR' '、及び結合から独立して選択され、

各 R^5 が、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、及びエチレングリコール基から独立して選択され、

a が、1 ～ 3 の整数である、請求項 1 ～ 10 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 12】

L^1 が、飽和複素環式基である、請求項 11 に記載の化合物。

【請求項 13】

L^2 が、C(O) である、請求項 11 又は 12 に記載の化合物。

【請求項 14】

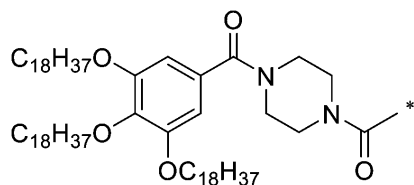
a が、3 であり、Z が、O であり、 R^5 が、C₁₀₋₄₀ アルキル基である、請求項 11 ～ 13 のいずれか一項に記載の化合物。

30

【請求項 15】

R が、

【化 8】



40

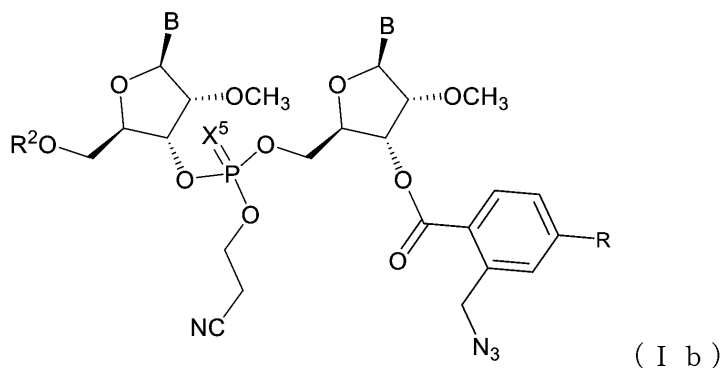
によって表される、請求項 1 ～ 14 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 16】

前記化合物が、以下の式 (I b)

50

【化 9】



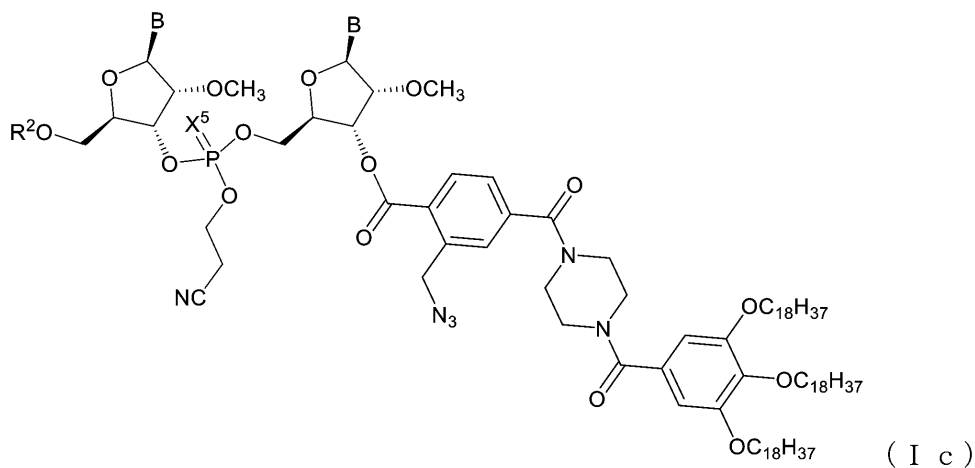
10

によって表され、式中、 X^5 が、存在しないか、O、又はSである、請求項 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 17】

前記化合物が、以下の式 (I c) によって表され、

【化 10】



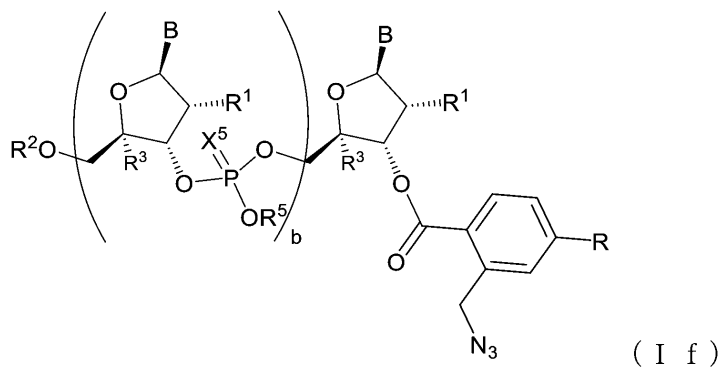
20

式中、 X^5 が、存在しないか、O、又はSである、請求項 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 18】

前記化合物が、以下の式 (I f) によって表され、

【化 11】



40

式中、 X^5 が、存在しないか、O、又はSであり、

R^2 が、H又はPであり、

R^5 が、対イオン、メチル、及び2-シアノエチルから選択され、

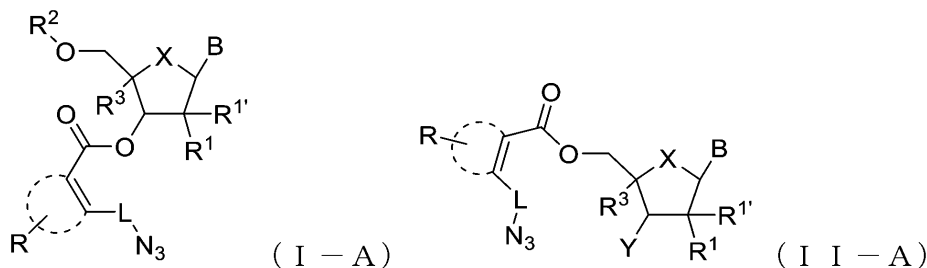
b が、1 ～ 30 の整数である、請求項 1 ～ 15 のいずれか一項に記載の化合物。

50

【請求項 19】

保護された核酸塩基を有する式 (I-A) 若しくは (II-A)

【化 12】



10

によって表されるオリゴマー、又はその塩を選択的にコンジュゲートする方法であって、式中、

Xが、O、S、NR'、及びC(R₂)から選択され、

Bが、保護された核酸塩基であり、

R¹及びR^{1'}が、H、OPG、F、OR'、及びO(CR₂)₁₋₂OCR₃から独立して選択され、

R²が、保護された天然又は非天然の核酸塩基を含む5'の位置で保護されるオリゴヌクレオチドであり、

R³が、H、OPG、F、及びOR'から選択されるか、又はR¹及びR³と一緒に、任意選択的に置換された2～4個の原子架橋を形成し、

R'が、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R'が、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PGが、保護基であり、

Yが、OH、OR'、OPG、NHPG、及びNHR'から選択され、Lが、ハロゲンから選択される1つ又は2つ以上の置換基で任意選択的に置換されたC₁₋₄アルキルであり、

20

破線曲線

【化 13】



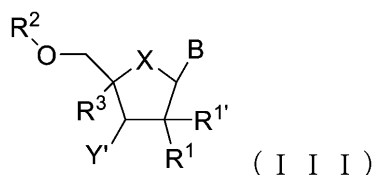
30

が、環状部分を表し、

Rが、1つ又は2つ以上のリンカーを介して前記環状部分に任意選択的に結合された支持体部分であり、前記方法が、

(a) 保護された核酸塩基を有する式 (I-A) 又は (II-A) によって表されるオリゴマーを反応させて、以下の式 (I I I)

【化 14】



40

(式中、Bが、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、Y'が、OH、OR'、又はNHR'であり、R'が、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択される)を形成することと、

(b) 3'の位置で前記式 (I I I) の化合物を反応させて、第2の化合物への新しい共有結合を形成することと、を含む、方法。

50

【請求項 20】

L が、メチレンである、請求項 19 に記載の方法。

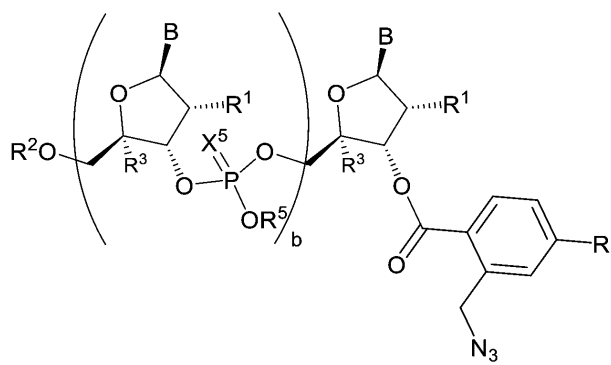
【請求項 21】

L が、エチレンである、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 22】

前記式 (I-A) の化合物が、以下の式 (If) によって表され、

【化 15】



10

式中、 X^5 が、O 又は S であり、

R^2 が、PG であり、

R^5 が、対イオン、メチル、及び 2-シアノエチルから選択され、

b が、1～30 の整数である、請求項 19 に記載の方法。

20

【請求項 23】

工程 (B) が、前記 3' の位置で前記式 (III) の化合物を反応させて、前記第 2 の化合物と共有結合を形成することを含む、請求項 19～22 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

工程 (B) が、前記 3' の位置で前記式 (III) の化合物を保護基と反応させ、続いて、前記化合物を前記 5' の位置で脱保護し、前記得られた化合物を前記 5' の位置で反応させて、前記第 2 の化合物と共有結合を形成することを含む、請求項 19～22 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 25】

前記第 2 の化合物が、ヌクレオチド又はオリゴヌクレオチドである、請求項 19～24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

前記核酸塩基を脱保護する工程を更に含む、請求項 19～24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

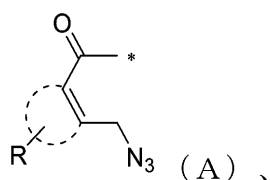
第 1 のヌクレオシドサブユニット及びヌクレオシドホスホロアミダイトをカップリングする方法であって、

40

(a) 前記第 1 のヌクレオシドサブユニットを、前記ヌクレオシドホスホロアミダイトと反応させることを含み、

前記第 1 のヌクレオシドサブユニットが、以下の部分 (A) に共有結合しており、

【化 16】



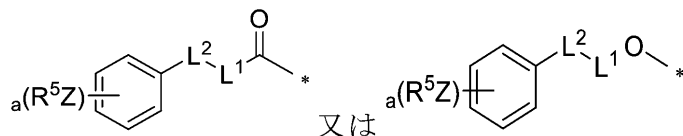
50

式中、R が、1つ又は2つ以上のリンカーを介して前記環状部分に任意選択的に結合された支持体部分であり、破線が、追加の結合を表し、* が、前記部分が前記第1のヌクレオシドに結合される点を表す、方法。

【請求項28】

R が、

【化17】



10

によって表され、

式中、

L¹ が、結合、任意選択的に置換されたC1～6アルキレン基、任意選択的に置換されたC2～6アルケニレン基、任意選択的に置換されたC2～6アルキニレン基、任意選択的に置換されたシクロアルキル基、任意選択的に置換されたC6～10アリール、任意選択的に置換された5～10員ヘテロアリール、及び任意選択的に置換された4～8員複素環式基から選択され、

L² が、単結合、-O-、又は-N(R')-、及びC(O)から選択され、

各Z が、O、NR'', 及び結合から独立して選択され、

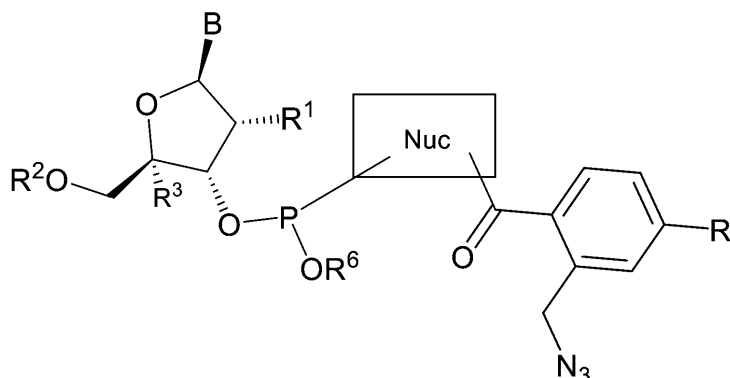
各R⁵ が、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、及びエチレングリコール基から独立して選択され、

a が、1～3の整数である、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

前記得られたカップリングされたヌクレオシドが、以下の構造を有し、

【化18】



30

式中、Nuc が、1～30個の連結されたヌクレオシドを有するオリゴヌクレオチドサブユニットであり、

B が、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、

R¹ が、H、OPG、F、OR'', 及びO(CR')₁₋₂OCR'₃から選択され、

R² が、H及びPGから選択され、

R³ が、H、OPG、F、及びOR''から選択されるか、又はR²及びR³と一緒に、任意選択的に置換された2～4個の原子架橋を形成し、

R' が、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R'' が、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PG が、保護基であり、

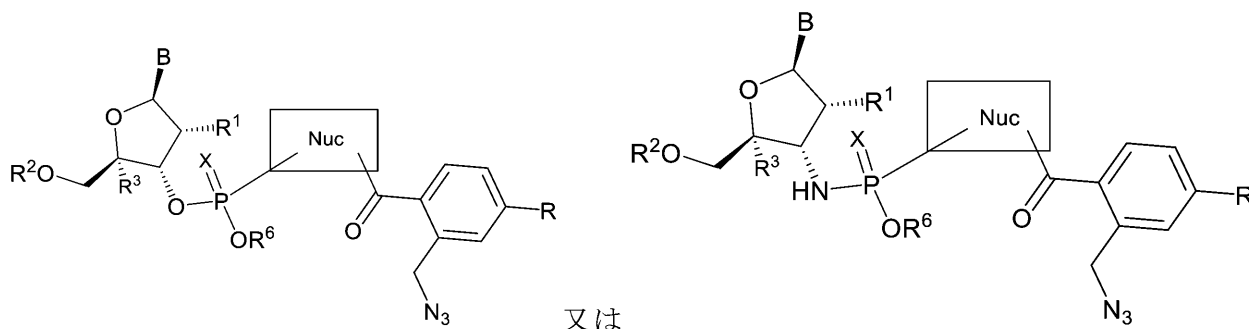
R⁶ が、対イオン、メチル、及び2-シアノエチルから選択される、請求項27又は28に記載の方法。

50

【請求項 30】

以下の式

【化 19】



10

の化合物であって、

式中、

Nuc が、1～30個の連結されたヌクレオシドを有するオリゴヌクレオチドサブユニットであり、

B が、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、

X が、存在しないか、O、又はSであり、

R¹ が、H、OPG、F、OR'、及びO(CR')₁₋₂から選択され、

R² が、H及びPGから選択され、

R³ が、H、OPG、F、及びOR'から選択されるか、又はR¹及びR³と一緒に、任意選択的に置換された2～4個の原子架橋を形成し、

R' が、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R' が、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PG が、保護基であり、

R⁶ が、対イオン、メチル、及び2-シアノエチルから選択され、

R が、1つ又は2つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された固体支持体部分又は可溶性支持体部分である、化合物。

20

30

【請求項 31】

前記支持体部分を除去するデカップリング工程を更に含む、請求項19～29のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 32】

前記デカップリング工程が、トリ（シクロヘキシル）ホスフィン又はトリフェニルホスフィンを添加することを含む、請求項31に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

（優先出願の参照による組み込み）

2020年3月31日に提出された米国特許仮出願第63／003，067号を含む、外国又は国内の優先権主張の対象である全てのいかなる出願も、例えば、本出願と共に提出された、出願データシート又は依頼届において特定されており、これらの出願は、米国特許法施行規則1.57、並びに条約規則4.18及び20.6に基づき、参照によって本明細書に組み込まれる。

40

【0002】

（発明の分野）

本開示は、アジドメチル部分を有する切断可能な支持体を介したオリゴヌクレオチドの合成に関する。本開示はまた、オリゴヌクレオチドの合成に有用な新規の中間体を含む。

【背景技術】

50

【0003】

背景の以下の説明は、単に本開示を理解する助けとして提供され、本開示の先行技術を説明又は構成することを容認するものではない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

オリゴヌクレオチドは、重要な診断及び治療用途を有することが既知である。現在、オリゴヌクレオチドは、自動固相合成を使用して生成されることが多く、経済的な大規模なオリゴ合成の開発は、医薬産業にとって重要な問題である。いくつかの方法は、オリゴ合成プロセスの精製及び伸長工程を容易にするために、ヌクレオチドを支持体に固着させることを伴う。しかしながら、支持体の除去は、多くの場合、オリゴ上の重要な保護基の喪失をもたらす。加えて、オリゴヌクレオチド合成のための多くの方法は、超過の高価な試薬を必要とすることが多く、規模を拡大することが困難である。したがって、合成中に安定であるが、穏やかな条件下で除去することができる改善された支持体を含む、オリゴヌクレオチドを合成するための改善された方法を開発する必要性が存在する。

10

【課題を解決するための手段】

【0005】

アジドメチル部分を有する切断可能な支持体上で、新しい中間体を介してオリゴヌクレオチドを合成する新規の方法が本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、方法は、複数の反応サイクル（例えば、4反応サイクル）を含み、これらの各々は、ヌクレオシド又はオリゴヌクレオチドサブユニットを、アジドメチル部分及びヌクレオシドホスホロアミダイト又はオリゴヌクレオチドホスホロアミダイトを有する切断可能な支持体上で逐次カップリングすることと、カップリングすることと、酸化／チオール化（thiolation）することと、デブロッキングすることと、続いて、全ての他の保護基を未変化に保ちながら、アジドメチル支持体を直交切断することと、を含む。本方法は、固相又は液相のいずれかのオリゴ合成のための支持体部分と組み合わせて使用することができる。可溶性支持体は、均質な反応及び単純な沈殿による効率的な分離を容易にする。本方法はまた、オリゴヌクレオチドコンジュゲートの合成に有用な新規の中間体を提供する。

20

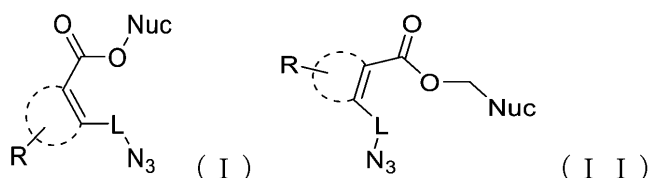
【0006】

いくつかの実施形態は、式（I）又は（II）

30

【0007】

【化1】



によって表される化合物、又はその塩（式中、

Nuc は、モノマーヌクレオシド若しくはヌクレオチド、又はオリゴマーヌクレオシド若しくはヌクレオチドであり、

40

L は、ハロゲンから選択される1つ又は2つ以上の置換基で任意選択的に置換されたC₁～4アルキルであり、

破線曲線

【0008】

【化2】



は、環状部分を表し、

50

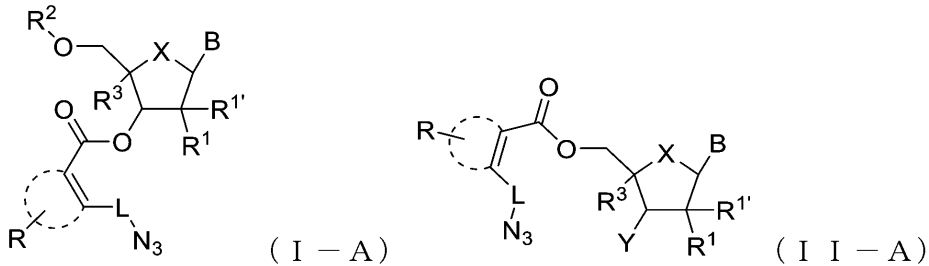
Rは、1つ又は2つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された支持体部分である)に関する。

【0009】

いくつかの実施形態は、保護された核酸塩基を有する式(I-A)又は(II-A)

【0010】

【化3】

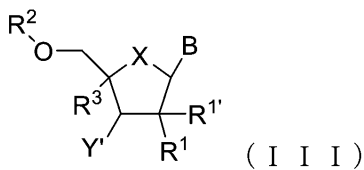


10

によって表されるオリゴマーを選択的にコンジュゲートし、(a) 保護された核酸塩基を有する式(I-A)又は(II-A)によって表されるオリゴマーを反応させて、以下の式(III)

【0011】

【化4】



20

(式中、Bは、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、Y'は、OH、OR'', 又はNHR''であり、R''は、H、アリール、低級アルキル、及びC₆ハロアルキルから独立して選択される)を形成し、

(b) 3'の位置で式(III)の化合物を反応させて、第2の化合物への新しい共有結合を形成する方法に関する。

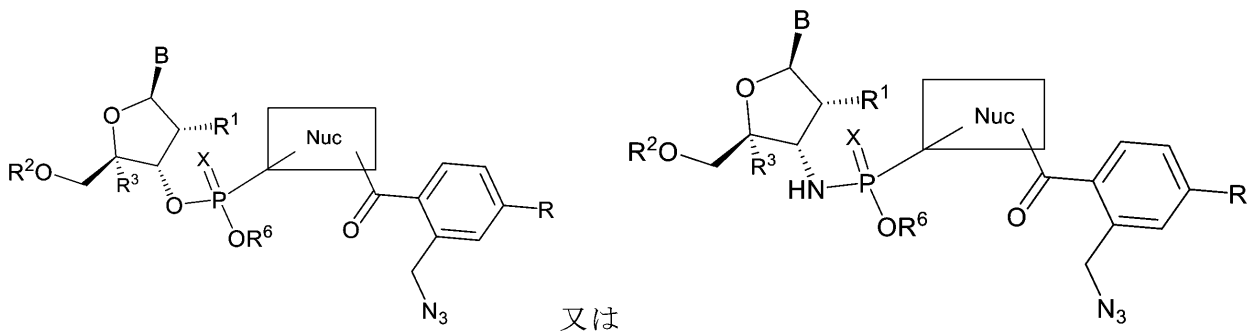
30

【0012】

いくつかの実施形態は、以下の式

【0013】

【化5】



40

の化合物

(式中、

Nucは、1~30個の連結されたヌクレオシドを有するオリゴヌクレオチドサブユニットであり、

Bは、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、

Xは、存在しないか、O、又はSであり、

50

R^1 は、H、OPG、F、 OR'' 、及び $O(CR')_1 - 2 O C R'_3$ から選択され、

R^2 は、H 及び PG から選択され、

R^3 は、H、OPG、F、及び OR'' から選択されるか、又は R^1 及び R^3 は一緒に、任意選択的に置換された 2 ~ 4 個の原子架橋を形成し、

R' は、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R'' は、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PG は、保護基であり、

R^6 は、対イオン、メチル、及び 2-シアノエチルから選択され、

R は、1 つ又は 2 つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された固体支持体部分又は可溶性支持体部分である) に関する。

10

【発明を実施するための形態】

【0014】

アンチセンス、アプタマー、siRNA、及びmiRNAなどの様々な種類のオリゴヌクレオチド治療薬における最近の進歩により、経済的な及び／又は大規模な生産の需要が増加している。本明細書に記載の方法は、固相及び液相オリゴヌクレオチド合成の両方のための実行可能なアプローチを提供する。本明細書に記載の合成方法及び化合物は、可溶性支持体又は固体支持体と共に使用することができる。特に、本明細書に記載の方法が可溶性支持体と共に使用される場合、得られた液相の合成アプローチは、不均一な反応物の使用を回避し、製造コストを低減し、したがって大規模な生産に対する効率的なアプローチを提供することができる。

20

【0015】

本明細書に記載の方法は、3' 及び／又は 5' 置換されたヌクレオチド及びオリゴヌクレオチドを選択的に調製するために使用することができる。本明細書に記載の合成方法を使用する別の利点は、ヌクレオシド及び垂リン酸骨格上の保護基が未変化のままであり得、保護基が、支持体の除去に使用されるものとは異なる条件下で選択的に切断され得ることにある。ヌクレオチドの 3' 及び／又は 5' の位置での選択的修飾及びヌクレオチド上の保護基の選択的除去は、以下により詳細に記載される。

【0016】

合成中間体

本開示は、新規の中間体を介してオリゴヌクレオチドを合成する方法を提供する。

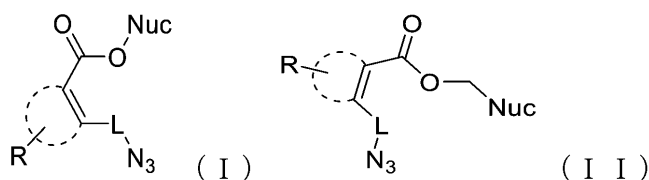
30

【0017】

合成中間体であり得る本開示の化合物は、式 (I) 又は (II)

【0018】

【化 6】



40

によって表される化合物、又はその塩 (式中、

Nuc は、モノマーヌクレオシド若しくはヌクレオチド、又はオリゴヌクレオチドであり、

L は、ハロゲンから選択される 1 つ又は 2 つ以上の置換基で任意選択的に置換された C_{1-4} アルキルであり、破線曲線

【0019】

【化 7】



50

は、環状部分を表し、

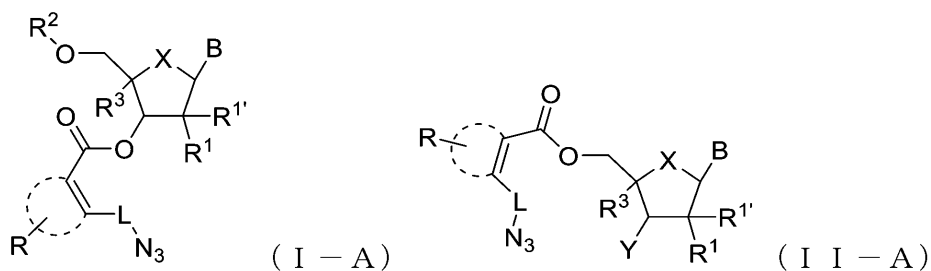
R は、1 つ又は 2 つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された支持体部分である) を含む。

【0020】

合成中間体であり得る本開示の化合物は、式 (I-A) 又は (II-A) —

【0021】

【化 8】



10

によって表される化合物、又はその塩 (式中、

X は、O、S、NR'、及び C (R₂ から選択され、

Y は、OH、OR'、OPG、NHPG、リガンド部分、及び NHR' から選択され、

B は、任意選択的に保護された核酸塩基であり、

R¹ 及び R^{1'} は、H、OPG、F、OR'、及び O (CH₂)₁₋₂ OCR₃ から独立して選択され、

20

R² は、H、低級アルキル、低級ハロアルキル、PG、任意選択的に保護されたヌクレオチド、プロドラッグ部分、リガンド部分、及び任意選択的に保護されたオリゴヌクレオチドから選択され、

R³ は、H、OPG、F、及び OR' から選択されるか、又は R² 及び R³ は一緒に、任意選択的に置換された 2 ~ 4 個の原子架橋を形成し、

R' は、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R'' は、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PG は、保護基である) を含む。

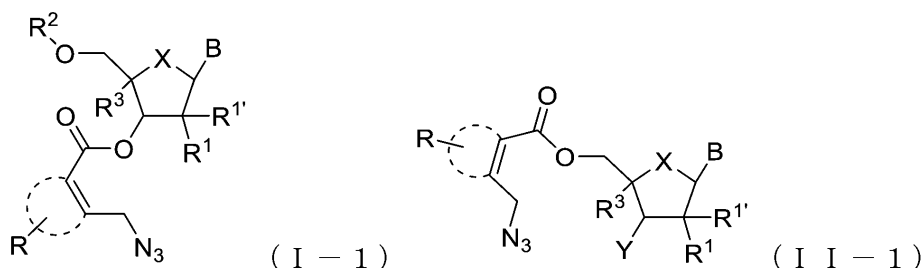
30

【0022】

合成中間体であり得る本開示の化合物は、式 (I-1) 又は (II-1)

【0023】

【化 9】



40

によって表される化合物、又はその塩 (式中、

X は、O、S、NR'、及び C (R₂ から選択され、

Y は、OH、OR'、OPG、NHPG、NHR'、及びオリゴヌクレオチドから選択され、

B は、任意選択的に保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、

R¹ 及び R^{1'} は、H、OPG、F、OR'、及び O (CH₂)₁₋₂ OCR₃ から独立して選択され、

R² は、H、低級アルキル、低級ハロアルキル、PG、任意選択的に保護されたヌクレ

50

オチド、プロドラッグ部分、及び任意選択的に保護されたオリゴヌクレオチドから選択され、

R^3 は、H、OPG、F、及びOR' から選択されるか、又はR及び R^3 は一緒に、任意選択的に置換された2～4個の原子架橋を形成し、

R' は、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R' ' は、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、PGは、保護基であり、

破線曲線

【0024】

【化10】

10



は、環状部分を表し、

Rは、1つ又は2つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された支持体部分である)を含む。

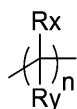
【0025】

いくつかの実施形態では、Lは、

【0026】

【化11】

20



の構造を有し、式中、Rx及びRyは、H、Me、Et、Pr、及びBuからなる群から独立して選択されるか、又はRx、C、及びRyと一緒に、4～6員環を形成し、noは、1～4の整数である。いくつかの実施形態では、Lは、任意選択的に置換されたC₁～₂アルキルである。いくつかの実施形態では、Lは、メチレンである。いくつかの実施形態では、Lは、エチレンである。

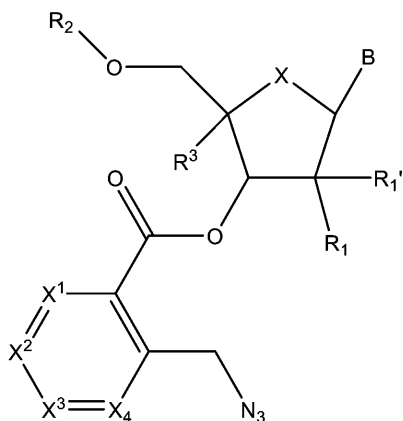
【0027】

他の実施形態は、式(Ia)又は(IIa)

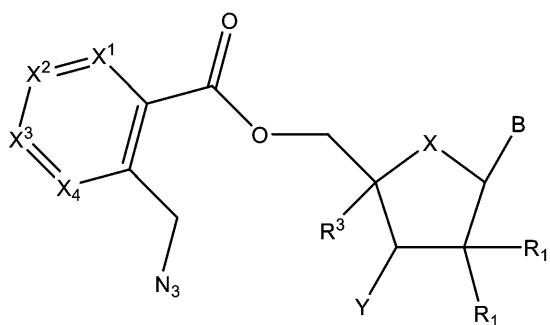
【0028】

【化12】

30



(Ia)



(IIa)

40

によって表される化合物

(式中、

X¹、X²、X³、及びX⁴は、CR、CR⁴、及びNから独立して選択され

X¹、X²、X³、及びX⁴のうちの少なくとも1つは、CRであり、2つの隣接する

50

X^1 、 X^2 、 X^3 、及び X^4 は、置換され得る置換環を任意選択的に形成し、

R^1 及び R^1' は、H、OPG、F、OR'、及びO(CR')₁₋₂OCR'₃から独立して選択され、

R^2 は、H、低級アルキル、低級ハロアルキル、PG、任意選択的に保護されたヌクレオチド、プロドラッグ部分、及び任意選択的に保護されたオリゴヌクレオチドから選択され、

R^3 は、H、OPG、F、及びOR'から選択されるか、又は R^1 及び R^3 と一緒に、任意選択的に置換された2～4個の原子架橋を形成し、

R' は、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R'' は、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、PGは、保護基であり、

R^4 は、H、アルキル、アルコキシル、アリール、ハロゲン化物、NO₂、及び置換カルボニルから独立して選択される)を含む。

【0029】

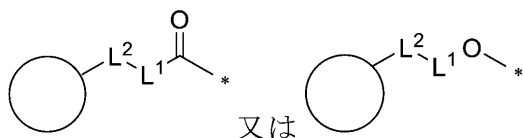
支持体部分は、固体支持体部分又は可溶性支持体部分であり得る。可溶性支持体部分を本明細書に記載の化合物(例えば、ヌクレオチド、ヌクレオシド、又はオリゴヌクレオチド)に結合することにより、ある特定の条件下での調和可能(attunable)な溶解性を提供することができる。いくつかの実施形態では、可溶性支持体部分は、化合物が溶媒系の極性の変化時に調和可能な溶解性を有することを可能にする。いくつかの実施形態では、当該溶媒系は、単一の溶媒又は溶媒の混合物であり得る。いくつかの実施形態では、可溶性支持体部分を有する化合物は、より極性の低い溶媒に可溶性であり、溶媒系の極性が増加すると(例えば、より極性の高い溶媒を添加することによって)沈殿する。他の実施形態では、可溶性支持体部分を有する化合物は、極性溶媒に可溶性であり、溶媒系の極性が減少すると(例えば、より極性の低い溶媒を添加することによって)沈殿する。いくつかの実施形態では、可溶性支持体部分は、化合物がジクロロメタン(dichloromethane、DCM)に可溶性又は十分に可溶性になることを可能にし、化合物がジオキサン/水(9:1)に実質的に不溶性又は不溶性になることを可能にする。

【0030】

いくつかの実施形態では、支持体部分は、1つ又は2つ以上(例えば、1、2、又は3つ)のリンカーを介して結合される。ある特定の実施形態は、Rが、

【0031】

【化13】

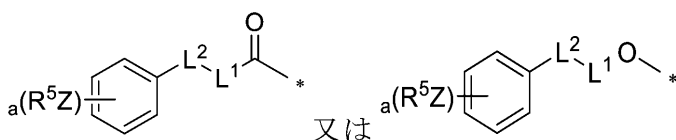


によって表され、

L^1 及び L^2 が、任意選択的なリンカーであり、円が、固体支持体又は化合物に選択的溶解性を提供する部分に接続される部分である場合を含む。例えば、いくつかの実施形態では、Rは、

【0032】

【化14】



によって表され、

式中、

L^1 は、結合、任意選択的に置換された $C_1 \sim 6$ アルキレン基、任意選択的に置換された $C_2 \sim 6$ アルケニレン基、任意選択的に置換された $C_2 \sim 6$ アルキニレン基、任意選択的に置換されたシクロアルキル基、任意選択的に置換された $C_6 \sim 10$ アリール、任意選択的に置換された $5 \sim 10$ 員ヘテロアリール、及び任意選択的に置換された $4 \sim 8$ 員複素環式基から選択され、

L^2 は、単結合、 $-O-$ 、又は $-N(R')$ $-$ 、及び $C(O)$ から選択され、

各 Z は、 O 、 NR'' 、及び結合から独立して選択され、

各 R^5 は、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、及びエチレングリコール基から独立して選択され、

a は、 $1 \sim 5$ の整数である。

【0033】

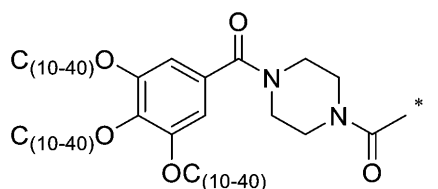
いくつかの実施形態では、 L^1 は、1つ又は2つ以上の窒素原子（例えば、1、2、又は3個の N 原子）及び炭素原子から構成され、かつ／又は $5 \sim 7$ 個の環原子を有する飽和複素環式基であり、 L^2 は、単結合、 $-O-$ 、又は $-N(R')$ $-$ 、及び $C(O)$ から選択される。いくつかの実施形態では、 Z は、 O であり、 R^5 は、 $C_{10} \sim 40$ アルキル基である。いくつかの実施形態では、 a は、 $1 \sim 3$ の整数である。

【0034】

R は、本明細書に記載の方法に適用可能な支持体部分を表し得る。いくつかの実施形態は、 R が、

【0035】

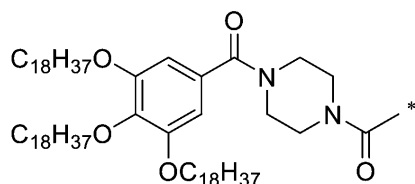
【化15】



例えば、

【0036】

【化16】



によって表される場合を含む。他の支持体基及びリンカーは、例えば、米国公開第2018/0291056号、同第2018/0282365号、米国特許第10,214,555号、同第9,284,344号、国際公開第2018/203574号に開示されており、これらの各々は参照により組み込まれる。他の適用可能な可溶性支持体には、ポリマー系液体合成を含む液相合成に使用される支持体、イオン液体タグ補助合成、フルオロスタグ補助合成、四価クラスター合成、アダマンチルメチルエステル合成、アルキル鎖補助合成、生成物固定逐次合成 (product anchored sequential synthesis、PASS) 方法、ポリマー支持を使用した溶液相合成、及びオリゴヌクレオチド合成のための AJIPHASE (登録商標) が含まれる。Synthesis of Therapeutic Oligonucleotides, 2018, ISBN: 978-981-13-1911-2 に記載の液相合成及び試薬は、参照により組み込まれる。可溶性支持体の例としては、ポリビニルアルコール、PEG、セルロース系ポリマー、ペンタエリスリトール系支持体、シクロデキストリン及びシクロデキストリン誘導体、Ajiphas

10

20

30

40

50

e アンカー、(アドマン-1-イル) アセチル系支持体、イミダゾリウムイオンタグ、A S S + Z - A C S S 支持体、四脚ペンタエリスリトール系支持体、テトラキス(トリアゾイルフェニル)-アダマンチン由来支持体が挙げられる。適用可能な支持体は、M o l i n a , A . G . , & S a n g h v i , Y . S . (2 0 1 9) . L i q u i d - p h a s e o l i g o n u c l e o t i d e s y n t h e s i s : P a s t , p r e s e n t , a n d f u t u r e p r e d i c t i o n s . C u r r e n t P r o t o c o l s i n N u c l e i c A c i d C h e m i s t r y , e 8 2 . d o i : 1 0 . 1 0 0 2 / c p n c . 8 2 に見出すことができ、これは、参照により本明細書に組み込まれる。

【0037】

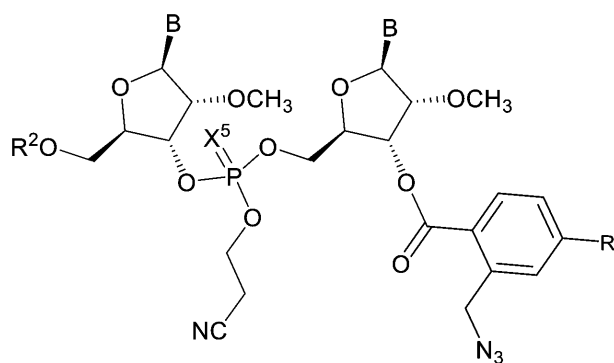
いくつかの実施形態では、X は、O であり、R¹ は、F 又は O R ' ' であり、R' は、H である。いくつかの実施形態もまた、R² は、任意選択的に保護されたヌクレオチド又は任意選択的に保護されたオリゴヌクレオチドである。任意選択的に保護されたオリゴヌクレオチドは、2~40個のヌクレオチドを含み得、これは、式(I)又は(II)の環状部分と同じ様式で任意選択的に修飾される。言い換えれば、ヌクレオチドは、式(I)又は(II)について開示されるように、X、Y、R¹、R¹'、R²、及びR³で修飾され得る。ヌクレオチドは、ホスホジエステル、チオホスフェート、ホスホロアミダート、及びチオホスホロアミダート結合から選択されるサブユニット間結合を含み得る。ヌクレオチドの核酸塩基は、任意選択的に保護された天然又は非天然の核酸塩基であり得る。一実施形態では、全ての核酸塩基が保護される。

【0038】

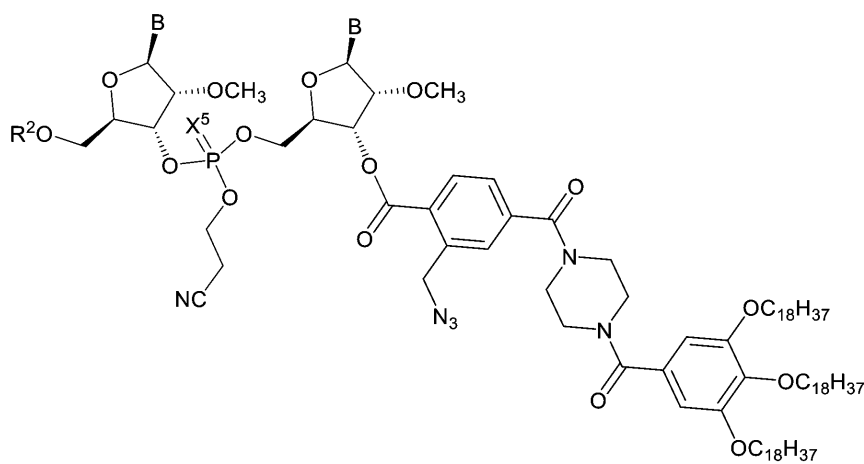
他の実施形態は、化合物が、以下の式(Ib)又は式(Ic)

【0039】

【化17】



(Ib)、



(Ic)

(式中、X⁵ は、存在しないか、O、又はSであり、残りの置換基は、式(I)又は式(II)と同じ(又は本明細書に開示される下位実施形態)によって表される場合を含む

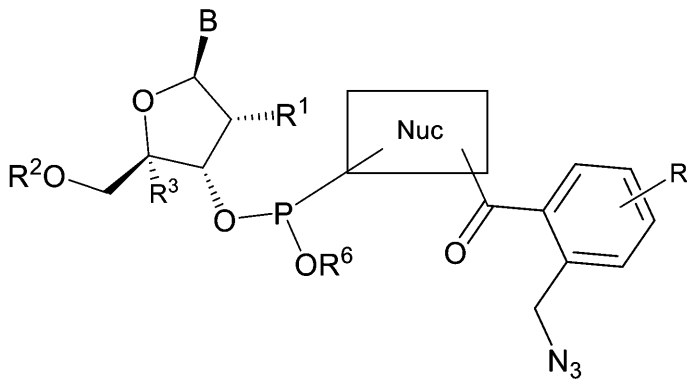
。

【 0 0 4 0 】

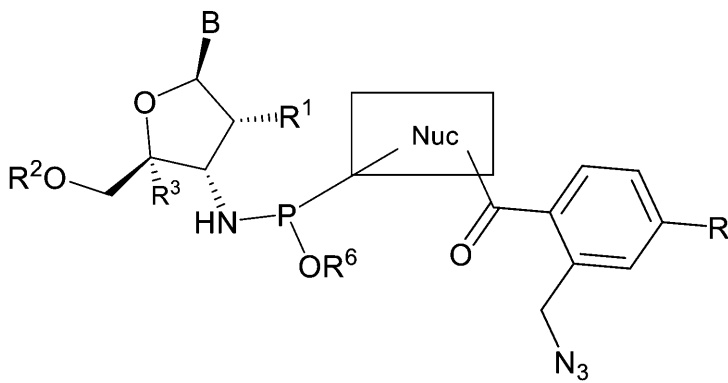
他の実施形態は、以下の式 (I d) 又は (I e)

【 0 0 4 1 】

【 化 1 8 】



(I d) 又は



(I e)

の化合物

(式中、

Nuc は、1 ～ 3 0 個の連結されたヌクレオシドを有するオリゴヌクレオチドサブユニットであり、

B は、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、

R¹ は、H、OPG、F、OR'、及び O (C R)₁₋₂ O C R₃ から選択され、

R² は、H 及び PG から選択され、

R³ は、H、OPG、F、及び OR' から選択されるか、又は R¹ 及び R³ は一緒に、任意選択的に置換された 2 ～ 4 個の原子架橋を形成し、

R' は、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R'' は、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PG は、保護基であり、

R⁶ は、対イオン、アルキル (例えば、メチル)、及び 2-シアノエチルから選択され、

R は、1 つ又は 2 つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された固体支持体部分又は可溶性支持体部分である) を含む。

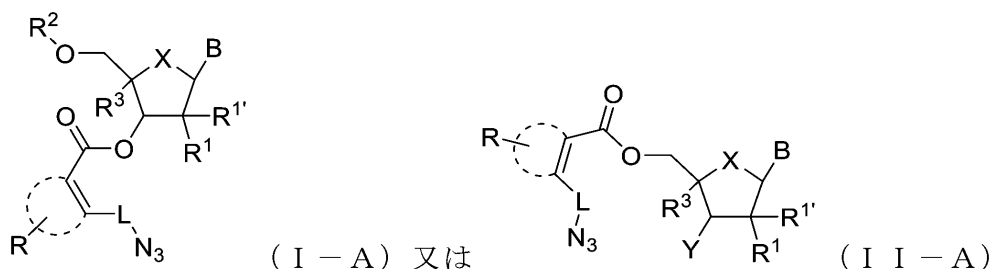
【 0 0 4 2 】

調製方法

本開示はまた、オリゴヌクレオチドなどのオリゴマーを選択的にコンジュゲートする方法を含む。ある特定の実施形態は、保護された核酸塩基を有する式 (I - A) 又は (I I - A)

【 0 0 4 3 】

【化 19】



10

によって表されるオリゴマー、又はその塩（式中、
 Xは、O、S、NR'、及びC（R₂から選択され、
 Bは、保護された核酸塩基であり、
 R¹及びR^{1'}は、H、OPG、F、OR'、及びO（CH₂）₁₋₂OCR₃から独立して選択され、
 R²は、任意選択的に保護されたヌクレオチド、又は保護されたヌクレオチドを含む5'の位置で保護されるオリゴヌクレオチドであり、
 R³は、H、OPG、F、及びOR'から選択されるか、又はR¹及びR³と一緒に、任意選択的に置換された2～4個の原子架橋を形成し、
 R'は、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、
 R'は、H、アリール、低級アルキル、及びC₁₋₄ハロアルキルから独立して選択され、
 PGは、保護基であり、
 Yは、OH、OR'、OPG、NHPG、NHR'、任意選択的に保護されたヌクレオチド、及び任意選択的に保護されたオリゴヌクレオチドから選択され、
 Lは、1つ又は2つ以上の置換基で任意選択的に置換されたC₁₋₄アルキルである）を選択的にコンジュゲートする方法に関する。

20

【0044】

いくつかの実施形態では、Lは、CR_xR_yであり、式中、R_x及びR_yは、H、Me、Et、Pr、及びBuからなる群から独立して選択されるか、又はR_x、C、及びR_yと一緒に、3～6員環を形成する。いくつかの実施形態では、Lは、任意選択的に置換されたC₁₋₂アルキルである。いくつかの実施形態では、Lは、メチレンである。いくつかの実施形態では、Lは、エチレンである。

30

破線曲線

【0045】

【化 20】



は、環状部分を表し、

40

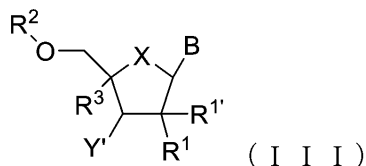
Rは、1つ又は2つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された支持体部分であり、方法は、

（a）保護された核酸塩基を有する式（I-A）又は（II-A）によって表されるオリゴマーを反応させて、以下の式（III）

【0046】

50

【化 2 1】



(式中、Bは、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、Y'は、OH、OR'、又はNHR'であり、R'は、H、アリール、低級アルキル、及びハロアルキルから独立して選択される)を形成すること、

10

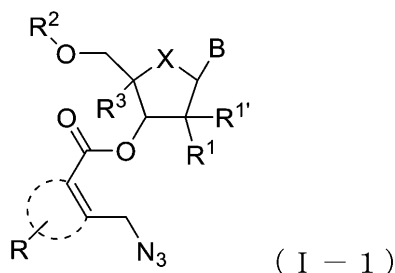
(b) 3'の位置で式(I I I)の化合物を反応させて、第2の化合物への新しい共有結合を形成すること、を含む。

【0047】

ある特定の実施形態は、保護された核酸塩基を有する式(I-1)

【0048】

【化 2 2】



20

によって表されるオリゴマー、又はその塩(式中、

Xは、O、S、NR'、及びC(R)から選択され、

Bは、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、

R¹及びR^{1'}は、H、OPG、F、OR'、及びO(CR)₁₋₂OCR'₃から独立して選択され、

R²は、保護された天然又は非天然の核酸塩基を含む5'の位置で保護されるオリゴヌクレオチドであり、

30

R³は、H、OPG、F、及びOR'から選択されるか、又はR³と一緒に、任意選択的に置換された2~4個の原子架橋を形成し、

R'は、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R'は、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PGは、保護基であり、

破線曲線

【0049】

【化 2 3】



40

は、環状部分を表し、

Rは、1つ又は2つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された支持体部分である)を選択的にコンジュゲートする方法を含み、

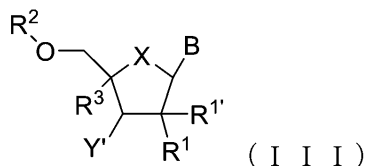
方法は、

(a) 保護された核酸塩基を有する式(I-1)によって表されるオリゴマーを反応させて、以下の式(I I I)

【0050】

50

【化 2 4】



(式中、Bは、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、Y'は、OH、OR'、又はNHR'であり、R'は、H、アリール、低級アルキル、及びC₆ハロアルキルから独立して選択される)を形成することと、

(b) 3'の位置で式(I I I)の化合物を反応させて、第2の化合物への新しい共有結合を形成することと、を含む。

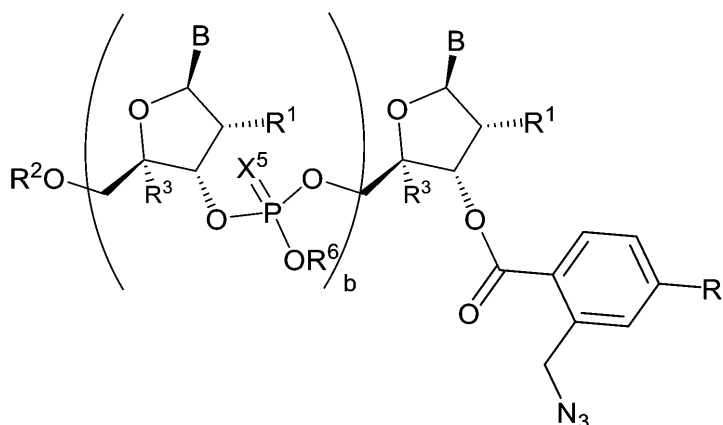
10

【0051】

いくつかの実施形態では、式(I)の化合物は、以下の式(I f)

【0052】

【化 2 5】



20

(I f)

30

によって表され、式中、X⁵は、O又はSであり、

R²は、PGであり、

R⁶は、対イオン、メチル、及び2-シアノエチルから選択され、

bは、1~30の整数である。

【0053】

ある特定の実施形態では、工程(b)は、3'の位置で式(I I I)の化合物を反応させて、第2の化合物と共有結合を形成することを含む。いくつかの実施形態では、工程(b)は、3'の位置で式(I I I)の化合物を保護基と反応させ、続いて、化合物を5'の位置で脱保護し、得られた化合物を5'の位置で反応させて、第2の化合物と共有結合を形成することを含む。

40

【0054】

ある特定の実施形態は、例えば、シュタウディング型反応を介して支持体を除去することを含む。例えば、支持体は、化合物をP h₃Pと接触させることによって除去され得る。いくつかの実施形態では、支持体は、核酸塩基から保護基を除去することなく除去される。更なる実施形態は、支持体の除去後にオリゴヌクレオチドの核酸塩基を脱保護することを含む。

【0055】

いくつかの実施形態は、第1のヌクレオシドサブユニット及びヌクレオシドホスホロアミダイトをカップリングする方法に関し、方法は、

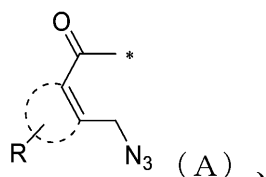
50

(a) 第1のヌクレオシドサブユニットを、ヌクレオシドホスホロアミダイトと反応させることを含み、

第1のヌクレオシドサブユニットは、以下の部分(A)に共有結合しており、

【0056】

【化26】



10

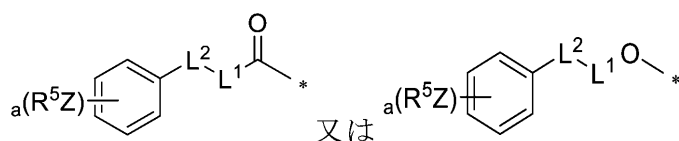
式中、Rは、1つ又は2つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された支持体部分であり、破線は、追加の結合を表し、*は、部分が第1のヌクレオシドに結合される点を表す。

【0057】

いくつかの実施形態では、Rは、

【0058】

【化27】



20

によって表され、

式中、

L¹は、結合、任意選択的に置換されたC1～6アルキレン基、任意選択的に置換されたC2～6アルケニレン基、任意選択的に置換されたC2～6アルキニレン基、任意選択的に置換されたシクロアルキル基、任意選択的に置換されたC6～10アリール、任意選択的に置換された5～10員ヘテロアリール、及び任意選択的に置換された4～8員複素環式基から選択され、

30

L²は、単結合、-O-、又は-N(R')-、及びC(O)から選択され、

Zは、O、NR'',及び結合から選択され、

R⁵は、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、及びエチレングリコール基から選択され、

aは、1～3の整数である。

【0059】

他の実施形態は、第1のヌクレオシドサブユニット及びヌクレオシドホスホロアミダイトをカップリングする方法を含み、方法は、

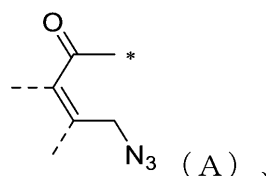
(A) 第1のヌクレオシドサブユニットを、ヌクレオシドホスホロアミダイトと反応させることを含み、

40

第1のヌクレオシドサブユニットは、以下の部分(A)に共有結合しており、

【0060】

【化28】



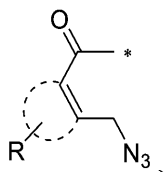
式中、破線は、追加の結合を表し、*は、部分が第1のヌクレオシドに結合される点を

50

表す。いくつかの実施形態では、追加の結合は、水素への結合ではない。いくつかの実施形態では、*は、ヌクレオチドの3'又は5'の点で結合される。いくつかの実施形態では、部分(A)は、以下の構造を有し、

【0061】

【化29】



10

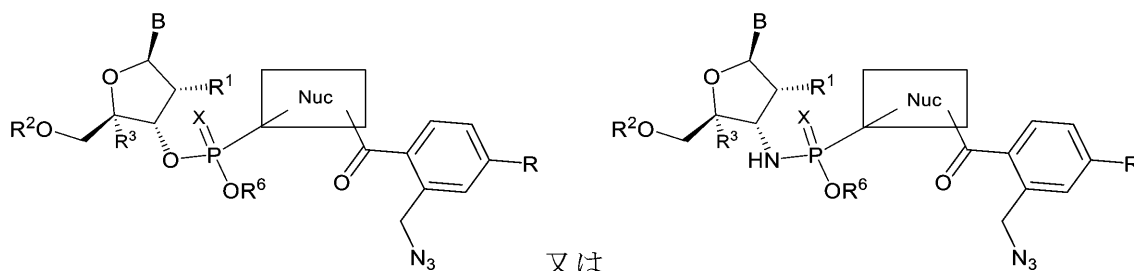
式中、Rは、1つ又は2つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された支持体部分である。

【0062】

いくつかの実施形態では、得られた化合物は、

【0063】

【化30】



20

の構造を有し得、

式中、

Nucは、1～30個の連結されたヌクレオシドを有するオリゴヌクレオチドサブユニットであり、

Bは、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、

Xは、存在しないか、O、又はSであり、

R¹は、H、OPG、F、OR'、及びO(CR')₁₋₂OCR'₃から選択され、

R²は、H及びPGから選択され、

R³は、H、OPG、F、及びOR'から選択されるか、又はR¹及びR³は一緒に、任意選択的に置換された2～4個の原子架橋を形成し、

R'は、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

R''は、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PGは、保護基であり、

R⁶は、対イオン、メチル、及び2-シアノエチルから選択され、

Rは、1つ又は2つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された固体支持体部分又は可溶性支持体部分である。

【0064】

いくつかの実施形態では、得られたカップリングされたヌクレオシドは、以下の構造を有し、

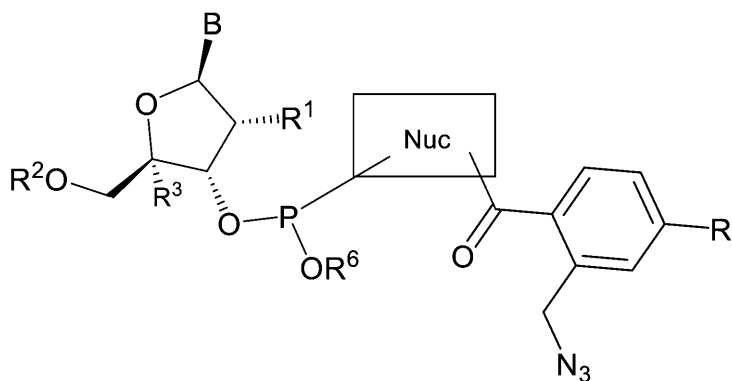
【0065】

30

40

50

【化 3 1】



10

式中、Nuc は、1～30 個の連結されたヌクレオシドを有するオリゴヌクレオチドサブユニットであり、

B は、保護された天然又は非天然の核酸塩基であり、

R¹ は、H、OPG、F、OR[']、及び O(CR['])₁₋₂OCR[']₃ から選択され、

R² は、H 及び PG から選択され、

R³ は、H、OPG、F、及び OR['] から選択されるか、又は R² 及び R³ は一緒に、任意選択的に置換された 2～4 個の原子架橋を形成し、

R['] は、H、F、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

20

R['] は、H、アリール、低級アルキル、及び低級ハロアルキルから独立して選択され、

PG は、保護基であり、

R⁶ は、対イオン、メチル、及び 2-シアノエチルから選択され、

R は、1 つ又は 2 つ以上のリンカーを介して環状部分に任意選択的に結合された支持体部分である。

【0066】

本明細書に開示される実施形態は、収束的合成によりオリゴヌクレオチドを合成する方法を含み、これには、第 1 のヌクレオチドを、1 つ又は 2 つ以上のリンカーを介して任意選択的に結合された支持体部分を有する第 2 のヌクレオチドとカップリングすることと、得られた生成物を酸化させることと、得られた生成物を 5' の位置でデブロッキングすることと、を含む。

30

【0067】

いくつかの実施形態では、収束的合成によりオリゴヌクレオチドを合成する方法は、1 つ又は 2 つ以上のリンカーを介して任意選択的に結合された支持体部分を有する、得られた 5'-デブロッキングされた生成物を、第 3 のヌクレオチドと反応させることと、得られた生成物を酸化又はチオール化することと、を更に含む。いくつかの実施形態では、この工程は、2 回以上行われる。いくつかの実施形態では、第 3 のヌクレオチドは、2 つ以上のヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、収束的合成によりオリゴヌクレオチドを合成する方法は、ダイマー、トリマー、及び／又は 4-mer をカップリングして、望ましい長さのオリゴヌクレオチドを合成することを含む。

40

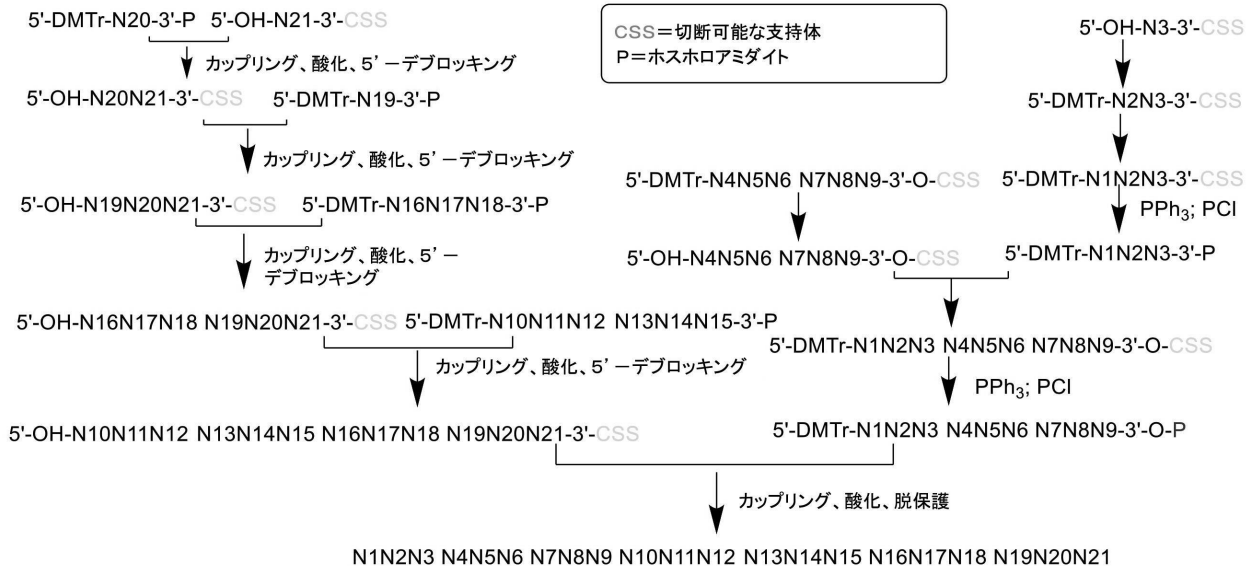
【0068】

上記の工程は、収束的合成のために必要に応じて行うことができることを理解されたい。例えば、以下の実施形態は、21-mer ヌクレオチドの例示的な収束的合成を示す。

【0069】

50

【化 3 2】



10

【0070】

上述の収束的合成スキームでは、保護されたヌクレオチド N 2 0 は、切断可能な支持体（例えば、可溶性支持体）に結合されるヌクレオチド N 2 1 とカップリングされ得、得られたダイマーは、その後、酸化及び 5' -デブロッキングを受けて、切断可能な支持体に結合されるダイマー N 2 0 N 2 1 を提供する。次いで、ダイマーを同様のプロセスにより N 1 9 にカップリングして、トリマー N 1 9 N 2 N 2 1 を生成する。次いで、トリマーを別のトリマーにカップリングして、切断可能な支持体に結合されるヘキサマーを生成する。次いで、ヘキサマーを別のヘキサマーにカップリングして、1 2 m e r を生成することができる。上記のスキームは、2 1 m e r の調製の例を示し、プロセスは、任意の所望の長さのオリゴマーを調製するように調整することができる。オリゴマーに結合された切断可能な支持体は、可溶性支持体部分であり得、これは、オリゴヌクレオチドから切断され、次いで選択的沈殿によって反応から回収され得る。

20

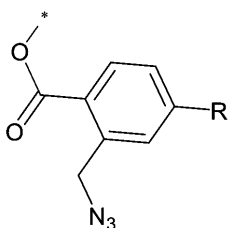
【0071】

加えて、上述のプロセスは、ヌクレオチド反復を含有するオリゴマーの調製に特に好適であり得、そのようなオリゴマーは、A C 反復、A G 反復、C G 反復、A T 反復、又は他のヌクレオチド反復からなる。最初のカップリング工程の後にダイマーが形成されたら、ダイマーを繰り返しカップリングして、ダイマーヌクレオチド反復を有するオリゴマーを形成することができる。上記スキームでは、C S S は、切断可能な支持体であり、C S S の一例は、

30

【0072】

【化 3 3】



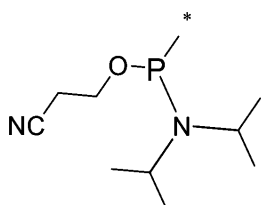
40

であり、P は、ホスホロアミダイト（例えば、

【0073】

50

【化 3 4】



）であり、P C I は、ホスフィチル化（phosphitylation）試薬である。

【0074】

定義

本明細書で使用される用語は、特定の実施形態を説明する目的でのみ使用され、本開示の範囲を制限することを意図しないと理解すべきである。別途記載のない限り、以下の定義が適用されるものとする。

【0075】

本明細書及び添付の特許請求の範囲において使用される場合、別途明記されない限り、単数形「a」、「an」、及び「the」は複数の指示物を含むことに留意されたい。特許請求の範囲は、いずれかの任意選択的な要素を除外するように起案される場合もあることに更に留意されたい。したがって、この記載は、特許請求の範囲の要素の列挙に関連する「だけ」、「のみ」などの排他的な用語の使用、又は「否定的」限定の使用に対する先行的限定の根拠として機能することを意図する。

【0076】

本明細書で使用される場合、「約」という用語は、当業者には理解されるものであり、この用語が使用される文脈によってある程度異なる。使用されるある文脈において当業者には明らかでない用語が使用されている場合、「約」は、特定の用語の最大プラスマイナス10%を意味するであろう。

【0077】

一般に、水素又はHなどのある特定の元素への言及は、その元素の全ての同位体を含むことを意味する。例えば、R基が水素又はHを含むように定義される場合、重水素及びトリチウムも含む。したがって、同位体標識化合物は、本開示の範囲内である。

【0078】

一般に、「置換された」は、その中に含有される水素原子への1つ又は2つ以上の結合が非水素又は非炭素原子への結合によって置き換えられる、以下に定義されるような有機基（例えば、アルキル基）を指す。置換された基はまた、炭素又は水素原子への1つ又は2つ以上の結合が、二重結合又は三重結合を含む1つ又は2つ以上の結合でヘテロ原子に置き換えられる基も含む。したがって、別途指定されない限り、置換された基は、1つ又は2つ以上の置換基で置換される。いくつかの実施形態では、置換された基は、1、2、3、4、5、又は6個の置換基で置換されている。置換基の例としては、ハロゲン（すなわち、F、Cl、Br、及びI）；ヒドロキシル；アルコキシ、アルケノキシ（alkenoxy）、アルキノキシ（alkynoxy）、アリールオキシ、アラルキルオキシ、ヘテロシクリルオキシ、及びヘテロシクリルアルコキシ基；カルボニル（オキソ）；カルボキシル；エステル；ウレタン；オキシム；ヒドロキシルアミン；アルコキシアミン；アラルコキシアミン；チオール；スルフィド；スルホキシド；スルホン；スルホニル；スルホンアミド；アミン；N-オキシド；ヒドラジン；ヒドラジド；ヒドラゾン；アジド；アミド；尿素；アミジン；グアニジン；エナミン；イミド；イソシアネート；イソチオシアネート；シアネート；チオシアネート；イミン；ニトロ基；ニトリル（すなわち、CN）などが挙げられる。

【0079】

置換されたシクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、及びヘテロアリール基などの置換された環基は、水素原子への結合が炭素原子への結合で置き換えられている環及び縮

10

20

30

40

50

合環系も含む。したがって、置換されたシクロアルキル、アリール、ヘテロシクリル、及びヘテロアリール基はまた、以下に定義されるような置換された又は非置換のアルキル、アルケニル、及びアルキニル基で置換され得る。

【0080】

アルキル基としては、1～約40個の炭素原子、例えば、1～12個の炭素、又はいくつかの実施形態では、1～8個、1～6個、若しくは1～4個の炭素原子などの1～約20個の炭素原子を有する直鎖及び分岐アルキル基が挙げられる。アルキル基は、以下に定義されるシクロアルキル基を更に含む。直鎖アルキル基の例としては、メチル、エチル、*n*-プロピル、*n*-ブチル、*n*-ペンチル、*n*-ヘキシル、*n*-ヘプチル、及び*n*-オクチル基などの1～8個の炭素原子を有するものが挙げられる。分岐アルキル基の例としては、イソプロピル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、ネオペンチル、イソペンチル、及び2,2-ジメチルプロピル基が挙げられるが、これらに限定されない。代表的な置換されたアルキル基は、上記に列挙された置換基などの置換基で1回又は2回以上置換され得る。低級アルキルは、任意選択的に置換され得、1～12個の炭素、又はいくつかの実施形態では、1～8個、1～6個、若しくは1～4個の炭素原子を含む。

【0081】

シクロアルキル基は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、及びシクロオクチル基などの環状アルキル基であるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、シクロアルキル基は、3～8の環員を有するが、他の実施形態では、環炭素原子の数は、3～5個、3～6個、又は3～7個の範囲である。シクロアルキル基は、例えば、以下に記載されるような架橋シクロアルキル基、及び限定されないが、デカリニルなどの縮合環などの単環式、二環式、及び多環式環系を更に含む。いくつかの実施形態では、多環式シクロアルキル基は、3つの環を有する。置換されたシクロアルキル基は、上記で定義されたように、非水素基及び非炭素基で1回又は2回以上置換され得る。しかしながら、置換されたシクロアルキル基はまた、上記で定義された直鎖又は分岐鎖アルキル基で置換される環も含む。代表的な置換されたシクロアルキル基は、一置換されるか、又は限定されないが、2,2-, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 又は2,6-二置換シクロヘキシル基など、2回以上置換され得、これらは、上記に列挙された置換基などの置換基で置換され得る。

【0082】

アリール基は、ヘテロ原子を含有しない環状芳香族炭化水素である。アリール基には、単環式、二環式、及び多環式環系が含まれる。したがって、アリール基には、フェニル、アズレニル、ヘプタレニル、ビフェニレニル、インダセニル、フルオレニル、フェナントレニル、トリフェニレニル、ピレニル、ナフタセニル、クリセニル (*chrysenyl*)、ビフェニル、アントラセニル、インデニル、インダニル、ペンタレニル、及びナフチル基が含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、アリール基は、6～14個の炭素を含有し、他の場合では、基の環部分に6～12個、又は更には6～10個の炭素原子を含有する。「アリール基」という句は、縮合芳香族-脂肪族環系（例えば、インダニル、テトラヒドロナフチルなど）などの縮合環を含有する基を含むが、環員のうちの1つに結合したアルキル又はハロ基などの他の基を有するアリール基を含まない。むしろ、トリルなどの基は、置換されたアリール基と称される。代表的な置換されたアリール基は、一置換されるか、又は2回以上置換され得る。例えば、一置換アリール基としては、限定されないが、2-, 3-, 4-, 5-, 若しくは6置換フェニル又はナフチル基が挙げられ、これらは、上記に列挙された置換基などの置換基で置換され得る。

【0083】

ヘテロシクリル基としては、芳香族（ヘテロアリールとも称される）及び3つ以上の環員を含有する非芳香族環化合物が挙げられ、そのうちの1つ又は2つ以上は、限定されないが、N、O、及びSなどのヘテロ原子である。いくつかの実施形態では、ヘテロシクリル基は、3～20の環員を含み、他は、3～6、3～10、3～12、又は3～15の環員を有する。ヘテロシクリル基は、例えば、イミダゾリル、イミダゾリニル、及びイミダ

10

20

30

40

50

ゾリジニル基などの不飽和、部分飽和、及び飽和環系を包含する。「ヘテロシクリル基」という句は、例えば、ベンゾトリアゾリル、2, 3-ジヒドロベンゾ [1, 4] ジオキシニル、及びベンゾ [1, 3] ジオキソリルなどの縮合芳香族基及び非芳香族基を含むものを含む縮合環種を含む。この句は、限定されないが、キヌクリジルなどのヘテロ原子を含有する架橋多環式環系も含む。しかしながら、この句は、環員のうちの1つに結合した、アルキル、オキソ、又はハロ基などの他の基を有するヘテロシクリル基を含まない。むしろ、これらは、「置換されたヘテロシクリル基」と称される。ヘテロシクリル基としては、アジリジニル、アゼチジニル、ピロリジニル、イミダゾリジニル、ピラゾリジニル、チアゾリジニル、テトラヒドロチオフェニル、テトラヒドロフラニル、ジオキソリル、フラニル、チオフェニル、ピロリル、ピロリニル、イミダゾリル、イミダゾリニル、ピラゾリル、ピラゾリニル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、チアゾリニル、イソチアゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、ピペリジル、ピペラジニル、モルホリニル、チオモルホリニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、オキサチアン、ジオキシル、ジチアニル、ピラニル、ピリジル、ピリミジニル、ピリダジニル、ピラジニル、トリアジニル、ジヒドロピリジル、ジヒドロジチイニル、ジヒドロジチオニル、ホモピペラジニル、キヌクリジル、インドリル、インドリニル、イソインドリル、アザインドリル（ピロロピリジル）、インダゾリル、インドリジニル、ベンゾトリアゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾチオフェニル、ベンズチアゾリル、ベンゾキサジアゾリル、ベンゾキサジニル、ベンゾジチイニル、ベンゾキサチイニル、ベンゾチアジニル、ベンゾキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾ [1, 3] ジオキソリル、ピラゾロピリジル、イミダゾピリジル（アザベンズイミダゾリル）、トリアゾロピリジル、イソキサゾロピリジル、プリニル、キサンチニル、アデニニル、グアニニル、キノリニル、イソキノリニル、キノリジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、シンノリニル、フタラジニル、ナフチリジニル、プテリジニル、チアナフタレニル、ジヒドロベンゾチアジニル、ジヒドロベンゾフラニル、ジヒドロインドリル、ジヒドロベンゾジオキシニル、テトラヒドロインドリル、テトラヒドロインダゾリル、テトラヒドロベンズイミダゾリル、テトラヒドロベンゾトリアゾリル、テトラヒドロピロロピリジル、テトラヒドロピラゾロピリジル、テトラヒドロイミダゾピリジル、テトラヒドロトリアゾロピリジル、及びテトラヒドロキノリニル基が挙げられるが、これらに限定されない。代表的な置換されたヘテロシクリル基は、一置換されるか、又は限定されないが、ピリジル若しくはモルホリニル基など、2回以上置換され得、これらは、2-、3-、4-、5-、若しくは6置換されるか、又は上記に列挙された置換基などの様々な置換基で二置換される。

【0084】

ヘテロアリール基は、5以上の環員を含有する芳香環化合物であり、そのうちの1つ又は2つ以上は、限定されないが、N、O、及びSなどのヘテロ原子である。ヘテロアリール基には、限定されないが、ピロリル、ピラゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、ピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、チオフェニル、ベンゾチオフェニル、フラニル、ベンゾフラニル、インドリル、アザインドリル（ピロロピリジル）、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、イミダゾピリジル（アザベンズイミダゾリル）、ピラゾロピリジル、トリアゾロピリジル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾチアジアゾリル、イミダゾピリジル、イソキサゾロピリジル、チアナフタレニル、プリニル、キサンチニル、アデニニル、グアニニル、キノリニル、イソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、キノキサリニル、及びキナゾリニル基などの基が含まれる。「ヘテロアリール基」という句は、インドリル及び2, 3-ジヒドロインドリルなどの縮合環化合物を含むが、この句は、アルキル基などの環員のうちの1つに結合した他の基を有するヘテロアリール基を含まない。むしろ、そのような置換を有するヘテロアリール基は、「置換されたヘテロアリール基」と称される。代表的な置換されたヘテロアリール基は、上記に列挙された置換基などの様々な置換基で1回又は2回以上置換され得る。

10

20

30

40

50

【0085】

アルコキシ基は、水素原子への結合が上記で定義された置換された又は非置換のアルキル基の炭素原子への結合によって置き換えられるヒドロキシル基（ -OH ）である。直鎖アルコキシ基の例としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、ペントキシ、ヘキソキシなどが挙げられるが、これらに限定されない。分岐アルコキシ基の例としては、イソプロポキシ、*sec*-ブトキシ、*tert*-ブトキシ、イソペントキシ、イソヘキソキシなどが挙げられるが、これらに限定されない。シクロアルコキシ基の例としては、シクロプロピルオキシ、シクロブチルオキシ、シクロペンチルオキシ、シクロヘキシルオキシなどが含まれるが、これらに限定されない。代表的な置換されたアルコキシ基は、上記に列挙された置換基などの置換基で1回又は2回以上置換され得る。

10

【0086】

「カルボニル」は、 -C(=O)- に相当する二価の基 -C(O)- を指す。置換されたカルボニルは、原子に結合し、他の原子価点で本明細書に開示される部分（例えば、任意選択的に置換されたアルキル、アリール、ヘルテロアリールなど）に結合したカルボニルを意味する。

【0087】

本明細書で使用される場合、「アミン」（又は「アミノ」）という用語は、 -NHR^4 及び $\text{-NR}^5\text{R}^6$ 基を指し、式中、 R^4 、 R^5 、及び R^6 は、独立して、水素、又は本明細書で定義される置換された若しくは非置換のアルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、アリール、アラルキル、ヘテロシクリルアルキル、又はヘテロシクリル基である。いくつかの実施形態では、アミンは、 NH_2 、メチルアミノ、ジメチルアミノ、エチルアミノ、ジエチルアミノ、プロピルアミノ、イソプロピルアミノ、フェニルアミノ、又はベンジルアミノである。

20

【0088】

「ハロ」又は「ハロゲン化物」又は「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、ブロモ、及びヨードを指す。いくつかの実施形態では、ハロゲン化物は、 F である。

【0089】

「任意選択的に置換された」は、その基及びその基の置換された形態から選択される基を指す。「置換された」基は、以下に記載又は定義される任意の置換基で置換された基を指す。一実施形態では、置換基は、例えば、 CF_3 、 OCF_3 、ハロ、ハロアリール、アルコキシ、アリールオキシ、ハロアルコキシ、ジヒドロキシ、アミノヒドロキシ、カルボキシ、アミド、スルホキシ、スルホニル、ハロアリールオキシ、アリール、ベンジル、ベンジルオキシ、ヘテロアリール、ニトリル、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルケニル、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキニル、 $\text{C}_3\sim\text{C}_6$ シクロアルキル、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ ハロアルキル、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ ハロアルケニル、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ ハロアルキニル、 $\text{C}_3\sim\text{C}_6$ ハロシクロアルキル、 $\text{C}_6\sim\text{C}_{10}$ アリール、 $\text{C}_3\sim\text{C}_8$ シクロアルキル、 $\text{C}_2\sim\text{C}_{10}$ ヘテロシクリル、 $\text{C}_1\sim\text{C}_{10}$ ヘテロアリール、 -N_3 、ニトロ、 $\text{-CO}_2\text{H}$ 若しくはその $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキルエステル、以下に記載若しくは定義される官能基のうちのいずれか、又はそれらの組み合わせから選択される。

30

【0090】

「環状部分」は、シクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、又はヘテロシクリルを指し、それらの各々は、任意選択的に置換され得る。

40

【0091】

「支持体部分」は、例えば、カップリング、酸化、及び脱保護工程後に、モノマー構築ブロック及び他の小さな分子試薬並びに副生成物からの支持体固定オリゴヌクレオチド鎖の分離を可能にするヌクレオチドに結合した部分を指す。支持体部分は、固体支持体部分及び可溶性支持体部分を含む。

【0092】

「固体支持体部分」は、固相支持体で行われる有機合成の当業者によって理解されるような通常の意味を有する。オリゴヌクレオチドの合成に好適ないくつかの異なる固体支持

50

体及び調製方法は、Pon, 1993, Methods in Molecular Biology, vol. 20: Protocols for Oligonucleotides and Analogs, Humana Press (参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) から得られる。特に、固体支持体は、ポリ酢酸ビニル又はポリスチレンビーズを含むビーズなどの、制御された細孔ガラス又はポリマー支持体を含む。

【0093】

本明細書で使用される場合、「可溶性支持体部分」は、ある特定の条件下又は溶媒極性下で溶媒系において選択的に可溶化され、その溶媒系において異なる条件下又は異なる溶媒極性下で不溶性であり、溶液から沈殿し、沈殿による溶液から全ての支持体部分の実質的な回収を可能にすることができる支持体部分を意味する。可溶性支持体の例としては、

10

【0094】

「リンカー」は、1つの部分又は分子を別の部分又は分子に共有結合させる共有結合又は原子の鎖を含む分子、例えば、ヌクレオチド／ヌクレオシド又はオリゴヌクレオチドにおける化学部分を指す。「切断可能なリンカー」は、試薬の残部からの固体支持体の放出を可能にする特定の条件下で切断され得るリンカーを指す。例えば、リンカーは、オリゴ

20

【0095】

「ヌクレオシド」は、天然β又はαアノマー構成において、リボース、アラビノース、キシロース、及びピラノースなどの糖のC-1'炭素に連結された核酸塩基からなる化合物を指す。ヌクレオシドは、天然に存在するヌクレオシド及び修飾ヌクレオシドも含み得る。糖は、置換されているか、又は非置換であり得る。置換されたリボース糖としては、炭素原子のうちの1つ又は2つ以上、例えば、2'-炭素原子が、同じ又は異なるCl、F、-R、-OR、-NR₂、又はハロゲン基（各Rは、独立して、X、C₁~C₆アルキル、又はC₅~C₁₅アリールである）のうちの1つ又は2つ以上で置換されているリボースが挙げられるが、これに限定されない。リボースの例としては、リボース、2'-デオキシリボース、2',3'-ジデオキシリボース、2'-ハオリボース、2'-フルオリボース、2'-クロロリボース、及び2'-アルキルリボース、例えば、2'-オーメチル、4'-α-アノマーヌクレオチド、1'-α-アノマーヌクレオチド (Asseline (1991) Nucl. Acids Res. 19: 4067-74)、2'-4'-及び3'-4'-連結並びに他の「ロックド」又は「LNA」、二環式糖修飾（国際公開第98/22489号、同第98/39352号、同第99/14226号）が挙げられる。

糖には、メトキシ、エトキシ、アリルオキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、メトキシエチル、アルコキシ、フェノキシ、アジド、アミノ、アルキルアミノ、フルオロ、クロロ、及びプロモなどの2'-又は3'-の位置での修飾が含まれる。ヌクレオシド及びヌクレオチドは、天然D構成異性体（D形態）、並びにL構成異性体（L形態）を含む (Beigelman、米国特許第6,251,666号、Chu、米国特許第5,753,789号、Shudo、欧州特許第0540742号、Garbesi (1993) Nucl. Acids Res. 21: 4159-65、Fujimori (1990) J. Amer. Chem. Soc. 112: 7435、Urata, (1993) Nucleic Acids Symposium Ser. No. 29: 69-70)。核酸塩基が、プリン、例えば、A又はGである場合、リボース糖は、通常、核酸塩基のN9

30

40

50

の位置に結合している。核酸塩基が、ピリミジン、例えば、C、T、又はUである場合、ペントース糖は、通常、核酸塩基のN1の位置に結合している (Kornberg and Baker, (1992) DNA Replication, 2nd Ed., Freeman, San Francisco, Calif.)。

【0096】

「ヌクレオチド」は、モノマー単位として、又は核酸若しくはオリゴマー内のヌクレオシドのリン酸エステルを指す。「ヌクレオチド5'-トリホスフェート」は、5'の位置に三リン酸エステル基を有するヌクレオチドを指し、特にリボース糖の構造特徴を示すために、「NTP」又は「dNTP」及び「ddNTP」として表されることがある。三リン酸エステル基は、様々な酸素の硫黄置換、例えば、 α -チオヌクレオチド5'-トリホスフェートを含み得る。核酸化学の概説については、Shabarova, Z. and Bogdanov, A. Advanced Organic Chemistry of Nucleic Acids, VCH, New York, 1994を参照されたい。ヌクレオチドは、天然に存在するヌクレオチド及び修飾ヌクレオチドも含み得る。

10

【0097】

本明細書で使用される場合、「オリゴヌクレオチド」は、ヌクレオチド間ホスホジエステル結合の結合、例えば、3'-5'及び2'-5'、逆結合、例えば3'-3'及び5'-5'、分岐構造、又はヌクレオチド間類似体によって連結された、2'-デオキシリボヌクレオチド (deoxyribonucleotide、DNA) 及びリボヌクレオチド (ribonucleotide、RNA) を含む、ヌクレオチドモノマーの一本鎖及び二本鎖のポリマーを指す。ポリヌクレオチドは、H⁺、NH₄⁺、トリアルキルアンモニウム、Mg²⁺、Na⁺などの関連する対イオンを有する。ポリヌクレオチドは、完全にデオキシリボヌクレオチド、完全にリボヌクレオチド、又はそれらのキメラ混合物から構成され得る。ポリヌクレオチドは、核酸塩基及び糖類似体から構成され得る。ポリヌクレオチドは、典型的には、サイズが少数のモノマー単位、例えば、5~40 (当該技術分野でより一般的にはオリゴヌクレオチドと称されることが多い場合) から数千のモノマーヌクレオチド単位の範囲である。別途示されない限り、ポリヌクレオチド配列が表される場合は常に、ヌクレオチドは、左から右に5'から3'の順序であり、DNAで使用される場合、「A」、「G」、「C」、「T」は、それぞれ、デオキシアデノシン、デオキシグアノシン、デオキシシチジン、及びチミジンを示し、RNAで使用される場合、「A」、「G」、「C」、「U」は、それぞれ、アデノシン、グアノシン、シチジン、及びウリジンを示すことが理解されよう。

20

30

【0098】

当業者は、本開示の化合物が、互変異性、立体配座異性、幾何異性、及び／又は光学異性の現象を示し得ることを理解するであろう。本明細書及び特許請求の範囲内の式の図面は、可能な互変異性形態、立体配座異性形態、光学的異性形態、又は幾何異性形態のうちの1つのみを表し得るため、本開示は、本明細書に記載の有用性のうちの1つ又は2つ以上を有する化合物の任意の互変異性形態、立体配座異性形態、光学的異性形態、及び／又は幾何異性形態、並びにこれらの様々な異なる形態の混合物を包含することを理解されたい。

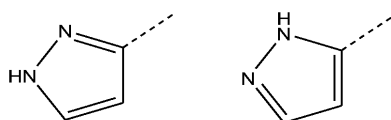
【0099】

「互変異性体」は、互いに平衡状態である化合物の異性形態を指す。異性形態の濃度は、化合物が見出される環境に依存し、例えば、化合物が固体であるか、又は有機溶液若しくは水溶液中にあるかに応じて異なり得る。例えば、水溶液では、ピラゾールは、互いの互変異性体と称される以下の異性形態を示し得る。

40

【0100】

【化35】



50

【0101】

当業者に容易に理解されるように、多種多様な官能基及び他の構造が互変異性を示し得、本明細書に記載の化合物の全ての互変異性体が本開示の範囲内である。

【0102】

「光学異性体」としても既知である化合物の立体異性体は、特定の立体化学が明示的に示されない限り、構造の全てのキラル、ジアステレオマー、及びラセミ形態を含む。したがって、本開示で使用される化合物は、描写から明らかなように、任意の又は全ての不斉原子における濃縮又は分解された光学異性体を含む。ラセミ混合物及びジアステレオマー混合物の両方、並びに個々の光学異性体は、それらのエナンチオマー又はジアステレオマーのパートナーを実質的に含まないように単離又は合成することができ、これらは全て本開示の範囲内である。

10

【0103】

「保護基」又は「protecting group、PG」は、アルコール及びアミンに好適であり、当該技術分野で周知の任意の保護基を意図する。非限定的な例としては、2,2,2-トリクロロエチルカーボネート (2,2,2-trichloroethyl carbonate、Troc)、2-メトキシエトキシメチルエーテル (2-methoxyethoxymethyl ether、MEM)、2-ナフチルメチルエーテル (2-naphthylmethyl ether、Nap)、4-メトキシベンジルエーテル (4-methoxybenzyl ether、PMB)、アセテート (acetate、Ac)、ベンゾエート (benzoate、Bz)、ベンジルエーテル (benzyl ether、Bn)、ベンジロキシメチルアセタール (benzyloxymethyl acetal、BOM)、ベンジロキシメチルアセタール (benzyloxymethyl acetal、BOM)、メトキシメチルアセタール (methoxymethyl acetal、MOM)、メトキシプロピルアセタール (methoxypropyl acetal、MOP)、メチルエーテル、テトラヒドロピラニルアセタール (tetrahydropyranyl acetal、THP)、トリエチルシリルエーテル (triethylsilyl ether、TES)、トリイソプロピルシリルエーテル (triisopropylsilyl ether、TIPS)、トリメチルシリルエーテル (trimethylsilyl ether、TMS)、tert-ブチルジメチルシリルエーテル (tert-Butyldimethylsilyl ether、TBS、TBDMs)、又はtert-ブチルジフェニルシリルエーテル (tert-butyldiphenylsilyl ether、TBDPs) が挙げられる。1,2ジオール又は1,2アミノアルコールの場合、好適な保護基としては、アセトニド、ベンズアルデヒドアセタール、又はカーボネートなどが挙げられる。これらの保護基及び他のものは、Green et al: Green's Protective Groups in Organic Synthesis, Fourth Edition Author(s): Peter G. M. Wuts and Theodora W. Greene First published: 10 April 2006, Copyright (著作権) 2007 John Wiley & Sons, Incによって証明されるように、当業者に周知であり、その開示は参照により組み込まれる。

20

30

【0104】

「脱保護 (deprotection)」、「脱保護 (deprotecting)」などは、当業者に既知であるか、又はGreen et al.において提示される任意の従来の手段による保護基の除去を意図する。脱保護の条件は、どの保護基が使用されるかに依存することは容易に明らかであろう。

40

【0105】

「薬学的に許容される」とは、生物学的又は別の理由で望ましくないわけではない材料を指し、すなわち、材料は、望ましくない生物学的効果を引き起こすことなく、又は含有される組成物の他の成分のいずれかと有害に相互作用することなく、患者に投与される薬学的組成物に組み込まれ得る。「薬学的に許容される」という用語が、薬学的キャリア又は賦形剤を指すために使用される場合、キャリア又は賦形剤は、毒性試験及び製造試験の必要な基準を満たすか、又はそのキャリアが、米国医薬品局によって作製されたInactive Ingredient Guideに含まれることを意味する。

50

【0106】

「修飾ヌクレオシド」又は「非天然ヌクレオシド」は、独立して、修飾された糖部分及び／又は修飾核酸塩基を有するヌクレオシドを指す。ヌクレオシドは、サブユニット間結合、例えば、リン酸ジエステルサブユニット間結合、チオリン酸サブユニット間結合、ホスホロアミダートサブユニット間結合、及びチオホスホロアミダートサブユニット間結合を介して連結され、「修飾ヌクレオチド」は、ヌクレオシドとサブユニット間結合を共に指し得ると理解される。

【0107】

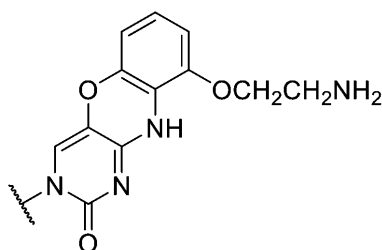
「未修飾」又は「天然」核酸塩基として、プリン塩基であるアデニン（A）及びグアニン（G）、並びにピリミジン塩基であるチミン（T）、シトシン（C）及びウラシル（U）が挙げられる。「修飾」又は「非天然」核酸塩基としては、5-メチルシトシン（5-me-C）、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、アデニン及びグアニンの6-メチル及び他のアルキル誘導体、アデニン及びグアニンの2-プロピル及び他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミン、及び2-チオシトシン、5-ハロウラシル及びシトシン、5-プロピニル（ $-C \equiv C-CH_3$ ）ウラシル及びシトシン及びピリミジン塩基の他のアルキニル誘導体、6-アゾウラシル、シトシン及びチミン、5-ウラシル（シュドウラシル）、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-ヒドロキシル及び他の8-置換アデニン及びグアニン、5-ハロ、特に5-プロモ、5-トリフルオロメチル及び他の5-置換ウラシル及びシトシン、7-メチルグアニン及び7-メチルアデニン、2-F-アデニン、2-アミノアデニン、8-アザグアニン及び8-アザアデニン、7-デアザグアニン及び7-デアザアデニン及び3-デアザグアニン及び3-デアザアデニンなどの、他の合成及び天然核酸塩基が挙げられる。更なる修飾核酸塩基として、フェノキサジンシチジン（1H-ピリミド [5, 4-b] [1, 4] ベンゾオキサジン-2 (3H)-オン）、フェノチアジンシチジン（1H-ピリミド [5, 4-b] [1, 4] ベンゾチアジン-2 (3H)-オン）、G-c l a m p、例えば、置換フェノキサジンシチジン（例えば、9-(2-am-o e l h o x y)-H-ピリミド [5, 4-b] [1, 4] ベンゾオキサジン-2 (3H)-オン）、カルバゾールシチジン（2H-ピリミド [4, 5-b] インドール-2-オン）、ピリドインドールシチジン（H-ピリド [3, 2, 5] ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-2-オン）などの三環式ピリミジンが挙げられる。修飾核酸塩基はまた、プリン塩基又はピリミジン塩基が他のヘテロ環で置換されたもの、例えば、7-デアザーアデニン、7-デアザグアノシン、2-アミノピリジン、及び2-ピリドンを含み得る。

【0108】

いくつかの実施形態では、修飾核酸塩基は、5-メチルシトシン、2, 6-ジアミノプリン、5-メチルウラシル、及び g-c l a m p からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、g-c l a m p は、

【0109】

【化36】



である。

【0110】

「立体配置的に制限されたヌクレオシド」は、架橋された又は二環式の糖構造を有する

ヌクレオシドを指し、ヌクレオシドの立体構造は、特定の立体配置に固定され得る。例えば、立体配置的に制限されたヌクレオシドとしては、固定された C_3' エンド型の糖パッキングを有するものが挙げられる。例示的实施形態としては、架橋核酸 (BNA)、例えば、 α -L-メチレンオキシ ($4' - CH_2 - O - 2'$) LNA、 β -D-メチレンオキシ ($4' - CH_2 - O - 2'$) LNA、エチレンオキシ ($4' - (CH_2)_2 - O - 2'$) ENA、 $2', 4' - BN^A C [NH]$ 、 $2', 4' - BN^A C [NMe]$ 、 $2', 4' - BN^A N^C [NBn]$ 、アミノオキシ ($4' - CH_2 - O - N(R) - 2'$) BNA、及びオキシアミノ ($4' - CH_2 - N(R) - O - 2'$) BNA などの $2', 4' - BNA$ ヌクレオシドが挙げられる。他の例示的な BNA 構造としては、限定されないが、糖の $4'$ と $2'$ の位置との間に少なくとも 1 つの架橋を有するオリゴヌクレオチドが挙げられ、架橋の各々は、独立して、 $-[C(R_1)(R_2)]_n-$ 、 $-C(R_1)=C(R_2)-$ 、 $-C(R_1)=N-$ 、 $-C(=NR_1)-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=S)-$ 、 $-O-$ 、 $-Si(R_1)_2-$ 、 $-S(=O)_x-$ 、及び $-N(R_1)-$ から独立して選択してされる 1 又は 2 ～ 4 つの連結基を含み、式中、 x は 0、1、又は 2 であり、 n は、1、2、3、又は 4 であり、各 R_1 及び R_2 は、独立して、H、保護基、ヒドロキシル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、置換された $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、置換された $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、置換された $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$ アリール、置換された $C_5 \sim C_{20}$ アリール、複素環ラジカル、置換された複素環ラジカル、ヘテロアリール、置換されたヘテロアリール、 $C_5 \sim C_7$ 脂環式ラジカル、置換された $C_5 \sim C_7$ 脂環式ラジカル、ハロゲン、 OJ_1 、 NJ_1J_2 、 SJ_1 、 N_3 、 $COOJ_1$ 、アシル ($C(=O)-H$)、置換されたアシル、 CN 、スルホニル ($S(=O)_2-J_1$)、又はスルホキシル ($S(=O)-J_1$) であり、各 J_1 及び J_2 は、独立して、H、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、置換された $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、置換された $C_2 \sim C_{12}$ アルケニル、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、置換された $C_2 \sim C_{12}$ アルキニル、 $C_5 \sim C_{20}$ アリール、置換された $C_5 \sim C_{20}$ アリール、アシル ($C(=O)-H$)、置換されたアシル、複素環ラジカル、置換された複素環ラジカル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、置換された $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、又は保護基である。ある特定の BNA が、調製され、特許文献及び科学文献において開示されている (例えば、発行された米国特許第 7,053,207 号、同第 6,268,490 号、同第 6,770,748 号、同第 6,794,499 号、同第 7,034,133 号、同第 6,525,191 号、同第 7,696,345 号、同第 7,569,575 号、同第 7,314,923 号、同第 7,217,805 号、及び同第 7,084,125 号を参照されたく、本明細書において、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。「立体配置的に制限されたヌクレオチド」は、サブユニット間結合を介して連結された、立体配置的に制限されたヌクレオシドを指す。

10

20

30

40

50

【0111】

いくつかの実施形態では、立体配置的に制限されたヌクレオシドは、任意選択的に置換された LNA 又は任意選択的に置換された ENA から選択される。任意選択的に置換された LNA 又は ENA は、アルキル部分、例えば、 $-CH_2-$ 部分のうちの 1 つ上のメチル又はエチルによって置換され得る。

【0112】

以下の略語が本開示で使用される。 $2' - H$ (デオキシリボース) ヌクレオシドは、核酸塩基に対応する大文字で、例えば、A、C、G 及び T と称される。 $2' - OH$ (リボース) ヌクレオシドは、小文字 r と核酸塩基に対応する大文字で、例えば、 rA 、 rC 、 rG 及び rU と称される。 $2' - O - Me$ ヌクレオシドは、小文字 m と核酸塩基に対応する大文字で、例えば、 mA 、 mC 、 mG 、及び mU と称される。 $2' - MOE$ ヌクレオシドは、小文字「 moe 」と核酸塩基に対応する大文字で、例えば、 $moeA$ 、 $moeC$ 、 $moeG$ 及び $moeU$ と称される。 $2' - リボ - F$ ヌクレオシドは、小文字「 f 」と核酸塩基に対応する大文字で、例えば、 fA 、 fC 、 fG 及び fU と称される。 $2' - アラビノ - F$ ヌクレオシドは、小文字「 af 」と核酸塩基に対応する大文字で、例えば、 afA 、 a

f C、a f G、及び a f U と称される。m A^{*} は、3'-アミノ-2'-OMe-2,6-ジアミノプリンである。A^{*} は、3'-アミノ-2-デオキシ-2,6-ジアミノプリンである。f A^{*} は、3'-アミノ-2'-F-2,6-ジアミノプリンである。LNAヌクレオシドは、「L」と核酸塩基に対応する大文字で、例えば L A、L C、L G、L T と称される。

【0113】

ヌクレオチドの骨格又はサブユニット間結合について、リン酸ジエステルサブユニット間結合は、「p o」と称されるか、又は一般に配列の詳細には含まれない。チオリン酸サブユニット間結合は、小文字「p s」と略記される。ホスホロアミダートサブユニット間結合は、小文字「n p」と略記される。チオホスホロアミダートサブユニット間結合は、小文字「n p s」と略記される。

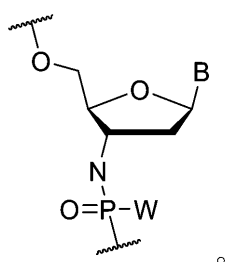
10

【0114】

N 3' → P 5' は、3'部分がNを含有し（例えば、NH）、Pを介して連結される、サブユニット間結合を有する修飾ヌクレオチドを指す。例えば、以下の構造は、N 3' → P 5' 結合を有する：

【0115】

【化37】



20

【0116】

ある範囲の値が提供される場合、その間の各値（文脈により別途明確に示されない限り、その範囲及び他に記載された範囲の上限と下限との間の下限の単位の10分の1まで、つまり、その記載された範囲の間の各値）は、本開示に包含されると理解される。これらのより小さい範囲の上限値及び下限値は、独立してその小さい範囲に含まれる場合もあり、記載された範囲から任意の限界値が具体的に除外され得るものとして、やはり本開示の範囲に含まれるものとする。記載された範囲が限界値の一方又は両方を含む場合、これらの含まれた限界値の一方又は両方を除外する範囲もやはり本開示に含まれるものとする。

30

【0117】

本開示は、記載される特定の実施形態に限定されるものではなく、したがって変更可能である。本明細書に使用される専門用語は、特定の実施形態のみを説明する目的のためであり、制限されることを意図せず、本開示の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ制限されることも理解されるべきである。

【0118】

本開示を読むことによって当業者には明白となるように、本明細書に記載し例示される個々の実施形態各々、本開示の範囲及び趣旨から逸脱することなく、他のいくつかの実施形態のいずれかの特徴から容易に分離されるか、又はそれらの特徴と組み合わせられ得る、別個の構成要素及び特徴を有する。いかなる列挙された方法も、列挙された事象の順序で、又は論理的に可能な他の任意の順序で実施することができる。

40

【0119】

本明細書に引用される全ての刊行物及び特許は、各個々の刊行物又は特許が、参照により組み込まれることが具体的かつ個々に示されているかのように参照により本明細書に組み込まれ、その文献が引用されている方法及び／又は材料に関連して開示及び説明するために、参照により本明細書に組み込まれる。いかなる刊行物の引用も、出願日前に開示されているためであり、本開示が先行開示によりそのような刊行物を先行する権利を有しな

50

いことを容認するものとして解釈されるべきではない。更に記載される刊行物の日付は実際に公開された日付とは異なる可能性があり、これは別個に確認を要する場合がある。

【実施例】

【0120】

合成

次に、本明細書において提供される方法において有用な例示的な化合物を、以下のそれらの一般的調製についての例示的な合成スキームと、それに続く具体例とを参照することによって説明する。本明細書における様々な化合物を得るために、出発物質を好適に選択して、最終的に所望される置換基が、所望の生成物を得るのに適切であるように保護を用いる又は保護を用いない反応スキームを通して産出されることを、当業者は理解するであろう。代替的に、最終的に所望の置換基の代わりに、反応スキームを通して保持されかつ所望の置換基で適宜置換され得る好適な基を用いることが必要な又は望ましい場合があり得る。別途指定されない限り、可変部は、式（I）を参照して上で定義したとおりである。反応は、溶媒の融点と還流温度との間、好ましくは0℃と溶媒の還流温度との間で実施され得る。反応は、従来式加熱又はマイクロ波加熱を用いて加熱され得る。反応はまた、密閉圧力容器内で、溶媒の通常の還流温度より高い温度で実施され得る。

10

【0121】

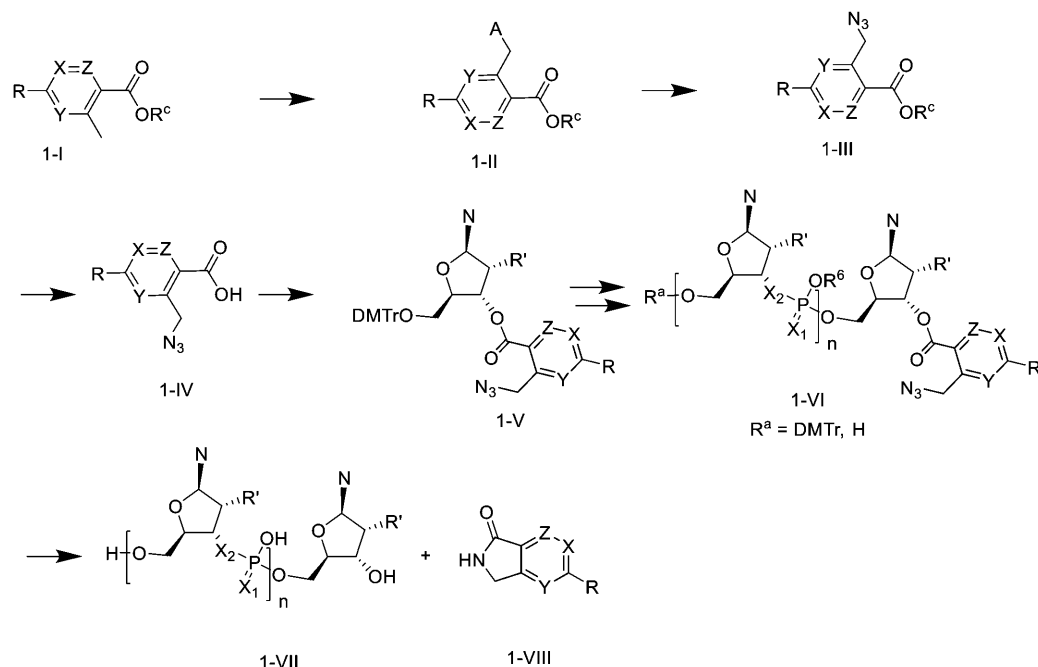
次に、本明細書において提供される方法において有用な例示的な化合物を、以下のそれらの一般的調製についての例示的な合成スキームと、それに続く具体例とを参照することによって説明する。

20

【0122】

【化38】

スキーム 1



30

40

【0123】

スキーム 1 によれば、商業的に利用可能な又は合成的に入手可能な式（1-I）の化合物を、当業者に既知の条件を用いて、アジドによる求核置換のために位置付けられた式（1-II）の活性化中間体に形質転換して、式（1-III）の化合物を得、式中、A は、ハロゲン化物又はメシレート／トシレート／トリフレートであり、R は、スペーサーを介して結合された可溶性支持体又は固体支持体であり、R^c は、アルキルであり、X、Y、及び Z は、それぞれ、CH 及び N から選択され、X₁ は、O 又は S、X₂ は、O 又は NH であり、XZ は、第 2 の環と縮合し得る。

50

【0124】

式(1-III)の安息香酸エステルを加水分解し、当業者に既知の条件を用いて保護されたヌクレオシドの3'-OHにカップリングして、式(1-V)の化合物を得、これを、当業者に既知のプロトコルに従って、5'-OHでデブロックし、伸長して、式(1-VI)の完全に保護されたオリゴヌクレオチドを得る。

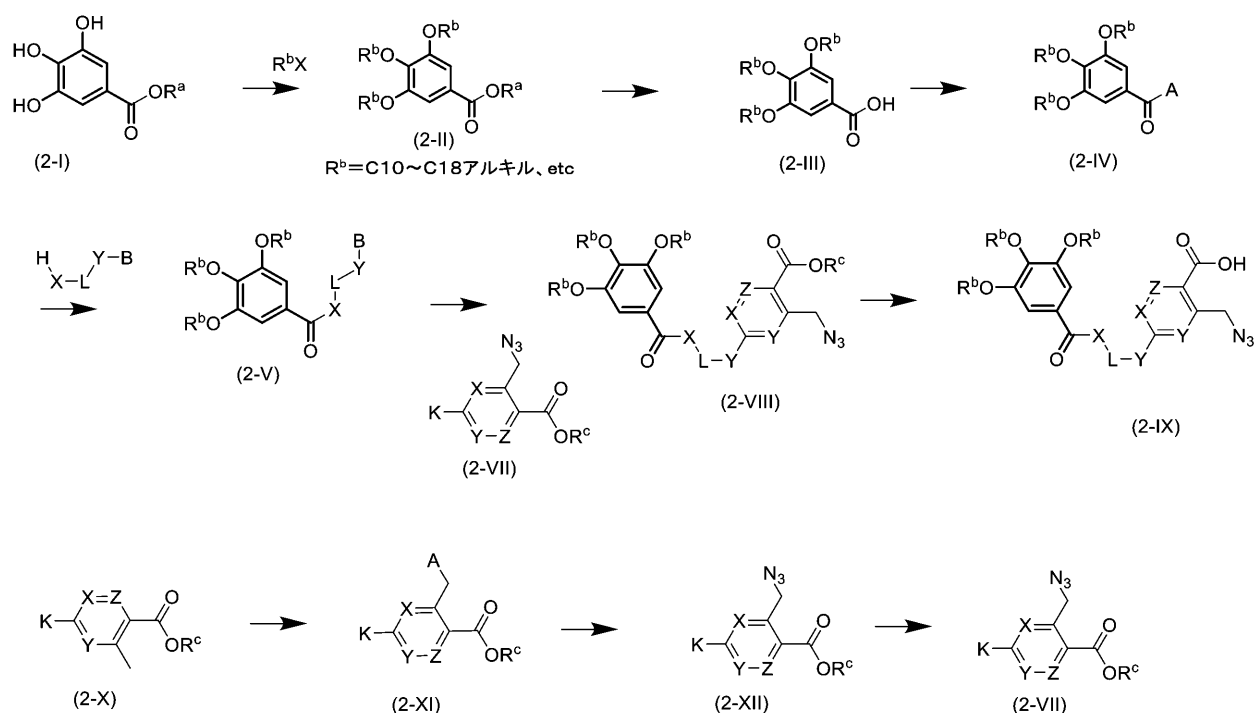
【0125】

式(1-VI)のオリゴヌクレオチドの支持体を、当業者に既知の条件を用いて、ホスフィン又は水素化による処理、及び全体的な脱保護によって選択的に切断して、式(1-VII)のオリゴヌクレオチドを得る。

【0126】

【化39】

スキーム2



【0127】

スキーム2によれば、商業的に利用可能な又は合成的に入手可能な式(2-I)の化合物を、アルキル化して、式(2-II)の化合物を得、これを、当業者に既知の条件を用いて、加水分解し、式(2-III)の安息香酸に酸性化する。化合物(2-III)の活性化、続いてスパーサーとのカップリングは、式(2-V)のエステル又はアミドの形成をもたらす。当業者に既知の条件を用いて、化合物(2-V)と化合物(2-VII)とのカップリングにより、式(2-VIII)のアジドを得る。式(2-VIII)の安息香酸エステルの加水分解により、式(2-IX)の可溶性支持体を得、式中、Aは、ハロゲン化物、及び活性化脱離基又はメシレート／トシレート／トリフレートであり、Bは、保護基又は脱離基であり、Kは、求核剤又は脱離基であり、 R^a 及び R^c は、それぞれ、アルキルであり、 R^b は、長鎖アルキル($C_{10} \sim C_{18}$)であり、X、Y、及びZは、それぞれ、CH及びNから選択され、XZは、第2の環と縮合し得る。

【0128】

10

20

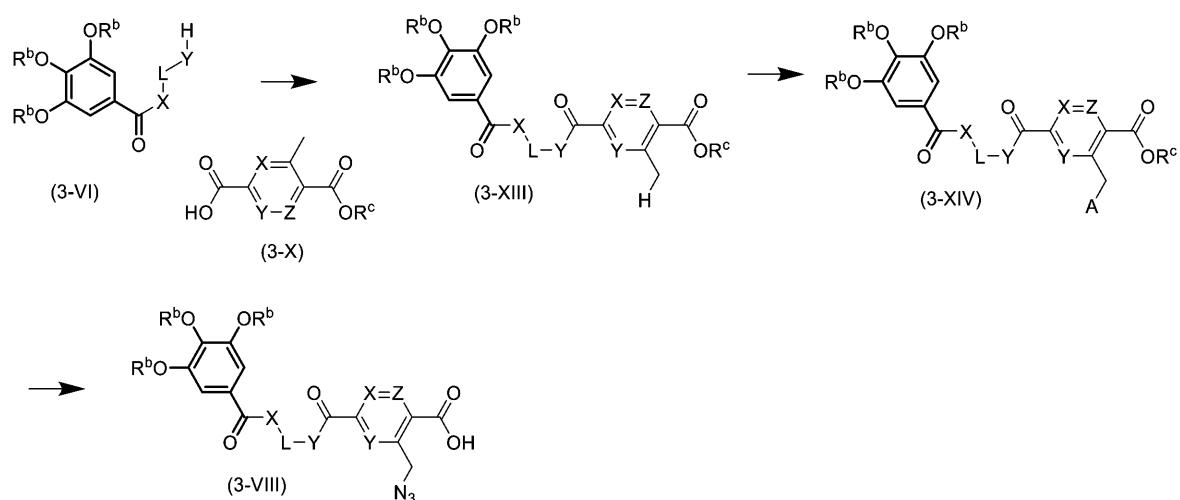
30

40

50

【化 4 0】

スキーム 3



10

【 0 1 2 9】

代替的に、スキーム 3 によれば、アジドは、置換されたトルエンの活性化によって可溶性支持体の完全に構築された分子足場に導入され、続いてアジド塩で置換される。

【 0 1 3 0】

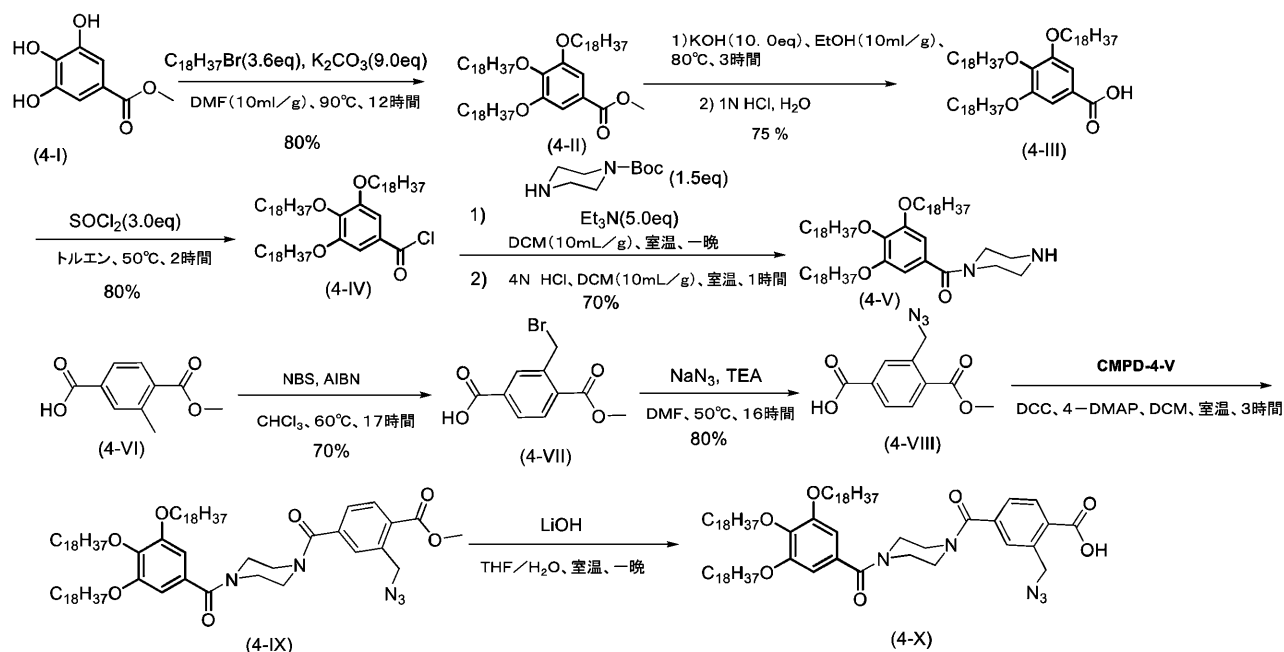
20

30

40

50

スキーム 4



Chemical reaction scheme showing the synthesis of compound 5-VIII from 5-IV:

5-IV (2,4,6-trisubstituted benzamide derivative) is converted to 5-V (2-azido-4-methoxyphenyl derivative) using NaN_3 in EtOH at 75°C.

5-V is converted to 5-VI (4-azido-2-methoxyphenyl derivative) using $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ in THF.

5-VI is converted to 5-VII (complex molecule containing a nucleoside core and a 2-azido-4-methoxyphenyl group).

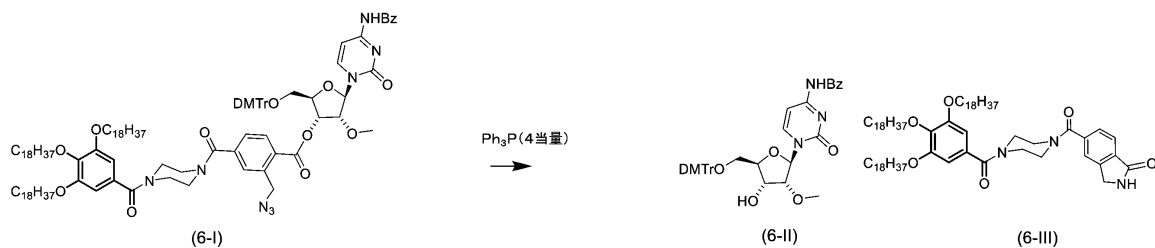
5-VII is converted to 5-VIII (complex molecule containing a nucleoside core and a 2-azido-4-methoxyphenyl group).

【 0 1 3 1 】

【化 4 2】

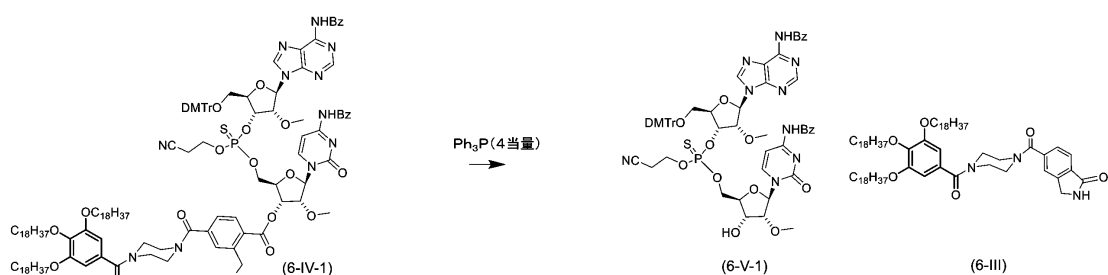
スキーム 6

モノマーの切断:

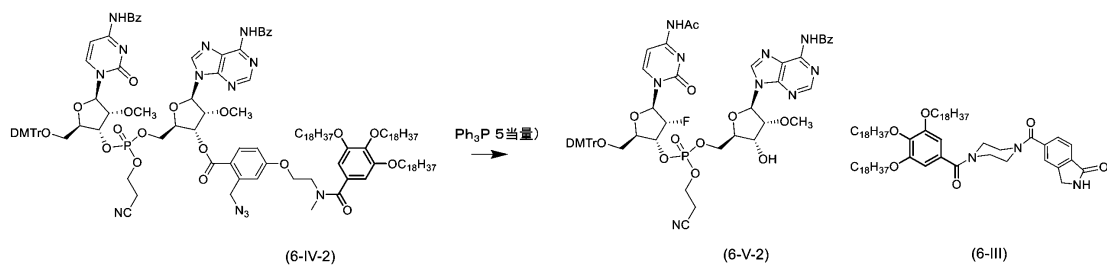


10

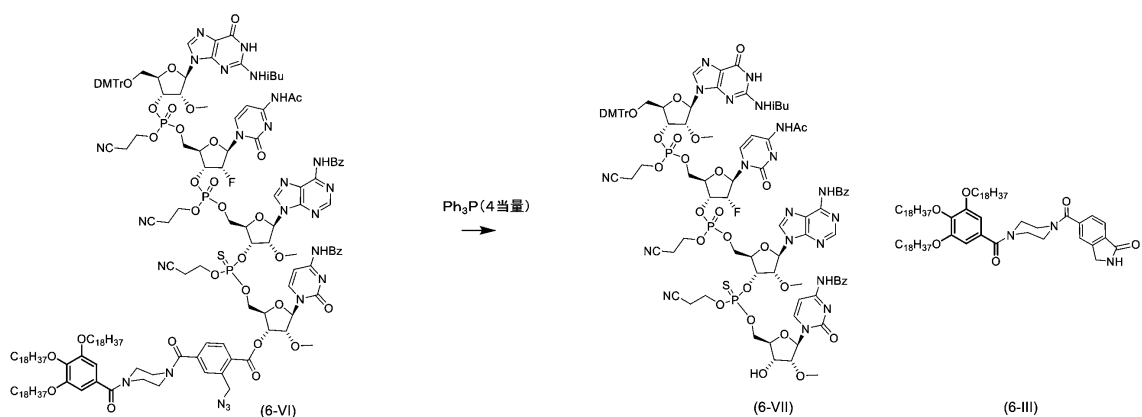
ダイマーの切断:



20



テトラマーの切断:



30

40

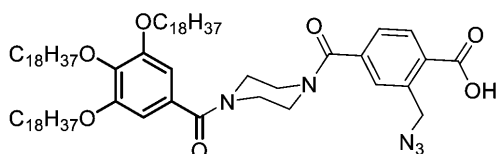
【0132】

実施例 1: 2-(アジドメチル)-4-(4-(3,4,5-トリス(オクタデシルオキシ)ベンゾイル)ピペラジン-1-カルボニル)安息香酸。

【0133】

50

【化 4 3】

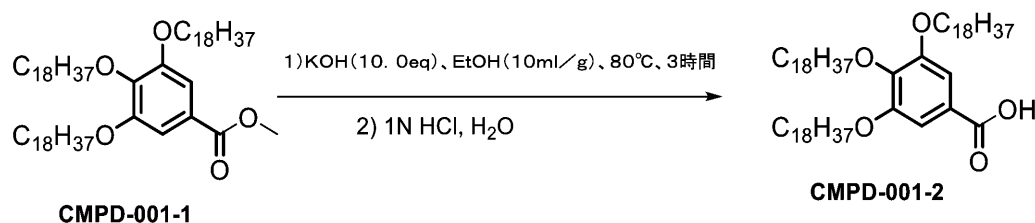


【0 1 3 4】

1. CMPD-001-2 の合成

【0 1 3 5】

【化 4 4】



【0 1 3 6】

不活性窒素雰囲気、390 mL のエタノール中の CMPD-001-1 (39 g、41 mmol、1.0 eq.) の溶液に、水酸化カリウム (23 g、414.5 mmol、10.0 eq.) を室温で添加した。得られた溶液を 80 °C で 3 時間攪拌し、減圧下で濃縮した。溶液の pH 値を塩酸 (1 mol/L) で 1~2 に調整し、混合物を室温で 1 時間攪拌した。固体を濾過により収集し、それぞれ、アセトニトリル、アセトン、及びエタノールで洗浄した。29 g (76%) の CMPD-001-2 を白色の固体として得た。¹H NMR (300 MHz、クロロホルム-d) δ 7.35 (s, 2H), 4.05 (m, 5H), 3.60-3.31 (m, 1H), 1.91-1.70 (m, 6H), 1.50 (m, 6H), 1.28 (s, 84H), 0.96-0.86 (m, 9H)。

【0 1 3 7】

2. CMPD-002-2 の合成

【0 1 3 8】

【化 4 5】



【0 1 3 9】

不活性窒素雰囲気、200 mL のトルエン中の CMPD-001-2 (24 g、25.9 mmol、1.0 eq.) の溶液に、塩化チオニル (9 g、0.77 mol、3.0 eq.) を室温で添加した。得られた溶液を 50 °C で 2 時間攪拌し、減圧下で濃縮した。24 g (粗製) の CMPD-002-2 を無色の油として得た。これを、更に精製することなく、次の工程で使用した。

【0 1 4 0】

3. CMPD-002-3 の合成

【0 1 4 1】

10

20

30

40

50

【化 4 6】



【0142】

240 mL のジクロロメタン中の CMPD-002-2 (24 g、25.4 mmol、1.00 eq.) の溶液に、トリエチルアミン (12.8 g、127 mmol、5.0 eq.) 及び tert-ブチル 1-ピペラジincarboxylate (7.1 g、38.1 mmol、1.5 eq.) を室温で添加した。得られた溶液を一晩、室温で攪拌した。溶液の pH 値を塩酸 (4 mol/L) で 1~2 に調整し、混合物を室温で 1 時間攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させた。固体を濾過により収集し、それぞれ、アセトニトリル、アセトン、及びメタノールで洗浄した。15 g (2 工程にわたって 68%) の CMPD-002-3 を白色の固体として得た。MS m/z $[M+H]^+$ (ESI): 982. ^1H NMR (300 MHz、クロロホルム-d) δ 10.14 (s, 1H), 6.59 (s, 2H), 3.98 (m, 10H), 3.25 (s, 4H), 1.79 (m, 6H), 1.45-1.43 (m, 6H), 1.28 (m, 84H), 0.99-0.81 (m, 9H)。

10

20

【0143】

4. CMPD-003-21 の合成

【0144】

【化 4 7】



30

【0145】

60 mL のクロロホルム中の 4-(メトキシカルボニル)-3-メチル安息香酸 (6.00 g、31 mmol、1.0 eq.) の溶液に、N-ブロモスクシンイミド (6.05 g、34 mmol、1.10 eq.) 及び 2,2'-アゾビス(2-メチルプロピオニトリル) (3.05 g、18.6 mmol、0.6 eq.) を室温で添加した。得られた溶液を、65°C で 2 時間攪拌した。次いで、室温まで冷却し、真空下で濃縮した。残留物を以下の条件でフラッシュ分取 HPLC により精製した：カラム、C18 シリカゲル；移動相、水 (0.05% HCOOH を含有する) 及びアセトニトリル；検出器、UV 254 nm。画分をジクロロメタンで希釈した。有機相を、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。6 g (71%) の CMPD-003-21 をオフホワイト色の固体として得た。MS m/z $[M-H]^-$ (ESI): 271。

40

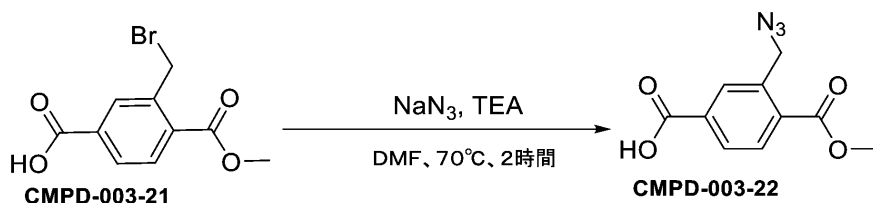
【0146】

5. CMPD-003-22 の合成

【0147】

50

【化 4 8】



【0148】

不活性窒素雰囲気、60 mL の N, N-ジメチルホルムアミド中の CMPD-003-21 (6 g、22.1 mmol、1.0 eq.) の溶液に、トリエチルアミン (6.7 g、66.3 mmol、3.0 eq.) 及びアジ化ナトリウム (2.87 g、44.2 mmol、2.0 eq.) を連続して室温で添加した。反応溶液を、70°C で 2 時間攪拌し、濃縮した。残留物を以下の条件でフラッシュ分取 HPLC により精製した：カラム、C18 シリカゲル；移動相、水 (0.05% HCOOH を含有する) 及びアセトニトリル (15 分で 5% アセトニトリル～最大 50%；検出器、UV 254 nm。画分をジクロロメタンで希釈した。有機相を、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。4.2 g (82%) の CMPD-003-22 をオフホワイト色の固体として得た。MS m/z $[M-H]^-$ (ESI) : 234。 ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.42 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.01 (s, 2H), 4.86 (s, 2H), 3.89 (s, 3H)。

10

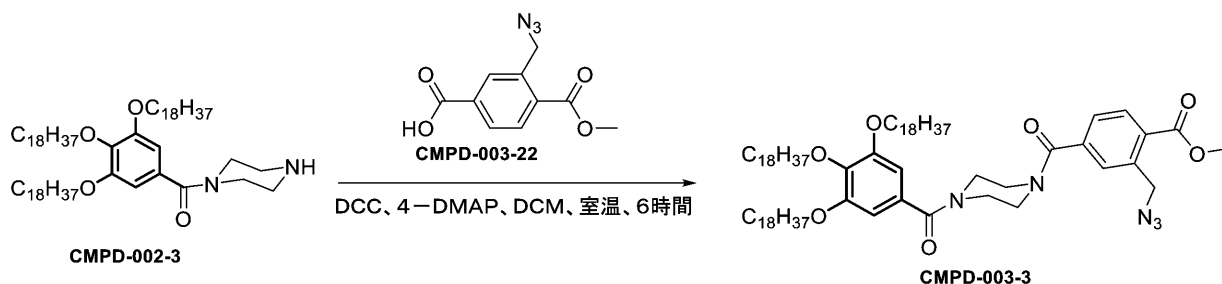
20

【0149】

6. CMPD-003-3 の合成

【0150】

【化 4 9】



30

【0151】

不活性窒素雰囲気、150 mL のジクロロメタン中の CMPD-002-3 (14.8 g、14.9 mmol、1.0 eq) の溶液に、CMPD-003-22 (4.2 g、17.8 mmol、1.2 eq.)、4-ジメチルアミノピリジン (3.66 g、30.0 mmol、2.0 eq.)、及びジシクロヘキシルカルボジイミド (6.0 g、30.0 mmol、2.0 eq.) を連続して室温で添加した。得られた溶液を室温で 6 時間攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させた。固体を濾過により収集し、それぞれ、エタノール、アセトニトリルで洗浄した。9.0 g (60%) の CMPD-003-3 を白色の固体として得た。MS m/z $[M+H]^+$ (ESI) : 1213。 ^1H NMR (300 MHz, クロロホルム- d) δ 8.09 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 6.60 (s, 2H), 4.89 (s, 2H), 4.00–3.93 (m, 8H), 3.70 (m, 5H), 3.53–3.39 (m, 2H), 1.86–1.66 (m, 8H), 1.46 (m, 6H), 1.27 (m, 84H), 0.89 (m, 9H)。

40

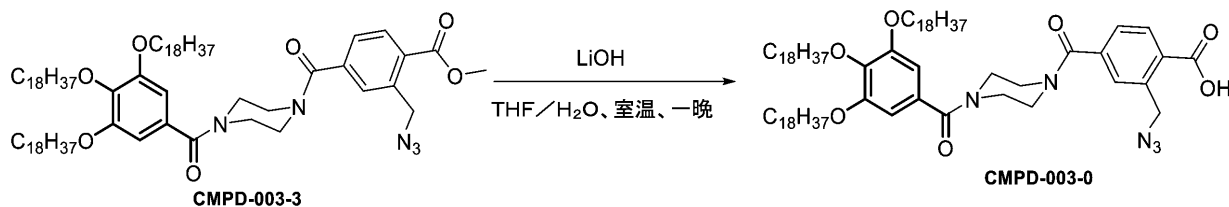
【0152】

7. CMPD-003-0 の合成

【0153】

50

【化 5 0】



【 0 1 5 4】

不活性窒素雰囲気、90 mL のテトラヒドロフラン／水（5：1）中の CMPD-003-0（9 g、7.4 mmol、1.0 eq.）の溶液に、水酸化リチウム（7.12 g、29.7 mmol、4.0 eq.）を室温で添加した。得られた溶液を一晩、室温で攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させた。溶液の pH 値を塩酸（1 mol/L）で 2 に調整し、混合物を室温で 1 時間攪拌した。固体を濾過により収集し、それぞれ、水、アセトニトリル、アセトニトリルで洗浄した。固体を 40℃で 24 時間真空下で乾燥させた。7.5 g（84%）の CMPD-003-0 を白色の固体として得た。MS m/z $[M-H]^-$ （ESI）：1197 1H NMR（300 MHz、クロロホルム- d ） δ 7.87（s, 1H），7.28（s, 2H），6.61（s, 2H），4.58（s, 1H），4.08–3.86（m, 6H），3.54（d, $J=61.9$ Hz, 6H），2.09（d, $J=37.9$ Hz, 3H），1.79（d, $J=12.1$ Hz, 7H），1.44（s, 6H），1.40–1.18（m, 84H），0.95–0.86（m, 9H）。

10

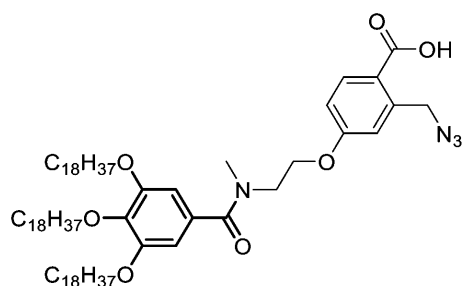
20

【 0 1 5 5】

実施例 2：2-（アジドメチル）-4-（2-（N-メチル-3,4,5-トリス（オクタデシルオキシ）ベンズアミド）エトキシ）安息香酸。

【 0 1 5 6】

【化 5 1】



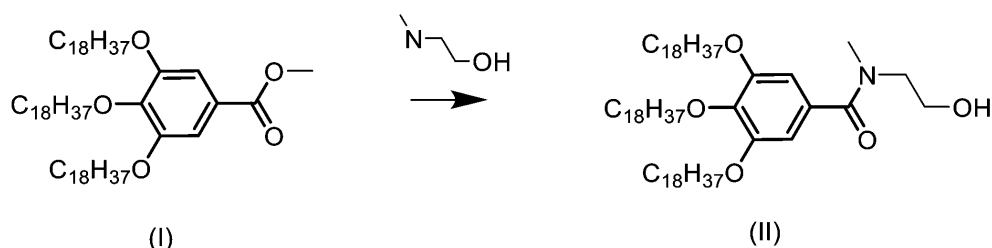
30

【 0 1 5 7】

工程 A．N-（2-ヒドロキシエチル）-N-メチル-3,4,5-トリス（オクタデシルオキシ）ベンズアミド。

【 0 1 5 8】

【化 5 2】



40

【 0 1 5 9】

50

I (5.0 g) に、N-メチルエタノールアミン (60 mL) を添加し、得られた混合物を、130℃で週末にわたって攪拌した。NMR分析は半分未満の完了を示し、反応温度を還流に上昇させた (180℃浴)。次いで、反応物を室温まで冷却し、DCM (150 mL) を添加し、混合物を室温で攪拌した。固体の回収した I を濾過により収集し、母液を、MeOH を添加することによって沈殿させた。固体を収集し、メタノールで洗浄して、90% NMR 純度の 3.4 g の II を得た。

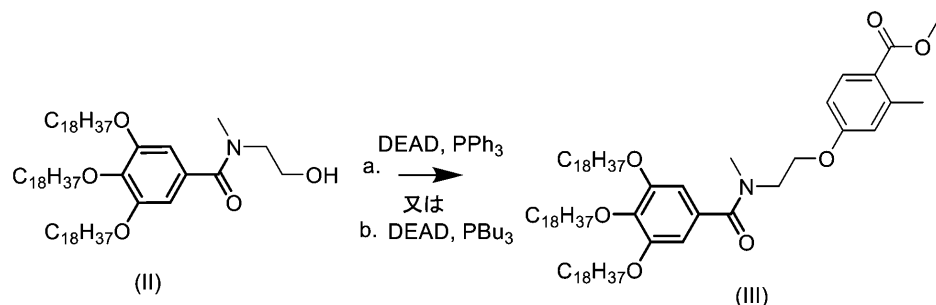
【0160】

工程 B. 2-メチル-4-(2-(N-メチル-3,4,5-トリス(オクタデシルオキシ)ベンズアミド)エトキシ)安息香酸メチル。

【0161】

【化53】

10



20

【0162】

DCM (10 mL) に溶解し、0℃で攪拌した II (1.0 g)、フェノール (0.36 mL)、及び TPP (0.53 g) に、トルエン (0.93 mL) 中 40 重量%の DEAD を添加し、得られた混合物を室温で一晩攪拌した。反応混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフ (EtOAc / ヘキサン、0~30%) により分離して、0.31 g の III を得た。

【0163】

代替的に、DCM (5 mL) に溶解し、0℃で攪拌した II (0.5 g)、フェノール (0.17 g)、及び TBP (0.25 mL) に、トルエン (0.46 mL) 中 40 重量%の DEAD を添加し、得られた混合物を室温で一晩攪拌した。生成物を、MeOH を添加することによって沈殿させた。固体を収集し、メタノールで洗浄して、0.25 g の III を得た。

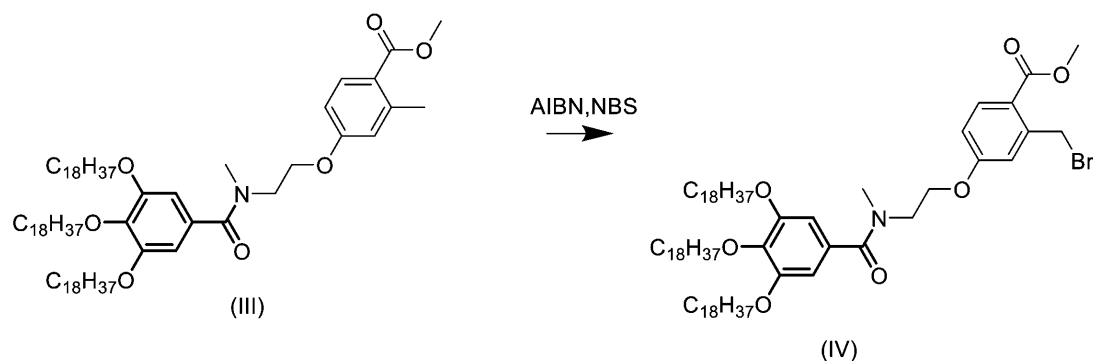
30

【0164】

工程 C. 2-(プロモメチル)-4-(2-(N-メチル-3,4,5-トリス(オクタデシルオキシ)ベンズアミド)エトキシ)安息香酸メチル。

【0165】

【化54】



40

【0166】

CCl₄ (4 mL) に溶解した III (0.58 g) 及び NBS (0.1 g) に、AIBN (0.05 g) を添加し、反応物を 65℃で3時間攪拌した。TLCは、反応がほぼ

50

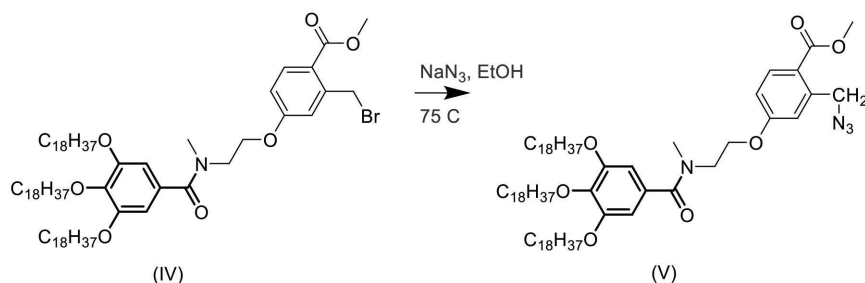
完了したことを示した。反応物に、 CH_3CN (15 mL) を添加し、混合物を15分間攪拌した。固体を収集し、シリカゲルカラムクロマトグラフ (EtOAc / ヘキサン、0 ~ 30 %) により分離して、0.24 g の生成物 IV を得た。

【0167】

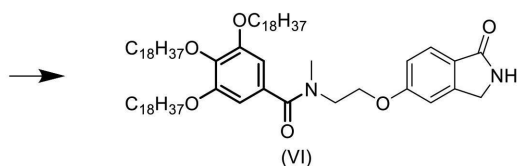
工程 D. 2-(アジドメチル)-4-(2-(N-メチル-3,4,5-トリス(オクタデシルオキシ)ベンズアミド)エトキシ)安息香酸メチル。

【0168】

【化55】



10



20

【0169】

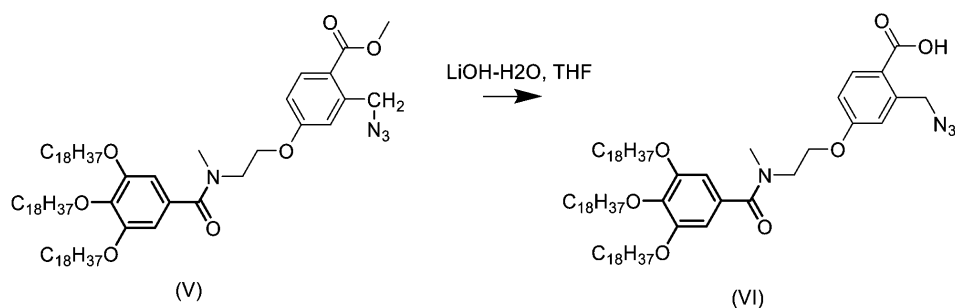
エタノール (3 mL) 中の IV (0.31 g) 及び NaN_3 (83 mg) の混合物を、70°C で一晩攪拌した。反応物を室温まで冷却し、メタノール (10 mL) を添加した。沈殿した固体を濾過により収集し、水 (3 mL) 及びメタノールで洗浄して、0.19 g の粗製生成物 V を得、少量の V の試料を $\text{PhP}_3\text{-H}_2\text{O}$ で処理し、割り当てられた構造を支持する VI を形成した。

【0170】

工程 E: 2-(アジドメチル)-4-(2-(N-メチル-3,4,5-トリス(オクタデシルオキシ)ベンズアミド)エトキシ)安息香酸。

【0171】

【化56】



40

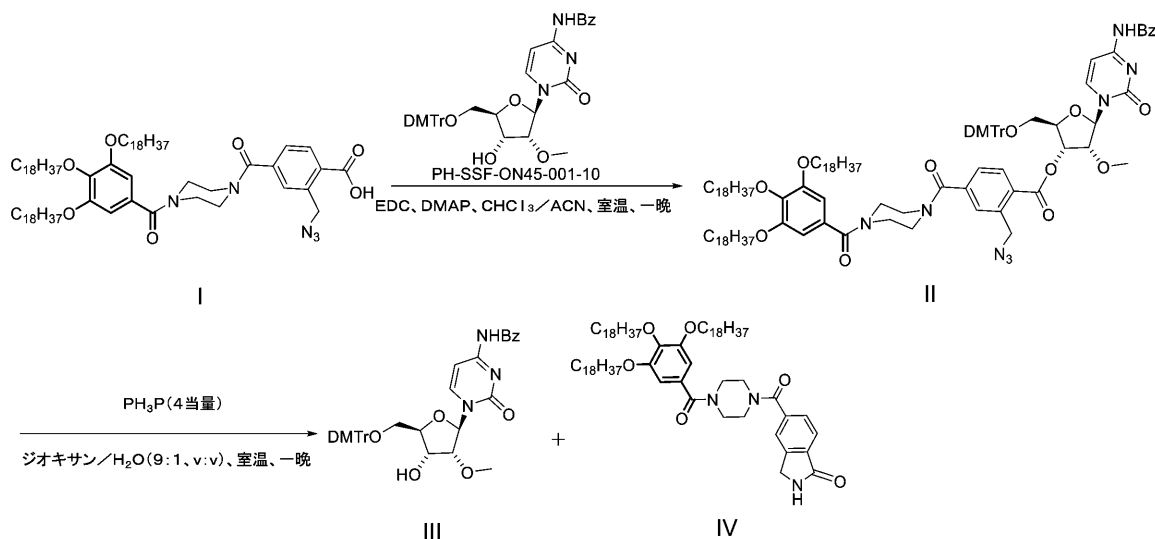
【0172】

THF (5 mL) 中の V (0.19 g) に、1M LiOH (1.62 mL) を添加し、反応物を室温で一晩攪拌した。揮発性物質を蒸発させ、残留物を限られた量の DCM に溶解し、MeOH を添加し、沈殿した固体を濾過により収集し、0.1N HCl (3 mL) 及びメタノールで洗浄して、生成物 44 mg を得た。

【0173】

50

【化 5 7】



10

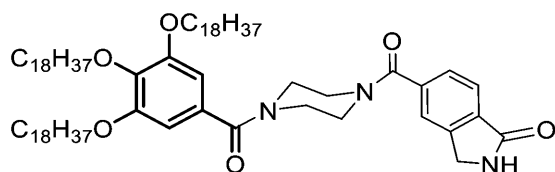
【0 1 7 4】

実施例 3：可溶性支持体の穏やかな切断及び 5-(4-(3,4,5-トリス(オクタデシルオキシ)ベンゾイル)ピペラジン-1-カルボニル)イソインドリン-1-オンの形成。

20

【0 1 7 5】

【化 5 8】



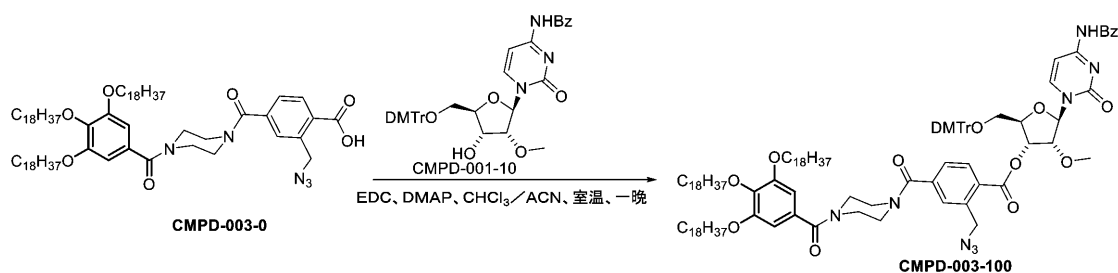
【0 1 7 6】

工程 A. (2R, 3R, 4R, 5R)-5-(4-ベンズアミド-2-オキソピリミジン-1(2H)-イル)-2-((ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-4-メトキシテトラヒドロフラン-3-イル 2-(アジドメチル)-4-(4-(3,4,5-トリス(オクタデシルオキシ)ベンゾイル)ピペラジン-1-カルボニル)ベンゾエート。

30

【0 1 7 7】

【化 5 9】



40

【0 1 7 8】

不活性 Ar 雰囲気、5 mL のクロロホルム/アセトニトリル (10/1, v/v) 中の CMPD-003-0 (500 mg、0.42 mmol、1.0 eq.) の溶液に、CMPD-001-10 (553 mg、0.84 mmol、2.0 eq.)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (120 mg、0.63 mmol、1.5 eq.)、及び 4-ジメチルアミノピリジン (77 mg、0.63 mmol

50

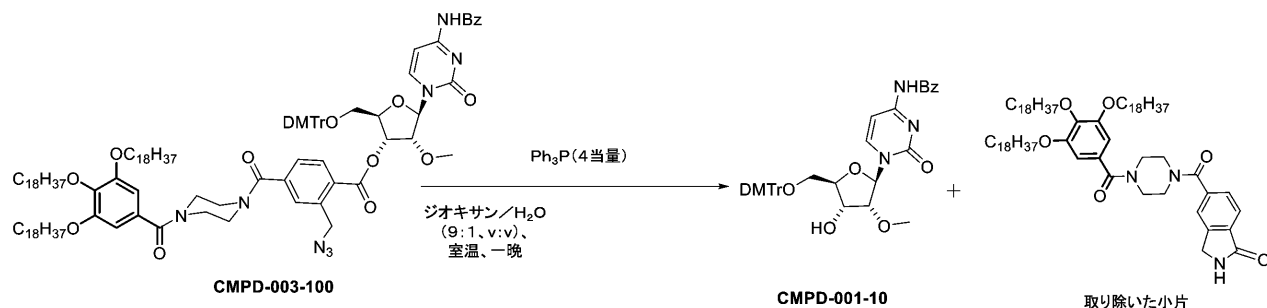
、1.5 eq.) を連続して室温で添加した。得られた溶液を一晩、室温で撹拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。400mg (70%収率) のCMPD-003-100を白色の固体として得た。MS m/z [M-H] - (ESI) : 1843。

【0179】

工程B. 5 - (4 - (3, 4, 5 - トリス (オクタデシルオキシ) ベンゾイル) ピペラジン - 1 - カルボニル) イソインドリン - 1 - オン。

【0180】

【化60】



10

【0181】

不活性Ar雰囲気中、1mLのジオキサン/水(9/1、v/v)中のCMPD-003-100(100mg、0.05mmol、1.0eq.)の溶液に、トリフェニルホスフィン(57mg、0.2mmol、4.0eq.)を室温で添加した。反応溶液を一晩、室温で撹拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。固体を、それぞれ、アセトニトリル、アセトン、及びメタノールで洗浄した。50mg(収率80%)の取り除いた小片をオフホワイト色の固体として得た。MS m/z [M+H] + (ESI) : 1155。1H NMR(300MHz、クロロホルム-d) δ 7.96(d, J=7.7Hz, 1H), 7.58(s, 1H), 7.52(d, J=7.9Hz, 1H), 6.62(m, 3H), 4.52(s, 2H), 3.98(m, 6H), 3.68(m, 8H), 1.83-1.76(m, 6H), 1.50-1.44(m, 6H), 1.28(m, 84H), 0.89(m, 9H)。

20

30

【0182】

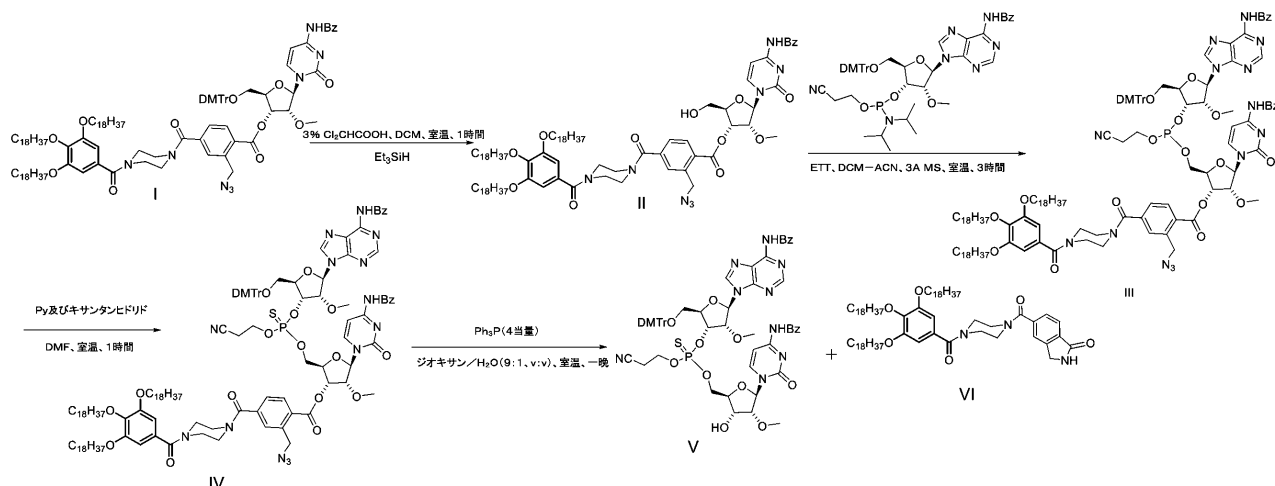
実施例4：可溶性支持体の穏やかな切断及びO-((2R, 3R, 4R, 5R)-5-(4-ベンズアミド-2-オキソピリミジン-1(2H)-イル)-3-ヒドロキシ-4-メトキシテトラヒドロフラン-2-イル)メチル)O-((2R, 3R, 4R, 5R)-5-(6-ベンズアミド-9H-プリン-9-イル)-2-((ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-4-メトキシテトラヒドロフラン-3-イル)O-(2-シアノエチル)ホスホロチオエートの形成。

【0183】

40

50

【化 6 1】



10

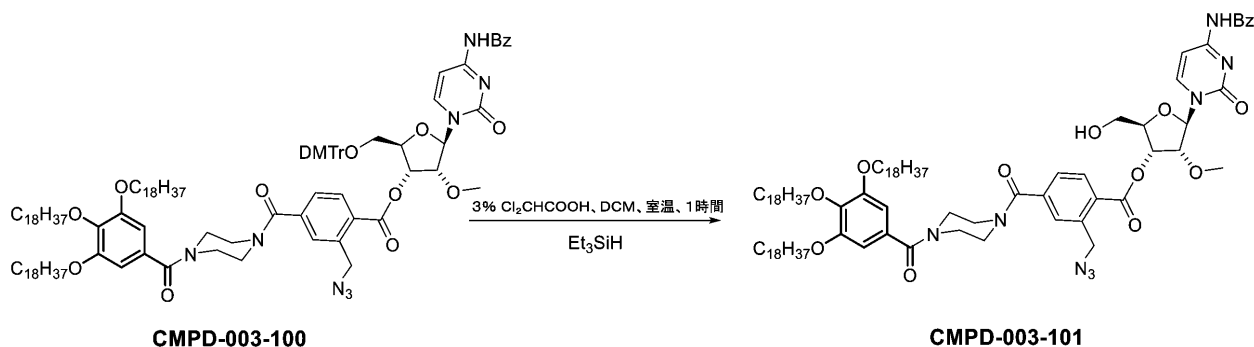
【0184】

工程 A. (2R, 3R, 4R, 5R) - 5 - (4 - ベンズアミド - 2 - オキソピリミジン - 1 (2H) - イル) - 2 - (ヒドロキシメチル) - 4 - メトキシテトラヒドロフラン - 3 - イル 2 - (アジドメチル) - 4 - (4 - (3, 4, 5 - トリス (オクタデシルオキシ) ベンゾイル) ピペラジン - 1 - カルボニル) ベンゾエート。

20

【0185】

【化 6 2】



30

【0186】

2 mL のジクロロメタン中の CMPD - 003 - 100 (200 mg、0.11 mmol、1.0 eq) の溶液に、0.12 mL のジクロロ酢酸を添加した。得られた溶液を、25℃で1時間攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。150 mg (90%) の CMPD - 003 - 101 をオフホワイト色の固体として得た。MS m/z [M+H]⁺ (ESI): 1543。

【0187】

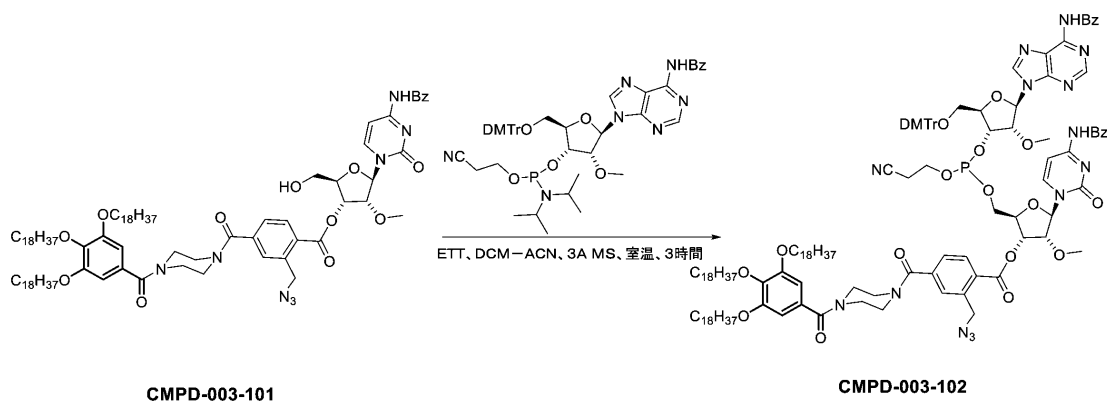
工程 B. (2R, 3R, 4R, 5R) - 5 - (4 - ベンズアミド - 2 - オキソピリミジン - 1 (2H) - イル) - 2 - (((((2R, 3R, 4R, 5R) - 5 - (6 - ベンズアミド - 9H - プリン - 9 - イル) - 2 - ((ビス (4 - メトキシフェニル) (フェニル) メトキシ) メチル) - 4 - メトキシテトラヒドロフラン - 3 - イル) オキシ) (2 - シアノエトキシ) ホスファニル) オキシ) メチル) - 4 - メトキシテトラヒドロフラン - 3 - イル 2 - (アジドメチル) - 4 - (4 - (3, 4, 5 - トリス (オクタデシルオキシ) ベンゾイル) ピペラジン - 1 - カルボニル) ベンゾエート。

40

【0188】

50

【化 6 3】



10

【0189】

CMPD-003-101を、乾燥ピリジン及び乾燥トルエンとの反復共蒸発によって乾燥させた。不活性Ar雰囲気及び3Aモレキュラーシーブを用いて、1.5mLのジクロロメタン中のCMPD-003-101(150mg、0.1mmol、1.0eq.)の溶液に、(2R, 3R, 4R, 5R)-5-(6-ベンズアミド-9H-プリン-9-イル)-2-((ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-4-メトキシテトラヒドロフラン-3-イル(2-シアノエチル)ジイソプロピルホスホアミダイト(133mg、0.15mmol、1.5eq.)及び0.1mLのアセトニトリル中の5-(エチルチオ)-1H-テトラゾール(39mg、0.3mmol、3.0eq.)を、連続して室温で添加した。得られた溶液を室温で1.5時間攪拌し、更に精製することなく次の工程に使用した。

20

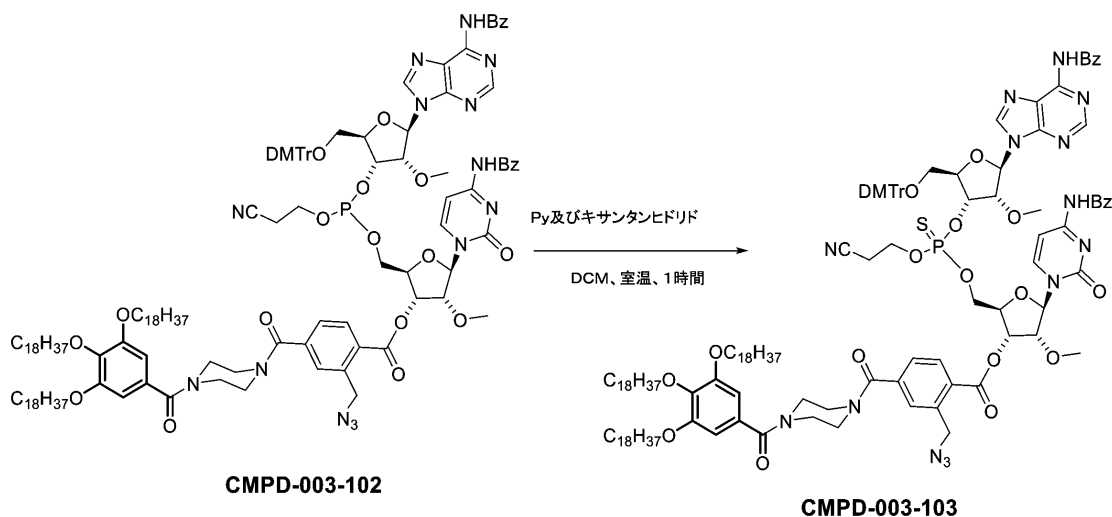
【0190】

工程C. (2R, 3R, 4R, 5R)-5-(4-ベンズアミド-2-オキソピリミジン-1(2H)-イル)-2-(((2R, 3R, 4R, 5R)-5-(6-ベンズアミド-9H-プリン-9-イル)-2-((ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-4-メトキシテトラヒドロフラン-3-イル)オキシ)(2-シアノエトキシ)ホスホチオイル)オキシ)メチル)-4-メトキシテトラヒドロフラン-3-イル2-(アジドメチル)-4-(4-(3, 4, 5-トリス(オクタデシルオキシ)ベンゾイル)ピペラジン-1-カルボニル)ベンゾエート。

30

【0191】

【化 6 4】



40

【0192】

不活性Ar雰囲気及び3Aモレキュラーシーブを用いて、得られたCMPD-003-102(0.1mmol、1.0eq.)の溶液に、ピリジン(80mg、1.0mmol)

50

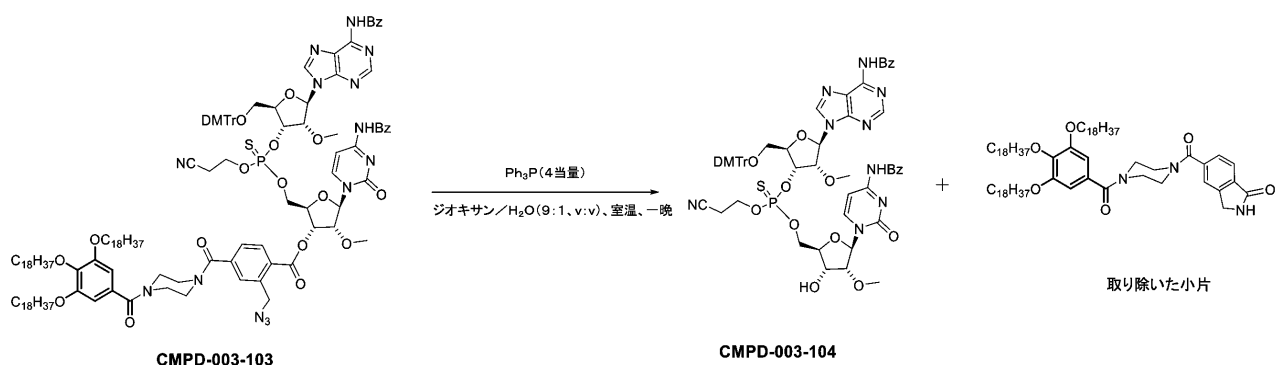
し、10.0 eq.) 及びキサンタンヒドリド (75 mg、0.5 mmol、5.0 eq.) を連続して室温で添加した。得られた溶液を室温で1.5時間攪拌した。得られた溶液を、濾過し、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。206 mg (2工程にわたって90%) のCMPD-003-103を白色の固体として得た。MS m/z [M+2+H]⁺ (ESI): 1180。

【0193】

工程D. O-((2R, 3R, 4R, 5R)-5-(4-ベンズアミド-2-オキソピリミジン-1(2H)-イル)-3-ヒドロキシ-4-メトキシテトラヒドロフラン-2-イル)メチル)O-((2R, 3R, 4R, 5R)-5-(6-ベンズアミド-9H-プリン-9-イル)-2-((ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-4-メトキシテトラヒドロフラン-3-イル)O-(2-シアノエチル)ホスホロチオエート及び5-(4-(3, 4, 5-トリス(オクタデシルオキシ)ベンゾイル)ピペラジン-1-カルボニル)イソインドリン-1-オン。

【0194】

【化65】



【0195】

不活性Ar雰囲気中、1 mLのジオキサン/水(9/1、v/v)中のCMPD-003-103(100 mg、0.05 mmol、1.0 eq.)の溶液に、トリフェニルホスフィン(57 mg、0.2 mmol、4.0 eq.)を室温で添加した。反応溶液を一晚、室温で攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。固体を、それぞれ、アセトニトリル、アセトン、及びメタノールで洗浄した。40 mg (80%) の取り除いた小片をオフホワイト色の固体として得た。MS m/z [M+H]⁺ (ESI): 1155。

【0196】

可溶性支持体からのCMPD-003-120(6-IV-2)の切断は、CMPD-003-103の切断に類似する方法で達成された。

【0197】

実施例5: 完全に保護されたGCAC-CSS

【0198】

10

20

30

40

50

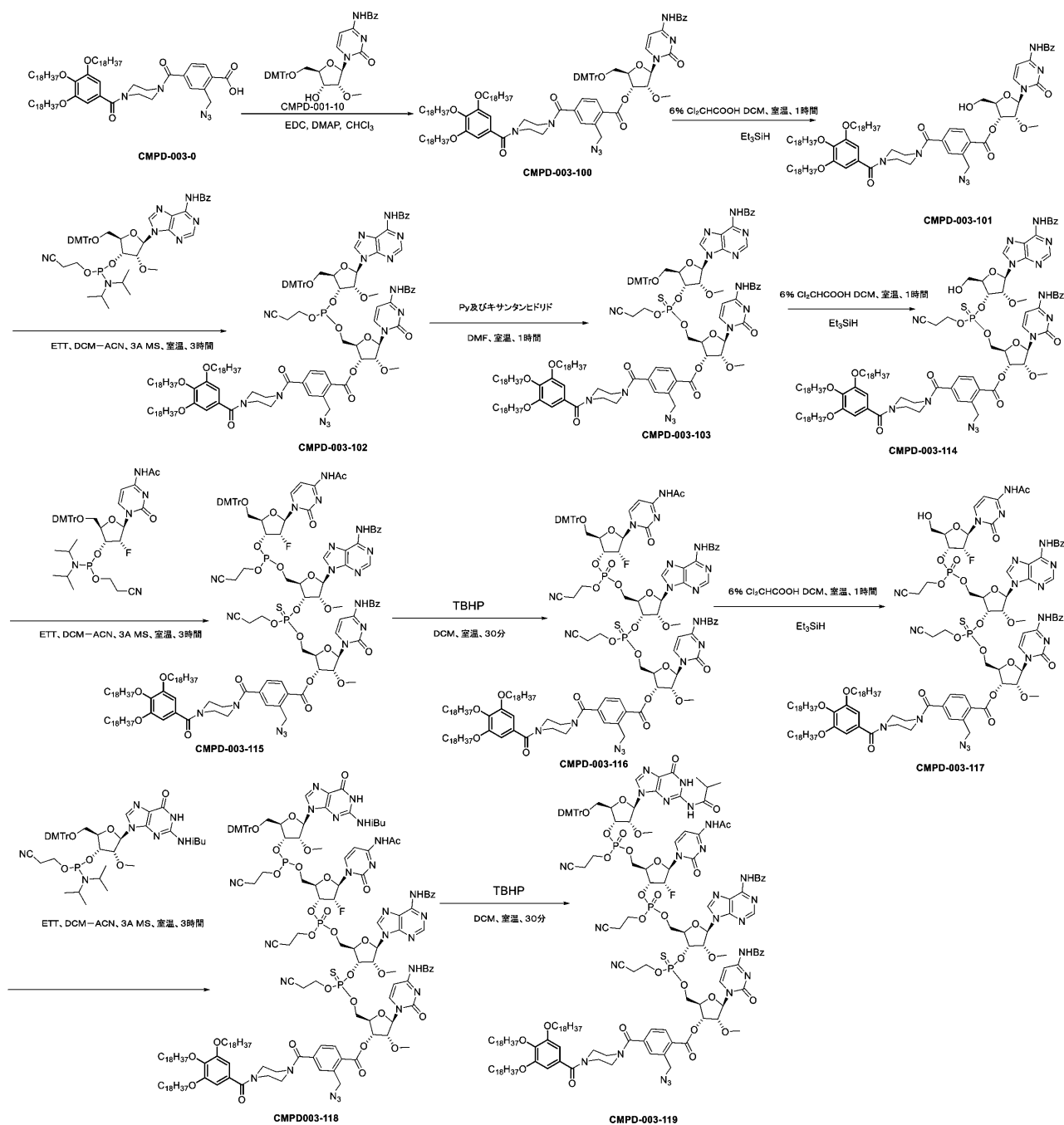
10

20

30

40

50



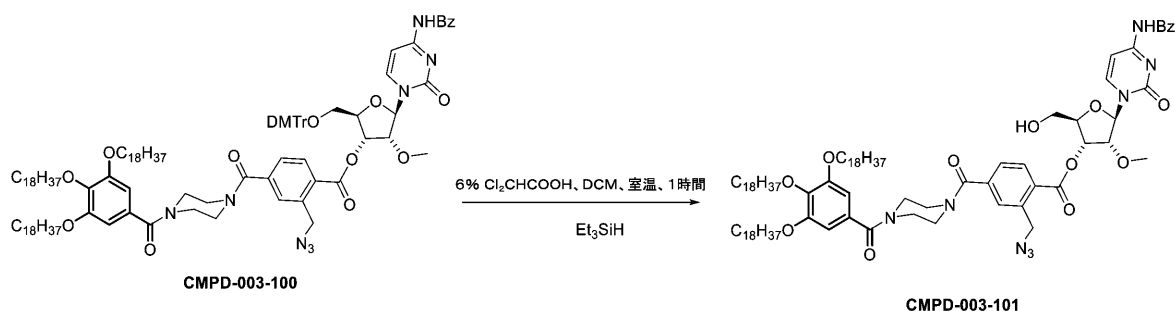
不活性アルゴン雰囲気、320 mL のクロロホルム／アセトニトリル（10／1、v／v）中のCMPD-003-0（3.2 g、2.67 mmol、1.0 eq.）の溶液に、CMPD-001-10（3.5 g、5.34 mmol、2.0 eq.）、1-（3-ジメチルアミノプロピル）-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（0.76 g、4.00 mmol、1.5 eq.）、及び4-ジメチルアミノピリジン（0.49 mg、4.00 mmol、1.5 eq.）を順次室温で添加した。得られた溶液を一晩、室温で撹拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。3.2 g（65%）のCMPD-003-100を白色の固体として得た。 $[M+H]^+$ （ESI）：923。

【0202】

2. CMPD-003-101の合成

【0203】

【化68】



【0204】

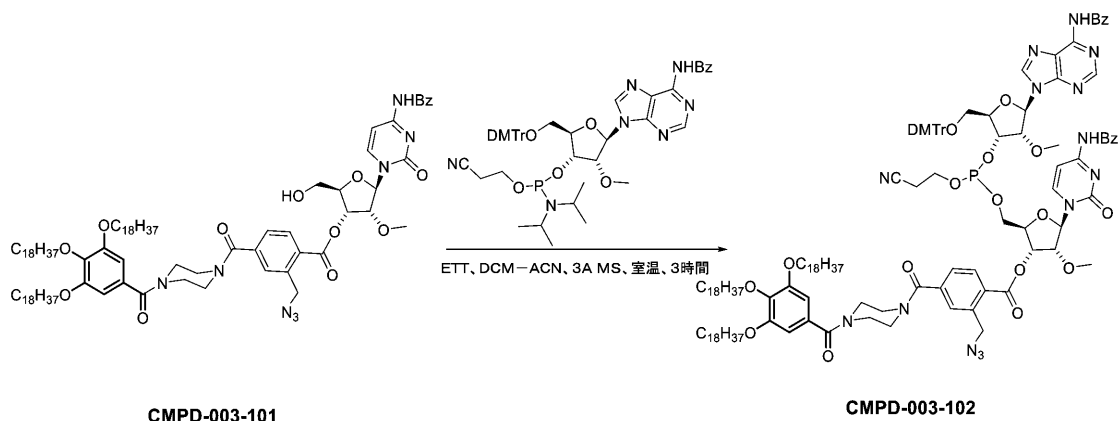
320 mL のジクロロメタン中のCMPD-003-100（3.2 g、1.73 mmol、1.0 eq.）の溶液に、19.2 mL のジクロロ酢酸及びトリエチルシラン（0.5 g、5.32 mmol、2.5 eq.）を連続して室温で添加した。得られた溶液を、25℃で1時間撹拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。2.5 g（93%）のCMPD-003-101をオフホワイト色の固体として得た。MS m/z $[M+H]^+$ （ESI）：1543。

【0205】

3. CMPD-003-102の合成

【0206】

【化69】



【0207】

CMPD-003-101を、乾燥ピリジン及び乾燥トルエンとの反復共蒸発によって乾燥させた。不活性アルゴン雰囲気及び3 Åモレキュラーシーブを用いて、25 mL のジクロロメタン中のCMPD-003-101（2.5 g、1.62 mmol、1.0 eq.）の溶液に、（2R, 3R, 4R, 5R）-5-（6-ベンズアミド-9H-プリン-

10

20

30

40

50

9-イル)-2-((ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-4-メトキシテトラヒドロフラン-3-イル(2-シアノエチル)ジイソプロピルホスホアミダイト(2.87g、3.24mmol、2eq.)及び2.5mLのアセトニトリル中の5-(エチルチオ)-1H-テトラゾール(0.6g、4.86mmol、3.0eq.)を、連続して室温で添加した。得られた溶液を室温で3時間攪拌し、更に精製することなく次の工程で使用した。

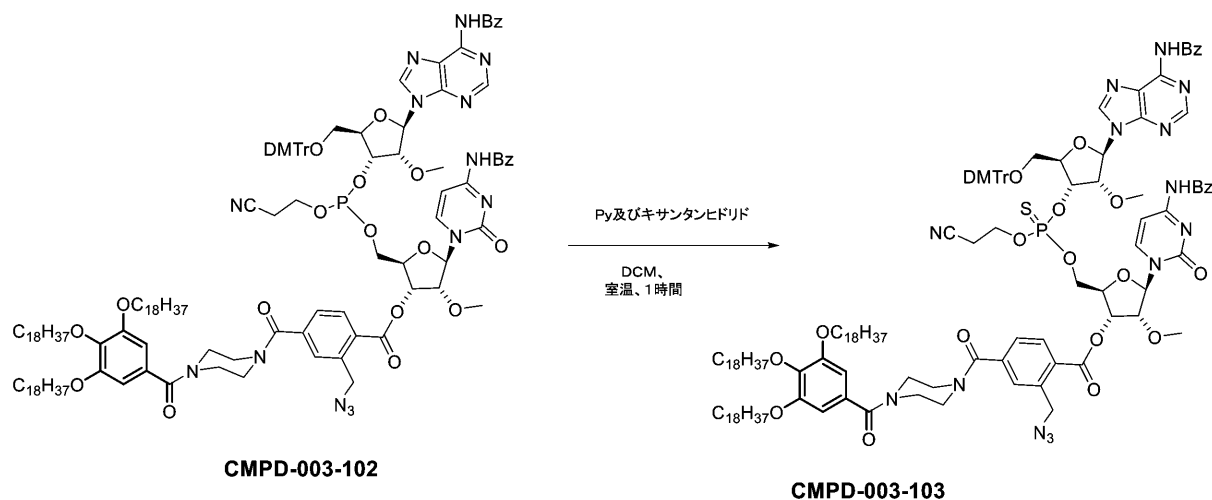
【0208】

4. CMPD-003-103の合成

【0209】

【化70】

10



20

【0210】

不活性Ar雰囲気及び3Aモレキュラーシーブを用いて、得られたCMPD-003-102(1.62mmol、1.0eq.)の溶液に、ピリジン(96mg、16.0mmol、10.0eq.)及びキサンタンヒドリド(1.2g、0.5mmol、5.0eq.)を、連続して室温で添加した。得られた溶液を室温で1時間攪拌した。得られた溶液を、濾過し、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。2.4g(2工程にわたって65%)のCMPD-003-103を白色の固体として得た。MS m/z [M/2+H]⁺(ESI): 1181。

30

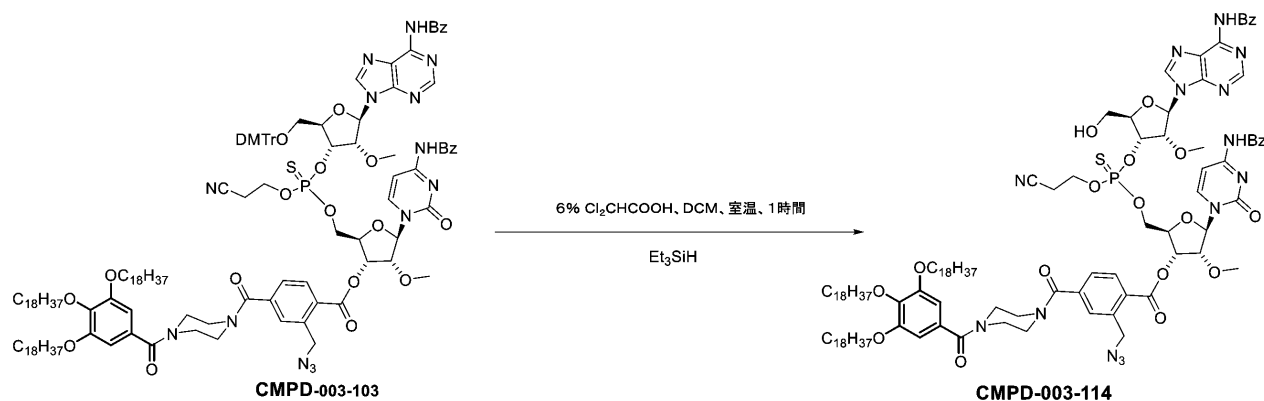
【0211】

5. CMPD-003-114の合成

【0212】

【化71】

40



【0213】

240mLのジクロロメタン中のCMPD-003-103(2.4g、1.0mmol、1.0eq)の溶液に、14.4mLのジクロロ酢酸及びトリエチルシラン(0.2

50

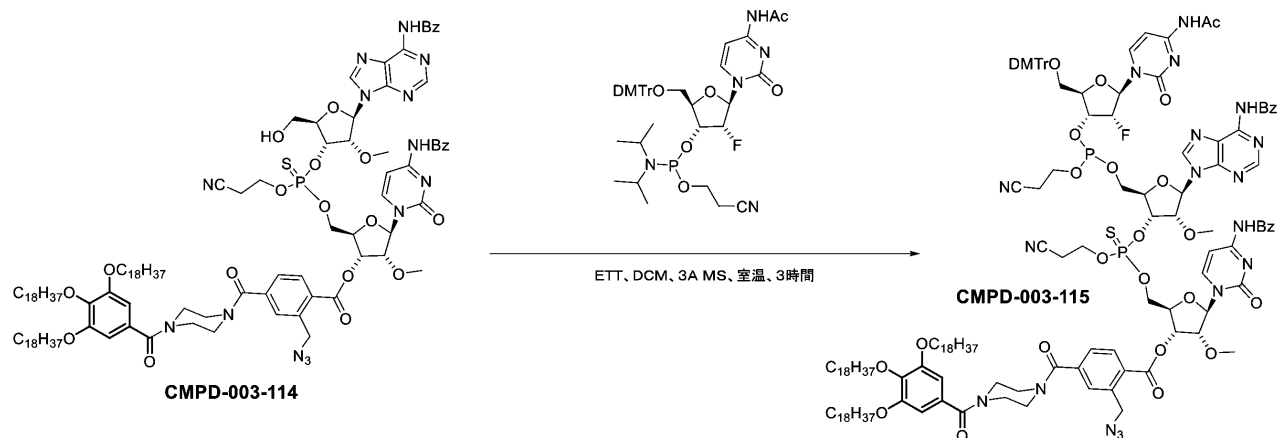
9 g、2.5 mmol、2.5 eq.) を添加した。得られた溶液を、25℃で1時間攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。1.8 g (90%) のCMPD-003-114をオフホワイト色の固体として得た。MS m/z [$M/2+H$] + (ESI) : 1030。 ^{31}P NMR (121 MHz, DMSO- d_6) δ 68.11, 67.68。

【0214】

6. CMPD-003-115の合成

【0215】

【化72】



10

20

【0216】

CMPD-003-114を、乾燥ピリジン及び乾燥トルエンとの反復共蒸発によって乾燥させた。不活性Ar雰囲気及び3Aモレキュラーシーブを用いて、18 mLのジクロロメタン中のCMPD-003-114 (1.8 g、0.87 mmol、1.0 eq.) の溶液に、(2R, 3R, 4R, 5R)-5-(4-アセトアミド-2-オキソピリミジン-1(2H)-イル)-2-((ビス(4-メトキシフェニル)(フェニル)メトキシ)メチル)-4-フルオロテトラヒドロフラン-3-イル(2-シアノエチル)ジイソプロピルホスホロアミダイト (1.38 g、17.5 mmol、2 eq.) 及び1.8 mLのアセトニトリル中の5-(エチルチオ)-1H-テトラゾール (0.34 g、2.62 mmol、3.0 eq.) を、連続して室温で添加した。得られた溶液を室温で3時間攪拌し、更に精製することなく次の工程で使用した。

30

【0217】

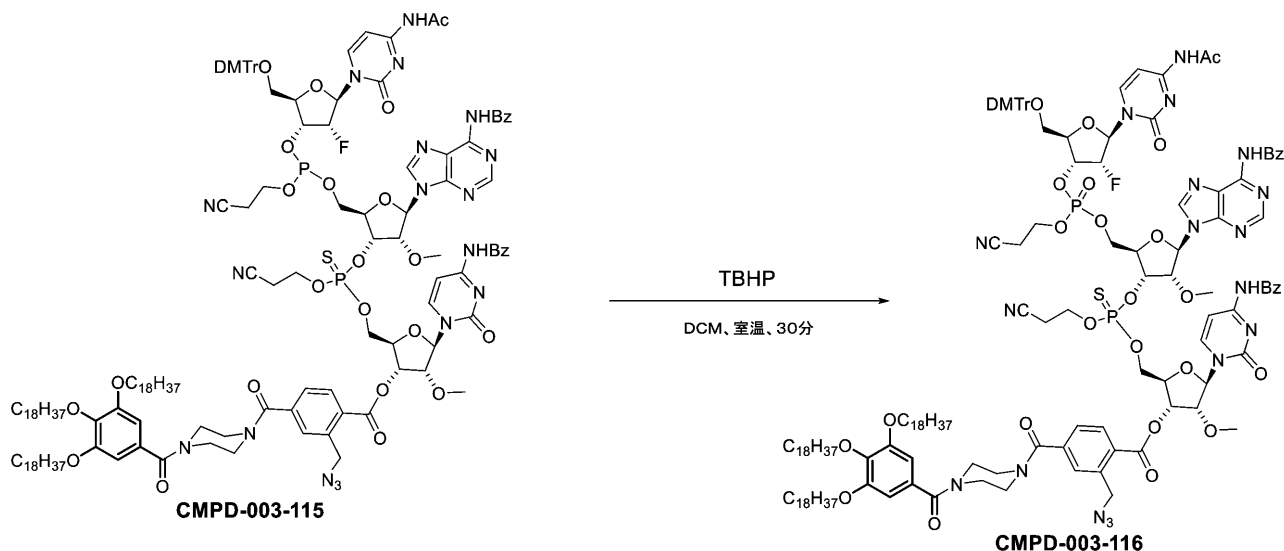
7. CMPD-003-116の合成

【0218】

40

50

【化 7 3】



10

【0 2 1 9】

不活性アルゴン雰囲気中、得られたCMPD-003-115 (0.87 mmol、1.0 eq.) の溶液に、tert-ブチルヒドロペルオキシド (0.56 g、4.35 mmol、5.0 eq.) を室温で添加した。得られた溶液を室温で1時間攪拌した。得られた溶液を、濾過し、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。1.8 g (2工程にわたって75%) のCMPD-003-116を白色の固体として得た。MS m/z $[M/2+H]^+$ (ESI): 1382。

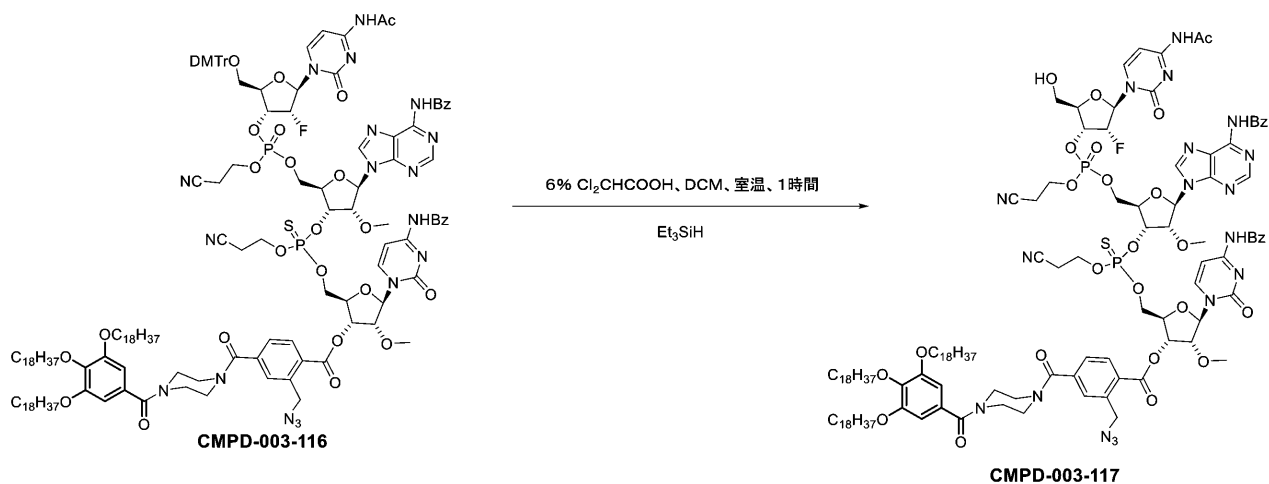
20

【0 2 2 0】

8. CMPD-003-117の合成

【0 2 2 1】

【化 7 4】



30

【0 2 2 2】

18 mL のジクロロメタン中のCMPD-003-116 (1.8 g、0.65 mmol、1.0 eq.) の溶液に、1.08 mL のジクロロ酢酸及びトリエチルシラン (0.19 g、1.62 mmol、2.5 eq.) を連続して室温で添加した。得られた溶液を、25℃で1時間攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。1.5 g (94%) のCMPD-003-117をオフホワイト色の固体として得た。MS m/z $[M/2+H]^+$ (ESI): 1231。
 ^{31}P NMR (121 MHz, DMSO- d_6) δ 67.78, 67.71, 67.38, 67.21, -2.26, -2.50。

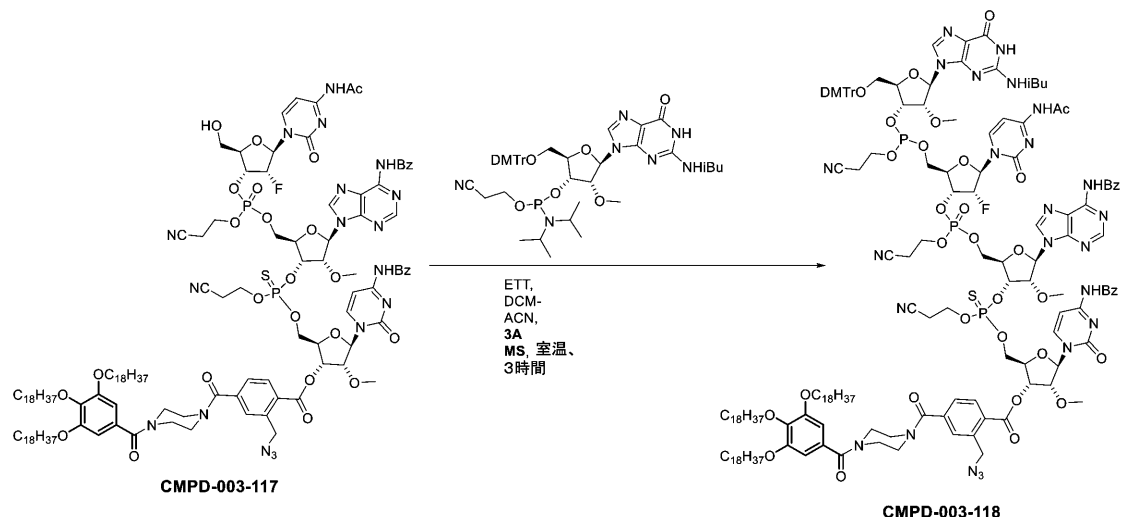
50

【0223】

9. CMPD-003-118の合成

【0224】

【化75】



10

【0225】

CMPD-003-117を、乾燥ピリジン及び乾燥トルエンとの反復共蒸発によって乾燥させた。不活性アルゴン雰囲気及び3Aモレキュラーシーブを用いて、15mLのジクロロメタン中のCMPD-003-117（1.5g、0.61mmol、1.0eq.）の溶液に、（2R, 3R, 4R, 5R）-2-（（ビス（4-メトキシフェニル）（フェニル）メトキシ）メチル）-5-（2-イソブチラミド-6-オキソ-1, 6-ジヒドロ-9H-プリン-9-イル）-4-メトキシテトラヒドロフラン-3-イル（2-シアノエチル）ジイソプロピルホスホロアミダイト（1.06g、1.2mmol、2eq.）及び1.5mLのアセトニトリル中の5-（エチルチオ）-1H-テトラゾール（0.24g、1.83mmol、3.0eq.）を、連続して室温で添加した。得られた溶液を室温で3時間攪拌し、更に精製することなく次の工程に使用した。

20

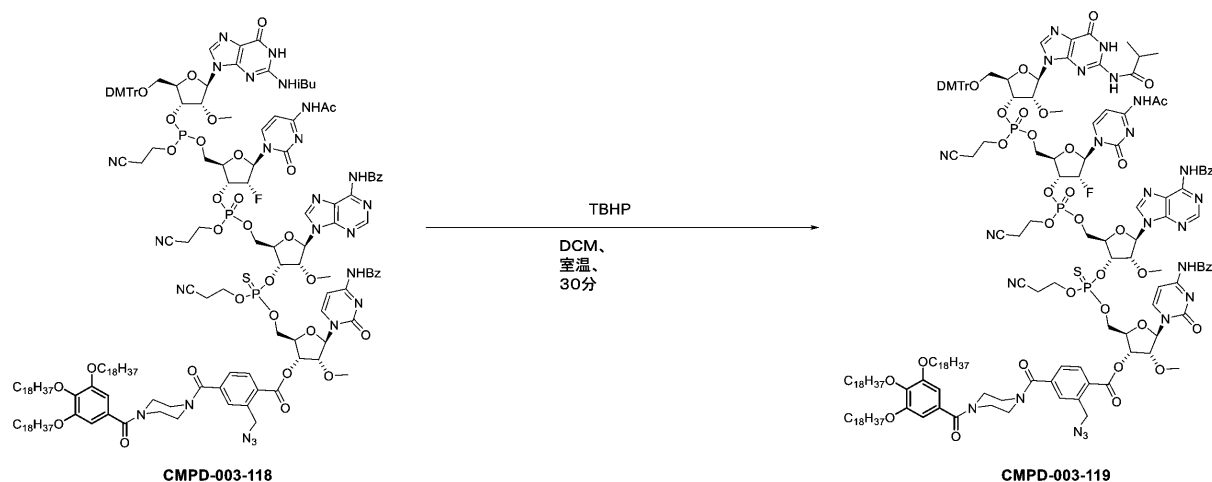
30

【0226】

10. CMPD-003-119の合成

【0227】

【化76】



40

【0228】

不活性アルゴン雰囲気、得られたCMPD-003-118（0.61mmol、1

50

. 0 eq.) の溶液に、tert-ブチルヒドロペルオキシド (0.39 g、3.05 mmol、5.0 eq.) を室温で添加した。得られた溶液を室温で1時間攪拌した。得られた溶液を、濾過し、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。1.4 g (2工程にわたって75%) のCMPD-003-119を白色の固体として得た。MS m/z $[M/2+H]^+$ (ESI): 1624. ^{31}P NMR (121 MHz, DMSO- d_6) δ 67.53, -2.91, -3.14。

【0229】

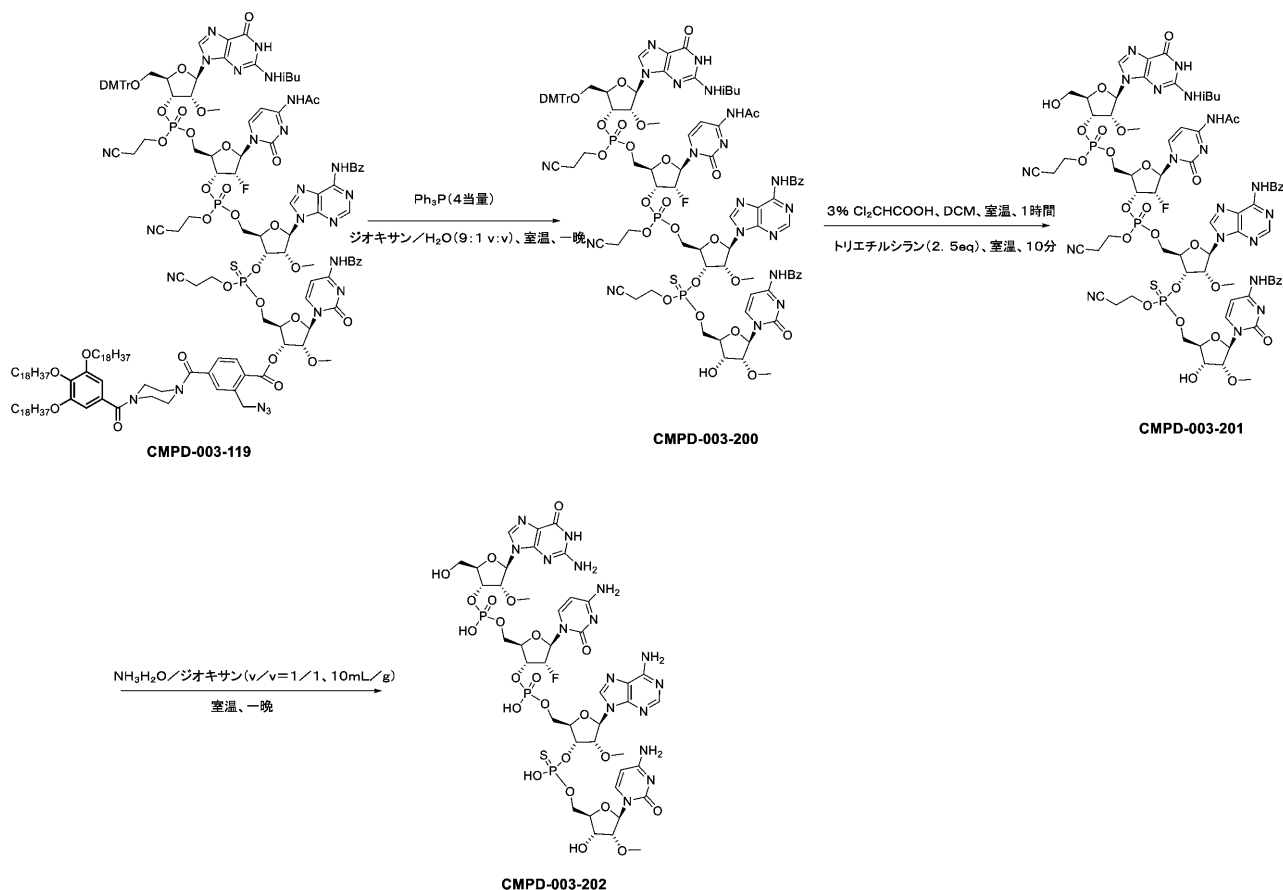
実施例6: GCAC-CSSの切断及び全体的な脱保護

オプションA: 最初にアジドメチル連結の切断、次いでde-DMT、続いてシアノエチル及び塩基保護基の標準的なアンモニア脱保護を行い、最終テトラマーを得る。

10

【0230】

【化77】



20

30

【0231】

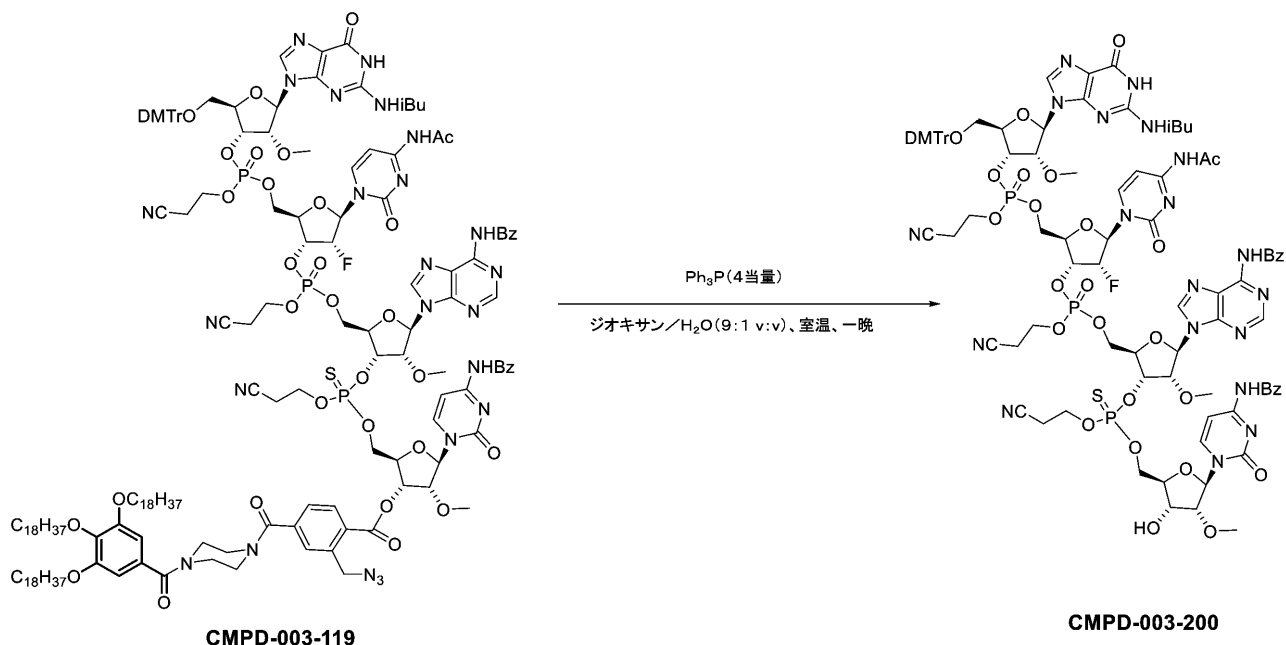
1. CMPD-003-200の合成

【0232】

40

50

【化 7 8】



10

20

30

40

50

【0233】

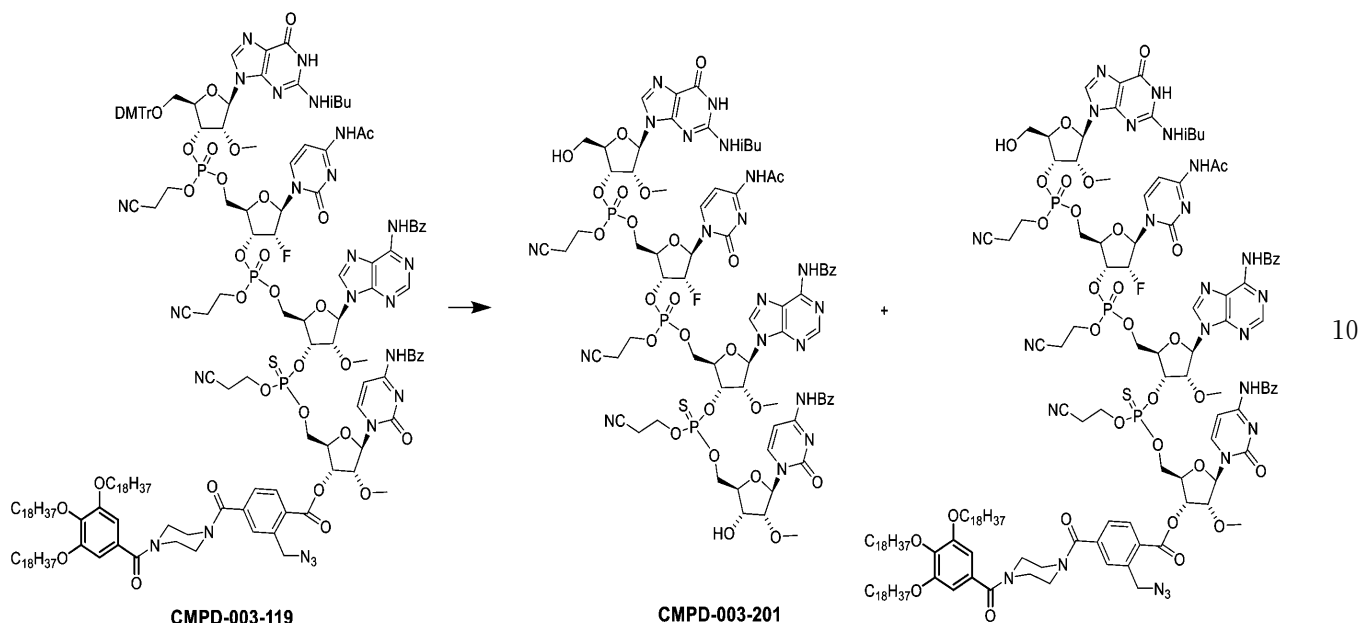
不活性アルゴン雰囲気中、2 mL のジオキサン／水（9／1、v／v）中の CMPD-003-119（200 mg、0.06 mmol、1.0 eq.）の溶液に、トリフェニルホスフィン（65 mg、0.25 mmol、4.0 eq.）を室温で添加した。反応溶液を一晩、室温で攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。この有機相を減圧下で濃縮した。残留物を以下の条件でフラッシュ分取 HPLC により精製した：カラム、C18 シリカゲル；移動相、水（0.04% NH_4HCO_3 を含有する）及びアセトニトリル（15 分で 20% アセトニトリル～最大 100%）；検出器、UV 254 nm。100 mg（82%）の CMPD-003-200 を白色の固体として得た。MS m/z $[\text{M}/2 + \text{H}]^+$ (ESI)：1033。

【0234】

以下の条件による代替的な切断条件：

【0235】

【化 7 9】



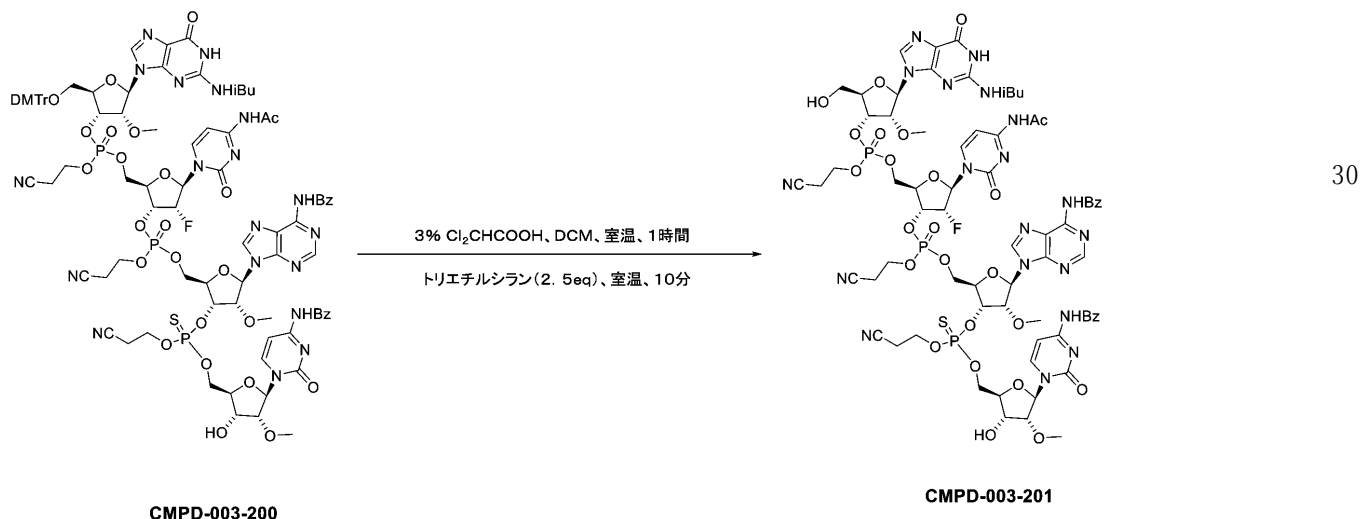
D : シクロヘキサジエン (10 eq.)、Pd/C (50%、w/w)、THF (50 mL/g)、室温で一晩、SMの消失、75% CMPD-003-201、20 mg 規模のSFC-MSにおいて7% de-DMTrイオンシグナル。

【0236】

2. CMPD-003-201の合成

【0237】

【化 8 0】



【0238】

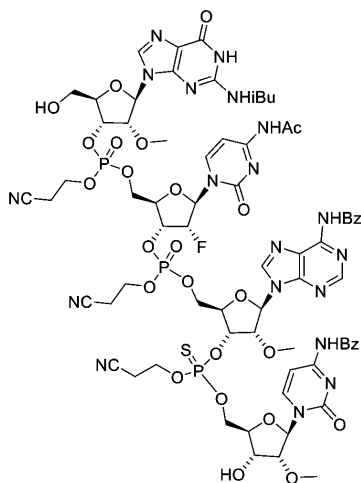
1 mL のジクロロメタン中のCMPD-003-200 (100 mg、0.05 mmol、1.0 eq) の溶液に、0.03 mL のジクロロ酢酸及びトリエチルシラン (14 mg、0.12 mmol、2.5 eq.) を添加した。得られた溶液を、25℃で1時間攪拌した。得られた溶液を、20 mL のジクロロメタンに溶解し、それぞれ、2×10 mL の飽和重炭酸ナトリウム水溶液及び1×10 mL の飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。70 mg (82%) のCMPD-003-200を白色の固体として得た。これを、更に精製することなく、次の工程で使用した。MS m/z [M+H]⁺ (ESI) : 1764。

【0239】

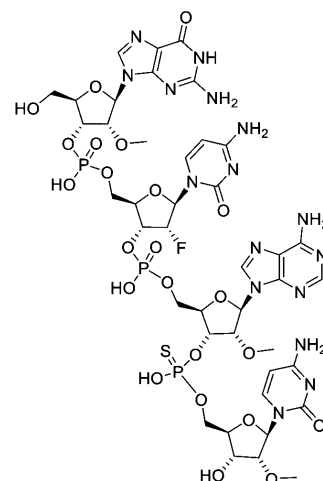
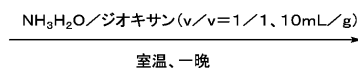
3. CMPD-003-202の合成

【0240】

【化81】



CMPD-003-201



CMPD-003-202

10

【0241】

CMPD-003-201 (70mg、0.04mmol、1.0eq)の溶液に、1mLの $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$ / ジオキサン (v/v=1/1)を添加した。得られた溶液を、25℃で一晩攪拌した。得られた溶液を減圧下で濃縮した。得られた溶液を、ジクロロメタンを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。20mgのCMPD-003-200を白色の固体として得た。MS m/z $[M+H]^+$ (ESI) : 1282。

20

【0242】

オプションB：最初にDe-DMT、次いでアジドメチル連結の切断、続いてシアノエチル及び塩基保護基の標準的なアンモニア脱保護を行い、最終テトラマーを得る。

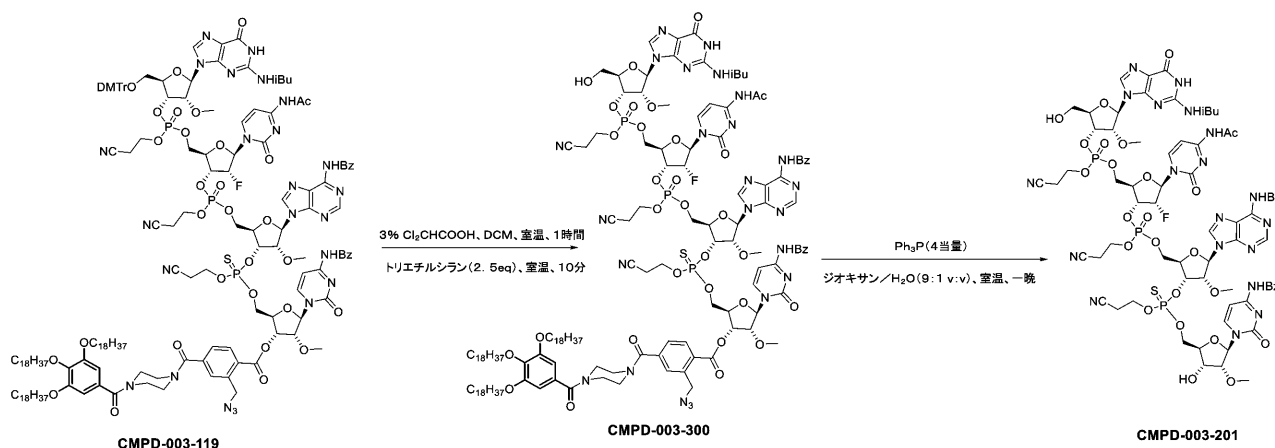
【0243】

30

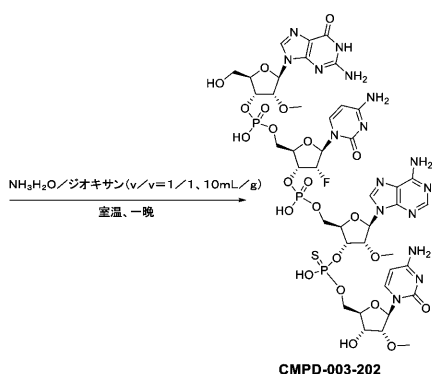
40

50

【化 8 2】



10



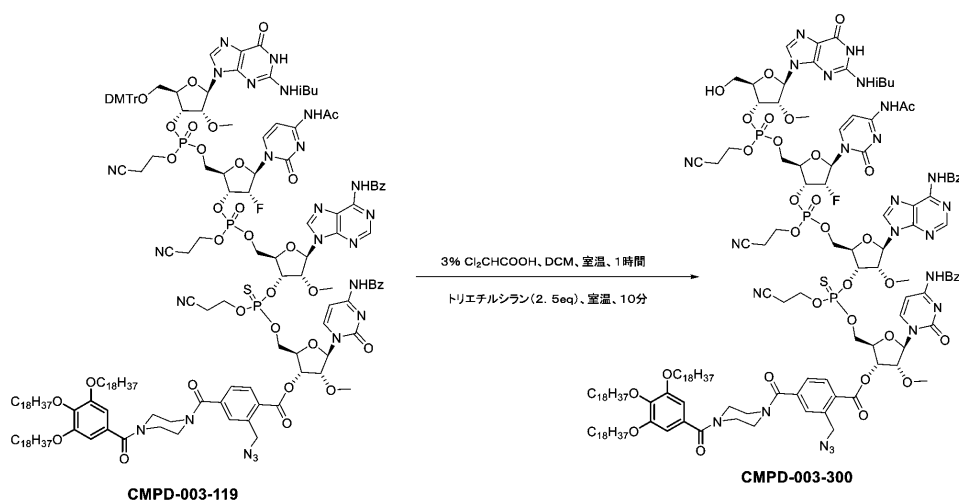
20

【 0 2 4 4】

1. CMPD-003-300の合成

【 0 2 4 5】

【化 8 3】



30

40

【 0 2 4 6】

2 mL のジクロロメタン中の CMPD-003-119 (200 mg、0.06 mmol、1.0 eq) の溶液に、0.03 mL のジクロロ酢酸及びトリエチルシラン (15 mg、0.15 mmol、2.5 eq.) を添加した。得られた溶液を、25℃で1時間攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。140 mg (78%) の CMPD-003-300 を白色の固体として得た。MS m/z $[\text{M}/2 + \text{H}]^+$ (ESI): 1472。

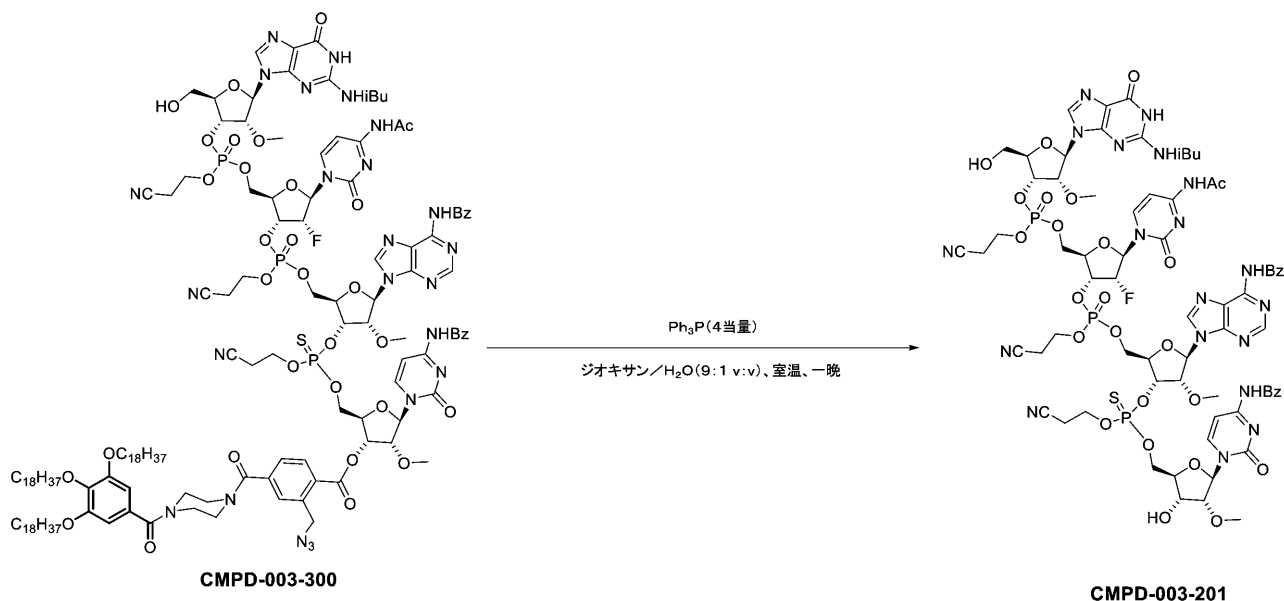
50

【0247】

3. CMPD-003-201の合成

【0248】

【化84】



10

20

【0249】

不活性Ar雰囲気中、1.5 mLのジオキサン/水(9/1、v/v)中のCMPD-003-119(140 mg、0.05 mmol、1.0 eq.)の溶液に、トリフェニルホスフィン(52 mg、0.20 mmol、4.0 eq.)を室温で添加した。反応溶液を一晚、室温で攪拌した。得られた溶液を、アセトニトリルを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。この有機相を減圧下で濃縮した。残留物を以下の条件でフラッシュ分取HPLCにより精製した：カラム、C18シリカゲル；移動相、水(0.04% NH₄HCO₃を含有する)及びアセトニトリル(15分で20%アセトニトリル～最大100%)；50 mg(60%)のCMPD-003-201を白色の固体として得た。MS m/z [M+H]⁺(ESI)：1762。

30

【0250】

4. CMPD-003-202の合成

【0251】

【化85】



40

50

【0252】

CMPD-003-201 (50 mg、0.03 mmol、1.0 eq) の溶液に、1 mL の $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ / ジオキサン ($v/v = 1/1$) を添加した。得られた溶液を、25 °C で一晩攪拌した。得られた溶液を減圧下で濃縮した。得られた溶液を、ジクロロメタンを添加することによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。20 mg の CMPD-003-200 を白色の固体として得た。MS m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ (ESI) : 1282。

【0253】

実施例 7 : ペンタマーオリゴヌクレオチドの 5' - コレステロールコンジュゲートの合成

【0254】

10

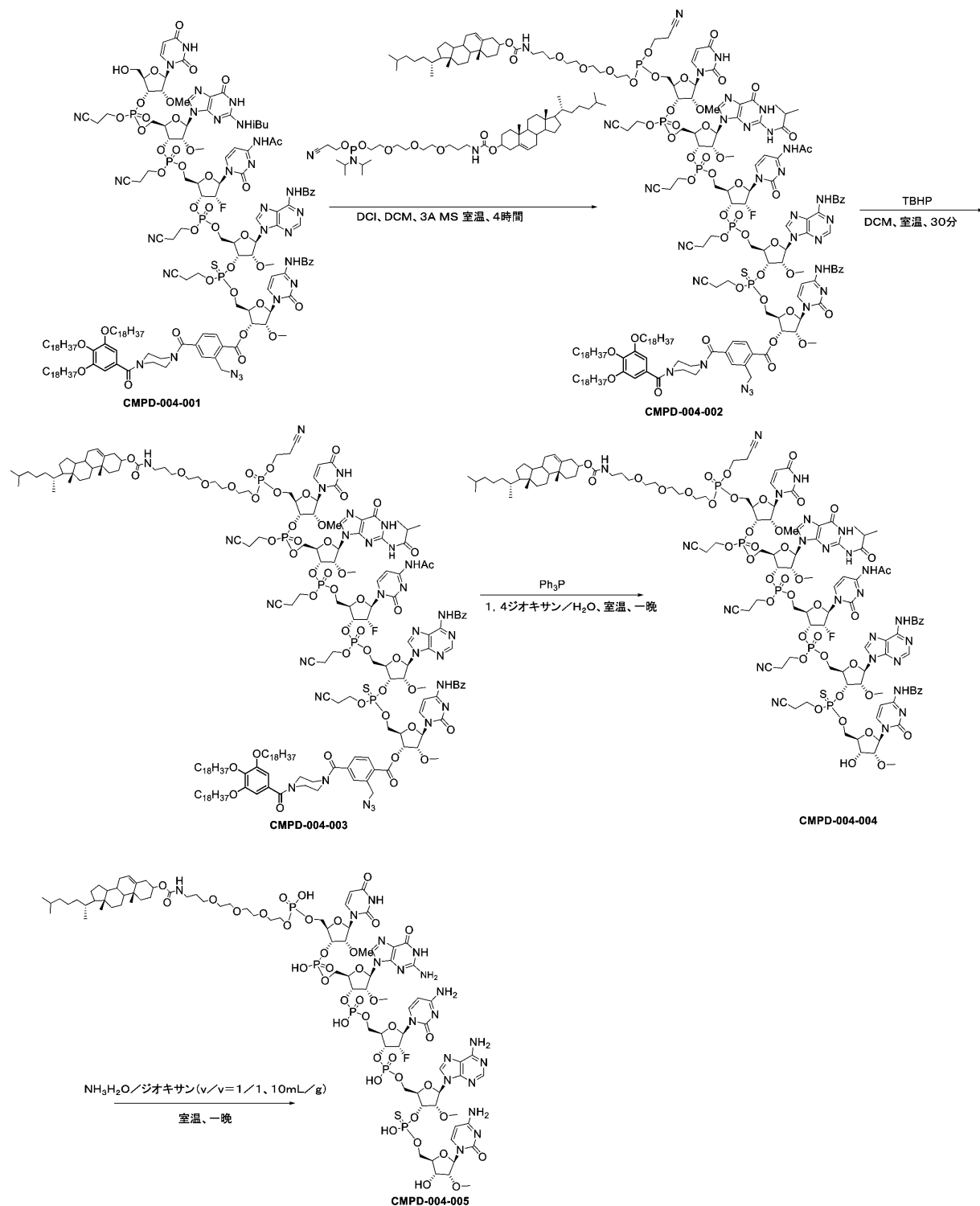
20

30

40

50

【化 8 6】



10

20

30

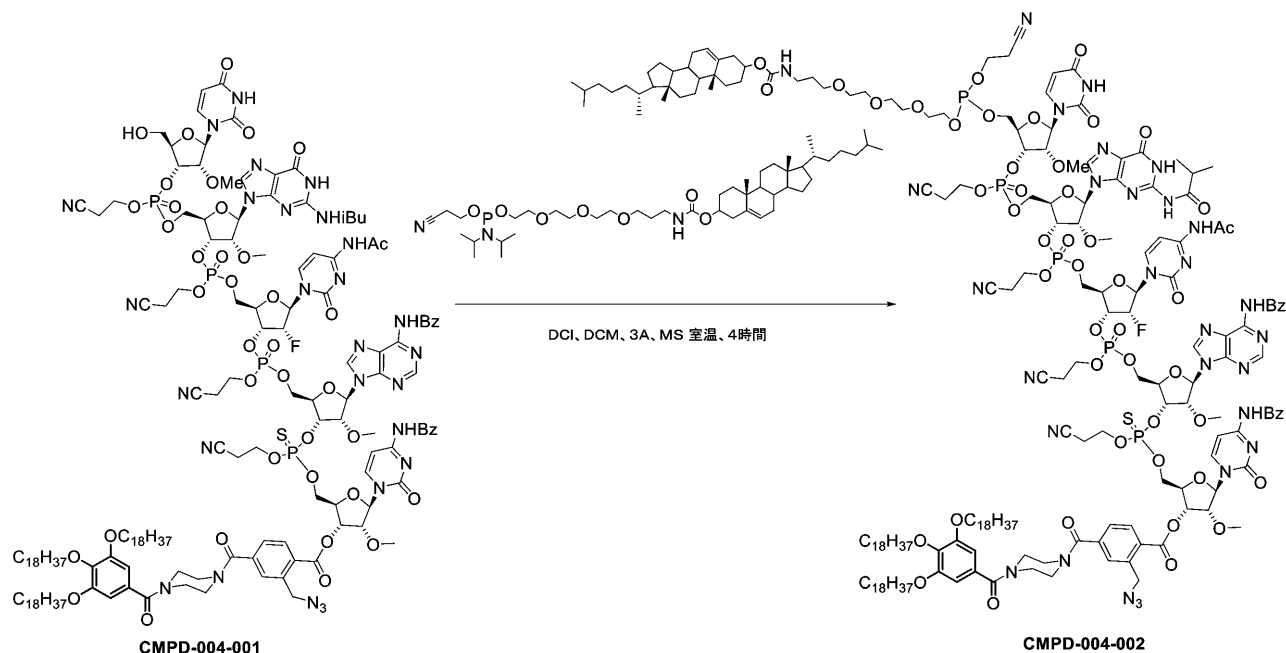
40

【 0 2 5 5 】

1. CMPD-004-002

【 0 2 5 6 】

【化 8 7】



10

【0257】

CMPD-004-001を、それぞれ、ピリジンと3回、トルエンと3回共蒸発させることによって乾燥させた。不活性アルゴン雰囲気及び3Aモレキュラーシーブを用いて、0.5mLのジクロロメタン中のCMPD-004-001(50mg、0.015mmol、1.0当量)の溶液に、ジクロロメタン(0.1mL)中の5'-コレステリル-TEGホスホロアミダイト(24.7mg、0.03mmol、2.0当量)及び4,5-ジシアノイミダゾール(2.67mg、0.02mmol、1.5当量)を室温で添加した。反応溶液を室温で4時間攪拌した。次いで、これを、更に精製することなく、次の工程で使用した。

20

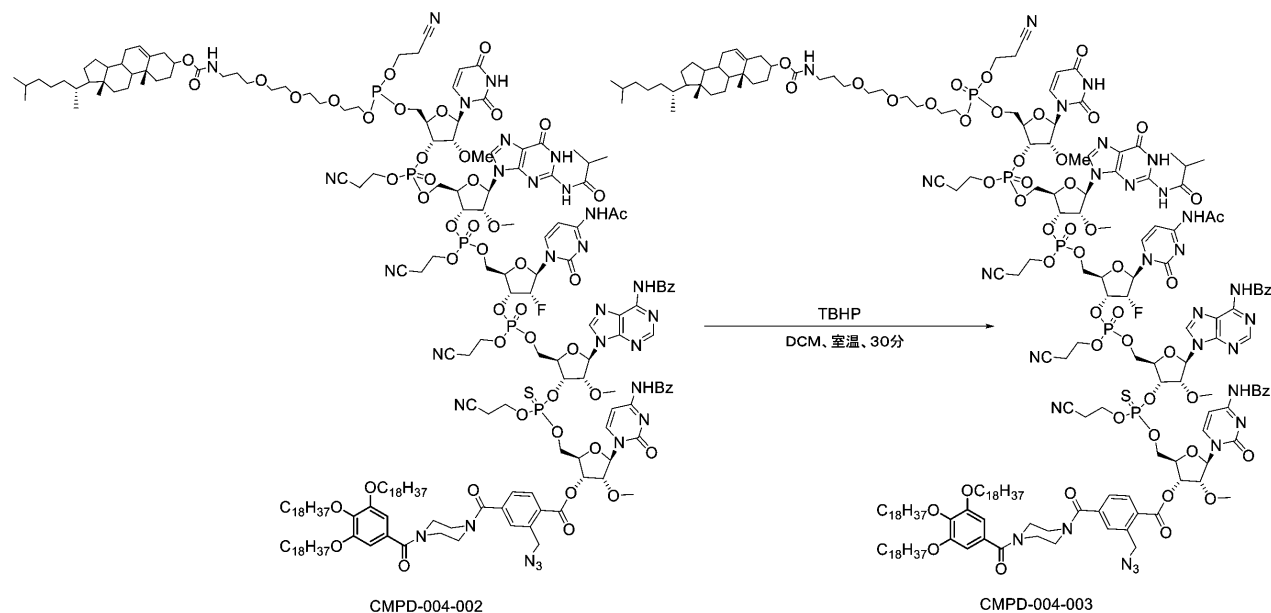
【0258】

2. CMPD-004-003

30

【0259】

【化 8 8】



40

【0260】

50

不活性アルゴン雰囲気中、得られたCMPD-004-002の溶液を、tert-ブチルヒドロペルオキシド（2.7 mg、0.03 mmol、2.0当量）を室温で添加した。得られた溶液を室温で30分間攪拌した。3 Åモレキュラーシーブを濾過により除去し、アセトニトリルを添加することによって濾液を沈殿させた。固体を濾過により収集した。

【0261】

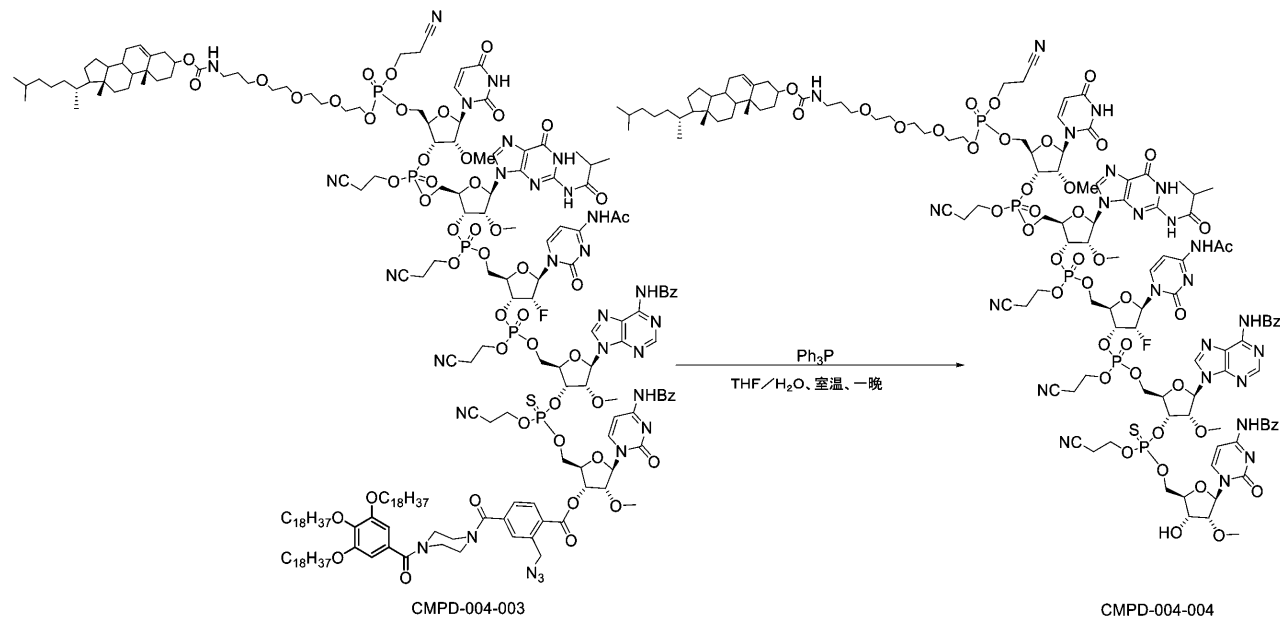
3. CMPD-004-004

【0262】

【化89】

10

20



【0263】

不活性アルゴン雰囲気中、1.0 mLのジオキサン／水（10／1、v／v）中のCMPD-004-003（50 mg、0.012 mmol、1.0当量）の溶液に、トリフェニルホスフィン（13 mg、0.05 mmol、4.0当量）を室温で添加する。反応溶液を室温で一晩攪拌し、LCMSにより監視する。粗製生成物を、アセトニトリル／水でC18カラムのフラッシュ分取HPLCにより精製する。

30

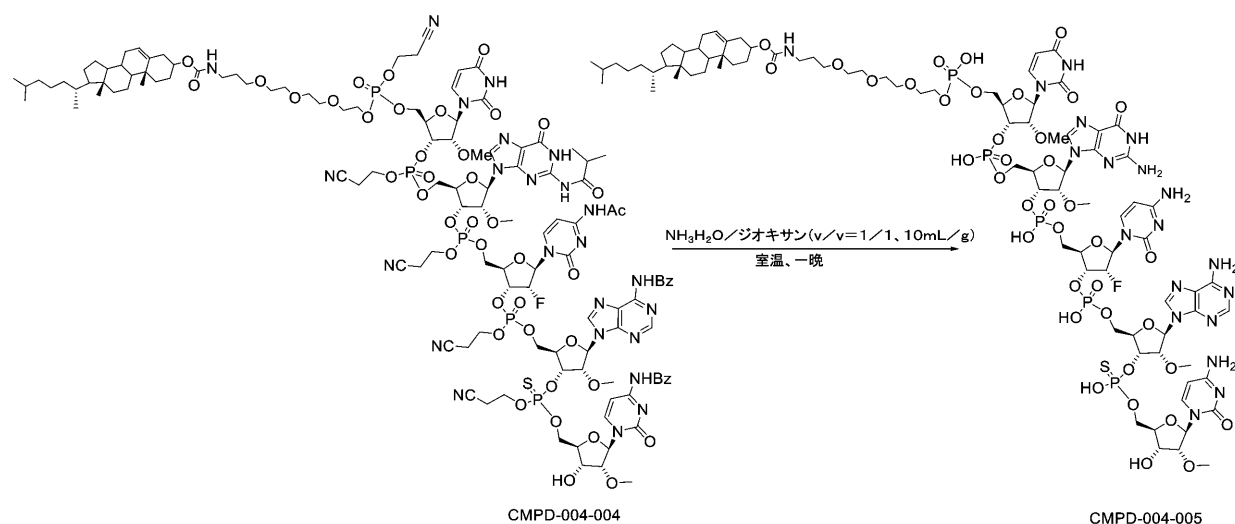
【0264】

4. CMPD-004-005

【0265】

【化90】

40



50

10

20

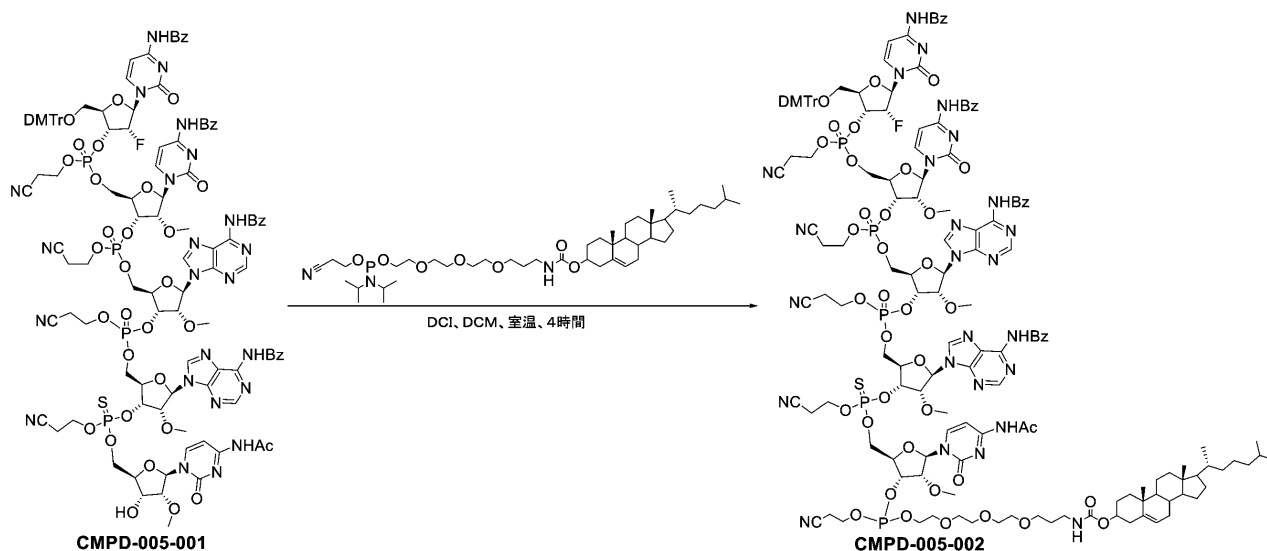
30

40

50

【 0 2 7 0 】

【化 9 2】



10

【0 2 7 1】

CMPD-005-001を、それぞれ、ピリジンと3回、トルエンと3回共蒸発させることによって乾燥させる。不活性アルゴン雰囲気及び3Aモレキュラーシーブを用いて、1mLのジクロロメタン中のCMPD-005-001（50mg、0.02mmol、1.0eq.）の溶液に、5'-コレステリル-TEGホスホロアミダイト（33mg、0.04mmol、2.0eq.）及び4,5-ジシアノイミダゾール（7.1mg、0.06mmol、3.0eq.）を室温で添加した。反応溶液を室温で4時間攪拌し、更に精製することなく次の工程で使用した。MS m/z $[M/2+H]^+$ (ESI): 1640

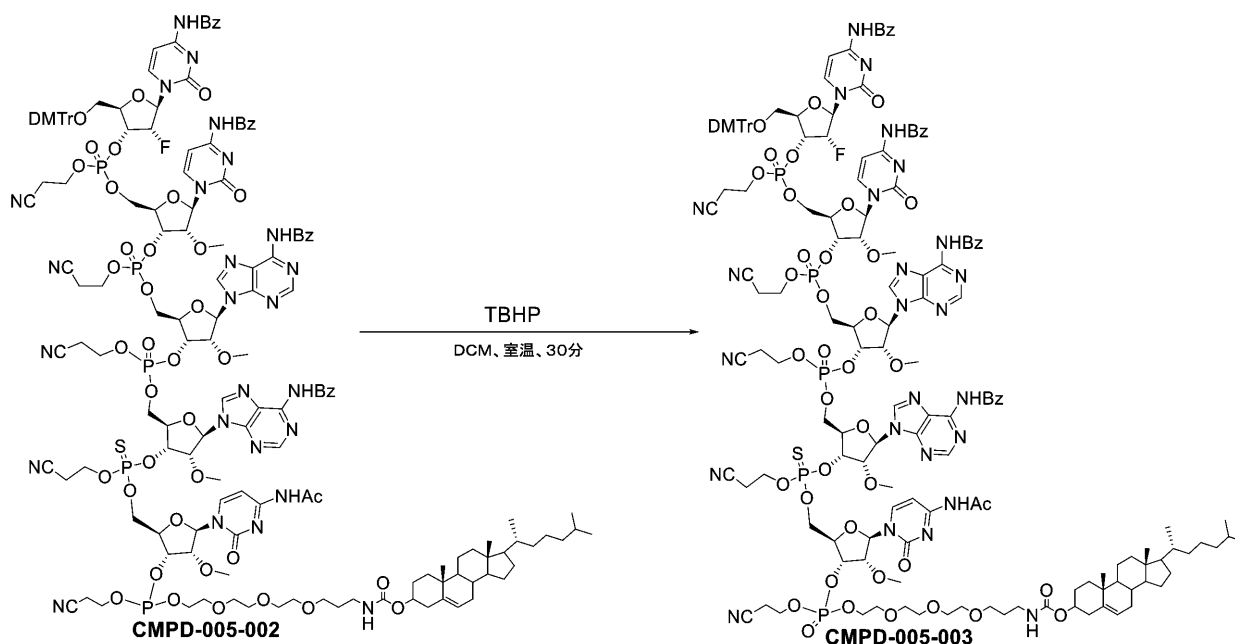
20

【0 2 7 2】

2. CMPD-005-003

【0 2 7 3】

【化 9 3】



30

40

【0 2 7 4】

不活性アルゴン雰囲気、得られたCMPD-005-002（0.02mmol、1.0eq.）の溶液を、tert-ブチルヒドロペルオキシド（13mg、0.1mmol

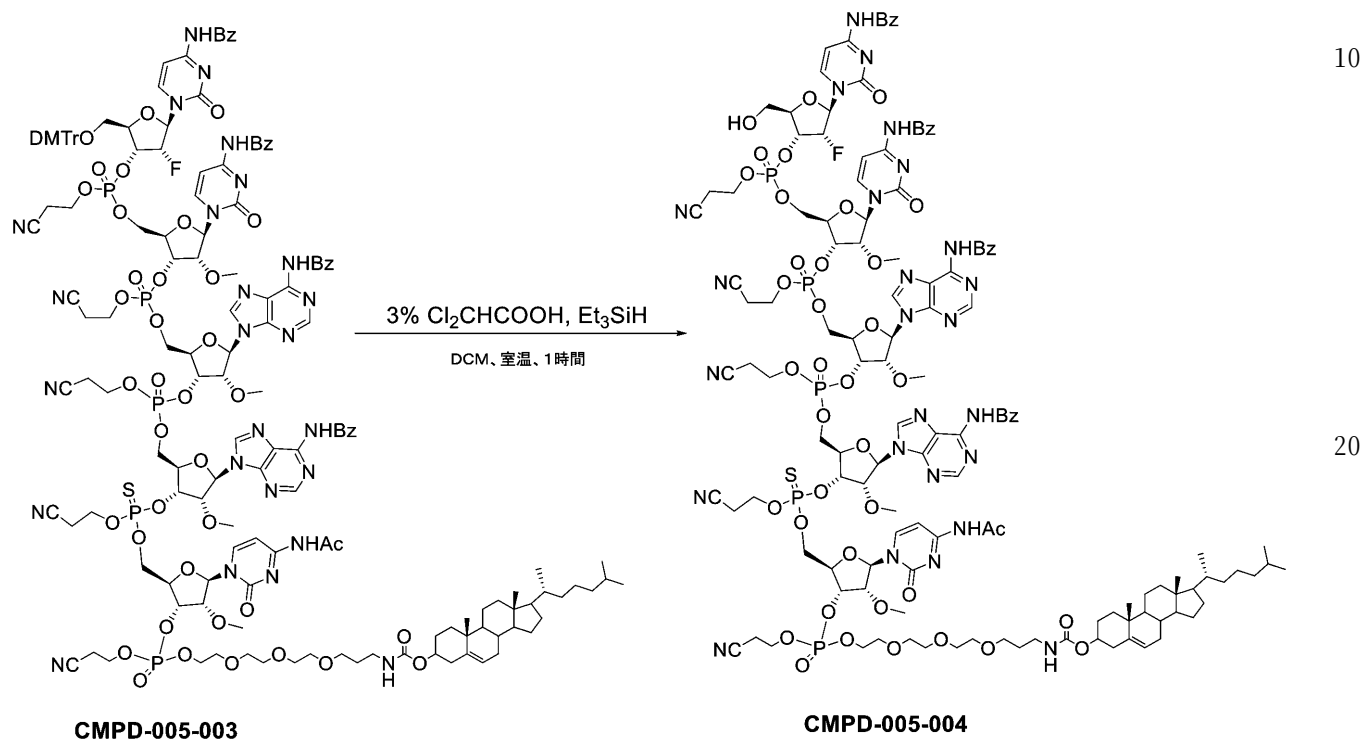
50

l、5.0 eq.) を室温で添加した。得られた溶液を室温で30分間攪拌した。3 Åモレキュラーシーブを反応系に保持し、酸化後の最初の濾過によって除去した。濾液を、tert-ブチルメチルエーテル濾過によって沈殿させた。PH-CMPD-005-003を白色の固体として得た。MS m/z [M/2+H]⁺ (ESI): 1648
【0275】

3. CMPD-005-004

【0276】

【化94】



【0277】

1 mLのジクロロメタン中のCMPD-005-003 (37 mg、0.011 mmol、1.0 eq) の溶液に、0.03 mLのジクロロ酢酸及びトリエチルシラン (3.2 mg、0.027 mmol、2.5 eq.) を添加した。得られた溶液を室温で1時間攪拌した。得られた溶液を、tert-ブチルメチルエーテルによって沈殿させ、固体を濾過により収集した。CMPD-005-004を白色の固体として得た。MS m/z [M/2+H]⁺ (ESI): 1496。

【0278】

4. CMPD-005-005

【0279】

10

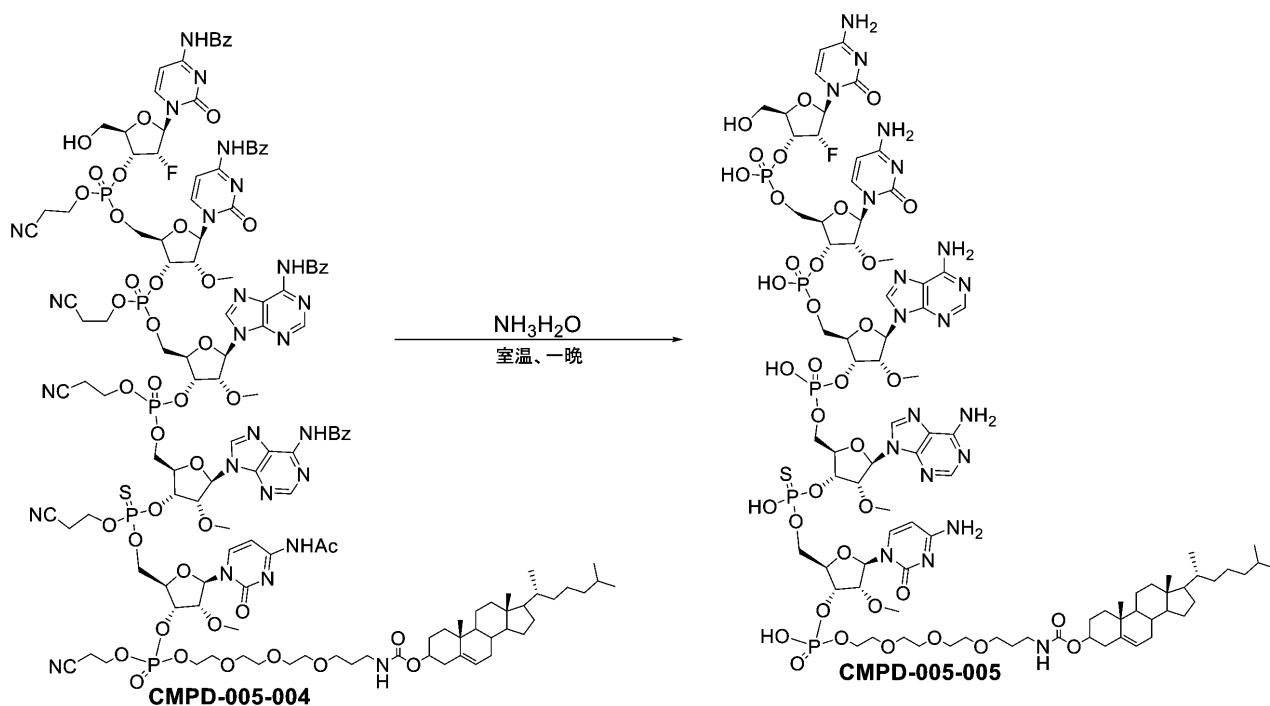
20

30

40

50

【化 9 5】



10

20

【0 2 8 0】

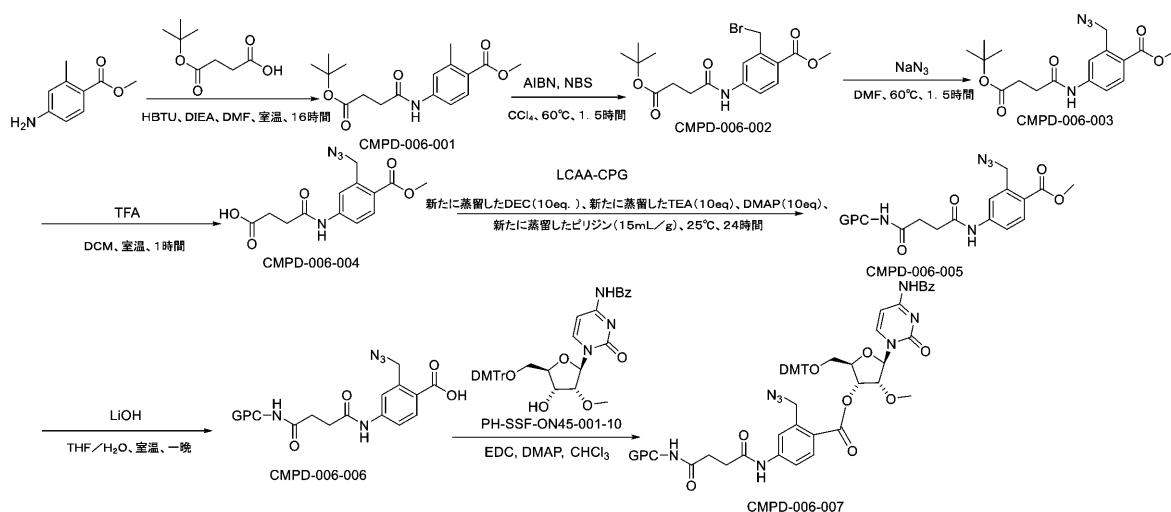
3 mL の水酸化アンモニウム中の CMPD-005-004 (0.008 mmol、1.0 eq.) の混合物を室温で一晩攪拌し、3 × 5 mL のジクロロメタンで洗浄した。水相を減圧下で濃縮した。PH-CMPD-005-005 を白色の固体として得た。MS m/z $[M/2 + H]^+$ (ESI) : 1135。

【0 2 8 1】

実施例 9 : アジドメチル化学によって切断可能な CPG ヌクレオシドの合成

【0 2 8 2】

【化 9 6】



30

40

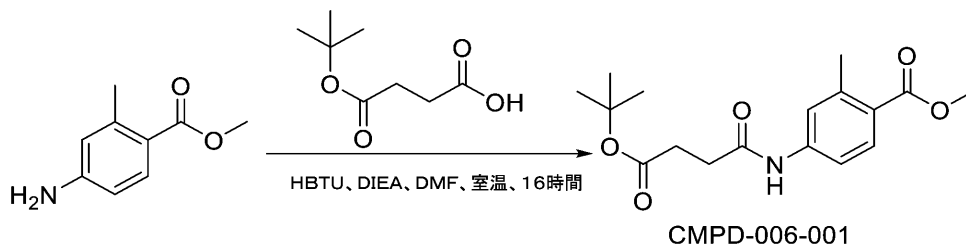
【0 2 8 3】

1. CMPD-006-001

【0 2 8 4】

50

【化 9 7】



【0 2 8 5】

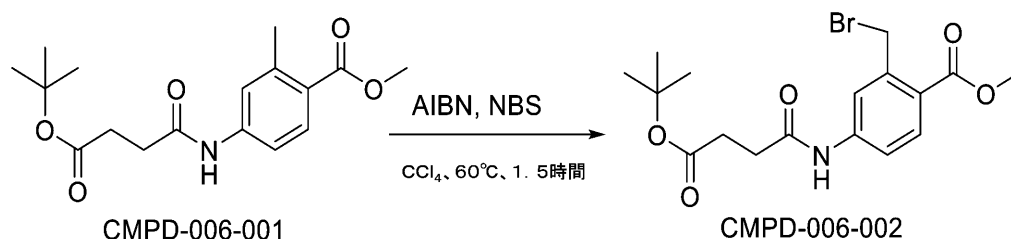
不活性窒素雰囲気中、30 mL の N, N-ジメチルホルムアミド中の 4-(tert-ブトキシ)-4-オキソブタン酸 (5 g、28.73 mmol、1.1 当量) の溶液に、O-ベンゾトリアゾール-N, N, N-エトラメチル-ウロニウム-ヘキサフルオロホスフェート (12.6 g、33.33 mmol、1.1 当量)、N, N-ジイソプロピルエチルアミン (15 mL、90.9 mmol、3.00 当量) を室温で添加した。5 分後、20 mL の N, N-ジメチルホルムアミド中の 4-アミノ-2-メチル安息香酸メチル (5 g、30.3 mmol、1.00 当量) の溶液を室温で添加した。得られた溶液を室温で 16 時間攪拌し、次いで、200 mL の酢酸エチルで希釈し、2 × 100 mL の飽和塩化ナトリウムで洗浄した。有機相を、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。粗製生成物を以下の条件でフラッシュ分取 HPLC により精製した：カラム、C18 シリカゲル；移動相、0.04 % NH₄HCO₃ を含む水及びアセトニトリル (15 分で 30 % アセトニトリル～最大 100 %、及び 4 分間 100 % 保持)；検出器、UV 254 nm。画分 (800 mL) を 1000 mL のジクロロメタンで希釈し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。固体を濾過した。濾液を減圧下で濃縮した。6 g の CMPD-006-001 を褐色の油状物として得、LCMS により確認した。MS m/z [M+H]⁺ (ESI)：322。

【0 2 8 6】

2. CMPD-006-002

【0 2 8 7】

【化 9 8】



【0 2 8 8】

不活性窒素雰囲気中、60 mL の四塩化炭素中の CMPD-006-001 (5.5 g、17.13 mmol、1.0 当量) の溶液に、2, 2'-アゾビス (2-メチルプロピオニトリル) (1.68 g、10.28 mmol、0.6 当量)、N-ブロモスクシンイミド (4.56 g、25.71 mmol、1.5 当量) を順次 25°C で添加した。得られた溶液を、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮した。粗製生成物を以下の条件でフラッシュ分取 HPLC により精製した：カラム、C18 シリカゲル；移動相、0.04 % NH₄HCO₃ を含む水及びアセトニトリル (15 分で 30 % アセトニトリル～最大 100 %、及び 4 分間 100 % 保持)；検出器、UV 254 nm。画分 (500 mL) を 600 mL のジクロロメタンで希釈し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。固体を濾過した。濾液を減圧下で濃縮した。2.5 g の CMPD-006-001 を褐色の油状物として得、LCMS により確認する。MS m/z [M+H]⁺ (ESI)：400。

10

20

30

40

【 0 2 9 6 】

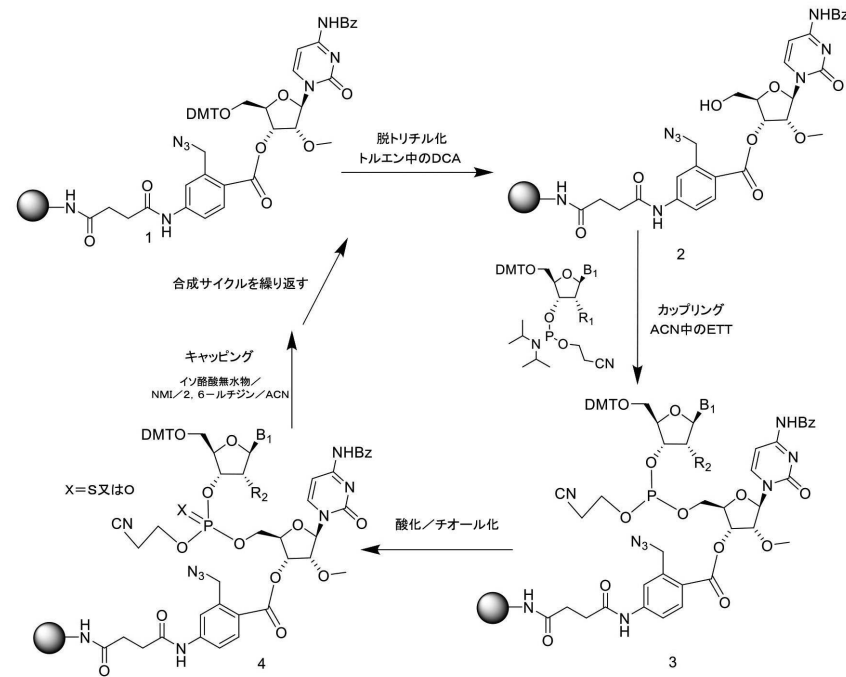
6 mg、0.07 mmol、2.0 当量)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(10 mg、0.052 mmol、1.5 当量)、及び4-ジメチルアミノピリジン(6.3 mg、0.052 mmol、1.5 当量)を順次室温で添加した。得られた溶液を振盪台で16時間室温で振盪する。混合物を濾過し、水、テトラヒドロフラン、ジクロロメタンで連続して洗浄する。

【0304】

実施例10：アジドメチルリンカーを有する固体支持体充填ヌクレオシドを使用するオリゴヌクレオチドの固相合成

【0305】

【化104】



【0306】

スキームA：アジドメチルリンカーを有する固体支持体充填ヌクレオシドを使用するオリゴヌクレオチドの固相合成

1. 配列を伸長するための固相合成：

配列情報：21mer

5'-mAfGmUfUmAfUmUfCmAfGmGfAmAfGmUfCmUfAmC-3'

【0307】

上記のオリゴヌクレオチド配列の合成は、アジドメチルリンカーを有する固体支持体充填ヌクレオシドを使用するホスホロアミダイト化学を用いた標準的な固相オリゴヌクレオチド合成を使用する。オリゴ合成は、所望の配列が組み立てられるまで、成長鎖の5'末端へのヌクレオチド残基の段階的付加によって行われる。各付加は、合成サイクル(スキームA)と称され、4つの化学反応：1) 脱トリチル化、2) カップリング、3) 酸化/チオール化、及び4) キャッピングからなる。

【0308】

全てのアミダイト及び他の全ての合成試薬及び溶媒は、商業的に利用可能な供給元から入手し、そのように使用した。合成後ワークフロー用の化学物質及び溶媒は、商業的に利用可能な供給元から購入し、精製又は処理をなんら行わずに使用した。合成中、溶媒(アセトニトリル)及び溶液(アミダイト及び活性剤)をモレキュラーシーブ上で保存した。

【0309】

上記配列の合成は、ABI-394合成器において1µm規模で行われる。アミダイト

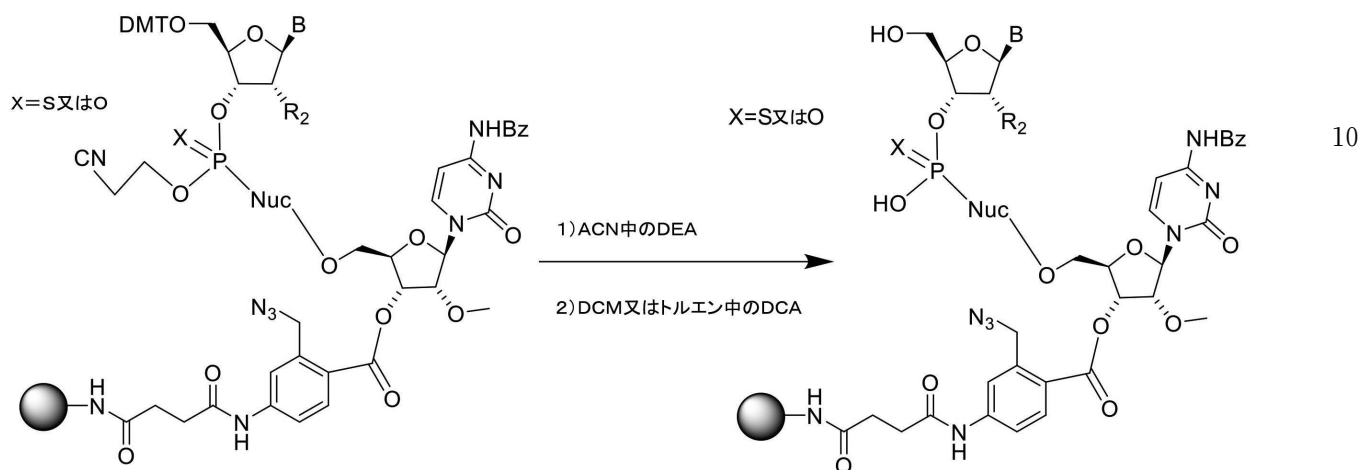
溶液を 0.1 M 濃度で調製し、エチルチオテトラゾール (ethyl thio tetrazole、E T T) (アセトニトリル中 0.5 M) を活性化剤として使用する。

【0310】

2. カラム上での脱トリチル化及び脱シアノエチル化 (トリチル__オフ)

【0311】

【化105】



【0312】

スキーム B : カラム上での脱トリチル化及び脱シアノエチル化

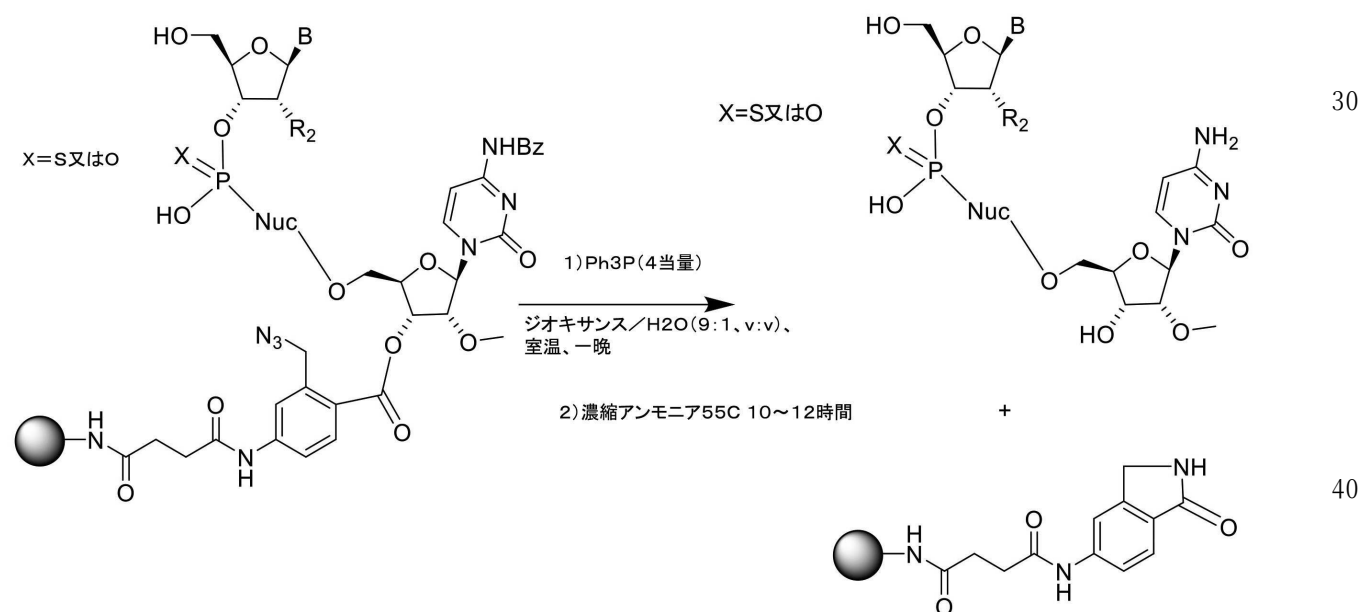
オリゴヌクレオチド合成の全長が完了したら、最終的な脱トリチル化及び脱シアノエチル化が、固体支持体が付着した合成器で行われる (スキーム B)。

【0313】

3. 固体支持体及び核酸塩基脱保護の切断 (トリチル__オフ)

【0314】

【化106】



【0315】

スキーム C : 固体支持体の切断及び核酸塩基の脱保護

次いで、固体支持体充填オリゴヌクレオチドを、室温で、一晚、ジオキサン/H₂O (9:1, v/v) において Ph₃P で切断する。濾過して固体支持体を除去した後、粗製試料のリン酸シアノエチルエステル及び核酸塩基を、55°Cで一晩、濃縮アンモニア溶液を使用して脱保護する。

【0316】

粗製配列を、アセトン：エタノール（80：20）ミックスを使用して沈殿させ、ペレットを0.02M酢酸ナトリウム緩衝液に再懸濁する。各配列からの試料をLC-MSにより分析して、定量化のための同一性、UVを確認する。

【0317】

次いで、粗製試料を、source 15Qカラムを使用して、AKTAエクスプローラ精製システムで精製する。精製中、65℃のカラム温度を維持する。試料注入及び収集は、自動試料コレクタで行われる。全長配列に対応する単一ピークは溶出液において収集する。精製された配列を、AKTA精製器を使用してSephadex G25カラムで脱塩する。脱塩されたオリゴ配列を、濃度（A260でのUN測定により）及び同一性並びに純度（イオン交換HPLC又はLCMSにより）について分析する。

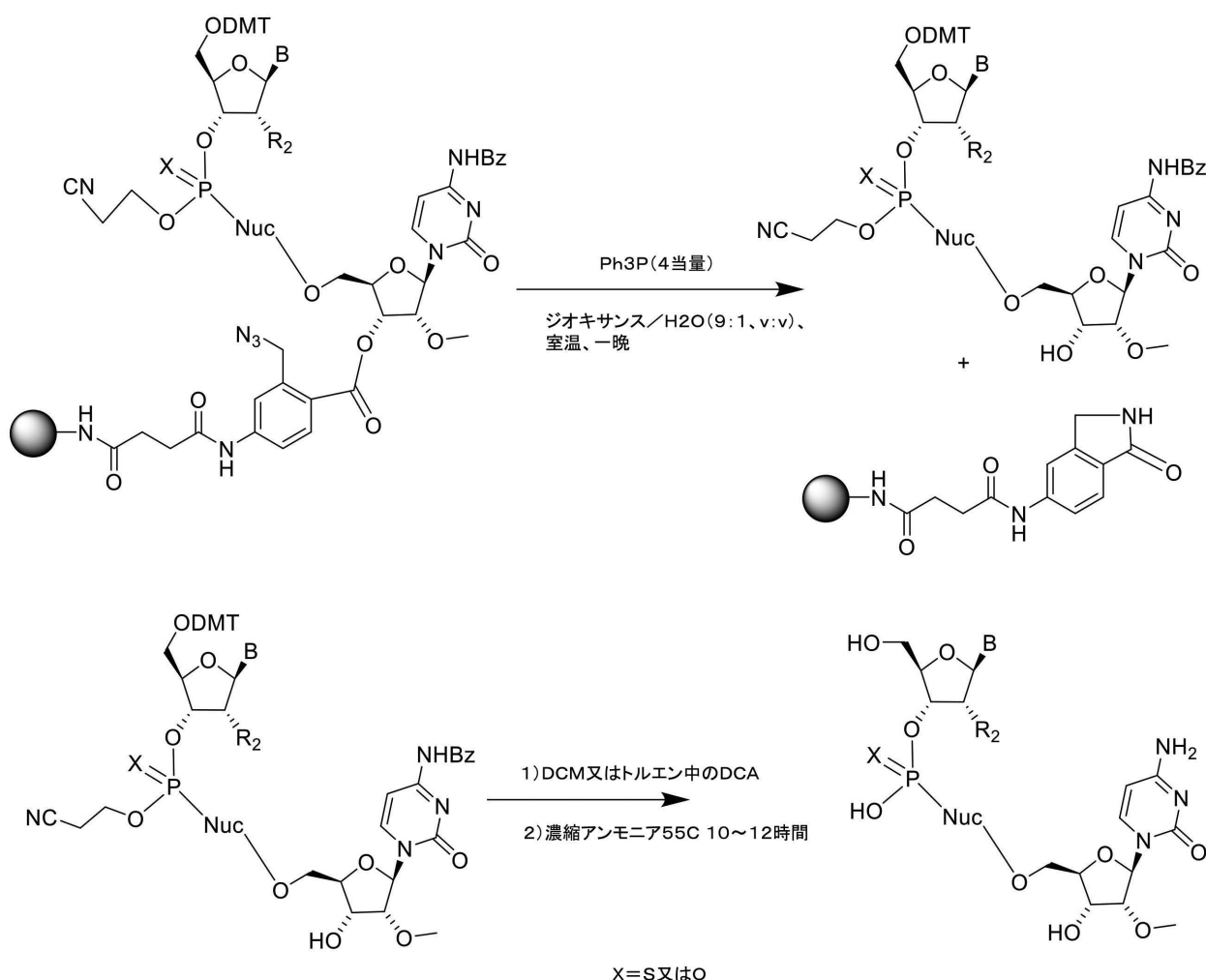
10

【0318】

4. 固体支持体及び核酸塩基の脱保護の切断（トリチルオン）

【0319】

【化107】



20

30

40

【0320】

スキームD：固体支持体切断及び脱保護（トリチルオン）

次いで、固体支持体充填オリゴヌクレオチドを、室温で、一晚、ジオキサン／H₂O（9：1、v／v）においてPh₃Pで切断する。濾過して固体支持体を除去した後、粗製試料の核酸塩基及びシアノエチル基を、55℃で一晩、濃縮アンモニア溶液を使用して脱保護し、続いて、室温で1時間、80%酢酸で最終的に脱トリチル化して、完全に脱保護されたオリゴ配列を得る（スキームD）。

【0321】

50

得られた粗製生成物を分離し、上述のように特徴付ける。

【0322】

固体支持体（CMPD-A1）上でのトリマー5'-fUmUmC-3'の合成

上記の配列5'-fUmUmC-3'を有するオリゴヌクレオチドは、2-（アジドメチル）ベンゾイルリンカーを有する固体支持体充填2'-OMe（Bz）Cを使用してホスホロアミダイト化学を用いた標準的な固相合成によって合成した。合成は、MM-12合成器で2 μ mol規模で行われた。

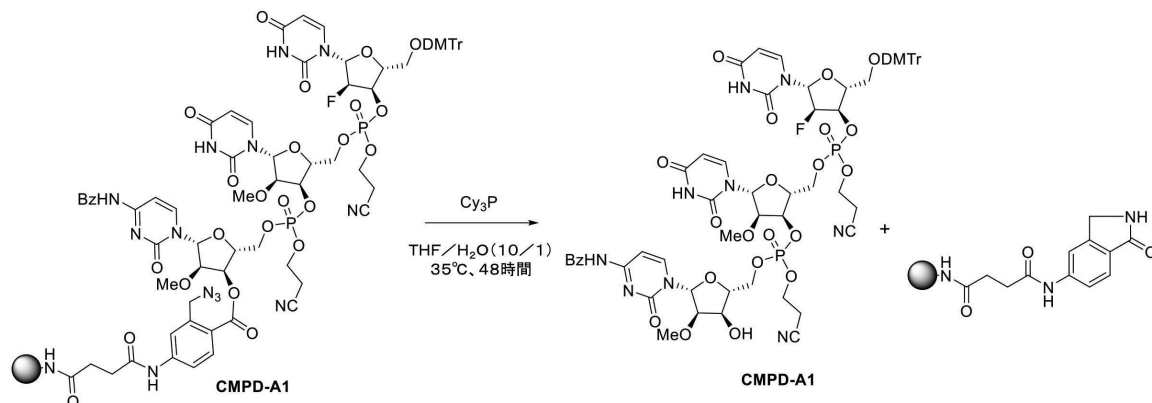
【0323】

固体支持体からのトリマーCMPD-A1の切断

【0324】

10

【化108】



20

【0325】

固体支持体充填オリゴヌクレオチドCMPD-A1を、THF/水（10/1、0.5 mL）中のトリ（シクロヘキシル）ホスフィン（3.6 mg、12.7 μ mol）で48時間35°Cで処理した。固体を濾過した。切断効率は、92%であった（固体支持体残基のDMTr分析によって判定された）。濾液を濃縮した。粗製濾液のLCMSは、全長保護されたオリゴヌクレオチドを証明した。MS、 m/z 1396（M-1）。モノマー断片もダイマー断片も観察されなかった。LCMSによる純度：45%。

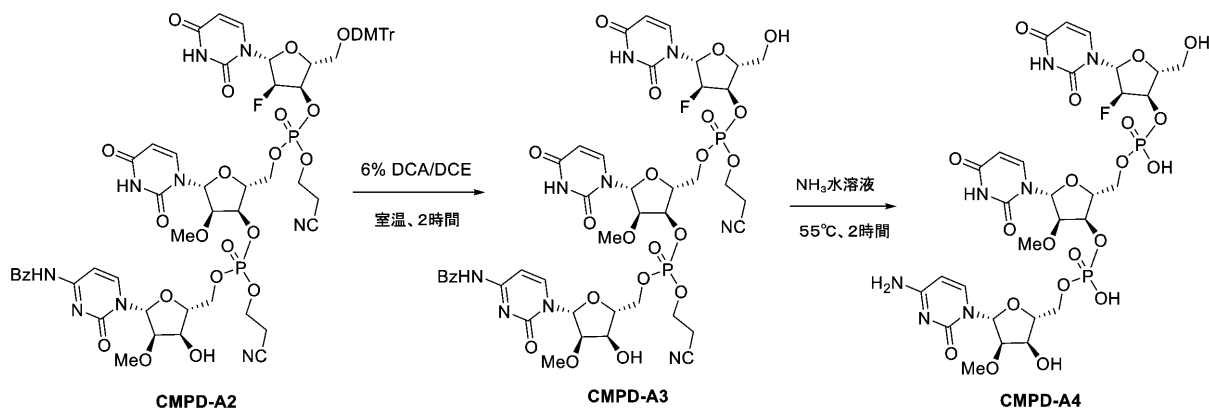
30

【0326】

CMPD-A2の脱保護

【0327】

【化109】



40

【0328】

前の工程からの粗製蒸発残留物CMPD-A2を、室温で2時間、DCE中6% DCAで処理した。出発材料の消失、LCMS： m/z 1096（M+1）により58%の所望の生成物CMPD-A3。モノマー断片もダイマー断片も観察されなかった。CMPD

50

－A 3 の収率（DMTr 分析によって判定された）は、93%であった。反応物をTESでクエンチし、減圧下で濃縮した。

【0329】

粗製蒸発残留物を、55℃で2時間、NH₃水溶液で処理して、完全に脱保護されたトリマーCMPD-A 4を得た。モノマー断片もダイマー断片も観察されなかった。反応混合物を減圧下で濃縮した。粗製残留物を水に溶解し、3℃で、0.5M HCl水溶液で約3のpHに調整し、3℃で、Et₂Oで4回抽出して、DMTr及び安息香酸を除去した。CMPD-A 4の収率は、91%（260nmでのUV分光法により水層の吸収を測定することによって判定された）、純度65%（LCMSによる）であった。MS、m/z 884（M-1）。

10

【0330】

固体支持体上でのテトラマー5'-mAmGmUmC-3'の合成（CMPD-A 5）

上記の配列を有するオリゴヌクレオチドは、2-（アジドメチル）ベンゾイルリンカーを有する固体支持体充填2'-OMe（Bz）Cを使用してホスホロアミダイト化学を用いた標準的な固相合成によって合成した。合成は、MM-12合成器で2μmol規模で行われた。

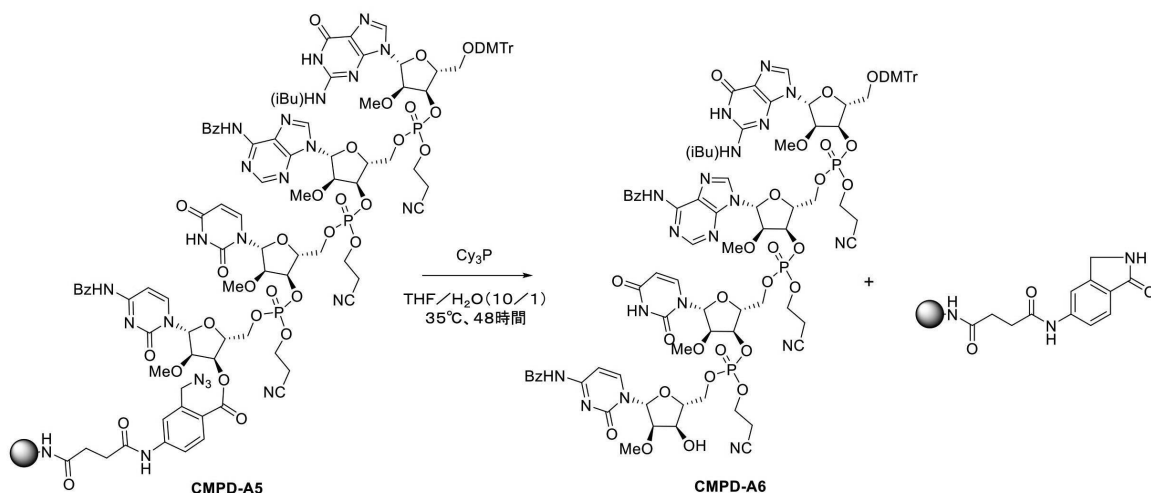
【0331】

固体支持体からのテトラマーCMPD-A 5の切断

【0332】

【化110】

20



30

【0333】

固体支持体充填オリゴヌクレオチドCMPD-A 5を、THF/水（10/1、0.5 mL）中のトリ（シクロヘキシル）ホスフィン（3mg、10μmol）で48時間35℃で処理した。固体を濾過した。切断効率は、91%であった（固体支持体残基のDMTr分析によって判定された）。濾液を濃縮した。粗製濾液のLCMSは、全長保護されたオリゴヌクレオチドCMPD-A 6を証明した。MS、m/z 1011（M/2+1）、純度46%。モノマー断片、ダイマー断片、及びトリマー断片は観察されなかった。

40

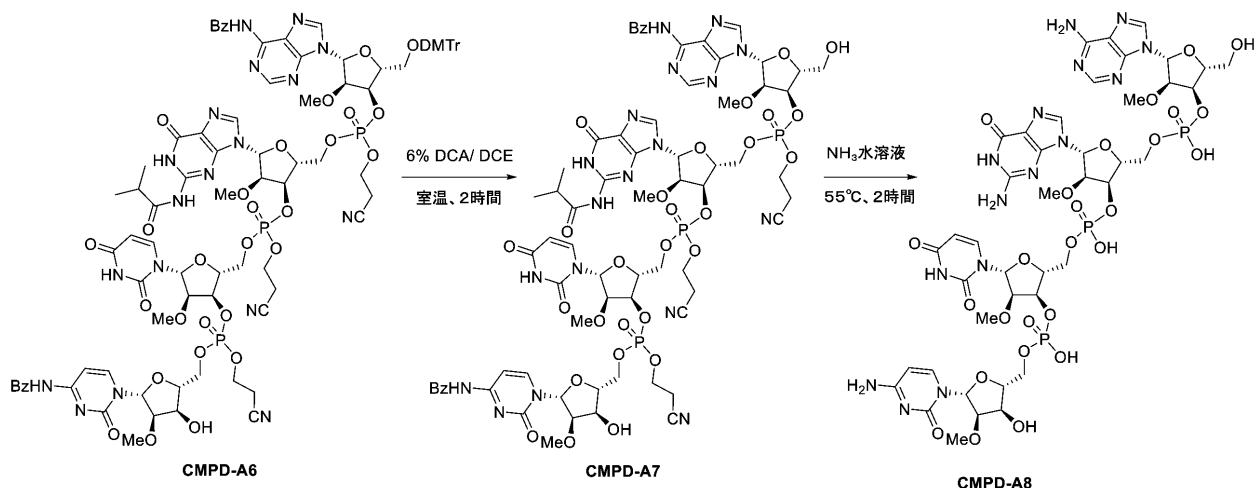
【0334】

CMPD-A 6の脱保護

【0335】

50

【化 1 1 1】



10

【0336】

前の工程からの粗製蒸発残留物 CMPD-A6 を、室温で 2 時間、DCE 中 6% DCA で処理した。出発材料の消失、LCMS により CMPD-A7 について 45% の所望の生成物シグナル；MS、 m/z 1717 ($M+1$)。モノマー断片、ダイマー断片、又はトリマー断片は観察されなかった。CMPD-A7 の収率は、92% であった (DMTr 分析によって判定された)。反応物を TES でクエンチし、減圧下で濃縮した。

20

【0337】

粗製蒸発残留物を、55°C で 2 時間、NH₃ 水溶液で処理して、完全に脱保護されたテトラマー CMPD-A8 を得た。モノマー断片、ダイマー断片、及びトリマー断片は観察されなかった。反応混合物を真空下で濃縮した。粗製残留物を水に溶解し、3°C で、0.5 M HCl 水溶液で約 3 の pH に調整し、3°C で、Et₂O で 4 回抽出して、DMTr 及び安息香酸を除去した。CMPD-A8 の収率は、81% (260 nm での UV 分光法により水層の吸収を測定することによって判定された)、純度 60% (LCMS による) であった。MS、 m/z 1278 ($M-1$)。

【0338】

30

等価物

本開示は、本開示の個々の態様の単一の説明として意図される、本出願に記載される特定の実施形態に関して限定されるものではない。本開示の多くの修正及び変形は、当業者には明らかとなるように、その趣旨及び範囲から逸脱することなくなされ得る。本開示の範囲内の機能的に同等な方法及び装置は、本明細書で列举されるものに加えて、前述の説明から当業者には明らかとなるであろう。そのような修正及び変形は、本開示の範囲内に含まれることが意図される。本開示は、特定の方法、試薬、化合物、組成物、又は生物学的システムに限定されるものではなく、これらは、当然のことながら、変更可能であることは理解されるはずである。また、本明細書において使用される用語は、あくまで特定の実施形態を説明することを目的としたものに過ぎず、限定的なものではない点も理解されるはずである。

40

【0339】

加えて、本開示の特徴又は態様が、マーカッシュ群に関して記載されている場合、当業者は、それにより本開示がまた、マーカッシュ群の任意の個々のメンバー又はメンバーの下位群に関して記載されることを認識するであろう。

【0340】

当業者には理解されるように、任意の及び全ての目的のために、特に記載された説明を提供するという観点から、本明細書に開示される全ての範囲はまた、任意の及び全ての可能な部分範囲及びそれらの部分範囲の組み合わせも包含する。任意の列举された範囲は、同じ範囲が、少なくとも等しい半分、3 分の 1、4 分の 1、5 分の 1、10 分の 1 などに

50

分解されることを十分に説明し、また可能にすると容易に認識することができる。非限定的な例として、本明細書で考察される各範囲は、下3分の1、中間3分の1、及び上3分の1などに容易に分解することができる。当業者には理解されるように、「最大で」、「少なくとも」、「より大きい」、「より小さい」などの全ての文言は、列挙された数を含み、上で考察されたように、その後に部分範囲に分解することができる範囲を指す。最後に、当業者には理解されるように、範囲は、各個々のメンバーを含む。したがって、例えば、1～3個の項目を有する群は、1、2、又は3個の項目を有する群を指す。同様に、1～5個の項目を有する群は、1、2、3、4、又は5個の項目を有する群等を指す。

【0341】

本明細書で参照又は引用される全ての特許、特許出願、仮出願及び刊行物は、全ての図面及び表を含めて、本明細書の明白な教示と矛盾しない程度まで参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2021/052595

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07H1/00 C07H19/067 C07H19/167 C07H21/02
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07H

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

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

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	V. A. EFIMOV ET AL: "Synthesis Of RNA by the Rapid Phosphotriester Method Using Azido-Based 2'-O-Protecting Groups", NUCLEOSIDES, NUCLEOTIDES & NUCLEIC ACIDS, vol. 28, no. 9, 17 September 2009 (2009-09-17), pages 846-865, XP055304200, US ISSN: 1525-7770, DOI: 10.1080/15257770903170286 Scheme 2, page 850, paragraph 2 - page 852, paragraph second last page 855, paragraph first ----- -/-	1-32

☒ 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

"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

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 June 2021

Date of mailing of the international search report

17/06/2021

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fanni, Stefano

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2021/052595

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KAWANAKA ET AL: "Synthesis of dinucleoside phosphates and their analogs by the boranophosphotriester method using azido-based protecting groups", TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM , NL, vol. 48, no. 11, 15 February 2007 (2007-02-15), pages 1973-1976, XP005890695, ISSN: 0040-4039, DOI: 10.1016/J.TETLET.2007.01.064 tables 1-2 page 1976, paragraph first -----	1-32
A	WADA TAKESHI ET AL: "2-(Azidomethyl)benzoyl as a new protecting group in nucleosides", TETRAHEDRON LETTERS, vol. 42, no. 6, 2009, - 2009, pages 1069-1072, XP085040739, ISSN: 0040-4039, DOI: 10.1016/S0040-4039(00)02183-3 Scheme 2 -----	1-32

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,N
E,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,IR,IS,IT,JO,JP,K
E,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,N
G,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

ンセン バイオフーマ インク。内

(72)発明者 ジン, イ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94080, サウス サン フランシスコ, セカンド フロア,
グラント アベニュー 260 イー., ヤンセン バイオフーマ インク。内

(72)発明者 ガラ, ディネシュ

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 08869, ラリタン, ピー. オー. ボックス 300, 9
20 ユーエス ルート 202, ヤンセン リサーチ アンド ディベロップメント エルエルシー内

(72)発明者 ブラハブ, マリジャ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94080, サウス サン フランシスコ, セカンド フロア,
グラント アベニュー 260 イー., ヤンセン バイオフーマ インク。内

F ターム (参考) 4C057 AA03 AA21 BB02 CC01 CC02 DD03 LL17 LL18 LL21 LL30
LL41 LL44 MM01 MM02