

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-530154

(P2013-530154A)

(43) 公表日 平成25年7月25日 (2013.7.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07F 9/24 (2006.01)	C07F 9/24 C S P H	4 B O 2 4
A61P 31/12 (2006.01)	A61P 31/12	4 C O 8 6
A61P 31/04 (2006.01)	A61P 31/04	4 H O 5 0
A61P 29/00 (2006.01)	A61P 29/00	
A61P 13/12 (2006.01)	A61P 13/12	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 147 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2013-512062 (P2013-512062)
 (86) (22) 出願日 平成23年5月27日 (2011. 5. 27)
 (85) 翻訳文提出日 平成24年12月25日 (2012. 12. 25)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/038459
 (87) 国際公開番号 W02011/150408
 (87) 国際公開日 平成23年12月1日 (2011. 12. 1)
 (31) 優先権主張番号 61/386, 428
 (32) 優先日 平成22年9月24日 (2010. 9. 24)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/361, 878
 (32) 優先日 平成22年7月6日 (2010. 7. 6)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/349, 783
 (32) 優先日 平成22年5月28日 (2010. 5. 28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 512304135
 サレプタ セラピューティクス, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 ワシントン 98021
 , ボセル, モンテ ビラ パークウェイ 3450, スイート 101
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 230113332
 弁理士 山本 健策
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹
 (74) 代理人 100181674
 弁理士 飯田 貴敏

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 修飾されたサブユニット間結合および／または末端基を有するオリゴヌクレオチドアナログ

(57) 【要約】

本発明は、骨格を含むオリゴマーであって、骨格がサブユニット間結合によって連結されたモルホリノ環構造の配列を含み、サブユニット間結合が1つのモルホリノ環構造の3'末端とその隣接するモルホリノ環構造の5'末端とを連結し、各モルホリノ環構造が塩基対合部分に結合し、その結果、オリゴマーが配列特異的様式で標的核酸に結合することができる、オリゴマーに関する。開示される化合物は、タンパク質発現の阻害または異常な mRNA スプライス産物の補正によって有利な治療効果が得られる疾患の処置に有用である。

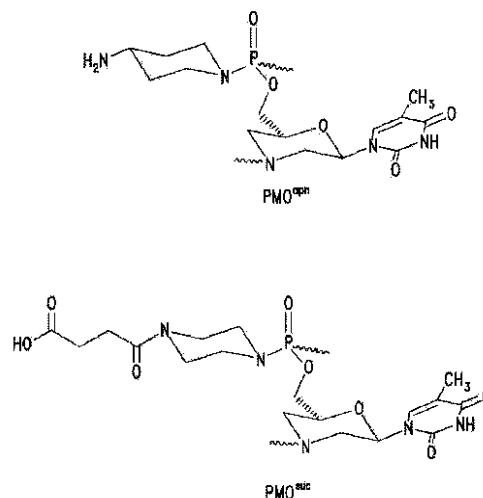


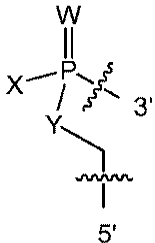
FIG. 2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

骨格を含むオリゴマーまたはその塩もしくは異性体であって、該骨格がサブユニット間結合によって連結されたモルホリノ環構造の配列を含み、該サブユニット間結合が1つのモルホリノ環構造の3'末端と隣接するモルホリノ環構造の5'末端とを連結し、各モルホリノ環構造が塩基対合部分に結合しており、その結果、該オリゴマーが配列特異的様式で標的核酸に結合することができ、前記サブユニット間結合が、以下の一般構造（I）：

【化 6 3】



(I)

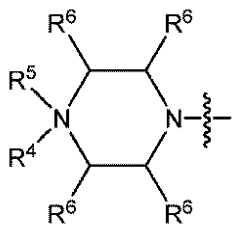
を有し、該サブユニット間結合（I）のそれぞれが、独立して、結合（A）または結合（B）であり、

ここで、結合（A）について、

Wは、それぞれの場所で独立して、SまたはOであり、

Xは、それぞれの場所で独立して、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{OR}^3$ 、または

【化 6 4】



(II)

であり、

Yは、それぞれの場所で独立して、Oまたは $-\text{NR}^2$ であり、

R^1 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

R^2 は、それぞれの場所で独立して、水素または $-\text{LNR}^4\text{R}^5\text{R}^7$ であり、

R^3 は、それぞれの場所で独立して、水素または $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであり、

R^4 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{Z}-\text{L}-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、または $-\text{[C(O)CHR}'\text{NH}]_m\text{H}$ であり、ここで、Zはカルボニル（ $\text{C}(\text{O})$ ）または直接結合であり、 R' は、天然に存在するアミノ酸の側鎖またはその1または2炭素ホモログであり、mは1～6であり、

R^5 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、または電子対であり、

R^6 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

R^7 は、それぞれの場所で独立して、水素 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、または $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルコキシアルキルであり、

Lは、アルキル、アルコキシ、もしくはアルキルアミノ基、またはその組み合わせを含む18原子長までの必要に応じたリンカーであり、

ここで、結合（B）について、

Wは、それぞれの場所で独立して、SまたはOであり、

10

20

30

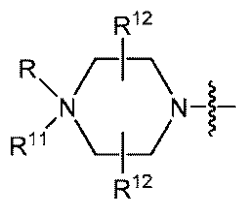
40

50

Xは、それぞれの場所で独立して、 $-NR^8R^9$ または $-OR^3$ であり、
 Yは、それぞれの場所で独立して、Oまたは $-NR^{10}$ であり、
 R^8 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_2 \sim C_{12}$ アルキルであり、
 R^9 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アラルキルまたはアリールであり、
 R^{10} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、または $-LNR^4R^5R^7$ であり、
 ここで、 R^8 および R^9 が連結して5～18員の単環式または二環式の複素環を形成することができるか、 R^8 、 R^9 、または R^3 が R^{10} と連結して5～7員の複素環を形成することができ、Xが4-ピペラジノである場合、Xは以下の構造 (III) :

10

【化65】



(III)

20

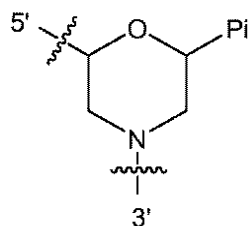
を有し、
 R^{11} は、それぞれの場所で独立して、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルであり、
 R は、それぞれの場所で独立して、電子対、水素、または $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、
 R^{12} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $-NH_2$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NR^{13}R^{14}$ 、 $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ 、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、オキソ、 $-CN$ 、トリフルオロメチル、アミジル、アミジニル、アミジニルアルキル、アミジニルアルキルカルボニルグアニジニル、グアニジニルアルキル、グアニジニルアルキルカルボニル、コラート、デオキシコラート、アリール、ヘテロアリール、複素環、 $-SR^{13}$ 、または $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシであり、 R^{13} 、 R^{14} 、および R^{15} は、それぞれの場所で独立して、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、
 該サブユニット間結合のうちの少なくとも1つは結合 (B) である、オリゴマーまたはその塩もしくは異性体。

30

【請求項2】

前記モルホリノ環構造のうちの少なくとも1つは、以下の構造 (i) :

【化66】



(i)

40

を有し、
 B は、それぞれの場所で独立して、塩基対合部分である、請求項1に記載のオリゴマー。

【請求項3】

前記サブユニット間結合のうちの少なくとも1つは結合 (A) である、前記請求項のいづ

50

れか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 4】

X はそれぞれの結合 (A) において $-N(CH_3)_2$ である、前記請求項のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 5】

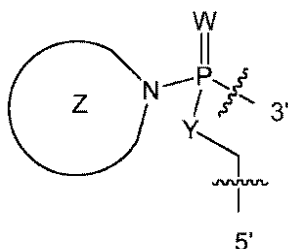
W および Y はそれぞれの場所においてそれぞれ O である、前記請求項のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 6】

少なくとも 1 つの結合 (B) は、以下の構造 (IV) :

【化 6 7】

10



(IV)

20

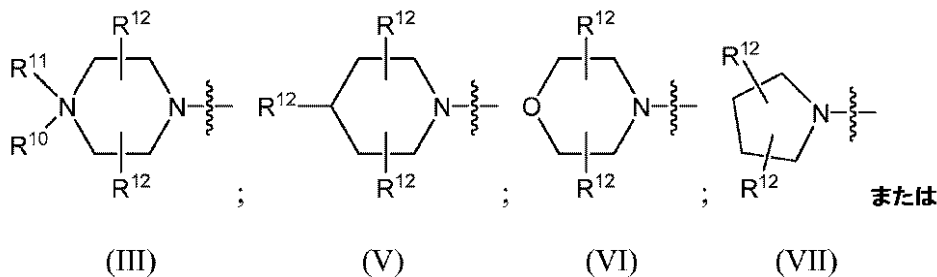
を有し、Z は 5 ~ 18 員の単環式または二環式の複素環を示す、前記請求項のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 7】

Z は、以下の構造 (III)、(V)、(VI)、(VII)、または (VIII) :

【化 6 8】

30

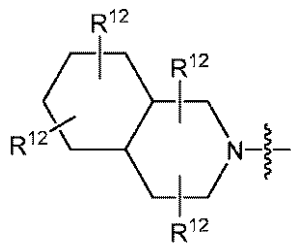


(III)

(V)

(VI)

(VII)



(VIII)

40

のうちの 1 つを有する、請求項 6 に記載のオリゴマー。

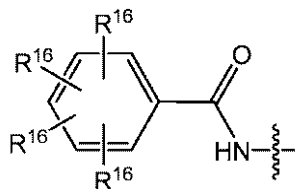
【請求項 8】

Z は構造 (V) を有する、請求項 7 に記載のオリゴマー。

【請求項 9】

少なくとも 1 つの R^{12} は以下の構造 (IX)

【化 6 9】



(IX)

を有し、 R^{16} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $-CN$ 、アリール、またはヘテロアリールである、請求項 7 に記載のオリゴマー。 10

【請求項 10】

少なくとも 1 つの R^{12} は、 $-NH_2$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、または $-N^+(CH_3)_3$ である、請求項 7 に記載のオリゴマー。

【請求項 11】

少なくとも 1 つの R^{12} は、ピロリジニル、ピペリジニル、またはモルホリニルである、請求項 7 に記載のオリゴマー。

【請求項 12】

少なくとも 1 つの R^{12} は、オキソ、トリフルオロメチルグアニジニル、またはニトリルである、請求項 7 に記載のオリゴマー。 20

【請求項 13】

R^{11} は、エチル、イソプロピル、ピペリジニル、ピリミジニル、コラート、デオキシコラート、または $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ (式中、 n は 1 ~ 6 である) である、請求項 7 に記載のオリゴマー。

【請求項 14】

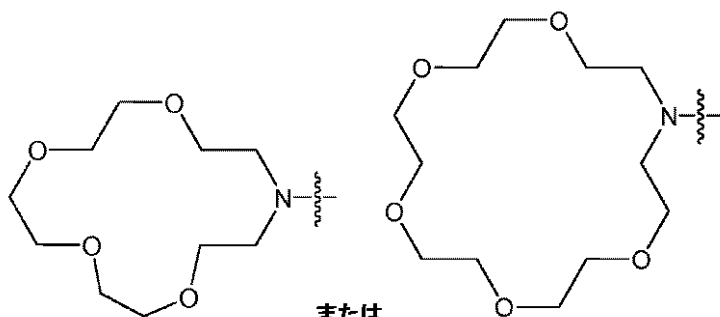
Z はクラウンエーテルを示す、請求項 6 に記載のオリゴマー。

【請求項 15】

Z は、以下の構造 (X) または (XI) :

【化 7 0】

30



(X)

(XI)

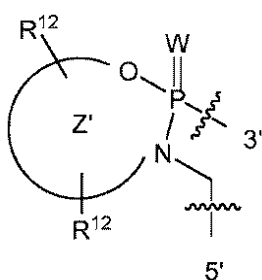
40

のうちの 1 つを有する、請求項 14 に記載のオリゴマー。

【請求項 16】

少なくとも 1 つの結合 (B) は、以下の構造 (XII) :

【化 7 1】



(XII)

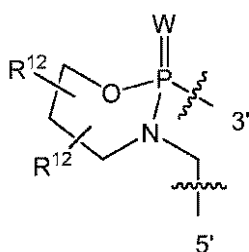
10

を有し、 Z' は 5～7 員の複素環を示す、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 17】

前記少なくとも 1 つの結合 (B) は、以下の構造 (XIII) :

【化 7 2】



(XIII)

20

を有する、請求項 16 に記載のオリゴマー。

【請求項 18】

結合 (B) の少なくとも 1 つの場所について R^8 は $C_2 \sim C_{12}$ アルキルであり、 R^9 は $C_1 \sim C_{12}$ アルキルである、請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

30

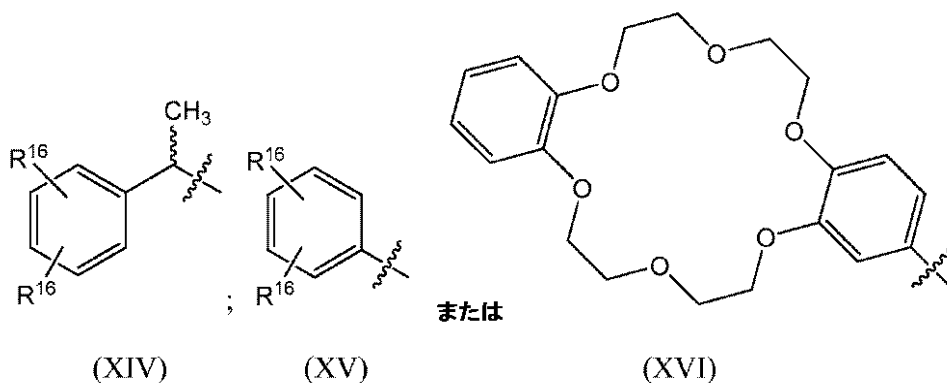
【請求項 19】

結合 (B) の少なくとも 1 つの場所について R^9 は $C_1 \sim C_{12}$ アラルキルまたはアリールである、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 20】

R^9 は、以下の構造 (XIV)、(XV)、または (XVI) :

【化 7 3】



40

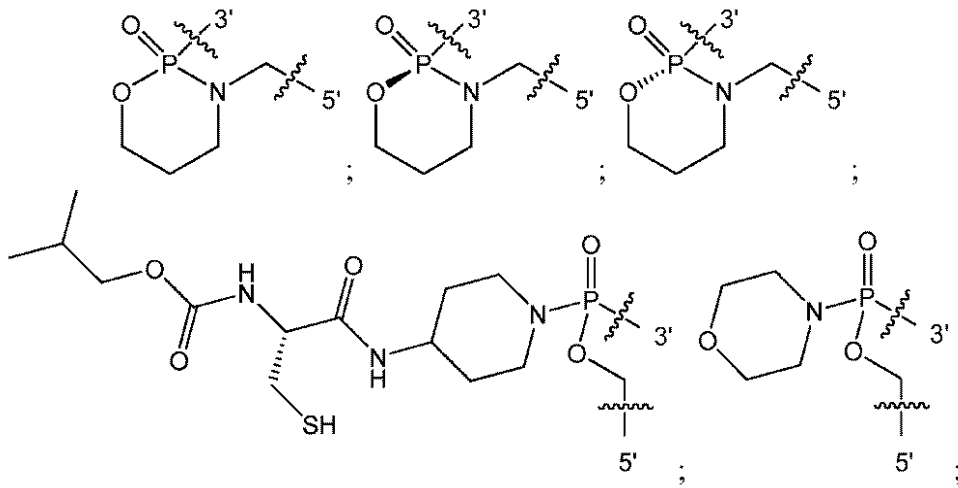
のうちの 1 つを有する、請求項 19 に記載のオリゴマー。

50

【請求項 2 1】

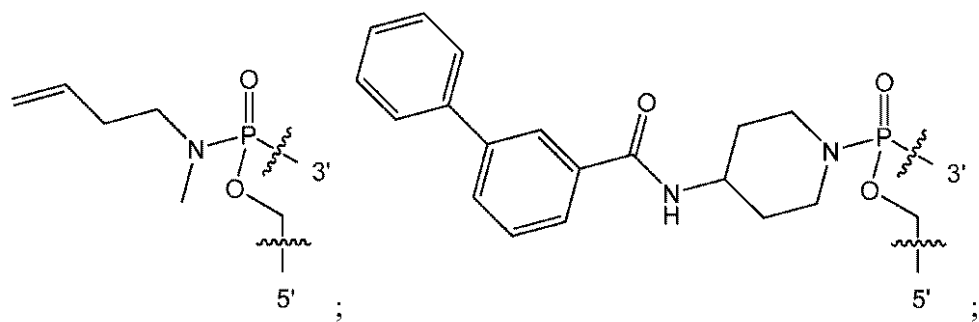
少なくとも 1 つの結合 (B) は、以下の構造：

【化 7 4】

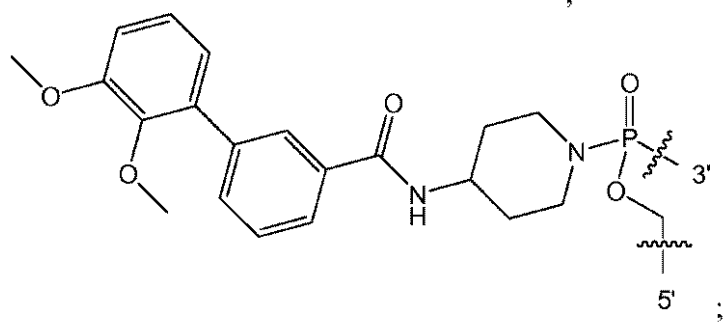
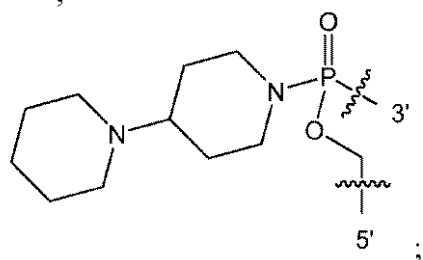


[illegible]

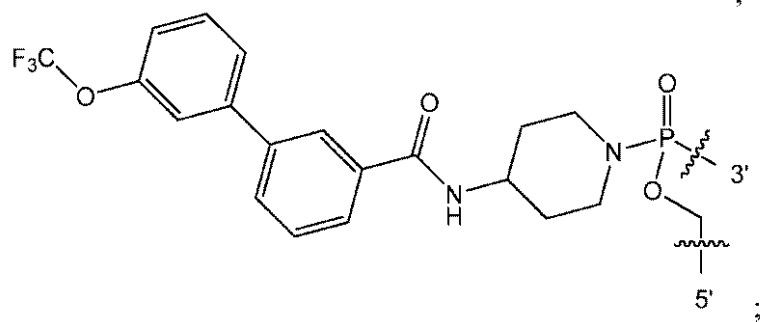
【化 7 6】



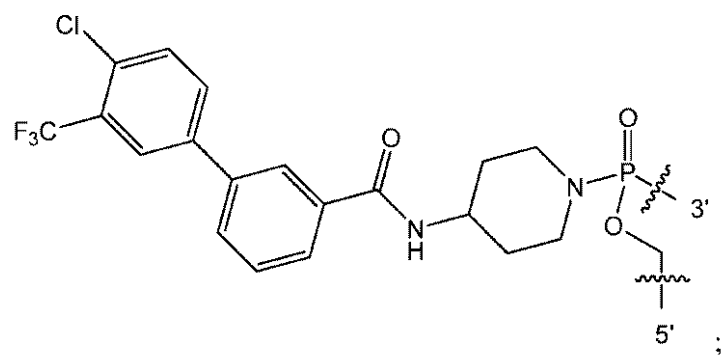
10



20

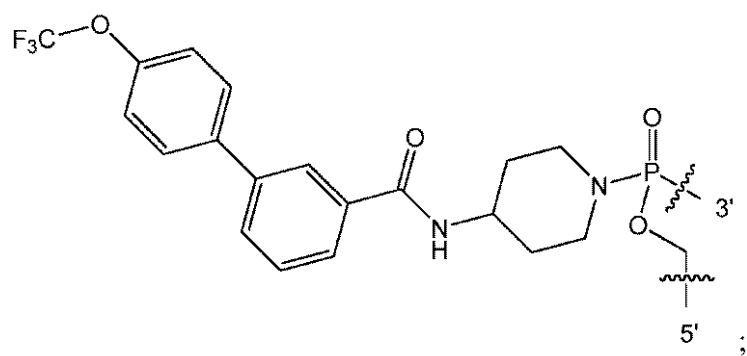


30

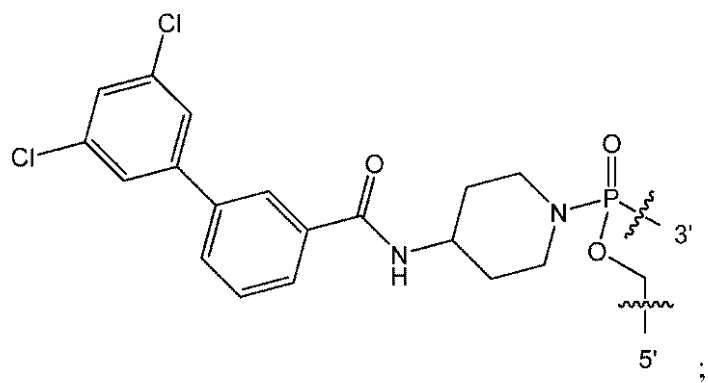


40

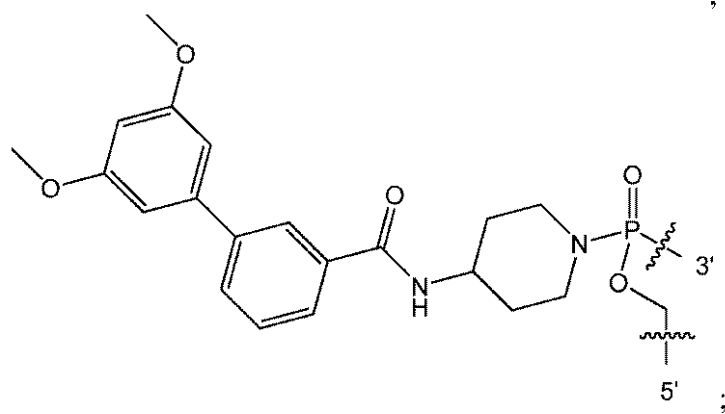
【化 7 7】



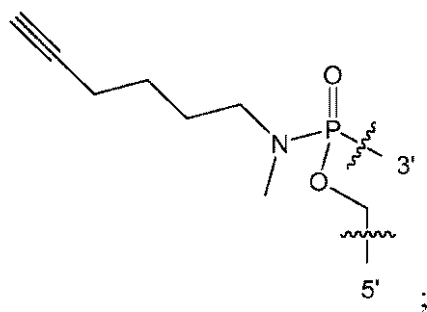
10



20

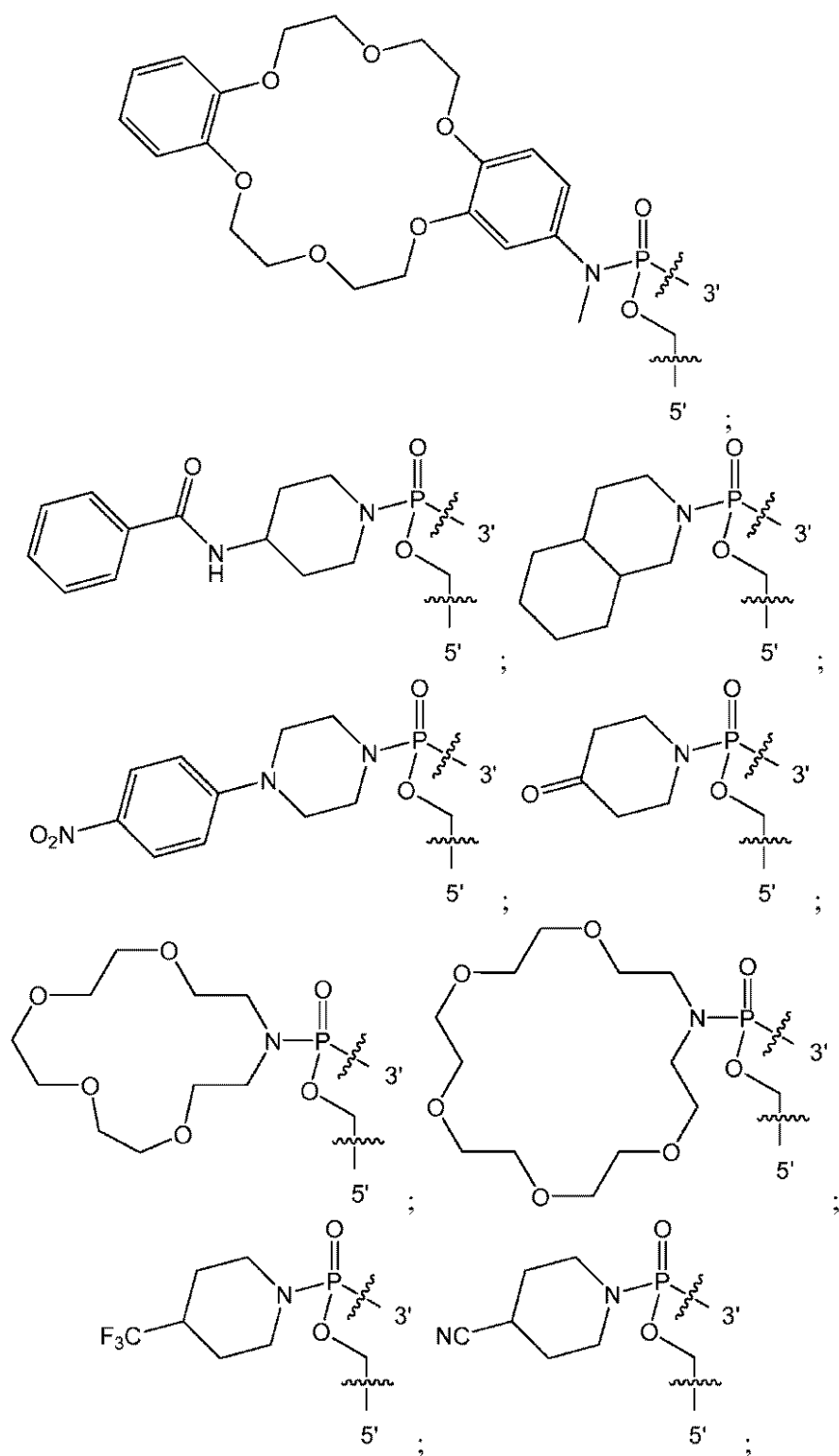


30



40

【化 7 8】



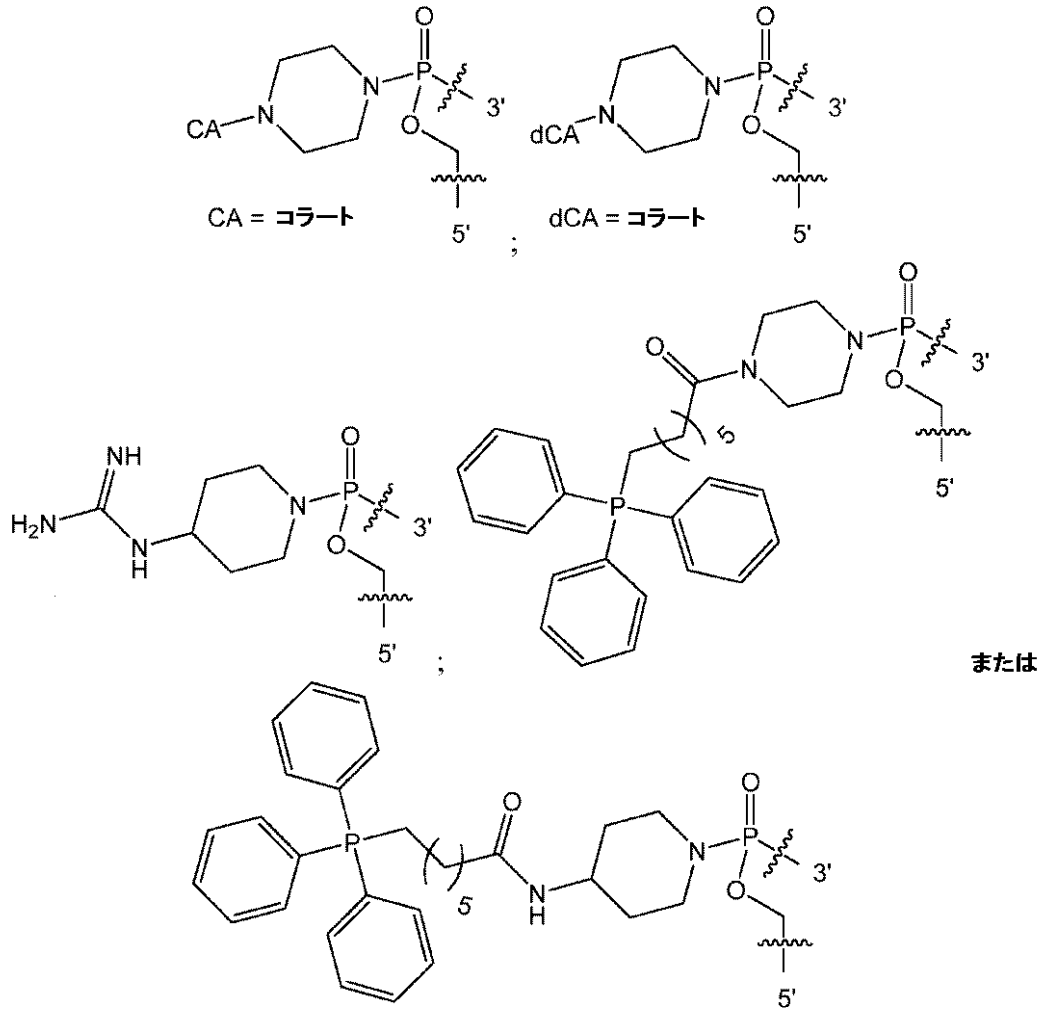
10



30

40

【化 8 0】



のうちの 1 つを有する、請求項 1 に記載のオリゴマー。

【請求項 2 2】

前記サブユニット間結合の少なくとも 5 % は結合 (B) である、前記請求項のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 2 3】

前記サブユニット間結合の 10 % ~ 50 % は結合 (B) である、前記請求項のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 2 4】

各結合 (B) はそれぞれの場所で同一の構造を有する、前記請求項のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 2 5】

各 Y および各 W は O である、前記請求項のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 2 6】

前記オリゴマーは、以下の構造 (X V I I) :

10



30

R¹⁸ または R¹⁹ のうちの少なくとも 1 つが R²⁰ である、請求項 26 に記載のオリゴマー。

【請求項 28】

R²⁰ は、トリチル、メトキシトリチル、ベンズヒドリル、p-クロロベンズヒドリル、トリフェニルアセチル、トリフェニルプロピル、ジフェニルアクリル、クロロジフェニルアセチル、ヒドロキシジフェニルアセチル、トリフェニルホスホリル、ジフェニルホスホリル、ゲラニル、ファルネシル、プレニル、ラウロイル、トリメトキシベンゾイル、トリフェニルプロピオニル、トリメチルグリシン、1-ヒドロキシ-2, 2-ジフェニルアセチル、9-フルオレン-カルボキシル、5-カルボキシフルオレセイン、-COCH₂CH₂SSPy、-COCH₂SH、4-カルバゾリルベンゾイル、4-インダゾリロンベンゾイル、メチルスクシンイミジル-シクロヘキソイル、トリエチレングリコロイル、コハク酸アセチル、ピペリジン-4-イル、トリチルピペリジン-4-イル、boc-ピペリジン-4-イル、ヘキシ-6-イル、ピペラジン-1-イル、またはグアニジニルである、請求項 27 に記載のオリゴマー。

10

【請求項 29】

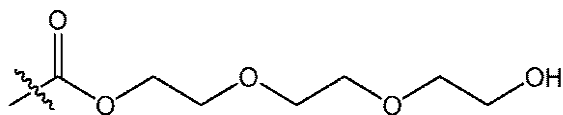
R²⁰ はトリチルまたはトリフェニルアセチルである、請求項 26 に記載のオリゴマー。

【請求項 30】

R¹⁹ は、ピペリジニルまたは以下：

【化 82】

20



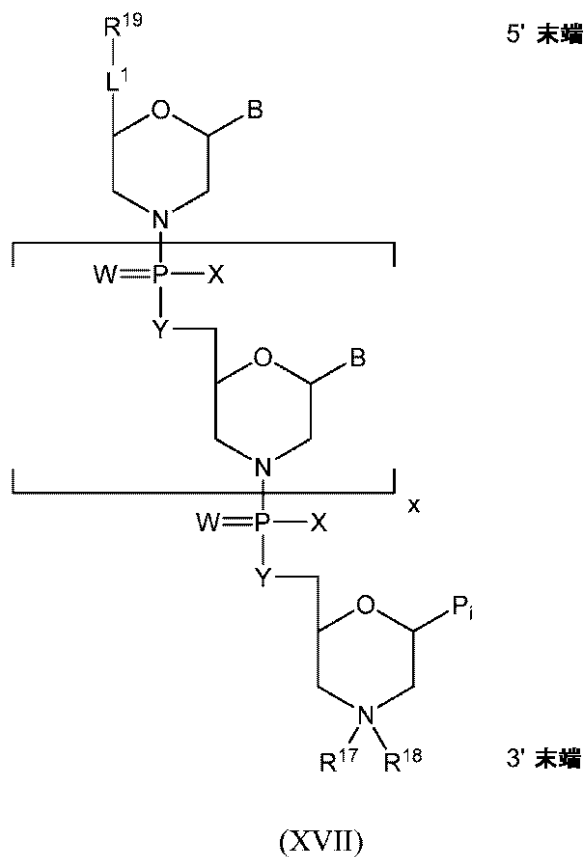
である、請求項 26 に記載のオリゴマー。

【請求項 31】

骨格を含むオリゴマーまたはその塩もしくは異性体であって、該骨格がタイプ (A)、(B)、またはその組み合わせのサブユニット間結合によって連結されたモルホリノ環構造の配列を含み、各モルホリノ環構造が塩基対合部分を支持し、その結果、該オリゴマー化合物が配列特異的様式で標的核酸に結合することができ、前記オリゴマーが 3' 末端、5' 末端を含み、以下の構造 (XVII)：

30

【化 8 3】



10

20

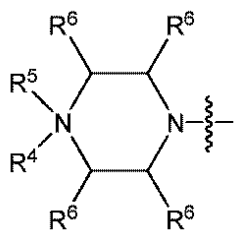
を有し、

ここで、結合 (A) について、

Wは、それぞれの場所で独立して、SまたはOであり、

Xは、それぞれの場所で独立して、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{OR}^3$ 、または

【化 8 4】



(II)

であり、

Yは、それぞれの場所で独立して、Oまたは $-\text{NR}^2$ であり、

R^1 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

R^2 は、それぞれの場所で独立して、水素または $-\text{LNR}^4\text{R}^5\text{R}^7$ であり、

R^3 は、それぞれの場所で独立して、水素または $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであり、

R^4 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{Z}-\text{L}-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、または $-\text{[C(O)CHR}'\text{NH}]_m\text{H}$ であり、ここで、Zはカルボニル($\text{C}(\text{O})$)または直接結合であり、 R' は、天然に存在するアミノ酸の側鎖またはその1または2炭素ホモログであり、mは1~6であり、

R^5 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、または電子対であり、

R^6 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

30

40

50

R^7 は、それぞれの場所で独立して、水素 $C_1 \sim C_6$ アルキル、または $C_1 \sim C_6$ アルコキシアルキルであり、

L は、アルキル、アルコキシ、もしくはアルキルアミノ基、またはその組み合わせを含む 18 原子長までの必要に応じたリンカーであり、

ここで、結合 (B) について、

W は、それぞれの場所で独立して、 S または O であり、

X は、それぞれの場所で独立して、 $-NR^8R^9$ または $-OR^3$ であり、

Y は、それぞれの場所で独立して、 O または $-NR^{10}$ であり、

R^8 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_2 \sim C_{12}$ アルキルであり、

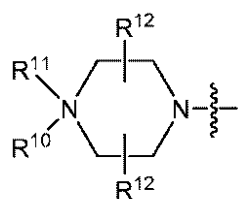
R^9 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アラルキルまたはアリールであり、

10

R^{10} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、または $-LNR^4R^5R^7$ であり、

ここで、 R^8 および R^9 が連結して 5～18 員の単環式または二環式の複素環を形成することができるか、 R^8 、 R^9 、または R^3 が R^{10} と連結して 5～7 員の複素環を形成することができ、 X が 4-ピペラジノである場合、 X は、以下の構造 (III) :

【化 85】



20

(III)

を有し、

R^{10} は、それぞれの場所で独立して、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルであり、

30

R^{11} は、それぞれの場所で独立して、電子対、水素、または $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、

R^{12} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $-NH_2$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NR^{13}R^{14}$ 、 $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ 、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、 $-CN$ 、トリフルオロメチル、アミジル、アミジニル、アミジニルアルキル、アミジニルアルキルカルボニル、グアニジニル、グアニジニルアルキル、グアニジニルアルキルカルボニル、コラート、デオキシコラート、アリール、ヘテロアリール、複素環、 $-SR^{13}$ 、または $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシであり、 R^{13} 、 R^{14} 、および R^{15} は、それぞれの場所で独立して、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、

R^{17} は、それぞれの場所で独立して、存在しないか、水素または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、

40

R^{18} および R^{19} は、それぞれの場所で独立して、存在しないか、水素、細胞透過性ペプチド、天然または非天然のアミノ酸、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルカルボニル、 $-C(=O)OR^{21}$ または R^{20} であり、

R^{20} は、それぞれの場所で独立して、グアニジニル、ヘテロシクリル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル； $C_6 \sim C_{30}$ アリール、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、 $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルアルキルカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニル、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールオキシカルボニル、 $C_8 \sim C_{30}$ アラルキルオ

50

キシカルボニル、または $-P(=O)(R^{22})_2$ であり、
 R^{21} は、1つ以上の酸素もしくはヒドロキシル部分またはその組み合わせを含む $C_1 \sim C_{30}$ アルキルであり、
 各 R^{22} は、独立して、 $C_6 \sim C_{12}$ アリールオキシであり、
 B は塩基対合部分であり、
 L^1 は、アルキル、ヒドロキシル、アルコキシ、アルキルアミノ、アミド、エステル、ジスルフィド、カルボニル、カルバマート、ホスホロジアミダート、ホスホロアミダート、ホスホロチオアート、ピペラジン、およびホスホジエステルから選択される結合を含む 18 原子長までの必要に応じたリンカーであり、
 x は 0 以上の整数であり、
 R^{18} または R^{19} のうちの少なくとも 1 つは R^{20} であり、但し、 R^{17} および R^{18} は共に存在しないものではないとする、オリゴマー。

10

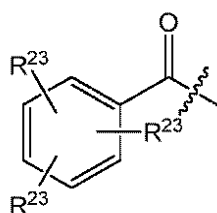
【請求項 32】

R^{20} は $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニルである、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 33】

R^{20} は、以下の構造 (XVIII) :

【化 86】



20

(XVIII)

を有し、 R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルであり、1つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成することができる、請求項 31 に記載のオリゴマー。

30

【請求項 34】

少なくとも 1 つの R^{23} は $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシである、請求項 33 に記載のオリゴマー。

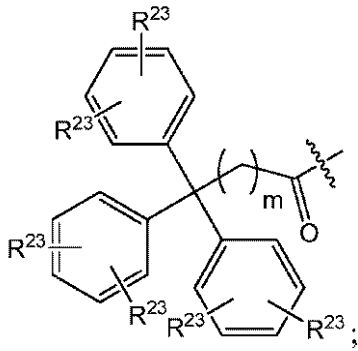
【請求項 35】

R^{20} は $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニルである、請求項 31 に記載のオリゴマー。

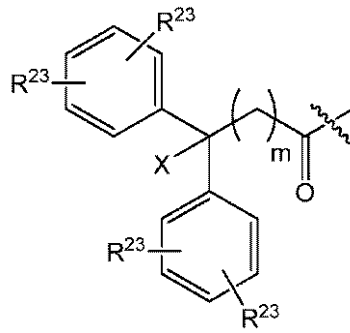
【請求項 36】

R^{20} は、以下の構造 (XIX)、(XX)、または (XXI) :

【化 8 7】

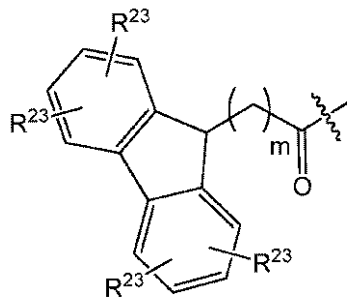


(XIX)



または

(XX)



(XXI)

のうちの1つを有し、

R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、アリーール、ヘテロアリーール、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルであり、1つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成することができ、 m は0～6の整数である、請求項31に記載のオリゴマー。

【請求項37】

少なくとも1つの R^{23} は $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシである、請求項36に記載のオリゴマー。

【請求項38】

m は0である、請求項36に記載のオリゴマー。

【請求項39】

R^{20} は $C_6 \sim C_{30}$ アリーールである、請求項31に記載のオリゴマー。

【請求項40】

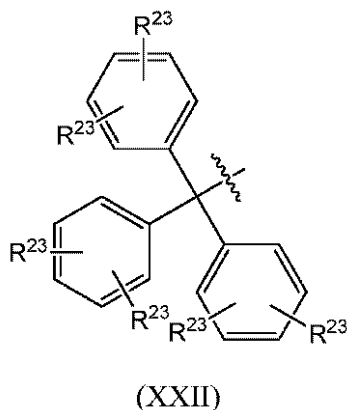
R^{20} は、以下の構造 (XXII) :

10

20

30

【化 8 8】



10

を有し、

R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルであり、1つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成することができる、請求項 31 に記載のオリゴマー。

20

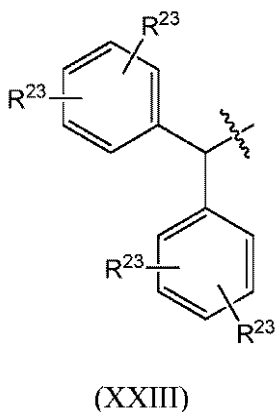
【請求項 41】

少なくとも1つの R^{23} は $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシである、請求項 40 に記載のオリゴマー。

【請求項 42】

R^{20} は以下の構造 (XXIII) :

【化 8 9】



30

を有し、

R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルであり、1つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成することができる、請求項 31 に記載のオリゴマー。

40

【請求項 43】

少なくとも1つの R^{23} はハロである、請求項 42 に記載のオリゴマー。

【請求項 44】

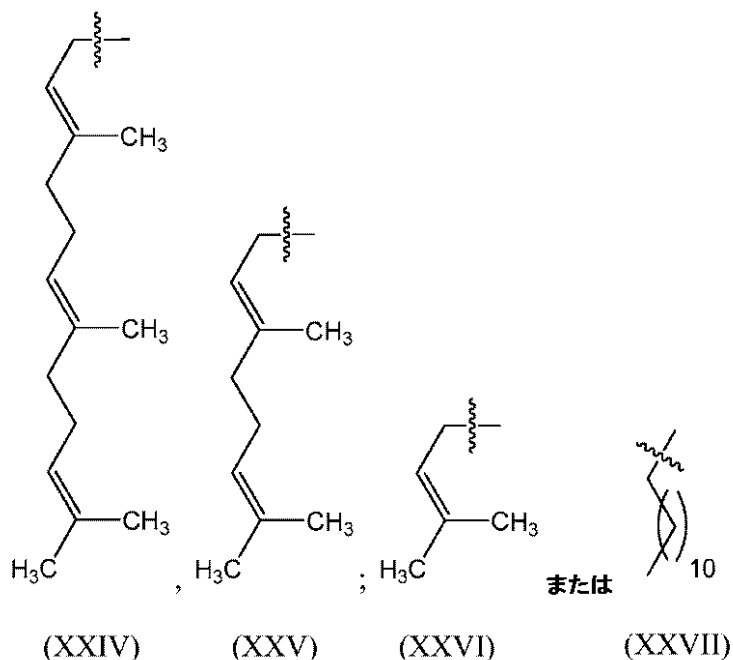
R^{20} は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルである、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 45】

R^{20} は以下の構造 (XXIV)、(XXV)、(XXVI)、または (XXVII) :

50

【化 9 0】



10

20

のうちの 1 つを有する、請求項 3 1 に記載のオリゴマー。

【請求項 4 6】

R^{20} は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルカルボニルである、請求項 3 1 に記載のオリゴマー。

【請求項 4 7】

R^{20} は $-C(=O)(CH_2)_pSH$ または $-C(=O)(CH_2)_pSSHet$ であり、 p は 1 ～ 6 の整数であり、 Het はヘテロアリアルである、請求項 3 1 に記載のオリゴマー。

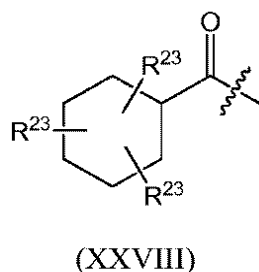
【請求項 4 8】

R^{20} は $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニルである、請求項 3 1 に記載のオリゴマー。

【請求項 4 9】

R^{20} は以下の構造 (XXVIII) :

【化 9 1】



30

40

を有し、

R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、アリアル、ヘテロアリアル、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルであり、1 つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成することができる、請求項 3 1 に記載のオリゴマー。

【請求項 5 0】

R^{20} は $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ (式中、 n は 1 ～ 6 である) である、請求項 3 1 に記載のオリゴマー。

50

【請求項 51】

R^{20} はグアニジニルである、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 52】

R^{19} は $-C(=O)OR^{21}$ である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 53】

$C_7 \sim C_{30}$ アラルキルはメトキシトリチルである、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 54】

R^{20} は $-P(=O)(R^{22})_2$ である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 55】

R^{18} はトリメチルグリシンである、請求項 31 に記載のオリゴマー。

10

【請求項 56】

R^{19} は $-C(=O)OR^{21}$ であり、 R^{18} は、水素、グアニジニル、ヘテロシクリル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル； $C_6 \sim C_{30}$ アリール、 $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルアルキルカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニル、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールオキシカルボニル、 $C_8 \sim C_{30}$ アラルキルオキシカルボニル、または $-P(=O)(R^{22})_2$ であり、各 R^{22} は $C^6 \sim C^{12}$ アリールオキシである、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 57】

R^{20} は、それぞれの場所で独立して、グアニジニル、ヘテロシクリル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル； $C_6 \sim C_{30}$ アリール、 $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルアルキルカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニル、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールオキシカルボニル、 $C_8 \sim C_{30}$ アラルキルオキシカルボニル、または $-P(=O)(R^{22})_2$ である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

20

【請求項 58】

R^{20} は、それぞれの場所で独立して、グアニジニル、ヘテロシクリル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル； $C_6 \sim C_{30}$ アリール、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルアルキルカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニル、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールオキシカルボニル、 $C_8 \sim C_{30}$ アラルキルオキシカルボニル、または $-P(=O)(R^{22})_2$ である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

30

【請求項 59】

R^{20} は 1 つ以上のハロ原子を含む、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 60】

R^{20} はペルフルオロ部分である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 61】

R^{20} は p-トリフルオロメチルフェニル、トリフルオロメチルトリチル、ペルフルオロベンチル、またはペンタフルオロフェニルである、請求項 31 に記載のオリゴマー。

40

【請求項 62】

R^{18} は存在せず、 R^{19} は R^{20} である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 63】

R^{19} は存在せず、 R^{18} は R^{20} である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 64】

R^{18} および R^{19} はそれぞれ R^{20} である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 65】

R^{18} は細胞透過性ペプチドであり、 R^{19} は R^{20} である、請求項 31 に記載のオリゴ

50

マー。

【請求項 66】

R^{19} は細胞透過性ペプチドであり、 R^{18} は R^{20} である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 67】

R^{17} はメチルである、請求項 31 から 66 のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

【請求項 68】

R^{17} は存在しない、請求項 31 から 66 のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。

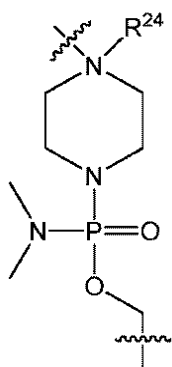
【請求項 69】

L^1 はホスホロジアミダートおよびピペラジン結合を含む、請求項 31 から 68 のいずれか 1 項に記載のオリゴマー。 10

【請求項 70】

L^1 は、以下の構造 (XXIX) :

【化 92】



(XXIX)

20

を有し、 R^{24} は存在しないか、H または $C_1 \sim C_6$ アルキルである、請求項 31 から 69 に記載のオリゴマー。

【請求項 71】

30

R^{24} は存在しない、請求項 70 に記載のオリゴマー。

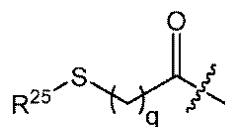
【請求項 72】

R^{24} はメチルである、請求項 70 に記載のオリゴマー。

【請求項 73】

R^{20} は、以下の構造 (XXX) :

【化 93】



(XXX)

40

を有し、 R^{25} は水素または $-SR^{26}$ であり、 R^{26} は、水素、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、 q は 0 ~ 6 の整数である、請求項 31 に記載のオリゴマー。

【請求項 74】

R^{19} は、以下の構造 :

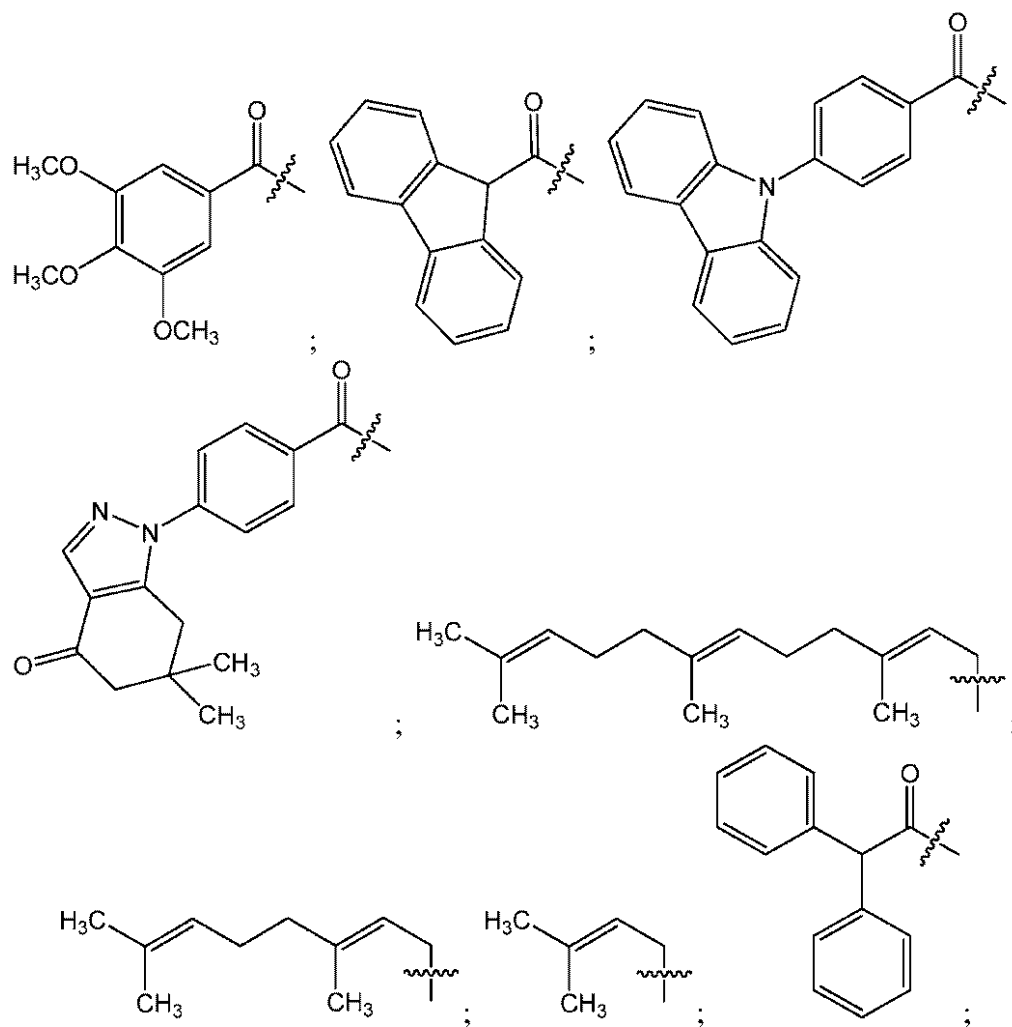
HOCCOCCOCCOC(=O)C

【請求項 7 5】

10

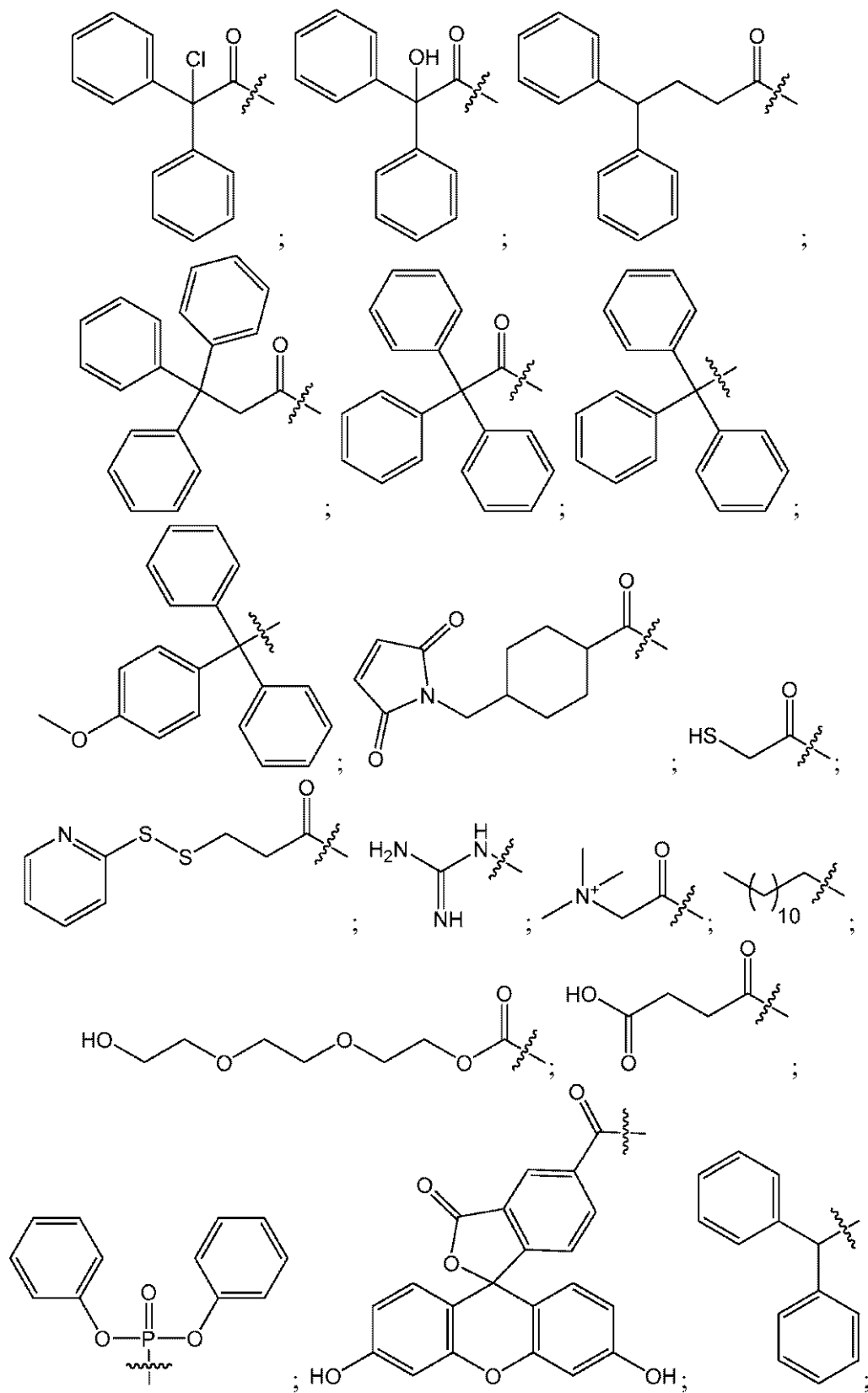
【請求項 7 6】

【化 9 5】



40

【化 9 6】



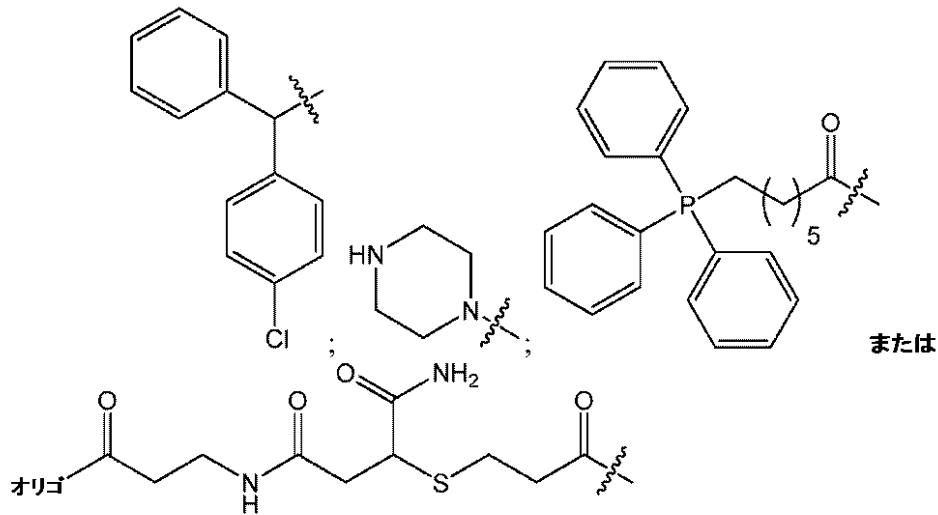
10

20

30

40

【化 9 7】



のうちの 1 つを有し、オリゴはさらなるオリゴマーを示す、請求項 3 1 に記載のオリゴマー。

【請求項 77】

前記請求項のいずれか 1 項に記載のオリゴマーおよび薬学的に許容され得るビヒクルを含む組成物。

【請求項 78】

被験体の疾患を処置する方法であって、治療有効量の請求項 1 から 7 6 のいずれか 1 項に記載のオリゴマーまたは請求項 7 7 に記載の組成物を、それを必要とする被験体に投与する工程を含む、方法。

【請求項 79】

前記疾患が、ウイルス感染、神経筋疾患、細菌感染、炎症、または多発性嚢胞腎である、請求項 7 8 に記載の方法。

【請求項 80】

前記ウイルス感染がインフルエンザである、請求項 7 9 に記載の方法。

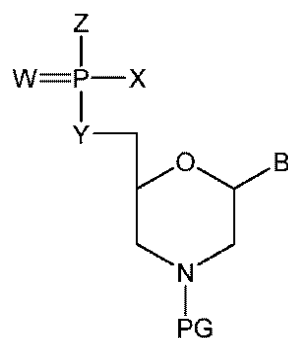
【請求項 81】

前記神経筋疾患がデュシェンヌ型筋ジストロフィである、請求項 8 0 に記載の方法。

【請求項 82】

モルホリノサブユニットまたはその塩もしくは異性体であって、該モルホリノサブユニットは、以下の構造 (XXXI)

【化 9 8】



(XXXI)

を有し、

10

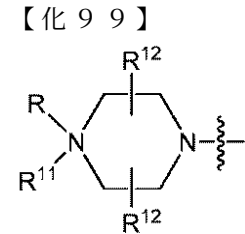
20

30

40

50

Wは、それぞれの場所で独立して、SまたはOであり、
 Xは、それぞれの場所で独立して、 $-NR^8R^9$ または $-OR^3$ であり、
 Yは、それぞれの場所で独立して、Oまたは $-NR^{10}$ であり、
 R^8 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_2 \sim C_{12}$ アルキルであり、
 R^9 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アラルキル、またはアリールであり、
 R^{10} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、または $-LNR^4R^5R^7$ であり、
 R^8 および R^9 が連結して5～18員の単環式または二環式の複素環を形成することができるか、 R^8 、 R^9 、または R^3 が R^{10} と連結して5～7員の複素環を形成することができ、Xが4-ピペラジノである場合、Xは、以下の構造 (III) :



(III)

を有し、
 R^{11} は、それぞれの場所で独立して、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルであり、
 Rは、それぞれの場所で独立して、電子対、水素、または $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、
 R^{12} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $-NH_2$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NR^{13}R^{14}$ 、 $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ 、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、オキソ、 $-CN$ 、トリフルオロメチル、アミジル、アミジニル、アミジニルアルキル、アミジニルアルキルカルボニルグアニジニル、グアニジニルアルキル、グアニジニルアルキルカルボニル、コラート、デオキシコラート、アリール、ヘテロアリール、複素環、 $-SR^{13}$ 、または $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシであり、 R^{13} 、 R^{14} 、および R^{15} は、それぞれの場所で独立して、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、
 該サブユニット間結合のうちの少なくとも1つは結合 (B) であり、
 Zはハロまたは固体支持体への結合であり、
 PGは $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルである、モルホリノサブユニットまたはその塩もしくはは異性体。

【請求項83】

Zはクロロである、請求項82に記載のモルホリノサブユニット。

【請求項84】

PGはトリチルまたはメトキシトリチルである、請求項83に記載のモルホリノサブユニット。

【請求項85】

請求項1から76のいずれか1項に記載のオリゴマーの調製のための請求項82に記載のモルホリノサブユニットの使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の引用

本願は、2010年5月28日に出願した米国仮特許出願第61/349,783号、

10

20

30

40

50

2010年7月6日に出願した米国仮特許出願第61/361,878号、および2010年9月24日に出願した米国仮特許出願第61/386,428号の米国特許法第119条e項の下での優先権を主張する。

【0002】

配列表に関する記述

本出願に関連する配列表を、ペーパーコピーの代わりにテキスト形式で提供し、この配列表は本明細書中に参考として援用される。配列表を含むテキストファイルの名称は120178__487PC__SEQUENCE__LISTING.txtである。テキストファイルは約19KBであり、2011年5月27日に作成され、電子的に提出している。

10

【0003】

背景

技術分野

本発明は、一般に、アンチセンス化合物として有用なオリゴヌクレオチド化合物（オリゴマー）、より詳細には、修飾されたサブユニット間結合および／または末端基を含むオリゴマー化合物、ならびにアンチセンスへの適用におけるかかるオリゴマー化合物の使用に関する。

【背景技術】

【0004】

関連技術の説明

アンチセンスオリゴマーは、一般に、病原タンパク質の産生を防止するために病原タンパク質のDNAまたはRNAに結合するようにデザインされる。アンチセンス治療薬の首尾の良い実施のための必要条件には、(a) インビボでの安定性、(b) 十分な膜透過性および細胞取り込み、ならびに(c) 結合親和性と配列特異性との良好なバランスが含まれる。未変性DNAのホスホジエステル結合がヌクレアーゼ分解に耐性を示す他の結合に置換される多数のオリゴヌクレオチドアナログが開発されている（例えば、非特許文献1；非特許文献2；非特許文献3を参照のこと）。他の種々の骨格修飾を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドも調製されている（非特許文献4；非特許文献3；非特許文献5）。さらに、細胞取り込みを増強するためにオリゴヌクレオチドがペプチド抱合によって修飾されている（非特許文献6；非特許文献7；非特許文献8）。

20

30

【0005】

アンチセンス薬またはアンチジーン薬としてのかかる核酸アナログのパフォーマンスは、種々のアナログの特定の特徴によって妨害されている。例えば、負電荷結合（ホスホロチオアート連結アナログが含まれる）を有するアナログは、オリゴマーの負電荷とDNA標的またはRNA標的との間にかかなりの静電反発力を被る。ホスホロチオアートはまた、他の細胞成分（タンパク質など）への非特異的結合を示す。これらにより、未変性RNA、未変性DNA、および負電荷アナログから構成されるアンチセンスオリゴマーの治療有効性が制限される（非特許文献4；非特許文献5）。非イオン性メチルホスホナート連結オリゴヌクレオチドアナログを、受動拡散および／または液相エンドサイトーシスによって細胞に輸送することができるが、その使用は立体異性体の複雑さおよび不十分な溶解性によって妨げられる（非特許文献4；非特許文献3）。

40

【0006】

いくつかのグループは、正電荷オリゴヌクレオチドの合成を報告している（非特許文献9；非特許文献3；非特許文献10）。例えば、DNAおよびRNA中のリン酸結合のアキラルグアニジノ基との置換によって形成されたグアニジニウム連結ヌクレオシドクラス（DNGと命名）が報告されている（非特許文献11；非特許文献12；非特許文献1；非特許文献2）。正電荷のメチル化チオ尿素結合で連結されたオリゴマーも報告されている（非特許文献13）。これらの結合のいくつかの中性尿素結合との置換がかかる正電荷のオリゴマーが非配列特異的結合する傾向を減少させることを報告している（非特許文献14）。（1-ピペラジノ）ホスフィニリデンオキシ結合および（1-（4-（ω-グア

50

ニジノーアルカノイル))ーピペラジノ) ホスフィニリデンオキシ結合を含むモルホリノオリゴマーが以前に記載されている(例えば、特許文献1を参照のこと)。

【0007】

顕著に進展しているが、アンチセンスまたはアンチジーンのパフォーマンスが改善されたオリゴヌクレオチドアナログが当該分野で依然として必要である。かかる改善されたアンチセンスまたはアンチジーンのパフォーマンスには、配列選択性を妥協することのないDNAおよびRNAに対するより強力な親和性、改善された薬物動態学および組織分布、改善された細胞送達、ならびに信頼でき且つ制御可能なインビボでの分布が含まれる。

【先行技術文献】

【特許文献】

10

【0008】

【特許文献1】国際公開第2008/036127号

【非特許文献】

【0009】

【非特許文献1】Barawkar, D. A. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95 (19): 11047-52 (1998)

【非特許文献2】Linkletter, B. A. et al., Nucleic Acids Res. 29 (11): 2370-6 (2001)

【非特許文献3】Micklefield, J., Curr. Med. Chem, 8 (10): 1157-79 (2001)

20

【非特許文献4】Crooke, S. T., Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Applications, New York, Marcel Dekker (2001)

【非特許文献5】Crooke, S. T., Antisense Drug Technology, Boca Raton, CRC Press (2008)

【非特許文献6】Moulton, H. M. et al., Bioconj. Chem. 15 (2): 290-9 (2004)

【非特許文献7】Nelson, M. H. et al., Bioconj. Chem. 16 (4): 959-66 (2005)

【非特許文献8】Moulton, H. M. et al., Biochim Biophys Acta (2010)。

30

【非特許文献9】Bailey, C. P. et al., Nucleic Acids Res. 26 (21): 4860-7 (1998)

【非特許文献10】Egli, M. et al., Biochemistry 44 (25): 9045-57 (2005)

【非特許文献11】Dempsy, R. O. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 91 (17): 7864-8 (1994)

【非特許文献12】Dempsy, R. O. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 93 (9): 4326-30 (1996)

【非特許文献13】Arya, D. P. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 96 (8): 4384-9 (1999)

40

【非特許文献14】Linkletter, B. A. et al., Bioorg. Med. Chem. 8 (8): 1893-901 (2000)

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0010】

概要

本発明の化合物はこれらの問題に取り組み、当該分野の既存のアンチセンス分子を超える改良をもたらす。サブユニット間結合および/または末端部分のオリゴヌクレオチドアナログ(例えば、モルホリノオリゴヌクレオチド)の5'および/または3'末端への抱

50

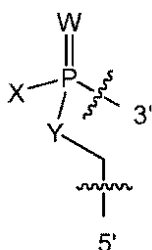
合の修飾により、優れた性質を有するアンチセンスオリゴマーが得られる。例えば、一定の実施形態では、開示のオリゴマーは、他のオリゴヌクレオチドアナログと比較して細胞送達、効力、および／または組織分布が増強されており、そして／または標的器官に効率的に送達させることができる。これらの優れた性質により、好ましい治療指数が得られ、臨床的投与が減少し、製品コストがより低くなる。

【0011】

1つの実施形態では、本開示は、骨格を含むオリゴマーまたはその塩もしくは異性体であって、骨格がサブユニット間結合によって連結されたモルホリノ環構造の配列を含み、サブユニット間結合が1つのモルホリノ環構造の3'末端と隣接するモルホリノ環構造の5'末端とを連結し、オリゴマーが配列特異的様式で標的核酸に結合することができるように各モルホリノ環構造が塩基対合部分に結合し、サブユニット間結合が以下の一般構造(I)：

10

【化1】



20

(I)

を有し、サブユニット間結合(I)のそれぞれが、独立して、結合(A)または結合(B)であり、

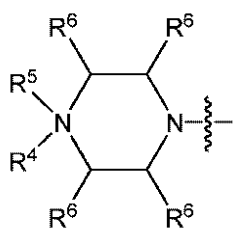
ここで、結合(A)について、

Wは、それぞれの場所で独立して、SまたはOであり、

Xは、それぞれの場所で独立して、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-NR^1R^2$ 、 $-OR^3$ 、または

【化2】

30



(II)

であり、

Yは、それぞれの場所で独立して、Oまたは $-NR^2$ であり、

40

R^1 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

R^2 は、それぞれの場所で独立して、水素または $-LNR^4R^5R^7$ であり、

R^3 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、

R^4 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-Z-L-NHC(=NH)NH_2$ 、または $-[C(O)CHR'NH]_mH$ であり、ここで、Zはカルボニル、 $(C(O))$ または直接結合であり、 R' は、天然に存在するアミノ酸の側鎖またはその1または2炭素ホモログであり、mは1～6であり、

R^5 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、または電子対であり、

R^6 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

R^7 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、または $C_1 \sim C_6$ アル

50

コキシアルキルであり、

Lは、アルキル、アルコキシ、もしくはアルキルアミノ基、またはその組み合わせを含む18原子長までの必要に応じたリンカーであり、

ここで、結合(B)について、

Wは、それぞれの場所で独立して、SまたはOであり、

Xは、それぞれの場所で独立して、 $-NR^8R^9$ または $-OR^3$ であり、

Yは、それぞれの場所で独立して、Oまたは $-NR^{10}$ であり、

R^8 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_2 \sim C_{12}$ アルキルであり、

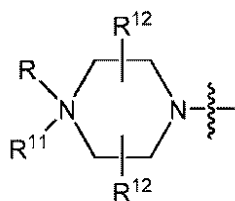
R^9 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アラルキルまたはアリールであり、

10

R^{10} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、または $-LNR^4R^5R^7$ であり、

ここで、 R^8 および R^9 が連結して5～18員の単環式または二環式の複素環を形成することができるか、 R^8 、 R^9 、または R^3 が R^{10} と連結して5～7員の複素環を形成することができ、Xが4-ピペラジノである場合、Xは、以下の構造(III)：

【化3】



20

(III)

を有し、

R^{11} は、それぞれの場所で独立して、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルであり、

Rは、それぞれの場所で独立して、電子対、水素、または $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、

30

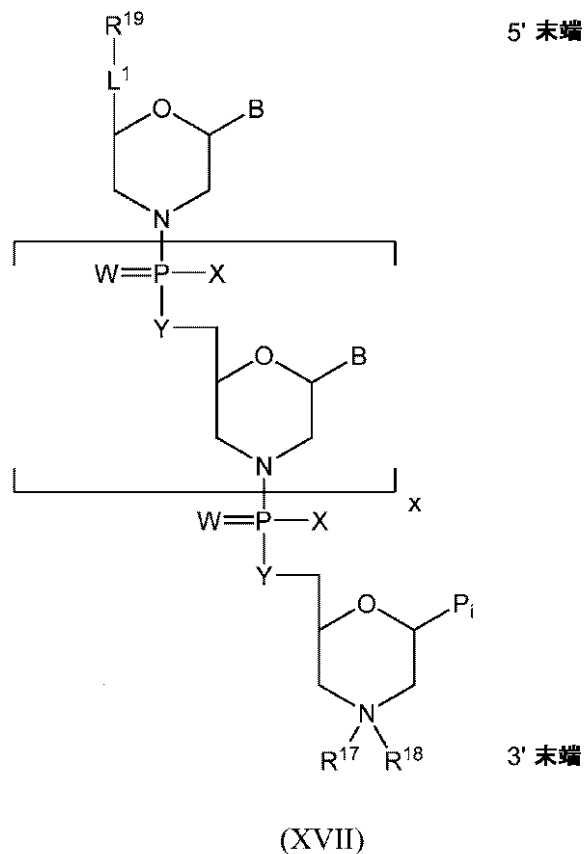
R^{12} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $-NH_2$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NR^{13}R^{14}$ 、 $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ 、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、オキソ、 $-CN$ 、トリフルオロメチル、アミジル、アミジニル、アミジニルアルキル、アミジニルアルキルカルボニルグアニジニル、グアニジニルアルキル、グアニジニルアルキルカルボニル、コラート、デオキシコラート、アリール、ヘテロアリール、複素環、 $-SR^{13}$ 、または $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシであり、 R^{13} 、 R^{14} 、および R^{15} は、それぞれの場所で独立して、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、サブユニット間結合のうちの少なくとも1つは結合(B)である、オリゴマーまたはその塩もしくは異性体を提供する。

【0012】

40

別の実施形態では、本開示は、修飾された末端基を含むオリゴマーを提供する。例えば、1つの実施形態では、本開示は、骨格を含むオリゴマーまたはその塩もしくは異性体であって、骨格がタイプ(A)、(B)、またはその組み合わせのサブユニット間結合によって連結されたモルホリノ環構造の配列を含み、オリゴマー化合物が配列特異的様式で標的核酸に結合することができるように各モルホリノ環構造が塩基対合部分を支持し、オリゴマーが3'末端、5'末端を含み、以下の構造(XVII)：

【化 4】



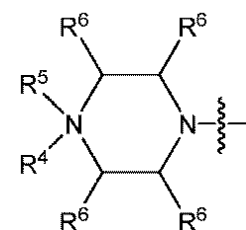
を有し、

ここで、結合 (A) について、

Wは、それぞれの場所で独立して、SまたはOであり、

Xは、それぞれの場所で独立して、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{OR}^3$ 、または

【化 5】



(II)

であり、

Yは、それぞれの場所で独立して、Oまたは $-\text{NR}^2$ であり、

R^1 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

R^2 は、それぞれの場所で独立して、水素または $-\text{LNR}^4\text{R}^5\text{R}^7$ であり、

R^3 は、それぞれの場所で独立して、水素または $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであり、

R^4 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{Z}-\text{L}-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、または $-\text{[C(O)CHR'NH]}_m\text{H}$ であり、ここで、Zはカルボニル、 $(\text{C}(\text{O}))$ または直接結合であり、 R' は、天然に存在するアミノ酸の側鎖またはその1または2炭素ホモログであり、mは1～6であり、

R^5 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、または電子対であり、

R^6 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

10

20

30

40

50

R^7 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、または $C_1 \sim C_6$ アルコシアルキルであり、

L は、アルキル、アルコキシ、もしくはアルキルアミノ基、またはその組み合わせを含む 18 原子長までの必要に応じたリンカーであり、

ここで、結合 (B) について、

W は、それぞれの場所で独立して、 S または O であり、

X は、それぞれの場所で独立して、 $-NR^8R^9$ または $-OR^3$ であり、

Y は、それぞれの場所で独立して、 O または $-NR^{10}$ であり、

R^8 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_2 \sim C_{12}$ アルキルであり、

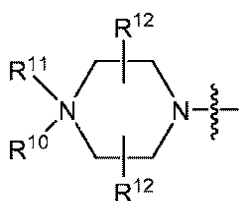
R^9 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アラルキルまたはアリールであり、

10

R^{10} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、または $-LNR^4R^5R^7$ であり、

ここで、 R^8 および R^9 が連結して 5～18 員の単環式または二環式の複素環を形成することができるか、 R^8 、 R^9 、または R^3 が R^{10} と連結して 5～7 員の複素環を形成することができ、 X が 4-ピペラジノである場合、 X は、以下の構造 (III) :

【化 6】



20

(III)

を有し、

R^{10} は、それぞれの場所で独立して、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルであり、

R^{11} は、それぞれの場所で独立して、電子対、水素、または $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、

30

R^{12} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $-NH_2$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NR^{13}R^{14}$ 、 $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ 、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、 $-CN$ 、トリフルオロメチル、アミジル、アミジニル、アミジニルアルキル、アミジニルアルキルカルボニル、グアニジニル、グアニジニルアルキル、グアニジニルアルキルカルボニル、コラート、デオキシコラート、アリール、ヘテロアリール、複素環、 $-SR^{13}$ 、または $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシであり、 R^{13} 、 R^{14} 、および R^{15} は、それぞれの場所で独立して、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、

R^{17} は、それぞれの場所で独立して、存在しないか、水素または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、

40

R^{18} および R^{19} は、それぞれの場所で独立して、存在しないか、水素、細胞透過性ペプチド、天然または非天然のアミノ酸、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルカルボニル、 $-C(=O)OR^{21}$ または R^{20} であり、

R^{20} は、それぞれの場所で独立して、グアニジニル、ヘテロシクリル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル； $C_6 \sim C_{30}$ アリール、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、 $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニル、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールオキシカルボニル、 $C_8 \sim C_{30}$ アラルキルオキシカルボニル、または $-P(=O)(R^{22})_2$ であり、

50

R^{21} は、1つ以上の酸素もしくはヒドロキシル部分またはその組み合わせを含む $C_1 \sim C_{30}$ アルキルであり、

各 R^{22} は、独立して、 $C_6 \sim C_{12}$ アリールオキシであり、

Bは塩基対合部分であり、

L^1 は、アルキル、ヒドロキシル、アルコキシ、アルキルアミノ、アミド、エステル、ジスルフィド、カルボニル、カルバマート、ホスホロジアミダート、ホスホロアミダート、ホスホロチオアート、ピペラジン、およびホスホジエステルから選択される結合を含む18原子長までの必要に応じたリンカーであり、

xは0以上の整数であり、

R^{18} または R^{19} のうちの少なくとも1つは R^{20} であり、但し、 R^{17} および R^{18} は共に存在しないものではないとする、オリゴマーまたはその塩もしくは異性体を提供する。

10

【0013】

別の実施形態では、本開示は、タンパク質産生を阻害する方法であって、タンパク質をコードする核酸を本開示のオリゴマーに暴露する工程を含む、方法を提供する。

【0014】

別の実施形態では、本開示は、被験体の疾患を処置する方法であって、治療有効量のオリゴマーを投与する工程を含む、方法に関する。オリゴマーの作製方法およびその使用方法も提供する。

【0015】

本発明のこれらおよび他の態様は、以下の詳細な説明を参照した際に明らかであろう。この目的を達成するために、種々のリファレンスを本明細書中に記載しており、これらのリファレンスは、一定の背景情報、手順、化合物、および／または組成物についてより詳細に記載しており、それぞれのその全体が本明細書中で参考として援用される。

20

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1A】図1Aは、ホスホロジアミダート結合を含む例示的なモルホリノオリゴマー構造を示す。

【図1B】図1Bは、図1Aと同様であるが、骨格結合が1つのピペラジノホスホロジアミダート結合を含む、モルホリノオリゴマーを示す。

30

【図1C】図1Cは、アルギニンリッチペプチドとアンチセンスオリゴマーとの抱合体を示す。

【図1D】図1D～Gは、例示的なモルホリノオリゴヌクレオチドの反復サブユニットセグメント（1D～1Gと命名）を示す。

【図1E】図1D～Gは、例示的なモルホリノオリゴヌクレオチドの反復サブユニットセグメント（1D～1Gと命名）を示す。

【図1F】図1D～Gは、例示的なモルホリノオリゴヌクレオチドの反復サブユニットセグメント（1D～1Gと命名）を示す。

【図1G】図1D～Gは、例示的なモルホリノオリゴヌクレオチドの反復サブユニットセグメント（1D～1Gと命名）を示す。

40

【図2】図2は、モルホリノーT部分に連結した例示的なサブユニット間結合を示す。

【図3】図3は、固相合成のためのリンカーの調製を示す反応スキームである。

【図4】図4は、オリゴマー合成のための固体支持体の調製を示す。

【図5】図5は、代表的なオリゴマーのエキソンスキッピング活性を示す。

【図6】図6は、mdxマウスモデルにおけるエキソンスキッピングを示す棒グラフである。

【図7A】図7A～7Cは、例示的なオリゴマーでのトランスジェニックeGFPマウスの処置（*treatment*）の結果を示す。

【図7B】図7A～7Cは、例示的なオリゴマーでのトランスジェニックeGFPマウスの処置（*treatment*）の結果を示す。

50

【図 7 C】図 7 A～7 C は、例示的なオリゴマーでのトランスジェニック e G F P マウスの処置 (r e a t m e n t) の結果を示す。

【図 8】図 8 は、例示的なオリゴマーで処置した細胞由来のウイルス M 2 タンパク質レベルの低下を示す。

【図 9】図 9 は、例示的なオリゴマーで処置したマウスにおける抗ウイルス活性および体重減少を示す。

【図 10】図 10 は、例示的なオリゴマーで処置したマウスの体重データを示す。

【図 11】図 11 は、P M O および P M O ⁺ オリゴマーと比較した例示的なオリゴマーで処置したマウス由来の種々の組織における e G F P スプライス補正活性データである。

【図 12】図 12 は、P M O および P M O ⁺ オリゴマーと比較した例示的なオリゴマーで処置したマウス由来の種々の組織における e G F P スプライス補正活性データのサブセットを示す。

10

【発明を実施するための形態】

【0017】

詳細な説明

I. 定義

以下の説明では、種々の実施形態を完全に理解するためにいくらか詳細に記載している。しかし、当業者は、これらの詳述を用いることなく本発明を実施することができるという理解するであろう。他の例では、実施形態を不必要に不明瞭にする記載を回避するために、周知の構造の詳細な表示や説明を行っていない。文脈上他の意味に解すべき場合を除き、明細書および以下の特許請求の範囲を通して、用語「含む (c o m p r i s e) 」およびその語尾変化 (「含む (c o m p r i s e s) 」および「含んでいる (c o m p r i s i n g) 」など) は、開放的な包括の意味で解釈すべきである (すなわち、「～が含まれるが、これらに限定されない」)。さらに、本明細書中に提供した表題は、便宜のみを目的とし、特許請求の範囲に記載の発明の範囲または意味と解釈しない。

20

【0018】

本明細書を通して、「1つの実施形態では (o n e e m b o d i m e n t) 」または「実施形態では (a n e m b o d i m e n t) 」への言及は、実施形態と併せて記載された特定の特性、構造、または特徴が少なくとも1つの実施形態に含まれることを意味する。したがって、本明細書中の種々の場所における句「1つの実施形態では (i n o n e e m b o d i m e n t) 」または「実施形態では (i n a n e m b o d i m e n t) 」の出現は、その同じ実施形態について必ずしもすべて言及していない。さらに、特定の特性、構造、または特徴を、任意の適切な様式で1つ以上の実施形態中に組み合わせることができる。また、本明細書中および添付の特許請求の範囲中で使用する場合、文脈上他の意味を明確に示さない限り、単数形「a」、「an」、および「the」には複数形が含まれる。文脈上他の意味を明確に示さない限り、用語「または」を、一般に、その意味 (「および／または」が含まれる) で使用することも留意すべきである。

30

【0019】

以下の用語は、本明細書中で使用する場合、他の意味を示さない限り、以下の意味を有する。

40

「アミノ」は、 $-NH_2$ ラジカルをいう。

「シアノ」または「ニトリル」は、 $-CN$ ラジカルをいう。

「ヒドロキシ」または「ヒドロキシル」は、 $-OH$ ラジカルをいう。

「イミノ」は、 $=NH$ 置換基をいう。

「グアニジニル」は、 $-NHC(=NH)NH_2$ 置換基をいう。

「アミジニル」は、 $-C(=NH)NH_2$ 置換基をいう。

「ニトロ」は、 $-NO_2$ ラジカルをいう。

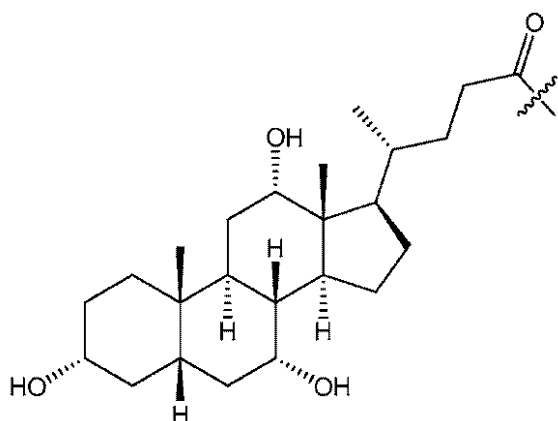
「オキソ」は、 $=O$ 置換基をいう。

「チオキソ」は、 $=S$ 置換基をいう。

「コラート」は、以下の構造：

50

【化 7】



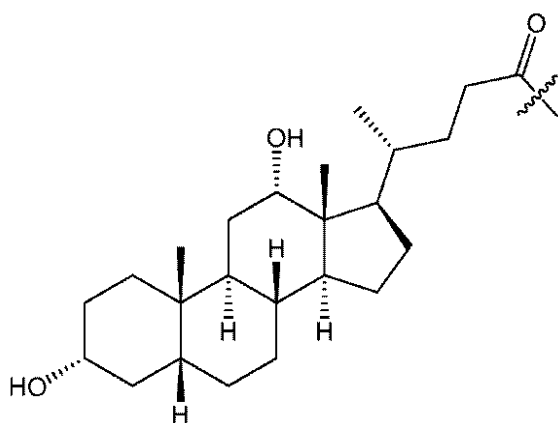
10

をいう。

【0020】

「デオキシコラート」は、以下の構造：

【化 8】



20

30

をいう。

【0021】

「アルキル」は、飽和または不飽和（すなわち、1つ以上の二重結合および／または三重結合を含む）であり、1～30個の炭素原子を有し、単結合によって分子の残部に結合する直鎖または分岐鎖の炭化水素鎖ラジカルをいう。1～30個の任意の数の炭素原子を含むアルキルが含まれる。30個までの炭素原子を含むアルキルを、C₁～C₃₀アルキルといい、同様に、例えば、12個までの炭素原子を含むアルキルはC₁～C₁₂アルキルである。他の数の炭素原子を含むアルキル（および本明細書中に定義の他の部分）を同様に示す。アルキル基には、C₁～C₃₀アルキル、C₁～C₂₀アルキル、C₁～C₁₅アルキル、C₁～C₁₀アルキル、C₁～C₈アルキル、C₁～C₆アルキル、C₁～C₄アルキル、C₁～C₃アルキル、C₁～C₂アルキル、C₂～C₈アルキル、C₃～C₈アルキル、およびC₄～C₈アルキルが含まれるが、これらに限定されない。代表的なアルキル基には、メチル、エチル、n-プロピル、1-メチルエチル（イソプロピル）、n-ブチル、i-ブチル、s-ブチル、n-ペンチル、1, 1-ジメチルエチル（tert-ブチル）、3-メチルヘキシル、2-メチルヘキシル、エテニル、プロプ-1-エニル、ブト-1-エニル、ペント-1-エニル、ペンター1, 4-ジエニル、エチニル、プロピニル、ブト-2-イニル、ブト-3-イニル、ペンチニル、およびヘキシニルなどが含まれるが、これらに限定されない。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アルキル基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

40

【0022】

50

「アルキレン」または「アルキレン鎖」は、分子の残部がラジカル基に連結している直鎖または分岐鎖の2価の炭化水素鎖をいう。アルキレンは、飽和または不飽和であり得る（すなわち、1つ以上の二重結合および／または三重結合を含む）。代表的なアルキレンには、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキレン、 $C_1 \sim C_8$ アルキレン、 $C_1 \sim C_6$ アルキレン、 $C_1 \sim C_4$ アルキレン、 $C_1 \sim C_3$ アルキレン、 $C_1 \sim C_2$ アルキレン、 C_1 アルキレンが含まれるが、これらに限定されない。代表的なアルキレン基には、メチレン、エチレン、プロピレン、 n -ブチレン、エテニレン、プロペニレン、 n -ブテニレン、プロピニレン、および n -ブチニレンなどが含まれるが、これらに限定されない。アルキレン鎖は、単結合または二重結合を介して分子の残部に結合し、単結合または二重結合を介してラジカル基に結合する。アルキレン鎖の分子の残部およびラジカル基への結合点は、鎖内の1つの炭素または任意の2つの炭素を介し得る。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アルキレン鎖を、下記のように任意選択的に置換することができる。

10

【0023】

「アルコキシ」は、式 $-OR_a$ （式中、 R_a は定義のアルキルラジカルである）のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アルコキシ基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

【0024】

「アルコシアルキル」は、式 $-R_bOR_a$ （式中、 R_a は定義のアルキルラジカルであり、 R_b は定義のアルキレンラジカルである）のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アルコシアルキル基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

20

【0025】

「アルキルカルボニル」は、式 $-C(=O)R_a$ （式中、 R_a は上記定義のアルキルラジカルである）のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アルキルカルボニル基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

【0026】

「アルキルオキシカルボニル」は、式 $-C(=O)OR_a$ （式中、 R_a は定義のアルキルラジカルである）のラジカルをいう。明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アルキルオキシカルボニル基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

【0027】

「アルキルアミノ」は、式 $-NHR_a$ または $-NR_aR_a$ （式中、各 R_a は、独立して、上記定義のアルキルラジカルである）のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アルキルアミノ基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

30

【0028】

「アミジル」は、式 $-N(H)C(=O)R_a$ （式中、 R_a は本明細書中に定義のアルキルまたはアリールラジカルである）のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アミジル基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

【0029】

「アミジニルアルキル」は、式 $-R_b-C(=NH)NH_2$ （式中、 R_b は上記定義のアルキレンラジカルである）のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アミジニルアルキル基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

40

【0030】

「アミジニルアルキルカルボニル」は、式 $-C(=O)R_b-C(=NH)NH_2$ （式中、 R_b は上記定義のアルキレンラジカルである）のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アミジニルアルキルカルボニル基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

【0031】

「アミノアルキル」は、式 $-R_b-NR_aR_a$ （式中、 R_b は上記定義のアルキレンラジカルであり、各 R_a は、独立して、水素またはアルキルラジカルである）のラジカルを

50

いう。

【0032】

「チオアルキル」は、式 $-SR_a$ （式中、 R_a は上記定義のアルキルラジカルである）のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、チオアルキル基を任意選択的に置換することができる。

【0033】

「アリール」は、水素、6～30個の炭素原子、および少なくとも1つの芳香環を含む炭化水素環系由来のラジカルをいう。アリールラジカルは、単環系、二環系、三環系、または四環系であってよく、これらには、融合または架橋環系が含まれ得る。アリールラジカルには、アセアントリレン、アセナフチレン、アセフェナントリレン、アントラセン、アズレン、ベンゼン、クリセン、フルオランテン、フルオレン、*as*-インダセン、*s*-インダセン、インダン、インデン、ナフタレン、フェナレン、フェナントレン、ブレイアデン、ピレン、およびトリフェニレンの炭化水素環系由来のアリールラジカルが含まれるが、これらに限定されない。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、用語「アリール」または接頭辞「*ar*-」（「アラルキル」など）は、任意選択的に置換されるアリールラジカルが含まれることを意味する。

10

【0034】

「アラルキル」は、式 $-R_b-R_c$ （式中、 R_b は上記定義のアルキレン鎖であり、 R_c は上記定義の1つ以上のアリールラジカルである（例えば、ベンジル、ジフェニルメチル、およびトリチルなど））のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アラルキル基を任意選択的に置換することができる。

20

【0035】

「アリールカルボニル」は、式 $-C(=O)R_c$ （式中、 R_c は上記定義の1つ以上のアリールラジカルである（例えば、フェニル））のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アリールカルボニル基を任意選択的に置換することができる。

【0036】

「アリールオキシカルボニル」は、式 $-C(=O)OR_c$ （式中、 R_c は上記定義の1つ以上のアリールラジカルである（例えば、フェニル））のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アリールオキシカルボニル基を任意選択的に置換することができる。

30

【0037】

「アラルキルカルボニル」は、式 $-C(=O)R_b-R_c$ （式中、 R_b は上記定義のアルキレン鎖であり、 R_c は上記定義の1つ以上のアリールラジカルである（例えば、フェニル））のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アラルキルカルボニル基を任意選択的に置換することができる。

【0038】

「アラルキルオキシカルボニル」は、式 $-C(=O)OR_b-R_c$ （式中、 R_b は上記定義のアルキレン鎖であり、 R_c は上記定義の1つ以上のアリールラジカルである（例えば、フェニル））のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アラルキルオキシカルボニル基を任意選択的に置換することができる。

40

【0039】

「アリールオキシ」は、式 $-OR_c$ （式中、 R_c は上記定義の1つ以上のアリールラジカルである（例えば、フェニル））のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、アリールカルボニル基を任意選択的に置換することができる。

【0040】

「シクロアルキル」は、飽和または不飽和の融合または架橋環系を含むことができ、単結合によって分子の残部に結合する安定な非芳香族の単環式または多環式の炭素環をいう。代表的なシクロアルキルには、3～15個の炭素原子および3～8個の炭素原子を有するシクロアルキル（*cycloalkyl*）が含まれるが、これらに限定されない。単環

50

式のシクロ (c y c l c o) アルキルラジカルには、例えば、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、およびシクロオクチルが含まれる。多環式ラジカルには、例えば、アダマンチル、ノルボルニル、デカリニル、および 7, 7-ジメチルービスシクロ [2, 2, 1] ヘプタニルが含まれる。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、シクロアルキル基を任意選択的に置換することができる。

【0041】

「シクロアルキルアルキル」は、式 $-R_b R_d$ (式中、 R_b は上記定義のアルキレン鎖であり、 R_d は上記定義のシクロアルキルラジカルである) のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、シクロアルキルアルキル基を任意選択的に置換することができる。

10

【0042】

「シクロアルキルカルボニル」は、式 $-C(=O)R_d$ (式中、 R_d は上記定義のシクロアルキルラジカルである) のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、シクロアルキルカルボニル基を任意選択的に置換することができる。

【0043】

「シクロアルキルオキシカルボニル」は、式 $-C(=O)OR_d$ (式中、 R_d は上記定義のシクロアルキルラジカルである) のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、シクロアルキルオキシカルボニル基を任意選択的に置換することができる。

【0044】

「融合された」は、既存の環構造に融合された本明細書中に記載の任意の環構造をいう。融合環がヘテロシクリル環またはヘテロアリール環である場合、融合ヘテロシクリル環または融合ヘテロアリール環の一部になる既存の環構造上の任意の炭素原子を、窒素原子に置換することができる。

20

【0045】

「グアニジニルアルキル」は、式 $-R_b-NHC(=NH)NH_2$ (式中、 R_b は上記定義のアルキレンラジカルである) のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、グアニジニルアルキル基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

【0046】

「グアニジニルアルキルカルボニル」は、式 $-C(=O)R_b-NHC(=NH)NH_2$ (式中、 R_b は上記定義のアルキレンラジカルである) のラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、グアニジニルアルキルカルボニル基を、下記のように任意選択的に置換することができる。

30

【0047】

「ハロ」または「ハロゲン」は、ブロモ、クロロ、フルオロ、またはヨードをいう。

【0048】

「ハロアルキル」は、上記定義の 1 つ以上のハロラジカルに置換された上記定義のアルキルラジカルをいう (例えば、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、フルオロメチル、トリクロロメチル、2, 2, 2-トリフルオロエチル、1, 2-ジフルオロエチル、3-ブロモ-2-フルオロプロピル、および 1, 2-ジブロモエチルなど)。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、ハロアルキル基を任意選択的に置換することができる。

40

【0049】

「ベルハロ」または「ベルフルオロ」は、各水素原子がハロ原子またはフッ素原子にそれぞれ置換されている部分をいう。

【0050】

「ヘテロシクリル」、「複素環」、または「ヘテロ環」は、2~23 個の炭素原子ならびに窒素、酸素、リン、および硫黄からなる群から選択される 1~8 個のヘテロ原子を含む安定な 3~24 員の非芳香環ラジカルをいう。本明細書中で具体的に他の意味を示さな

50

い限り、ヘテロシクリルラジカルは、単環系、二環系、三環系、または四環系であってよく、融合または架橋環系が含まれ得、ヘテロシクリルラジカル中の窒素原子、炭素原子、または硫黄原子を任意選択的に酸化することができ、窒素原子を四級化することができ、ヘテロシクリルラジカルは部分飽和または完全飽和であり得る。かかるヘテロシクリルラジカルの例には、ジオキサニル、チエニル [1, 3] ジチアニル、デカヒドロイソキノリル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、イソチアゾリジニル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、オクタヒドロインドリル、オクタヒドロイソインドリル、2-オキソペラジニル、2-オキソペリジニル、2-オキソピロリジニル、オキサゾリジニル、ペリジニル、ペラジニル、4-ペリドニル、ピロリジニル、ピラゾリジニル、キヌクリジニル、チアゾリジニル、テトラヒドロフリル、トリチアニル、テトラヒドロピラニル、チオモルホリニル、チアモルホリニル、1-オキソチオモルホリニル、1, 1-ジオキソチオモルホリニル、1, 2-クラウン-4、1, 5-クラウン-5、1, 8-クラウン-6、2, 1-クラウン-7、アザ-1, 8-クラウン-6、ジアザ-1, 8-クラウン-6、アザ-2, 1-クラウン-7、およびジアザ-2, 1-クラウン-7が含まれるが、これらに限定されない。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、ヘテロシクリル基を任意選択的に置換することができる。

10

【0051】

「ヘテロアリール」は、水素原子、1~13個の炭素原子、窒素、酸素、リン、および硫黄からなる群から選択される1~6個のヘテロ原子、および少なくとも1つの芳香環を含む5~14員の環系ラジカルをいう。本発明の目的のために、ヘテロアリールラジカルは、単環系、二環系、三環系、または四環系であってよく、融合または架橋環系が含まれ得、ヘテロアリールラジカル中の窒素原子、炭素原子、または硫黄原子を任意選択的に酸化することができ、窒素原子を任意選択的に四級化することができる。例には、アゼピニル、アクリジニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンズインドリル、ベンゾジオキサニル、ベンゾフラニル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾチアジニル、ベンゾ [b] [1, 4] ジオキセピニル、1, 4-ベンゾジオキサニル、ベンゾナフトフラニル、ベンズオキサゾリル、ベンゾジオキサニル、ベンゾジオキシニル、ベンゾピラニル、ベンゾピラノニル、ベンゾフラニル、ベンゾフラノニル、ベンゾチエニル (ベンゾチオフエニル)、ベンゾトリアゾリル、ベンゾ [4, 6] イミダゾ [1, 2-a] ピリジニル、カルバゾリル、シンノリニル、ジベンゾフラニル、ジベンゾチオフエニル、フラニル、フラノニル、イソチアゾリル、イミダゾリル、インダゾリル、インドリル、インダゾリル、イソインドリル、インドリニル、イソインドリニル、イソキノリル、インドリジニル、イソオキサゾリル、ナフチリジニル、オキサジアゾリル、2-オキソアゼピニル、オキサゾリル、オキシラニル、1-オキシドピリジニル、1-オキシドピリミジニル、1-オキシドピラジニル、1-オキシドピリダジニル、1-フェニル-1H-ピロリル、フェナジニル、フェノチアジニル、フェノキサジニル、フタラジニル、プテリジニル、プリニル、ピロリル、ピラゾリル、ピリジニル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、キナゾリニル、キノキサリニル、キノリニル、キヌクリジニル、イソキノリニル、テトラヒドロキノリニル、チアゾリル、チアジニル、トリアゾリル、テトラゾリル、トリアジニル、およびチオフエニル (すなわち、チエニル) が含まれるが、これらに限定されない。本明細書中で具体的に他の意味を示さない限り、ヘテロアリール基を任意選択的に置換することができる。

20

30

40

【0052】

全ての上記基は置換または非置換のいずれかであり得る。用語「置換」は、本明細書中で使用する場合、上記基のいずれか (すなわち、アルキル、アルキレン、アルコキシ、アルコキシアリル、アルキルカルボニル、アルキルオキシカルボニル、アルキルアミノ、アミジル、アミジニルアルキル、アミジニルアルキルカルボニル、アミノアルキル、アリール、アラリル、アリールカルボニル、アリールオキシカルボニル、アラリルカルボニル、アラリルオキシカルボニル、アリールオキシ、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキルカルボニル、シクロアルキルアルキルカルボニル、シクロアル

50

キルオキシカルボニル、グアニジニルアルキル、グアニジニルアルキルカルボニル、ハロ
 アルキル、ヘテロシクリル、および／またはヘテロアリール）を意味し、さらに官能化す
 ることができる（少なくとも1つの水素原子を非水素原子置換基への結合に置換する）。
 本明細書中に具体的に示さない限り、置換基には、オキソ、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、
 ニトリル、ニトロ、ヒドロキシル、チオオキシ、アルキル、アルキレン、アルコキシ、ア
 ルコキシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルオキシカルボニル、アリール、アラ
 ルキル、アリールカルボニル、アリールオキシカルボニル、アラルキルカルボニル、アラ
 ルキルオキシカルボニル、アリールオキシ、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、シ
 クロアルキルカルボニル、シクロアルキルアルキルカルボニル、シクロアルキルオキシカ
 ルボニル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、ジアルキルアミン、アリールアミン、アル
 キルアリールアミン、ジアリールアミン、N-オキシド、イミド、およびエナミン；基（
 トリアルキルシリル基、ジアルキルアリールシリル基、アルキルジアリールシリル基、ト
 リアリールシリル基など）内のケイ素原子、ペルフルオロアルキル、またはペルフルオ
 ロアルコキシ（例えば、トリフルオロメチルまたはトリフルオロメトキシ）から選択される
 1つ以上の置換基が含まれ得る。「置換」はまた、1つ以上の水素原子がヘテロ原子（オ
 キソ基、カルボニル基、カルボキシ基、およびエステル基内の酸素ならびに基（イミン
 、オキシム、ヒドラゾン、およびニトリルなど）内の窒素など）へのより高次の結合（例
 えば、二重結合または三重結合）に置換される上記のいずれかの基を意味する。例えば、
 「置換」には、1つ以上の水素原子が $-\text{NR}_g\text{C}(=\text{O})\text{NR}_g\text{R}_h$ 、 $-\text{NR}_g\text{C}(=\text{O})\text{OR}_h$ 、 $-\text{NR}_g\text{SO}_2\text{R}_h$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}_g\text{R}_h$ 、 $-\text{OR}_g$ 、 $-\text{SR}_g$ 、 $-\text{S}$
 OR_g 、 $-\text{SO}_2\text{R}_g$ 、 $-\text{OSO}_2\text{R}_g$ 、 $-\text{SO}_2\text{OR}_g$ 、 $=\text{NSO}_2\text{R}_g$ 、および $-\text{SO}_2\text{NR}_g\text{R}_h$ に置換される上記のいずれかの基が含まれる。「置換」はまた、1つ以上
 の水素原子が $-\text{C}(=\text{O})\text{R}_g$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}_g$ 、 $-\text{CH}_2\text{SO}_2\text{R}_g$ 、 $-\text{CH}_2\text{S}$
 $\text{O}_2\text{NR}_g\text{R}_h$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}_g$ 、または $-\text{SSR}_g$ に置換される上記のいずれかの基
 を意味する。上記では、 R_g および R_h は同一または異なり、独立して、水素、アルキル
 、アルコキシ、アルキルアミノ、チオアルキル、アリール、アラルキル、シクロアルキル
 、シクロアルキルアルキル、ハロアルキル、ヘテロシクリル、N-ヘテロシクリル、ヘテ
 ロシクリルアルキル、ヘテロアリール、N-ヘテロアリール、および／またはヘテロアリ
 ールアルキルである。さらに、上記の各置換基を、1つ以上の上記置換基に任意選択的に
 置換することもできる。さらに、上記のいずれかの基を、1つ以上の内部酸素原子または
 硫黄原子を含むように置換することができる。例えば、アルキル基を、1つ以上の内部酸
 素原子に置換してエーテル基またはポリエーテル基を形成することができる。同様に、ア
 ルキル基を、1つ以上の内部硫黄原子に置換してチオエーテル、ジスルフィドなどを形成
 することができる。アミジル部分を2個までのハロ原子に置換することができる一方で、
 他の上記基を1つ以上のハロ原子に置換することができる。アルキル基を除いて、全ての
 他の基を、アミノまたはモノアルキル（monoalkyl）アミノに置換することもでき
 る。アルキル基およびアルキルカルボニル基を除いて、全ての他の基を、グアニジニル
 またはアミジニルに置換することもできる。上記のいずれかの基の必要に応じた置換基に
 は、アリールホスホリル（例えば、 $-\text{R}_a\text{P}(\text{Ar})_3$ （式中、 R_a はアルキレンであり
 、 Ar はアリール部分（例えば、フェニル）である））も含まれる。

10

20

30

40

【0053】

用語「アンチセンスオリゴマー」または「アンチセンス化合物」は交換可能に使用され
 、それぞれがリボースまたは他のペントース糖またはモルホリノ基から構成される骨格サ
 ブユニット上に保有されている塩基を有し、骨格基がサブユニット間結合に連結されてお
 り、それにより、ワトソン・クリック塩基対合によって化合物中の塩基を核酸（典型的
 にはRNA）中の標的配列とハイブリッド形成させて標的配列内に核酸：オリゴマーヘテロ
 二重鎖を形成することが可能なサブユニットの配列をいう。オリゴマーは、標的配列に対
 して正確な配列相補性またはほぼ正確な相補性を有し得る。かかるアンチセンスオリゴマ
 ーを、標的配列を含むmRNAの翻訳を遮断または阻害するようにデザインし、これを、
 標的配列がハイブリッド形成する配列に「指向する」ということができる。

50

【0054】

「モルホリノオリゴマー」または「PMO」は、典型的なポリヌクレオチドに水素結合することができる塩基を支持する骨格を有する高分子をいい、このポリマーは、ペントース糖骨格部分、より詳細には、ヌクレオチドおよびヌクレオシドに典型的なホスホジエステル結合によって連結されたリボース骨格を欠くが、その代わりに環窒素を介したカップリングを使用した環窒素を含む。例示的な「モルホリノ」オリゴマーは、(チオ)ホスホルアミダートまたは(チオ)ホスホロジアミダート結合(1つのサブユニットのモルホリノ窒素を隣接するサブユニットの5'環外炭素に連結する)によって相互に連結されたモルホリノサブユニット構造を含み、各サブユニットはポリヌクレオチド中の塩基への塩基特異的水素結合による結合に有効なプリンまたはピリミジン塩基対合部分を含む。モルホリノオリゴマー(アンチセンスオリゴマーが含まれる)は、例えば、米国特許第5,698,685号;同第5,217,866号;同第5,142,047号;同第5,034,506号;同第5,166,315号;同第5,185,444号;同第5,521,063号;同第5,506,337号、ならびに係属中の米国特許出願第12/271,036号;同第12/271,040号;およびPCT公開番号WO/2009/064471号(その全ての全体が本明細書中で参考として援用される)に詳述されている。代表的なPMOには、サブユニット間結合が連結(A1)であるPMOが含まれる。

10

【0055】

「PMO+」は、以前に記載の任意の数の(1-ピペラジノ)ホスフィニリデンオキシ、(1-(4-(ω -グアニジノ-アルカノイル))-ピペラジノ)ホスフィニリデンオキシ結合(A2およびA3)を含むホスホロジアミダートモルホリノオリゴマーをいう(例えば、PCT公開WO/2008/036127号(その全体が本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。

20

【0056】

「PMO-X」は、少なくとも1つの(B)結合または開示の末端修飾のうちの少なくとも1つを含む本明細書中に開示のホスホロジアミダートモルホリノオリゴマーをいう。

【0057】

「ホスホルアミダート」基が3個の結合した酸素原子および1個の結合した窒素原子を有するリンを含む一方で、「ホスホロジアミダート」基(例えば、図1D~Eを参照のこと)は2個の結合した酸素原子および2つの結合した窒素原子を有するリンを含む。本明細書中および同時係属中の米国特許出願第61/349,783号および同第11/801,885号に記載のオリゴマーの非荷電または修飾されたサブユニット間結合では、1つの窒素が常に骨格鎖に懸垂している。ホスホロジアミダート結合中の第2の窒素は、典型的には、モルホリノ環構造中の環窒素である。

30

【0058】

「チオホスホルアミダート」または「チオホスホロジアミダート」結合は、それぞれ、1つの酸素原子(典型的には骨格に懸垂している酸素)が硫黄に置換されたホスホルアミダート結合またはホスホロジアミダート結合である。

【0059】

「サブユニット間結合」は、2つのモルホリノサブユニットを連結している結合(例えば、構造(I))をいう。

40

【0060】

「荷電」「非荷電」「陽イオン性」、および「陰イオン性」は、本明細書中で使用する場合、中性付近のpH(例えば、約6~8)での化学的部分の主な状態をいう。例えば、本用語は、生理学的pH(すなわち、約7.4)での化学的部分の主な状態をいうことができる。

【0061】

「低級アルキル」は、1~6個の炭素原子のアルキルラジカル(例えば、メチル、エチル、n-ブチル、i-ブチル、t-ブチル、イソアミル、n-ペンチル、およびイソペンチル)をいう。一定の実施形態では、「低級アルキル」基は1~4個の炭素原子を有する

50

。他の実施形態では、「低級アルキル」基は1～2個の炭素原子を有する（すなわち、メチルまたはエチル）。同様に、「低級アルケニル」は、2～6個、好ましくは3個または4個の炭素原子のアルケニルラジカル（例えば、アリルおよびブテニル）をいう。

【0062】

「非干渉」置換基は、本明細書中に記載のアンチセンスオリゴマーがその意図する標的に結合する能力に悪影響を及ぼさない置換基である。かかる置換基には、小さいおよび／または比較的非極性の基（メチル、エチル、メトキシ、エトキシ、またはフルオロなど）が含まれる。

【0063】

37℃より高い、45℃より高い、好ましくは少なくとも50℃、典型的には60℃～80℃以上のT_mを使用した生理学的条件下でオリゴマーが標的とハイブリッド形成する場合、オリゴヌクレオチドまたはアンチセンスオリゴマーは、標的ポリヌクレオチドと「特異的にハイブリッド形成する」。オリゴマーの「T_m」は、相補的ポリヌクレオチドと50%ハイブリッド形成する温度である。T_mを、例えば、Miyada et al., Methods Enzymol. 154:94-107 (1987)に記載のように、生理食塩水中で標準的な条件下にて決定する。かかるハイブリッド形成は、アンチセンスオリゴマーが標的配列に対して「ほぼ」または「実質的に」相補的および正確に相補的である場合に起こり得る。

【0064】

ポリヌクレオチドは、ハイブリッド形成が2つの一本鎖ポリヌクレオチドの間の逆平行立体配置で起こる場合、相互に「相補的」と記載する。相補性（一方のポリヌクレオチドが他方と相補的である程度）は、一般に許容される塩基対合則にしたがって相互に水素結合を形成することが予想される反対側の鎖中の塩基の比率に関して定量可能である。

【0065】

その配列が第1の配列であるポリヌクレオチドが生理学的条件下で第2のポリヌクレオチド配列と特異的に結合するか特異的にハイブリッド形成する場合、第1の配列は第2の配列に関して「アンチセンス配列」である。

【0066】

用語「ターゲティング配列」は、RNAゲノム中の標的配列に相補的な（さらに、「実質的に相補的な」を意味する）オリゴヌクレオチドアナログ中の配列である。アナログ化合物の全配列または一部のみが標的配列に相補的であり得る。例えば、20塩基を有するアナログでは、たった12～14塩基がターゲティング配列であり得る。典型的には、ターゲティング配列は、アナログ中の連続塩基から形成されるが、あるいは、共に配置した場合に（例えば、アナログの反対側の末端から）、標的配列にわたる配列を構成する不連続配列から形成することができる。

【0067】

標的配列およびターゲティング配列は、ハイブリッド形成が逆平行立体配置で起こる場合に相互に「相補的」と記載する。ターゲティング配列は、標的配列に「ほぼ」または「実質的に」相補的であり得、本明細書中に記載の方法の目的のために依然として機能し得る（すなわち、依然として「相補的」であり得る）。好ましくは、本明細書中に記載の方法で使用されるオリゴヌクレオチドアナログ化合物は、標的配列と10ヌクレオチドのうちの最大で1個のミスマッチを有し、好ましくは、20個のうちの最大で1個のミスマッチを有する。あるいは、使用されるアンチセンスオリゴマーは、本明細書中で命名した例示的なターゲティング配列と少なくとも90%の配列相同性、好ましくは少なくとも95%の配列相同性を有する。RNA標的への相補的結合のために、以下で考察のように、グアニン塩基は、シトシンまたはウラシルRNA塩基にいずれかと相補的であり得る。

【0068】

「ヘテロ二重鎖」は、オリゴヌクレオチド（oligonucleotide）アナログと標的RNAの相補部分との間の二重鎖をいう。「ヌクレアーゼ耐性ヘテロ二重鎖」は、二本鎖RNA/RNAまたはRNA/DNA複合体を切断することができる細胞内およ

10

20

30

40

50

び細胞外ヌクレアーゼ（RNアーゼHなど）によるインビボでの分解に対してヘテロ二重鎖が実質的に耐性を示すようにアンチセンスオリゴマーのその相補標的への結合によって形成されたヘテロ二重鎖をいう。

【0069】

細胞膜を横切る受動拡散以外の機構によって薬剤が細胞に侵入することができる場合、薬剤は、「哺乳動物細胞によって能動的に取り込まれる」。薬剤を、例えば、「能動輸送」（例えば、ATP依存性輸送機構による哺乳動物細胞膜を横切る薬剤の輸送をいう）または「促進輸送」（薬剤の輸送タンパク質への結合が必要であり、その後膜を横切る結合した薬剤の通過を促進する輸送機構による細胞膜を横切るアンチセンス薬の輸送をいう）によって輸送することができる。

10

【0070】

用語「発現の調整」および／または「アンチセンス活性」は、RNAの発現または翻訳の干渉によって所与のタンパク質の発現を増強するか、より典型的には減少させるアンチセンスオリゴマーの能力をいう。タンパク質発現の減少の場合、アンチセンスオリゴマーは、所与の遺伝子の発現を直接遮断することができるか、その遺伝子から転写されたRNAの分解促進に寄与することができる。本明細書中に記載のモルホリノオリゴマーは、前者の（立体的遮断）機構を介して作用すると考えられる。オリゴマーの立体的遮断のための好ましいアンチセンス標的には、ATG開始コドン領域、スプライス部位、スプライス部位に近接する領域、およびmRNAの5'非翻訳領域が含まれるが、モルホリノオリゴマーを使用して他の領域が首尾よくターゲティングされている。

20

【0071】

「アミノ酸サブユニット」は、好ましくは、 α -アミノ酸残基（ $-\text{CO}-\text{CHR}-\text{NH}-$ ）であり、 β -または他のアミノ酸残基（例えば、 $-\text{CO}-\text{CH}_2\text{CHR}-\text{NH}-$ ）でもあり得る（式中、Rはアミノ酸側鎖である）。

【0072】

用語「天然に存在するアミノ酸」は、自然界で見出されるタンパク質中に存在するアミノ酸をいう。用語「非天然アミノ酸」は、自然界で見出されるタンパク質中に存在しないアミノ酸をいい、例には、 β -アラニン（ $\beta\text{-Ala}$ ）および6-アミノヘキサン酸（Ahx）が含まれる。

【0073】

「有効量」または「治療有効量」は、単回用量としてか一連の用量の一部のいずれかとして、典型的には、選択された標的核酸配列の翻訳の阻害によって所望の治療効果を得るのに有効な哺乳動物被験体へのアンチセンスオリゴマーの投与量をいう。

30

【0074】

個体（例えば、ヒトなどの哺乳動物）または細胞の「処置」は、個体または細胞の自然経過を変化させることを意図して使用される任意の介入型である。処置には、薬学的組成物の投与が含まれるがこれらに限定されず、予防的または病理学的事象の開始または病原体との接触後のいずれかで行うことができる。

【0075】

II. アンチセンスオリゴマー

40

A. 修飾されたサブユニット間結合を有するオリゴマー

上述の通り、本開示の1つの実施形態は、新規のサブユニット間結合を含むオリゴマーに関する。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、対応する未修飾オリゴマーよりもDNAおよびRNAに対する親和性が高く、他のサブユニット間結合を有するオリゴマーと比較して細胞送達、効力、および／または組織分布性が改善される。1つの実施形態では、オリゴマーは、少なくとも1つの上記定義のタイプ（B）のサブユニット間結合を含む。オリゴマーはまた、上記定義のタイプ（A）の1つ以上のサブユニット間結合を含むことができる。種々の結合型およびオリゴマーの構造的特徴および性質は、以下の考察により詳細に記載されている。

【0076】

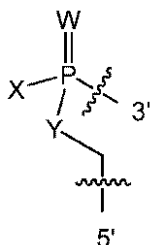
50

1. 結合 (A)

出願人は、アンチセンス活性の増強、生体内分布、および／または他の所望の性質を種々のサブユニット間結合を有するオリゴマーの調製によって最適化することができることを見出した。例えば、オリゴマーは、任意選択的には、1つ以上のタイプ (A) のサブユニット間結合を含むことができ、一定の実施形態では、オリゴマーは少なくとも1つのタイプ (A) の結合を含む。いくつかの他の実施形態では、タイプ (A) の各結合は、同一の構造を有する。タイプ (A) の結合には、米国共有特許第7, 943, 762号 (その全体が本明細書中で参考として援用される) に開示の結合が含まれ得る。結合 (A) は、以下の構造 (I) :

【化9】

10



I

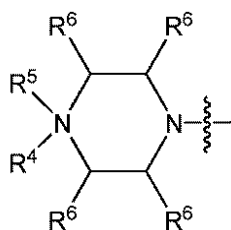
またはその塩もしくは異性体を有し、3'および5'がモルホリノ環 (すなわち、以下に考察した構造 (i)) のそれぞれ3'末端および5'末端への結合点を示し、

20

Wは、それぞれの場所で独立して、SまたはOであり、

Xは、それぞれの場所で独立して、 $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{NR}^1\text{R}^2$ 、 $-\text{OR}^3$ 、または

【化10】



(II)

30

であり、

Yは、それぞれの場所で独立して、Oまたは $-\text{NR}^2$ であり、

R^1 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

R^2 は、それぞれの場所で独立して、水素または $-\text{LNR}^4\text{R}^5\text{R}^7$ であり、

R^3 は、それぞれの場所で独立して、水素または $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであり、

R^4 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、 $-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、 $-\text{Z}-\text{L}-\text{NHC}(=\text{NH})\text{NH}_2$ 、または $-\text{[C}(=\text{O})\text{CHR}'\text{NH}]_m\text{H}$ であり、Zは $-\text{C}(=\text{O})-$ または直接結合であり、 R' は天然に存在するアミノ酸の側鎖またはその1または2炭素ホモログであり、mは1~6であり、

40

R^5 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、または電子対であり、

R^6 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルであり、

R^7 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、または $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルコキシアルキルであり、

Lは、アルキル、アルコキシもしくはアルキルアミノ基またはその組み合わせを含む18原子長までの必要に応じたリンカーである。

【0077】

いくつかの例では、オリゴマーは、少なくとも1つのタイプ (A) の結合を含む。いく

50

つかの他の実施形態では、オリゴマーは、少なくとも2つの連続したタイプ(A)の結合を含む。さらなる実施形態では、オリゴマー中の少なくとも5%の結合がタイプ(A)である。例えば、いくつかの実施形態では、5%~95%、10%~90%、10%~50%、または10%~35%の結合が結合タイプ(A)であり得る。いくつかの特定の実施形態では、少なくとも1つのタイプ(A)結合は $-N(CH_3)_2$ である。他の実施形態では、各タイプ(A)の結合は $-N(CH_3)_2$ である。他の実施形態では、少なくとも1つのタイプ(A)結合は、ピペリジン-1-イル(例えば、非置換ピペラジン-1-イル(例えば、A2またはA3))である。他の実施形態では、各タイプ(A)の結合は、ピペリジン-1-イル(例えば、非置換ピペラジン-1-イル)である。

【0078】

いくつかの実施形態では、Wは、それぞれの場所で独立して、SまたはOであり、一定の実施形態では、WはOである。

【0079】

いくつかの実施形態では、Xは、それぞれの場所で独立して、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-NR^1R^2$ 、 $-OR^3$ である。いくつかの実施形態では、Xは $-N(CH_3)_2$ である。他の態様では、Xは $-NR^1R^2$ であり、他の例では、Xは $-OR^3$ である。

【0080】

いくつかの実施形態では、 R^1 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルである。いくつかの実施形態では、 R^1 は水素である。他の実施形態では、Xはメチルである。

【0081】

いくつかの実施形態では、 R^2 は、それぞれ、水素である。他の実施形態では、 R^2 は、それぞれ、 $-LNR^4R^5R^7$ である。いくつかの実施形態では、 R^3 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_1 \sim C_6$ アルキルである。他の実施形態では、 R^3 はメチルである。さらに他の実施形態では、 R^3 はエチルである。いくつかの他の実施形態では、 R^3 はn-プロピルまたはイソプロピルである。いくつかの他の実施形態では、 R^3 は C_4 アルキルである。他の実施形態では、 R^3 は C_5 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^3 は C_6 アルキルである。

【0082】

一定の実施形態では、 R^4 は、それぞれの場所で独立して、水素である。他の実施形態では、 R^4 はメチルである。さらに他の実施形態では、 R^4 は $-C(=NH)NH_2$ であり、他の実施形態では、 R^4 は $-Z-L-NHC(=NH)NH_2$ である。さらに他の実施形態では、 R^4 は $-[C(=O)CH(R')NH]_mH$ である。1つの実施形態では、Zは $-C(=O)-$ であり、別の実施形態では、Zは直接結合である。 R' は天然に存在するアミノ酸の側鎖である。いくつかの実施形態では、 R' は、天然に存在するアミノ酸の側鎖の1または2炭素ホモログである。

【0083】

mは1~6の整数である。mは1であり得る。mは2であり得、mは3であり得、mは4であり得、mは5であり得、mは6であり得る。

【0084】

いくつかの実施形態では、 R^5 は、それぞれの場所で独立して、水素、メチル、または電子対である。いくつかの実施形態では、 R^5 は水素である。他の実施形態では、 R^5 はメチルである。さらに他の実施形態では、 R^5 は電子対である。

【0085】

いくつかの実施形態では、 R^6 は、それぞれの場所で独立して、水素またはメチルである。いくつかの実施形態では、 R^6 は水素である。他の実施形態では、 R^6 はメチルである。

【0086】

他の実施形態では、 R^7 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、または $C_2 \sim C_6$ アルコキシアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^7 は水素であ

10

20

30

40

50

る。他の実施形態では、 R^7 は $C_1 \sim C_6$ アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^7 は $C_2 \sim C_6$ アルコシアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^7 はメチルである。他の実施形態では、 R^7 はエチルである。さらに他の実施形態では、 R^7 は n -プロピルまたはイソプロピルである。いくつかの他の実施形態では、 R^7 は C_4 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^7 は C_5 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^7 は C_6 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^7 は C_2 アルコシアルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^7 は C_3 アルコシアルキルである。さらに他の実施形態では、 R^7 は C_4 アルコシアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^7 は C_5 アルコシアルキルである。他の実施形態では、 R^7 は C_6 アルコシアルキルである。

10

【0087】

リンカー基 L は、上述の通り、その骨格中にアルキル（例えば、 $-CH_2-CH_2-$ ）、アルコシ（例えば、 $-C-O-C-$ ）、およびアルキルアミノ（例えば、 $-CH_2-NH-$ ）から選択される結合を含み、但し、 L 中の末端原子（例えば、カルボニルまたは窒素に隣接する原子）は炭素原子であるものとする。分岐した結合（例えば、 $-CH_2-CHCH_3-$ ）が可能であるにもかかわらず、リンカーは一般に分岐していない。1つの実施形態では、リンカーは炭化水素リンカーである。かかるリンカーは、構造 $(CH_2)_n-$ （式中、 n は $1 \sim 12$ 、好ましくは $2 \sim 8$ 、より好ましくは $2 \sim 6$ である）を有し得る。

20

【0088】

任意の数の結合タイプ（A）を有するオリゴマーを提供する。いくつかの実施形態では、オリゴマーはタイプ（A）の結合を含まない。一定の実施形態では、5、10、20、30、40、50、60、70、80、または90パーセントの結合が結合（A）である。選択された実施形態では、10～80、20～80、20～60、20～50、20～40、または20～35パーセントの結合が結合（A）である。

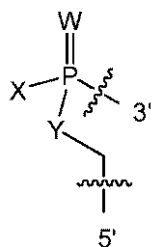
【0089】

2. 結合（B）

いくつかの実施形態では、オリゴマーは少なくとも1つのタイプ（B）の結合を含む。例えば、オリゴマーは、1、2、3、4、5、6、またはそれを超えるタイプ（B）の結合を含むことができる。タイプ（B）結合は隣接することができるか、オリゴマー中に散在し得る。結合タイプ（B）は、以下の構造（I）：

30

【化11】



(I)

40

またはその塩もしくは異性体を有し、

W は、それぞれの場所で独立して、 S または O であり、

X は、それぞれの場所で独立して、 $-NR^8R^9$ または $-OR^3$ であり、

Y は、それぞれの場所で独立して、 O または $-NR^{10}$ であり、

R^3 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、

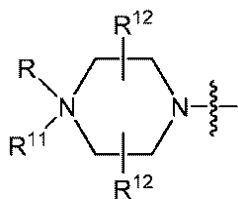
R^8 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_2 \sim C_{12}$ アルキルであり、

R^9 は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アラールキルまたはアリールであり、

50

R^{10} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、または $-LNR^4$ $R^5 R^7$ であり、

ここで、 R^8 および R^9 が連結して 5～18 員の単環式または二環式の複素環を形成することができるか、 R^8 、 R^9 、または R^3 が R^{10} と連結して 5～7 員の複素環を形成することができ、 X が 4-ピペラジノである場合、 X は、以下の構造 (III) :



(III)

10

を有し、

R^{11} は、それぞれの場所で独立して、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルであり、

R は、それぞれの場所で独立して、電子対、水素、または $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、
 R^{12} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $-NH_2$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NR^{13}R^{14}$ 、 $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ 、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニル、オキソ、 $-CN$ 、トリフルオロメチル、アミジル、アミジニル、アミジニルアルキル、アミジニルアルキルカルボニルグアニジニル、グアニジニルアルキル、グアニジニルアルキルカルボニル、コラート、デオキシコラート、アリール、ヘテロアリール、複素環、 $-SR^{13}$ 、または $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシであり、 R^{13} 、 R^{14} 、および R^{15} は、それぞれの場所で独立して、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルである。

20

【0090】

いくつかの例では、オリゴマーは、1つのタイプ (B) の結合を含む。いくつかの他の実施形態では、オリゴマーは、2つのタイプ (B) の結合を含む。いくつかの他の実施形態では、オリゴマーは、3つのタイプ (B) の結合を含む。いくつかの他の実施形態では、オリゴマーは、4つのタイプ (B) の結合を含む。さらに他の実施形態では、タイプ (B) の結合は、連続している (すなわち、タイプ (B) 結合は相互に隣接している)。さらなる実施形態では、オリゴマー中の少なくとも 5% の結合はタイプ (B) である。例えば、いくつかの実施形態では、5%～95%、10%～90%、10%～50%、または 10%～35% の結合が結合タイプ (B) であり得る。

30

【0091】

他の実施形態では、 R^3 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_1 \sim C_6$ アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^3 はメチルであり得る。いくつかの実施形態では、 R^3 はエチルであり得る。いくつかの他の実施形態では、 R^3 は n -プロピルまたはイソプロピルであり得る。さらに他の実施形態では、 R^3 は C_4 アルキルであり得る。いくつかの実施形態では、 R^3 は C_5 アルキルであり得る。いくつかの実施形態では、 R^3 は C_6 アルキルであり得る。

40

【0092】

いくつかの実施形態では、 R^8 は、それぞれの場所で独立して、水素または $C_2 \sim C_{12}$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^8 は水素である。さらに他の実施形態では、 R^8 はエチルである。いくつかの他の実施形態では、 R^8 は n -プロピルまたはイソプロピルである。いくつかの実施形態では、 R^8 は C_4 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^8 は C_5 アルキルである。他の実施形態では、 R^8 は C_6 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^8 は C_7 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^8 は

50

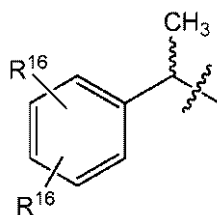
C₈ アルキルである。他の実施形態では、R⁸ は C₉ アルキルである。さらに他の実施形態では、R⁸ は C₁₀ アルキルである。いくつかの他の実施形態では、R⁸ は C₁₁ アルキルである。さらに他の実施形態では、R⁸ は C₁₂ アルキルである。いくつかの他の実施形態では、R⁸ は C₂ ~ C₁₂ アルキルであり、C₂ ~ C₁₂ アルキルは、1 つ以上の二重結合（例えば、アルケン）、三重結合（例えば、アルキン）、またはその両方を含む。いくつかの実施形態では、R⁸ は非置換 C₂ ~ C₁₂ アルキルである。

【0093】

いくつかの実施形態では、R⁹ は、それぞれの場所で独立して、水素、C₁ ~ C₁₂ アルキル、C₁ ~ C₁₂ アラルキルまたはアリールである。いくつかの実施形態では、R⁹ は水素である。さらに他の実施形態では、R⁹ は C₁ ~ C₁₂ アルキルである。他の実施形態では、R⁹ はメチルである。さらに他の実施形態では、R⁹ はエチルである。いくつかの他の実施形態では、R⁹ は n-プロピルまたはイソプロピルである。いくつかの実施形態では、R⁹ は C₄ アルキルである。いくつかの実施形態では、R⁹ は C₅ アルキルである。さらに他の実施形態では、R⁹ は C₆ アルキルである。いくつかの他の実施形態では、R⁹ は C₇ アルキルである。いくつかの実施形態では、R⁹ は C₈ アルキルである。いくつかの実施形態では、R⁹ は C₉ アルキルである。いくつかの他の実施形態では、R⁹ は C₁₀ アルキルである。いくつかの実施形態では、R⁹ は C₁₁ アルキルである。さらに他の実施形態では、R⁹ は C₁₂ アルキルである。

【0094】

いくつかの他の実施形態では、R⁹ は C₁ ~ C₁₂ アラルキルである。例えば、いくつかの実施形態では、R⁹ はベンジルであり、ベンジルは、フェニル環またはベンジルの炭素上のいずれいれかで任意選択的に置換され得る。これに関する置換基には、アルキル基およびアルコキシ基（例えば、メチルまたはメトキシ）が含まれる。いくつかの実施形態では、ベンジル基は、ベンジルの炭素でメチルと置換される。例えば、いくつかの実施形態では、R⁹ は、以下の構造（XIV）：



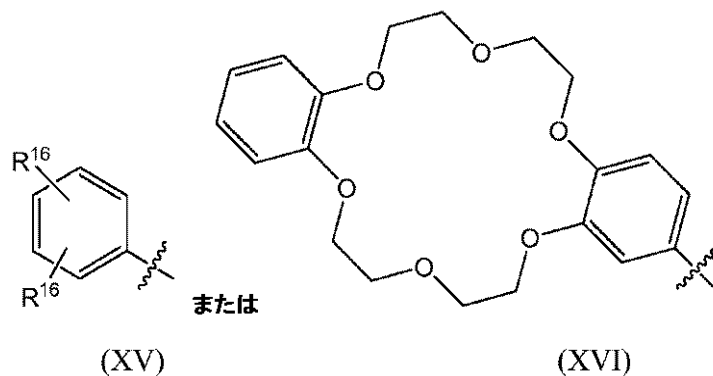
(XIV)

を有する。

【0095】

他の実施形態では、R⁹ はアリールである。例えば、いくつかの実施形態では、R⁹ はフェニルであり、フェニルを任意選択的に置換することができる。これに関する置換基には、アルキルおよびアルコキシ基（例えば、メチルまたはメトキシ）が含まれる。他の実施形態では、R⁹ はフェニルであり、フェニルは、クラウンエーテル部分（例えば、12 ~ 18 員のクラウンエーテル）を含む。1 つの実施形態では、クラウンエーテルは 18 員であり、さらなるフェニル部分をさらに含むことができる。例えば、1 つの実施形態では、R⁹ は、以下の構造（XV）または（XVI）：

【化 1 4】



10

のうちの 1 つを有する。

【0096】

いくつかの実施形態では、 R^{10} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、または $-LNR^4R^5R^7$ (式中、 R^4 、 R^5 、および R^7 は、結合 (A) に関して上記定義の通りである) である。他の実施形態では、 R^{10} は水素である。他の実施形態では、 R^{10} は $C_1 \sim C_{12}$ アルキルであり、他の実施形態では、 R^{10} は $-LNR^4R^5R^7$ である。いくつかの実施形態では、 R^{10} はメチルである。さらに他の実施形態では、 R^{10} はエチルである。いくつかの実施形態では、 R^{10} は C_3 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{10} は C_4 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{10} は C_5 アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{10} は C_6 アルキルである。他の実施形態では、 R^{10} は C_7 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{10} は C_8 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{10} は C_9 アルキルである。他の実施形態では、 R^{10} は C_{10} アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{10} は C_{11} アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{10} は C_{12} アルキルである。

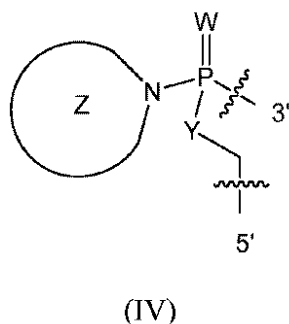
20

【0097】

いくつかの実施形態では、 R^8 および R^9 が連結して 5 ~ 18 員の単環式または二環式の複素環を形成する。いくつかの実施形態では、複素環は、5 または 6 員の単環式複素環である。例えば、いくつかの実施形態では、結合 (B) は、以下の構造 (IV) :

30

【化 1 5】



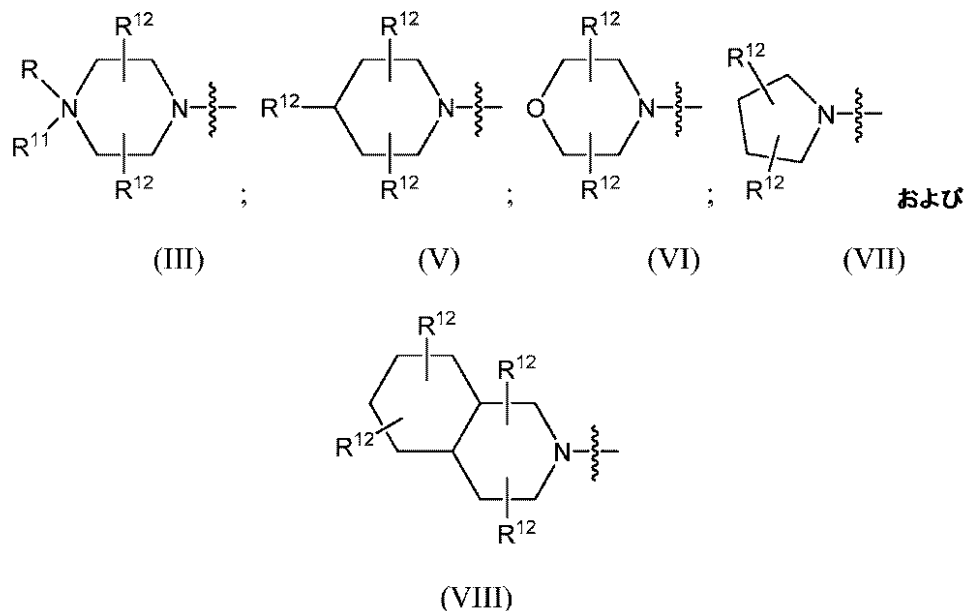
40

を有する。

【0098】

他の実施形態では、複素環は、二環式 (例えば、12 員の二環式複素環) である。複素環はピペリジニルであり得る。複素環はモルホリノであり得る。複素環はピペリジニルであり得る。複素環はデカヒドロイソキノリンであり得る。代表的な複素環には、以下 :

【化 16】



10

が含まれる。

20

【0099】

いくつかの実施形態では、 R^{11} は、それぞれの場所で独立して、 $C_2 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、アリール、ヘテロアリール、またはヘテロシクリルである。

【0100】

いくつかの実施形態では、 R^{11} は $C_2 \sim C_{12}$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{11} はエチルである。他の実施形態では、 R^{11} は C_3 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} はイソプロピルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{11} は C_4 アルキルである。他の実施形態では、 R^{11} は C_5 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{11} は C_6 アルキルである。他の実施形態では、 R^{11} は C_7 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{11} は C_8 アルキルである。他の実施形態では、 R^{11} は C_9 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} は C_{10} アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{11} は C_{11} アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{11} は C_{12} アルキルである。

30

【0101】

他の実施形態では、 R^{11} は $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{11} はメチルアミノである。いくつかの実施形態では、 R^{11} はエチルアミノである。他の実施形態では、 R^{11} は C_3 アミノアルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} は C_4 アミノアルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{11} は C_5 アミノアルキルである。他の実施形態では、 R^{11} は C_6 アミノアルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} は C_7 アミノアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{11} は C_8 アミノアルキルである。他の実施形態では、 R^{11} は C_9 アミノアルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} は C_{10} アミノアルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{11} は C_{11} アミノアルキルである。他の実施形態では、 R^{11} は C_{12} アミノアルキルである。

40

【0102】

他の実施形態では、 R^{11} は $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} は C_1 アルキルカルボニルである。他の実施形態では、 R^{11} は C_2 アルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{11} は C_3 アルキルカルボニルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} は C_4 アルキルカルボニルである。いくつかの実

50

施形態では、 R^{11} は C_5 アルキルカルボニルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{11} は C_6 アルキルカルボニルである。他の実施形態では、 R^{11} は C_7 アルキルカルボニルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} は C_8 アルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{11} は C_9 アルキルカルボニルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} は C_{10} アルキルカルボニルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{11} は C_{11} アルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{11} は C_{12} アルキルカルボニルである。さらに他の実施形態では、 R^{11} は $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ （式中、 n は1～6である）である。例えば、いくつかの実施形態では、 n は1である。他の実施形態では、 n は2である。さらに他の実施形態では、 n は3である。いくつかの他の実施形態では、 n は4である。さらに他の実施形態では、 n は5である。他の実施形態では、 n は6である。

10

【0103】

他の実施形態では、 R^{11} はアリールである。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{11} はフェニルである。いくつかの実施形態では、フェニルは、例えば、ニトロ基に置換される。

【0104】

他の実施形態では、 R^{11} はヘテロアリールである。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{11} はピリジニルである。他の実施形態では、 R^{11} はピリミジニルである。

【0105】

他の実施形態では、 R^{11} はヘテロシクリルである。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{11} は、ピペリジニル（例えば、ピペリジン-4-イル）である。

20

【0106】

いくつかの実施形態では、 R^{11} は、エチル、イソプロピル、ピペリジニル、ピリミジニル、コラート、デオキシコラート、または $-C(=O)(CH_2)_nCO_2H$ （式中、 n は1～6である）である。

【0107】

いくつかの実施形態では、 R は電子対である。他の実施形態では、 R は水素であり、他の実施形態では、 R は $C_1 \sim C_{12}$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R はメチルである。いくつかの実施形態では、 R はエチルである。他の実施形態では、 R は C_3 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R はイソプロピルである。いくつかの他の実施形態では、 R は C_4 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R は C_5 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R は C_6 アルキルである。他の実施形態では、 R は C_7 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R は C_8 アルキルである。他の実施形態では、 R は C_9 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R は C_{10} アルキルである。さらに他の実施形態では、 R は C_{11} アルキルである。いくつかの実施形態では、 R は C_{12} アルキルである。

30

【0108】

いくつかの実施形態では、 R^{12} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキル、 $-NH_2$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NR^{13}R^{14}$ 、 $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ 、オキソ、 $-CN$ 、トリフルオロメチル、アミジル、アミジニル、アミジニルアルキル、アミジニルアルキルカルボニルグアニジニル、グアニジニルアルキル、グアニジニルアルキルカルボニル、コラート、デオキシコラート、アリール、ヘテロアリール、複素環、 $-SR^{13}$ 、または $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシであり、 R^{13} 、 R^{14} 、および R^{15} は、それぞれの場所で独立して、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルである。

40

【0109】

いくつかの実施形態では、 R^{12} は水素である。いくつかの実施形態では、 R^{12} は $C_1 \sim C_{12}$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は $C_1 \sim C_{12}$ アミノアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は $-NH_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^{12} は $-CONH_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^{12} は $-NR^{13}R^{14}$ である。いくつかの実施形態では、 R^{12} は $-NR^{13}R^{14}R^{15}$ である。いくつかの

50

実施形態では、 R^{12} は $C_1 \sim C_{12}$ アルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はオキソである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は $-CN$ である。いくつかの実施形態では、 R^{12} はトリフルオロメチルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はアミジルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はアミジニルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はアミジニルアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はアミジニルアルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はグアニジニル（例えば、モノメチルグアニジニル（mono methyl guanidynyl）またはジメチルグアニジニル）である。いくつかの実施形態では、 R^{12} はグアニジニルアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はアミジニルアルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はコラートである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はデオキシコラートである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はアリールである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はヘテロアリールである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は複素環である。いくつかの実施形態では、 R^{12} は $-SR^{13}$ である。いくつかの実施形態では、 R^{12} は $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はジメチルアミンである。

10

【0110】

他の実施形態では、 R^{12} はメチルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} はエチルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_3 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} はイソプロピルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_4 アルキルである。他の実施形態では、 R^{12} は C_5 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_6 アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{12} は C_7 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_8 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_9 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_{10} アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_{11} アルキルである。他の実施形態では、 R^{12} は C_{12} アルキルである。さらに他の実施形態では、アルキル部分が1つ以上の酸素原子に置換されてエーテル部分（例えば、メトキシメチル部分）を形成する。

20

【0111】

いくつかの実施形態では、 R^{12} はメチルアミノである。他の実施形態では、 R^{12} はエチルアミノである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_3 アミノアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_4 アミノアルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_5 アミノアルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{12} は C_6 アミノアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_7 アミノアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_8 アミノアルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_9 アミノアルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{12} は C_{10} アミノアルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_{11} アミノアルキルである。他の実施形態では、 R^{12} は C_{12} アミノアルキルである。いくつかの実施形態では、アミノアルキルは、ジメチルアミノアルキルである。

30

【0112】

さらに他の実施形態では、 R^{12} はアセチルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{12} は C_2 アルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_3 アルキルカルボニルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_4 アルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_5 アルキルカルボニルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_6 アルキルカルボニルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{12} は C_7 アルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_8 アルキルカルボニルである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_9 アルキルカルボニルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{12} は C_{10} アルキルカルボニルである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_{11} アルキルカルボニルである。他の実施形態では、 R^{12} は C_{12} アルキルカルボニルである。アルキルカルボニルは、カルボキシ部分に置換される（例えば、アルキルカルボニルが置換されてコハク酸部分（すなわち、3-カルボキシアルキルカルボニル）を形成する）。他の実施形態では、アルキルカルボニルは、末端-SH基に置

40

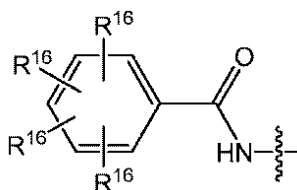
50

換される。

【0113】

いくつかの実施形態では、 R^{12} はアミジルである。いくつかの実施形態では、アミジルは、例えば、 $-SH$ 、カルバマート、またはその組み合わせにさらに置換されるアルキル部分を含む。他の実施形態では、アミジルは、アリール部分（例えば、フェニル）に置換される。一定の実施形態では、 R^{12} は、以下の構造（IX）：

【化17】



(IX)

（式中、 R^{16} は、それぞれの場所で独立して、水素、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ、 $-CN$ 、アリール、またはヘテロアリールである）を有し得る。

【0114】

いくつかの実施形態では、 R^{12} はメトキシである。他の実施形態では、 R^{12} はエトキシである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_3 アルコキシである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_4 アルコキシである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_5 アルコキシである。いくつかの他の実施形態では、 R^{12} は C_6 アルコキシである。他の実施形態では、 R^{12} は C_7 アルコキシである。いくつかの他の実施形態では、 R^{12} は C_8 アルコキシである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_9 アルコキシである。他の実施形態では、 R^{12} は C_{10} アルコキシである。いくつかの実施形態では、 R^{12} は C_{11} アルコキシである。さらに他の実施形態では、 R^{12} は C_{12} アルコキシである。

【0115】

一定の実施形態では、 R^{12} は、ピロリジニル（例えば、ピロリジン-1-イル）である。他の実施形態では、 R^{12} は、ピペリジニル（例えば、ピペリジン-1-イルまたはピペリジン-4-イル）である。他の実施形態では、 R^{12} は、モルホリノ（例えば、モルホリン-4-イル）である。他の実施形態では、 R^{12} はフェニルであり、なおさらなる実施形態では、フェニルは、例えば、ニトロ基に置換される。さらに他の実施形態では、 R^{12} は、ピリミジニル（例えば、ピリミジン-2-イル）である。

【0116】

他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、および R^{15} は、それぞれの場所で独立して、 $C_1 \sim C_{12}$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} はメチルである。さらに他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} はエチルである。他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_3 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} はイソプロピルである。他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_4 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_5 アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_6 アルキルである。他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_7 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_8 アルキルである。他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_9 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_{10} アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_{11} アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{13} 、 R^{14} 、または R^{15} は C_{12} アルキルである。

【0117】

上述の通り、いくつかの実施形態では、 R^{12} は、アリール部分に置換されたアミジルである。これに関して、各 R^{16} は、同一または異なり得る。一定のこれらの実施形態で

は、 R^{16} は水素である。他の実施形態では、 R^{16} は $-CN$ である。他の実施形態では、 R^{16} は、ヘテロアリール（例えば、テトラゾリル（*tetrazolyl*））である。一定の他の実施形態では、 R^{16} はメトキシである。他の実施形態では、 R^{16} はアリールであり、アリールは任意選択的に置換される。これに関する必要に応じた置換基には、以下が含まれる： $C_1 \sim C_{12}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{12}$ アルコキシ（例えば、メトキシ；トリフルオロメトキシ）；ハロ（例えば、クロロ）；およびトリフルオロメチル。

【0118】

他の実施形態では、 R^{16} はメチルである。さらに他の実施形態では、 R^{16} はエチルである。いくつかの実施形態では、 R^{16} は C_3 アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{16} はイソプロピルである。さらに他の実施形態では、 R^{16} は C_4 アルキルである。他の実施形態では、 R^{16} は C_5 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{16} は C_6 アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{16} は C_7 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{16} は C_8 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{16} は C_9 アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{16} は C_{10} アルキルである。他の実施形態では、 R^{16} は C_{11} アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{16} は C_{12} アルキルである。

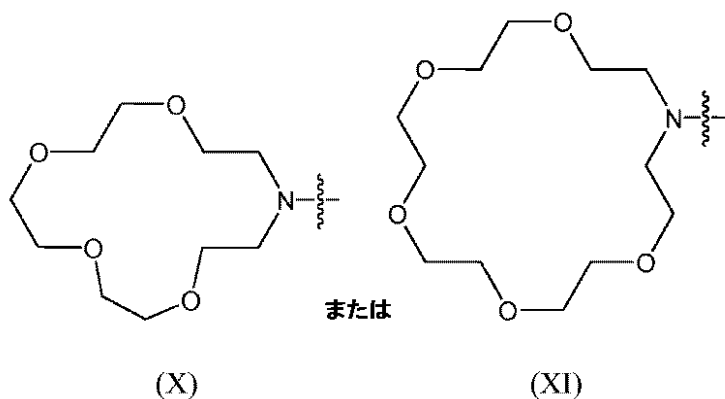
【0119】

いくつかの実施形態では、 R^{16} はメトキシである。いくつかの実施形態では、 R^{16} はエトキシである。さらに他の実施形態では、 R^{16} は C_3 アルコキシである。いくつかの他の実施形態では、 R^{16} は C_4 アルコキシである。他の実施形態では、 R^{16} は C_5 アルコキシである。いくつかの他の実施形態では、 R^{16} は C_6 アルコキシである。さらに他の実施形態では、 R^{16} は C_7 アルコキシである。いくつかの他の実施形態では、 R^{16} は C_8 アルコキシである。さらに他の実施形態では、 R^{16} は C_9 アルコキシである。いくつかの他の実施形態では、 R^{16} は C_{10} アルコキシである。いくつかの実施形態では、 R^{16} は C_{11} アルコキシである。いくつかの他の実施形態では、 R^{16} は C_{12} アルコキシである。

【0120】

いくつかの他の実施形態では、 R^8 および R^9 が連結して 12～18 員のクラウンエーテルを形成する。例えば、いくつかの実施形態では、クラウンエーテルは 18 員であり、他の実施形態では、クラウンエーテルは 15 員である。一定の実施形態では、 R^8 および R^9 が連結して、以下の構造 (X) または (XI)：

【化18】



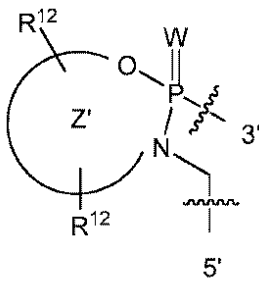
のうちの 1 つを有する複素環を形成する。

【0121】

いくつかの実施形態では、 R^8 、 R^9 、または R^3 が R^{10} と連結して 5～7 員の複素環を形成する。例えば、いくつかの実施形態では、 R^3 が R^{10} と連結して 5～7 員の複素環を形成する。いくつかの実施形態では、複素環は 5 員である。他の実施形態では、複素環は 6 員である。他の実施形態では、複素環は 7 員である。いくつかの実施形態では、

複素環は、以下の構造（X I I）：

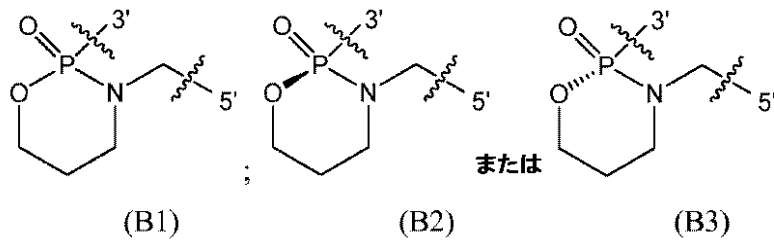
【化 1 9】



(XII)

（式中、Z' は 5 ～ 7 員の複素環を示す）によって示される。構造（X I）の一定の実施形態では、R^{1 2} はそれぞれ水素である。例えば、結合（B）は、以下の構造（B 1）、（B 2）、または（B 3）：

【化 2 0】



のうちの 1 つを有し得る。

【0 1 2 2】

一定の他の実施形態では、R^{1 2} は、アリールホスホリル部分（例えば、トリフェニルホスホリル部分）にさらに置換される C₁ ～ C₁₂ アルキルカルボニルまたはアミジルである。この構造を有する結合の例には、B 5 6 および B 5 5 が含まれる。

【0 1 2 3】

一定の実施形態では、結合（B）は、構造 A 1 ～ A 5 のいずれも持たない。表 1 は、代表的なタイプ（A）および（B）の結合を示す。

【0 1 2 4】

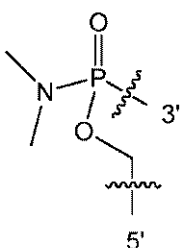
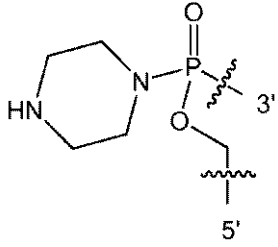
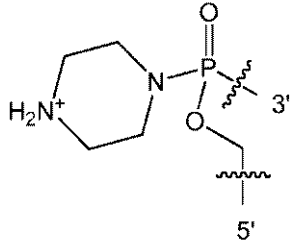
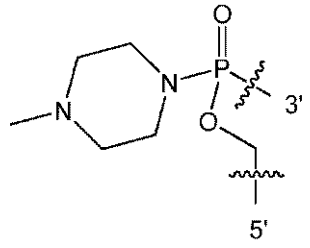
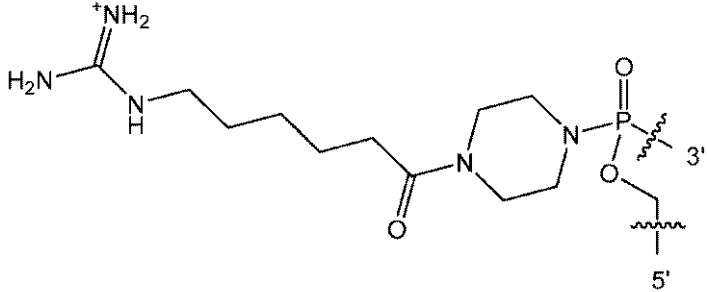
10

20

30

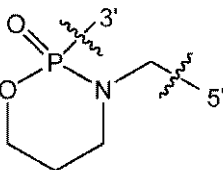
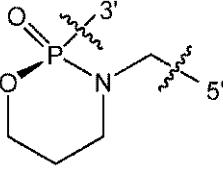
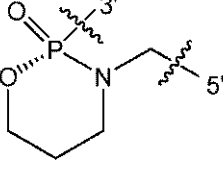
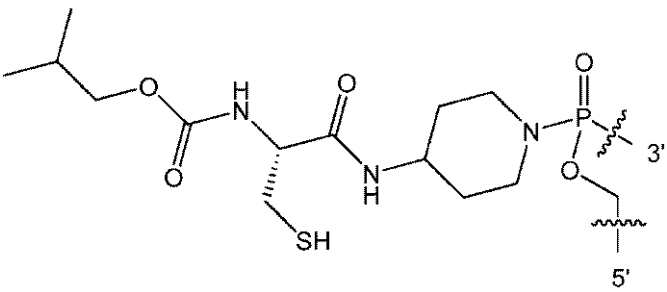
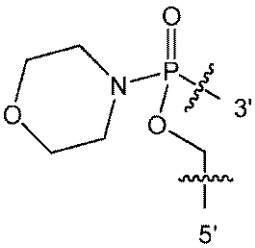
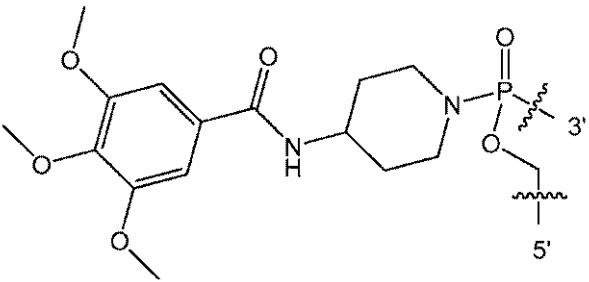
【表 1 - 1】

表 1. 代表的なサブユニット間結合

番号	名称	構造
A1	PMO	
A2	PMO ⁺ (非プロトン化 形態を示す)	
A3	PMO ⁺ (+)	
A4	PMO ^{mepip} (m+)	
A5	PMO ^{GUX}	

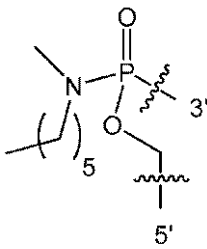
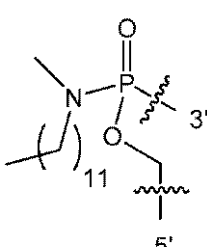
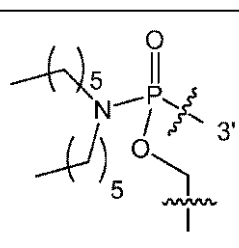
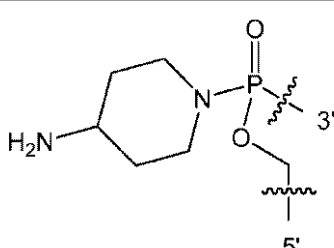
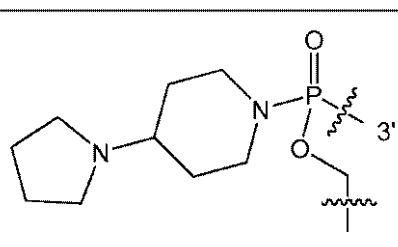
【 0 1 2 5 】

【表 1 - 2】

番号	名称	構造
B1	PMO ^{cp}	
B2	PMO ^{cps}	
B3	PMO ^{cpr}	
B4	PMO ^{Shc}	
B5	PMO ^{モルホリノ} (m)	
B6	PMO ^{tri} (t)	

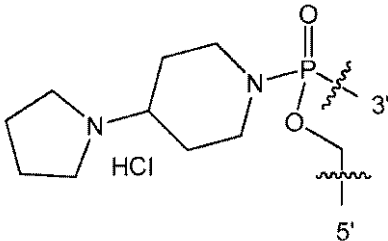
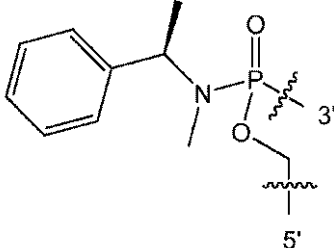
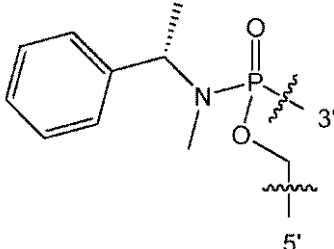
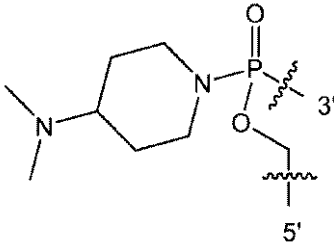
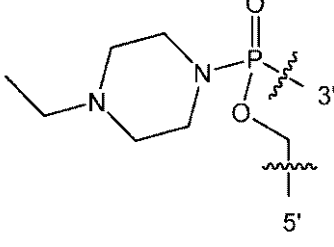
【 0 1 2 6 】

【表 1 - 3】

番号	名称	構造
B7	PMO ^{hex} (h)	
B8	PMO ^{dodec}	
B9	PMO ^{dihex}	
B10	PMO ^{apn} (a)	
B11	PMO ^{pyr} (p)	

【 0 1 2 7 】

【表 1 - 4】

番号	名称	構造
B12	PMO ^{pyr} (HCl 塩)	
B13	PMO ^{rba}	
B14	PMO ^{sba}	
B15	PMO ^{dimethylapn}	
B16	PMO ^{etpip}	

10

20

30

40

【 0 1 2 8 】

【表 1 - 5】

番号	名称	構造
B17	PMO ^{iprip}	
B18	PMO ^{pyrQMe}	
B19	PMO ^{cb}	
B20	PMO ^{ma}	
B21	PMO ^{bu}	

10

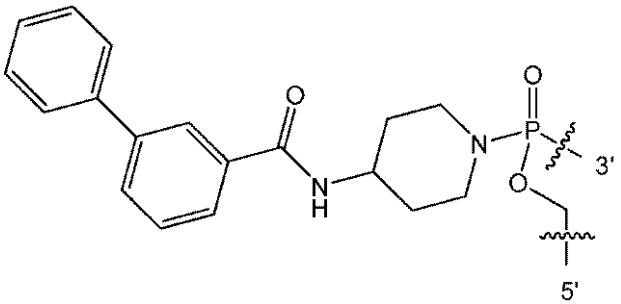
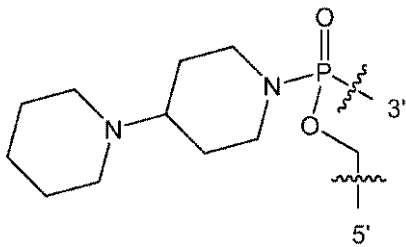
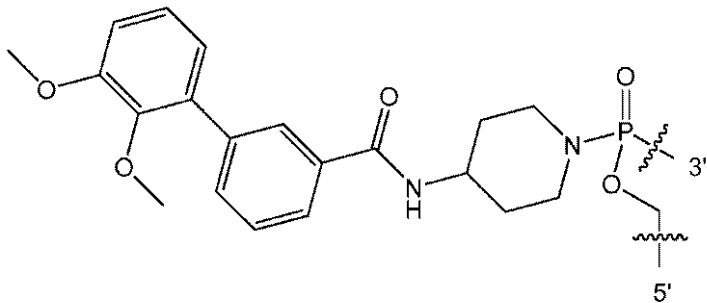
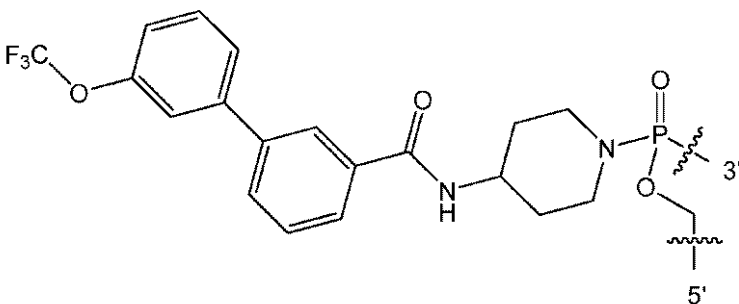
20

30

40

【 0 1 2 9 】

【表 1 - 6】

番号	名称	構造
B22	PMO ^{bi}	
B23	PMO ^{pip}	
B24	PMO ^{odmb}	
B25	PMO ^{tfb}	

【 0 1 3 0 】

【表 1 - 7】

番号	名称	構造
B26	PMO ^{ctfb}	
B27	PMO ^{ptfb}	
B28	PMO ^{dcb}	
B29	PMO ^{dmb}	

10

20

30

40

【表 1 - 8】

番号	名称	構造
B30	PMO ^{hy}	
B31	PMO ^{6ce}	
B32	PMO ^b	
B33	PMO ^q	
B34	PMO ^{npp}	

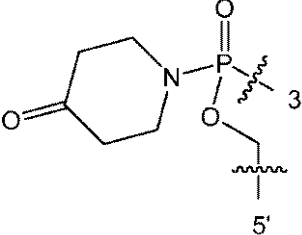
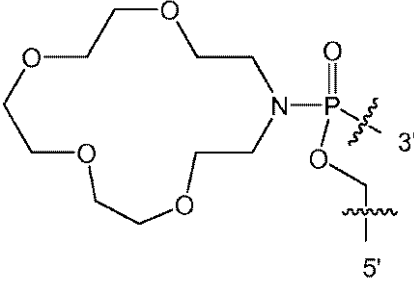
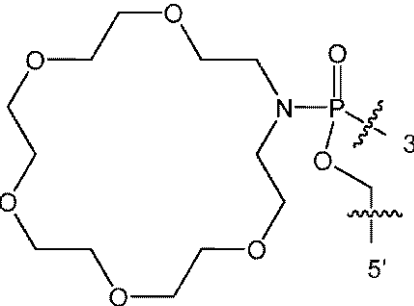
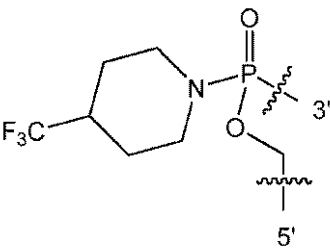
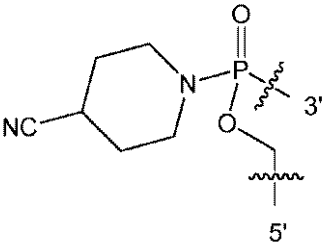
10

20

30

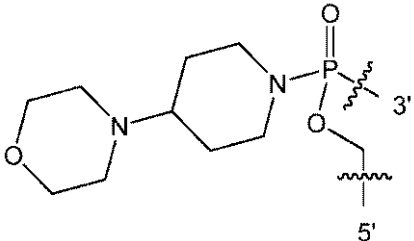
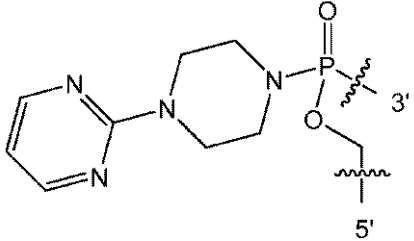
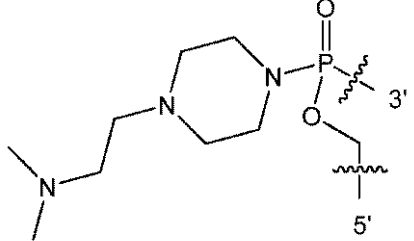
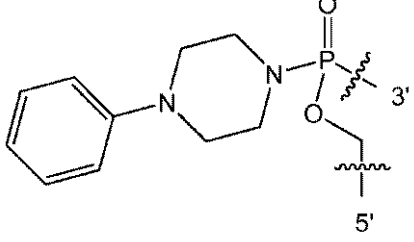
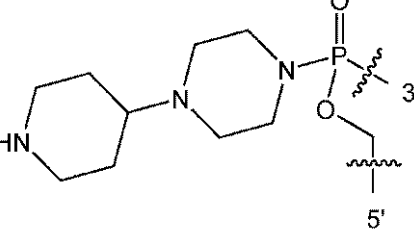
40

【表 1 - 9】

番号	名称	構造
B35	PMO ⁰	
B36	PMO ^{4ce}	
B37	PMO ^{5ce}	
B38	PMO ^{f3p}	
B39	PMO ^{cyp}	

【 0 1 3 3 】

【表 1 - 1 0】

番号	名称	構造
B40	PMO ^{mop}	
B41	PMO ^{pp}	
B42	PMO ^{dmepip}	
B43	PMO ^{NPpip}	
B44	PMO ^{bipip}	

10

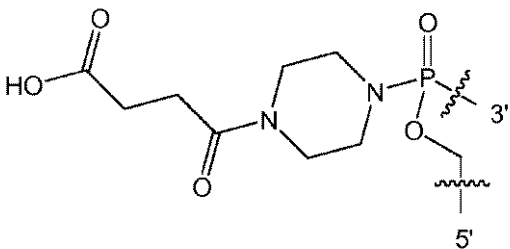
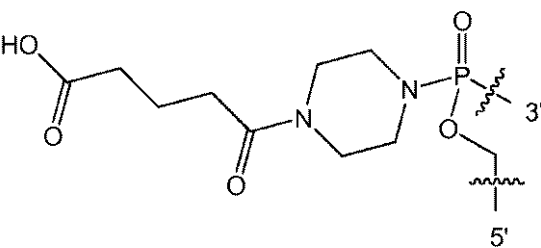
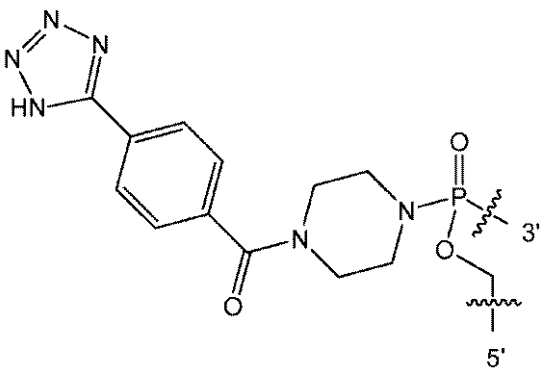
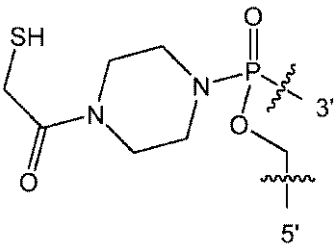
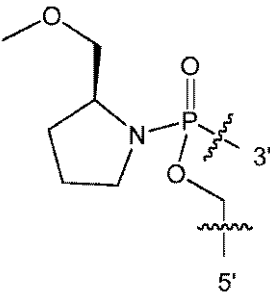
20

30

40

【 0 1 3 4】

【表 1 - 1 1】

番号	名称	構造
B45	PMO ^{suc}	
46	PMO ^{glutaric}	
B47	PMO ^{tet}	
B48	PMO ^{thiol} (SH)	
B49	PMO ^{pros}	

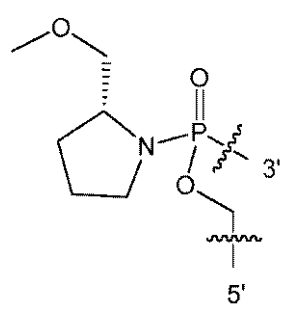
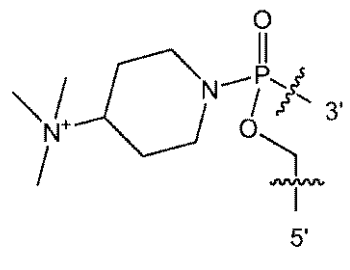
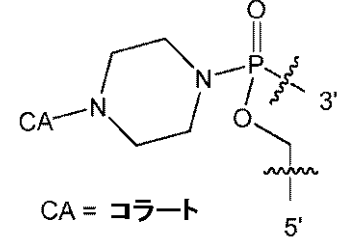
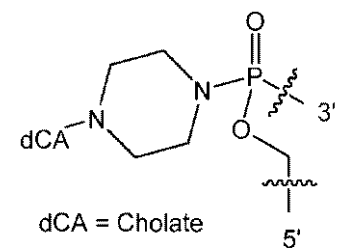
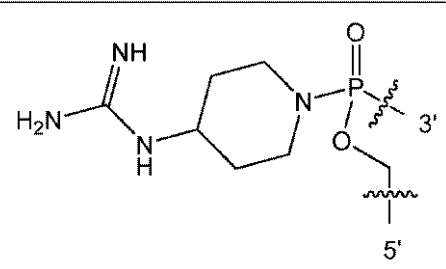
10

20

30

40

【表 1 - 1 2】

番号	名称	構造
B50	PMO ^{pror}	
B51	PMO ^{tme}	
B52	PMO ^{ca}	 CA = コラート
B53	PMO ^{dca}	 dCA = Cholate
B54	PMO ^{guan} (g)	

10

20

30

40

【 0 1 3 6 】

【表 1 - 1 3】

番号	名称	構造
B55	PMO ^{+phos}	
B56	PMO ^{apnphos}	

10

20

【0137】

以下の配列および考察では、結合についての上記名称をしばしば使用する。例えば、PMO^{a p n}結合を含む塩基を、^{a p n}B（式中、Bは塩基である）と示す。他の結合を同様に命名する。さらに、略称を使用することができる（例えば、上記括弧内の略称を使用することができる（例えば、^aBは^{a p n}Bをいう））。他の容易に識別可能な略称も使用することができる。

30

【0138】

B. 修飾された末端基を有するオリゴマー

上述の通り、本開示はまた、修飾された末端基を含むオリゴマーを提供する。出願人は、オリゴマーの3'末端および／または5'末端の種々の化学的部分での修飾により有利な治療的性質（例えば、増強された細胞送達、効力、および／または組織分布など）がオリゴマーに付与されることを見出した。種々の実施形態では、修飾された末端基は、疎水性部分を含む一方で、他の実施形態では、修飾された末端基は親水性部分を含む。修飾された末端基は、上記の結合を含むか含まないで存在し得る。例えば、いくつかの実施形態では、オリゴマーは、1つ以上の修飾された末端基およびタイプ（A）の結合（例えば、Xが-N(CH₃)₂である結合）を含む。他の実施形態では、オリゴマーは、1つ以上の修飾された末端基およびタイプ（B）の結合（例えば、Xが4-アミノピペリジン-1-イル（すなわち、APN）である結合）を含む。さらに他の実施形態では、オリゴマーは、1つ以上の修飾された末端基および結合（A）と（B）との混合物を含む。例えば、オリゴマーは、1つ以上の修飾された末端基（例えば、トリチルまたはトリフェニルアセチル）、Xが-N(CH₃)₂である結合、Xが4-アミノピペリジン-1-イルである結合を含むことができる。修飾された末端基および修飾された結合の他の組み合わせはまた、オリゴマーに好ましい治療的性質を付与する。

40

【0139】

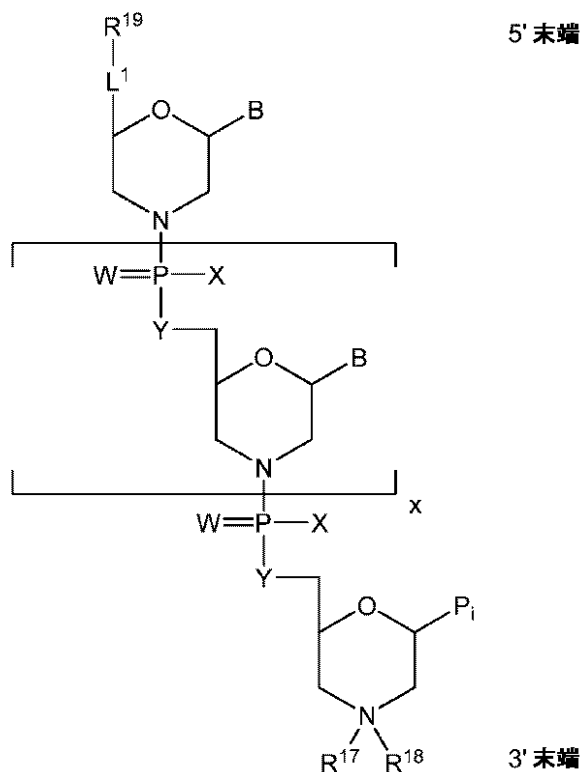
1つの実施形態では、末端修飾を含むオリゴマーまたはその塩もしくは異性体は、以下

50

の構造 (XVII) :

【0140】

【化21】



(XVII)

を有し、X、W、およびYは、結合(A)および(B)のいずれかについて上記定義の通りであり、

R¹⁷は、それぞれの場所で独立して、存在しないか、水素またはC₁~C₆アルキルであり、

R¹⁸およびR¹⁹は、それぞれの場所で独立して、存在しないか、水素、細胞透過性ペプチド、天然または非天然のアミノ酸、C₂~C₃₀アルキルカルボニル、-C(=O)OR²¹またはR²⁰であり、

R²⁰は、それぞれの場所で独立して、グアニジニル、ヘテロシクリル、C₁~C₃₀アルキル、C₃~C₈シクロアルキル；C₆~C₃₀アリール、C₇~C₃₀アラールキル、C₃~C₃₀アルキルカルボニル、C₃~C₈シクロアルキルカルボニル、C₃~C₈シクロアルキルアルキルカルボニル、C₇~C₃₀アリールカルボニル、C₇~C₃₀アラールカルボニル、C₂~C₃₀アルキルオキシカルボニル、C₃~C₈シクロアルキルオキシカルボニル、C₇~C₃₀アリールオキシカルボニル、C₈~C₃₀アラールキルオキシカルボニル、または-P(=O)(R²²)₂であり、

Bは塩基対合部分であり、

L¹は、アルキル、ヒドロキシル、アルコキシ、アルキルアミノ、アミド、エステル、ジスルフィド、カルボニル、カルバマート、ホスホロジアミダート、ホスホロアミダート、ホスホロチオアート、ピペラジン、およびホスホジエステルから選択される結合を含む18原子長までの必要に応じたリンカーであり、

xは0以上の整数であり、R¹⁸またはR¹⁹のうちの少なくとも1つはR²⁰であり、R¹⁸またはR¹⁹のうちの少なくとも1つはR²⁰であり、但し、R¹⁷およびR¹⁸の両方は存在しないものではないとする。

【0141】

修飾された末端基を有するオリゴマーは、任意の数のタイプ（A）および（B）の結合を含むことができる。例えば、オリゴマーは、結合タイプ（A）のみを含むことができる。例えば、各結合内のXは $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ であり得る。あるいは、オリゴマーは、結合（B）のみを含むことができる。一定の実施形態では、オリゴマーは、結合（A）と（B）との混合物（例えば、1～4つのタイプ（B）の結合および結合の残部としてのタイプ（A）の結合）を含む。これに関する結合には、Xが、タイプ（B）についてはアミノピペリジニルであり、タイプ（A）についてはジメチルアミノである結合が含まれるが、これに限定されない。

【0142】

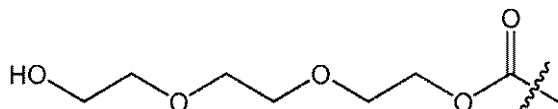
いくつかの実施形態では、 R^{17} は存在しない。いくつかの実施形態では、 R^{17} は水素である。いくつかの実施形態では、 R^{17} は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{17} はメチルである。さらに他の実施形態では、 R^{17} はエチルである。いくつかの実施形態では、 R^{17} は C_3 アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{17} はイソプロピルである。他の実施形態では、 R^{17} は C_4 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{17} は C_5 アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{17} は C_6 アルキルである。

【0143】

他の実施形態では、 R^{18} は存在しない。いくつかの実施形態では、 R^{18} は水素である。いくつかの実施形態では、 R^{18} は、以下により詳細に記載した細胞透過性ペプチドである。いくつかの実施形態では、 R^{18} は、天然または非天然のアミノ酸（例えば、トリメチルグリシン）である。いくつかの実施形態では、 R^{18} は R^{20} である。

【0144】

他の実施形態では、 R^{19} は存在しない。いくつかの実施形態では、 R^{19} は水素である。いくつかの実施形態では、 R^{19} は、以下により詳細に記載した細胞透過性ペプチドである。いくつかの実施形態では、 R^{19} は、天然または非天然のアミノ酸（例えば、トリメチルグリシン）である。いくつかの実施形態では、 R^{19} は $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^{17}$ である。例えば、 R^{19} は、以下の構造：



【化22】

を有することができる。

【0145】

他の実施形態では、 R^{18} または R^{19} は、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_{30}$ アルキルカルボニル（例えば、 $-\text{C}(=\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{CO}_2\text{H}$ （式中、 n は1～6（例えば、2）である）である。他の例では、 R^{18} または R^{19} はアセチルである。

【0146】

いくつかの実施形態では、 R^{20} は、それぞれの場所で独立して、グアニジニル、ヘテロシクリル、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{30}$ アルキル、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ シクロアルキル； $\text{C}_6 \sim \text{C}_{30}$ アリール、 $\text{C}_7 \sim \text{C}_{30}$ アラールキル、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_{30}$ アルキルカルボニル、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ シクロアルキルカルボニル、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ シクロアルキルアルキルカルボニル、 $\text{C}_6 \sim \text{C}_{30}$ アリールカルボニル、 $\text{C}_7 \sim \text{C}_{30}$ アラールカルボニル、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ シクロアルキルオキシカルボニル、 $\text{C}_7 \sim \text{C}_{30}$ アリールオキシカルボニル、 $\text{C}_8 \sim \text{C}_{30}$ アラールオキシカルボニル、 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^{21}$ 、または $-\text{P}(=\text{O})(\text{R}^{22})_2$ であり、 R^{21} は、1つ以上の酸素またはヒドロキシル部分またはその組み合わせを含む $\text{C}_1 \sim \text{C}_{30}$ アルキルであり、各 R^{22} は $\text{C}_6 \sim \text{C}_{12}$ アリールオキシである。

【0147】

一定の他の実施形態では、 R^{19} は $-C(=O)OR^{21}$ であり、 R^{18} は、水素、グアニジニル、ヘテロシクリル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル； $C_6 \sim C_{30}$ アリール、 $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルアルキルカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニル、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールオキシカルボニル、 $C_8 \sim C_{30}$ アラルキルオキシカルボニル、または $-P(=O)(R^{22})_2$ であり、各 R^{22} は $C_6 \sim C_{12}$ アリールオキシである。

【0148】

他の実施形態では、 R^{20} は、それぞれの場所で独立して、グアニジニル、ヘテロシクリル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル； $C_6 \sim C_{30}$ アリール、 $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルアルキルカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニル、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールオキシカルボニル、 $C_8 \sim C_{30}$ アラルキルオキシカルボニル、または $-P(=O)(R^{22})_2$ である。一方で、他の例では、 R^{20} は、それぞれの場所で独立して、グアニジニル、ヘテロシクリル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル； $C_6 \sim C_{30}$ アリール、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルアルキルカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニル、 $C_2 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アリールオキシカルボニル、 $C_8 \sim C_{30}$ アラルキルオキシカルボニル、または $-P(=O)(R^{22})_2$ である。

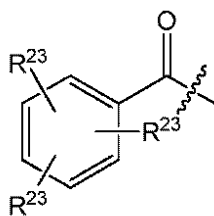
【0149】

いくつかの実施形態では、 R^{20} は、グアニジニル（例えば、モノメチルグアニジニル（guanidynyl）またはジメチルグアニジニルである。他の実施形態では、 R^{20} はヘテロシクリルである。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{20} はピペリジン-4-イルである。いくつかの実施形態では、ピペリジン-4-イルは、トリチル基またはBoc基に置換される。他の実施形態では、 R^{20} は $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルである。他の実施形態では、 R^{20} は $C_6 \sim C_{30}$ アリールである。

【0150】

いくつかの実施形態では、 R^{20} は $C_7 \sim C_{30}$ アリールカルボニルである。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{20} は、以下の構造（XVII）：

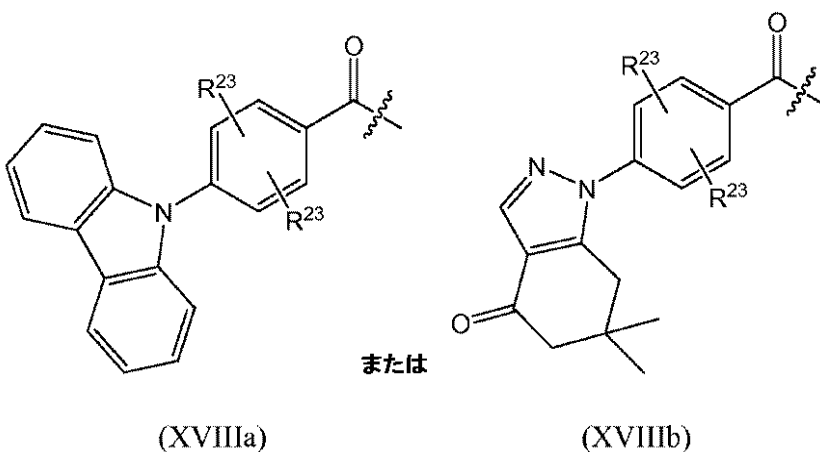
【化23】



(XVIII)

（式中、 R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルであり、1つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成することができる）を有する。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの R^{23} は水素であり、例えば、いくつかの実施形態では、各 R^{23} は水素である。他の実施形態では、少なくとも1つの R^{23} は $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシである（例えば、いくつかの実施形態では、各 R^{23} はメトキ

シである)。他の実施形態では、少なくとも1つの R^{23} はヘテロアリールである(例えば、いくつかの実施形態では、少なくとも1つの R^{23} は、以下の構造(XVIIa)または(XVIIb)：



のうちの1つを有する。

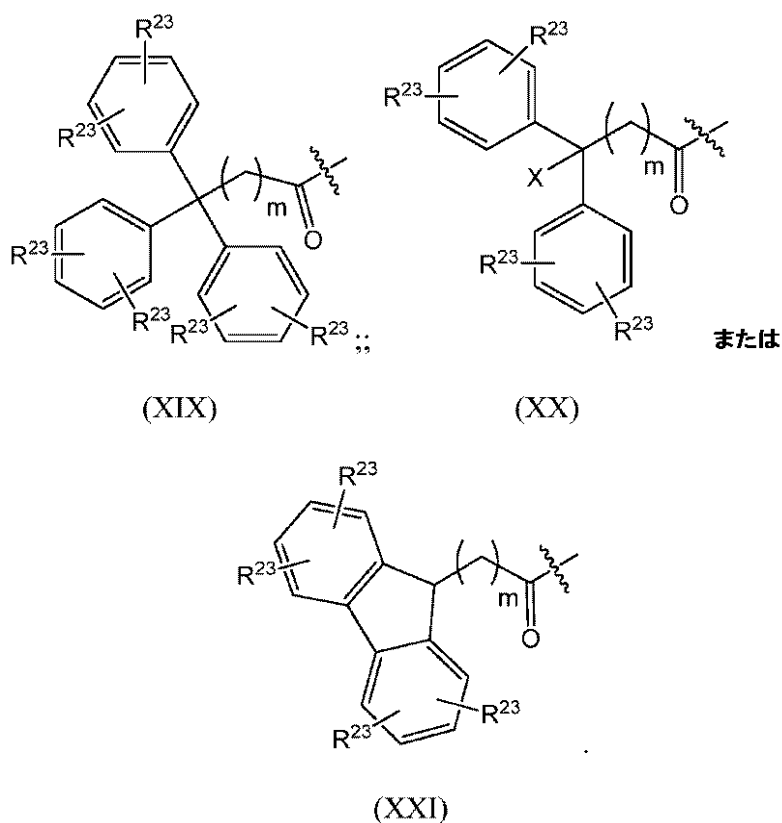
【0151】

さらに他の実施形態では、1つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成する。例えば、1つの実施形態では、 R^{20} は5-カルボキシフルオレセインである。

【0152】

他の実施形態では、 R^{20} は $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルカルボニルである。例えば、種々の実施形態では、 R^{20} は、以下の構造(XIX)、(XX)、または(XXI)：

【化25】



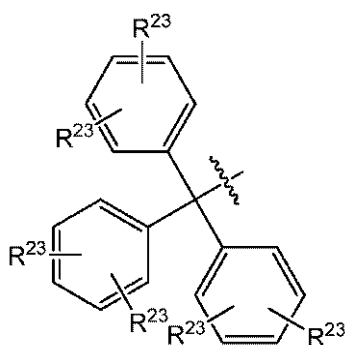
(式中、 R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 C

$C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルであり、1つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成することができ、Xは—OHまたはハロであり、mは0～6の整数である）のうちの1つを有する。いくつかの特定の実施形態では、mは0である。他の実施形態では、mは1であり、一方、他の実施形態では、mは2である。他の実施形態では、少なくとも1つの R^{23} は水素である（例えば、いくつかの実施形態では、各 R^{23} は水素である）。いくつかの実施形態では、Xは水素である。他の実施形態では、Xは—OHである。他の実施形態では、XはClである。他の実施形態では、少なくとも1つの R^{23} は、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ（例えば、メトキシ）である。

10

【0153】

さらに他の実施形態では、 R^{20} は $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル（例えば、トリチルである。他の実施形態では、 R^{20} はメトキシトリチルである。いくつかの実施形態では、 R^{20} は、以下の構造（XXII））：



(XXII)

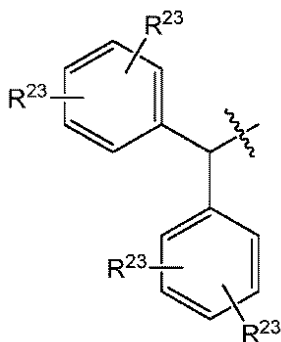
20

（式中、 R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルであり、1つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成することができる）を有する。例えば、いくつかの実施形態では、各 R^{23} は水素である。他の実施形態では、少なくとも1つの R^{23} は $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ（例えば、メトキシ）である。

30

【0154】

さらに他の実施形態では、 R^{20} は $C_7 \sim C_{30}$ アラルキルであり、 R^{20} は、以下の構造（XXIII））：



(XXIII)

40

を有する。

50

【0155】

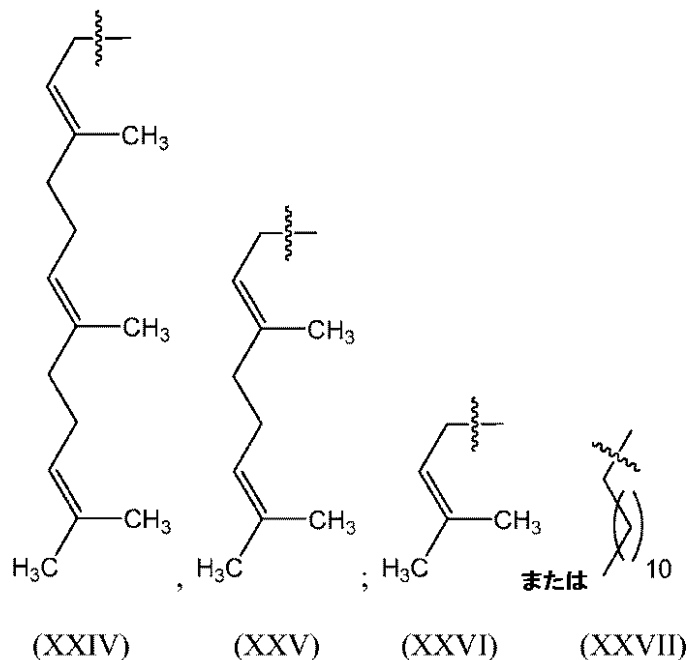
いくつかの実施形態では、少なくとも1つの R^{23} はハロ（例えば、クロロ）である。いくつかの他の実施形態では、1つの R^{23} はパラ位のクロロである。

【0156】

他の実施形態では、 R^{20} は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルである。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{20} は $C_4 \sim C_{20}$ アルキルであり、任意選択的に、1つ以上の二重結合を含む。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{20} は、三重結合（例えば、末端三重結合）を含む $C_4 \sim C_{10}$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{20} はヘキシノー6-イルである。いくつかの実施形態では、 R^{20} は、以下の構造（XXIV）、（XXV）、（XXVI）、または（XXVII）：

10

【化28】



20

30

のうちの1つを有する。

【0157】

さらに他の実施形態では、 R^{20} は $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニル（例えば、 $C_3 \sim C_{10}$ アルキルカルボニル）である。いくつかの実施形態では、 R^{20} は $-C(=O)(CH_2)_pSH$ または $-C(=O)(CH_2)_pSHet$ であり、 p は1～6の整数であり、 Het はヘテロアリアルである。例えば、 p は1であり得るか、 p は2であり得る。他の例では、 Het は、ピリジニル（例えば、ピリジン-2-イル）である。他の実施形態では、 $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニルは、さらなるオリゴマーに置換される。例えば、いくつかの実施形態では、オリゴマーは、3'位に、オリゴマーを別のオリゴマーの3'位に連結する $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニルを含む。かかる末端修飾は、本開示の範囲内に含まれる。

40

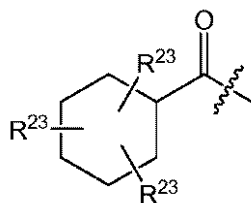
【0158】

他の実施形態では、 R^{20} は、アリアルホスホリル部分（例えば、トリフェニルホスホリル）にさらに置換される $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニルである。かかる R^{20} 基の例には、表2中の構造33が含まれる。

【0159】

他の例では、 R_{20} は、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルカルボニル（例えば、 $C_5 \sim C_7$ アルキルカルボニル）である。これらの実施形態では、 R_{20} は、以下の構造（XXVIII）：

【化 2 9】

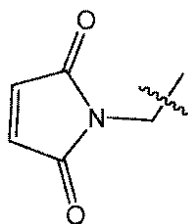


(XXVIII)

10

(式中、 R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニル、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルであり、1つの R^{23} が別の R^{23} と連結してヘテロシクリル環を形成することができる) を有する。いくつかの実施形態では、 R^{23} は、ヘテロシクリルアルキルである。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{23} は、以下の構造：

【化 3 0】



20

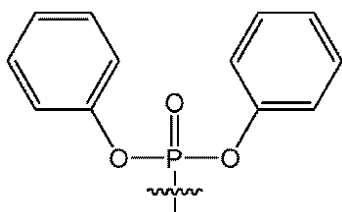
を有する。

【0160】

いくつかの他の実施形態では、 R^{20} は $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルアルキルカルボニルである。他の実施形態では、 R^{20} は $C_2 \sim C_{30}$ アルキルオキシカルボニルである。他の実施形態では、 R^{20} は $C_3 \sim C_8$ シクロアルキルオキシカルボニルである。他の実施形態では、 R^{20} は $C_7 \sim C_{30}$ アリールオキシカルボニルである。他の実施形態では、 R^{20} は $C_8 \sim C_{30}$ アラルキルオキシカルボニルである。他の実施形態では、 R^{20} は、 $-P(=O)(R^{22})_2$ (式中、各 R^{22} は $C_6 \sim C_{12}$ アリールオキシである) である。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{20} は、以下の構造 ($C24$)：

30

【化 3 1】



(C24)

40

を有する。

【0161】

他の実施形態では、 R^{20} は、1つ以上のハロ原子を含む。例えば、いくつかの実施形態では、 R^{20} は、任意の上記 R^{20} 部分のペルフルオロアナログを含む。他の実施形態では、 R^{20} は、p-トリフルオロメチルフェニル、トリフルオロメチルトリチル、ペルフルオロペンチル、またはペンタフルオロフェニルである。

【0162】

50

いくつかの実施形態では、3'末端は修飾を含み、他の実施形態では、5'末端は修飾を含む。他の実施形態では、3'末端および5'末端の両方が修飾を含む。したがって、いくつかの実施形態では、 R^{18} は存在せず、 R^{19} は R^{20} である。他の実施形態では、 R^{19} は存在せず、 R^{18} は R^{20} である。さらに他の実施形態では、 R^{18} および R^{19} はそれぞれ R^{20} である。

【0163】

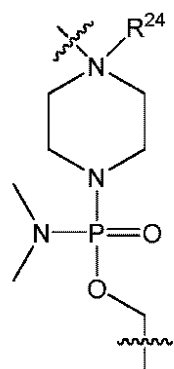
いくつかの実施形態では、オリゴマーは、3'または5'修飾に加えて、細胞透過性ペプチドを含む。したがって、いくつかの実施形態では、 R^{19} は細胞透過性ペプチドであり、 R^{18} は R^{20} である。他の実施形態では、 R^{18} は細胞透過性ペプチドであり、 R^{19} は R^{20} である。上記のさらなる実施形態では、細胞透過性ペプチドはアルギニンリッチペプチドである。

10

【0164】

いくつかの実施形態では、5'末端基（すなわち、 R^{19} ）をオリゴマーに連結するリンカー L^1 は存在しても存在しなくてもよい。リンカーは、リンカーが5'末端基をオリゴマーに連結する能力を保持し、リンカーが配列特異的様式で標的配列に結合するオリゴマーの能力を妨害しない場合、任意の数の官能基および長さを含む。1つの実施形態では、 L は、ホスホロジアミダート結合およびピペラジン結合を含む。例えば、いくつかの実施形態では、 L は、以下の構造（XXIX）：

【化32】



(XXIX)

20

30

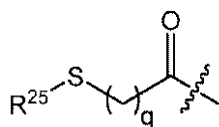
（式中、 R^{24} は存在しないか、水素または $C_1 \sim C_6$ アルキルである）を有する。いくつかの実施形態では、 R^{24} は存在しない。いくつかの実施形態では、 R^{24} は水素である。いくつかの実施形態では、 R^{24} は $C_1 \sim C_6$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{24} はメチルである。他の実施形態では、 R^{24} はエチルである。さらに他の実施形態では、 R^{24} は C_3 アルキルである。いくつかの他の実施形態では、 R^{24} はイソプロピルである。さらに他の実施形態では、 R^{24} は C_4 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^{24} は C_5 アルキルである。さらに他の実施形態では、 R^{24} は C_6 アルキルである。

40

【0165】

さらに他の実施形態では、 R^{20} は $C_3 \sim C_{30}$ アルキルカルボニルであり、 R^{20} は、以下の構造（XXX）：

【化33】



(XXX)

50

(式中、 R^{25} は水素または $-SR^{26}$ であり、 R^{26} は、水素、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールであり、 q は $0 \sim 6$ の整数である)を有する。

【0166】

上記のいずれかのさらなる実施形態では、 R^{23} は、それぞれの場所で独立して、水素、ハロ、 $C_1 \sim C_{30}$ アルキル、 $C_1 \sim C_{30}$ アルコキシ、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、またはヘテロシクリルアルキルである。

【0167】

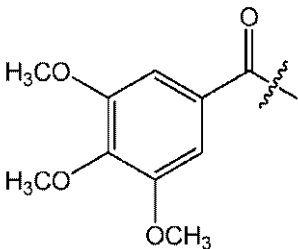
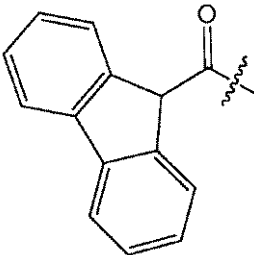
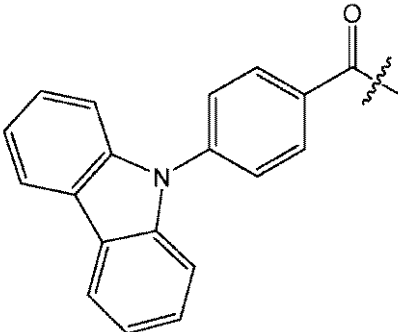
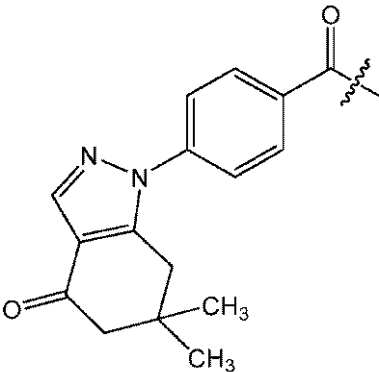
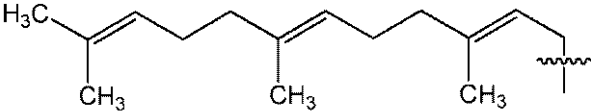
いくつかの他の実施形態では、オリゴマーの 3' 末端のみが上記の基のうちの 1 つに抱合する。いくつかの他の実施形態では、オリゴマーの 5' 末端のみが上記の基のうちの 1 つに抱合する。他の実施形態では、3' 末端および 5' 末端の両方が、上記の基のうちの 1 つを含む。末端基を、上記の基のいずれか 1 つまたは表 2 に示す特定の基のいずれかから選択することができる。

10

【0168】

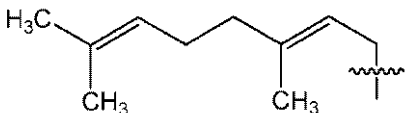
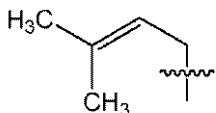
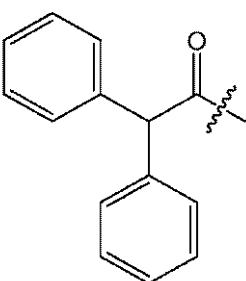
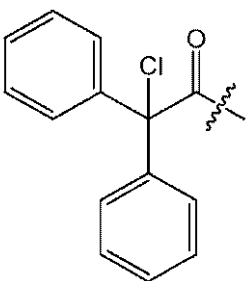
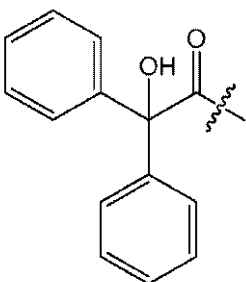
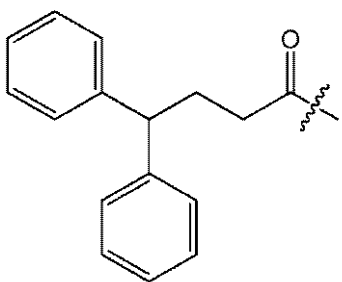
【表 2 - 1】

表 2. 代表的な末端基

番号	名称	構造
C1	トリメキシベンゾイル	
C2	9-フルオレンー カルボキシル	
C3	4-カルバゾリルベンゾイル	
C4	4-インダゾリロンベンゾイル	
C5	ファルネシル	

【 0 1 6 9 】

【表 2 - 2】

番号	名称	構造
C6	ゲラニル	
C7	プレニル	
C8	ジフェニルアセチル	
C9	クロロジフェニルアセチル	
C10	ヒドロキシジフェニルアセチル	
C11	トリフェニルプロピオニル	

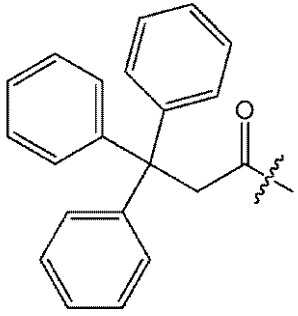
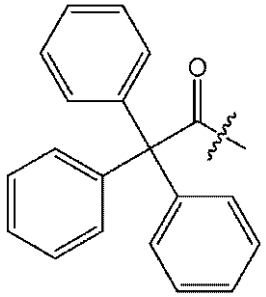
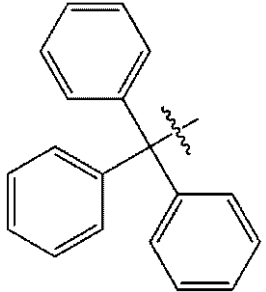
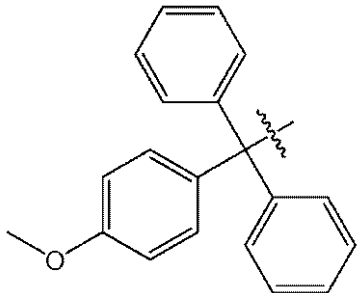
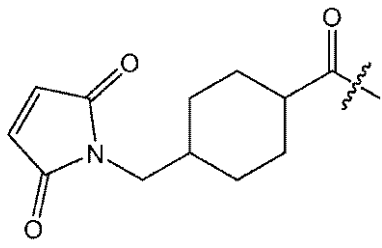
10

20

30

40

【表 2 - 3】

番号	名称	構造
C12	トリフェニルプロピル	
C13	トリフェニルアセチル	
C14	トリチル (Tr)	
C15	メキシトリチル (MeOTr)	
C16	メチルスクシンイミジル シクロヘキソイル	

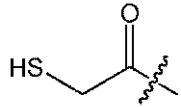
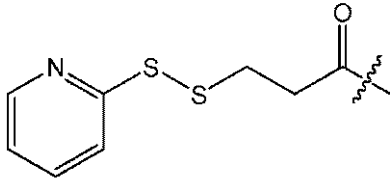
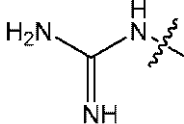
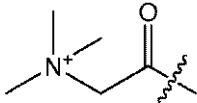
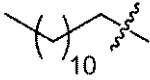
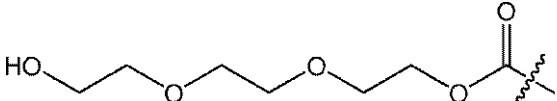
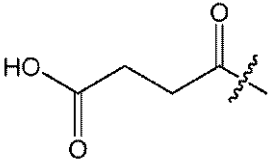
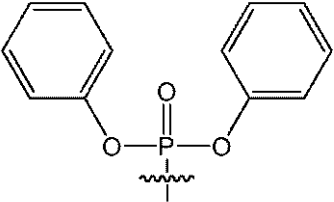
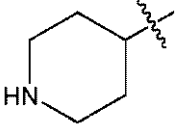
10

20

30

40

【表 2 - 4】

番号	名称	構造
C17	チオアセチル	
C18	COCH ₂ CH ₂ SSPy	
C19	グアニジニル	
C20	トリメチルグリシン	
C21	ラウロイル	
C22	トリエチレングリコロイル (EG3)	
C23	コハク酸アセチル	
C24	ジフェニルホスホリル	
C25	ピペリジン -4-イル	

10

20

30

40

【表 2 - 5】

番号	名称	構造
C26	トリチルピペリジン-4-イル	
C27	Boc- ピペリジン -4- イル	
C28	ヘキシシン-6-イル	
C29	5-カルボキシフルオレセイン	
C30	ベンズヒドリル	

10

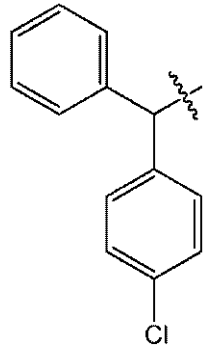
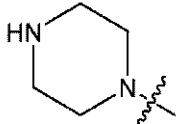
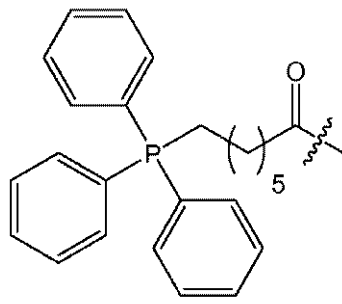
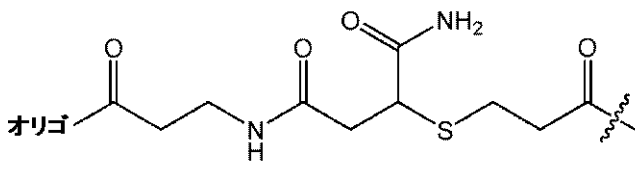
20

30

40

【 0 1 7 3 】

【表 2 - 6】

番号	名称	構造
C31	p-クロロベンズヒドリル	
C32	ピペラジニル (pip)	
C33	トリフェニルphos	
C34	二量体化	 オリゴ = さるなるオリゴマー

【0174】

1. ペプチド輸送体

いくつかの実施形態では、本発明のオリゴマーを、ペプチド輸送体部分（例えば、オリゴマーの細胞への輸送を増強するのに有効な細胞透過性ペプチド輸送部分）に抱合する。例えば、いくつかの実施形態では、ペプチド輸送体部分はアルギニンリッチペプチドである。さらなる実施形態では、例えば、図1C中に示すように、輸送部分を、オリゴマーの5'末端または3'末端のいずれかに付着させる。かかるペプチドがいずれかの末端に付着する場合、反対側の末端は本明細書中に記載の修飾された末端基へのさらなる抱合に利用可能である。

【0175】

上記のいくつかの実施形態では、ペプチド輸送部分は、X'サブユニット、Y'サブユニット、およびZ'サブユニットから選択される6～16個のサブユニットを含み、

(a) 各X'サブユニットは、独立して、リジン、アルギニン、またはアルギニンアナログを示し、このアナログは、構造 $R^{33}N=C(NH_2)R^{34}$ の側鎖を含む陽イオン性 α -アミノ酸であり、ここで、 R^{33} はHまたはRであり、 R^{34} は、 R^{35} 、 NH_2 、 NHR 、または NR_{34} であり、 R^{35} は低級アルキルまたは低級アルケニルであり、酸素または窒素をさらに含むことができ、 R^{33} および R^{34} が共に環を形成することがで

き、側鎖は R^3 または R^4 を介してアミノ酸に連結し、

(b) 各 Y' サブユニットは、独立して、中性アミノ酸 $-C(O)-(CHR)_n-NH-$ を示し、ここで、 n は 2~7 であり、各 R は、独立して、 H またはメチルであり、

(c) 各 Z' サブユニットは、独立して、中性アラルキル側鎖を有する α -アミノ酸を示し、ここで、ペプチドは、 $(X'Y'X')_p$ 、 $(X'Y')_m$ 、および $(X'Z'Z')_p$ のうちの 1 つによって示される配列を含み、 p は 2~5 であり、 m は 2~8 である。

【0176】

選択された実施形態では、各 X' について、側鎖部分はグアニジル（アミノ酸サブユニットアルギニン (Arg) など）である。さらなる実施形態では、各 Y' は $-CO-(CH_2)_n-CHR-NH-$ （式中、 n は 2~7 であり、 R は H である）である。例えば、 n が 5 であり、且つ R が H である場合、 Y' は、6-アミノヘキサン酸サブユニット（本明細書中で Ahx と省略）であり、 n が 2 であり、且つ R が H である場合、 Y' は β -アラニンサブユニットである。

【0177】

一定の実施形態では、この型のペプチドには、単一の Y' サブユニット（ Y' は Ahx である）と交互に起こるアルギニン二量体を含むペプチドが含まれる。例には、式 $(RY'R)_p$ または式 $(RRY')_p$ （式中、 Y' は Ahx である）を有するペプチドが含まれる。1 つの実施形態では、 Y' は 6-アミノヘキサン酸サブユニットであり、 R はアルギニンであり、 p は 4 である。

【0178】

さらなる実施形態では、各 Z' はフェニルアラニンであり、 m は 3 または 4 である。

【0179】

いくつかの実施形態では、抱合したペプチドは、リンカー $Ahx-B$ （式中、Ahx は 6-アミノヘキサン酸サブユニットであり、 B は β -アラニンサブユニットである）を介してオリゴマーの末端に連結する。

【0180】

選択された実施形態では、各 X' について、側鎖部分は、グアニジル ($HN=C(NH_2)NH-$)、アミジニル ($HN=C(NH_2)C-$)、2-アミノジヒドロピリミジル、2-アミノテトラヒドロピリミジル、2-アミノピリジニル、および 2-アミノピリミドニルからなる群から独立して選択され、好ましくは、グアニジルおよびアミジニルから選択される。1 つの実施形態では、側鎖部分は、グアニジル（アミノ酸サブユニットアルギニン (Arg) など）である。

【0181】

いくつかの実施形態では、 Y' サブユニットは、 X' サブユニットが Y' サブユニット間に介在しないという点で連続的であるか、 X' サブユニット間に個々に分散している。しかし、いくつかの実施形態では、連結サブユニットは、 Y' サブユニットの間に存在し得る。1 つの実施形態では、 Y' サブユニットは、ペプチド輸送体の末端に存在し、他の実施形態では、これらは X' サブユニットに隣接する。さらなる実施形態では、各 Y' は、 $-CO-(CH_2)_n-CHR-NH-$ （式中、 n は 2~7 であり、 R は H である）である。例えば、 n が 5 であり、且つ R が H である場合、 Y' は 6-アミノヘキサン酸サブユニット（本明細書中で Ahx と省略）である。この基の選択された実施形態では、各 X' は、グアニジル側鎖部分（アルギニンサブユニットなど）を含む。この型のペプチドの例には、単一の Y' サブユニット（ Y' は、好ましくは Ahx である）と交互に起こるアルギニン二量体を含むペプチドが含まれる。例には、式 $(RY'R)_4$ または式 $(RRY')_4$ （式中、 Y' は、好ましくは Ahx である）を有するペプチドが含まれる。いくつかの実施形態では、例えば、図 1 C 中に示すように、核酸アナログは、好ましくは C 末端で末端 Y' サブユニットに連結する。他の実施形態では、リンカーは、構造 $Ahx-B$ （式中、Ahx は 6-アミノヘキサン酸サブユニットであり、 B は β -アラニンサブユニットである）のリンカーである。

【0182】

上記のペプチド輸送部分は、付着した輸送部分の非存在下でのオリゴマーの取り込みおよび疎水性サブユニット Y' を欠く付着した輸送部分による取り込みと比較して、付着したオリゴマーの細胞侵入が非常に増強されることが示されている。かかる増強された取り込みを、疎水性サブユニット Y' を欠く付着した輸送部分による薬剤の取り込みと比較して、哺乳動物細胞への化合物の取り込みが少なくとも 2 倍増加、または他の実施形態では、4 倍増加することによって証明することができる。いくつかの実施形態では、取り込みは、非抱合化合物と比較して、少なくとも 20 倍または少なくとも 40 倍増強される。

【0183】

ペプチド輸送部分のさらなる利点は、アンチセンスオリゴマーとその標的核酸配列との間の二重鎖を安定化させる能力が期待されることである。理論に拘束されることを望まないが、この二重鎖を安定化させる能力は、正電荷の輸送部分と負電荷の核酸との間の静電相互作用に起因し得る。いくつかの実施形態では、荷電サブユニット数が多すぎると配列特異性が減少し得るので、輸送体中の荷電サブユニット数は、上述の通り、14 未満であるか、他の実施形態では、8 と 11 との間である。

【0184】

リンカー（B または Ahx B）を含む例示的なアルギニンリッチ細胞透過性ペプチド輸送体を、以下の表 3 に示す。

【0185】

【表 3】

表 3. アルギニンリッチ細胞透過性ペプチド輸送体

名称 (命名)	配列	配列番号 ^a
rTAT	RRRQRRKKR	56
Tat	RKKRRQRRR	57
R ₉ F ₂	RRRRRRRRFF	58
R ₅ F ₂ R ₄	RRRRRFFRRR	59
R ₄	RRRR	60
R ₅	RRRR	61
R ₆	RRRRR	62
R ₇	RRRRRR	63
R ₈	RRRRRRR	64
R ₉	RRRRRRRR	65
(RAhxR) ₄ ; (P007)	RAhxRRAhxRRAhxRRAhxR	66
(RAhxR) ₅ ; (CP04057)	RAhxRRAhxRRAhxRRAhxRRAhxR	67
(RAhxRRBR) ₂ ; (CP06062)	RAhxRRBRRAhxRRBR	68
(RAR) ₄ F ₂	RARRARRARRARFFC	69
(RGR) ₄ F ₂	RGRRGRRGRGRFFC	70

^a 配列番号に割り当てられた配列は、結合部分（例えば、C、G、Ahx、B、AhxB（Ahx および B は、それぞれ 6-アミノヘキサン酸および β-アラニンをいう））を含まない。

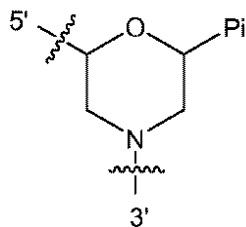
【0186】

C. オリゴマーの性質

上述の通り、本開示は、オリゴマーに望ましい性質（例えば、アンチセンス活性の増加）を付与する種々の修飾を含むオリゴマーに関する。一定の実施形態では、オリゴマーは、サブユニット間結合によって連結したモルホリノ環構造の配列を含む骨格を含み、サブユニット間結合が 1 つのモルホリノ環構造の 3' 末端と隣接するモルホリノ環構造の 5' 末端とを連結し、オリゴマーが配列特異的様式で標的核酸に結合することができるように各モルホリノ環構造が塩基対合部分に結合する。モルホリノ環構造は、以下の構造（i）

:

【化 3 4】



(i)

10

を有することができ、Bは、それぞれの場所で独立して、塩基対合部分である。

【0187】

各モルホリノ環構造は、塩基対合部分（Pi）が塩基対合部分の配列を形成するのを支持し、典型的には、処置される細胞中または被験体中の選択されたアンチセンス標的とのハイブリッド形成するようにデザインされている。塩基対合部分は、未変性DNAまたはRNA（A、G、C、T、またはU）またはアナログ（ヒポキサンチン（ヌクレオシドイノシンの塩基成分）または5-メチルシトシンなど）中に見出されるプリンまたはピリミジンであり得る。オリゴマーに改善された結合親和性を付与するアナログ塩基も利用することができる。これらに関する例示的なアナログには、C5-プロピニル修飾ピリミジンおよび9-（アミノエトキシ）フェノキサジン（G-clamp）などが含まれる。

20

【0188】

上述の通り、オリゴマーを、本発明の態様にしたがって、1つ以上の（B）結合（例えば、2～5個の非荷電結合毎に約1個まで、典型的には10個の非荷電結合毎に3～5個）を含むように修飾することができる。一定の実施形態はまた、1つ以上のタイプ（B）の結合を含む。骨格結合の約半分までがタイプ（B）である場合、アンチセンス活性の最適な改善が認められる。典型的には、より少数（例えば、10～20%の（B）結合）を用いて、最大でないがいくらかの増強が認められる。

【0189】

1つの実施形態では、結合タイプ（A）および（B）は、骨格に沿って分散している。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、その全長に沿って、（A）および（B）結合の厳格な交互パターンを持たない。オリゴマーは、任意選択的に、上記の5'および/または3'修飾を含むことができる。

30

【0190】

（A）結合のブロックおよび（B）結合のブロックを有するオリゴマーも考慮する。例えば、（A）結合の中心ブロックは、（B）結合のブロックに隣接することができ、その逆も同じある。1つの実施形態では、オリゴマーは、ほぼ等しい長さの5'、3'、および中心領域を有し、中心領域中の（B）または（A）結合の比率は、約50%超または約70%超である。アンチセンスへの適用で用いるオリゴマーは、一般に、約10～約40サブユニット、より好ましくは約15～25サブユニットの長さの範囲である。例えば、19～20サブユニット（アンチセンスオリゴマーに有用な長さ）を有する本発明のオリゴマーは、理想的には、2～7個（例えば、4～6または3～5個）の（B）結合および残部（A）結合を有し得る。14～15個のサブユニットを有するオリゴマーは、理想的には、2～5個（例えば、3個または4個）の（B）結合および残部（A）結合を有することができる。

40

【0191】

モルホリノサブユニットを、以下にさらに記載されるように、少なくとも1つの結合が結合（B）である非リンベースのサブユニット間結合によって連結することもできる。

【0192】

その未修飾状態で非荷電であるが懸垂アミン置換基を保有することもできる他のオリゴ

50

ヌクレオチドアナログ結合も使用することができる。例えば、モルホリノ環上の5'窒素原子を、スルファミド結合（または尿素結合、リンが炭素または硫黄にそれぞれ置換されている）中で使用することができる。

【0193】

アンチセンスへの適用のためのいくつかの実施形態では、オリゴマーは、核酸標的配列に対して100%相補的であり得るか、オリゴマーと核酸標的配列との間に形成されたヘテロ二重鎖が細胞ヌクレアーゼ作用およびインビボで起こり得る他の分解様式に耐えるのに十分に安定である限り、ミスマッチ（例えば、バリエーションに適合するため）を含むことができる。ミスマッチは、存在する場合、ハイブリッド二重鎖の中央よりも末端領域に向かって不安定性がより小さくなる。許容されるミスマッチ数は、十分に理解された二重鎖安定性の原則にしたがって、オリゴマーの長さ、二重鎖中のG:C塩基対の比率、および二重鎖中のミスマッチの位置に依存するであろう。かかるアンチセンスオリゴマーが核酸標的配列に対して必ずしも100%相補的でないにもかかわらず、核酸標的の生物学的活性（例えば、コードされるタンパク質の発現）が調整されるように標的配列に安定且つ特異的に結合するのに有効である。

10

【0194】

オリゴマーと標的配列との間に形成された二重鎖の安定性は、結合 T_m および細胞酵素的切断に対する二重鎖の感受性の関数である。相補性配列RNAに関するアンチセンス化合物の T_m を、従来の方法（Hames et al., Nucleic Acid Hybridization, IRL Press, 1985, pp. 107-108またはMiyada C. G. and Wallace R. B., 1987, Oligonucleotide hybridization techniques, Methods Enzymol. Vol. 154 pp. 94-107に記載の方法など）によって測定することができる。

20

【0195】

いくつかの実施形態では、各アンチセンスオリゴマーは、相補性配列RNAに関して、体温より高いか、他の実施形態では、50℃を超える結合 T_m を有する。他の実施形態では、 T_m は、60~80℃またはそれを超える範囲である。周知の原則にしたがって、相補性ベースのRNAハイブリッドに関するオリゴマー化合物の T_m を、二重鎖中のC:G対合塩基の比率の増加および／またはヘテロ二重鎖の（塩基対中の）長さの増加によって上昇させることができる。同時に、細胞取り込みを最適化するために、オリゴマーのサイズを制限することが有利であり得る。こういう訳で、20塩基以下の長さで高 T_m （50℃以上）を示す化合物が、高 T_m 値のために20塩基超が必要な化合物よりも一般に好ましい。いくつかの適用のために、より長いオリゴマー（例えば、20塩基超）が一定の利点を有し得る。例えば、一定の実施形態では、より長いオリゴマーが、エキソスキッピング（skipping）またはスプライス調整で用いるのに特に有用であり得る。

30

【0196】

ターゲティング配列塩基は、正常なDNA塩基またはそのアナログ（例えば、標的配列RNA塩基へのワトソン・クリック塩基対合が可能なウラシルおよびイノシン）であり得る。

40

【0197】

オリゴマーはまた、標的ヌクレオチドがウラシル残基である場合にアデニンの代わりにグアニン塩基を組み込むことができる。これは、標的配列が異なるウイルス種によって変化し、任意の所与のヌクレオチド残基での異形がシトシンまたはウラシルのいずれかである場合に有用である。可変位でのオリゴマーのターゲティングにおけるグアニンの利用により、グアニンがウラシルと塩基対合する周知の能力（C/U:G塩基対合と呼ばれる）を活用することができる。これらの位置でのグアニンの組み込みにより、単一のオリゴマーが、より広いRNA標的の可変範囲を有効にターゲティングすることができる。

【0198】

化合物（例えば、オリゴマー、サブユニット間結合、末端基）は、異なる異性体（例え

50

ば、構造異性体（例えば、互変異性体）で存在し得る。立体異性体に関して、化合物は、キラル中心を有することができ、ラセミ体、鏡像異性体が豊富な混合物、個別の鏡像異性体、ジアステレオマーの混合物、または個別のジアステレオマーとして生じ得る。全てのかかる異性体は、本発明に含まれる（その混合物が含まれる）。化合物はまた、軸性キラリティーを有することができ、それにより、アトロブ異性体を得ることができる。さらに、化合物の結晶形態のいくつかは多形として存在することができ、これらは本発明に含まれる。さらに、いくつかの化合物はまた、水または他の有機溶媒と溶媒和物を形成することができる。かかる溶媒和物は、同様に、本発明の範囲内に含まれる。

【0199】

本明細書中に記載のオリゴマーを、タンパク質の産生またはウイルスの複製の阻害方法で 사용할 ことができる。したがって、1つの実施形態では、かかるタンパク質をコードする核酸を、本明細書中に開示のオリゴマーに曝露する。上記のさらなる実施形態では、アンチセンスオリゴマーは、本明細書中に開示の5'または3'の修飾された末端基またはその組み合わせのいずれかを含み、塩基対合部分Bは、タンパク質産生を阻害するのに有効な位置で核酸の一部とハイブリッド形成するのに有効な配列を形成する。1つの実施形態では、この位置は、下記のmRNAのATG開始コドン領域、プレmRNAのスプライス部位、またはウイルス標的配列である。

【0200】

1つの実施形態では、オリゴマーは、標的配列への結合に関して約50℃を超える T_m を有し、哺乳動物細胞または細菌細胞によって取り込まれる。別の実施形態では、オリゴマーを、かかる取り込みを容易にするための本明細書中に記載の輸送部分（例えば、アルギニンリッチペプチド）に抱合することができる。別の実施形態では、本明細書中に記載の末端修飾は、哺乳動物細胞および／または細菌細胞による取り込みを容易にするための輸送部分として機能することができる。

【0201】

モルホリノオリゴマーの調製および性質は、以下および米国特許第5,185,444号およびWO/2009/064471号（それぞれその全体が本明細書中で参考として援用される）により詳細に記載されている。

【0202】

D. オリゴマーの処方および投与

本開示はまた、開示のオリゴマーの処方および送達を提供する。したがって、1つの実施形態では、本開示は、本明細書中に開示のオリゴマーおよび薬学的に許容され得るビヒクルを含む組成物に関する。

【0203】

アンチセンスオリゴマーの標的核酸への有効な送達は、処置の重要な態様である。アンチセンスオリゴマーの送達経路には、種々の全身経路（経口および非経口経路（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、および筋肉内）が含まれる）、ならびに吸入、経皮、および局所送達が含まれるが、これらに限定されない。適切な経路を、当業者は、処置下の被験体の状態に応じて決定することができる。例えば、皮膚ウイルス感染処置におけるアンチセンスオリゴマーの適切な送達経路は局所送達である一方で、ウイルス呼吸器感染処置のためのアンチセンスオリゴマーの送達は吸入による送達である。オリゴマーを、ウイルス感染部位に直接送達させるか、血流に送達させることもできる。

【0204】

アンチセンスオリゴマーを、生理学的におよび／または薬学的に許容され得る任意の都合の良いビヒクル中で投与することができる。かかる組成物は、当業者によって使用される任意の種々の標準的な薬学的に許容され得るキャリアを含むことができる。例には、生理食塩水、リン酸緩衝化生理食塩水（PBS）、水、エタノール水溶液、乳濁液（油／水乳濁液またはトリグリセリド乳濁液など）、錠剤、およびカプセルが含まれるが、これらに限定されない。適切な生理学的に許容され得るキャリアの選択は、選択した投与様式に依存して変化するであろう。

10

20

30

40

50

【0205】

本発明の化合物（例えば、オリゴマー）を、一般に、遊離酸または遊離塩基として利用することができる。あるいは、本発明の化合物を、酸付加塩または塩基付加塩の形態で利用することができる。本発明の遊離アミノ化合物の酸付加塩を、当該分野で周知の方法によって調製することができ、有機酸および無機酸から形成することができる。適切な有機酸には、マレイン酸、フマル酸、安息香酸、アスコルビン酸、コハク酸、メタンスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、シュウ酸、プロピオン酸、酒石酸、サリチル酸、クエン酸、グルコン酸、乳酸、マンデル酸、桂皮酸、アスパラギン酸、ステアリン酸、パルミチン酸、グリコール酸、グルタミン酸、およびベンゼンスルホン酸が含まれる。適切な無機酸には、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、および硝酸が含まれる。塩基付加塩には、カルボン酸陰イオンを使用して形成する塩が含まれ、有機および無機陽イオン（アルカリ金属およびアルカリ土類金属（例えば、リチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、バリウム、およびカルシウム）、ならびにアンモニウムイオン、およびその置換誘導体（例えば、ジベンジルアンモニウム、ベンジルアンモニウム、および2-ヒドロキシエチルアンモニウムなど）から選択されるイオンなど）を使用して形成された塩が含まれる。したがって、用語、構造（I）の「薬学的に許容され得る塩」は、任意および全ての許容され得る塩形態を含むことが意図される。

10

【0206】

さらに、プロドラッグも本発明の文脈内に含まれる。プロドラッグは、かかるプロドラッグを患者に投与した場合にインビボで構造（I）の化合物が放出される任意の共有結合されたキャリアである。プロドラッグを、一般に、日常的な操作またはインビボのいずれかによって修飾が切断されて親化合物が得られるような方法での官能基の修飾によって調製する。プロドラッグには、例えば、ヒドロキシ基、アミン基、またはスルフヒドリル基が任意の基に結合し、患者に投与された場合に切断されてヒドロキシ基、アミン基、またはスルフヒドリル基を形成する本発明の化合物が含まれる。したがって、プロドラッグの代表例には、構造（I）の化合物のアルコールおよびアミン官能基の酢酸、ギ酸、および安息香酸の誘導体が含まれる（しかし、これらに限定されない）。さらに、カルボン酸（-COOH）の場合、エステルを使用することができる（メチルエステルおよびエチルエステルなど）。

20

【0207】

いくつかの例では、リボソームを使用して、アンチセンスオリゴヌクレオチドの細胞への取り込みを容易にすることができる（例えば、Williams, S. A., Leukemia 10 (12): 1980-1989, 1996; Lappalainen et al., Antiviral Res. 23: 119, 1994; Uhlmann et al., antisense oligonucleotides: a new therapeutic principle, Chemical Reviews, Volume 90, No. 4, pages 544-584, 1990; Gregoriadis, G., Chapter 14, Liposomes, Drug Carriers in Biology and Medicine, pp. 287-341, Academic Press, 1979を参照のこと）。例えば、WO93/01286号に記載のように、ヒドロゲルをアンチセンスオリゴマー投与のためのビヒクルとして使用することもできる。あるいは、オリゴヌクレオチドを、ミクロスフィアまたは微粒子中で投与することができる（例えば、Wu, G. Y. and Wu, C. H., J. Biol. Chem. 262: 4429-4432, 1987を参照のこと）。あるいは、米国特許第6,245,747号に記載のように、アンチセンスオリゴマーと複合体化したガス充填微小気泡の使用により、標的組織への送達を増強することができる。徐放性組成物も使用することができる。これらは、成形品の形態（フィルムまたはマイクロカプセルなど）で半透性ポリマーマトリックスを含むことができる。

30

40

【0208】

1つの実施形態では、アンチセンス阻害は、特定のウイルスの複製を阻害するのに有効

50

なアンチセンス薬とのウイルス感染した細胞の接触による宿主動物のウイルス感染の処置で有効である。適切な薬学的キャリア中のアンチセンス薬を、所与のウイルスに感染した哺乳動物被験体（例えば、ヒトまたは家畜）に投与する。アンチセンスオリゴヌクレオチドが宿主中のRNAウイルスの成長を停止させることが意図される。宿主の正常な成長または発達に有害な影響をほとんど及ぼさないか全く及ぼすことなくRNAウイルス数を減少させることができるか消失させることができる。

【0209】

方法の1つの態様では、被験体はヒト被験体（例えば、限局性または全身性ウイルス感染を有すると診断された患者）である。例えば、（1）免疫不全患者、（2）火傷被害者である患者、（3）留置カテーテルを有する患者、または（4）手術を受けようとしているか、手術を最近受けた患者の場合、患者の容態に、本発明のアンチセンスオリゴマーの予防的投与を指示することもできる。1つの好ましい実施形態では、オリゴマーは、薬学的に許容され得るキャリア中に含まれるホスホロジアミダートモルホリノオリゴマーであり、これを経口送達させる。別の好ましい実施形態では、オリゴマーは、薬学的に許容され得るキャリア中に含まれるホスホロジアミダートモルホリノオリゴマーであり、これを静脈内（i. v.）送達させる。

【0210】

方法の別の適用では、被験体は、家畜動物（例えば、ニワトリ、シチメンチョウ、ブタ、ウシ、またはヤギなど）であり、処置は、予防的処置または治療的処置のいずれかである。本発明はまた、治療量以下の上記抗ウイルスアンチセンス化合物型を補足した穀類を含む家畜および家禽用飼料組成物を含む。穀類に治療量以下の上記の抗ウイルスオリゴヌクレオチド組成物を補足することが改良点である、治療レベル以下の抗ウイルス剤を補足した穀類を使用した家畜および家禽の給餌方法も意図する。

【0211】

1つの実施形態では、アンチセンス化合物を、少なくとも200～400 nMアンチセンスオリゴマーのピーク血中濃度を得るのに有効な量および様式で投与する。典型的には、1用量以上のアンチセンスオリゴマーを、一般に、一定間隔を置いて約1～2週間にわたって投与する。経口投与に好ましい用量は、約1～1000 mg オリゴマー／70 kg である。いくつかの場合、1000 mg を超えるオリゴマー／患者の用量が必要であり得る。i. v. 投与のために、好ましい用量は、約0.5 mg～1000 mg オリゴマー／70 kg である。アンチセンスオリゴマーを、一定間隔において短期間（例えば、2週間以下にわたって毎日）投与することができる。しかし、いくつかの場合、オリゴマーを、長期間にわたって断続的に投与する。投与後に抗生物質の投与または他の治療上の処置を行うか、同時に行うことができる。処置レジメンを、処置下の被験体の免疫アッセイ、他の生化学試験、および生理学試験の結果に基づいて、示すように調整することができる（用量、頻度、経路など）。

【0212】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを使用した有効なインビボでの処置レジメンは、投与の持続時間、用量、頻度、および経路、ならびに処置下の被験体の容態（すなわち、予防的投与対限局性または全身性感染に応じた投与）に応じて変化し得る。したがって、かかるインビボでの治療は、しばしば、処置下の特定のウイルス感染型に適切な試験によるモニタリングおよび最適な治療結果を達成するための容量または治療レジメンの対応する調整が必要であろう。処置を、例えば、疾患および／または感染の一般的な指標（全血球計算値（CBC）、核酸検出法、免疫診断試験、ウイルス培養、またはヘテロ二重鎖の検出など）によってモニタリングすることができる。

【0213】

1つ以上のRNAウイルス型の成長の阻害または排除におけるインビボで投与した本発明の抗ウイルスアンチセンスオリゴマーの有効性を、アンチセンスオリゴマーの投与前、投与中、および投与後に被験体から採取した生物サンプル（組織、血液、尿など）から決定することができる。かかるサンプルのアッセイには、（1）当業者に公知の手順（例え

10

20

30

40

50

ば、電気泳動ゲル移動アッセイ)を使用した標的配列および非標的配列とのヘテロ二重鎖形成の有無のモニタリング、(2)標準的な技術(ELISAまたはウェスタンブロッティングなど)によって決定した場合のウイルスタンパク質産生量のモニタリング、または(3)例えば、Spearman-Kärberの方法によるウイルス価に及ぼす影響の測定(例えば、Pari, G. S. et al., *Antimicrob. Agents and Chemotherapy* 39(5):1157-1161, 1995; Anderson, K. P. et al., *Antimicrob. Agents and Chemotherapy* 40(9):2004-2011, 1996, Cottrel, G. E. (ed) in: *Manual of Standard Methods for Veterinary Microbiology*, pp. 60-93, 1978を参照のこと)が含まれる。

10

【0214】

いくつかの実施形態では、オリゴマーは、哺乳動物細胞によって能動的に取り込まれる。さらなる実施形態では、オリゴマーを、かかる取り込みを容易にするための本明細書中に記載の輸送部分(例えば、輸送ペプチド)に抱合することができる。

【0215】

E. オリゴマーの調製

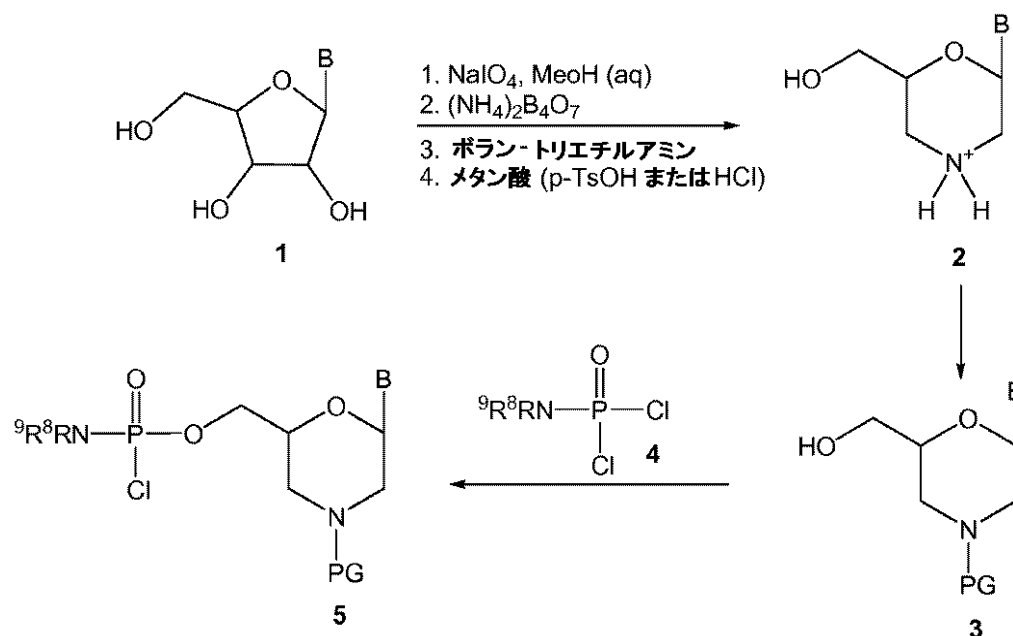
モルホリノサブユニット、修飾されたサブユニット間結合、およびこれを含むオリゴマーを、実施例ならびに米国特許第5,185,444号および同第7,943,762号(その全体が本明細書中で参考として援用される)に記載のように調製することができる。モルホリノサブユニットを、以下の一般的な反応スキームIにしたがって調製することができる。

20

【0216】

【化35】

反応スキーム 1. モルホリノサブユニットの調製



30

40

【0217】

反応スキーム 1 に関して、B は塩基対合部分を示し、PG は保護基を示し、モルホリノサブユニットを、示すように対応するリボヌクレオシド (ribonucleoside) (1) から調製することができる。モルホリノサブユニット (2) を、任意選択的に、適切な保護基前駆体 (例えば、トリチルクロリド) との反応によって保護することができる。以下により詳細に記載するように、3' 保護基を、一般に、固相オリゴマー合成中に除去する。塩基対合部分 (poiety) を、固相オリゴマー合成のために適切に保護す

50

ることができる。適切な保護基には、アデニンおよびシトシンのためのベンゾイル、グアニンのためのフェニルアセチル、およびヒポキサンチン（I）のためのピバロイルオキシメチルが含まれる。ピバロイルオキシメチル基を、ヒポキサンチン複素環塩基のN1位上に導入することができる。非保護ヒポキサンチンサブユニットを使用することができるにもかかわらず、活性化反応の収率は、塩基が保護されている場合の方がはるかに優れている。他の適切な保護基には、同時係属米国特許出願番号12/271,040号（その全体が本明細書中で参考として援用される）中に開示の保護基が含まれる。

【0218】

3の活性化リン化合物4との反応により、所望の結合部分（5）を有するモルホリノサブユニットが得られる。構造4の化合物を、当業者に公知の多数の方法を使用して調製することができる。例えば、かかる化合物を、対応するアミンおよびオキシ塩化リンの反応によって調製することができる。これに関して、アミン出発物質を、当該分野で公知の任意の方法（例えば、実施例および米国特許第7,943,762号に記載の方法）を使用して調製することができる。上記スキームがタイプ（B）の結合（例えば、Xは $-NR^8R^9$ である）の調製を示しているにもかかわらず、タイプ（A）の結合（例えば、Xはジメチルアミンである）を、類似の様式で調製することができる。

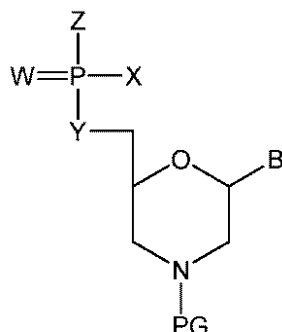
【0219】

構造5の化合物を、サブユニット間結合を含むオリゴマーの調製のための固相自動化オリゴマー合成で 사용할 ことができる。かかる方法は、当該分野で周知である。簡潔に述べれば、構造5の化合物を、固体支持体に対するリンカーを含むように5'末端で修飾することができる。例えば、化合物5を、 L^1 および/または $R^{1'9}$ を含むリンカーによって固体支持体に連結することができる。例示的な方法を、図3および4に示す。この様式では、オリゴは、オリゴマー合成の完了後に5'末端修飾を含むことができ、オリゴマーを固体支持体から切断する。一旦支持されると、5（例えば、トリチル）の保護基を除去し、遊離アミンを構造5の第2の化合物の活性化リン部分と反応させる。所望の長さのオリゴが得られるまで、この順序を繰り返す。5'末端中の保護基を、除去するか、5'修飾が望ましい場合は残すことができる。オリゴを、固体支持体への結合を切断するための多数の方法または塩基を使用した例示的処置を使用して固体支持体から除去することができる。

【0220】

1つの実施形態では、開示は、オリゴマー調製のためのモルホリノサブユニットおよび関連する方法を提供する。モルホリノサブユニットは、以下の構造（XXXI）：

【化36】



(XXXI)

（式中、W、X、およびYは、上記結合（B）について定義の通りであり、Bは塩基対合部分であり、Zは固体支持体または適切な脱離基への結合であり、PGは保護基（例えば、 $C_7 \sim C_{30}$ アラルキル）である）を有する。いくつかの実施形態では、PGはトリチル（例えば、メトキシトリチル）である。他の実施形態では、固体支持体への結合は、上記定義の L^2 および/または $R^{1'9}$ を含む。 L^2 は、アルキル、ヒドロキシル、アルコキ

シ、アルキルアミノ、アミド、エステル、ジスルフィド、カルボニル、カルバマート、ホスホロジアミダート、ホスホロアミダート、ホスホロチオアート、ピペラジン、およびホスホジエステルから選択される結合を含む必要に応じたリンカーである。 L^2 の長さは特に制限されない。いくつかの実施形態では、 L^2 は、60原子長未満、50原子長未満、または40原子長未満である。いくつかの他の実施形態では、Zはハロ（例えば、クロロ）である。

【0221】

さらに別の実施形態では、本開示は、任意の開示のオリゴマーの調製方法を提供する。本方法は、オリゴマー調製のための構造（XXXI）の化合物の使用を含む。

【0222】

修飾されたモルホリノサブユニットおよびモルホリノオリゴマーの調製は、実施例により詳細に記載されている。任意の数の修飾結合を含むモルホリノオリゴマーを、本明細書中に記載の方法、当該分野で公知の方法、および／または本明細書中のリファレンスに記載の方法を使用して調製することができる。以前に記載のように調製したPMO+モルホリノオリゴマーの包括的修飾も実施例中に記載する（例えば、PCT公開WO2008036127号を参照のこと）。

【0223】

F. オリゴマーのアンチセンス活性

本開示はまた、タンパク質産生の阻害方法であって、タンパク質をコードする核酸を本明細書中に開示のオリゴマーに曝露する工程を含む、方法を提供する。したがって、1つの実施形態では、かかるタンパク質をコードする核酸を、少なくとも1つのタイプ（B）の結合または、他の実施形態では、10%～50%の本明細書中に開示のかかる修飾された結合（塩基対合部分Piがタンパク質産生を阻害するのに有効な位置で核酸の一部にハイブリッド形成するのに有効な配列を形成する場合）を含むアンチセンスオリゴマーに曝露する。オリゴマーは、例えば、下記のmRNAのATG開始コドン領域、プレmRNAのスプライス部位、またはウイルス標的配列をターゲティングすることができる。別の実施形態では、本方法は、かかるタンパク質をコードする核酸を少なくとも1つの末端修飾（例えば、少なくとも1つの R^2 部分）を含むアンチセンスオリゴマーに曝露する工程を含む。

【0224】

別の実施形態では、開示は、サブユニット間結合（塩基対合部分を支持）によって連結されたモルホリノサブユニット配列を有するオリゴマーのアンチセンス活性を増強する方法であって、本明細書中に記載のオリゴマーを、少なくとも1つの修飾された末端基、少なくとも1つのタイプ（B）のサブユニット間結合、またはその組み合わせを含むように修飾する工程を含む、方法を提供する。

【0225】

いくつかの実施形態では、アンチセンス活性の増強を、以下によって証明することができる：

(i) アンチセンスオリゴマーのその標的配列への結合がコードされたタンパク質の翻訳開始コドンの遮断に有効である場合、対応する未修飾オリゴマーによって提供される発現と比較したコードされたタンパク質の発現の減少、または

(ii) アンチセンスオリゴマーのその標的配列への結合が正確にスプライシングされた場合にタンパク質をコードするプレmRNA中の異常なスプライス部位を遮断するのに有効である場合、対応する未修飾オリゴマーによって提供される発現と比較したコードされたタンパク質発現の増加。これらの効果の測定に適切なアッセイを、以下にさらに記載する。1つの実施形態では、修飾により、本明細書中に記載の無細胞翻訳アッセイ、細胞培養におけるスプライス補正翻訳アッセイ、または機能動物モデル系のスプライス補正の獲得でこの活性が得られる。1つの実施形態では、活性を、少なくとも2、少なくとも5、または少なくとも10の因子によって増強する。

【0226】

本発明のオリゴマーの種々の例示的適用（抗ウイルス適用、神経筋疾患、細菌感染、炎症、および多発性嚢胞腎の処置が含まれる）を以下に記載する。この記載は、本発明を制限することを決して意味しないが、本明細書中に記載の修飾されたサブユニット間結合を含むオリゴマーを使用して取り組むことができるヒトおよび動物の病状の範囲を例示するのに役立つ。

【0227】

G. 無細胞アッセイでのインビトロでの活性

部分修飾された結合を有するオリゴマー（ $\text{PMO}^{\text{a p n}}$ （b10）および $\text{PMO}^{\text{s u c}}$ （b45）など）は、対応する中性化合物よりも高いDNAおよびRNAに対する親和性を有する。これは、インビトロおよびインビボでの増強されたアンチセンス活性によって証明される。本発明のオリゴマーは、種々の異なる標的に指向した場合に完全に修飾されたオリゴマーと比較して優れたアンチセンス活性を提供することが示された。第1の一連の実験では、MDXマウスジストロフィン遺伝子のエキソン23をターゲティングする種々の未修飾、修飾、およびペプチド抱合 PPMO を、材料と方法および実施例27に記載のように調製した。配列を、実施例27中に、各位置に配列番号2～5について「+」を使用して示した前述の（1-ピペラジノ）ホスフィニリデンオキシ結合（図1Bに示す）；配列番号5について「^a」を使用して示した4-アミノピペリジニル結合（構造（b10）；図2）または「^s」を使用して示した4-スクシンアミドピペラジニル結合（構造（b45）；図2）と共に示す。実施例27に記載のように、本発明の例示的結合を含む PMO オリゴマー（例えば、 $\text{PMO}^{\text{a p n}}$ ）は、前述の $\text{PMO}+$ 化合物と比較してより活性が高かった。

【0228】

1. ssRNAウイルスのステムループ二次構造のターゲティング

例示的なアンチセンス抗ウイルス化合物の1つのクラスは、本明細書中に記載のモルホリノオリゴマー（例えば、少なくとも1つのタイプ（B）の結合および／または少なくとも1つの末端修飾（例えば、少なくとも1つの R^{20} ）またはその組み合わせを含み、12～40サブユニットの配列およびターゲティングされたウイルスのポジティブセンスRNA鎖の5'末端の40塩基内のステムループ二次構造に関連する領域に相補的なターゲティング配列を有するオリゴマー）である（例えば、PCT公開番号WO／2006／033933号または米国特許出願公開第20060269911号および同第20050096291号（本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。

【0229】

本方法は、ウイルス標的配列（その配列が内部ステムループ二次構造を形成することができる感染ウイルスのポジティブ鎖の5'末端の40塩基内の領域）と最初に同定する工程を含む。次いで、段階的固相合成によって、少なくとも1つのタイプ（B）の結合および／または少なくとも1つの末端修飾（例えば、少なくとも1つの R^{20} ）またはその組み合わせを含み、他の実施形態では、20%～50%のかかる修飾結合を含み、オリゴマーがウイルス標的配列と共に形成することができる内部二重鎖構造（ウイルスのポジティブセンス鎖およびオリゴヌクレオチド化合物から構成され、少なくとも45℃の解離 T_m およびかかるステムループ構造の破壊によって特徴づけられるヘテロ二重鎖構造）を形成することができるウイルスゲノム領域に相補的な少なくとも12個のサブユニットのターゲティング配列を有するオリゴマーを構築する。

【0230】

標的配列を、入力RNA配列の最小自由エネルギー状態の検索に基づいて二次構造予想が可能なコンピュータプログラムによる5'末端配列（例えば、5'末端の40塩基）の分析によって同定することができる。

【0231】

関連する態様では、オリゴマーを、哺乳動物宿主細胞中で、一本鎖のポジティブセンスゲノムを有し、且つフラビウイルス科、ピコルナウイルス科（*Picornoviridae*）、カリシウイルス科、トガウイルス科、アルテリウイルス科、コロナウイルス科、

アストロウイルス科、またはヘペウイルス科のうちの1つから選択される感染RNAウイルスの複製を阻害する方法で使用するができる。本方法は、感染した宿主細胞に、ウイルス阻害量の明細書中に記載のオリゴマー（内部ステムループ二次構造を形成することができるポジティブ鎖ウイルスゲノムの5'末端の40塩基内の領域に相補的な少なくとも12サブユニットのターゲティング配列を有する）を投与する工程を含む。化合物は、宿主細胞に投与した場合、(i)ウイルスのポジティブセンス鎖およびオリゴヌクレオチド化合物から構成され、(ii)少なくとも45℃の解離 T_m およびかかるステムループ構造の破壊によって特徴づけられるヘテロ二重鎖構造を形成するのに有効である。化合物を、ウイルスに感染したかウイルス感染リスクのある哺乳動物被験体に投与することができる。

10

【0232】

デングウイルスおよび日本脳炎ウイルスの末端ステムループ構造をターゲティングする例示的なターゲティング配列を、それぞれ配列番号1および2として以下に列挙する。

【0233】

ssRNAウイルスの末端ステムループ構造をターゲティングするさらなる例示的なターゲティング配列を、米国特許出願第11/801,885号およびPCT公開WO/2008/036127号（明細書中で参考として援用される）に見出すこともできる。

【0234】

2. ssRNAウイルスの第1の読み取り枠のターゲティング

12kb未満の一本鎖のポジティブセンスゲノムおよび複数の機能性タンパク質を含むポリタンパク質をコードする第1の読み取り枠を有するピコルナウイルス、カリシウイルス、トガウイルス、コロナウイルス、およびフラビウイルス科のウイルスの成長阻害で用いる例示的なアンチセンス抗ウイルス化合物の第2のクラス。特定の実施形態では、ウイルスは、コロナウイルス科由来のRNAウイルスまたはフラビウイルス科由来のウエストナイルウイルス、黄熱病ウイルス、もしくはデングウイルスである。阻害化合物は、明細書中に記載のアンチセンスオリゴマー（例えば、少なくとも1つのタイプ(B)の結合および/または少なくとも1つの末端修飾（例えば、少なくとも1つの R^{20} ）またはその組み合わせを含み、ウイルスゲノムの第1の読み取り枠のAUG開始部位にわたるウイルス標的配列に実質的に相補的なターゲティング塩基配列を有するオリゴマー）を含む。方法の1つの実施形態では、オリゴマーを、ウイルス感染した哺乳動物被験体に投与する。例えば、PCT公開番号WO/2005/007805号および米国特許出願公開第2003224353号（明細書中で参考として援用される）を参照のこと。

20

30

【0235】

好ましい標的配列は、ウイルスゲノムの第1の読み取り枠(ORF1)のAUG開始部位にわたる領域である。第1のORFは、一般に、非構造タンパク質（ポリメラーゼ、ヘリカーゼ、およびプロテアーゼなど）を含むポリタンパク質をコードする。「AUG開始部位にわたる」は、標的配列がAUG開始部位の片側の少なくとも3つの塩基および反対側の少なくとも2つの塩基（全部で少なくとも8塩基）を含むことを意味する。好ましくは、標的配列は、開始部位の各側に少なくとも4つの塩基（全部で少なくとも11塩基）を含む。

40

【0236】

より一般的には、好ましい標的部位には、種々のウイルス分離株の間で保存されている標的が含まれる。他の好ましい部位には、IRES（配列内リボゾーム進入部位）、トランス活性化タンパク質結合部位、および複製開始部位が含まれる。複数の重複性の遺伝子を提供することができる複雑且つ巨大なウイルスゲノムを、ウイルス侵入およびウイルスの存在に対する宿主の応答をコードする宿主細胞遺伝子のターゲティングによって効率的にターゲティングすることができる。

【0237】

種々のウイルスゲノム配列が、周知の供給元（NCBI Genbankデータベースなど）から入手可能である。ORF1のAUG開始部位を、信頼される遺伝子データベ

50

ースまたはリファレンス中で同定することもできるか、予想される O R F 1 開始部位領域中の A U G コドン配列のスキニングによって見出すことができる。

【0238】

4つの各ウイルス科の一般的なゲノム構成を以下に示し、その後、各科内の選択されたメンバー（属、種、または菌株）について得た例示的な標的配列を示す。

【0239】

3. インフルエンザウイルスのターゲティング

第3のクラスの例示的なアンチセンス抗ウイルス化合物を、オルトミクソウイルス科ウイルスの成長阻害およびウイルス感染の処置で使用する。1つの実施形態では、宿主細胞を、本明細書中に記載のオリゴマー（例えば、少なくとも1つのタイプ（B）の結合および／または少なくとも1つの末端修飾（例えば、少なくとも1つのR²⁰）、またはその組み合わせを含むか、他の実施形態では、20%～50%のかかる修飾された結合を含み、以下：1）ネガティブセンスウイルスRNAセグメントの5'または3'末端の25塩基、2）ポジティブセンスcRNAの5'または3'末端の25塩基、3）インフルエンザウイルスmRNAのAUG開始コドン周囲の45塩基、および4）オルタナティブスプライシングを受けるインフルエンザmRNAのスプライス供与部位またはスプライス受容部位周囲の50塩基から選択される標的領域とハイブリッド形成するのに有効な塩基配列を含むオリゴマー）と接触させる（例えば、PCT公開番号WO／2006／047683号；米国特許出願公開第20070004661号；およびPCT出願番号2010／056613号および米国特許出願第12／945,081号（本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。

【0240】

本発明を支持し、本発明の修飾された結合を有するPMOを使用してインフルエンザAウイルス（H1N1株PR8）のM1／M2セグメントをターゲティングするようにデザインした例を、以下の表4に列举し、実施例29に記載の配列番号3に基づいてオリゴマーを使用して行った。

【0241】

10

20

【表 4 - 1】

表 4. 修飾されたサブユニット間結合または末端基を組み込むインフルエンザターゲット配列

NG-10-0038	PMOhex	CGG T ^h TA GAA GAC ^h TCA TC ^h T TT
NG-10-0039	PMOhex	CGG T ^h TA GAA GAC ^h TCA ^h TC ^h T ^h TT
NG-10-0096	PMOapn	CGG T ^a TA GAA GAC ^a TCA TC ^a T TT
NG-10-0097	PMOapn	CGG ^a T ^a TA GAA GAC ^a TCA ^a TC ^a T TT
NG-10-0099	PMOpyr	CGG ^p T ^p TA GAA GAC ^p TCA ^p TC ^p T TT
NG-10-0107	PMOチオール	CGG T ^{SH} TA GAA GAC ^{SH} TCA TC ^{SH} T TT
NG-10-0108	PMOsucc	CGG T ^s TA GAA GAC ^s TCA TC ^s T TT
NG-10-0111	PMOguan	CGG T ^g TA GAA GAC ^g TCA TC ^g T TT
NG-10-0141	PMOpyr	CGG T ^p TA GAA GAC ^p TCA TC ^p T TT
NG-10-0142	PMOpyr	CGG T ^p TA GAA GAC ^p TCA ^p TC ^p T TT
NG-10-0158	PMOglutaric	CGG T ^{glu} TA GAA GAC ^{glu} TCA TC ^{glu} T TT
NG-10-0159	PMOシクロ-glut	CGG T ^{cpglu} TA GAA GAC ^{cpglu} TCA TC ^{cpglu} T TT
NG-10-	PMOコール酸	CGG T ^{ca} TA GAA GAC ^{ca} TCA TC ^{ca} T TT

10

20

30

【 0 2 4 2 】

【表 4 - 2】

0160		
NG-10-0161	PMOデオキシCA	CGG T ^{dca} TA GAA GAC ^{dca} TCA TC ^{dca} T TT
NG-10-0180	PMOapn	TT ^a T CGA CA ^a T CGG T ^a TA GAA GAC ^a TCA T
NG-10-0174	PMOm	CGG T ^m TA GAA GAC ^m TCA TC ^m T TT
NG-10-0222	PMO MeT	CGG T ^{Me} TA GAA GAC +TCA TC+T TT
NG-10-0223	PMO FarnT	CGG T ^{Farn} TA GAA GAC +TCA TC+T TT
NG-10-0538	PMOapn-トリチル	CGG T ^a TA GAA GAC ^a TCA TC ^a T TT
NG-10-0539	PMOapn-トリチル	CGG T ^p TA GAA GAC ^p TCA TC ^p T TT
NG-10-0015	PMO	CGG TTA GAA GAC TCA TCT TT
NG-11-0170	PMOプラス	CGG +TTA GAA GAC +TCA TC+T TT
NG-11-0145	PMOプラス-ベンズヒドリル	CGG T+TA GAA GAC +TCA TC+T TT**
NG-11-0148	PMOイソプロピルPip	CGG TiprpiptTA GAA GAC iprpiptTCA TCiprpiptT TT
NG-11-0173	PMOpyr	CGG pTTA GAA GAC pTCA TCpT TT
NG-11-0291	トリメチル Gly	CGG T*+TA GAA GAC *+TCA TC*+T TT

** 3'-ベンズヒドリル; *+結合は、PMOプラス結合でアシル化されトリメチルグリシンである。
PMOmは、3-窒素位にメチル基を有するT塩基を示す。

【0243】

化合物は、哺乳動物におけるインフルエンザウイルス感染の処置で特に有用である。オリゴマーを、インフルエンザウイルスに感染したかインフルエンザウイルス感染リスクのある哺乳動物被験体に投与することができる。

【0244】

4. ピコルナウイルス科ウイルスのターゲティング

第4のクラスの例示的なアンチセンス抗ウイルス化合物を、ピコルナウイルス科のウイルス成長の阻害およびウイルス感染の処置で使用する。化合物は、哺乳動物におけるエンテロウイルス感染および／またはライノウイルス感染の処置で特に有用である。この実施形態では、アンチセンス抗ウイルス化合物は、モルホリノオリゴマー（例えば、少なくとも1つのタイプ（B）の結合および／または少なくとも1つの末端修飾（例えば、少なくとも1つのR²⁰）またはその組み合わせを含み、ウイルス5'非翻訳領域の2つの32保存ヌクレオチド領域のうちの1つの内にウイルスRNA配列に関連する領域に相補的なターゲティング配列を有する12～40サブユニット（少なくとも12サブユニットが含

10

20

30

40

50

まれる)の配列を有するモルホリノオリゴマー)を含む(例えば、PCT公開番号WO/2007/030576号およびWO/2007/030691または同時係属および共有米国特許出願第11/518,058号および同第11/517,757号(本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。例示的なターゲティング配列を、以下に配列番号6として列挙する。

【0245】

5. フラビウイルス科ウイルスのターゲティング

第5のクラスの例示的なアンチセンス抗ウイルス化合物を、動物細胞におけるフラビウイルスの複製阻害で使用する。このクラスの例示的なアンチセンスオリゴマーは、少なくとも1つのタイプ(B)の結合および/または少なくとも1つの末端修飾(例えば、少なくとも1つのR²⁰)またはその組み合わせ(8~40ヌクレオチド塩基長)を含み、ポジティブ鎖フラビウイルスRNAの5'-環化配列(5'-CS)または3'-CS配列の少なくとも一部を含むウイルスのポジティブ鎖RNAゲノム領域に相補的な少なくとも8塩基の配列を有するモルホリノオリゴマーである。非常に好ましい標的は3'-CSであり、デングウイルスの例示的なターゲティング配列を、以下に配列番号7として列挙する(例えば、PCT公開番号(WO/2005/030800)または同時係属の共有米国特許出願第10/913,996号(本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。

【0246】

6. ニドウイルス科ウイルスのターゲティング

第6のクラスの例示的なアンチセンス抗ウイルス化合物を、ウイルス感染した動物細胞におけるニドウイルスの複製阻害で使用する。このクラスの例示的なアンチセンスオリゴマーは、本開示に記載の少なくとも1つのタイプ(B)の結合および/または少なくとも1つの末端修飾(例えば、少なくとも1つのR²⁰)またはその組み合わせを含み、8~25ヌクレオチド塩基を含み、ポジティブ鎖ウイルスゲノムの5'-リーダー領域中の転写調節配列(TRS)とネガティブ鎖3'-サブゲノム領域との間の塩基対合を破壊することができる配列を有するモルホリノオリゴマーである(例えば、PCT公開番号WO/2005/065268号または米国特許出願公開第20070037763号(本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。

【0247】

7. フィロウイルスのターゲティング

別の実施形態では、1つ以上の本明細書中に記載のオリゴマーを、本明細書中に記載のオリゴマー(例えば、少なくとも1つのタイプ(B)の結合および/または少なくとも1つの末端修飾(例えば、少なくとも1つのR²⁰)またはその組み合わせ、または他の実施形態では、20%~50%のかかる修飾された結合を含み、以下にさらに記載されたポジティブ鎖mRNAのAUG開始部位領域内の少なくとも12個の連続した塩基から構成される標的配列に相補的なターゲティング塩基配列を有するオリゴマー)との細胞の接触による宿主細胞内でのエボラウイルスまたはマールブルグウイルスの複製を阻害する方法で使用する事ができる。

【0248】

フィロウイルスのウイルスゲノムは、セグメント化されていないアンチセンス方向のおよそ19,000塩基の一本鎖RNAである。ゲノムは、vRNAに相補的なモノシストロニックmRNA由来の7つのタンパク質をコードする。

【0249】

標的配列は、選択されたエボラウイルスタンパク質のAUG開始コドンのすぐ下流(25塩基以内)または上流(100塩基以内)にわたるか存在するポジティブ鎖(センス)RNA配列またはマイナス鎖ウイルスRNAの3'末端の30塩基である。好ましいタンパク質標的は、ウイルスポリメラーゼサブユニットVP35およびVP24であるが、L、核タンパク質NPおよびVP30も意図される。これらの内で初期タンパク質が好ましい(例えば、VP35は、その後に発現されるLポリメラーゼよりも好ましい)。

【0250】

別の実施形態では、1つ以上の本明細書中に記載のオリゴマーを、少なくとも1つの修飾されたサブユニット間結合、または他の実施形態では、20%～50%のかかる修飾された結合を含み、フィロウイルスmRNA配列のポジティブ鎖mRNAのAUG開始部位領域内の少なくとも12個の連続した塩基から構成される標的配列に相補的なターゲティング塩基配列を有する本明細書中に記載のオリゴマーとの細胞の接触による宿主細胞内でのエボラウイルスまたはマールブルグウイルスの複製を阻害する方法で使うことができる（例えば、PCT公開番号WO/2006/050414号または米国特許第7,524,829号および同第7,507,196号、ならびに米国特許出願第12/402,455号；同第12/402,461号；同第12/402,464号；および同第12/853,180号を用いた継続出願（本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。

【0251】

8. アレナウイルスのターゲティング

別の実施形態では、本明細書中に記載のオリゴマーを、アレナウイルス科中の種による哺乳動物細胞におけるウイルス感染の阻害方法で使うことができる。1つの態様では、オリゴマーを、ウイルス感染した哺乳動物被験体の処置で使うことができる（例えば、PCT公開番号WO/2007/103529号または米国特許第7,582,615号（本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。

【0252】

表5は、旧世界または新世界アレナウイルス分類によって整理された本発明のオリゴマーによってターゲティングされる標的化ウイルスの例示的リストである。

【0253】

【表5】

表5.ターゲティングされたアレナウイルス

科	属	ウイルス
アレナウイルス科	アレナウイルス	旧世界アレナウイルス
		ラッサウイルス (LASV)
		リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV)
		モベアウイルス (MOPV)
		新世界アレナウイルス
		グアナリトウイルス (GTOV)
		フニンウイルス (JUNV)
		マチュボウイルス (MACV)
		ピチンデウイルス (Pichinide virus)(PICV)
		ピリタルウイルス (Pirital virus)(PIRV)
		サビアウイルス (SABV)
		タカリベウイルス (TCRV)
		ホワイトウォーターアロヨウイルス (WWAV)

【0254】

アレナウイルスゲノムは、S（小）およびL（大）と命名した2つの一本鎖RNAセグメントからなる。ビリオンでは、SセグメントRNAとLセグメントRNAとのモル比はおよそ2：1である。いくつかのアレナウイルスについての完全なSセグメントRNA配列が決定されており、3,366～3,535ヌクレオチドの範囲である。いくつかのアレナウイルスについての完全なLセグメントRNA配列も決定されており、7,102～7,279ヌクレオチドの範囲である。SおよびL RNAセグメントの3'末端配列は、最後の19ヌクレオチドのうちの17ヌクレオチドで同一である。これらの末端配列は、全ての公知のアレナウイルスで保存されている。各ゲノムRNAの始めの5'末端の19または20ヌクレオチドは、それぞれの対応する3'末端と不完全に相補的である。こ

の相補性のために、3'および5'末端は、塩基対合してパンハンドル構造を形成すると考えられる。

【0255】

アンチゲノムのウイルス相補RNA (v c RNA) 鎖を形成するための感染したビリオンまたはウイルスRNA (v RNA) の複製が感染細胞内で起こる。v RNAおよびv c RNAの両方は、相補mRNAをコードする。したがって、アレナウイルスは、ネガティブまたはポジティブセンスRNAウイルスよりもむしろアンビセンスRNAウイルスに分類される。ウイルス遺伝子のアンビセンス方向は、LセグメントおよびSセグメントの両方である。NPおよびポリメラーゼ遺伝子は、SおよびL v RNAセグメントの3'末端にそれぞれ存在し、従来のネガティブセンスでコードされる(すなわち、これらの遺伝子は、v RNAまたはゲノム相補mRNAの転写によって発現する)。SおよびL v RNAセグメント(それぞれ、GPCおよびZ)の5'末端に存在する遺伝子は、mRNAセンスでコードされるが、これらがゲノムv RNAから直接翻訳されるという証拠はない。これらの遺伝子は、代わりにアンチゲノム由来のゲノムセンスmRNA(すなわち、v c RNA)(複製中間体として機能するゲノムv RNAの全長相補コピー)の転写を介して発現される。

【0256】

ウイルスのアレナウイルス科の例示的なターゲティング配列を、配列番号8として以下に列挙する。

【0257】

9. 呼吸器合胞体ウイルスのターゲティング

呼吸器合胞体ウイルス(RSV)は、幼児における唯一の最も重要な呼吸器病原体である。RSVに原因する下気道病態(細気管支炎および肺炎など)は、しばしば、1歳未満の幼児において入院を必要とする。心肺疾患を有する小児および早産の小児は、特に、この感染由来の重篤な障害を経験する傾向がある。RSV感染はまた、高齢者およびリスクの高い成人における重要な疾患であり、高齢者におけるウイルス肺炎の2番目に一般に同定される原因である(Falsey, Hennessey et al., 2005)。世界保健機関は、RSVが全世界で年間6400万の臨床感染に関与し、160000人が死亡していると推定している。RSV感染防止に利用可能なワクチンは現在存在しない。RSVの生物学、疫学、病態生理学、および宿主免疫応答に関する我々の理解は過去数十年で多数の大きな進歩が得られているにもかかわらず、RSV感染を罹患した乳児および小児の最適な管理に関する大きな論争が続いている。リバビリンは、RSV感染処置のための唯一の認可された抗ウイルス薬であるが、その使用は高リスクまたは重症の乳児に限定される。リバビリンの有用性は、その費用、有効性のばらつき、および耐性ウイルス生成の傾向によって制限されている(Marquardt 1995; Prince 2001)。現在、さらなる有効な抗RSV薬が必要であることは十分に認識されている。

【0258】

ペプチド抱合PMO (PPMO) が組織培養およびインビボ動物モデル系の両方におけるRSV阻害で有効であり得ることが公知である(Lai, Stein et al., 2008)。RSV L mRNAの5'末端領域および翻訳開始部位領域を含む配列をターゲティングするようにデザインされた2つのアンチセンスPPMOを、2つのヒト気道細胞株の培養物中の抗RSV活性について試験した。そのうちの1つ(RSV-AUG-2; 配列番号10)は、ウイルス価を $2.0 \log_{10}$ 超減少させた。RSV接種前のRSV-AUG-2 PPMOでのBALB/cマウスの鼻腔内(i. n.) 処置により、感染5日後(p. i.) に肺組織内のウイルス価が $1.2 \log_{10}$ 減少し、感染7日後に肺炎が緩和された。これらのデータは、RSV-AUG-2によって強力な抗RSV活性が得られ、潜在的な治療への適用のための候補としてさらに調査する価値があることが示された(Lai, Stein et al., 2008)。上記のRSV-AUG-2 PPMOでの成功にもかかわらず、毒性への懸念および製品の費用を考慮しなければならないので、アンチセンス抗RSV治療にペプチド抱合を組み込むことを回避することが望まし

い。したがって、本発明の別の実施形態では、本明細書中に記載の1つ以上のオリゴマーを、本明細書中に記載のオリゴマー（例えば、少なくとも1つのタイプ（B）の結合および／または少なくとも1つの末端修飾（例えば、少なくとも1つのR²⁰）またはその組み合わせ、または他の実施形態では、10%～50%のかかる修飾結合を含み、以下にさらに記載されたRSV由来のanmRNAのAUG開始部位領域内の少なくとも12個の連続した塩基から構成される標的配列に相補的なターゲティング塩基配列を有するオリゴマー）との細胞の接触による宿主細胞内でのRSVの複製を阻害する方法で使用する事ができる。

【0259】

RSVのL遺伝子は、ウイルスRNA依存性RNAポリメラーゼ複合体の重要成分をコードする。RSV-AUG-2PPMOの形態のRSV L遺伝子mRNAのAUG翻訳開始部位コドンにわたる配列に対してデザインされたアンチセンスPPMOは、LmRNAの5'末端に存在する「遺伝子開始」配列（GS）からコード配列への13ntまでの配列に相補的である。したがって、好ましいL遺伝子ターゲティング配列は、以下に表3中に配列番号9として示すように、3'方向の40塩基または22塩基にわたるL遺伝子mRNAの5'末端からL遺伝子コード配列への任意の12個の連続した塩基と相補的である。例示的なRSV L遺伝子ターゲティング配列を、以下の表3中に配列番号10～14として列挙する。本明細書中に記載の本発明の任意のサブユニット間修飾を、オリゴマー中に組み込んで、アンチセンス活性の増加、細胞内送達の改善、および／または治療活性の改善のための組織特異性を得ることができる。本発明のサブユニット間結合を含む例示的なオリゴマーを、以下の表6に列挙する。

【0260】

【表6】

表6. RSV標的およびターゲティング配列

名称	配列 (5' → 3')	配列番号
L 標的	GGGACAAAATGGATCCCATTATTAATGGAAATTCTGCTAA	9
RSV-AUG-2	TAATGGGATCCATTTTGTCCC	10
RSV-AUG3	AATAATGGGATCCATTTTGTCCC	11
RSV-AUG4	CATTAATAATGGGATCCATTTTGTCCC	12
RSV-AUG5	GAATTTCCATTAATAATGGGATCCATTTTG	13
RSV-AUG6	CAGAATTTCCATTAATAATGGGATCCATT	14
RSV-AUG3 ^{apn} *	AATAA ^{apn} TGGGA ^{apn} TCCA ^{apn} TT ^{apn} TTG ^{apn} TCCC	11
RSV-AUG3 ^{guan}	AATAA ^{guan} TGGGA ^{guan} TCCA ^{guan} TT ^{guan} TTG ^{guan} TCCC	11

【0261】

10. 神経筋疾患

別の実施形態では、哺乳動物被験体における神経筋疾患に関連する病状の処置で用いる治療オリゴマーを提供する。筋肉組織への輸送の増強が示された例示的なサブユニット間オリゴマー修飾には、構造b6、b10、b51、およびb54のサブユニット間結合を有する修飾が含まれる。M23Dアンチセンスオリゴマー（配列番号16）にかかる結合を組み込んでいるアンチセンスオリゴマーを、実施例に記載のデュシーヌ筋ジストロフィ（DMD）のためのMDXマウスモデルにおける活性について試験する。いくつかの実施

形態で使用される結合を組み込んでいる例示的なオリゴマーを、以下の表7に列挙する。いくつかの実施形態では、治療化合物を、以下からなる群から選択することができる：

(a) 前に記載のように、筋消耗容態を処置するための配列番号18によって同定されるヒトミオスタチンmRNAの標的領域中の少なくとも12個の連続する塩基に相補的な塩基配列を有するヒトミオスタチンに対してターゲティングされるアンチセンスオリゴマー（例えば、米国特許出願第12/493,140号（本明細書中で参考として援用される）およびPCT公開WO2006/086667号を参照のこと）。例示的なマウスターゲティング配列を、配列番号19～20として列挙する。

(b) 前に記載のように、DMD処置のためにジストロフィンタンパク質の部分的活性を回復させるためのDMDタンパク質（ジストロフィン）中でエキソンスキッピングを生じることができるアンチセンスオリゴマー（配列番号22～35から選択される配列を有するPMOなど）（例えば、PCT公開番号WO/2010/048586号およびWO/2006/000057号または米国特許出願公開第US09/061960号（その全てが本明細書中で参考として援用される））。

【0262】

いくつかの他の神経筋疾患を、本発明の修飾された結合および末端基を使用して処置することができる。棘筋萎縮（SMA）および筋緊張性ジストロフィ（DM）の処置のための例示的な化合物を以下で考察している。

【0263】

SMAは、脊髄内のアルファ運動ニューロンの慢性的喪失に原因する常染色体劣性疾患であり、小児および成人の両方に影響を及ぼし得る。生存運動ニューロン（SMN）発現の減少は、疾患に関与する（Hua, Sahashi et al. 2010）。SMAを生じる変異はSMN1遺伝子中に存在するが、パラログス遺伝子（SMN2）により、エキソン7を欠くオルタナティブスプライス形態（delta7 SMN2）から発現した場合にSMN1の喪失を代償することによって生存可能である。イントロン（intron）6、エキソン7、およびイントロン7にターゲティングされるアンチセンス化合物は全て、エキソン7含有を種々の程度に誘導することが示されている。イントロン7にターゲティングされるアンチセンス化合物が好ましい（例えば、PCT公開番号WO/2010/148249号、WO/2010/120820号、WO/2007/002390号、および米国特許第7838657号を参照のこと）。SMN2プレmRNAをターゲティングし、エキソン7含有の改善を誘導する例示的なアンチセンス配列を、以下に配列番号36～38として列挙する。本明細書中に記載の修飾された結合および末端基を使用したこれらのオリゴマー配列の選択された修飾によって当該分野で公知の性質と比較して改善された性質が得られることが意図される。さらに、SMN2遺伝子のイントロン7にターゲティングされ、且つ本発明の特徴を組み込んでいる任意のオリゴマーが、エキソン7含有を誘導し、SMA患者に治療的利点をもたらす可能性があることが意図される。筋緊張性ジストロフィ1型（DM1）および2型（DM2）は、主に、神経筋変性を引き起こす有毒RNAの発現に原因する遺伝性障害である。DM1およびDM2は、それぞれ、転写物である筋強直性ジストロフィプロテインキナーゼ（DMPK）および亜鉛フィンガータンパク質9（ZNF9）の3'-UTR中の長いポリCUGおよびポリCCUG反復ならびにイントロン1領域に関連する（例えば、WO2008/036406号を参照のこと）。正常な個体が30個ほどのCTG反復を有するのに対して、DM1患者は50～数千個の範囲のより多数の反復を保有する。疾患の重症度および発症年齢が反復数に相関する。成人発症患者は、より軽度の症状を示し、100個未満の反復を有し、若年発症DM1患者は、500個ほどの反復を保有し、先天性の症例では、通常、約1000個のCTG反復を有する。CUG反復を含む拡大した転写物は、二次構造を形成し、核焦点の形態で核内に蓄積し、RNA結合タンパク質（RNA-BP）を分離する。いくつかのRNA-BPが疾患に関与している（マッスルブラインド様（MBNL）タンパク質およびCUG結合タンパク質（CUGBP）が含まれる）。MBNLタンパク質は、光受容体および筋肉分化に必要なショウジョウバエマッスルブラインド（Mb1）タンパク質に類似す

10

20

30

40

50

る。MBNLおよびCUGBPは、DM1に影響を及ぼす転写物（心筋トロポニンT（cTNT）、インスリン受容体（IR）、筋肉特異的塩素チャンネル（ClC-1）など）の拮抗性スプライシング調節因子として同定されている。

【0264】

DMPK遺伝子の拡大した反復にターゲティングされるアンチセンスオリゴヌクレオチド遺伝子は、DM1の動物モデルにおいてRNA-BP分離を置換し、筋強直症の症状を逆転させることができることが当該分野で公知である（WO2008/036406号）。本発明の特徴を組み込んでいるオリゴマーによってDM1およびDM2患者の活性および治療可能性が改善されることが意図される。上記のポリCUG反復およびポリCCUG反復にターゲティングされる例示的な配列を、以下に配列番号39～55として列挙し、

10

【0265】

神経性筋障害処置のための本発明のさらなる実施形態が予想され、他のDNA反復不安定性遺伝性障害を処置するためにデザインされたオリゴマーが含まれる。これらの疾患には、WO2008/018795号に記載のハンチントン病、脊髄小脳性運動失調症、X連鎖球脊髄性筋萎縮症、および脊髄小脳性運動失調10型（SCA10）が含まれる。

【0266】

MDXマウス（DMDのマウスモデル）を使用した本発明に従って行った実験を、実施例27に記載する。

20

【0267】

【表7-1】

表7. 修飾されたサブユニット間結合および／または3'および／または5'末端基を組み込んでいるM23D配列(配列番号15)

<u>NG</u>	<u>PMO-X</u> <u>修飾</u>	<u>5'</u>	<u>配列</u>	<u>3'</u>
NG-10-0383	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	トリフェニルアセチル
NG-10-0325	トリフェニル phos	OH	GGC CAA ACC FCG GCF TAC CFG AAA T	トリフェニル phos
NG-10-0272	PMO- ファルネシル	OH	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	ファルネシル
NG-10-0102	PMO	OH	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	トリチル

30

40

【0268】

【表 7 - 2】

NG	<u>PMO-X</u> <u>修飾</u>	<u>5'</u>	<u>配列</u>	<u>3'</u>
NG-10-0330	トリメトキシベンゾイル	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	トリメトキシベンゾイル
NG-10-0056	PMO プラス 5'- <i>pol</i>	EG3	GGC C [*] A [*] A [*] [*] ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	H
NG-07-0064	PMO-3'-トリチル	H-Pip	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	トリチル
NG-10-0382	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	トリフェニルプロピオニル
NG-10-0278	PMOpyr	EG3	GGC CAA ACC pTCG GCpT pTAC CpTG AAA pT	H
NG-10-0210	PMOapn	EG3	GGC C [*] A [*] A [*] [*] ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	H
NG-10-0098	PMOpyr	EG3	GGC CAA ACC ^p TCG GC ^p T TAC C ^p TG AAA T	H
NG-10-0070	PMOapn	EG3	GGC CAA ACC [*] TCG GC [*] T TAC C [*] TG AAA [*] T	H
NG-10-0095	PMOapn	EG3	GGC CAA ACC [*] TCG GC [*] T [*] TAC C [*] T G AAA [*] T	H
NG-10-0317	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	ファルネシル
NG-	PMO triMe Gly	EG3	GGC CAA ACC FCG GCF TAC CFG AAA F	トリメチルグリシン

10

20

30

40

【表 7 - 3】

<u>NG</u>	<u>PMO-X</u> <u>修飾</u>	<u>5'</u>	<u>配列</u>	<u>3'</u>
10-0477				
NG-10-0133	PMOapn	OH	GGC C ^a AA ^a ACC ^a TCG GC ^a T ^a TAC C ^a TG AAA ^a T	H
NG-10-0387	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	2-OH, diphenylacet
NG-10-0104	PMOguan	EG3	GGC CAA ACC ^g TCG GC ^g T TAC C ^g T G AAA T	Δ^g
NG-10-0420	PMO プラスメチル	EG3	GGC CAA ACC ^m TCG GC ^m T TAC C ^m TG AAA ^m T	トリチル
NG-10-0065	PMOtri	EG3	GGC CAA ACC ^t TCG GC ^t T TAC C ^t T G AAA T	H
NG-10-0607	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	9-フルオレン -カルボキシル
NG-10-0060	PMOcp	EG3	GGC CAA ACC ^{cp} TCG GC ^{cp} T TAC C ^{cp} T G AAA T	H
NG-10-0162	PMO-COCH ₂ SH	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	COCH ₂ SH
NG-10-0328	ジフェニルアセチル	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	ジフェニルアセチル
NG-10-	PMOapnPMOtri	OH	GGC C ^a AA ^a ACC ^t TCG GC ^t T ^t TAC C ^t TG AAA ^t T	H

【表 7 - 4】

<u>NG</u>	<u>PMO-X</u> <u>修飾</u>	<u>5'</u>	<u>配列</u>	<u>3'</u>
0134				
NG- 10- 0386	PMO	DPA	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	5'-diphenylac,3'- trity
NG- 07- 0064	PMO-3'-トリチル	H- Pip	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	トリチル
NG- 10- 0059	PMOcp	EG3	GGC CAA ACC ^{CP} TCG GC ^{CT} T ^{CP} TAC C ^{CT} T G AAA ^{CP} T	H
NG- 10- 0135	PMOtri	OH	GGC CAA ACC ^t TCG GC ^t T ^t TAC C ^t TG AAA ^t T	H
NG- 10- 0168	PMOapn PMOcys	OH	GGC CAA ACC ^a TCG GC ^a T ^a TAC C ^a TG AAA ^{SH^a} T	H
NG- 10- 0113	PMOapnPMOtri	OH	GGC CAA ACC ^a TCG GC ^a T ^t TAC C ^a TG AAA ^a T	H
NG- 10- 0385	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	ジフェニルホスホリル
NG- 10- 0279	PMO	OH	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	ゲラニル
NG- 10- 0055	PMO プラス <i>disp</i>	EG3	GGC C ^a AA ^a ACC ^a TCG GC ^a T TAC C ^a TG AAA T	H
NG- 10- 0105	PMOsucc	EG3	GGC CAA ACC ^a TCG GC ^a T TAC C ^a T G AAA T	Δ ^s

10

20

30

40

【表 7 - 5】

NG	PMO-X 修飾	5'	配列	3'
NG-10-0805	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC ^{Stp} TCG GC ^{Stp} T TAC C ^{Stp} TG AAA ^{Stp} T	H
NG-10-0811	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC ^{pyrQMe} TCG GC ^{pyrQMe} T TAC C ^{pyrQMe} TG AAA ^{pyrQMe} T	H
NG-10-0057	PMOプラス3'-pol	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC C'TG 'A'A'A T	H
NG-10-0625	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	5- カルボキシフルオレセ イン
NG-10-0804	二量体	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	二量体化
NG-10-0066	PMOtri	EG3	GGC CAA ACC ^t TCG GC ^t T TAC C ^t T G AAA ^t T	H
NG-10-0280	PMO ジスルフィド	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	COCH ₂ CH ₂ SSPy
NG-10-0212	PMOapn	EG3	GGC CaAaA aACC aTCG GCaT aTaAC CaTG aAaAaA aT	H
NG-10-0156	3'-MeOトリチル	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	MeO-Tr
NG-10-0062	PMOhex	EG3	GGC CAA ACC ^h TCG GC ^h T TAC C ^h T G AAA ^h T	H
NG-10-0000	PMO-X	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	グアニジニル

【表 7 - 6】

NG	PMO-X 修飾	5'	配列	3'
11- 0043				
NG- 10- 0206	PMO プラス	EG3	GGC C+A+A +ACC +TCG GC+T +T+AC C+TG +A+A+A +T	H
NG- 10- 0383	PMO	EG3	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	トリフェニルアセチル
NG- 10- 0325	トリフェニル phos	OH	GGC CAA ACC FCG GCF TAC CFG AAA T	トリフェニル phos
NG- 10- 0272	PMO-ファルネシル	OH	GGC CAA ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	ファルネシル

*二量体化は、2つの単量体の3' 末端を連結する結合によってオリゴマーが二量体化されていることを示す。例えば、結合は、 $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{-S-CH}(\text{CONH}_2)\text{CH}_2\text{-CO-NHCH}_2\text{CH}_2\text{CO-}$ 、または任意の他の適切な結合であり得る。

【0 2 7 3】

1 1. 抗菌への適用

本発明は、別の実施形態では、哺乳動物宿主における細菌感染の処置で用いる抗菌アンチセンスオリゴマーを含む。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、少なくとも1つのタイプ（B）の結合および／または少なくとも1つの末端修飾（例えば、少なくとも1つの R^{20} ）またはその組み合わせ（10～20個の塩基を有する）ならびにアシルキャリアタンパク質（acpP）、ジャイレースAサブユニット（gyrA）、ftsZ、リボゾームタンパク質S10（rpsJ）、leuD、mgfC、pirG、pcaA、およびcmaI遺伝子の感染細菌mRNAの標的領域に相補的な少なくとも10個の連続した塩基のターゲティング配列を含み、標的領域は、細菌mRNAの翻訳開始コドンまたは翻訳開始コドンの上流（すなわち、5'）または下流（すなわち、3'）方向に20塩基内の配列を含み、オリゴマーがmRNAに結合してヘテロ二重鎖を形成し、それにより、細菌の複製を阻害する。

【0 2 7 4】

オリゴマーが、ペプチドのカルボキシル末端でオリゴヌクレオチドにカップリングしたアルギニンリッチキャリアタンパク質（好ましくは、ペプチド配列 $(\text{RXX})_n$ —または $(\text{RXR})_n$ （式中、Xは、アラニン、β-アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、グリシン、トレオニン、フェニルアラニン（phenylalanine）、トリプトファン、および6-アミノヘキサン酸からなる群から選択される非荷電アミノ酸であり、 $n=2\sim4$ ）によって示される）に抱合したオリゴマーの抱合体も含まれる。例示的な実施形態では、キャリアペプチドは、配列 $(\text{RFF})_n$ 、 $(\text{RFF})_n\text{R}$ 、または $(\text{RXR})_n$ （式中、 $n=2\sim4$ ）を有する。キャリアペプチドを、そのC末端で、1つまたは2つのアミノ酸リンカー（リンカー $\text{Ahx}\beta\text{Ala}$ （式中、Ahxは6-アミノヘキ

サン酸であり、 β Alaは β -アラニンである)などを介して、オリゴマーの1つの末端(例えば、3'末端または5'末端)に連結することができる。キャリアペプチドは、オリゴヌクレオチドの3'末端または5'末端に抱合した場合、8時間にわたるインビトロでの細菌成長の阻害によって測定したところ、オリゴヌクレオチドの抗菌活性を少なくとも10倍、好ましくは 10^2 または 10^3 倍増強する能力を有する。好ましい実施形態では、キャリアペプチドは、配列(RAhxR)_n-(式中、n=4)を有する。

【0275】

12. 核内ホルモン受容体の調整

別の実施形態では、本発明は、主に受容体をコードするプレmRNAのスプライシングの調節または変化によって核内ホルモン受容体スーパーファミリー(NHRSF)由来の核内ホルモン受容体(NHR)の発現を調整するための組成物および方法に関する。特定のNHRの例には、糖質コルチコイド受容体(GR)、プロゲステロン受容体(PR)、およびアンドロゲン受容体(AR)が含まれる。一定の実施形態では、本明細書中に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドおよび薬剤により、受容体のリガンド独立性形態または他の選択された形態の発現が増加し、その不活性形態の発現が減少する。

【0276】

本発明の実施形態は、オリゴマーおよびオリゴヌクレオチドアナログ(例えば、少なくとも1つのタイプ(B)の結合および/または少なくとも1つの末端修飾(例えば、少なくとも1つのR²⁰)またはその組み合わせを含み、NHRの選択されたエキソン配列またはイントロン配列(本明細書中に記載の他のNHRドメインのうちでNHRSFプレmRNAの「リガンド結合エキソン」および/または隣接イントロンが含まれる)に相補的であるオリゴマー)を含む。用語「リガンド結合エキソン」は、野生型mRNA中に存在するが、一次転写物(「プレmRNA」)から除去されてmRNAのリガンド独立性形態が作製されるエキソンをいう。一定の実施形態では、相補性は、スプライス部位にわたるプレmRNA中の配列に基づくことができ、エキソン-イントロンジャンクションにわたる配列に基づいた相補性が含まれるが、これに限定されない。他の実施形態では、相補性は、専ら、イントロンの配列に基づき得る。他の実施形態では、相補性は、専ら、エキソンの配列に基づき得る(例えば、米国特許出願第13/046,356号(本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。

【0277】

NHR調整因子は、NHR関連疾患(その転写がNHRによって刺激または抑制される遺伝子の発現産物に関連する疾患が含まれる)の処置で有用であり得る。例えば、AP-1および/またはNF- κ Bを阻害するNHRの調整因子は、炎症性および免疫性疾患および障害(特に、本明細書中に記載され、且つ当該分野で公知の骨関節炎、関節リウマチ、多発性硬化症、喘息、炎症性腸疾患、移植片拒絶、および移植片対宿主疾患など)の処置で有用であり得る。トランス活性化をアンタゴナイズする化合物は、糖質コルチコイドレベルの増加に関連する代謝性疾患(とりわけ、糖尿病、骨粗鬆症、および緑内障など)の処置で有用であり得る。また、トランス活性化をアゴナイズする化合物は、糖質コルチコイドの欠損に関連する代謝性疾患(アジソン病など)の処置で有用であり得る。

【0278】

本発明の実施形態は、細胞内の核NHRの活性または発現を調整する方法であって、リン含有サブユニット間結合(1つのサブユニットのモルホリノ窒素を隣接するサブユニットの5'環外炭素に連結する)によって連結されたモルホリノサブユニットから構成されるアンチセンスオリゴマーと細胞を接触させる工程を含み、オリゴヌクレオチドは10~40塩基および標的配列に相補的な少なくとも10個の連続する塩基のターゲティング配列を含み、標的配列はNHRのプレmRNA転写物であり、それにより、NHRの活性または発現を調整する、方法を含む。一定の実施形態では、オリゴマーは、プレmRNA転写物のスプライシングを変化させ、NHRのバリエーションの発現を増加させる。いくつかの実施形態では、オリゴマーは、プレmRNA転写物の1つ以上のエキソンの完全または部分的なエキソンスキッピングを誘導する。一定の実施形態では、1つ以上のエキソンは、

NHRのリガンド結合ドメインの少なくとも一部をコードし、バリエーションは、NHRのリガンド独立性形態である。一定の実施形態では、1つ以上のエキソンは、NHRのトランス活性化ドメインの少なくとも一部をコードし、バリエーションは、転写活性化活性が減少している。一定の実施形態では、1つ以上のエキソンは、NHRのDNA結合ドメインの少なくとも一部をコードする。一定の実施形態では、1つ以上のエキソンは、NHRのN末端活性化ドメインの少なくとも一部をコードする。一定の実施形態では、1つ以上のエキソンは、NHRのカルボキシ末端ドメインの少なくとも一部をコードする。特定の実施形態では、バリエーションは、NF-κB、AP-1、または両方に結合し、1つ以上のその炎症促進性標的遺伝子の転写を減少させる。

【0279】

10

一定の実施形態では、オリゴマーは、NHRのトランス活性化転写活性をアゴナイズする。他の実施形態では、オリゴマーは、NHRのトランス活性化転写活性をアンタゴナイズする。一定の実施形態では、オリゴマーは、NHRの転写抑制活性をアゴナイズする。他の実施形態では、オリゴマーは、NHRの転写抑制活性をアンタゴナイズする。特定の実施形態では、オリゴマーは、NHRのトランス活性化転写活性をアンタゴナイズし、NHRの転写抑制活性をアゴナイズする（例えば、米国特許出願第61/313,652号（本明細書中で参考として援用される）を参照のこと）。

【実施例】

【0280】

20

別途記載がない限り、全ての化学物質をSigma-Aldrich-Flukaから入手した。ベンゾイルアデノシン、ベンゾイルシチジン、およびフェニルアセチルグアノシンを、Carbosynth Limited、UKから入手した。

【0281】

本明細書中に記載のさらなる結合修飾を含むPMO、PMO+、PPMO、およびPMOの合成を、当該分野で公知であり、係属中の米国特許出願第12/271,036号および同第12/271,040号ならびにPCT公開番号WO/2009/064471号（その全体が本明細書中で参考として援用される）に記載の方法を使用して行った。

【0282】

3'トリチル修飾を有するPMOを、脱トリチル化工程を省略したこと以外は本質的にPCT公開番号WO/2009/064471号に記載のように合成する。

30

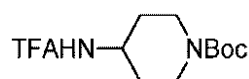
【0283】

実施例1

tert-ブチル4-(2,2,2-トリフルオロアセトアミド)ピペリジン-1-カルボキシレート

【0284】

【化37】



【0285】

40

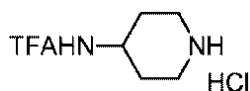
tert-ブチル4-アミノピペリジン-1-カルボキシレート（48.7g、0.243mol）およびDIPEA（130mL、0.749mol）を含むDCM（250mL）の懸濁液に、エチルトリフルオロアセタート（35.6mL、0.300mol）を攪拌しながら滴下した。20時間後、溶液をクエン酸溶液（200mL×3、10%w/v水溶液）および重炭酸ナトリウム溶液（200mL×3、濃縮水溶液）で洗浄し、乾燥させ（MgSO₄）、シリカ（24g）で濾過した。シリカをDCMで洗浄し、合わせた溶離液を部分的に濃縮し（100mL）、次の工程で直接使用した。C₁₂H₁₉F₃N₂O₃についてのAPCI/MS計算値296.1、実測値m/z = 294.9（M-1）。

【0286】

50

実施例 2

2, 2, 2-トリフルオロ-N-(ピペリジン-4-イル)アセトアミドヒドロクロリド
【0287】
【化38】



【0288】

実施例 1 の表題化合物の攪拌 DCM 溶液 (100 mL) に、塩化水素 (250 mL、1.0 mol) を含む 1, 4-ジオキサン (4 M) の溶液を滴下した。6 時間攪拌し続け、
次いで、懸濁液を濾過し、固体をジエチルエーテル (500 mL) で洗浄して、表題化合物 (54.2 g、収率 96%) を白色固体として得た。C₇H₁₁F₃N₂O についての APCI/MS 計算値 196.1、実測値 m/z = 196.9 (M+1)。

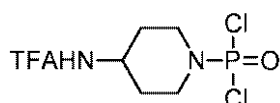
【0289】

実施例 3

(4-(2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド)ピペリジン-1-イル)ホスホン酸ジクロリド

【0290】

【化39】



【0291】

実施例 2 の表題化合物 (54.2 g、0.233 mol) を含む DCM (250 mL) の冷却 (氷水浴) 懸濁液に、オキシ塩化リン (23.9 mL、0.256 mol) および DIPEA (121.7 mL、0.699 mol) を滴下し、攪拌した。15 分後、浴を除去し、混合物を攪拌し続けて周囲温度に加温した。1 時間後、混合物を部分的に濃縮し (100 mL)、懸濁液を濾過し、固体をジエチルエーテルで洗浄して、表題化合物 (43.8 g、収率 60%) を白色固体として得た。溶離液を部分的に濃縮し (100 mL)、得られた懸濁液を濾過し、固体をジエチルエーテルで洗浄して、さらなる表題化合物 (6.5 g、収率 9%) を得た。1-(4-ニトロフェニル)ピペラジン誘導体 C₁₇H₂₂ClF₃N₅O₄P についての ESI/MS 計算値 483.1、実測値 m/z = 482.1 (M-1)。

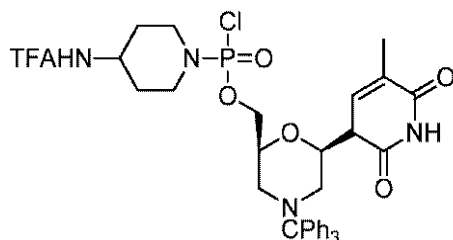
【0292】

実施例 4

((2S, 6S)-6-((R)-5-メチル-2, 6-ジオキサ-1, 2, 3, 6-テトラヒドロピリジン-3-イル)-4-トリチルモルホリン-2-イル)メチル(4-(2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド)ピペリジン-1-イル)ホスホクロリデート

【0293】

【化40】



【0294】

実施例 3 の表題化合物 (29.2 g、93.3 mmol) を含む DCM (100 mL) の攪拌冷却 (氷水浴) 溶液に、Mo(Tr)T# (22.6 g、46.7 mmol)、2

10

20

30

40

50

、6-フルチジン（21.7 mL、187 mmol）、および4-（ジメチルアミノ）ピリジン（1.14 g、9.33 mmol）のDCM溶液（100 mL）を10分間にわたって滴下した。浴を周囲温度に加温した。15時間後、溶液をクエン酸溶液（200 mL × 3、10% w/v水溶液）で洗浄し、乾燥させ（MgSO₄）、濃縮し、粗オイルをカラムに直接ロードした。クロマトグラフィ（SiO₂カラム（120 g）、ヘキサン/EtOAc溶離液（勾配1：1から0：1）、3回反復）画分を濃縮して表題化合物（27.2 g、収率77%）を白色固体として得た。1-（4-ニトロフェニル）ピペラジン誘導体C₄₆H₅₀F₃N₈O₈PについてのESI/MS計算値930.3、実測値m/z = 929.5（M-1）。

【0295】

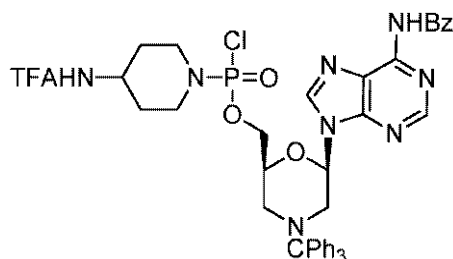
10

実施例5

（（2S, 6R）-6-（6-ベンズアミド-9H-プリン-9-イル）-4-トリチルモルホリン-2-イル）メチル（4-（2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド）ピペラジン-1-イル）ホスホクロリダート

【0296】

【化41】



20

【0297】

表題化合物を実施例4に記載の様式と類似の様式で合成して、表題化合物（15.4 g、収率66%）を白色固体として得た。1-（4-ニトロフェニル）ピペラジン誘導体C₅₃H₅₃F₃N₁₁O₇PについてのESI/MS計算値1043.4、実測値m/z = 1042.5（M-1）。

【0298】

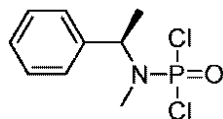
実施例6

30

（R）-メチル（1-フェニルエチル）ホスホルアミド酸ジクロリド

【0299】

【化42】



【0300】

オキシ塩化リン（2.83 mL、30.3 mmol）を含むDCM（30 mL）の冷却（氷水浴）溶液に、2, 6-フルチジン（7.06 mL、60.6 mmol）および（R）-（+）-N, α-ジメチルベンジルアミン（3.73 g、27.6 mmol）のDCM溶液を攪拌しながら順番に滴下した。5分後、浴を除去し、反応混合物を周囲温度に加温した。1時間後、反応溶液をクエン酸溶液（50 mL × 3、10% w/v水溶液）で洗浄し、乾燥させ（MgSO₄）、SiO₂で濾過し、濃縮して、表題化合物（3.80 g）を白色泡として得た。1-（4-ニトロフェニル）ピペラジン誘導体C₁₉H₂₅N₄O₄PについてのESI/MS計算値404.2、実測値m/z = 403.1（M-1）。

40

【0301】

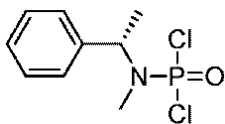
実施例7

（S）-メチル（1-フェニルエチル）ホスホルアミド酸ジクロリド

【0302】

50

【化 4 3】



【0303】

表題化合物を実施例 6 に記載の様式に類似の様式で合成して、表題化合物 (3.95 g) を白色泡として得た。1-(4-ニトロフェニル)ピペラジン誘導体 $C_{19}H_{25}N_4O_4P$ についての ESI/MS 計算値 404.2、実測値 $m/z = 403.1$ (M-1)。

10

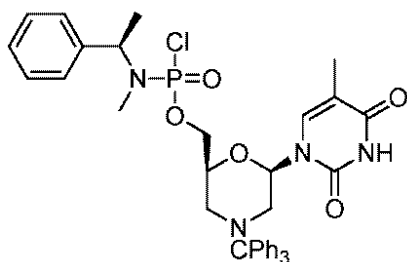
【0304】

実施例 8

((2S, 6R)-6-(5-メチル-2,4-ジオキソ-3,4-ジヒドロピリミジン-1(2H)-イル)-4-トリチルモルホリン-2-イル)メチルメチル((R)-1-フェニルエチル)ホスホロアミドクロリダート

【0305】

【化 4 4】



20

【0306】

表題化合物を実施例 4 に記載の様式に類似の様式で合成して、表題クロロホスホロアミダート (4.46 g、収率 28%) を白色固体として得た。 $C_{38}H_{40}ClN_4O_5P$ についての ESI/MS 計算値 698.2、実測値 $m/z = 697.3$ (M-1)。

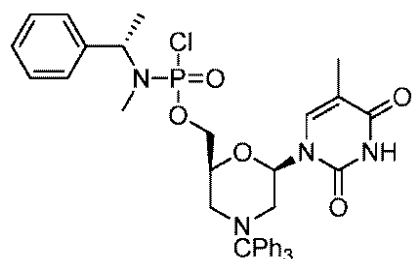
【0307】

実施例 9

((2S, 6R)-6-(5-メチル-2,4-ジオキソ-3,4-ジヒドロピリミジン-1(2H)-イル)-4-トリチルモルホリン-2-イル)メチルメチル((S)-1-フェニルエチル)ホスホロアミドクロリダート

【0308】

【化 4 5】



40

【0309】

表題化合物を実施例 4 に記載の様式に類似の様式で合成して、表題クロロホスホロアミダート (4.65 g、収率 23%) を白色固体として得た。 $C_{38}H_{40}ClN_4O_5P$ についての ESI/MS 計算値 698.2、実測値 $m/z = 697.3$ (M-1)。

【0310】

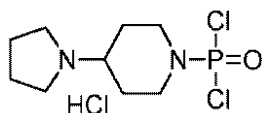
実施例 10

50

(4-(ピロリジン-1-イル)ピペリジン-1-イル)ホスホン酸ジクロリドヒドロクロリド

【0311】

【化46】



【0312】

オキシ塩化リン(5.70 mL、55.6 mmol)を含むDCM(30 mL)の冷却(氷水浴)溶液に、2,6-ルチジン(19.4 mL、167 mmol)および4-(1-ピロリジニル)-ピペリジン(8.58 g、55.6 mmol)のDCM溶液(30 mL)を添加し、1時間攪拌した。懸濁液を濾過し、固体を過剰量のジエチルエーテルで洗浄して、表題ピロリジン(17.7 g、収率91%)を白色固体として得た。1-(4-ニトロフェニル)ピペラジン誘導体 $C_{19}H_{30}N_5O_4P$ についてのESI/MS計算値423.2、実測値 $m/z = 422.2$ (M-1)。

10

【0313】

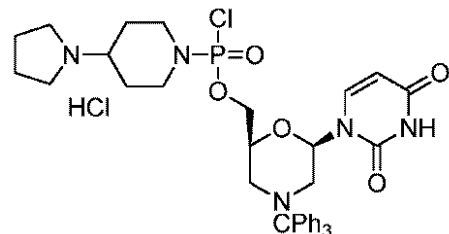
実施例11

((2S,6R)-6-(5-メチル-2,4-ジオキソ-3,4-ジヒドロピリミジン-1(2H)-イル)-4-トリチルモルホリン-2-イル)メチル(4-(ピロリジン-1-イル)ピペリジン-1-イル)ホスホノクロリダートヒドロクロリド

20

【0314】

【化47】



30

【0315】

ジクロロホスホルアミダート8(17.7 g、50.6 mmol)を含むDCM(100 mL)の攪拌冷却(氷水浴)溶液に、Mo(T_r)T#(24.5 g、50.6 mmol)、2,6-ルチジン(17.7 mL、152 mmol)、および1-メチルイミダゾール(0.401 mL、5.06 mmol)のDCM溶液(100 mL)を10分間にわたって滴下した。懸濁液を攪拌しながら、浴を周囲温度に加温した。6時間後、懸濁液をジエチルエーテル(1 L)に注ぎ、15分間攪拌し、濾過し、固体をさらなるエーテルで洗浄して、白色固体(45.4 g)を得た。粗生成物を、クロマトグラフィ[SiO₂カラム(120 gラム)、DCM/MeOH溶離液(勾配1:0から6:4)]によって精製し、合わせた画分をジエチルエーテル(2.5 L)に注ぎ、15分間攪拌し、濾過し、得られた固体をさらなるエーテルで洗浄して、表題化合物(23.1 g、収率60%)を白色固体として得た。1-(4-ニトロフェニル)ピペラジン誘導体 $C_{48}H_{57}N_8O_7P$ についてのESI/MS計算値888.4、実測値 $m/z = 887.6$ (M-1)。

40

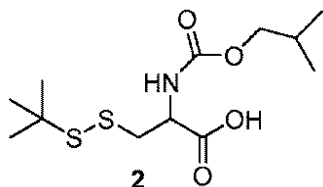
【0316】

実施例12

3-(tert-ブチルジスルファニル)-2-(イソブトキシカルボニルアミノ)プロパン酸

【0317】

【化 4 8】



【0 3 1 8】

S-tert-ブチルメルカプト-L-システイン (10 g、47.8 mmol) を含む CH_3CN (40 mL) に、 K_2CO_3 (16.5 g、119.5 mmol) を含む H_2O (20 mL) を添加した。15 分間の攪拌後、イソブチルクロロホルマート (9.4 mL、72 mmol) をゆっくり注入した。3 時間反応させた。白色固体をセライトで濾過し、濾液を濃縮して CH_3CN を除去した。残渣を酢酸エチル (200 mL) に溶解し、1 N HCl (40 mL $\times$ 3)、ブライン (40 $\times$ 1) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させた。クロマトグラフィ (5% MeOH/DCM) 後に所望の生成物 (2) を得た。

10

【0 3 1 9】

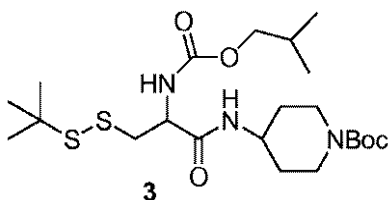
実施例 1 3

tert-ブチル 4- (3- (tert-ブチルジスルファニル) -2- (イソブトキシカルボニルアミノ) プロパンアミド) ピペリジン-1-カルボキシラート

【0 3 2 0】

20

【化 4 9】



【0 3 2 1】

酸 (実施例 1 2 由来の化合物 2、6.98 g、22.6 mmol) を含む DMF (50 mL) に、 HATU (8.58 g、22.6 mmol) を添加した。30 分後、ヒューニツヒ塩基 (4.71 mL、27.1 mmol) および 1-Boc-4-アミノピペリジン (5.43 g、27.1 mmol) を混合物に添加した。反応物を室温でさらに 3 時間攪拌し続けた。 DMF を高真空下で除去し、粗残渣を EtAc (300 mL) に溶解し、 H_2O (50 mL $\times$ 3) で洗浄した。最終生成物 (3) を ISCO 精製 (5% MeOH/DCM) 後に得た。

30

【0 3 2 2】

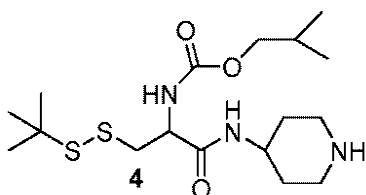
実施例 1 4

イソブチル 3- (tert-ブチルジスルファニル) -1-オキソ-1- (ピペリジン-4-イルアミノ) プロパン-2-イルカルバマート

【0 3 2 3】

40

【化 5 0】



【0 3 2 4】

実施例 1 3 で調製した化合物 3 (7.085 g、18.12 mmol) に、30 mL の 4 M $\text{HCl}/\text{ジオキサン}$ を添加した。室温で 2 時間後に反応が完了した。 HCl 塩 (4

50

）を、さらに精製することなく次の工程のために使用した。

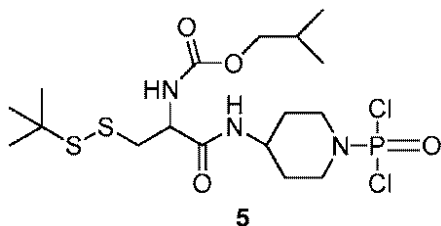
【0325】

実施例 15

イソブチル 3-（tert-ブチルジスルファニル）-1-（1-（ジクロロホスホリル）
ピペリジン-4-イルアミノ）-1-オキソプロパン-2-イルカルバマート

【0326】

【化51】



10

【0327】

-78℃の実施例15で調製した化合物4（7.746g、18.12mmol）を含むDCM（200ml）に、Ar下でPOCl₃（1.69ml、18.12mmol）をゆっくり注入し、その後にEt₃N（7.58ml、54.36mmol）を添加した。反応物を室温で5時間攪拌し、濃縮して過剰な塩基および溶媒を除去した。生成物（5）を、ISCO精製（50%EtAc／ヘキサン）精製後に白色固体として得た。

20

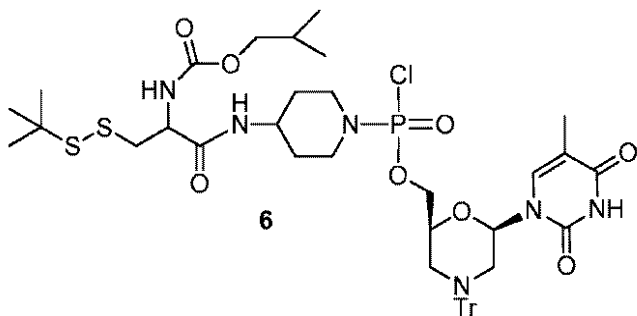
【0328】

実施例 16

イソブチル 3-（tert-ブチルジスルファニル）-1-（1-（クロロ（（2S, 6R）-6-（5-メチル-2, 4-ジオキソ-3, 4-ジヒドロピリミジン-1（2H）-イル）-4-トリチルモルホリン-2-イル）メトキシ）ホスホリル）ピペリジン-4-イルアミノ）-1-オキソプロパン-2-イルカルバマート

【0329】

【化52】



30

【0330】

0℃の1-（（2R, 6S）-6-（ヒドロキシメチル）-4-トリチルモルホリン-2-イル）-5-メチルピリミジン-2, 4（1H, 3H）-ジオン（mot（Tr））（5.576g、10.98mmol）を含むDCM（100ml）に、ルチジン（1.92ml、16.47mmol）およびDMAP（669mg、5.5mmol）を添加し、その後に4（6.13g、12.08mmol）を添加した。反応物を室温で18時間攪拌したままにした。所望の生成物（6）を、ISCO精製（50%EtAc／ヘキサン）後に得た。

40

【0331】

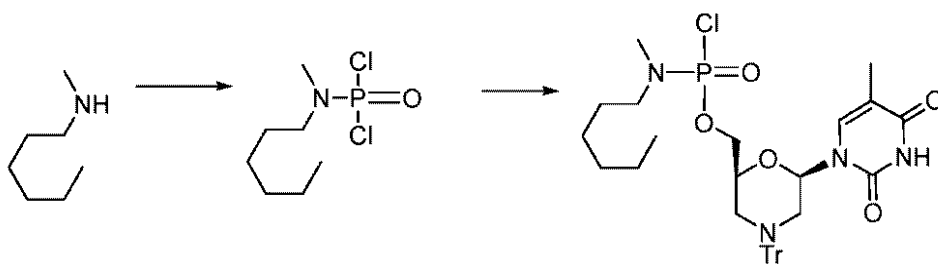
実施例 17

（（2S, 6R）-6-（5-メチル-2, 4-ジオキソ-3, 4-ジヒドロピリミジン-1（2H）-イル）-4-トリチルモルホリン-2-イル）メチルヘキシル（メチル）
ホスホアミドクロリダート

50

【0332】

【化53】



10

【0333】

N-ヒドロキシルメチルアミン（4.85ml、32mmol）のDCM（80ml）溶液を、N₂下で-78℃に冷却した。塩化ホスホリル（2.98ml、32mmol）を含むDCM（10ml）の溶液およびその後のEt₃N（4.46ml、32mmol）を含むDCM（10ml）の溶液をゆっくり添加した。反応物を室温で加温しながら一晩攪拌し続けた。所望の生成物（1）を、ISCO精製（20%EtAc／ヘキサン）後に透明オイルとして得た。

【0334】

0℃のmot（Tr）（5.10g、10.54mmol）を含むDCM（100ml）に、ルチジン（3.68ml、31.6mmol）およびDMAP（642mg、5.27mmol）を添加し、その後に1（4.89g、21.08mmol）を添加した。反応物を室温で18時間攪拌したままにした。所望の生成物（2）を、ISCO精製（50%EtOAc／ヘキサン）後に得た。

20

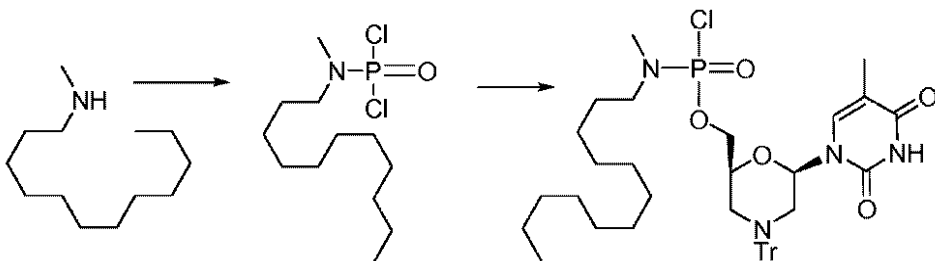
【0335】

実施例18

((2S, 6R)-6-(5-メチル-2,4-ジオキソ-3,4-ジヒドロピリミジン-1(2H)-イル)-4-トリチルモルホリン-2-イル)メチルドデシル(メチル)ホスホロアミドクロリダート

【0336】

【化54】



30

【0337】

表題化合物を、実施例6および8に記載の一般的手順にしたがって調製した。

40

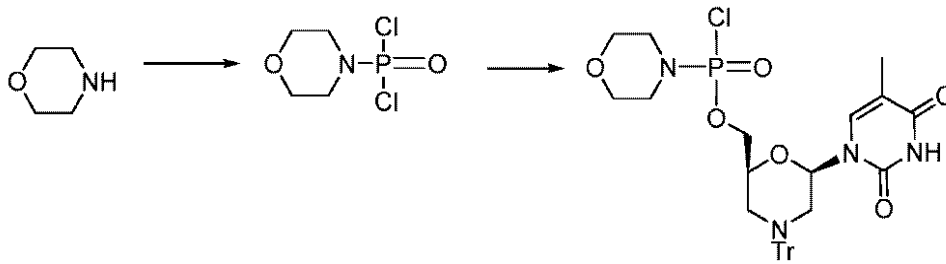
【0338】

実施例19

((2S, 6R)-6-(5-メチル-2,4-ジオキソ-3,4-ジヒドロピリミジン-1(2H)-イル)-4-トリチルモルホリン-2-イル)メチルモルホリノホスホロクロリダート

【0339】

【化 5 5】



【0 3 4 0】

10

表題化合物を、実施例 6 および 8 に記載の一般的手順にしたがって調製した。

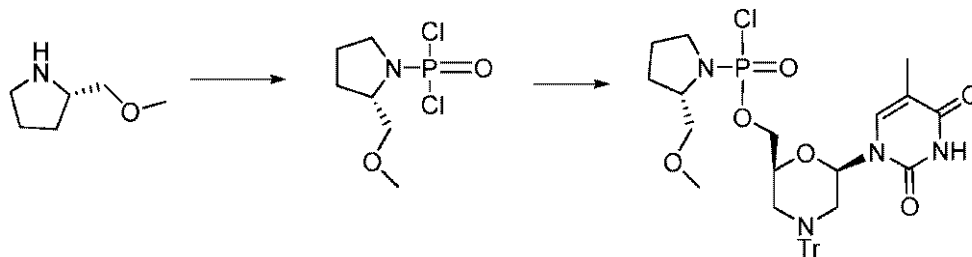
【0 3 4 1】

実施例 2 0

((2S, 6R) - 6 - (5 - メチル - 2, 4 - ジオキソ - 3, 4 - ジヒドロピリミジン - 1 (2H) - イル) - 4 - トリチルモルホリン - 2 - イル) メチル (S) - 2 - (メトキシメチル) ピロリジン - 1 - イルホスホノクロリダート

【0 3 4 2】

【化 5 6】



20

【0 3 4 3】

表題化合物を、実施例 6 および 8 に記載の一般的手順にしたがって調製した。

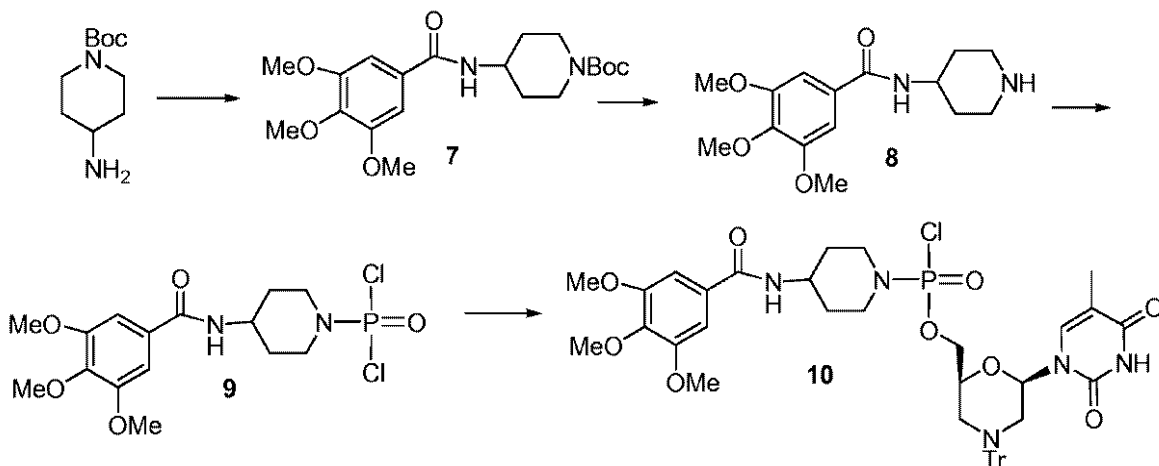
【0 3 4 4】

実施例 2 1

((2S, 6R) - 6 - (5 - メチル - 2, 4 - ジオキソ - 3, 4 - ジヒドロピリミジン - 1 (2H) - イル) - 4 - トリチルモルホリン - 2 - イル) メチル 4 - (3, 4, 5 - トリメトキシベンズアミド) ピペリジン - 1 - イルホスホノクロリダート

【0 3 4 5】

【化 5 7】



40

【0 3 4 6】

1 - Boc - 4 - ピペリジン (1 g、5 mmol) を含む DCM (20 ml) に、ヒュ

50

ーニッヒ塩基（1.74 ml、10 mmol）を添加し、その後に3, 4, 5-トリメトキシ塩化ベンゾイル（1.38 g、6 mmol）を添加した。室温で3時間反応させ、濃縮して溶媒および過剰な塩基を除去した。残渣をEtAc（100 ml）に溶解し、0.05 N HCl（3×15 ml）、飽和NaHCO₃（2×15 ml）で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させた。生成物（1）を、ISCO精製（5% MeOH/DCM）後に得た。

【0347】

7に15 mlの4 N HCl/ジオキサンを添加し、4時間後に反応を停止させた。8を白色固体として得た。

【0348】

8（1.23 g、4.18 mmol）のDCM（20 ml）溶液を、N₂下で-78℃に冷却した。塩化ホスホリル（0.39 ml、4.18 mmol）を含むDCM（2 ml）の溶液およびその後のEt₃N（0.583 ml、4.18 mmol）を含むDCM（2 ml）の溶液をゆっくり添加した。反応物を室温で加温しながら一晩攪拌し続けた。所望の生成物（9）を、ISCO精製（50% EtAc/ヘキサン）後に得た。

【0349】

0℃のmOT（Tr）（1.933 g、4.0 mmol）を含むDCM（20 ml）に、ルチジン（0.93 ml、8 mmol）およびDMAP（49 mg、0.4 mmol）を添加し、その後に9（1.647 g、4 mmol）を添加した。反応物を室温で18時間攪拌したままにした。所望の生成物（10）を、ISCO精製（50% EtAc/ヘキサン）後に得た。

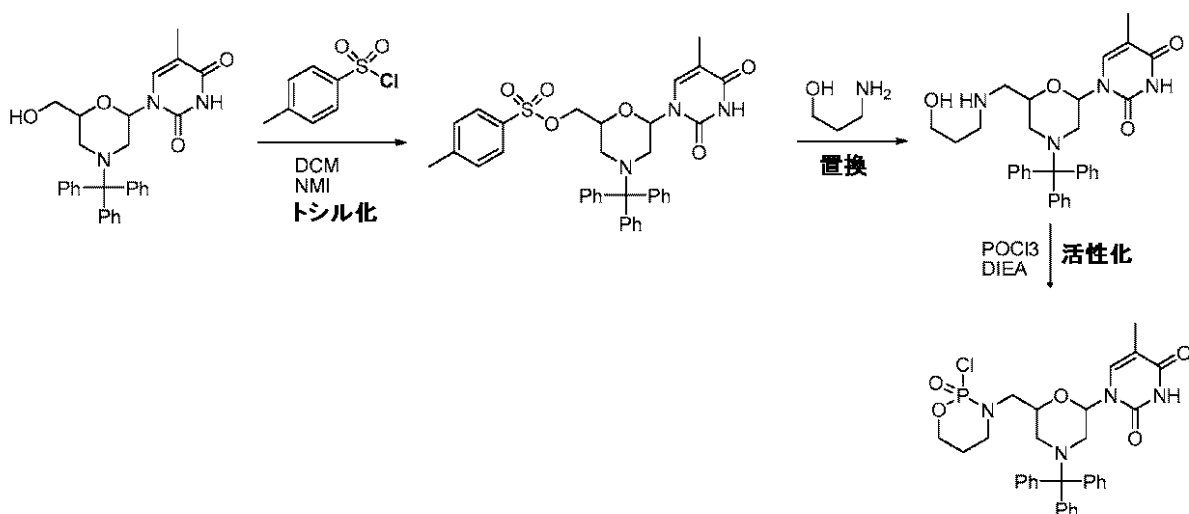
【0350】

実施例 22

サブユニット（^CP T）を含むシクロホスホラミドの合成

【0351】

【化58】



【0352】

mOTサブユニット（25 g）をDCM（175 ml）に懸濁し、NMI（N-メチルイミダゾール、5.94 g、1.4当量）を添加して透明な溶液を得た。塩化トシルを反応混合物に添加し、反応の進行を、終了（約2時間）までTLCによってモニタリングした。0.5 Mクエン酸緩衝液（pH=5）およびその後のブラインでの洗浄によって水性で後処理した。有機層を分離し、Na₂SO₄で乾燥させた。溶媒を回転蒸発装置で除去して粗生成物を得た。これをさらに精製せずに次の工程で使用した。

【0353】

上記で調製したmOTトシラートを、プロパノールアミン（1 g/10 ml）と混合し

た。次いで、反応混合物を乾燥機中に45℃で一晩入れ、その後にDCM(10ml)で希釈した。0.5Mクエン酸緩衝液(pH=5)およびその後のブラインでの洗浄によって水性で後処理をした。有機層を分離し、Na₂SO₄で乾燥させた。溶媒を回転蒸発装置で除去して、粗生成物を得た。粗(curd)生成物をNMRおよびHPLCによって分析し、さらに精製せずに次の工程のための準備が整っていると判断した。

【0354】

粗生成物をDCM(2.5ml DCM/g、1当量)に溶解し、DIEA(3当量)と混合した。この溶液をドライアイス-アセトンで冷却し、POCl₃を滴下した(1.5当量)。得られた混合物を室温で一晩攪拌した。0.5Mクエン酸緩衝液(pH=5)およびその後のブラインでの洗浄によって、水性で後処理した。有機層を分離し、Na₂SO₄で乾燥させた。溶媒を回転蒸発装置で除去して、粗生成物を帯黄色固体として得た。粗生成物をシリカゲルクロマトグラフィ(粗生成物/シリカ=1:5の比率、勾配はDCMから50%EA/DCM)によって精製し、画分をTLC分析にしたがってプールした。溶媒を除去して所望の生成物をジアステレオマーの混合物として得た。精製された生成物を、HPLC(NPPクエンチ)およびNMR(H-1およびP-31)によって分析した。

10

【0355】

ジアステレオマーの混合物を、以下の手順にしたがって分離した。混合物(2.6g)をDCMに溶解した。このサンプルをRediSepRfカラム(80g順相、Teldyne Isco製)にロードし、10%EA/DCMから50%EA/DCMを使用して20分間溶離した。画分を回収し、TLCによって分析した。画分をTLC分析によってプールし、溶媒を回転蒸発装置にて室温で除去した。プールした画分のジアステレオマーの比率を、P-31 NMRおよびNPP-TFA分析によって決定した。必要に応じて、ジアステレオマーの比率が97%に到達するまで上記手順を繰り返した。

20

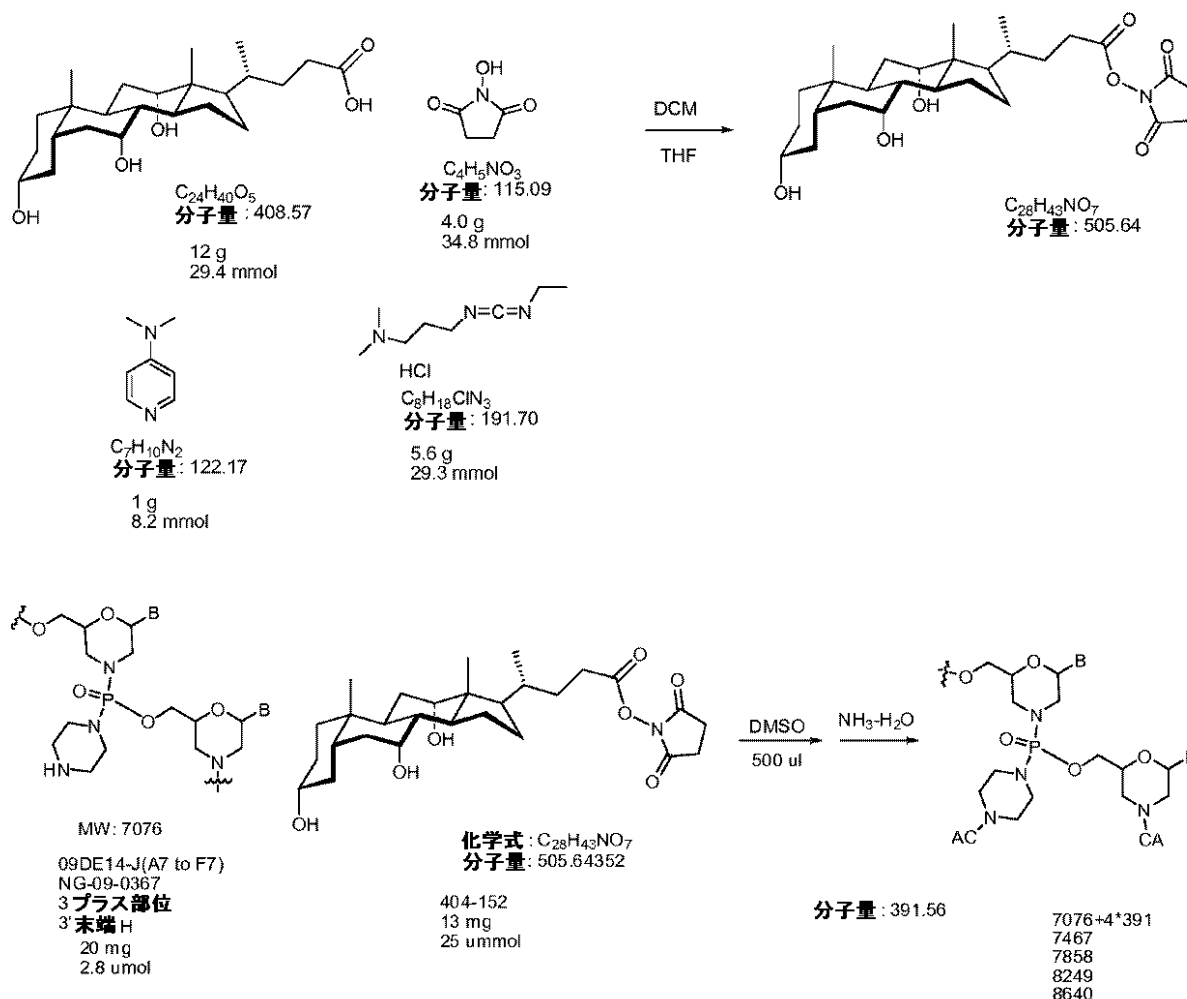
【0356】

実施例23

PMOプラスの包括的コール酸修飾

【0357】

【化 5 9】



10

20

【0358】

スクシンイミド活性化コール酸誘導体を、以下の手順にしたがって調製した。コール酸 (12 g、29.4 mmol)、N-ヒドロキシスクシンイミド (4.0 g、34.8 mmol)、EDCI (5.6 g、29.3 mmol)、およびDMAP (1 g、8.2 mmol) を、丸底フラスコに充填した。DCM (400 ml) およびTHF (40 ml) を添加して溶解させた。反応混合物を室温で一晩攪拌した。次いで、水 (400 ml) を反応混合物に添加し、有機層を分離し、水 (2×400 ml)、その後の飽和NaHCO₃ (300 ml) およびブライン (300 ml) で洗浄した。次いで、有機層をNa₂SO₄で乾燥させた。溶媒を回転蒸発装置で除去して白色固体を得た。粗生成物をクロロホルム (100 ml) に溶解し、ヘプタン (1000 ml) 中に沈殿させた。固体を濾過によって回収し、HPLCおよびNMRによって分析し、さらに精製せずに使用した。

30

【0359】

適量のPMOプラス (20 mg、2.8 μmol) をバイアル (4 ml) 中で秤量し、DMSO (500 μl) に溶解した。活性化コール酸エステル (13 mg、25 μmol) を、修飾部位あたり2当量の活性エステルの比率にしたがって反応混合物に添加し、その後に室温で一晩攪拌した。MALDIおよびHPLC (C-18またはSAX) によって反応の進行を決定した。

40

【0360】

反応の完了後 (出発物質PMOプラスの消失によって決定)、一旦反応が完了すると1 mlの濃縮アンモニアを反応混合物に添加した。反応バイアルを乾燥機に (45℃) に一晩 (18時間) 入れ、その後に室温に冷却し、1%アンモニア水 (10 ml) で希釈した。このサンプルをSPEカラム (2 cm) にロードし、バイアルを1%アンモニア溶液 (

50

2 × 2 ml) でリンスした。SPEカラムを1%アンモニア水(3 × 6 ml) で洗浄し、生成物を45%アセトニトリルを含む1%アンモニア水(6 ml) で溶離した。オリゴマーを含む画分を、UV光学密度測定によって同定した。生成物を凍結乾燥によって単離した。純度および同一性を、MALDIおよびHPLC(C-18および/またはSAX)によって決定した。

【0361】

この同一の手順を、デオキシコール酸活性化およびPMO⁺への抱合に適用可能である。

【0362】

実施例24

10

PMOプラスの包括的グアニジニル化

適量のPMOプラス(25 mg、2.8 μmol)を、バイアル(6 ml)中に秤量した。1H-ピロゾール-1-カルボキサミジンクロリド(15 mg、102 μmol)および炭酸カリウム(20 mg、0.15 mmol)をバイアルに添加した。水を添加し(500 ul)、反応混合物を室温で一晩(約18時間)撹拌した。反応完了をMALDIによって決定した。

【0363】

一旦完了すると、反応物を1%アンモニア水(10 ml)で希釈し、SPEカラム(2 cm)にロードした。バイアルを1%アンモニア溶液(2 × 2 ml)でリンスし、SPEカラムを1%アンモニア水(3 × 6 ml)で洗浄した。生成物を45%アセトニトリルを含む1%アンモニア水(6 ml)で溶離した。オリゴマーを含む画分を、UV光学密度測定によって同定した。生成物を凍結乾燥によって単離した。純度および同一性を、MALDIおよびHPLC(C-18および/またはSAX)によって決定した。

20

【0364】

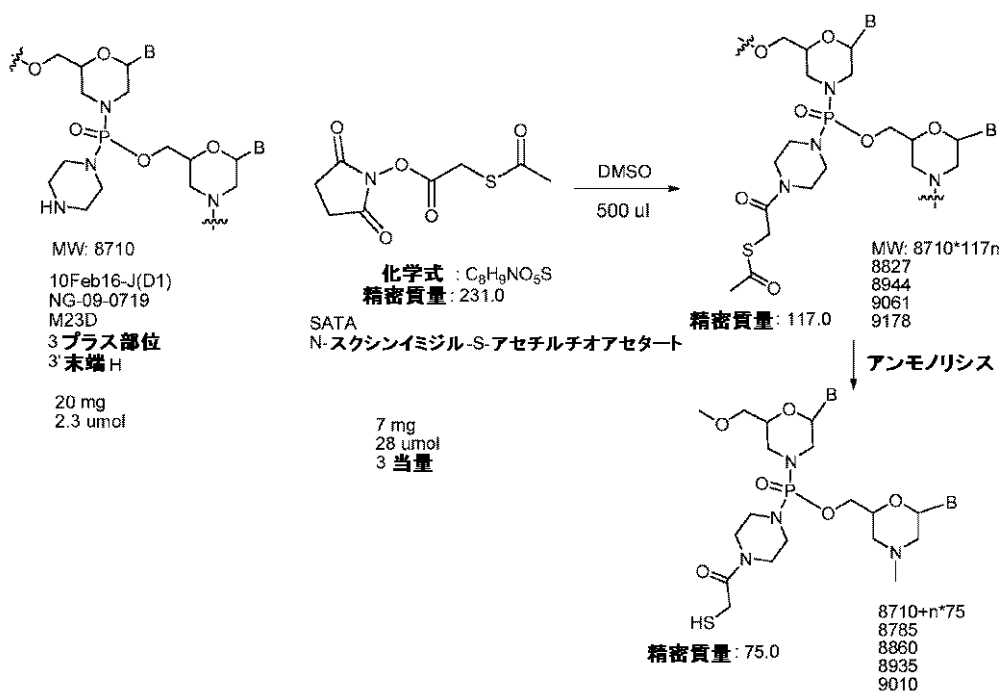
実施例25

PMOプラスの包括的チオアセチル修飾(M23D)

【0365】

【化60】

30



40

【0366】

適量のPMOプラス(20 mg、2.3 μmol)をバイアル(4 ml)中に秤量し、DMSO(500 ul)に溶解した。N-スクシンイミジル-S-アセチルチオアセター

50

ト (SATA) (7 mg、28 μmol) を反応混合物に添加し、室温で一晩攪拌した。反応の進行をMALDIおよびHPLCによってモニタリングした。

【0367】

一旦完了すると、1%アンモニア水を反応混合物に添加し、室温で2時間攪拌した。この溶液をSPEカラム (2 cm) にロードし、バイアルを1%アンモニア溶液 (2 $\times$ 2 ml) でリンスし、SPEカラムを1%アンモニア水 (3 $\times$ 6 ml) で洗浄した。生成物を45%アセトニトリルを含む1%アンモニア水 (6 ml) で溶離した。オリゴマーを含む画分を、UV光学密度測定によって同定した。生成物を凍結乾燥によって単離した。純度および同一性を、MALDIおよびHPLC (C-18および/またはSAX) によって決定した。

10

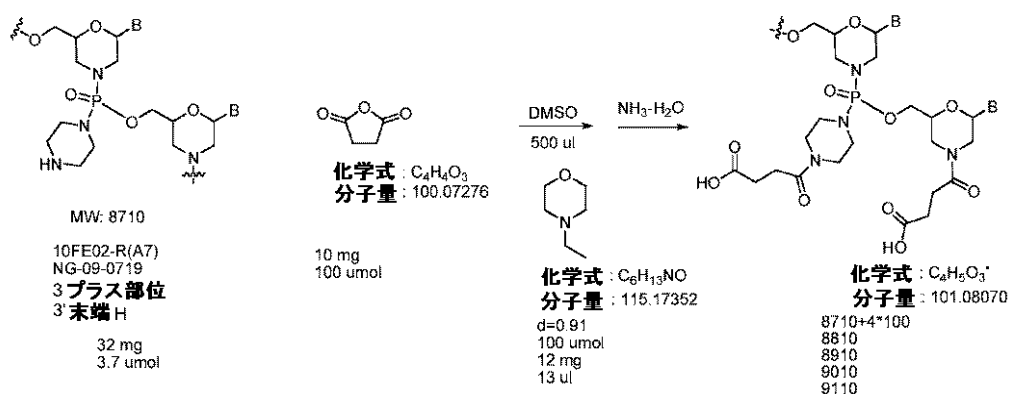
【0368】

実施例 26

PMOプラスの包括的コハク酸修飾

【0369】

【化61】



20

【0370】

適量のPMOプラス (32 mg、3.7 μmol) をバイアル (4 ml) 中に秤量し、DMSO (500 μl) に溶解した。N-エチルモルホリノ (12 mg、100 μmol) および無水コハク酸 (10 mg、100 μmol) を反応混合物に添加し、室温で一晩攪拌した。反応の進行をMALDIおよびHPLCによってモニタリングした。

30

【0371】

一旦完了すると、1%アンモニア水を反応混合物に添加し、室温で2時間攪拌した。この溶液をSPEカラム (2 cm) にロードし、バイアルを1%アンモニア溶液 (2 $\times$ 2 ml) でリンスし、SPEカラムを1%アンモニア水 (3 $\times$ 6 ml) で洗浄した。生成物を45%アセトニトリルを含む1%アンモニア水 (6 ml) で溶離した。オリゴマーを含む画分を、UV光学密度測定によって同定した。生成物を凍結乾燥によって単離した。純度および同一性を、MALDIおよびHPLC (C-18および/またはSAX) によって決定した。

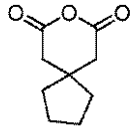
【0372】

上記手順を、PMOプラスのグルタル酸 (glutart ic acid) (グルタル酸無水物) およびテトラメチレングルタル酸 (テトラメチレングルタル酸無水物) 修飾にも適用可能である。

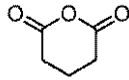
40

【0373】

【化 6 2】



テトラメチレングルタル酸無水物



グルタル酸無水物

【 0 3 7 4】

実施例 2 7

本発明の例示的 P M O オリゴマーを使用した M D X マウスの処置

M D X マウスは、ジストロフィン遺伝子のエキソン 2 3 変異を含むデュシェンヌ型筋ジストロフィ (D M D) のための、承認され且つ十分に特徴づけられている動物モデルである。M 2 3 D アンチセンス配列 (配列番号 1 5) は、エキソン 2 3 スキッピングおよび機能的ジストロフィン発現の回復を誘導することが公知である。M D X マウスに、M 2 3 D

P M O + オリゴマー (N G - 0 9 - 0 7 1 1、N G - 1 0 - 0 0 5 5、N G - 1 0 - 0 0 5 6) または 4 - アミノピペリジニル結合 (上記および図 2 に示す P M O ^{a p n} 結合を含む N G - 1 0 - 0 0 7 0) および 4 - スクシニアミドピペラジニル結合 (上記および図 2 に示す P M O ^{s u c} 結合を含む N G - 1 0 - 0 1 0 5) のいずれかを含む 2 つの P M O 化合物のいずれかを尾静脈注射によって 1 回 (5 0 m g / k g) 投与した。ペプチド抱合 P M O (P P M O) を、本実験におけるポジティブコントロールとして使用した (A V I - 5 2 2 5 ; 配列番号 1 6)。全ての試験したオリゴマーは同一のアンチセンス配列を有するが、結合またはペプチドの型が異なる (A V I - 5 2 2 5 の場合、表 8 を参照のこと)。注射 1 週間後、M D X マウスを屠殺し、R N A を種々の筋肉組織から抽出した。エンドポイント P C R を使用して、エキソン 2 3 を含むジストロフィン m R N A およびアンチセンス誘導性エキソンスキッピングに起因するエキソン 2 3 を欠く m R N A の相対存在量を決定した。エキソン 2 3 のスキッピング率は、インビボでのアンチセンス活性の尺度である。図 5 は、処置 1 週間後の四頭筋由来の結果を示す。4 つの陽イオン性 4 - アミノピペリジニル結合を含む N G - 1 0 - 0 0 7 0 は、任意の P M O + 化合物 (N G - 1 0 - 0 0 5 5、- 0 0 5 6、および - 0 0 5 7) と比較して活性が 2 倍に増加する。4 つの陰イオン性 4 - スクシニアミドピペラジニル結合を含む N G - 1 0 - 0 1 0 5 化合物は、P M O + オリゴマーと比較して等しい活性であった。予想通り、A V I - 5 2 2 5 P P M O (抱合ペプチド) 化合物は、細胞透過性送達ペプチドに起因して最も有効であった。ビヒクルおよび W T C 5 7 (野生型マウス) 処置はネガティブコントロールであり、エキソン 2 3 スキッピングされたジストロフィン m R N A を発現しなかった。

【 0 3 7 5】

【表 8】

表 8. 実施例 27 の配列

名称	配列 (5' → 3')	配列番号
M23D	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	15
NG-09-0711	GGC CAA ACC +TCG GC+T TAC C+TG AAA +T	N/A
NG-10-0055	GGC C ⁺ AA ⁺ ACC ⁺ TCG GC ⁺ T TAC C ⁺ TG AAA T	N/A
NG-10-0056	GGC C ⁺ A ⁺ A ⁺ ACC TCG GCT TAC CTG AAA T	N/A
NG-10-0057	GGC CAA ACC TCG GCT TAC C ⁺ TG ⁺ A ⁺ A ⁺ A T	N/A
NG-10-0070	GGC CAA ACC ^{apn} TCG GC ^{apn} T TAC C ^{apn} TG AAA ^{apn} T	N/A
NG-10-0105	GGC CAA ACC ^{suc} TCG GC ^{suc} T TAC C ^{suc} TG AAA T	N/A
AVI-5225	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT- RAhxRRBRRAhxRRBRAhxB	16

【0376】

本発明に従ったさらなる実験を、より広い範囲のM23D PMO内の修飾されたサブユニット間結合を使用して行い、上記のMDXマウスモデルで使用した。この結合を有するオリゴマーのサブセットを、上記の表7中に列挙する。図6は、この拡大したスクリーニングの結果を示し、最も高い活性を有するM23Dオリゴマーがそれぞれ結合b10、b54、b10、およびb10を含むNG-10-0070、NG-10-0104、NG-10-0095、およびNG-10-0133であることを示す（図6では、x軸上のラベルは、化合物ID番号の最後の3桁に相当する）。MDXマウスに、用量50mg/kgを単回で静脈内注射した。図6に示す他の活性化合物は、末端修飾を含むM23D PMOであり、上の表6に記載している。全化合物を、いかなるサブユニット間修飾または末端修飾も持たないPMO（配列番号15）と比較した。

10

【0377】

本発明に従ったさらなる実験は、サブユニット間結合および末端結合を有するさらにより拡大した化合物を使用した。サブユニット間結合修飾を、上の表9に示す。これらの化合物を使用した結果を、以下の表9に示す。最も活性の高い化合物が表の上になるように結果を順序づけている。

【0378】

【表9-1】

表9. 本発明のPMO-X化合物で処置したMDXマウス由来の四頭筋組織および

20

横隔膜(diaphragm)組織におけるエキソン23スキッピング

NG 番号	PMO-X 修飾	用量	エキソン スキップ %	
			四頭筋	横隔膜
		mg/kg		

【0379】

【表 9 - 2】

NG-10-0383	PMO	30	61	20
NG-10-0325	トリフェニルphos	30	54	46
NG-10-0272	PMO-ファルネシル	30	48	14
NG-10-0102	PMO	30	44	23
NG-10-0330	トリメキシベンゾイル	30	40	7
NG-10-0056	PMO プラス 5'- <i>pol</i>	23	40	13
NG-07-0064	PMO-3'-トリチル	30	37	24
NG-10-0382	PMO	30	36	18
NG-10-0278	PMOpyr	26	35	29
NG-10-0210	PMOapn	31	34	19
NG-10-0098	PMOpyr	30	31	19
NG-10-0070	PMOapn	30	30	10
NG-10-0095	PMOapn	30	30	11
NG-10-0317	PMO	30	30	17
NG-10-0477	PMO triMe Gly	30	28	32
NG-10-0133	PMOapn	30	28	17
NG-10-0387	PMO	30	28	25
NG-10-0104	PMOguan	30	27	14
NG-10-0420	PMO プラス メチル	29	27	25
NG-10-0065	PMOtri	30	26	2
NG-10-0607	PMO-X	30	25	19
NG-10-0060	PMOcp	30	25	6
NG-10-0162	PMO-COCH ₂ SH	30	25	8
NG-10-0328	ジフェニルアセチル	30	25	20
NG-10-0134	PMOapnPMOtri	30	23	2
NG-10-0386	PMO	30	22	11
NG-07-0064	PMO-3'-トリチル	30	22	23
NG-10-0059	PMOcp	30	22	9
NG-10-0135	PMOtri	30	21	19
NG-10-0168	PMOapn PMOcys	30	21	6

10

20

30

40

【 0 3 8 0 】

【表 9 - 3】

NG-10-0113	PMOapnPMOtri	30	20	20
NG-10-0385	PMO	30	20	32
NG-10-0279	PMO	30	19	22
NG-10-0055	PMO プラス <i>disp</i>	30	17	11
NG-10-0105	PMOsucc	30	16	4
NG-10-0805	PMO-X	30	16	21
NG-10-0811	PMO-X	32	16	6
NG-10-0057	PMO プラス 3'- <i>pol</i>	30	15	16
NG-10-0625	PMO-X	28	15	11
NG-10-0804	二量体	35	15	11
NG-10-0066	PMOtri	30	12	1
NG-10-0280	PMO ジスルフィド	30	12	14
NG-10-0212	PMOapn	20	11	15
NG-10-0156	3'-MeOTリチル	30	10	22
NG-10-0062	PMOhex	30	9	10
NG-11-0043	PMO-X	30	9	16
NG-10-0206	PMO プラス	31	8	10

【0381】

実施例 28

本発明の例示的な PMO オリゴマーを使用したトランスジェニック eGFP マウスの処置 30

本発明に従った実験はインビボでのアンチセンス活性のための eGFP ベースのアッセイを使用し、この実験を使用して、本発明の修飾されたサブユニット間結合を含むオリゴマーを評価した。eGFP-654 導入遺伝子が体内に均一に発現するトランスジェニック eGFP マウスモデルが記載されている (Sazani, Gemignani et al. 2002)。このモデルは、本発明の修飾されたオリゴマーが異常なスプライシングを遮断し、改変された増強緑色蛍光タンパク質 (eGFP) プレ mRNA の正確なスプライシングを回復する活性のためのスプライシングアッセイを使用する。このアプローチでは、各オリゴマーのアンチセンス活性は、eGFP リポーターの上方制御と正比例する。結果として、同一オリゴマーの機能的影響を、ほとんど全ての組織でモニタリングすることができる。これは、その発現が一定の組織のみに制限されるか表現型的に関連する遺伝子にターゲティングされるオリゴマーと対照的である。eGFP-654 マウスでは、プレ mRNA は、全組織中で容易に検出可能であるが、骨髄、皮膚、および脳ではより少量で見いだされた。eGFP の翻訳レベルは、アンチセンスオリゴマーの効力および作用部位でのその濃度に比例する。種々の組織から単離された総 RNA の RT-PCR は、調査した全組織中の eGFP-654 転写物の発現を示す。 40

【0382】

5 ~ 150 mg / kg の範囲の化合物で処置した eGFP-654 マウス (n = 6) 由来の組織を、投与 8 日後に回収し、-80 °C で凍結した。組織を GE Typhoon Trio での画像化の直前に解凍し、PBS を噴霧し、スキャナのガラスプラテン上に直接配列させた。eGFP 蛍光を回収するための 50 ミクロンのスキャンを、プラテン表面 50

の焦平面を用いた488nm励起レーザーおよび520nm BP40放射フィルターを使用して行った。組織スキャンを、ImageQuantを使用して分析して、各組織を横切る平均蛍光を決定した。ビヒクルのみで処置した3～5匹のマウス由来の組織蛍光を平均して、各組織型についての固有のバックグラウンド蛍光の尺度を得た。化合物処置マウス由来の対応する組織の蛍光値の倍数を、ビヒクル組織蛍光の関数として計算した。図7B～Cは、それぞれ連結b54およびb11を含む本発明の例示的なサブユニット間結合を含む2つのPMO（NG-10-0110およびNG-10-0323）のeGFP-654マウスモデルにおける組織特異的活性を示す。試験した全オリゴマーは、eGFP-654配列（配列番号17）に由来する。比較のために、同一の配列を有するが異なるサブユニット間修飾も欠くPMOを使用した結果を図7Aに示す。NG-10-0110（配列番号17）は、四頭筋中の活性が高く、肝臓中の活性が低かった（図7B）のに対して、NG-10-0323は、肝臓活性および筋肉送達が改善された（図7C）。

【0383】

本発明に従ったさらなる例は、本発明の結合および末端基を使用して修飾したeGFP（配列番号17）オリゴマーを使用した実験を含んでいた。図11および12に示すように、PMOおよびPMOプラスオリゴマーと比較して、いくつかの修飾されたオリゴマーは、上記のように処置したマウス由来の種々の組織中のeGFPスプライス補正活性が改善された。

【0384】

本実施例に記載の化合物の特異的PMO-X修飾を、以下の表10に示す。

【0385】

【表10-1】

表 10. 結合型を示す実施例28で使用した配列

NG-10-0110	GC ^{guan} T AT ^{guan} T ACC T ^{guan} TA ACC CAG
NG-10-0323	GC ^{pyr} T AT ^{pyr} T ACC T ^{pyr} TA ACC CAG
PMOプラス;NG-10-0301	GC+T AT+T ACC +TTA ACC CAG
NG-10-0248	GCaT AaTaT ACC aTaTA ACC CAG
NG-10-0600 *	GCaT ATaT ACC TaTA ACC CAG
NG-10-0602 **	GCpT ATpT ACC TpTA ACC CAG
NG-10-0389	GCX ATX ACC TXA ACC CAG
NG-10-0247	GCpT ApTpT ACC TpTA ACC CAG
NG-10-0299	GCaT ATaT ACC TaTA ACC CAG
NG-10-0355 ***	GCaT ATaT ACC TaTA ACC CAG

* NG-10-0299由来のトリメチルグリシンアシル化産物；**pT= NG-10-0323由来の四級アミンへとメチル化したPMOpyr；X=PMOapn；*** 3'トリチル

【0386】

実施例29

本発明の例示的なPMOオリゴマーでのインフルエンザAウイルス感染細胞の処置

種々の修飾されたサブユニット間結合を含む一連のPMOを調製し、これを使用して、培養物中のインフルエンザAウイルス感染細胞を処置した。PMOおよび本発明の修飾されたサブユニット間結合を含むPMOの全てを、AUG開始コドンでウイルスM1/M2セグメントをターゲティングするようにデザインし、これらは2つの塩基配列（配列番号3および4）のうちの1つを有する。本発明の修飾されたサブユニット間結合を有するPMOを表4に列挙し、以下の配列表中でNG番号の指定によって識別する。M1/M2セグメント内の複数の部位のアンチセンスターゲティングによるインフルエンザAウイルス複製の阻害は、共有および同時係属の米国特許出願第12/945,081号（その全体が本明細書中で参考として援用される）に記載されている。共通のM1/M2 AUG開始部位のターゲティングによる翻訳阻害に加えて、本発明の化合物を使用してスプライス

供与部位およびスプライス受容部位もターゲティングすることができる。

【0387】

肺胞マウスマクロファージ細胞株（ATCC；AMJ2-C11）に0.1MOIのH1N1（PR8株）を感染させ、感染1時間後にPMOを添加した。細胞を35℃で一晩インキュベートした。次いで、ウイルス上清を採取し、VNARプロテアーゼとインキュベートしてウイルスRNAを放出させた。HA-RNAを、定量リアルタイムPCR（qRT-PCR）によって定量した。細胞を洗浄し、固定し、透過処理を行った。次いで、M1およびM2タンパク質を、モノクローナル抗体を使用して37℃で30分間探索した。細胞を洗浄し、Alexa646と抱合した抗マウスIgGを、室温で15分間添加した。次いで、M1およびM2をフローサイトメトリーによってアッセイした。M1およびM2タンパク質レベルを決定するために、M1またはM2の陽性細胞の比率を、M1またはM2の平均蛍光強度に掛けた。次いで、各サンプルを未処置コントロールで割って、未処理スクランブルコントロールと比較したM1またはM2の比率を得た。

10

【0388】

図8は、本開示の種々の化合物で処置した細胞由来のウイルスM2タンパク質レベルの減少を示す。上記のフローサイトメトリー法を使用して、60マイクロモルでの処置後の相対M2タンパク質発現を決定した。オリゴマーは、最も活性な結合b1を含むNG-10-180（配列番号3）を使用して、種々の程度にM2タンパク質産生を阻害した。比較のために、いかなるサブユニット間修飾も持たないPMOを使用した結果を、NG-10-0015（配列番号3）として図8に示す。

20

【0389】

実施例30

本発明の例示的PMOオリゴマーを使用したインビボでのインフルエンザAウイルス感染マウスの処置

本発明に従ったさらなる実験を、インフルエンザAのPR8株を感染させたBalb/cマウスを使用して行った。マウスに、鼻腔内接種を介して3.5 TCID₅₀で感染させ、その4時間後に本発明のPMO-X化合物を投与した。いくつかの実験では、さらなる用量のPMO-Xを、感染96時間後に投与した。全用量は100マイクログラムの試験化合物を含む50マイクロリットルのPBSからなり、これを鼻腔内ガス注入によって投与した。動物の体重を毎日モニタリングし、これを抗ウイルス薬活性のクリニカルエンドポイントとして使用した。感染7日後に、動物を屠殺し、上の実施例29に記載のqRT-PCR法を使用したウイルス量決定のために肺を採取した。

30

【0390】

肺ホモジネートのハーフログ系列希釈を使用してTCID₅₀を決定し、AMJ-C12マクロファージ細胞上にプレートした。35℃で24時間後、培地を交換し、35℃でさらに72時間インキュベートした。50mLの0.5%ニワトリRBCを含むPBSの溶液を添加し、4℃で1時間インキュベートした。赤血球凝集パターンを読み取り、Reed and Muench法を使用してTCID₅₀を計算した。次いで、TCID₅₀値を、入力組織重量に対して正規化した。

【0391】

図9に示すように、PMO-X化合物は、H1N1感染後にPMOプラス化合物と比較して抗ウイルス活性の増加および体重減少の減少が認められる。Balb/cマウス（n=4）にH1N1を感染させ、感染4時間後に単回の100マイクログラム用量のPMOを投与した。マウスを毎日秤量し、感染前の体重から体重減少率を決定した。感染7日後に肺を採取し、TCID₅₀によってウイルス量についてアッセイした。結果を、裸のPMOに対する抗ウイルス活性の増加倍率として示す。この実験は、未修飾PMO（NG-10-0015；配列番号3）と比較して2つのPMO-X化合物（NG-10-0097およびNG-11-0173；配列番号3）の抗ウイルス活性がおよそ50倍増加し、PMOプラス化合物（NG-11-0170；配列番号3）と比較して活性がおよそ10倍高い。

40

50

【0392】

図10は、抗ウイルス活性の臨床的尺度として体重を使用した図9に記載の実験に類似の実験を示す。PMOプラス化合物（NG-11-0170）と比較して、いくつかのPMO-X化合物が優れた結果を示した（スクシノイル（NG-10-0108）、イソプロピルピペラジン（NG-11-0148）、およびピロリドン（pyrrolidone）（NG-11-0173）結合を含む化合物ならびに3'末端ベンズヒドリル基で修飾したPMOプラス化合物（NG-11-0145）が含まれる）。

【0393】

実施例31

修飾された末端基を含むオリゴヌクレオチドアナログの調製

10

遊離3'末端を含む25量体PMO（27.7mg、3.226μmol）を含むDM SO（300μL）の溶液に、ファルネシルブロミド（1.75μl、6.452μmol）およびジイソプロピルエチルアミン（2.24μL、12.9μmol）を添加した。反応混合物を室温で5時間攪拌した。粗反応混合物を10mLの1%NH₄OH水溶液で希釈し、次いで、2mLのAmberchrome CG300Mカラムにロードした。次いで、カラムを3カラム体積の水でリンスし、生成物を、6mLの1:1のアセトニトリルおよび水（v/v）で溶離した。次いで、溶液を凍結乾燥させて、表題化合物を白色固体として得た。

【0394】

実施例32

20

モルホリノオリゴマーの調製

トリチルピペラジンフェニルカルバマート35の調製（図3を参照のこと）：化合物11を含むジクロロメタン（6mL/g11）の冷却懸濁液に、炭酸カリウム（3.2当量）を含む水溶液（4mL/g炭酸カリウム）を添加した。この二相混合物に、クロロギ酸フェニル（1.03当量）を含むジクロロメタン（2g/gクロロギ酸フェニル）の溶液をゆっくり添加した。反応混合物を20℃に加温した。反応完了の際（1～2時間）、層を分離した。有機層を水で洗浄し、無水炭酸カリウムで乾燥させた。生成物35を、アセトニトリルからの結晶化によって単離した。収率＝80%

カルバマートアルコール36の調製：水素化ナトリウム（1.2当量）を1-メチル-2-ピロリジノン（32mL/g水素化ナトリウム）に懸濁した。この懸濁液に、トリエチレングリコール（10.0当量）および化合物35（1.0当量）を添加した。得られたスラリーを95℃に加熱した。反応完了の際（1～2時間）、混合物を20℃に冷却した。この混合物に、30%ジクロロメタン/メチルtert-ブチルエーテル（v:v）および水を添加した。生成物を含有する有機層を、NaOH水溶液、コハク酸水溶液、および飽和塩化ナトリウム水溶液で連続的に洗浄した。生成物36を、ジクロロメタン/メチルtert-ブチルエーテル/ヘプタンからの結晶化によって単離した。収率＝90%

30

【0395】

テール酸37の調製：化合物36を含むテトラヒドロフラン（7mL/g36）の溶液に、無水コハク酸（2.0当量）およびDMAP（0.5当量）を添加した。混合物を50℃に加熱した。反応完了の際（5時間）、混合物を20℃に冷却し、NaHCO₃水溶液でpH8.5に調整した。メチルtert-ブチルエーテルを添加し、生成物を水層中に抽出した。ジクロロメタンを添加し、混合物をクエン酸水溶液でpH3に調整した。生成物を含む有機層を、pH3のクエン酸緩衝液と飽和塩化ナトリウム水溶液との混合物で洗浄した。この37のジクロロメタン溶液を、化合物38の調製において単離することなく使用した。

40

【0396】

38の調製：化合物37の溶液に、N-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2,3-ジカルボン酸イミド（HONB）（1.02当量）、4-ジメチルアミノピリジン（DMAP）（0.34当量）、次いで1-（3-ジメチルアミノプロピル）-N'-エチルカルボ

50

ジイミドヒドロクロリド (EDC) (1.1 当量) を添加した。混合物を 55℃ に加熱した。反応完了の際 (4~5 時間)、混合物を 20℃ に冷却し、1:1 の 0.2 M クエン酸 / ブライン および ブライン で連続的に洗浄した。ジクロロメタン 溶液をアセトン、次いで、N, N-ジメチルホルムアミドに溶媒交換し、生成物をアセトン / N, N-ジメチルホルムアミドから飽和塩化ナトリウム水溶液への沈殿によって単離した。粗生成物を、水中で数回再スラリー化して、残存する N, N-ジメチルホルムアミド および 塩を除去した。化合物 36 から 38 の収率 = 70%。ジスルフィドアンカーレジン上への活性化「テール」の導入を、固相合成中のサブユニットの組み込みのために使用した手順によって NMP 中で行った。

【0397】

モルホリノオリゴマー合成のための固体支持体の調製：この手順を、目の粗い多孔質の (40~60 μm) ガラスフリット、オーバーヘッドスターラー、およびフリットまたは吸引抽出によって N₂ を発泡させるためのテフロン (登録商標) 製の三方活栓を有するシラン処理したジャケット付きのペプチド容器 (ChemGlass, NJ, USA による特注品) 中で行った。水浴での循環によって反応容器中の温度を制御した。

【0398】

以下の手順における樹脂の処理 / 洗浄工程は、以下の 2 つの基本操作からなる：樹脂の流動化および溶媒 / 溶液抽出工程。樹脂の流動化のために、活栓を、フリットを介して N₂ が上方に流れるように配置し、指定の樹脂の処理 / 洗浄物を反応器に加え、樹脂を浸透させ、完全に湿らせた。次いで、混合を開始し、樹脂のスラリーを指定の時間混合した。溶媒 / 溶液抽出のために、混合、および N₂ 流を停止し、真空ポンプを始動させ、次いで、活栓を、樹脂の処理 / 洗浄物を排出させて破棄するように配置した。他に断らない限り、全ての樹脂処理 / 洗浄体積は 15 mL / g 樹脂であった。

【0399】

シラン処理したジャケット付きのペプチド容器中のアミノメチルポリスチレン樹脂 (100~200 メッシュ; 約 1.0 mmol / g N₂ 置換; 75 g、1 当量、Polymer Labs、UK、part #1464-X799) に、1-メチル-2-ピロリジノン (NMP; 20 mL / g 樹脂) を添加し、1~2 時間の混合によって樹脂を膨潤させた。膨潤用溶媒の排出後、樹脂を、ジクロロメタン (2×1~2 分)、5% ジイソプロピルエチルアミンを含む 25% イソプロパノール / ジクロロメタン (2×3~4 分)、およびジクロロメタン (2×1~2 分) で洗浄した。最終洗浄物の排出後、樹脂を、ジスルフィドアンカー 34 を含む 1-メチル-2-ピロリジノン (0.17 M; 15 mL / g 樹脂、約 2.5 当量) の溶液で流動化し、樹脂 / 試薬混合物を 45℃ で 60 時間加熱した。反応完了時に、加熱を中断し、アンカー溶液を排出させ、樹脂を 1-メチル-2-ピロリジノン (4×3~4 分) およびジクロロメタン (6×1~2 分) で洗浄した。樹脂を、10% (v/v) ジエチルジカルボナートを含むジクロロメタン (16 mL / g; 2×5~6 分) の溶液で処理し、次いで、ジクロロメタン (6×1~2 分) で洗浄した。樹脂 39 (図 4 を参照のこと) を、N₂ 流下で 1~3 時間乾燥させ、次いで、真空下で恒量 (±2%) まで乾燥させた。収率：元の樹脂重量の 110~150%。

【0400】

アミノメチルポリスチレン-ジスルフィド樹脂の負荷量の決定：樹脂の負荷量 (潜在的に利用可能な反応部位数) を、1 グラムの樹脂あたりのトリフェニルメチル (トリチル) 基の数についての分光アッセイによって決定する。

【0401】

既知重量の乾燥樹脂 (25 ± 3 mg) を、シラン処理した 25 mL メスフラスコに移し、約 5 mL の 2% (v/v) トリフルオロ酢酸を含むジクロロメタンを添加する。内容物を穏やかな回転によって混合し、次いで、30 分間静置させる。さらなる 2% (v/v) トリフルオロ酢酸を含むジクロロメタンを使用して体積を 25 mL にし、内容物を完全に混合する。容積式ピペットを使用して、トリチル含有溶液のアリコート (500 μL) を 10 mL メスフラスコに移し、メタンスルホン酸を使用して体積を 10 mL にした。

【0402】

最終溶液中のトリチル陽イオン含有量を431.7nmでのUV吸収によって測定し、樹脂の負荷量を、適切な体積、希釈、吸光係数 (ϵ : $41 \mu\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)、および樹脂重量を使用して、1グラムの樹脂あたりのトリチル基 ($\mu\text{mol/g}$) として計算した。アッセイを三連で行い、平均負荷量を計算する。

【0403】

本実施例中の樹脂負荷手順により、およそ $500 \mu\text{mol/g}$ の負荷量を有する樹脂が得られるであろう。ジスルフィドアンカー組み込み工程を室温で24時間行う場合、300~400 ($\mu\text{mol/g}$) の負荷量が得られた。

【0404】

テール負荷：アミノメチルポリスチレンージスルフィド樹脂の調製に関する同一の設定および体積を使用して、テールを分子内に導入することができる。カップリング工程のために、4-エチルモルホリン (NEM、0.4M) を含む38 (0.2M) のNMP溶液を、ジスルフィドアンカー溶液の代わりに使用した。45℃で2時間後、樹脂39を、5%ジイソプロピルエチルアミンを含む25%イソプロパノール/ジクロロメタンで2回およびDCMで1回洗浄した。樹脂に、安息香酸無水物 (0.4M) およびNEM (0.4M) の溶液を添加した。25分後、反応器ジャケットを室温に冷却し、樹脂を5%ジイソプロピルエチルアミンを含む25%イソプロパノール/ジクロロメタンで2回およびDCMで8回洗浄した。樹脂40を濾過し、高真空下で乾燥させた。樹脂40の負荷量を、テール負荷で使用した元のアミノメチルポリスチレンージスルフィド樹脂39の負荷量であると定義する。

【0405】

固相合成：モルホリノオリゴマーを、Gilsen AMS-422自動化ペプチド合成機にて2mLのGilsenポリプロピレン反応カラム (パーツ番号3980270) 中で調製した。水流用のチャンネルを有するアルミニウムブロックを、カラムが合成機上に配置されている場合、カラム周囲に配置した。代わりに、AMS-422に、試薬/洗浄液を添加し、指定の時間保持し、吸引を用いてカラムから排出させるであろう。

【0406】

約25サブユニット長までの範囲のオリゴマーについて、 $500 \mu\text{mol/g}$ 樹脂付近の負荷量のアミノメチルポリスチレンージスルフィド樹脂が好ましい。より大きなオリゴマーについて、300~400 $\mu\text{mol/g}$ 樹脂の負荷量のアミノメチルポリスチレンージスルフィド樹脂が好ましい。5'-テールを有する分子が望ましい場合、同一の負荷ガイドラインを使用して、テールが負荷されている樹脂を選択する。

【0407】

以下の試薬溶液を調製した。

【0408】

脱トリチル化溶液：10%シアノ酢酸 (w/v) を含む4:1ジクロロメタン/アセトニトリル；中和溶液：5%ジイソプロピルエチルアミンを含む3:1ジクロロメタン/イソプロパノール；カップリング溶液：0.18M (または20サブユニットより長いオリゴマーについては0.24M) の所望の塩基型および結合型の活性化モルホリノサブユニットおよび0.4M N-エチルモルホリンを含む1,3-ジメチルイミダゾリジノン。ジクロロメタン (DCM) を、異なる試薬溶液の洗浄物を分離する移行洗浄液として使用した。

【0409】

42℃に設定したブロックを使用した合成機にて、30mgのアミノメチルポリスチレンージスルフィド樹脂 (またはテール樹脂) を含む各カラムに、2mLの1-メチル-2-ピロリジノン添加し、室温で30分間静置させた。2mLのジクロロメタンでの2回の洗浄後、以下の合成サイクルを使用した。

【0410】

【表 10 - 2】

工程	体積	送達	保持時間	
脱トリチル化	1.5 mL	多岐管	15 秒間	
脱トリチル化	1.5 mL	多岐管	15 秒間	
脱トリチル化	1.5 mL	多岐管	15 秒間	
脱トリチル化	1.5 mL	多岐管	15 秒間	
脱トリチル化	1.5 mL	多岐管	15 秒間	10
脱トリチル化	1.5 mL	多岐管	15 秒間	
脱トリチル化	1.5 mL	多岐管	15 秒間	
DCM	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
中和	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
中和	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
中和	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
中和	1.5 mL	多岐管	30 秒間	20
中和	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
中和	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
DCM	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
カップリング	350 μ L - 500 μ L	シリンジ	40 分間	
DCM	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
中和	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
中和	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
DCM	1.5 mL	多岐管	30 秒間	30
DCM	1.5 mL	多岐管	30 秒間	
DCM	1.5 mL	多岐管	30 秒間	

【0411】

各カラムが適切な順序で適切なカップリング溶液（A、C、G、T、I）を受け入れられるように合成機に各オリゴマーの順序をプログラミングした。カラム内のオリゴマーがその最終サブユニットの組み込みを完了していた場合、カラムをブロックから取り出し、0.89 Mの4-エチルモルホリンを含む4-メトキシトリフェニルメチルクロリド（0.32 Mを含むDMI）から構成されるカップリング溶液を使用して、最終サイクルを手作業で行った。 40

【0412】

樹脂からの切断ならびに塩基および骨格保護基の除去：メトキシトリチル化後、樹脂を2 mLの1-メチル-2-ピロリジノンで8回洗浄した。0.1 Mの1,4-ジチオトレイトール（DTT）および0.73 Mトリエチルアミンを含む1-メチル-2-ピロリジノンからなる1 mLの切断溶液を添加し、カラムに栓をし、室温で30分間静置させた。その後、溶液を12 mLのウィートンバイアルに排出した。非常に縮んだ樹脂を、300 μ Lの切断溶液で2回洗浄した。溶液に4.0 mL濃アンモニア水（-20℃で保存）を添加し、バイアルに強く栓をし（テフロン（登録商標）で裏打ちされたねじ蓋を使用）、混合物を回転させて溶液を混合した。バイアルを、45℃の乾燥機に16～24時間入れ 50

て、塩基および骨格保護基を切断した。

【0413】

最初のオリゴマー単離：バイアルに入れたアンモノリシス溶液を乾燥機から取り出し、室温に冷却した。溶液を20mLの0.28%アンモニア水で希釈し、Macroprep HQ樹脂(BioRad)を含む2.5×10cmカラムを通過させた。塩勾配(A:0.28%アンモニアとB:1M塩化ナトリウムを含む0.28%アンモニアとを使用し、0-100%Bで60分間)を使用して、メトキシトリチル含有ピークを溶離した。合わせた画分をプールし、所望の生成物に応じてさらに処理した。

【0414】

モルホリノオリゴマーの脱メトキシトリチル化：Macroprep精製由来のプールした画分を1M H₃PO₄で処理して、pHを2.5に低下させた。最初の混合後、サンプルを室温で4分間静置させ、その時点で2.8%アンモニア水を使用してpH10~11に中和する。生成物を固相抽出(SPE)によって精製した。

【0415】

Amberchrome CG-300M(Rohm and Haas; Philadelphia, PA)(3mL)を、20mLフリット装着カラム(BioRad Econo-Pacクロマトグラフィカラム(732-1011))に充填し、樹脂を3mLの以下でリンスした：0.28%NH₄OH/80%アセトニトリル；0.5M NaOH/20%エタノール；水；50mM H₃PO₄/80%アセトニトリル；水；0.5 NaOH/20%エタノール；水；0.28% NH₄OH。

【0416】

脱メトキシトリチル化由来の溶液をカラムにロードし、樹脂を3~6mLの0.28%アンモニア水で3回リンスした。ウィートンバイアル(12mL)をカラム下に置き、生成物を2mLの45%アセトニトリルを含む0.28%アンモニア水での2回の洗浄によって溶離した。溶液をドライアイス中で凍結し、バイアルを凍結乾燥機に入れて、ふわふわした白色固体を得た。サンプルを水に溶解し、シリンジを使用して0.22ミクロンのフィルター(Pall Life Sciences、Acrodisc 25mmシリンジフィルター、0.2ミクロンのHT Tuffrynメンブレン付き)で濾過し、光学密度(OD)をUV分光光度計で測定して、存在するオリゴマーのOD単位を決定し、分析のためにサンプルを分注した。次いで、溶液を、凍結乾燥のためにウィートンバイアルに戻した。

【0417】

モルホリノオリゴマーの分析：MALDI-TOF質量分析を使用して、精製画分の組成を決定し、オリゴマーの同一性(分子量)についての証拠も得た。3,5-ジメトキシ-4-ヒドロキシ桂皮酸(シナピン酸)、3,4,5-トリヒドロキシ(trihydroxy)アセトフェノン(THAP)、またはα-シアノ-4-ヒドロキシ(hydroxy)桂皮酸(HCCA)の溶液をマトリックスとして使用した希釈後にサンプルを分析した。

【0418】

陽イオン交換(SCX)HPLCを、Dionex ProPac SCX-10、4×250mmカラム(Dionex Corporation; Sunnyvale, CA)を使用し、25mM(pH5)酢酸ナトリウム-25%アセトニトリル(緩衝液A)および25mM(pH5)酢酸ナトリウム-25%アセトニトリル-1.5M塩化カリウム(緩衝液B)(勾配10-100%Bで15分間)または25mM KH₂PO₄-25%アセトニトリル(pH3.5)(緩衝液A)および25mM KH₂PO₄-25%アセトニトリル(pH3.5)(1.5M塩化カリウムを含む)(緩衝液B)(勾配0-35%Bで15分間)を使用して行った。前者の系をペプチドが付着していない正電荷のオリゴマーのために使用した一方で、後者をペプチド抱合体のために使用した。

【0419】

陽イオン交換クロマトグラフィによるモルホリノオリゴマーの精製：サンプルを20m

10

20

30

40

50

M酢酸ナトリウム（pH 4.5）（緩衝液A）に溶解し、Source 30陽イオン交換樹脂（GE Healthcare）のカラムにアプライし、0.5M塩化ナトリウムを含む20mM酢酸ナトリウムおよび40%アセトニトリル（pH 4.5）（緩衝液B）の勾配を使用して溶離した。生成物を含むプールした画分を濃アンモニア水で中和し、Amberchrome SPEカラムにアプライする。上記のように生成物を溶離し、凍結し、凍結乾燥させる。

【0420】

【表11-1】

表 11. 配列表

10

名称	配列 (5' → 3')	配列番号
デング	CGGTCCACGTAGACTAACAAC	1
JEV	GAAGTTCACACAGATAAACTTCT	2
M1/M2AUG.20.22	CGGTTAGAAGACTCATCTTT	3
M1/M2AUG.25.26	TTTCGACATCGGTTAGAAGACTCAT	4
NP-AUG	GAGACGCCATGATGTGGATGTC	5
ピコルナウイルス	GAAACACGGACACCCAAAGTAGT	6
デング 3'-CS	TCCCAGCGTCAATATGCTGTTT	7
アレナウイルス	GCCTAGGATCCACGGTGCGC	8
RSV-L 標的	GGGACAAAATGGATCCCATTATTAATGGAAATTCTGCTAA	9
RSV-AUG-2	TAATGGGATCCATTTTGTCCC	10
RSV-AUG3	AATAATGGGATCCATTTTGTCCC	11
RSV-AUG4	CATTAATAATGGGATCCATTTTGTCCC	12
RSV-AUG5	GAATTTCCATTAATAATGGGATCCATTTTG	13
RSV-AUG6	CAGAATTTCCATTAATAATGGGATCCATT	14
M23D	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT	15
AVI-5225	GGCCAAACCTCGGCTTACCTGAAAT- RAh×RRBRRAh×RRBRRAh×B	16/79
eGFP654	GCTATTACCTTAACCCAG	17
huMSTN 標的	GAAAAAAGATTATATTGATTTTAAAATCATGCAAAAAC TGCAACTCTGTGTT	18
muMSTN25-104	CATACATTTGCAGTTTTTGCATCAT	19
muMSTN25-183	TCATTTTAAAATCAGCACAATCTT	20
muMSTN25-194	CAGTTTTTGCATCATTTTAAAATC	21
エキソン 44-A	GATCTGTCAAATCGCCTGCAGGTAA	22
エキソン 44-B	AAACTGTTTCAGCTTCTGTTAGCCAC	23
エキソン 44-C	TTGTGTCTTTCTGAGAACTGTTCA	24
エキソン 45-A	CTGACAACAGTTTGCCGCTGCCCAA	25
エキソン 45-B	CCAATGCCATCCTGGAGTTCCTGTAA	26
エキソン 45-C	CATTCAATGTTCTGACAACAGTTTGCCGCT	27
エキソン 50-A	CTTACAGGCTCCAATAGTGGTCAGT	28
エキソン 50-B	CCACTCAGAGCTCAGATCTTCTAACTTCC	29
エキソン 50-C	GGGATCCAGTATACTTACAGGCTCC	30
エキソン 51-A	ACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAGTTTGG	31
エキソン 51-B	CTCCAACATCAAGGAAGATGGCATTTCTAG	32
エキソン 51-C	GAGCAGGTACCTCCAACATCAAGGAA	33
エキソン 53-A	CTGAAGGTGTTCTTGTACTTCATCC	34
エキソン 53-B	TGTTCTTGTACTTCATCCACTGATTCTGA	35

20

30

40

50

【 0 4 2 1 】

【 表 1 1 - 2 】

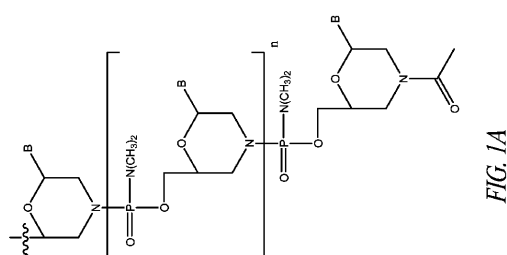
SMN2-A	CTTTCATAATGCTGGCAG	36
SMN2-B	CATAATGCTGGCAG	37
SMN2-C	GCTGGCAG	38
CAG 9マー	CAG CAG CAG	39
CAG 12マー	CAG CAG CAG CAG	40
CAG 15マー	CAG CAG CAG CAG CAG	41
CAG 18マー	CAG CAG CAG CAG CAG CAG	42
AGC 9マー	AGC AGC AGC	43
AGC 12マー	AGC AGC AGC AGC	44
AGC 15マー	AGC AGC AGC AGC AGC	45
AGC 18マー	AGC AGC AGC AGC AGC AGC	46
GCA 9マー	GCA GCA GCA	47
GCA 12マー	GCA GCA GCA GCA	48
GCA 15マー	GCA GCA GCA GCA GCA	49
GCA 18マー	GCA GCA GCA GCA GCA GCA	50
AGC 25マー	AGC AGC AGC AGC AGC AGC AGC AGC A	51
CAG 25マー	CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG CAG C	52
CAGG 9マー	CAG GCA GGC	53
CAGG 12マー	CAG GCA GGC AGG	54
CAGG 24マー	CAG GCA GGC AGG CAG GCA GGC AGG	55
<u>アルギニンリッチ細胞透過性ペプチド</u>		
rTAT	RRRQRRKKR	56
Tat	RKKRRQRRR	57
R ₉ F ₂	RRRRRRRRRFF	58
R ₅ F ₂ R ₄	RRRRRFFRRRR	59
R ₄	RRRR	60
R ₅	RRRRR	61
R ₆	RRRRRR	62
R ₇	RRRRRRR	63
R ₈	RRRRRRRR	64
R ₉	RRRRRRRRR	65
(RAhxR) ₄ ; (P007)	RAhxRRAhxRRAhxRRAhxR	66
(RAhxR) ₅ ; (CP04057)	RAhxRRAhxRRAhxRRAhxRRAhxR	67
(RAhxRRBR) ₂ ; (CP06062)	RAhxRRBRRAhxRRBR	68
(RAR) ₄ F ₂	RARRARRARRARFFC	69
(RGR) ₄ F ₂	RGRRGRRGRRGRFFC	70

【 0 4 2 2 】

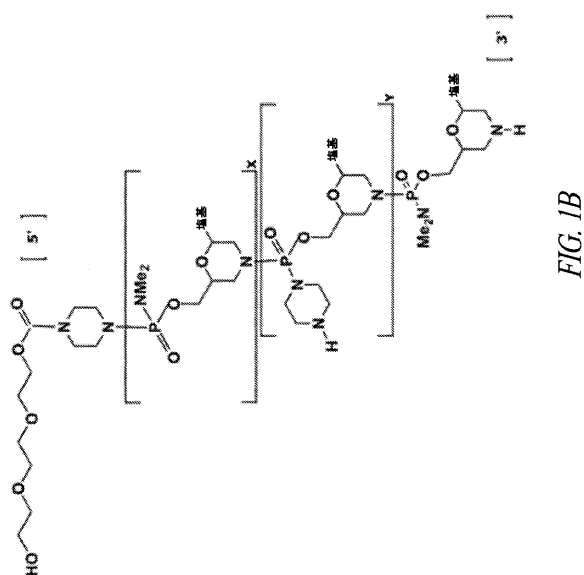
上記の種々の実施形態を組み合わせて、さらなる実施形態を得ることができる。本明細書中で言及し、そして／または出願データシート中に列挙した全ての米国特許、米国特許出願公開、米国特許出願、外国特許、外国特許出願、および非特許文献は、その全体が本明細書中で参考として援用される。実施形態の態様を、必要に応じて修正して、種々の特許、出願、および刊行物の概念を使用し、それにより、なおさらなる実施形態を得ることができる。上に詳述の説明を考慮して、実施形態のこれらおよび他の変更形態を得ることができる。一般に、以下のクレームでは、使用される用語は、明細書およびクレームに開示の特定の実施形態にクレームを制限すると解釈すべきではないが、かかるクレームから権利を与えられる等価物の全ての範囲に沿った全ての可能な実施形態を含むと解釈すべきである。したがって、クレームは開示に制限されない。

10

【図 1 A】



【 図 1 B 】



【図 1 C】

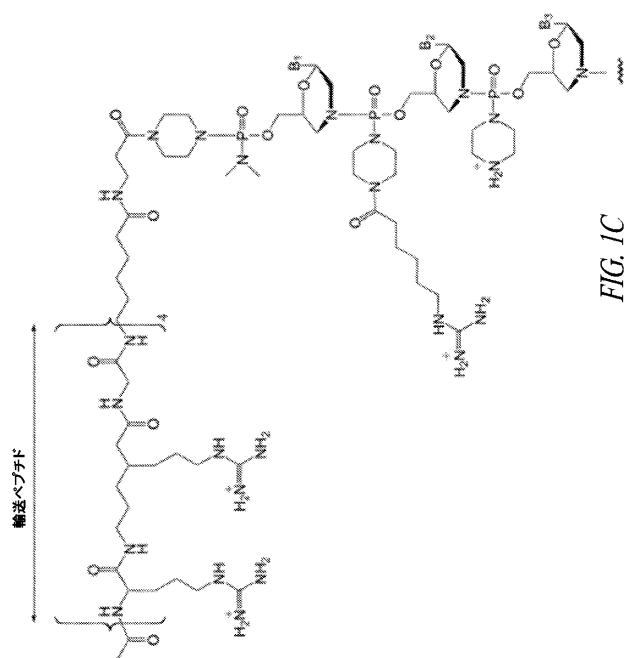


FIG. 1C

【図 1 D】

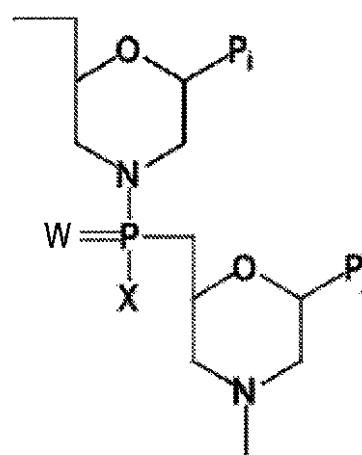


FIG. 1D

【図 1 E】

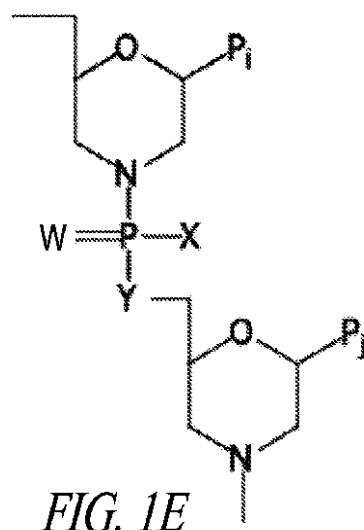


FIG. 1E

【図 1 F】

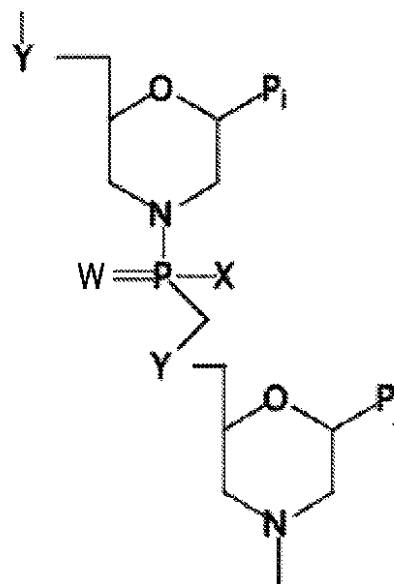


FIG. 1F

【図 1 G】

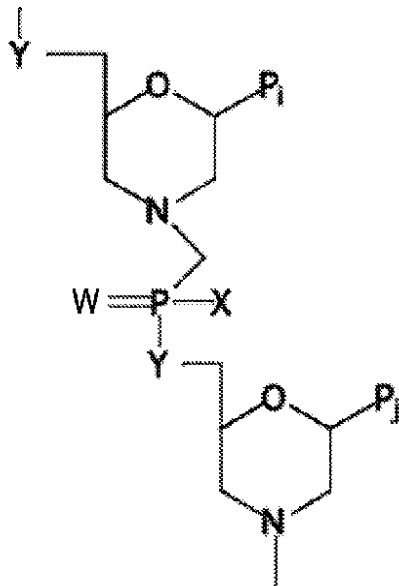


FIG. 1G

【図 2】

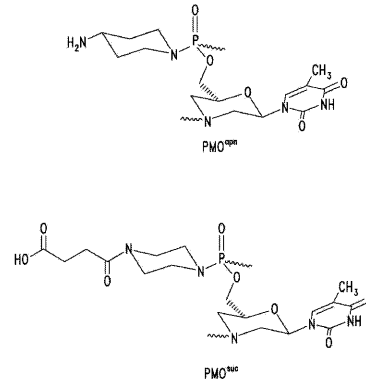


FIG. 2

【図 3】

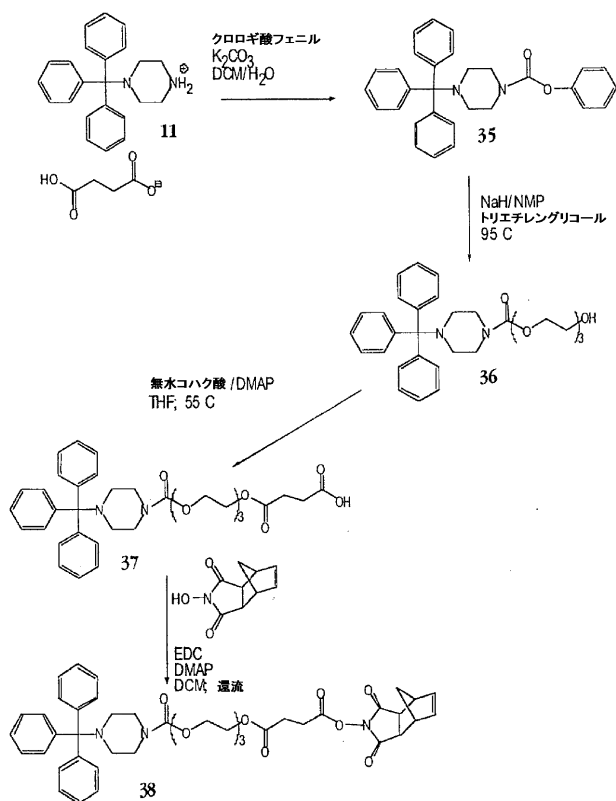


FIG. 3

【図 4】

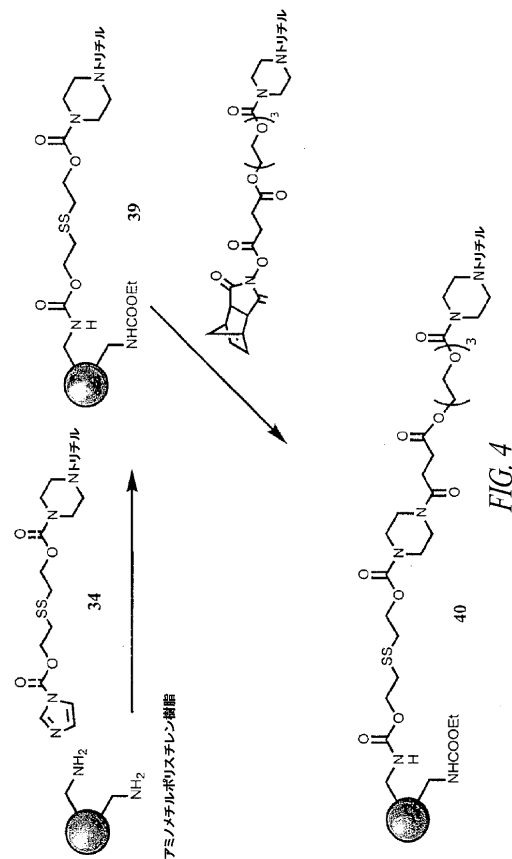
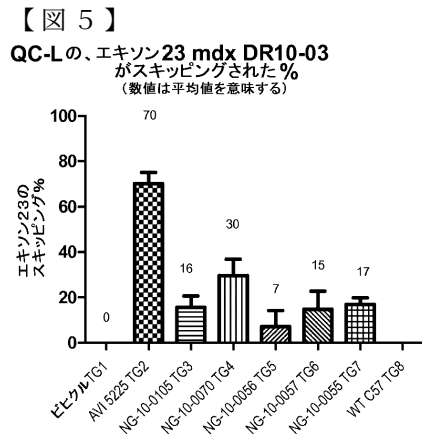


FIG. 4



処置群

FIG. 5

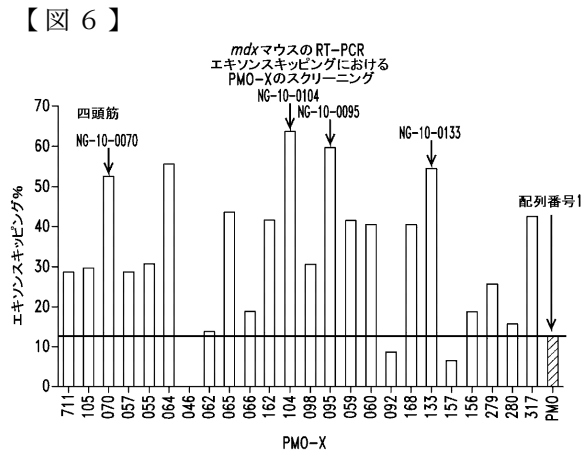
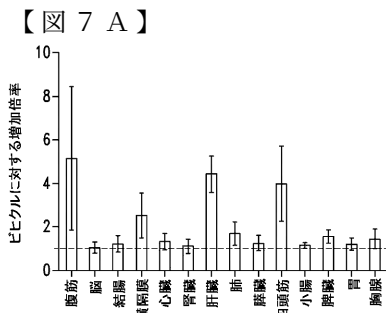
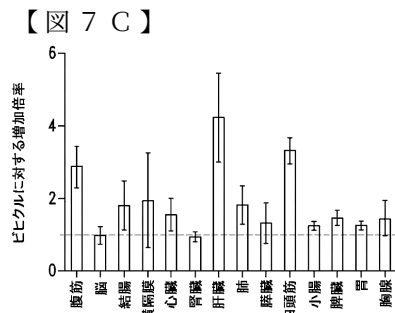


FIG. 6



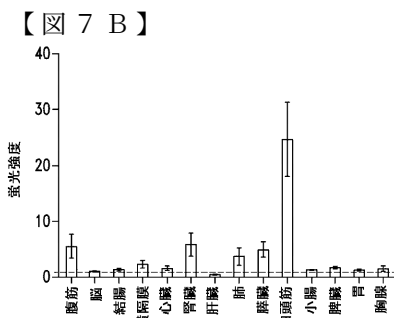
0-1-0-815での処置

FIG. 7A



NG-10-0323での処置

FIG. 7C



NG-10-0110での処置

FIG. 7B

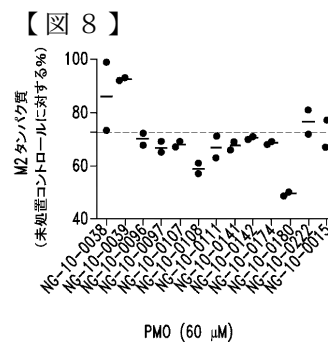


FIG. 8

【図 9】

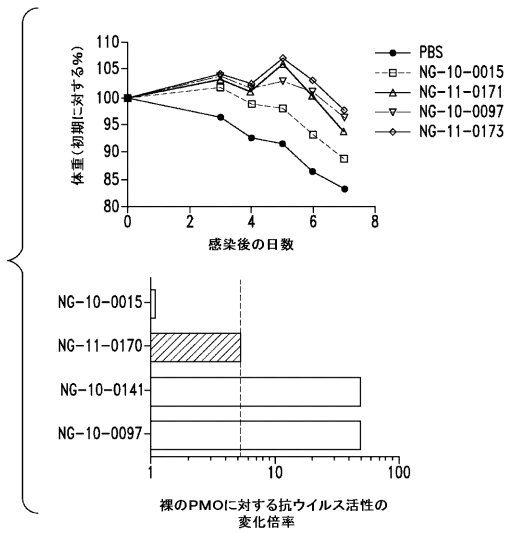


FIG. 9

【図 10】

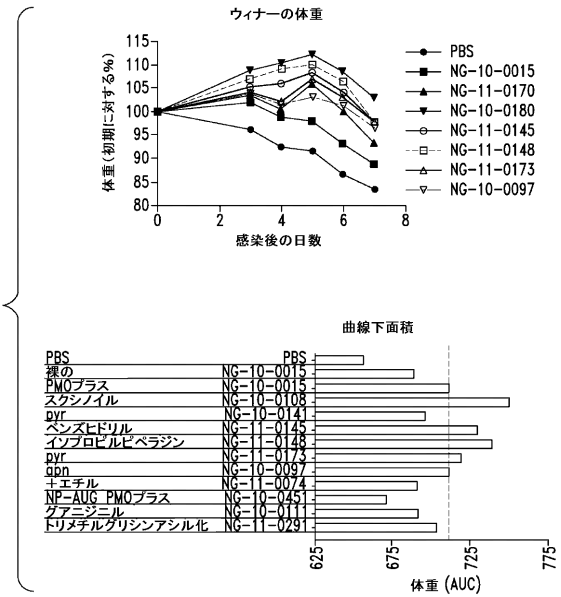
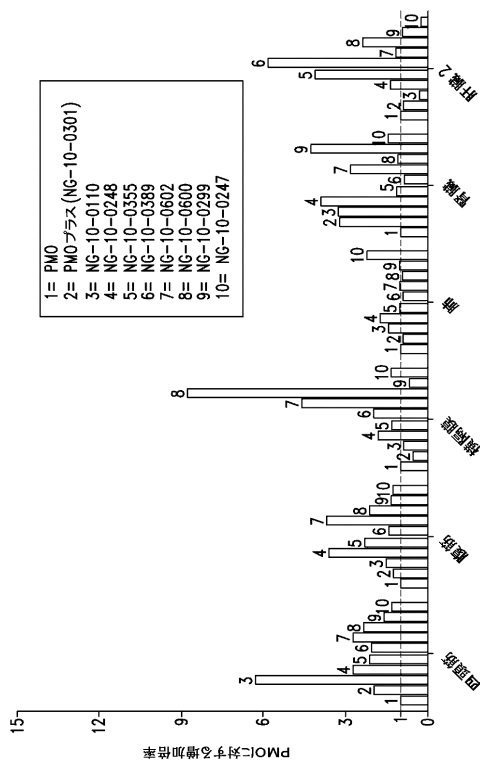


FIG. 10

【図 11】



組織型

FIG. 11

【図 12】

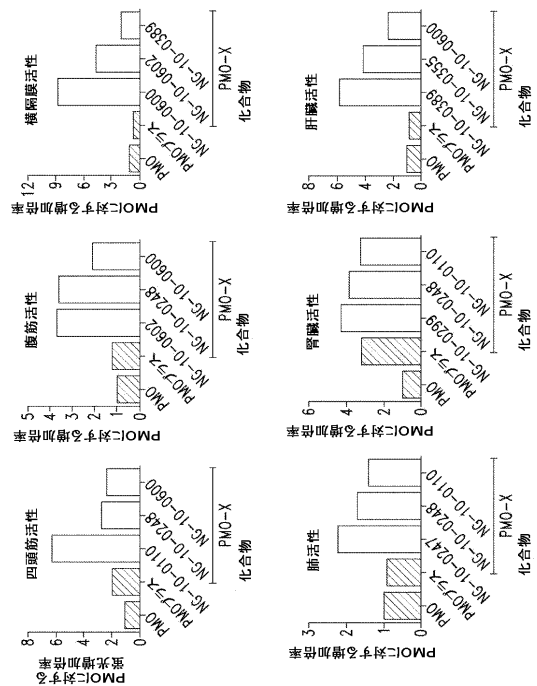


FIG. 12

【配列表】

2013530154000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2011/038459

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07F9/22 C07F9/24 C07H21/00
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)

C07F 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 practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/036127 A2 (AVI BIOPHARMA INC [US]; WELLER DWIGHT D [US]; HASSINGER JED N [US]) 27 March 2008 (2008-03-27) figure 2a+2e; compounds 19a-e -----	1-85
X	WO 2007/009094 A2 (AVI BIOPHARMA INC [US]; GELLER BRUCE L [US]; IVERSEN PATRICK L [US]; T) 18 January 2007 (2007-01-18) the whole document -----	1-85
X	WO 91/09033 A1 (ANTIVIRALS INC [US]) 27 June 1991 (1991-06-27) the whole document -----	1-85



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 document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 December 2011

Date of mailing of the international search report

08/12/2011

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

Klein, Didier

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/038459

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008036127 A2	27-03-2008	US 2009088562 A1 WO 2008036127 A2	02-04-2009 27-03-2008
WO 2007009094 A2	18-01-2007	AU 2006267051 A1 CA 2614191 A1 EP 1915161 A2 WO 2007009094 A2	18-01-2007 18-01-2007 30-04-2008 18-01-2007
WO 9109033 A1	27-06-1991	AT 220407 T AT 312834 T AU 655164 B2 CA 2069869 A1 DE 69033986 D1 DE 69033986 T2 DE 69034213 T2 EP 0506830 A1 EP 0962463 A1 JP 3398378 B2 JP H05504563 A JP 2002167441 A WO 9109033 A1	15-07-2002 15-12-2005 08-12-1994 21-06-1991 14-08-2002 13-03-2003 24-08-2006 07-10-1992 08-12-1999 21-04-2003 15-07-1993 11-06-2002 27-06-1991

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード (参考)
A 6 1 P 31/16 (2006.01)		A 6 1 P 31/16		
A 6 1 P 21/04 (2006.01)		A 6 1 P 21/04		
A 6 1 K 31/7125 (2006.01)		A 6 1 K 31/7125		
C 1 2 N 15/113 (2010.01)		C 1 2 N 15/00	Z N A G	

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

(74)代理人 100181641

弁理士 石川 大輔

(72)発明者 ハンソン, グンナール ジェイ.

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 1 1, ボセル, ノースイースト ボセル ウェイ 8 7 0 0

(72)発明者 ルドルフ, アレクサンダー チャールズ

アメリカ合衆国 ワシントン 9 8 0 6 5, スノコルミー, メルローズ レーン エス. イー . 7 8 0 1

(72)発明者 カイ, バオ ジョン

アメリカ合衆国 オレゴン 9 7 3 3 0, コーバリス, エヌ. ダブリュー. ジャニス プレース 4 7 3 6

(72)発明者 チョウ, ミン

アメリカ合衆国 テキサス 7 5 0 1 9, コッペル, ウォータービュー ドライブ 4 3 3

(72)発明者 ウェラー, ドワイト ディー.

アメリカ合衆国 オレゴン 9 7 3 3 0, コーバリス, エヌ. ダブリュー. エルムウッド ドライブ 3 3 2 3

Fターム(参考) 4B024 AA01 CA20

4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA05 NA14 ZA81 ZA94 ZB33 ZB35

4H050 AA01 AA03 AB29