

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7610208号
(P7610208)

(45)発行日 令和7年1月8日(2025.1.8)

(24)登録日 令和6年12月24日(2024.12.24)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54
A 6 1 K	9/51 (2006.01)	A 6 1 K	9/51
A 6 1 K	47/24 (2006.01)	A 6 1 K	47/24
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
請求項の数 23 (全106頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-559491(P2021-559491)	(73)特許権者	521438102
(86)(22)出願日	令和2年3月23日(2020.3.23)		インテグレイテッド ナノセラピューテ
(65)公表番号	特表2022-528699(P2022-528699		イクス インコーポレイテッド
	A)		INTEGRATED NANOTHE
(43)公表日	令和4年6月15日(2022.6.15)		RAPEUTICS INC.
(86)国際出願番号	PCT/CA2020/000039		カナダ国, プリティッシュコロンビア州
(87)国際公開番号	WO2020/191477		ヴィ5ジー 4エックス4, バーナビー
(87)国際公開日	令和2年10月1日(2020.10.1)		, ウェイパーン ドライブ 4475,
審査請求日	令和5年3月10日(2023.3.10)		スイート 205
(31)優先権主張番号	62/822,226		Suite 205, 4475 Way
(32)優先日	平成31年3月22日(2019.3.22)		burne Drive Burnaby
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(73)特許権者	300066874
			ザ・ユニバーシティ・オブ・プリティッ
			シュ・コロンビア
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 足場部分から調製した脂質結合体

(57)【特許請求の範囲】

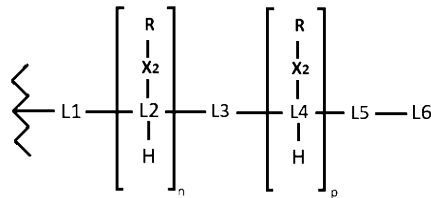
【請求項1】

1つまたはそれ以上のR炭化水素鎖を結合するための、足場である骨格Lを有する分岐脂質部分を含む、脂質結合体であって、

前記脂質部分は、式IId：の構造を有する：

式IId：

【化1】



10

式中、L1の末端部分は関心分子(M)に直接的に、あるいは1またはそれ以上のヘテロ原子を有するリンカー領域を介して化学的に連結しており、前記関心分子(M)は、薬物、ポリマー、抗体、ペプチド、または遺伝物質であり；

L脂質足場炭素骨格は、L1+L2_n+L3+L4_p+L5+L6で示され、Lは8~40の炭素原子および0~2のシスまたはトランスC=C二重結合を含み；

L1は5~30の炭素原子を有する直鎖炭化水素鎖であり、L1は0~2のシスまたは

20

トランス C = C 二重結合を有してもよく；

L 2 はそれぞれ炭素原子であり、L 4 は、存在する場合、それぞれ炭素原子であり、L 中に存在する L 2 と L 4 の炭素原子がそれぞれの X 2 基を介して結合された各炭化水素 R 基の分岐点であり；

L 3 は 0 ~ 20 の炭素原子を有する直鎖炭化水素鎖であり、0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を含み；

L 5 は 20 以下の炭素原子を有する直鎖炭化水素鎖であり、0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を含み；

L 6 は -CH₃、または =CH₂ であり；

前記 L 脂質足場炭素骨格の L 2_n + L 3 + L 4_p + L 5 + L 6 部分は少なくとも 3 の炭素原子を有し；

10

各 R は、独立して、2 ~ 30 の炭素原子および 0 ~ 2 個のシスまたはトランスの C = C 二重結合を有する直鎖状または分岐状の炭化水素鎖であり、R の 1 またはそれ以上が分岐している場合には、それぞれの分岐点は X 2 官能基を含み；

n + p が、1 ~ 8 であり、n は、1 であり；

式中、各 X 2 は、独立して、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、または尿素であり；および

20

前記結合体がイオン化可能な脂質ではない。

【請求項 2】

X 2 が、独立して、患者への投与後に生分解性を示す基である、請求項 1 に記載の結合体。

【請求項 3】

X 2 が、独立して、カルバメート、エーテルまたはエステルのリンケージである、請求項 1 に記載の結合体。

【請求項 4】

L が、L 1 において結合体中の前記関心分子 (M) に M - X 1 - L を形成するために X 1 で結合しており、X 1 が、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、および尿素からなる群から選択される官能基；または、

30

前記リンカーは前記官能基を有し、

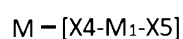
前記リンカーは、アミノヘキサン酸、ポリグリシン、ポリアミド、ポリエチレン、または炭素原子の長さが 1 ~ 12 である炭素骨格を有する官能化ポリマーを有していてもよく；または

40

前記関心分子 (M) およびリンカーは、式 I V、I V a または I V b を有し、

式 I V：

【化 2】

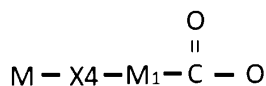


X 4 および X 5 は、それぞれ独立して前記官能基から選択され、M₁ は、X 4 および X 5 の官能基に連結された任意のスペーサ基であり、0 ~ 12 の炭素原子を有するか、または CH₂、CH₂CH₂、N - アルキレン、N - アシリデン、O または S であり、X 4 および X 5 は独立して、1 ~ 20 の反復単位であってもよく、または X 4 - M₁ - X 5 単位は 1 ~ 20 の任意選択で繰り返し単位であってもよく；

50

式 I V a :

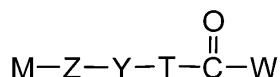
【化 3】



X 4 は、エステル、アミド、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメートおよびホスホジエステル基からなる群から選択され、M₁ は、0 ~ 12 の炭素原子を有するか、または CH₂、CH₂CH₂、N - アルキレン、N - アシリデンまたは O であるリンカーのスペーサ領域であり；

式 I V b :

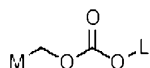
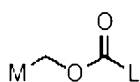
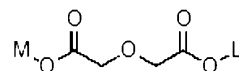
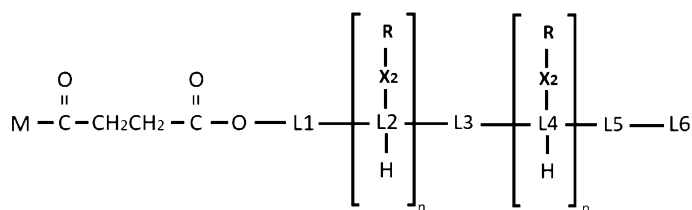
【化 4】



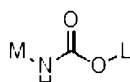
Z は O または N であり、Y は CH₂、CH₂CH₂ または C = O であり、T は 0 ~ 6 の炭素原子であり、W は O または N であり、

任意選択で、前記脂質結合体は、以下のいずれか一つの構造を有する、

【化 5】



または



請求項 1 または 2 に記載の結合体。

【請求項 5】

L が、L 1 において結合体中の関心分子 (M) に M - X 1 - L を形成するために X 1 で結合しており、X 1 が、アルカン、アルケンもしくはアルキンから選択される炭素系官能基を含む、請求項 1 または 2 に記載の結合体。

【請求項 6】

X 1 が、エステル、エーテル、カルバメートまたはコハク酸である、請求項 4 に記載の結合体。

【請求項 7】

L 1 が、5 ~ 25 の炭素原子を有する、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の結合体。

【請求項 8】

L 1 が、5 ~ 20 の炭素原子を有する、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の結合体。

【請求項 9】

R が分岐し、各分岐点が、独立して、エステル、エーテルまたはカルバメートから選択される、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の結合体。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の結合体を作製する方法であって、

脂質部分を提供する工程、但し、前記脂質部分が、内部炭素原子に連結した水酸基、および/またはアミノ基から選択される 1 またはそれ以上の反応性基を有する脂質に由来し

10

20

30

40

50

、前記脂質部分が、1またはそれ以上のR炭化水素鎖を結合するための、足場である骨格Lとして働き、
R炭化水素鎖を含む少なくとも1つのアシル脂質、または、式I I dのR炭化水素鎖を含むアシル化剤を、1またはそれ以上の反応性基と反応させる工程、
を含み、
これによって式I I dのL 2またはL 4、またはL 2とL 4の両方に結合されるX 2 - R部分を形成する、方法。

【請求項 1 1】

式I I dのpが、1である、請求項4、5または6に記載の結合体。

【請求項 1 2】

L 4 - X 2 - RのRが分岐しており、式I I dの構造を有する、請求項1 1に記載の結合体。

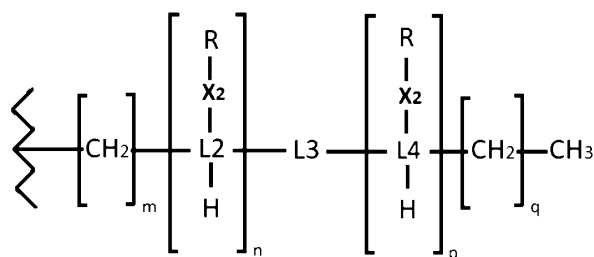
【請求項 1 3】

1つまたはそれ以上のR炭化水素鎖を結合するための、足場である骨格Lを有する分岐脂質部分を含む、脂質結合体であって、

前記脂質部分は、式I I eの構造を有する：

式I I e：

【化 6】



式中、[CH₂]_mの末端部分は関心分子(M)に直接的に、あるいは1またはそれ以上のヘテロ原子を有するリンカー領域を介して化学的に連結しており、前記関心分子(M)は、薬物、ポリマー、抗体、ペプチド、または遺伝物質であり；

Lは、[CH₂]_m - L_{2n} - L₃ - L_{4p} - [CH₂]_q - CH₃で示され、Lの炭素原子の総数は、8～30であり；

L 2はそれぞれ炭素原子であり、L 4は、存在する場合、それぞれ炭素原子であり、L中に存在するL 2とL 4の炭素原子がそれぞれのX 2基を介して結合された各炭化水素R基の分岐点であり；

mは、5～20、nは、1～4、pは、0～4、n + pは、1～4であり；

L 3は、0～10の炭素原子を有する直鎖炭化水素鎖であり、0～2のシスあるいはトランスC = Cを有し；

X 2は、独立して、エーテル基、エステル基およびカルバメート基から選択され；

qは整数であり、前記L脂質足場炭素骨格のL 3 - L 4_p - [CH₂]_q - CH₃部分は少なくとも3の炭素原子を有し；

各Rが、独立して：

(a) 0～5のシスまたはトランスC = Cおよび2～30の炭素原子を有する直鎖状または分岐状の末端炭化水素鎖であり、各Rが、その炭化水素鎖の任意の炭素原子において、それぞれのX 2の1つに結合しており；または

(b) L'で示される足場を有する式I I bの分岐構造を有し；

式I I b：

10

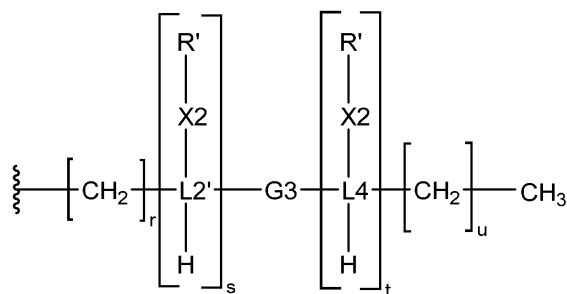
20

30

40

50

【化 7】



10

式中、 L' は、 $\left[\text{CH}_2 \right]_r - \text{L}2'_s - \text{G}_3 - \text{L}4_t - \left[\text{CH}_2 \right]_u - \text{CH}_3$ で表され、 $\text{L}2'$ は、存在する場合、炭素原子であり、ここで、 L の炭素原子の総数は、3 ~ 30 であり；

r は、0 ~ 20、2 ~ 20、3 ~ 20 または 4 ~ 20 であり；

s は、0 ~ 4、 t は、0 ~ 4； $s + t$ は、1 ~ 4 または $s + t > 1$ であり；

u は、1 ~ 20 であり；

G_3 は、0 ~ 10 の炭素原子で、0 ~ 2 のシスまたはトランス $\text{C} = \text{C}$ を有し；

式 I I b の各 R' は、独立して、0 ~ 5 のシスまたはトランス $\text{C} = \text{C}$ および 1 ~ 30 の炭素原子を有する直鎖状または分岐状の末端炭化水素鎖であり；

式 I I b の R' 炭化水素鎖の総数は、1 ~ 16 であり；

20

脂質部分中の R および R' 炭化水素鎖の各々が、ヘテロ原子で置換されていてもよいが、但し、その場合は、 R および R' 炭化水素鎖中で 8 以下のヘテロ原子が置換され、結合体の予測または実験 $\log P$ が 5 を超え；および

脂質結合体はイオン化可能な脂質ではない。

【請求項 14】

請求項 1 ~ 9 および 11 ~ 13 のいずれか一項に記載の結合体を含む製薬、栄養、化粧品、洗浄または食品製品。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 9 および 11 ~ 13 のいずれか一項に記載の前記結合体を含むナノ粒子。

【請求項 16】

前記ナノ粒子が脂質ナノ粒子である、請求項 15 に記載のナノ粒子。

30

【請求項 17】

前記ナノ粒子が、1 つまたはそれ以上の二重層を含む、請求項 15 に記載のナノ粒子。

【請求項 18】

前記脂質結合体のカプセル化効率が、少なくとも 80 % であり、前記ナノ粒子の多分散性 (PDI) が、0.15 未満である、請求項 15 ~ 17 のいずれか一項に記載のナノ粒子。

【請求項 19】

前記脂質結合体が、ナノ粒子中の疎水性油相に存在するか、または球状電子密度としてナノ粒子の膜に存在する、請求項 15 ~ 18 のいずれか一項に記載のナノ粒子。

40

【請求項 20】

ヒト血清中で、*in vitro* で 2 時間インキュベートした後にナノ粒子と残存する脂質結合体の割合が、30 ~ 100 mol % である、請求項 15 ~ 19 のいずれか一項に記載のナノ粒子。

【請求項 21】

ヒト血清中で、*in vitro* で 2 時間インキュベートした後にナノ粒子と残存する脂質結合体の割合が、60 ~ 100 mol % である、請求項 15 ~ 19 のいずれか一項に記載のナノ粒子。

【請求項 22】

ヒト血清中で、*in vitro* で 2 時間インキュベートした後にナノ粒子と残存する

50

脂質結合体の割合が、 $80 \sim 100 \text{ mol} \%$ である、請求項15～19のいずれか一項に記載のナノ粒子。

【請求項23】

前記ナノ粒子が、第2の関心分子(M)を含む追加の脂質結合体をさらに含む、請求項15～19のいずれか一項に記載のナノ粒子。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明では、脂質結合体、脂質結合体の製剤、およびそのような結合体を調製するための前駆体分子を提供する。

【背景技術】

【0002】

多くの薬物は、癌、自己免疫疾患および他の疾患を治癒させる可能性を有するが、疾患サイトに到達しないという理由から、それらの治療効果が得られないことがある。例えば、薬物が静脈内に投与される場合、ほんの少量(例えば、 0.1% 未満)の薬物のみが実際にその標的に到達することが多く、残りの薬物は身体の他部分全体に分布し、治療効果の低下、ならびに望ましくない副作用につながる。

【0003】

脂質ナノ粒子(LNP)およびポリマーベースの媒体を含む薬物送達システムは、この問題を克服する可能性を有する。このシステムでは、薬物をカプセル化し、腫瘍サイトまたは炎症部位のような、治療を必要とする身体の一部を標的とすることを目的とする。この効果は、これらの疾病部位でしばしば存在する漏出性脈管構造およびリンパ排水障害を利用することによって達成することができる。機序にかかわらず、薬物を特定のサイトに局在させることにより、より高い薬効とより低い毒性が実現できるであろう。

【0004】

しかし、多くの既知の薬物送達媒体中には、ほんの少数の既知の薬物のサブセットしか組み込まれることができず、二重層を有するLNPの場合には、ローディング技術はほとんどが多段階、活ローディング技術に限られ、そして、通常、薬物がアミン基を有することを必要とする。1つの活ロード法では、LNPの内部は酸性に、外部pH値は生理的条件下に調節されるように、膜貫通pH勾配が確立されている。これらのLNPをインキュベートされた電荷をもたないアミン含有薬物は小胞内に拡散し、アミンのプロトン化によりLNP内部に電荷をもつようになる。帯電した薬物はもはや二重層を通過できず、LNP内部に捕捉される。しかし、広く処方され重要な薬の多くはアミン基をもたず、この方法を使ってシンプルにLNP内に封入して保持することはできない。したがって、多くの潜在的に効果的な薬物の治療上の利益は、大部分が実現されていないままである。

【0005】

より広い範囲の薬物を薬物送達媒体中に取り込まれやすくするための1つの方法は、それらを脂質部分と結合させることである。多くの薬物送達媒体は疎水性成分を含み、結合体上の脂質部分はこのような成分への薬物の取り込みを増強することができる。公知の方策では、脂肪酸の末端C1カルボキシル末端を薬物の水酸基またはアミン基と結合させる。たとえば、スクアレン、ステアリン酸、オレイン酸、パルミチン酸、DHA、リノレン酸、オクタデカン酸、ラウリン酸および α -トコフェロールのような脂肪酸を、特定の薬物と連結して、薬物-脂質結合体を生成する(Irby et al., 2017, "Lipid-Drug Conjugate for Enhancing Drug Delivery", Mol. Pharm. 14(5): 1325-1338)。薬物はまた、薬物と脂質との間のスペーサとして機能するリンカー基を介して脂質部分に結合させることもできる。そのような目的のためのリンカー基は当技術分野で公知であり、米国特許第5,149,794号明細書において記載され、参照として本明細書に援用する。

【0006】

送達媒体からの薬物放出を制御する能力は、最適な治療効果を達成するための重要なフ

10

20

30

40

50

ァクターであり、疎水性化合物は、疎水性の低いものよりも、送達媒体の膜または他の疎水性成分とともに滞留することが一般に知られている。したがって、薬物 - 脂質結合体の全体的な疎水性が、投与後の薬物送達媒体からのその放出能に影響を及ぼし得る。臨床応用においては、薬物 - 脂質結合体が、遠位腫瘍のような疾病部位に到達するために血流中で長い循環寿命を示すことが必要であり、薬物が、可能な限り長く、送達媒体と安定して結合したままであることが重要である。局所送達を必要とするようなその他の臨床応用では、より迅速な放出を必要とすることがある。しかし、実際的な観点からは、分子の疎水性を正確に調整することは困難なことが多い。

【 0 0 0 7 】

本発明者らは、多くの潜在的に効果的な薬物の臨床使用を可能にするために、薬物 - 結合体に所望の物性を付与する簡単で広く適用可能な方法を同定した。このような方法は、薬物以外にも、他のさまざまな対象分子に適用できる。例として、親水性ポリマー、遺伝物質、ポリペプチドおよび抗体などの蛋白質、ならびに他の対象となる分子が挙げられる。

【 0 0 0 8 】

本開示の組成物および方法は、この問題に対処し、および / またはこれまでに開示されたものに対する有益な代替物を提供しようとする。

【 発明の概要 】

【 0 0 0 9 】

本明細書に記載される実施形態では、“ L ” と称される足場分子を提供し、L は 1 つ以上の基が結合体され得る脂質結合体の脂質部分の炭素骨格を形成する。L の炭素骨格は 5 ~ 40 あるいは 5 ~ 30 の炭素原子を有し、1 あるいはそれ以上のシスあるいはトランス C = C 二重結合を有することができる。L は分子骨格として機能できるという意味でモジュール型であり、炭化水素基 (R および / または R ') および関心分子 (M) (限定することなしに、薬物部分 (D) またはポリマー (リンカーを介し得る)) の様々な組合せを、その炭素骨格に沿ってそれぞれの官能基を介して結合させることができる。

【 0 0 1 0 】

1 つの実施形態において、本明細書に記載される発明の手法は、プロドラッグなどの対象分子の疎水性をより正確に調整することを可能にする。足場 L への結合のための適切な炭化水素 R を選択することにより、関心分子を、所望のオクタノール / 水 L o g P 値を有するように設計することができるが、これに限定されない。

【 0 0 1 1 】

薬物といった関心分子や他の対象分子の疎水性をより正確に調整できると、優位性がある。発明者らは、特定の送達媒体への添加を 100 % 封入に近づけることができるような疎水性を有する脂質結合体を設計することができることを、限定することなしに、実施形態において示している。さらに、患者への投与後に送達媒体中に脂質結合体を保持させることも、より正確に制御できる。たとえば、本明細書に記載される特定の脂質結合体の予測 L o g P 値は、一般的に、薬物送達媒体におけるそれらの保持能と相関することが見出されている。このように、本明細書に記載される適切な R 基の選択などにより、プロドラッグの L o g P 値を調整することにより、薬物放出のより正確な制御が達成できる。

【 0 0 1 2 】

一般に、対象分子の脂質部分は結合体の全体的な疎水性を左右する。したがって、プロドラッグへの取り込みに向けて広範囲の化合物を選択することができる。これには、薬物、高分子およびその他の分子が含まれる。

【 0 0 1 3 】

本明細書では、脂質結合体を含む新規な医薬および薬物送達組成物も記載される。この結合体は、薬学的に受容可能な塩類および / または賦形剤を含む医薬組成物、または医薬組成物の構成要素を形成する薬物送達媒体に組み込むことができる。あるいは、結合体は、食品、栄養剤、化粧品または洗浄用品を含む民生品に組み込むことができるが、これらに限定されない。

10

20

30

40

50

【 0 0 1 4 】

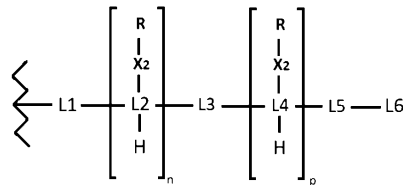
本明細書に記載されているように、本開示は、脂質結合体を組み込んだ L N P 製剤が膜で球状の電子密度領域を示すという知見にも基づいている。そのような実施形態において、脂質ナノ粒子は、2 層、すなわち脂質結合体と、脂質結合体で構成される疎水性油相と、を含む。1 つの実施形態において、脂質ナノ粒子はリポソームであり、さらなる実施形態において、脂質結合体は、以下に示す式 I、I a、I I または I I a の構造を有する。

【 0 0 1 5 】

特定の実施形態において、1 つあるいはそれ以上の R 炭化水素鎖をリンケージさせる足場である、足場 L を有する分岐脂質部分を含む脂質結合体が開示され、脂質部分は、式 I I d :

【 0 0 1 6 】

【 化 1 】



【 0 0 1 7 】

の構造を有し、

式中、L 脂質足場は、L 1 + L 2 + L 3 + L 4 + L 5 + L 6 で示され、L は 5 ~ 4 0 の炭素原子および 0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を含み；

L 1 は、3 ~ 3 0 の炭素原子を有する炭素鎖であり、L 1 は 1 以上のシスまたはトランス C = C 二重結合、または 0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を有してもよく；

L 2 と L 4 はそれぞれ炭素原子であり；

L 3 は 0 ~ 2 0 の炭素原子であり、0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を含み；

L 5 は、0 ~ 2 0 の炭素原子を有し、0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を含み；

L 6 は - C H 3、= C H 2 または H であり；

各 R は、独立して、0 ~ 3 0 の炭素原子および 0 ~ 2 のシスまたはトランスの C = C 二重結合を有する直鎖状または分岐状の炭化水素鎖であり、R の 1 つ以上が分岐している場合には、それぞれの分岐点は X 2 官能基を含み；

n が 0 ~ 8、p が 0 ~ 8 であり、n + p が 1 または 1 ~ 8 であり；

各 X 2 は、独立して、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスフェート、ホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンを含む炭素系官能基、メチレン (C H 2) または尿素であるか；

または X 2 が少なくとも 1 つの水素結合を含むリンケージであり；

結合体がイオン化可能な脂質ではない。

【 0 0 1 8 】

特定の実施形態では、X 2 は独立して、患者への投与後に生分解性を示す基である。X 2 は独立してカルバミン酸、エーテルまたはエステルのリンケージであり得る。

【 0 0 1 9 】

さらなる実施形態において、L は、L 1 で結合体の関心分子 M に、X 1 によって連結され M - X 1 - L を形成し、X 1 は、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデート

10

20

30

40

50

、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスフェート、ホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンを含、炭素系官能基、メチレン（ CH_2 ）または尿素であるか；

またはLが脂質結合体のLとMの水素結合により関心分子に連結している。実施形態によっては、X 1 はエステル、エーテルまたはカルバメートである。

【0020】

別の実施形態では、X 1 によって、第2のLが注目する分子に連結される。第2のLは式II dの構造を有していてもよい。

【0021】

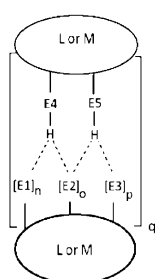
1つの実施形態では、L 1 は3～30の炭素原子を有するか、あるいは4～30の炭素原子を有する。

【0022】

さらにまた別の実施形態では、Lは脂質結合体のLとMの水素結合によって関心分子Mに連結され、L - X 1 - Mは、式V：

【0023】

【化2】



【0024】

の構造を有し、

式中、E 1、E 2、E 3、E 4およびE 5は、独立して、O、NおよびPから選択される電気陰性原子であり；

E 1、E 2およびE 3は、水素結合受容体であり、E 4およびE 5は、水素結合供与体であり；

点線は水素結合、実線は共有結合を示し；

Lは脂質部分の脂質足場であり；

nは0または1、oは0または1、pは0または1であり、 $n + o + p = 2$ であり；

qは、1～10または2～10または4～10であり；

Lは、脂質部分の脂質足場であり；

Mは、関心分子であり；

E 1およびE 3は、それぞれアルキル、アリール、アルキレンまたはHから選択され、それに連結された置換基を有していてもよい。

【0025】

1つの実施形態では、少なくとも1つのRが分岐し、Rのそれぞれの分岐点が独立してエステル、エーテルまたはカルバメートから選択される。

【0026】

別の代替実施形態では、脂質部分が、非円筒形であり、L 1 からL 6 への向きに、フレア状または円錐台状である。

【0027】

1つの実施形態によれば、X 2 は、ジスルフィドまたはチオエーテル基ではない。

【0028】

さらなる代替実施形態によれば、脂質部分は、脂質部分中の足場炭素鎖として機能する

10

20

30

40

50

ための、その内部炭素原子に連結した水酸基、アミノ、および/またはアミドから選択される1つ以上の反応基を有する脂質に由来し、炭化水素構造中の少なくとも1つの他の炭化水素鎖はアシル脂質に由来し、X1リンケージは、足場炭素鎖上の反応基とアシル鎖のカルボン酸との反応によって形成される。

【0029】

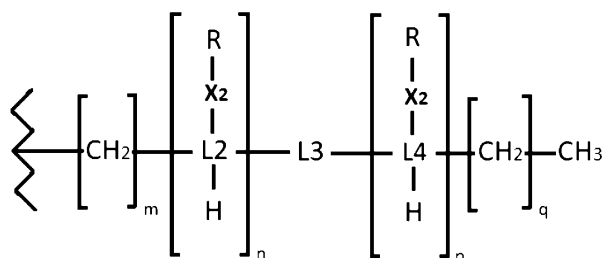
本明細書では、1以上のR炭化水素鎖の結合のための足場である骨格Lを有する分岐脂質部分を含む脂質結合体をさらに提供し、この脂質部分は、

式IIe:

【0030】

【化3】

10



【0031】

の構造を有し、

20

式中、Lは、 $[CH_2]_m - L_2 - L_3 - L_4 - [CH_2]_q - CH_3$ と示され、L中の炭素原子の総数は5～30であり；

L2およびL4は炭素原子；

mは0～20、nは1～4、pは0～4、n+pは1～4であり；

L3は、0～10の炭素原子であり、0～2のシスまたはトランスC=Cを有し；

X2は、独立して、エーテル、エステルおよびカルバミン酸基から選択され；

各Rが、独立して；

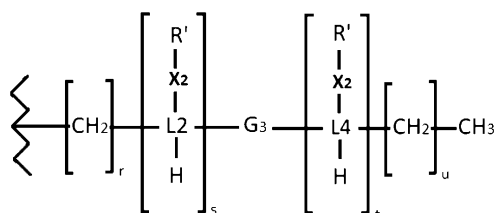
(a) 0～5のシスまたはトランスC=Cと1～30の炭素原子をもつ直鎖または分岐した末端炭化水素鎖であり；各Rがその炭化水素鎖の任意の炭素原子でそれぞれのX2の1つに連結しているか；または、

30

(b) L'で示される足場を有する式IIbの分岐構造；

【0032】

【化4】



40

【0033】

式中、L'は、 $[CH_2]_r - L_2 - G_3 - L_4 - [CH_2]_u - CH_3$ で示され、Lの炭素原子総数は、3～30であり；

rは、0～20、2～20、3～20または4～20であり；

sは、0～4、tは0～4、s+tは>1または1～4であり；

uは、1～20であり；

G3は、0～10の炭素原子であり、0～2のシスあるいはトランスC=Cを有し；

式IIbの各R'は、独立して、0～5のシスまたはトランスC=Cおよび1～30の炭素原子を有する直鎖状または分岐状の末端炭化水素鎖であり；

50

式 I I b 中の R' 炭化水素鎖の総数は 1 ~ 16 であり；

脂質部分中の R および R' 炭化水素鎖の各々がヘテロ原子で置換されていてもよいが、但し、その場合は、R および R' 炭化水素鎖中で 8 以下のヘテロ原子が置換され、結合体の予測または実験 log P が 5 を超え；

脂質結合体はイオン化可能な脂質ではない。

【0034】

上述の実施形態のいずれかによれば、足場脂質 L はヒドロキシ脂質に由来する。

【0035】

さらに別の実施形態では、脂質結合体は、図 1 に示される脂質結合体のいずれか 1 つの構造を有する。

【0036】

さらなる態様によれば、上述の結合体を含む医薬組成物が提供される。たとえば、結合体は、脂質粒子などのナノ粒子中に処方され得る。別の実施形態によると、ナノ粒子は 1 つ以上の二重層を含む。

【0037】

さらに、がんまたは感染症を治療するための方法であって、上述の結合体を投与することを含む方法を提供する。

【0038】

さらなる実施形態によれば、式 I：

M - X1 - [L] - X2 - R

の構造を有するプロドラッグが提供され、

式中、

M は、薬物部分 D であり；

X1 は、L の任意の炭素原子に D を共有結合させる化学リンケージであり；

L は、5 ~ 40 の炭素原子を有し、シスまたはトランス C = C 二重結合を 1 以上有していてもよい足場炭素鎖であり；

X2 は、L の任意の炭素原子に R を共有結合させる化学リンケージであり；

R は、1 ~ 40 の炭素原子を有し、1 以上のシスまたはトランスの C = C 二重結合を有していてもよい直鎖状または分岐状の炭化水素であり；

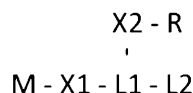
X1 および X2 は、官能基またはリンカーから独立して選択される。

【0039】

さらなる実施形態によれば、式 I a：

【0040】

【化 5】



【0041】

の構造を有する上述のプロドラッグが提供され、

式中、

L1 - L2 は、5 ~ 40 の炭素原子を有する足場炭素鎖 L であり；

L1 は、5 ~ 40 の炭素原子を有し、シスまたはトランス C = C 二重結合を 1 以上有していてもよい炭素鎖であり；

L2 は、L から L1 炭素原子を差し引いた炭素鎖であり、1 個以上のシスまたはトランスの C = C 二重結合を有していてもよく、X2 は、L2 上の任意の炭素原子において R を L2 に共有結合させる。

【0042】

一部の実施形態では、プロドラッグの log P が少なくとも 5 である。

【0043】

10

20

30

40

50

別の実施形態では、プロドラッグはさらに、化学リンケージ X 2 を介して L に共有結合した 1 ~ 40 の炭素原子を有する第 2 の R 炭化水素側鎖を含む。

【0044】

プロドラッグはさらに、化学リンケージ X 2 を介して L に共有結合した 1 ~ 40 の炭素原子を有する第 3 の側鎖 R を含み得る。

【0045】

プロドラッグは、X 2 リンケージを介して第 1 の R に連結される R' 側鎖を含み得る。プロドラッグは、X 2 リンケージを介して別の R に連結されたさらなる R' 側鎖を含み得る。

【0046】

X 1 リンケージおよび X 2 リンケージは、独立して、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、ジスルフィド、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスフェート、ホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンを含む炭素系官能基、メチレン (CH₂) または尿素から選択される 1 以上の官能基を含むリンケージから選択され得る。

10

【0047】

プロドラッグの X 1 リンケージおよび X 2 リンケージは、患者への投与後に生分解性を示す少なくとも 1 つの基を含み得る。

20

【0048】

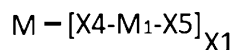
1 つの実施形態でのプロドラッグ X 1 はリンカーであり、生分解性であってもよい。

【0049】

式 I または I a の (M - X 1) 部分は、以下の式 I V :

【0050】

【化 6】



【0051】

を有し得る。

30

式中、X 4 および X 5 は、独立して、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、ジスルフィド、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホラミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスフェートホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンを含む炭素系官能基、メチレン (CH₂) または尿素から選択され、M 1 は、X 4 および X 5 官能基に連結され、0 ~ 12 の炭素原子を有する任意のスペーサ基であるか、または M 1 は、CH₂、CH₂CH₂、N - アルキル、N - アシル、O または S であってもよい。

40

【0052】

いくつかの実施形態において、R は - CMe₃、- Me、または 2 ~ 40 の炭素原子を有する直鎖状炭素鎖であり、1 ~ 6 のシスまたはトランス二重結合を有していてもよい。

【0053】

薬物部分 D は、抗癌剤または免疫調節剤に由来し得る。

【0054】

薬物部分 D は、ドセタキセル、デキサメタゾン、メトトレキソン、NPC1I、アピラテロン、プレドニゾン、プレドニゾロン、ルキシロチニブ、トファシチニブ、カルシトリオール、カルシフェジオール、コレカルシフェロール、シロリムス、タクロリムス、アセチルサリチル酸、ミコフェノール酸、カバジタキセル、ベタメタゾン、および、CY09

50

(4 - [4 - オキソ - 2 - チオキソ - 3 - [3 - (トリフルオロメチル)フェニル]メチル] - 5 - チアゾリジニリデン]メチル)安息香酸]、INT - MA 0 1 4またはMCC 9 5 0 (N—(1 , 2 , 3 , 5 , 6 , 7 - ヘキサヒドロ - s - インダセン - 4 - イルカルバモイル) - 4 — (2 - ヒドロキシ - 2 - プロパニル) - 2 - フランスルホンアミド)を含むNLRP3阻害剤またはそれらの誘導体、カンナビゲロール、カンナビクロメン、カンナビジオール、カンナビジバリン、カンナビシクロール、カンナビシトラン、カンナビエルソイン、カンナビノール、テトラヒドロカンナビノール、またはテトラヒドロカンナビバリンなどのカンナビノイドに由来し得る。

【 0 0 5 5 】

プロドラッグは、INT - D 0 3 4、INT - D 0 3 5、INT - D 0 4 5、INT - D 0 4 6、INT - D 0 4 7、INT - D 0 4 8、INT - D 0 4 9、INT - D 0 5 0、INT - D 0 5 1、INT - D 0 5 0、INT - D 0 5 1、INT - D 0 5 5、INT - D 0 5 6、INT - D 0 5 7、INT - D 0 5 8、INT - D 0 5 9、INT - D 0 6 0、INT - D 0 6 1、INT - D 0 6 2、INT - D 0 6 3、INT - D 0 6 4、INT - D 0 6 5、INT - D 0 6 6、INT - D 0 6 7、INT - D 0 5 3、INT - D 0 6 8、INT - D 0 6 9、INT - D 0 7 0、INT - D 0 7 1、INT - D 0 7 2、INT - D 0 7 3、INT - D 0 7 4、INT - D 0 7 5、INT - D 0 7 6、INT - D 0 7 7、INT - D 0 7 8、INT - D 0 7 9、INT - D 0 8 0、INT - D 0 8 1またはINT - D 0 8 2、とすることができる。

【 0 0 5 6 】

さらに、式 I :

M - X 1 - [L] - X 2 - R

の構造を有するプロドラッグをさらに提供する :

式中、

Mは、抗癌剤または免疫調節剤に由来する薬物部分Dであり ;

X 1 は、L上の任意の炭素原子にDを共有結合させる1つ以上の生分解性基を含むリンカーであり ;

Lは、16 ~ 20の炭素原子を有し、シスまたはトランスC = C二重結合を1以上有していてもよいヒドロキシ脂肪酸に由来する足場炭素鎖であり ;

X 2 は、Lの任意の炭素原子にSを共有結合させる化学リンケージであり ;

Rは、1 ~ 25の炭素原子を有し、シスまたはトランスC = C二重結合を1以上有していてもよい直鎖または分岐状の炭化水素であり、アシル鎖に由来し、

Rはあらかじめ規定されたLogP値をプロドラッグに与える。

【 0 0 5 7 】

さらに、プロドラッグの調製において使用される、式 I I I :

R G - [L] - X 2 - R

を有する前駆体足場分子Pを提供する。

R Gは、O、C、N、P、S、SiまたはBから選択される少なくとも1つの反応性原子を含む反応性官能基であり ;

Lは、5 ~ 40の炭素原子を有する足場炭素鎖で、シスあるいはトランスのC = C二重結合を1以上有していてもよく、

X 2 は、RをLの任意の炭素原子に共有結合させる化学リンケージであり、

Rは、1 ~ 40の炭素原子を有する炭化水素であり、シスまたはトランスC = Cの二重結合を1以上有していてもよい。

【 0 0 5 8 】

さらに、式 I I I a :

【 0 0 5 9 】

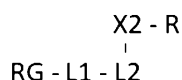
10

20

30

40

【化 7】



【0060】

の前駆体分子 P が挙げられる。

式中、

L1 - L2 は、5 ~ 40 の炭素原子を有する足場炭素鎖 L であり；

L1 は、5 ~ 30 の炭素原子を有し、シスまたはトランスの C = C 二重結合を 1 またはそれ以上を有していてもよい炭素鎖であり；

L2 は、L から L1 の炭素原子を引いた炭素鎖であり、シスまたはトランス C = C 二重結合を 1 以上有していてもよく；

X2 は、L2 上の任意の炭素原子において R を L2 に共有結合させる。

【0061】

RG は、ヒドロキシル基、アミンまたはカルボキシル基であってもよく、1つの実施形態では、X2 はエステル基である。R はアシル鎖に由来し得る。1つの実施形態では、それによって形成される第1および第2のリンケージはエステルリンケージである。

【0062】

上記実施形態のいずれかによれば、足場脂質はヒドロキシ脂質に由来する。

【0063】

プロドラッグを調製するための方法であって、上述実施形態のいずれかで定義される前駆体分子を提供すること；および前駆体分子を薬物 D、リンカー、または薬物 - リンカーに結合させてプロドラッグを生成することを含む、プロドラッグを調製するための方法をさらに提供する。

【0064】

上述の前駆体分子から生成されるプロドラッグをさらに提供する。

【0065】

さらに、がん、自己免疫疾患または感染を治療するための方法であって、上述の実施形態のいずれか1つのプロドラッグを投与することを含む方法を提供する。

【0066】

さらに、上述の実施形態のいずれか1つの脂質結合体を含む医薬組成物を提供する。追加の実施形態において、上述実施形態の1つのプロドラッグを含むナノ粒子を提供する。別の実施形態では、ナノ粒子はリポソームである。

【図面の簡単な説明】

【0067】

【図1A】足場分子 L に基づき特定の実施形態に従って調製できる種々のプロドラッグを示す。

【図1B】足場分子 L に基づき特定の実施形態に従って調製できる種々のプロドラッグを示す。

【図1C】足場分子 L に基づき特定の実施形態に従って調製できる種々のプロドラッグを示す。

【図2A】リシノレイル脂質足場に基づき特定の実施形態に従って調製することができる種々のプロドラッグを示す。

【図2B】リシノレイル脂質足場に基づき特定の実施形態に従って調製することができる種々のプロドラッグを示す。

【図2C】リシノレイル脂質足場に基づき特定の実施形態に従って調製することができる種々のプロドラッグを示す。

【図2D】リシノレイル脂質足場に基づき特定の実施形態に従って調製することができる種々のプロドラッグを示す。

【図3A】リシノレイル脂質足場を含む種々のプロドラッグの化学構造を示す。

【図3B】リシノレイル脂質足場を含む種々のプロドラッグの化学構造を示す。

【図4】脂質ナノ粒子（LNP）製剤において、種々のモルパーセンテージ（10、20、30、40および80モル%）でリシノレイル+ヘキサノイル（INT-D034）に連結したデキサメタゾンを含むプロドラッグの電子顕微鏡写真を示す。

【図5】10mol%のプロドラッグ濃度のLNP製剤において、リシノレイル+ヘキサノイルに連結したデキサメタゾン（INT-D034；左側の図）およびリシノレイル+オレオイルに連結したデキサメタゾン（INT-D035；右側の図）を含むプロドラッグの電子顕微鏡写真を示す。

【図6A】ヒト血漿中にインキュベートした後の、LNP中に10mol%で処方された種々のリシノレイル-デキサメタゾンプロドラッグ（INT-D034、INT-D035、INT-D045、INT-D046、INT-DQ47、INT-D048、INT-D049、IMT-D050、INT-0051、INT-D085、INT-D086およびINT-D089）の、時間経過に伴う解離を示す。インキュベーション後0時間（左側のバー）と2時間（右側のバー）に、各LNP製剤中のプロドラッグの残存量を測定した。

10

【図6B】ヒト血漿中にインキュベートした後の、LNP中に10-99mol%で処方された種々のリシノレイル-デキサメタゾン（INT-D034、IMT-D045）またはリシノレイル-カルシトリオール（INT-D053、INT-D083）プロドラッグの、時間経過に伴う解離を示す。インキュベーション後0時間（左側のバー）と2時間（右側のバー）に、各LNP製剤中のプロドラッグの残存量を測定した。

20

【図6C】ヒト血漿中にインキュベートした後の、LNP中に99mol%で処方された種々のリシノレイル-デキサメタゾン（INT-D034、INT-D045）またはリシノレイル-カルシトリオール（INT-D053、INT-D083）プロドラッグの、時間経過に伴う解離を示す。インキュベーション後0時間（左側バー）と2時間（中央バー）および24時間（右側）に、各LNP製剤中のプロドラッグの残存量を測定した。

【図7A】マウス血漿中にインキュベートした後の、LNP中に10mol%で処方された種々のリシノレイル-デキサメタゾンプロドラッグ（INT-D034、INT-D035、INT-D045、INT-D046、INT-D047、INT-D048、INT-0049、D050、D050、D051、D085、およびD089）の、時間経過に伴う分解を示すグラフである。各LNP中のインタクトプロドラッグの相対量をインキュベーション後0時間（左バー）と2時間後（右バー）に超高压液体クロマトグラフィー（UPLC）で測定した。データはインキュベーション前の混合物におけるそれぞれの結合体の含量に対して正規化した。エラーバーは3組の別々の実験を表す。

30

【図7B】種々のLNP配合リシノレイル-デキサメタゾンプロドラッグ（INT-D034、INT-D035、INT-D045、INT-D046、INT-D047、INT-D048、INT-DQ49、INT-D050およびINT-D051）をマウス血漿中にインキュベーションした後の、遊離された遊離デキサメタゾンの時間経過に伴う遊離量を示すグラフである。プロドラッグはLNPに10mol%で処方し、2時間のインキュベーション後に遊離薬物を測定し、曲線下面積（AU）として報告した。エラーバーは3組の別々の実験を表す。

40

【図7C】LNP中に10-99mol%で処方された種々のリシノレイル-デキサメタゾン（INT-D034、INT-D045）またはリシノレイル-カルシトリオール（INT-D053、INT-D083）プロドラッグをマウス血漿中にインキュベートした後の、時間経過に伴う分解を示すグラフである。インキュベーション後0時間（左バー）と、2時間後（右バー）の各LNP中のインタクトプロドラッグ相対量を超高压液体クロマトグラフィー（UPLC）で測定した。データはインキュベーション前の混合物におけるそれぞれの結合体の含量に対して正規化した。エラーバーは3組の別々の実験を表す。

【図8】プロドラッグINT-D034およびINT-D035（D034およびD035）、遊離デキサメタゾン（Dex-21-P）、プロドラッグなし（対照）および無処置のLNP製剤をインキュベートした培養マクロファージ細胞株J774.2の炎症誘発

50

性サイトカインレベルを示す。グラフは、1、3または10 μ Mのデキサメタゾンに相当する用量で細胞を上記の成分とインキュベートし、続いて10 ng/mLのリボ多糖 (LPS) により一晩刺激した後、24時間インキュベートした後のサイトカインIL-1 β (上)、TNF α (中) およびIL-6 (下) の発現を示す。サイトカインレベルはqRT-PCRにより測定し、データは薬剤-脂質結合体なしの対照LNPで処理した細胞に対して正規化した。

【図9A】プロドラッグINT-D034およびINT-D035 (D034およびD035) のLNP製剤、遊離デキサメタゾン (Dex-21-P)、プロドラッグなし (対照) のLNPをインキュベートしたものと未処理のRaw264.7細胞の炎症誘発性サイトカインレベルを示す。グラフは、1、3または10 μ Mのデキサメタゾンに相当する用量で細胞を上記の成分とインキュベートし、続いて10 ng/mLのLPSにより一晩刺激した後、24時間インキュベートした後のサイトカインIL-1 β (上)、TNF α (中) およびIL-6 (下) の発現を示す。サイトカインレベルはqRT-PCRにより測定し、データは薬剤-脂質結合体なしの対照LNPで処理した細胞に対して正規化した。

10

【図9B】プロドラッグINT-D034、INT-D035、INT-D045、INT-D046、INT-D047、INT-D048およびINT-D049 (D034、D045、D046、D047、D048およびD049) のLNP製剤、遊離デキサメタゾン (Dex-21-P)、プロドラッグなし (対照) のLNPとインキュベートしたものと未処理のRaw264.7細胞の炎症誘発性サイトカインレベルを示す。グラフは、1または10 μ Mのデキサメタゾンに相当する用量で細胞を上記成分とインキュベートし、続いて10 ng/mLのLPSにより一晩刺激した後、24時間インキュベートした後のサイトカインIL-1 β の発現を示す。サイトカインレベルはqRT-PCRにより測定し、データは薬剤-脂質結合体なしの対照LNPで処理した細胞に対して正規化した。

20

【図10】図10は、混合リンパ球反応 (MLR) アッセイにおいて示される、10%~99%の種々のモル%でのデキサメタゾン (INT-D034およびINT-D045) およびカルシトリオール (INT-D053およびINT-D083) のプロドラッグの種々のLNP製剤におけるCD4+T細胞のパーセンテージ増殖を示す。C57BL/6雄マウス由来の骨髄由来樹状細胞 (BMDC) を、まず種々のモル%のデキサメタゾンまたはカルシトリオール結合体を含むLNPで48時間処理し、その後LPSで24時間インキュベートすることによって活性化した。次いで、それらを採取し、5:1または10:1のT-to-BMDC比率でBalb/cJ雄マウス (ジャクソン研究所) から単離されたCD4+T細胞と混合した。

30

【図11】図11は、異なる親薬物部分、すなわちデキサメタゾンおよびカルシトリオールに由来する2つの異なるプロドラッグをロードしたLNPの電子顕微鏡写真である。プロドラッグには、INT-D045とINT-D053 (左図)、INT-D045とINT-D068 (中央図)、INT-D045とINT-D083 (右図) が含まれていた。各プロドラッグは等モル濃度10 mol%でLNP中に処方された。

【図12】10 mol%で処方されたリシノレイル-デキサメタゾン (INT-D045) またはリシノレイル-カルシトリオール (INT-D053、INT-D068またはINT-D083) 結合体の、LNP中での個別または組み合わせでの解離を示す。各LNP製剤中の脂質-薬物結合体の残存量を、ヒト血漿中にインキュベーション後0時間 (左側のバー)、2時間 (中央のバー) および24時間 (右バー) に経時的に測定した。上のグラフは、単一または組合せ製剤中のデキサメタゾン結合体のレベルを示す。下のグラフは、単一または組合せ製剤中のカルシトリオール結合体のレベルを示す。データはインキュベーション前の混合物におけるそれぞれの結合体の含量に対して正規化した。

40

【図13】10 mol%のリシノレイル-デキサメタゾン (INT-D045) またはリシノレイル-カルシトリオール (INT-D053、INT-D068またはINT-D083) 結合体を、LNP中で個別にまたは組み合わせで処方したものの溶解を示すグラフである。各LNP中のインタクトプロドラッグの相対量を、マウス血漿中にインキュベ

50

ーション後 0 時間（左バー）、2 時間（中央バー）および 24 時間（右バー）で U P L C により測定した。上のグラフは、単一または組合せ製剤中のデキサメタゾン結合体のレベルを示す。下のグラフは、単一または組合せ製剤中のカルシトリオール結合体のレベルを示す。データはインキュベーション前の混合物におけるそれぞれの結合体の含量に対して正規化した。エラーバーは 3 組の別々の実験を表す。

【発明を実施するための形態】

【0068】

式 I の脂質結合体

本明細書に記載される脂質結合体は、プロドラッグであり得、特定の実施形態では、被験体への投与後に活性になり得る化合物を指す。しかしながら、薬物部分以外の他の関心分子 M は、本明細書中に記載されるようなポリマーなどの脂質部分に連結することができる。関心分子 M にかかわらず、脂質結合体は、分岐構造も同様に本明細書に記載される組成物に包含されるが、典型的には直鎖状である炭素鎖の足場 L を含む。関心分子 M は、いくつかの実施形態において直接的リンケージまたはリンカーを含み得る化学リンケージ X 1 を介して L に連結される。R 炭化水素は化学リンケージ X 2 を介して L と連結する。任意に、第 2 の R 炭化水素が X 2 化学リンケージを介して L に連結される。さらに、第 3 の R 炭化水素は、以下に記載されるような化学リンケージを介して任意に L に連結される。

【0069】

1 つの実施形態において、脂質結合体は、以下に示す式 I :

$M - X 1 - [L] - X 2 - R$

の構造を有する。

式中、

M は、薬物またはポリマーを含む関心分子であり；

X 1 は、M を L 上の任意の炭素原子に連結させる化学リンケージまたはリンケージであって、共有結合もしくはイオン結合、または水素結合もしくは結合を含み；

L は、5 ~ 40 の炭素原子をもつ足場炭素鎖で、1 以上のシスあるいはトランス C = C 二重結合を有してもよく；

X 2 は、R を L 上の任意の炭素原子に共有結合させる化学リンケージであり；

R は 1 ~ 40 の炭素原子を有する炭化水素であり、1 以上のシスまたはトランスの C = C 二重結合を有してもよく、

任意に、1 ~ 40 の炭素原子を有し、任意に 1 以上のシスまたはトランスの C = C 二重結合を有する第 2 の R 炭化水素を、X 2 化学リンケージを介して L と化学的に結合させてもよい。さらに、任意に、1 ~ 40 の炭素原子を有し、任意に 1 以上のシスまたはトランス C = C 二重結合を有する第 3 の R 炭化水素を、X 2 化学リンケージを介して L と化学的に結合させてもよい。

【0070】

任意に、側鎖 R' は、X 2 化学リンケージを介して炭化水素 R のいずれか 1 つに連結させてもよい。限定することなしに、第 2 の R' 側鎖は、X 2 リンケージを介して R 炭化水素に連結されてもよく、第 3 の R' は、化学リンケージ X 2 を介して炭化水素 R のいずれか 1 つに連結されてもよい。様々な他の組合せを当業者が容易に想定することができる。化学リンケージ X 2 は、以下に記載される任意の適切な官能基および / またはリンカー、ならびに当業者に公知の他のものを含み得る。

【0071】

さらなる実施形態において、R、および / または任意の追加の R または R' 基は、独立して、1 ~ 40 の炭素原子、2 ~ 30 の炭素原子または 5 ~ 25 の炭素原子を有する炭化水素鎖である。同様に、L 足場（後述）は、1 ~ 40 の炭素原子、2 ~ 30 の炭素原子、または 5 ~ 25 の炭素原子をもつことがある。

【0072】

図 1 のダイアグラムは、本明細書に記載される本発明の手法を用いて選択的に実施形態で作製することができる式 I、I a、I I および I I a の様々な異なる脂質結合体を絵的

に示すために提示される。図に示すように、関心分子Mまたは分子 - リンカー、R炭化水素および任意の第2のR炭化水素、または任意のさらなる第3のR炭化水素は、足場L上の様々な位置を占有して、オーダーメイドのプロドラッグを提供することができる。さらに記載されたように（かつ上述のように）、足場Lに連結された炭化水素Rの1つ以上は、それにさらに炭素系の側鎖が結合していてもよい。

【0073】

図1に示されている構造は、関心分子を足場分子Lに化学的に連結させるためにリンカーX1（「スペーサ」とも当技術分野で言及されている）を利用するが、任意に、関心分子Mを、X1官能基を介してLに直接結合させることができる。さらに、化学リンケージX1は、以下にさらに記載されるようなリンカーおよび1以上の官能基の任意の組合せを含み得る。

10

【0074】

特に、図1の構造Aは、足場分子Lを示し、この非限定的な例では、5～30の炭素原子を有し、末端炭素原子は、リンカーであるX1化学リンケージを介して関心分子Mに連結される。炭化水素RはX2リンケージを介して足場炭素鎖Lの内部炭素に連結している。

【0075】

図1の構造Bは、5～30の炭素原子を有する足場分子Lを示す。この足場分子では、末端の炭素原子が（関心分子Mとリンカーではなく）X2化学リンケージを介して炭化水素Rに連結している。関心分子Mは、リンカーであるX1化学リンケージを介して足場の内部炭素に連結している。

20

【0076】

構造Aと同様に、図1の構造Cに示される構造は、末端炭素原子がリンカーX1を介して関心分子Mに連結され、炭化水素RがX2リンケージを介して足場の内部炭素に連結されている足場分子Lを示す。しかしながら、この実施形態において、第2の炭化水素Rは、X2リンケージを介して足場の別の内部炭素に連結される。

【0077】

構造Dでは、関心分子MがリンカーであるX1化学リンケージを介して足場の内部炭素に連結している足場分子Lを示している。炭化水素RはX2リンケージを介して足場の内部炭素に連結している。第2の炭化水素R'はX3化学リンケージを介して足場Lの末端炭素原子に連結している。

30

【0078】

図1の構造Eは、関心分子MがリンカーであるX1化学リンケージを介して足場の内部炭素に連結した足場分子Lを示す。炭化水素RはX2リンケージを介して足場の内部炭素に連結している。第2の炭化水素RはX2化学リンケージを介して足場Lの末端炭素原子に連結している。構造Eは上記の構造Dとは異なり、関心分子Mが足場L上の炭素原子と連結している位置が、第2のR炭化水素が連結している位置よりも末端炭素に近い位置にある。

【0079】

別の例において、図1の構造Fは、関心分子MがリンカーであるX1化学リンケージを介して足場の内部炭素に連結されている足場分子Lを示す。炭化水素RはX2リンケージを介して足場の内部炭素に連結している。第2の炭化水素RはX2化学リンケージを介して足場Lの末端炭素原子に連結している。構造Fは、第3の炭化水素RがX2の化学リンケージを介して足場Lに結合している点で、上記の構造Eとは異なる。他の組合せには、C1の薬物 - リンカー部分と、それぞれのX2化学リンケージを介してLの内部炭素に連結した3つの炭化水素部分が含まれることが容易に想像できるであろう。

40

【0080】

図1の構造Gに示されている更に別の例では、R炭化水素がX2を介して連結したR'炭化水素側鎖に連結している。末端の炭素原子は、リンカーであるX1化学リンケージを介して関心分子Mと連結している。炭化水素RはX2リンケージを介して足場炭素鎖Lの内部炭素に連結している。

50

【 0 0 8 1 】

上記の構造 A ~ G は例であり、開示の範囲内に入る他の置換および実施形態が、当業者によって容易に想定できる。

【 0 0 8 2 】

いくつかの実施形態において、R 基が連結される足場 L 上の点は、L 上の末端炭素から少なくとも 3 個の炭素原子であってよい (C 1 と称される L の第 1 の炭素から数えられる)。プロドラッグの化学式 (上記式 I) 中のこのような分岐点を描くために、足場分子 L は "L 1 - L 2" という表記法を用いて参照することができる。このような実施形態によれば、L 1 は少なくとも 3 個の炭素原子であり、S は L 2 の炭素原子に連結している。1 つの特に優位性のある実施形態では、L 1 は少なくとも 4 または 5 個の炭素原子である。

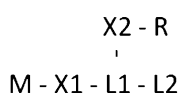
10

【 0 0 8 3 】

R 基が C 1 から少なくとも 3 個の炭素原子である位置の L に連結されているこれらの実施形態において、式 I は、以下の式 I a :

【 0 0 8 4 】

【 化 8 】



【 0 0 8 5 】

の形をとることができる。

20

式中、M は関心分子であり ; X 1 は、M を L 1 - L 2 上の任意の炭素原子に、本明細書に記載されている任意の適切な化学リンケージを介して M を連結またはリンクする化学リンケージであり ; L 1 は少なくとも 3 個の炭素原子であり ; L 1 - L 2 は 5 ~ 40 の炭素原子であり、L 2 = L - L 1 である。化学リンケージ X 1 は、L 1 - L 2 上の任意の炭素原子に関心分子 M を結合させ、化学リンケージ X 2 は L 2 上の任意の炭素原子に R を結合させる。R は炭素数 1 ~ 40 の炭化水素である。

【 0 0 8 6 】

一実施形態では、L 1 は、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 又は 30 の炭素原子である。さらなる実施形態において、L 1 は、3 ~ 30 の炭素原子、4 ~ 30 の炭素原子、5 ~ 25 の炭素原子、または 6 ~ 25 の炭素原子、または 7 ~ 20 の炭素原子であり得る。任意に L 1 は 1 以上のシスあるいはトランス C = C 二重結合をもつ。別の実施形態では、L 1 は直鎖状の炭素鎖である。

30

【 0 0 8 7 】

L 2 は、典型的には直鎖状炭素鎖であるが、同様に分岐構造が考えられる。上述の通り、L 2 = L - L 1 である。例示として、L が 20 の炭素原子であり、L 1 が 11 の炭素原子である実施形態において、L 2 は 9 の炭素原子である。

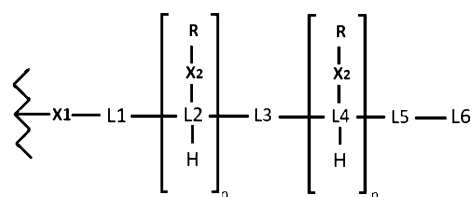
【 0 0 8 8 】

代替の実施形態において、脂質結合体は、以下に記載の式 I I :

40

【 0 0 8 9 】

【 化 9 】



【 0 0 9 0 】

50

の構造の脂質部分を有する。

式中、L 脂質足場骨格が、 $L1 + L2 + L3 + L4 + L5 + L6$ で表され、L は、5 ~ 40 の炭素原子または 5 ~ 30 の炭素原子または 5 ~ 25 の炭素原子または 5 ~ 20 の炭素原子および 0 ~ 2 のシスまたはトランス $C = C$ 二重結合を含み；

L1 は、1 ~ 30 の炭素原子、3 ~ 30 の炭素原子、4 ~ 30 の炭素原子、5 ~ 25 の炭素原子、6 ~ 25 の炭素原子または 7 ~ 20 の炭素原子を有する炭素鎖であり、任意に L1 は、1 以上のシスもしくはトランス $C = C$ 二重結合、または 0 ~ 2 のシスもしくはトランス $C = C$ 二重結合を有し；

L2 と L4 は、それぞれ炭素原子であり、

L3 は、0 ~ 20 の炭素原子であり、0 ~ 2 のシスまたはトランス $C = C$ 二重結合を含み；

10

L5 は、0 ~ 20 の炭素原子であり、0 ~ 2 のシスまたはトランス $C = C$ 二重結合を含み；

L6 は $-CH_3$ 、 $=CH_2$ または H であり；

各 R は、独立して 0 ~ 30 の炭素原子および 0 ~ 2 のシスまたはトランス $C = C$ 二重結合を有する直鎖状または分岐状の炭化水素鎖であり、1 つの代替実施形態によれば、各 R は、独立して、ヘテロ原子を含む X2 官能基を含む各分岐点で独立して分岐し；

式中、n は 0 ~ 8 であり、p は 0 ~ 8 であり、 $n + p$ は 1 または 1 ~ 8 であるか、または n は 0 ~ 6 であり、p は 0 ~ 6 であり、 $n + p$ は 1 または 1 ~ 6 であるか、または n は 0 ~ 4 であり、p は 0 ~ 4 であり、 $n + p$ は 1 または 1 ~ 4 であり；

20

X1 と X2 は、独立して、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデード、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンを含む炭素系の官能基、メチレン (CH_2) または尿素から選択され；または X1 は 1 以上の水素結合を含み、以下に定義される式 V の構造を有する。

【0091】

1 つの実施形態において、X1 および X2 の少なくとも 1 つは生分解性を示す。

30

【0092】

1 つの実施形態において、X1 および / または X2 は独立してエステル、エーテルまたはカルバメートから選択される。エステルまたはカルバメートはいずれの配向でもよい。例えば、エステルは、そのカルボニル基を介して、またはその - O 基を介して関心分子 (M) に結合され得る。同様に、カルバミン酸は、その窒素原子を介して、あるいはその - O 基を介して関心分子 (M) と連結することができる。

【0093】

1 つの実施形態において、全体としての式 II の脂質部分は、300 未満、200 未満、150 未満、100 未満の炭素原子、75 未満の炭素原子、または 50 未満の炭素原子 ($L + R$) を有する。

40

【0094】

脂質部分の R 炭化水素鎖の各々は、その鎖の内部炭素原子の 1 つでヘテロ原子に置換され得るが、その場合、脂質部分の R 炭化水素鎖では 8 以下のヘテロ原子で置換される。別の実施形態では、結合体の予測または実験的 $\log P$ は 5 よりも大きい。

【0095】

別の実施形態では、脂質結合体は、イオン化可能な脂質ではない。

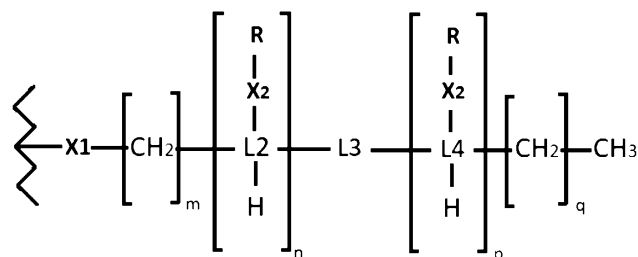
【0096】

代替の実施形態では、脂質結合体は、以下に示す式 II a：

【0097】

50

【化 1 0】



【0098】

10

の構造の脂質部分を有する。

式中、Lは、 $[CH_2]_m - L2 - L3 - L4 - [CH_2]_q - CH_3$ で表され、Lの炭素原子の総数は、5～30であり；

L2およびL4は、炭素原子であり；

mは、0～20、nは1～4、pは0～4、 $n + p$ は1～4であり；

L3は、0～10の炭素原子であり、0～2のシスあるいはトランス $C = C$ を有し；

X1およびX2は、独立して、エーテル、エステルおよびカルバメート基から選択され；各Rが独立して、

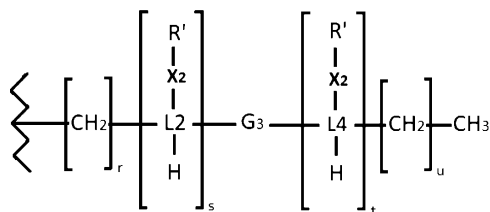
(a) 0～5のシスまたはトランス $C = C$ および1～30の炭素原子を有する直鎖状または分岐状の末端炭化水素鎖であり、各Rがその炭化水素鎖の任意の炭素原子においてそれぞれのX2の1つに連結しているか；または

20

(b) L'で示される足場を有する式IIb；

【0099】

【化 1 1】



30

【0100】

の分岐構造であり；

式中、L'は、 $[CH_2]_r - L2 - G3 - L4 - [CH_2]_u - CH_3$ で表され、Lの炭素原子の総数は3～30であり；また、

rは0～20、2～20、3～20または4～20であり；

sは0～4、tは0～4； $s + t$ は>1または1～4；

uは1～20であり；

G3は0～10の炭素原子で、0～2のシスあるいはトランス $C = C$ を有し；

式IIbの各R'は、0～5のシスまたはトランス $C = C$ および1～30の炭素原子を有する直鎖状または分岐状の末端炭化水素鎖であり；

40

式IIbのR'炭化水素鎖の総数は1～16であり；

脂質部分中のRおよびR'炭化水素鎖の各々が任意にヘテロ原子で置換されていてもよいが、但し、その場合は、RおよびR'炭化水素鎖中で8、6、4または2以下のヘテロ原子が置換され、結合体の予測または実験log Pが5を超え；

脂質結合体はイオン化可能な脂質ではない。

【0101】

式I、式Ia、式IIおよび式IIaの構造を有するプロドラッグ脂質結合体の非限定的な例を以下の表1に示し、それらの化学構造を図3に示す。そのような実施形態では、脂質結合体はデキサメタゾンに由来し、コハク酸リンカー(X1化学リンケージ)を用い

50

るが、ここでさらに考察するように広い範囲の薬物または目的の他の分子およびリンカーを脂質結合体に組み込むことができる。

表 1：プロドラッグの非限定的例

【 0 1 0 2 】

【表 1】

プロドラッグの識別子	式 I、I a、I I 又は I I a の L および R	LogP (予測値)	図
INT-D034	リシノレイル + ヘキサノイル (C6:0)	10.37	3A
INT-D035	リシノレイル + オレオイル (C18:1)	15.34	3B
INT-D045	リシノレイル + リノレオイル (C18:2)	14.98	3C
INT-D046	リシノレイル + ラウロイル (C12:0)	13.04	3D
INT-D047	リシノレイル + アセチル (C2:0)	8.33	3E
INT-D048	リシノレイル + ピバロイル (C5:0)	10.13	3F
INT-D049	リシノレイル + リノレノイル (C18:3)	14.62	3G
INT-D050	リシノレイル + ステアロイル (18:0)	15.7	3H
INT-D051	リシノレイル + アラキドノイル (C20:4)	15.14	3I
INT-D057	リシノレイル + リシノレオイル + ヘキサノイル (C6:0)	16.43	3J
INT-D058	リシノレイル + 9,10-ジヒドロキシステアロイル + ヘキサノイル (C6:0)	17.75	3K
INT-D059	リシノレイル + 9,10,12-トリヒドロキシステアロイル + ヘキサノイル (C6:0)	19.21	3L
INT-D085	9,10-ジヒドロキシステアロイル + ヘキサノイル (C6:0)	11.98	3M
INT-D086	9,10-ジヒドロキシステアロイル + リノレノイル + リノレノイル (C18:3)	21.2	3N
INT-D089	リシノレオイル + リノレノイル (C18:3)	14.83	3O
INT-D060	リシノレイル + ヘキサノイル (C6:0)	9.86	3P
INT-D061	リシノレイル + リノレオイル (C18:2)	14.47	3Q
INT-D062	リシノレイル + ヘキサノイル (C6:0)	11.95	3R
INT-D063	リシノレイル + リノレオイル (C18:2)	16.56	3S

【 0 1 0 3 】

式 I、I a、I I または I I a の足場 L

1 つの実施形態において、式 I、I a、I I または I I a の L は、その炭素鎖上で R と結合するための官能基を有する脂肪酸に由来する。

【 0 1 0 4 】

例えば、式 I、I a、I I または I I a の L は、その炭素鎖上の任意の位置に OH 基が結合している脂肪酸であるヒドロキシ脂肪酸 (HFA) に由来することができる。限定することなく、HFA は、 α -ヒドロキシ脂肪酸、 β -ヒドロキシ脂肪酸、 ω -ヒドロキシ脂肪酸または任意の ($\omega - 1$)-ヒドロキシ脂肪酸、または任意の他の公知の HFA であり得る。HFA は飽和または不飽和である。2 つ以上のヒドロキシ官能基が炭素鎖上にも存在できる。

【 0 1 0 5 】

脂肪族アルコールが誘導できる H F A の非限定的な例を以下の表 2 に示す：

表 2：ヒドロキシ脂肪酸（H F A）と対応する脂肪族アルコールの例

【 0 1 0 6 】

【表 2】

脂肪酸の体系的名称	脂肪酸の慣用名	脂肪酸の略称	対応する脂肪族アルコール名
2-ヒドロキシヘキサデカン酸	α -ヒドロキシパルミチン酸	2-OH-16:0	α -ヒドロキシパルミトレイルアルコール
3-ヒドロキシヘキサデカン酸	β -ヒドロキシパルミチン酸	3-OH-16:0	β -ヒドロキシパルミトレイルアルコール
3-ヒドロキシオクタデカン酸	β -ヒドロキシステアリン酸	3-OH-18:0	β -ヒドロキシステアリルアルコール
12-ヒドロキシオクタデカン酸	12-ヒドロキシステアリン酸	12-OH-18:0	12-ヒドロキシステアリルアルコール
17-ヒドロキシオクタデカン酸	17-ヒドロキシステアリン酸	17-OH-18:0	1-ヒドロキシステアリルアルコール
12-ヒドロキシシーサスー9-オクタデセン酸	リシノール酸	12-OH-18:1	リシノールアルコール
12-ヒドロキシイトランスー9-オクタデセン酸	リシネレイド酸	12-OH-18:1	リシネレイドアルコール
14-ヒドロキシシーシス	レスクロール酸	14-OH-20:1	レスクロールアルコール

10

20

30

【 0 1 0 7 】

炭素鎖に 2 つ以上のヒドロキシ官能基が存在する H F A の例としては、9, 10 - ジヒドロキシオクタデカン酸とウスチル酸（2, 15, 16 - トリヒドロキシパルミチン酸または 2, 15, 16 - トリヒドロキシ - ヘキサデカン酸としても知られる）がある。

【 0 1 0 8 】

別の選択肢として、式 I、I a、I I または I I a の L は、ヒドロキシ脂肪酸（F A H F A）の脂肪酸エステルとして公知の H F A の分岐脂肪酸エステルから誘導される。これらの脂肪酸エステルは、脂肪酸と H F A の間の分岐エステル結合を含む。例えば、9 - [（9 Z）- オクタデセノイルオキシ] オクタデカン酸は、オレイン酸のカルボキシ基と 9 - ヒドロキシオクタデカン酸のヒドロキシ基との縮合によって得られる脂肪酸エステルである。

40

【 0 1 0 9 】

代替の実施形態では、L は、アミン成分としてエタノールアミンを含み得る脂肪酸アミドから誘導される。

【 0 1 1 0 】

式 I、I a、I I または I I a の L は、上記以外の他の脂肪酸に由来してもよい。さらに、脂肪酸は、それらの対応するトリグリセリドから誘導され得ることが認識されるであろう。

【 0 1 1 1 】

50

式 I、I a、I I または I I a の L は、脂質炭素骨格上の二重結合の酸化を介して導入される OH 基を含み得る。したがって、L の前駆体は、不飽和で、反応性 OH 基を導入するために酸化される、あらゆる脂肪酸、脂肪族アルコールまたは脂肪族アミド前駆体に由来することができる。

【0112】

プロドラッグまたは脂質 - ポリマー結合体のような脂質結合体の脂質部分は、薬物送達媒体への取り込みのための脂質と適合し得る。例えば、これは、リポソームのような脂質ナノ粒子の一部を形成するリン脂質のような小胞形成脂質との適合性を含み得る。脂質部分はまた、ポリマーベースのナノ粒子、エマルション、ミセルおよびナノチューブなどの他の薬物送達媒体とも適合し得る。

10

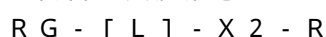
【0113】

1 つの実施形態において、L は、前駆体脂肪酸、または、例えば、5 ~ 30 の炭素原子、14 ~ 20 の炭素原子または 16 ~ 18 の炭素原子を有する他の分子に由来することができる。

【0114】

脂質ベースの前駆体 P

代替の実施形態において、上記式 I の脂質結合体の脂質部分は、以下の式 I I I :



によって定義される「P」として本明細書で言及される前駆体に由来することができる。

式中、RG が、O、C、N、P、S、Si または B から選択される 1 つ以上の反応性原子を含む反応性官能基である。1 つの実施形態において、反応性官能基はヒドロキシル基、アミンまたはカルボキシル基から選択される。別の実施形態では、反応性官能基はヒドロキシル基またはカルボキシル基である。別の実施形態では、RG 官能基は、関心分子 M 上でリンカーとともに、またはそのような分子と直接的に生分解性の化学リンケージを形成する。L は 5 ~ 40 の炭素原子を有し、任意に 1 以上のシスあるいはトランス C = C 二重結合を有する足場炭素鎖であり；

20

X2 は、R を L 上の任意の炭素原子に共有結合させる化学リンケージであり；

R は、1 ~ 40 の炭素原子を有し、任意にシスまたはトランスの C = C 二重結合を 1 以上有する炭化水素である。

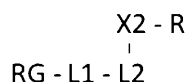
【0115】

30

別の実施形態において、式 I a の脂質部分は、式 I I I a :

【0116】

【化12】



【0117】

の構造を有する前駆体 P に由来することができる。

式中、RG が、O、C、N、P、S、Si または B から選択される少なくとも 1 つの反応性原子を含む反応性官能基である。1 つの実施形態において、反応性官能基はヒドロキシル基、アミンまたはカルボキシル基から選択される。別の実施形態では、反応性官能基はヒドロキシル基、またはカルボキシル基である。別の実施形態では、RG 官能基は、薬物または薬物上のリンカーと生分解性の化学リンケージを形成する。別の代替実施形態では、RG 官能基は水素結合供与体または受容体である。L1 は少なくとも 3 の炭素原子、L1 - L2 は 5 ~ 40 の炭素原子であり、L2 = L - L1 である。化学リンケージ X2 は L2 の任意の炭素原子に R を結合させる。R は炭素数 1 ~ 40 の炭化水素である。

40

【0118】

1 つの非限定的な実施形態において、式 I I I または I I I a における RG は水酸基である。RG は、カルボキシル基のような、薬物またはリンカー上の対応する反応性基と結

50

合することができる。このような反応で形成される結合（式 I または I a の X 1）はエステル結合またはアミド結合から選択されるが、他の結合も形成されることができる。

【 0 1 1 9 】

式 I I I 中の L または式 I I I a 中の L 1 - L 2 の炭素骨格はまた、第 2 の炭化水素 R 基の連結のためのさらなる反応性基 R G を含み得る。さらに、第 3 の炭化水素基 R は R G を介して L の炭素骨格に連結することができる。同様に、第 2 または第 3 の反応基 R G は、O、C、N、P、S、S i または B から選択される 1 つ以上の原子を含み得る。1 つの非限定的な例において、各 R G は、ヒドロキシル基、アミン基、またはカルボン酸基、ならびに当業者に公知の他の適切な基から独立して選択される。

【 0 1 2 0 】

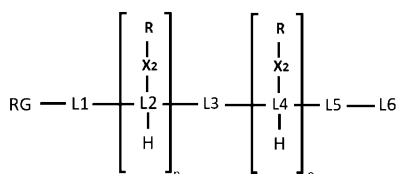
さらに、2 つ以上の炭化水素部分、式 I I I および I I I a の R は、それぞれの R ' 側鎖に結合していてもよい。例えば、R ' 側鎖は X 2 リンケージを介して R に連結されてもよく、第 2 の R ' 側鎖は X 2 リンケージを介して別の R に連結されてもよく、および / または第 3 の R ' は式 I、I a、I I および I I a に関連して上述したように、X 2 を介して任意の R に連結されてもよい。しかし、他の様々な組み合わせは当業者が容易に想像することができる。

【 0 1 2 1 】

別の実施形態において、式 I I の脂質部分は、式 I I I b :

【 0 1 2 2 】

【 化 1 3 】



【 0 1 2 3 】

の構造を有する前駆体 P に由来することができる。

式中、R G は、O、C、N、P、S i または B から選択される 1 つ以上の反応性原子を含む反応性官能基である。1 つの実施形態において、反応性官能基はヒドロキシル基、アミンまたはカルボキシル基から選択される。別の実施形態では、反応性官能基はヒドロキシル基またはカルボキシル基である。別の実施形態では、R G 官能基は、薬物または薬物上のリンカーと生分解性の化学リンケージを形成する。さらなる実施形態において、R G 官能基は、関心分子 M 上のそれぞれの水素結合受容体または供与体と水素結合を形成するための水素結合供与体または受容体または原子であり；

L 脂質足場骨格が、L 1 + L 2 + L 3 + L 4 + L 5 + L 6 で表され、L は、5 ~ 4 0 の炭素原子または 5 ~ 3 0 の炭素原子または 5 ~ 2 5 の炭素原子または 5 ~ 2 0 の炭素原子および 0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を含み；

L 1 は、1 ~ 3 0 の炭素原子、3 ~ 3 0 の炭素原子、4 ~ 3 0 の炭素原子、5 ~ 2 5 の炭素原子、6 ~ 2 5 の炭素原子または 7 ~ 2 0 の炭素原子を有する炭素鎖であり、任意に L 1 は、1 以上のシスもしくはトランス C = C 二重結合、または 0 ~ 2 のシスもしくはトランス C = C 二重結合を有し；

L 2 と L 4 はそれぞれ炭素原子であり；

L 3 は 0 ~ 2 0 の炭素原子であり、0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を含み；

L 5 は 0 ~ 2 0 の炭素原子であり、0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を含み；

L 6 は - C H 3、= C H 2 または H であり；

各 R は、独立して、0 ~ 3 0 の炭素原子および 0 ~ 2 のシスまたはトランス C = C 二重結合を有する直鎖状または分岐状の炭化水素鎖であり、1 つの代替実施形態によれば、各 R は、独立して、ヘテロ原子を含む X 2 官能基を含む各分岐点で分岐し；

n は 0 ~ 8 であり、p は 0 ~ 8 であり、n + p は 1 または 1 ~ 8 であるか、または n

10

20

30

40

50

は 0 ~ 6 であり、p は 0 ~ 6 であり、n + p は 1 または 1 ~ 6 であるか、または n は 0 ~ 4 であり、p は 0 ~ 4 であり、n + p は 1 または 1 ~ 4 であり；

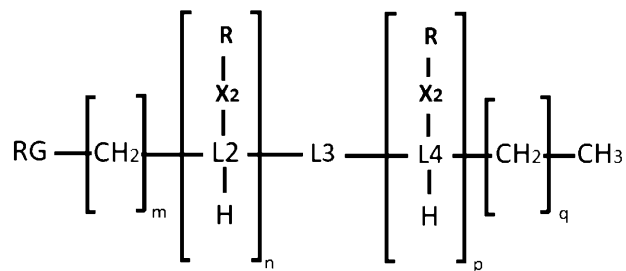
X 1 と X 2 は、独立して、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデード、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンを含む炭素系官能基、メチレン (CH₂) または尿素から選択されるか；または X 1 は 1 つ以上の水素結合を含み、以下に定義される式 V の構造を有する。

【 0 1 2 4 】

別の実施形態において、式 I I a の脂質部分は、式 I I I c：

【 0 1 2 5 】

【 化 1 4 】



【 0 1 2 6 】

の構造を有する前駆体 P に由来することができる。

式中、RG は、O、C、N、P、S i または B から選択される 1 つ以上の反応性原子を含む反応性官能基である。1 つの実施形態において、反応性官能基はヒドロキシル基、アミンまたはカルボキシル基から選択される。別の実施形態では、反応性官能基はヒドロキシル基またはカルボキシル基である。別の実施形態では、RG 官能基は、薬物のような関心分子上のリンカーと生分解性の化学リンケージを形成する；

L は、[CH₂]_m - L₂ - L₃ - L₄ - [CH₂]_q - CH₃ で表され、L の炭素原子の総数は、5 ~ 30 であり；

L₂ および L₄ は炭素原子；

m は 0 ~ 20、n は 1 ~ 4、p は 0 ~ 4、n + p は 1 ~ 4 であり、

L₃ は 0 ~ 10 の炭素原子であり、0 ~ 2 のシスあるいはトランス C = C を有し；

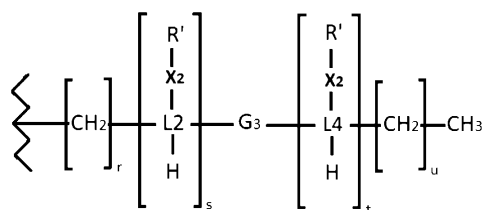
X₁ および X₂ は、独立して、エーテル、エステルおよびカルバメート基から選択され；各 R が独立して、

(a) 0 ~ 5 のシスまたはトランス C = C および 1 ~ 30 の炭素原子を有する直鎖状または分岐状の末端炭化水素鎖であり、各 R が、その炭化水素鎖の任意の炭素原子においてそれぞれの X₂ の 1 つに連結しているか；または、

(b) L'：で示される骨格を有する式 I I b：

【 0 1 2 7 】

【 化 1 5 】



【 0 1 2 8 】

の分岐構造であり、

L' は、 $[CH_2]_r - L_2 - G_3 - L_4 - [CH_2]_u - CH_3$ で表され、L の炭素原子の総数は 3 ~ 30 であり；また、

r は 0 ~ 20、2 ~ 20、3 ~ 20 または 4 ~ 20 であり；

s は 0 ~ 4、t は 0 ~ 4；s + t は > 1 または 1 ~ 4 であり；

u は 1 ~ 20 であり、

G₃ は 0 ~ 10 の炭素原子で、0 ~ 2 のシスあるいはトランス C = C を有し；

式 I I b の各 R' は、独立して、0 ~ 5 のシスまたはトランス C = C および 1 ~ 30 の炭素原子を有する直鎖状または分岐状の末端炭化水素鎖であり；

式 I I b の R' 炭化水素鎖の総数は 1 ~ 16 であり；

脂質部分中の R および R' 炭化水素鎖の各々が任意にヘテロ原子で置換されていてもよいが、但し、その場合は、R および R' 炭化水素鎖中で 8 以下のヘテロ原子が置換され、結合体の予測または実験 log P が 5 を超え；

脂質結合体はイオン化可能な脂質ではない。

【0129】

関心分子

種々の関心分子が脂質部分に結合され得る。上述のように、脂質結合体はプロドラッグであり得る。プロドラッグ結合体の薬物部分は、例えばその活性化後に、被験体における疾患または他の望ましくない状態の治療、予防、改善、症状の軽減、および/または診断に使用される任意の薬物を含む、任意のクラスの薬物に由来することができる。薬物部分は、活性剤、または結合体から放出された後に、活性化される活性剤であってもよい。しかし、親水性ポリマーをはじめとする他の関心分子も脂質部分に結合させることができる。

【0130】

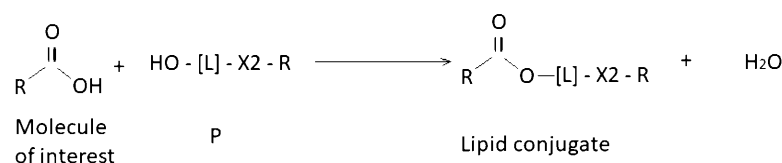
関心分子 M は、脂質部分との結合または会合の性質によって、いくつかの実施形態において特徴づけることができる。例えば、特定の実施形態における薬物部分 D は、化学リンケージ X 1 を形成するための、足場 L 上の反応性基またはリンカー基への結合で 1 つ以上の原子を失った薬物に由来することができる。1 つの実施形態において、薬物は、式 I、I a、I I a または I I b のプロドラッグを形成するための P またはリンカーとの結合時に水酸基または水素原子を失う。しかしながら、本明細書に記載される本発明の方法は、脂質部分への広範囲の薬剤の結合または会合に適用可能であるため、薬物部分 D は、任意の公知の薬物に由来し得る。薬物 D は小分子の場合もあれば、高分子構造の場合もある。部分 M (関心分子) は、原子の配向に限定されることなく、当業者に知られている中でも、 $(C=O)O$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR$ 、 $-PO_3H_2$ 、のような 1 つ以上の反応性官能基を含む化学構造に由来することができる。

【0131】

例えば、本明細書中に記載されるプロドラッグまたは他の脂質結合体は、R G が $-OH$ である場合、関心分子上の $(C=O)OH$ 基と前駆体足場 P 上の水酸基との間の結合により (直接的にまたは 1 以上の中間体を介して) 形成され得る。一般反応を以下に示す：

【0132】

【化 16】



【0133】

上記例示的な実施形態において、式 I、I a、I I または I I a の X 1 化学リンケージはエステルであり、以下の構造を有する：

【0134】

10

20

30

40

50

【化 17】



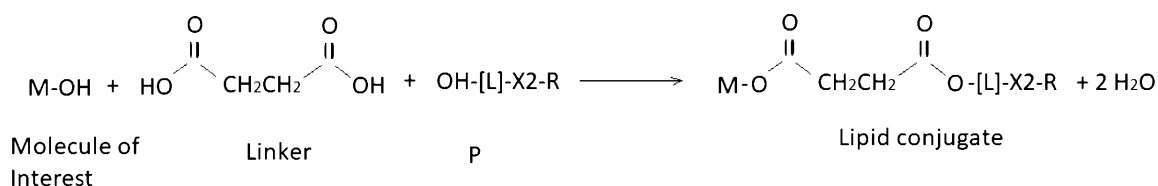
【0135】

別の例示的な例では、関心分子Mは、リンカー中のカルボキシル基（（C=O）OH）と反応するヒドロキシル基（-OH）を有していてもよい。リンカー上の第2のカルボキシル基（（C=O）OH）は、縮合反応を経て前駆体足場P上の炭素原子上の水酸基と反応することができる。以下の反応は、リンカーとしてのコハク酸の使用を示す。このようなリンカーの使用は、次の反応に従って、2つのエステル基を有するプロドラッグを生じる：

10

【0136】

【化 18】



【0137】

上記の非限定的な例において、X1化学リンケージは、以下の構造を有する：

20

【0138】

【化 19】



【0139】

上記の反応は2段階で進行する可能性があることを認識しておくべきである。すなわち、薬物をまずリンカーに結合させ、得られた薬物-リンカー結合体を続いて前駆体足場Pと反応させて、プロドラッグ反応生成物を生成させてもよい。

30

【0140】

以下に論じるように、上記は、コハク酸以外の種々の異なるリンカーを使用してプロドラッグを製造することができるので、単に例示目的で提供される。別の例では、関心分子Mまたはリンカーは、薬物部分とLとの間でアミドまたはアミド含有リンケージX1を形成するために、Lのアミン基との結合のためのカルボキシル基（（C=O）O）を有していてもよい。後述するように、X1化学リンケージを生成するための、薬物上の官能基間、または足場Lとリンカー間の他の反応は、当業者によって想定することができる。

【0141】

特定の関心分子は、前駆体足場Pへの結合のための複数の反応性官能基を含み得る。このような実施形態では、薬物-脂質結合体の合成中に保護基を用いることができ、このことは、薬物上の所定の基を足場Lに選択的に結合させ、別の基を非結合のままにすることが当業者に認識されるであろう。また、薬物は、インビトロで被験体または細胞中の状態を治療、予防および/または改善するその能力を含む、その生物学的効果によって特徴付けられ得る。薬物部分は、抗腫瘍剤などの抗癌剤に由来することができる。別の実施形態では、薬物部分は、クローン病、関節リウマチ、乾癬、潰瘍性大腸炎または糖尿病などの自己免疫疾患を治療するための免疫抑制薬などの免疫調節薬に由来することができる。1つの実施形態において、免疫調節薬は抗炎症薬である。

40

【0142】

本明細書中で使用されるように、抗癌剤として機能する薬物は、腫瘍性細胞および/ま

50

たは腫瘍の成長、増殖、侵襲性および／または生存に直接的または間接的な効果を有し得る。抗腫瘍薬には、アルキル化剤、代謝拮抗薬、細胞毒性抗生物質、種々の植物アルカロイドおよびその誘導体および免疫調節薬がある。

【 0 1 4 3 】

免疫抑制薬クラスの例には、特に当業者に公知であるものの他、グルココルチコイド、細胞静止薬、抗体、イムノフィリンに作用する薬物が含まれる。グルココルチコイドの例としては、プレドニゾン、プレドニゾロンおよびデキサメタゾンが挙げられる。メトトレキサートは細胞増殖抑制剤の一例である。

【 0 1 4 4 】

1つの実施形態において、薬物部分は、ドセタキセル、デキサメタゾン、メトトレキサート、NPC1I、アピラテロン、プレドニゾン、プレドニゾロン、ルキソリチニブ、トファシチニブ、カルシトリオール、カルシフェジオール、コレカルシフェロール、シロリムス、タクロリムス、アセチルサリチル酸、ミコフェノール酸、カバジタキセル、ベタメタゾン、および、CY09(4-[4-オキソ-2-チオキソ-3-[3-(トリフルオロ酸メチル)フェニル基]-5-チアゾリジニリデン]酸メチル)安息香酸)、INT-MA014またはMCC950(N-(1,2,3,5,6,7-ヘキサヒドロ-s-インダセン-4-イルカルバモイル)-4-(2-ヒドロキシ-2-プロパニル)-2-フランスルホンアミド)とその誘導体を含む、NLRP3阻害剤；および、カンナビゲロール、カンナビクロメン、カンナビジオール、カンナビジバリン、カンナビシクロール、カンナビシトラン、カンナビエルソイン、カンナビノール、テトラヒドロカンナビノールまたはテトラヒドロカンナビバリンとその誘導体を含むカンナビノイド、に由来する。

【 0 1 4 5 】

さらなる実施形態において、薬物は、Lの任意の炭素上のリンカーまたは基への結合のための遊離のヒドロキシル基を有する。しかし、薬物上の他の官能基もこのような結合に用いることができる。

【 0 1 4 6 】

薬物以外の他の関心分子Mは、上記のものと同様の反応性基を用いて、X1を介して足場Lの脂質部分に連結することができる。これには、小分子や高分子構造を形成する分子が含まれる。例えば、いくつかの実施形態において、関心分子Mは、脂質-ポリマー結合体を形成するためのポリマーである。ポリマーは、生体系での使用に適した親水性ポリマーであってもよい。親水性ポリマーの例としては、ポリエチレングリコール(PEG)、ポリメチルエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリヒドロキシプロピレングリコールなどのポリアルキルエーテルが挙げられる。さらなる適当なポリマーには、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリアクリル酸、ポリビニルメチルエーテル、ポリメチルオキサゾリン、ポリエチルオキサゾリン、ポリヒドロキシプロピルオキサゾリン、ポリヒドロキシプロピルメタクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリジメチルアクリルアミド、ポリヒドロキシプロピルメタクリレート、ポリヒドロキシエチルアクリレート、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロースまたはポリアスパルタミドが含まれる。ポリマー鎖は、分子量が約300~10,000ダルトンの間であり得る。ポリマーは、特定の非限定的実施形態において、ブロックコポリマーであってもよい。

【 0 1 4 7 】

さらに別の実施形態では、関心分子Mは、抗体、ペプチド、siRNAなどの遺伝物質である。

【 0 1 4 8 】

1つの実施形態において、関心分子Mは、核酸などの遺伝物質である。核酸は、限定されるものではないが、低分子干渉RNA(sRNA)、核内低分子RNA(snRNA)、マイクロRNA(miRNA)、またはプラスミドDNAもしくは線状DNAなどのDNAを含む、RNAを含む。核酸の長さは様々であり得、5~50,000ヌクレオチドの長さの核酸を含み得る。核酸は、一本鎖DNAもしくはRNA、二本鎖DNAもしくは

10

20

30

40

50

はRNA、またはそれらの混成を含む任意の形態であり得る。一本鎖核酸にはアンチセンスオリゴヌクレオチドが含まれる。

【0149】

1つの特に優位性のある実施形態において、関心分子はsiRNAである。siRNAが内在性の細胞装置に取り込まれてmRNAの分解が起こり、それによって転写が妨げられる。RNAは容易に分解されるので、本明細書に記載されているような送達媒体への取り込みによって、このような分解を減少または防止することができ、それによって標的部位へのデリバリーを容易にする。

【0150】

化学リンケージX1

10

1つの実施形態において、関心分子Mは、X1官能基を介してL足場炭素鎖に直接結合される。このような実施形態において、式I、Ia、II、またはIIaのX1は、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、ジスルフィド、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、N-マンニヒ付加物、N-アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンのような炭素系官能基、メチレン(CH₂)または尿素から選択される1以上の官能基とすることができる。

【0151】

20

1つの実施形態において、X1基はジスルフィドまたはチオエーテルではない。別の実施形態では、X1は硫黄原子を含まない。

【0152】

上述の通り、関心分子MはリンカーであるX1を介してL足場に結合することができる。脂質結合体中にリンカー基を含めることは、例えばプロドラッグのような投与後に脂質部分から放出される分子にとって特に優位性がある。なぜなら、その包含は、酵素による脂質部分からの関心分子Mの切断を容易にすることができるからである。以下に記載するように、以下の表3に具体的に示される官能基の1つ以上をリンカー分子に含めることができるが、これらに限定されない、このような官能基は、最も優位性のあるものとして、*in vivo*条件下で開裂することができる。

30

【0153】

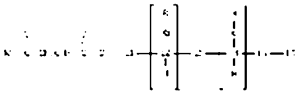
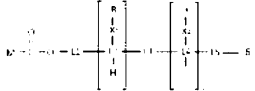
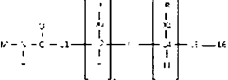
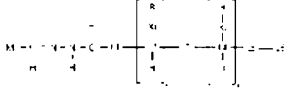
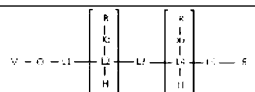
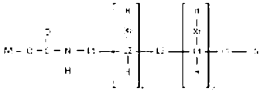
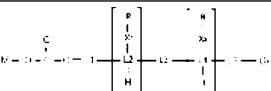
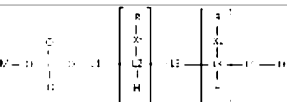
コハク酸リンカー、エステル、アミド、ヒドラゾン、エーテル、カルバメート、カーボネートまたはホスホジエステル基から選択されるX1化学リンケージを有する脂質結合体の非限定的な例を以下の表3に示す。以下の化学リンケージは式Iまたは式Iaの一部として示されている。上述の通り、リンケージは、単純化のために(コハク酸を除いて)薬物とLとの間の直接リンケージによって生じるものとして描かれているが、表に示されている基がリンカー基内に組み込むことができることが理解されるであろう。

表3：X1化学リンケージを形成する種々の官能基を有する脂質結合体の例

【0154】

40

【表 3】

X 1 化学 リンケージ	式 I	式 Ib	式 II
コハク酸リンカー	$\text{M}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{L}-\text{X}2-\text{R}$	$\text{M}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{L}1-\overset{\text{X}2-\text{R}}{\underset{ }{\text{L}2}}$	
エステル	$\text{M}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{L}-\text{X}2-\text{R}$	$\text{M}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{L}1-\overset{\text{X}2-\text{R}}{\underset{ }{\text{L}2}}$	
アミド	$\text{M}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{N}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{X}2-\text{R}$	$\text{M}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{N}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{L}1-\overset{\text{X}2-\text{R}}{\underset{ }{\text{L}2}}$	
ヒドラゾン	$\text{M}-\text{C}=\text{N}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{N}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{X}2-\text{R}$	$\text{M}-\text{C}=\text{N}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{N}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{L}1-\overset{\text{X}2-\text{R}}{\underset{ }{\text{L}2}}$	
エーテル	$\text{M}-\text{O}-\text{L}-\text{X}2-\text{R}$	$\text{M}-\text{O}-\text{L}1-\overset{\text{X}2-\text{R}}{\underset{ }{\text{L}2}}$	
カルバメート	$\text{M}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\overset{\text{H}}{\underset{ }{\text{N}}}-\text{L}-\text{X}2-\text{R}$	$\text{M}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\overset{\text{H}}{\underset{ }{\text{N}}}-\text{L}1-\overset{\text{X}2-\text{R}}{\underset{ }{\text{L}2}}$	
カーボネート	$\text{M}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{L}-\text{X}2-\text{R}$	$\text{M}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{L}1-\overset{\text{X}2-\text{R}}{\underset{ }{\text{L}2}}$	
ホスホジエステル	$\text{M}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}(\text{O})-\text{O}-\text{L}-\text{X}2-\text{R}$	$\text{M}-\text{O}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{P}}(\text{O})-\text{O}-\text{L}1-\overset{\text{X}2-\text{R}}{\underset{ }{\text{L}2}}$	

【 0 1 5 5 】

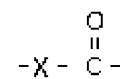
上記のように、特定の優位性のある実施形態において、前駆体足場 P（式 I I I、I I I a、I I I bまたはI I I cのR G = O H）のヒドロキシ基、または前駆体足場 P（式 I I I、I I I a、I I I bまたはI I I cのR G = N H₂）のアミンは、薬物上のカルボキシル基と反応して、縮合反応を経て、それぞれエステルまたはアミド基である X 1 化学リンケージを形成する。

【 0 1 5 6 】

そのような実施形態において、式 I、I a、I I またはI I aの脂質結合体の X 1 は、以下の構造を有する：

【 0 1 5 7 】

【化 2 0】



【 0 1 5 8 】

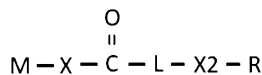
ここで、X = - O、または - N Hである。

【 0 1 5 9 】

そのような実施形態において、X 1 化学リンケージは、以下のように式 I のプロドラッグの一部を形成する：

【 0 1 6 0 】

【化 2 1】



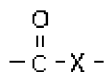
【 0 1 6 1 】

代替の実施形態では、L は、脂肪酸のカルボキシル基とリンカーのヒドロキシル基またはアミン基、または関心分子との反応に由来する。この実施形態において、X 1 は、関心分子と P との間で以下の化学リンケージを形成する：

10

【 0 1 6 2 】

【化 2 2】



【 0 1 6 3 】

ここで、X = - O、または - N H である。

【 0 1 6 4 】

20

1 つの特に優位性のある実施形態では、前記構造において X = - O である。このような実施形態では、X 1 はエステル結合である。

【 0 1 6 5 】

1 つの実施形態において、X 1 リンケージは生分解性であり、これは、患者への投与後に切断され得ることを意味する。限定することなく、エステル結合は、患者に投与された後にエステラーゼによって加水分解されることができ、それによって、脂質結合体から薬物部分 D を含むが、これらに限定されない、関心分子を放出する。しかし、他の X 1 リンケージは、疾患部位で環境に曝露された場合のそれらの放出特性に基づいて、オーダーメイドの薬物放出のために利用することができる。例えば、薬物部分 D と足場 L との間に配置されたヒドラゾン結合は、式 I、I a、I I または I I a の結合体に pH 感受性放出を付与することができる。中性 pH では、ヒドラゾンはほとんど分解しないか、分解しないが、低い pH では結合が壊れることがある。したがって、1 つ以上のヒドラゾン結合から成る、またはそれを含む X 1 化学リンケージは、腫瘍組織にしばしば存在する低い pH 値で薬物放出を提供することができる。

30

【 0 1 6 6 】

1 つの実施形態において、X 1 は、エステラーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、アミダーゼ、ペプチダーゼによって開裂可能であるか、または還元環境、および / または高 pH もしくは低温 pH に曝露されると開裂可能であり得る。

【 0 1 6 7 】

上述の通り、脂質結合体がプロドラッグである場合、特定の実施形態における X 1 化学リンケージは、リンカーが最も優位性がある。多種多様な化学リンカーが当業者に知られており、本明細書に記載の特定の実施形態で 사용할 ことができる。リンカーは、0 ~ 1 2 の炭素原子および少なくとも 1 の開裂可能な官能基を有していてもよい。1 つの実施形態において、リンカーは少なくとも 2 つの官能基を有し、リンカーの 1 つの末端を関心分子 M に接合させるための第 1 の官能基、およびリンカーの別の末端を L 上の炭素原子に接合させるための第 2 の官能基を有する。2 つの官能基は、それぞれエステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、

40

50

スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキン、のような炭素系官能基、メチレン（ CH_2 ）または尿素から独立して選択され得る。

【0168】

当業者に理解されるように、いくつかの実施形態において、関心分子が薬物Dである場合、リンカーは、生分解性基の導入を介して薬物Dの放出を増強することができる。1つ以上のエステル結合を有するリンカーは、患者に投与後、エステラーゼにより加水分解され得、それによりプロドラッグ結合体から薬物部分Dを放出し得る。DとLの間の直接反応に起因するリンケージと同様に、薬物部分Dと足場Lとの間にヒドラゾン結合を導入するリンカーは、式IまたはI aのプロドラッグにpH感受性放出を付与することができる。

【0169】

しかし、上述は単なる例示に過ぎないことが理解されるであろう。リンカーのさらなる例示は、米国特許第5,149,794号で提供され、参照により本明細書に組み込まれる。米国特許第5,149,794号に記載されたリンカーの非限定的な例には、アミノヘキサン酸、ポリグリシン、ポリアミド、ポリエチレン、および長さが1～12の炭素原子である炭素骨格を有する短官能化ポリマーが含まれる。

【0170】

しかしながら、本明細書に記載されたプロドラッグにおける使用に適したリンカーのさらなる例は、以下の参考文献に提供される：

1. Rautio et al., "The expanding role of prodrugs in contemporary drug design and development" *Nature Reviews Drug Discovery* 2018, 17, 559.
2. Irby et al., "Lipid-drug conjugate for enhancing drug delivery" *Molecular Pharmaceutics* 2017, 14, 1325.
3. Sun et al., "Chemotherapy agent-unsaturated fatty acid prodrugs and prodrug-nanoplateforms for cancer chemotherapy" *Journal of Controlled Release* 2017, 264, 145.
4. Walther et al., "Prodrugs in medicinal chemistry and enzyme prodrug therapies" *Advanced Drug Delivery Reviews* 2017, 118, 65.
5. Hu et al., "Glyceride-mimetic prodrugs incorporating self-immolative spaces promote lymphatic transport, avoid first-pass metabolism and enhance oral bioavailability" *Angewandte Chemie International Edition* 2016, 55, 13700.
6. Blencowe et al., "Self-immolative linkers in polymeric delivery systems" *Polymer Chemistry* 2011, 2, 773.

【0171】

上記参考文献の各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。さらなる態様において、X1化学リンケージは、官能基および別個のリンカーの両方を含む。式I、I a、IIまたはII aの所望の脂質結合体を得るために、リンカーおよび官能基の種々の組合せ（上記の表3の組合せなど）を使用することができる。

【0172】

1つの実施形態において、リンカーの一端をL1に接合する少なくとも第2の官能基は、エステルリンケージまたはアミドリンケージである。別の実施形態では、リンカー上の官能基をエステラーゼのような酵素によって加水分解することができる。さらなる実施形態において、リンカー上の両官能基はエステルリンケージである。

【0173】

本明細書に記載される実施形態において広範囲の既知のリンカーを利用することができるが、X1リンカーの式のいくつかの非限定的な例を以下に提供する。

【0174】

1つの実施形態において、限定されるものではないが、式I、I a、IIまたはII aの関心分子M-リンカーX1（D-X1）部分は、以下の式IV：

【0175】

10

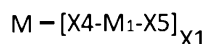
20

30

40

50

【化 2 3】



【0 1 7 6】

を有する。

式中、Mは関心分子であり、X 4 および X 5 は、先に説明した任意の官能基から独立して選択され、M₁は、X 4 および X 5 の官能基に連結された任意のスペーサ基であり、0 ~ 1 2 の炭素原子を有するか、または C H₂、C H₂ C H₂、N - アルキル、N - アシル、O または S である。X 4 と X 5 は同じであっても、異なってもよい。1 つの実施形態において、X 4 および X 5 のいずれかまたは両方は、*in vivo* で切断され得る。別の実施形態では、X 4 および / または X 5 はエステル基である。

10

【0 1 7 7】

上記の式 I V における X 4、X 5 または両官能基は、独立して、1 ~ 約 2 0 の反復単位であり得る。また、X 4 - M₁ - X 5 単位は 1 ~ 2 0 の繰り返し単位にすることも、M₁が存在しない場合は X 4 - X 5 を繰り返し単位にすることもできる。

【0 1 7 8】

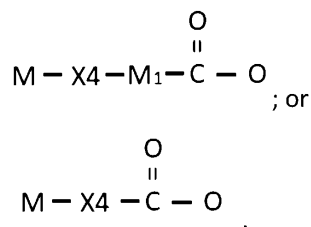
別の実施形態では、式 I V の X 5 はエステル基であり、その場合、式 I、I a、I I または I I b の M - X 1 は以下のとおりである：

式 I V a :

20

【0 1 7 9】

【化 2 4】



30

【0 1 8 0】

式中、Mは、関心分子であり、X 4 は、MをM₁に共有結合させる官能基であり、エステル、アミド、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメートまたはホスホジエステル基から選択される；そして、M₁は、0 ~ 1 2 の炭素原子を有するか、または C H₂、C H₂ C H₂、N - アルキル、N - アシルまたは O であるリンカーのスペーサ領域である。

【0 1 8 1】

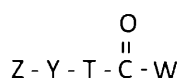
1 つの実施形態において、限定されるものではないが、式 I、I a、I I または I I a のリンカー X 1 は、以下の構造を有する：

式 I V b :

40

【0 1 8 2】

【化 2 5】



【0 1 8 3】

式中、ZはOまたはNから選択され、YはC H₂、C H₂ C H₂またはC = Oであり、Tは0 ~ 6 の炭素原子であり、WはOまたはNである。一実施形態では、ZはOであり、YはC H₂、C H₂ C H₂またはC = Oであり、Tは0 ~ 6 の炭素原子であり、WはOである

50

。別の実施形態では、リンカー X 1 はコハク酸に由来する。

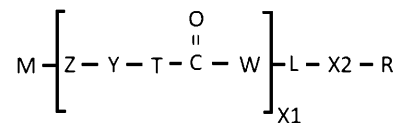
【 0 1 8 4 】

そのような実施形態において、式 I V b のリンカーは、次のように式 I、I a および I I の脂質結合体の一部を形成する：

式 I：

【 0 1 8 5 】

【 化 2 6 】



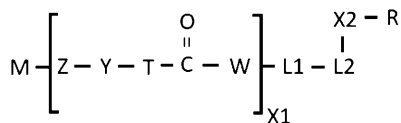
10

【 0 1 8 6 】

式 I a：

【 0 1 8 7 】

【 化 2 7 】



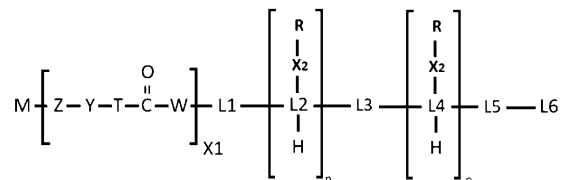
20

【 0 1 8 8 】

式 I I：

【 0 1 8 9 】

【 化 2 8 】



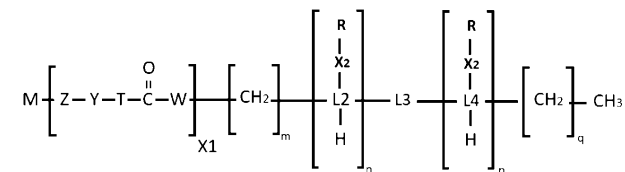
30

【 0 1 9 0 】

式 I I a：

【 0 1 9 1 】

【 化 2 9 】



40

【 0 1 9 2 】

式中、Z は O または N から選択され、Y は CH₂、CH₂CH₂ または C=O であり、T は 0 ~ 6 の炭素原子であり、W は O または N である。一実施形態では、Z は O であり、Y は CH₂、CH₂CH₂ または C=O であり、T は 0 ~ 6 の炭素原子であり、W は O である。さらなる実施形態では、リンカー X 1 はコハク酸に由来する。

【 0 1 9 3 】

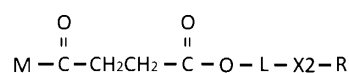
1 つの特に優位性のある実施形態において、X 1 リンカーはコハク酸基であり、式 I、I a、I I および I I a のプロドラッグは以下に示す構造を有する：

式 I：

50

【 0 1 9 4 】

【 化 3 0 】

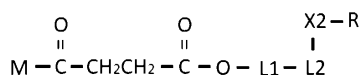


【 0 1 9 5 】

式 I a :

【 0 1 9 6 】

【 化 3 1 】



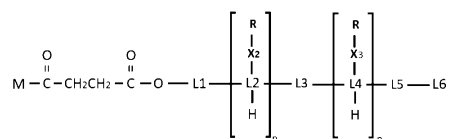
10

【 0 1 9 7 】

式 I I :

【 0 1 9 8 】

【 化 3 2 】



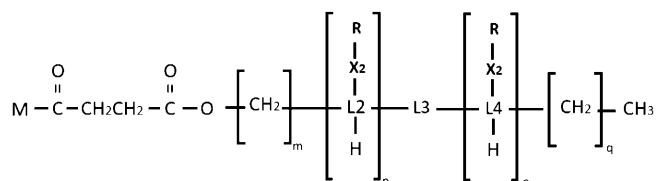
20

【 0 1 9 9 】

式 I I a :

【 0 2 0 0 】

【 化 3 3 】



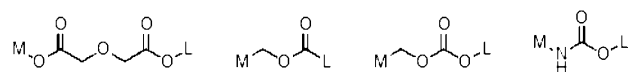
30

【 0 2 0 1 】

コハク酸リンカー以外の X 1 リンケージの非限定的な例としては、以下の化学構造が挙げられる：

【 0 2 0 2 】

【 化 3 4 】



40

【 0 2 0 3 】

式中、Mは関心分子であり、Lは脂質足場である。簡略化するために、脂質部分の残りは前記構造に示されていないが、式 I、I a、I I および I I b のいずれかの脂質部分を含み得る。

【 0 2 0 4 】

言うまでも無く、X 1 化学リンケージを生じる反応は、関心分子上に存在するそれぞれの官能基、例えば、それに結合した薬物、ポリマーまたはリンカーと、前駆体足場 P 上の

50

対応する基の間の直接反応から生じる反応に限定されない。典型的には、このような結合体は、多段階であり、様々な中間体を経て進行する合成スキームによって産生される。さらに、脂肪族アルコールのような前駆体 L を修飾してその誘導体を生成することが可能であり、その誘導体は、関心分子上の反応性官能基と反応させて脂質結合体を生成するか、逆も可能である。例えば、US 2002/0177609（参照により本明細書に組み込まれる）は、脂肪族アルコールを適切な結合および脱離基で誘導体化して中間体を形成し、中間体を薬物と反応させて結合体化合物を形成することを含む方法を記載している。この方法で、1つ以上のカーボネート、カルバメート、エーテル、ホスフェート、エステル、グアニジン、チオカルバメート、ホスホネート、オキシム、イソ尿素、アミド、ホスホラミド、またはホスホンアミド基を介して足場 L に結合された薬物を含む多くの異なる X 1 リンケージを生成することができる。同様に、脂肪族アルコール以外の他の分子にも、薬物上に存在する既存の官能基と脂肪酸とを反応させて生成できない反応基を導入することが可能である。

10

【0205】

さらなる実施形態において、関心分子 M は、1つ以上の分子間水素結合を含む X 1 リンケージを介して脂質部分の足場 L に連結される。このような実施形態によれば、関心分子は1つ以上の電気陰性原子を含む。関心分子は、少なくとも1つの水素結合供与体を含むことができ、これは、比較的電気陰性度の高い原子に共有結合した水素原子であり、L は、水素結合によって水素に結合した比較的電気陰性度の高い原子である少なくとも1つの水素結合受容体を含むことができる。L は1つ以上の水素結合供与体も含み得、関心分子 M は1つ以上の水素結合受容体を含み得る。

20

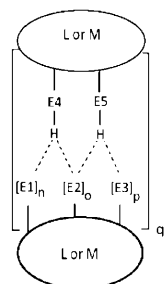
【0206】

脂質結合体の L と M の間の水素結合は式 V の構造を持ち得る：

式 V：

【0207】

【化35】



30

【0208】

式中、E 1、E 2、E 3、E 4 および E 5 は、O、N および P から選択される電気陰性原子であり；

E 1、E 2 および E 3 は水素結合受容体であり、E 4 および E 5 は水素結合供与体であり、点線は水素結合を示し、実線は共有結合を示し、式中、L は式 I、I a、I I または I I a に記載の脂質部分の脂質足場であり、n は 0 または 1 であり、o は 0 または 1 であり、p は 0 または 1 であり、n + o + p = 2 であり、q は 1 ~ 10 または 2 ~ 10 または 4 ~ 10 であり、L は脂質部分の脂質足場であり、M は関心分子であり、式中、E 1 および E 3 は、アルキル、アリール、アルキレンまたは H などのそれらに連結された置換基を任意に含んでもよい。

40

【0209】

薬物 - 脂質結合体の例は、以下の X 1 水素結合リンケージを含む。この例では、ドキソルピシンは水素結合受容基を含み、末端基：

【0210】

50

【化 3 6】



【0 2 1 1】

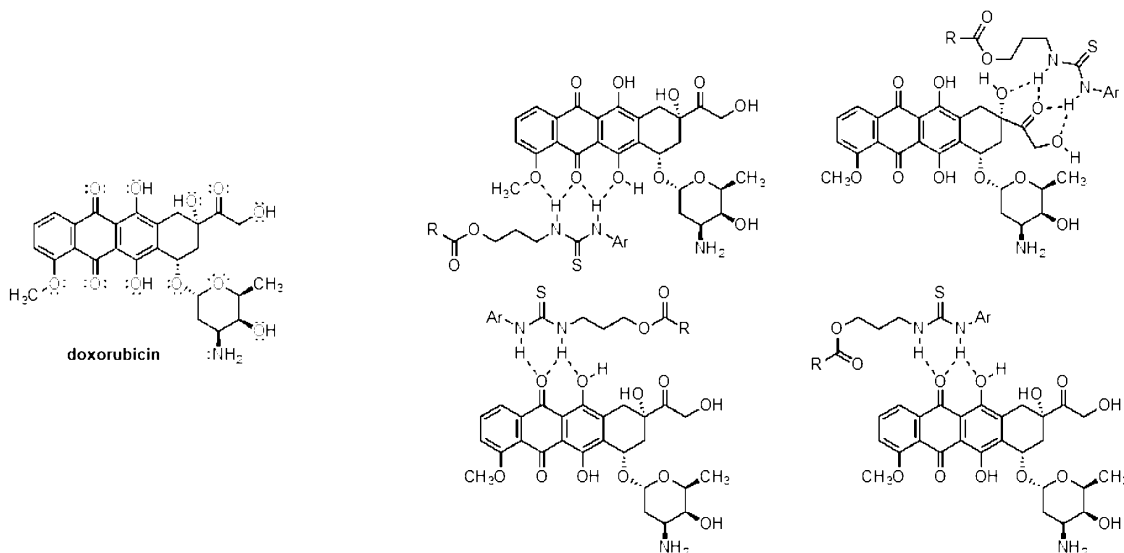
を有する脂質部分は水素結合供与基を含む。しかし、水素結合供与体および受容体の他の原子配置は、当業者が容易に想像できるであろう。

【0 2 1 2】

薬物 - 脂質結合体における水素結合 X 1 リンケージの例：

【0 2 1 3】

【化 3 7】



【0 2 1 4】

化学リンケージ X 2

同様に、X 2 は、式 I、I a、I I または I I a の L 上の任意の炭素原子に R を共有結合させる化学リンケージであり、L の任意の炭素上の官能基と R 上の反応基との反応によって形成され得る。しかし、X 1 と同様に、X 2 は L 上の官能基間の直接反応の結果である必要はなく、むしろ多段階合成スキームによって形成することができる。

【0 2 1 5】

種々の X 2 官能基が R を L または L 2 に結合させることができる。例えば、X 2 はエステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、N - マンニヒ付加物、N - アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンのような炭素系官能基、メチレン (CH₂) または尿素から選択される官能基であり得る。1 つの実施形態において、R 上の反応性基と X 2 を形成するための L 上の反応性基は - OH、- NH₂、または - C = O (O) から選択される官能基である。最も優位性があるのは、X 2 は、L 上の水酸基とアシル基の反応によって生成する - C = O (O) である。しかし、このような基は単なる例示であり、当業者に公知の他の基も同様に使用することができる。

【0 2 1 6】

X 2 化学リンケージはリンカーでもよい。リンカーは、所望される場合には、式 I、I b、I I または I I a において R を放出するための 0 ~ 12 の炭素原子および少なくとも 1 つの切断可能な官能基を有していてもよい。1 つの実施形態において、リンカーは少な

くとも2つの官能基、すなわちリンカーの一端を足場Lに接合する第1の官能基およびリンカーの他端をR上の炭素原子に接合する第2の官能基を有する。2つの官能基は、それぞれエステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、ジスルフィド、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオノカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホラミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、N-マンニヒ付加物、N-アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンのような炭素系官能基、メチレン(CH_2)または尿素から独立して選択され得る。1つの優位性のある実施形態において、リンカー中の官能基の少なくとも1つは、エステル、アミド、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメートまたはホスホジエステルである。別の実施形態では、X2の官能基の少なくとも1つをインビボで切断して、足場LからRを放出させることができる。このような後者の実施形態は、RまたはLが治療用脂質である場合に望ましいことがある。

10

【0217】

RまたはR'基

上述のように、1つの実施形態において、式I、Ia、IIまたはIIaにおけるRまたはR'は、1~40の炭素原子を有する炭化水素基であり、任意に1個以上のシスまたはトランス $\text{C}=\text{C}$ 二重結合を有してもよい。別の実施形態では、Rは脂肪族炭化水素である。さらなる実施形態において、Rはいずれの複素環式構造も含まない。別の実施形態では、Rはビオチンではない。

20

【0218】

1つの実施形態において、式I、Ia、IIまたはIIaの脂質結合体が所望のlog P値を有するように、R基中の炭素原子数を選択する。上記の表1から分かるように、いくつかの実施形態において、脂質結合体のlog Pは、一般的に炭化水素R上の炭素原子の数と相関し得る。例えば、リシノレイルアルコールに由来するL(式I)またはL1-L2(式Ia)に基づく表1に提供される例において、R炭化水素がINT-D047のように2つの炭素原子を有するアシル基に由来する場合(すなわち、Rは上述の式IまたはIa命名法に基づく1つの炭素原子である)、log Pはわずか8.33である。しかしながら、5炭素原子のアシル鎖に由来するINT-D048のlog Pは、10.13(すなわち、Sは式IまたはIaS命名法に基づく4炭素原子である)である。INT-D035のlog Pは、18の炭素原子を有するオレオイルをLに結合させると(すなわち、Rは式IまたはIaR命名法に基づく17個の炭素原子である)、15.34に増大する。Lに連結したアシル鎖がINT-D051のように20の炭素原子をもつとき、log Pは15.14(すなわち、Sは19の炭素原子に等しい)である。上述の通り、所望の疎水性を有するプロドラッグを設計することにより、投与後の薬物ローディングおよび保持特性をより容易に制御することができる。

30

【0219】

したがって、1つの実施形態において、式I、Ia、IIまたはIIaにおけるRは、1~40の炭素原子を有し、直鎖状または分岐状であり、5~25または5~18または6~16の範囲内に収まる所望のlog Pを有する脂質結合体を提供するように選択される。

40

【0220】

上述の通り、任意に、1~40の炭素原子を有し、かつ任意に、1以上のシスまたはトランス $\text{C}=\text{C}$ 二重結合を有する第2のR炭化水素が、X2化学リンケージを介してLと化学的に結合されてもよい。さらに、任意に、1~40の炭素原子を有し、任意に1以上のシスまたはトランス $\text{C}=\text{C}$ 二重結合を有する第3のR炭化水素が、X2化学リンケージを介してLと化学的に結合されてもよい。

【0221】

さらに、Lに結合した1つ以上のR炭化水素部分が、それぞれのR'側鎖に結合している可能性がある。例えば、R'側鎖はX2リンケージを介して第1、第2または第3のRに連

50

結されてもよく、第2のR'側鎖はX2リンケージを介して任意のRに連結されてもよく、および/または第3のR'はX2リンケージを介して任意のRに連結されてもよい。他にも様々な組み合わせが当業者によって容易に想像できる。

【0222】

R炭化水素は、アシル基または脂肪酸に由来する必要がない。例えば、Rはコレステロール部分または他の炭化水素基であり得る。R炭化水素はまた、治療活性を有する脂質またはステロールのような、プロドラッグからの開裂時に放出される治療用または予防用部分であり得る。

【0223】

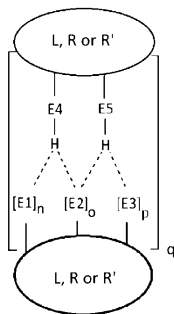
すでに述べたように、関心分子MをLに、1つ以上のR炭化水素をLに、または1つ以上のR'基をRに結合させるために、さまざまな化学リンケージを利用することができる。これらのリンケージにおいて種々の官能基またはそれらの組合せを使用することができることは、当業者に理解されるであろう。すなわち、式I、Ia、IIおよびIIaの脂質結合体および式III、IIIa、IIIbおよびIIIcの前駆体Pに関連して上述の種々の実施形態においてX1およびX2は、独立して、エステル、アミド、アミジン、ヒドラゾン、エーテル、カーボネート、カルバメート、チオカルバメート、グアニジン、グアニン、オキシム、イソ尿素、アシルスルホンアミド、ホスホラミド、ホスホンアミド、ホスホンアミデート、ホスフェート、ホスホネート、ホスホジエステル、ホスホノオキシメチルエーテル、N-マンニッヒ付加物、N-アシルオキシアルキルアミン、スルホンアミド、イミン、アゾ、アルカン、アルケンまたはアルキンのような炭素系官能基、メチレン(CH₂)または尿素から選択することができる。別の実施形態では、リンケージX1およびX2のいずれか1つが生分解性を示す。

【0224】

別の実施形態では、任意のX2は1つ以上の水素結合を含むリンケージである。このような実施形態によれば、X2は式VIのリンキング部分の構造を有する：

【0225】

【化38】



【0226】

式中、E1、E2、E3、E4およびE5は、O、NおよびPから選択される電気陰性原子であり；

E1、E2およびE3は水素結合受容体であり、E4およびE5は水素結合供与体であり；点線は水素結合、実線は共有結合を示し；

Lは、式I、Ia、IIまたはIIaに示される脂質部分の脂質足場であり；

RおよびR'は、式IIaに示されている炭化水素鎖であり；

nは0または1、oは0または1、pは0または1であり、n + o + p = 2であり；

qは、1 ~ 10または2 ~ 10または4 ~ 10であり；

Lは、脂質部分の脂質足場であり；

Mは、関心分子であり；

E1およびE3は、任意に、アルキル、アリール、アルキレンまたはHのような、そこに結合した置換基を含んでもよい。

【 0 2 2 7 】

製品、組成および製剤

本明細書に記載の脂質結合体は、医薬品または組成物の成分として、または送達媒体の一部として、遊離の形態で投与することができる。このような製品または組成物には、典型的には既知の薬学的に許容可能な塩および/または賦形剤が含まれる。

【 0 2 2 8 】

様々なデリバリーシステムを用いて、医薬製剤を調製することができる。これらには、脂質、ポリマーベースのナノ粒子、エマルジョン、ミセル、およびカーボンナノチューブを含むリポソームまたはポリマーナノ粒子などの1つ以上の二重層を有する小胞を含む脂質ナノ粒子 (LNP) が含まれるが、これらに限定されない。

10

【 0 2 2 9 】

本開示の脂質結合体は、リポソームまたは脂質もしくは他の疎水性成分を含むポリマーベースの系などのナノ粒子への取り込みが特に容易である。特定の実施形態における脂質結合体の脂質様特性は、これらまたは他の送達媒体へのそのローディングを容易にすることができる。例えば、いくつかの実施形態において、与えられたナノ粒子へのローディング効率は75%~100%、80%~100%又は最も優位性のある場合には90%~100%である。

【 0 2 3 0 】

1つの実施形態において、脂質結合体は、小胞形成脂質および任意にステロールを含む脂質製剤成分と混合することによって、リポソームなどの脂質ナノ粒子にローディングされる。その結果、これらの薬物-脂質結合体を組み込んだ脂質ナノ粒子は、押出、エタノール注入およびインライン混合を含むが、これらに限定されない、当業者に知られている多種多様な、十分に記載された製剤方法論を用いて調製することができる。このような方法は、Maclachlan, I. and P. Cullis, "Diffusible-PEG-lipid Stabilized Plasmid Lipid Particles", Adv. Genet., 2005. 53PA:157-188; Jeffs, L.B., et al., "A Scalable, Extrusion-free Method for Efficient Liposomal Encapsulation of Plasmid DNA", Pharm Res, 2005. 22(3):362-72; and Leung, A.K., et al., "Lipid Nanoparticles Containing siRNA Synthesized by Microfluidic Mixing Exhibit an Electron-Dense Nanostructured Core", The Journal of Physical Chemistry. C, Nanomaterials and Interfaces, 2012, 116(34): 18440-18450,に記載され、その全体を引用してこ

20

30

【 0 2 3 1 】

リポソームは、リン脂質二重層に囲まれた水性内部溶液を含むが、脂質ナノ粒子は、代替的に親油性コアを含み得る。このような親油性コアは、プロドラッグの貯蔵庫として機能することができる。固体および液体の脂質ナノ粒子は、本明細書に記載されるようにプロドラッグの送達のために使用することができる。

【 0 2 3 2 】

一実施形態では、リン脂質二重層を含み、脂質結合体が二重層内で疎水性油相を形成する脂質ナノ粒子が提供される。このような送達媒体は、本明細書の実施例3および実施例4に記載されている。疎水性油相は電子顕微鏡で可視化できる。1つの実施形態において、脂質結合体は、式I、Ia、IIまたはIIaの構造を有する。別の実施形態では、脂質ナノ粒子は、リポソームのような1つ以上の二重層を有する粒子である。

40

【 0 2 3 3 】

送達媒体はまた、界面活性剤によって安定化された脂質コアを含むナノ粒子であり得る。小胞形成脂質は安定剤として利用され得る。別の実施形態では、脂質ナノ粒子は、安定化脂質によって取り囲まれたポリマーナノ粒子コアを含むポリマー-脂質ハイブリッドシステムである。そのような実施形態において、本開示の脂質結合体は、脂質-ポリマー結合体であり得る。

【 0 2 3 4 】

あるいは、ナノ粒子は、脂質を含まないポリマーから調製され得る。このようなナノ粒

50

子は、ポリマーシェルによって取り囲まれているか、またはポリマーマトリックス全体に分散された固体または液体を有し得る、薬物の濃縮コアを含み得る。

【0235】

本明細書に記載される脂質結合体は、油滴またはオイルコアを含む薬物送達媒体であるエマルションにも取り込むことができる。エマルションは脂質安定化できる。例えば、エマルションは、脂質の単層または二層のような乳化成分によって安定化された油充填コアを含み得る。

【0236】

ミセルは、両親媒性脂質または高分子成分からなる自己集合粒子であり、疎水性コアに存在する薬剤の送達に利用される。薬物を足場分子Lおよび本明細書に記載される疎水性基Rと結合させることは、ミセルへの薬物ローディングを改善し得る。

10

【0237】

本明細書で脂質結合体をカプセル化するのに用いることができる当業者に公知のさらなるクラスの薬物送達媒体は、カーボンナノチューブである。

【0238】

前記送達媒体の調製およびその中にプロドラッグを取り込むための様々な方法が利用可能であり、当業者により容易に実施され得る。

【0239】

開示に包含されるある種の脂質結合体は、無担体系の一部を形成し得る。そのような実施形態では、脂質結合体は粒子に自己集合することができる。限定することなく、薬物部分Dまたはポリマーが親水性であれば、両親媒性プロドラッグは安定剤の有無にかかわらずナノ粒子に集合することができる。

20

【0240】

医薬組成物は上述されているが、脂質結合体は、任意の栄養、化粧品、洗浄または食品製品の成分であり得る。

【0241】

投与

特定の実施形態において、脂質結合体は、遊離であるかまたは薬物送達媒体中に処方され、患者の状態を治療、予防および/または改善するために投与されるプロドラッグである。すなわち、遊離型のプロドラッグまたは送達媒体中に処方されたプロドラッグは、予防的、改善的または治療的利益を提供し得る。プロドラッグを含む医薬組成物は、任意の適当な投与量で投与される。1つの実施形態において、遊離または薬物送達媒体中に処方されるプロドラッグは、非経口的に、すなわち動脈内、静脈内、皮下または筋肉内に投与される。他の実施形態では、遊離形態のプロドラッグまたは本明細書に記載された送達媒体中に処方されたプロドラッグを局所的に投与することができる。さらに別の実施形態では、遊離形態のプロドラッグまたは本明細書に記載された送達媒体中に処方されたプロドラッグを経口投与することができる。さらに別の実施形態では、プロドラッグはエアロゾルまたは粉末分散による肺投与のために遊離形態で、または送達媒体中に処方される。

30

【0242】

さらなる実施形態において、関心分子は親水性ポリマーであり、結合体は脂質 - ポリマー結合体である。脂質 - ポリマー結合体は、1つ以上の薬物と共に送達媒体に取り込まれ、患者の状態を治療、予防および/または改善するために投与され得る。

40

【0243】

本明細書中で使用される用語「患者」は、ヒトまたは非ヒト被験体を含む。

【0244】

以下の実施例は、本発明の範囲を限定するものでなく、例示の目的のために与えられる。

【0245】

実施例

実施例1：例示的足場分子Lとしてのリシノレイルアルコール

脂質結合体の例を図2に示し、上記式I、Ia、IIまたはIIaにおける足場Lの前

50

駆体としてリシノール酸またはリシノレイルアルコールを用いて形成され得る多様な結合体を示す。図では、式 I の X 1 および X 2 リンケージの化学構造は描かれていない。むしろ、図は、カルボン酸のような薬物 - リンカーおよび / またはアシル基上の相補的な官能基と反応させることができる脂肪酸またはアルコールの C 1 および C 1 2 の水酸基（ならびに分子の酸化型では 9 および 10 位の Z、Y の原子）を示す。この実施例において、X 1 および X 2 リンケージは、カルボキシル基と水酸基との縮合反応に基づくエステル官能基を含み得るが、他の官能基も、薬物、分子骨格、側基 R または X 1 または X 2 を形成するように反応するリンカー基に存在する特定の官能基によって、同様に形成され得る。

【0246】

以下の実施例はまた、関心分子 M を足場分子 L に連結するためにリンカー基を使用する。しかしながら、このようなリンカーは、関心分子 M が、代わりに、足場分子 L 自体に直接結合され得るという点で任意である。

【0247】

リシノレイルアルコールは、リシノール酸から誘導される不飽和脂肪族アルコールであり、炭素数 18 のヒドロキシル脂肪酸（HFA）であり、C 1 2 にヒドロキシル基が置換されている。図 2 の構造において、リシノール酸またはリシノレイルアルコールは、前駆体足場 P（X は C = O または C H₂）として描かれるが、他の分子も同様に使用することができ、これには、他のヒドロキシ脂肪酸、それらに対応する脂肪族アルコールまたは脂肪族アミンが含まれるが、これらに限定されない。さらに、リシノール酸またはリシノレイルアルコールに基づく足場 L は、C 1 2 および C 1 の両方で水酸基を有する脂肪酸または脂肪族アルコールから調製する必要がない。例えば、L の前駆体は、C 1 に水酸基を有し、C 1 2 にエーテル置換基を有する対応する分子（実施例 2 に記載のシリルエーテル I - 1 - (tert - ブチルジメチルシリル) - 1 2 - ヒドロキシオレイルアルコール（2）中間体など）から調製することができる。

【0248】

いくつかの実施形態において、リシノール酸またはリシノレイルアルコールの主鎖の二重結合は、第 2 のアシル鎖 R' を結合させるために使用できる追加の反応性基を提供するために部分的または完全に酸化される。このような基は、図では Y と Z として描かれている。

【0249】

この例では、足場分子 L は式 I a の L 1 - L 2 鎖として記述される。L 1 は、C 1 から側鎖（例えば、アシル鎖）または関心分子または M - リンカーが結合した第 1 の分岐点に先行する炭素までの炭素鎖である。L 2 は分岐点にある炭素から骨格の末端までを含む炭素鎖である。

【0250】

図 2 の A の構造では、X 1 は C 1 のリシノール酸（X = C = O）またはリシノレイルアルコール L（X = C H₂）に関心分子を共有結合するリンカーである。リンカーは、C 1 の水酸基である反応性基を介してリシノール酸またはリシノレイルアルコールの C 1 に結合している。リシノール酸またはリシノレイルアルコールの C 1 2 では、アシル基に由来する側鎖 R が水酸基を介して L 2 に結合している。この例では、L 1 は C 9 と C 10 で図 2 に示したようにシス二重結合をもつ直鎖状の 1 1 の炭素鎖であり、L 2 は C 1 2 から C 1 8 までの 7 炭素の飽和炭素鎖である。X 2 はここには示していないが、リシノール酸やリシノレイルアルコールの C 1 2 をアシル基に由来する R 側鎖に結びつけている。上述の通り、アシル基のカルボン酸はリシノール酸またはリシノレイルアルコールの C 1 2 の水酸基と反応して - O（C = O）エステル結合を形成する。同様に、この例ではリシノール酸またはリシノレイルアルコールの C 1 の O H がリンカーの一端のカルボン酸基と反応して X 1 - O（C = O）エステル結合を形成する。あるいは、L の C 1 の O H は、関心分子 M 上の遊離カルボン酸と直接反応して - O（C = O）リンケージ（X 1）を形成する。

【0251】

図 2 の構造 B では、リンカー X 1 が関心分子 M をリシノール酸またはリシノレイルアルコールの C 1 2 の水酸基に共有結合で結合させる。C 1 では、アシル側基に由来する R 炭

10

20

30

40

50

化水素がC 1の末端水酸基を介してL 1に結合している。この例では、分子足場のL 1は1 1の炭素原子であり、L 2は7の炭素原子である。あるいは、LのC 1のOHは、目的のMの分子上のカルボン酸と直接反応して-O (C = O) 結合を形成する。

【0 2 5 2】

図2のCでは、部分的に酸化されたリシノール酸またはリシノレイルアルコールが、Pの前駆体足場として用いられる。C 9とC 10のリシノール酸またはリシノレイルアルコールの二重結合は酸化されて、C 10位がY反応性基で置換された飽和炭化水素鎖と、C 12がヒドロキシル基で置換されたものとなる。アシル基に由来する側鎖Rは、水酸基を介してL 1 - L 2のC 12に連結し、別のアシル鎖に由来する第2の側鎖R'は、Yを介してC 10位に連結する。この例では、Yは反応性基であり、N、O、SまたはPを基の最初の原子として含む。限定されることなく、YがNであれば、反応性基はアミンであり得、YがOであれば、反応性基は水酸基であり得る。同様に、YがPであれば、反応基はホスフェートであり得る。上述の通り、これらの反応性基は単なる例示であり、他の基は当業者によって容易に想像することができる。

10

【0 2 5 3】

関心分子M - リンカーX 1は、リシノール酸またはリシノレイルアルコールの末端ヒドロキシル基を介してC 1に結合される。あるいは、L 1 - L 2のC 1のOHは、関心分子M自身上のカルボン酸と反応して-O (C = O) 結合を形成する。この例では、L 1は9の炭素原子、L 2は9の炭素原子である。

【0 2 5 4】

20

図2の構造Dでは、部分酸化されたリシノール酸またはリシノレイルアルコールが再び足場前駆体として用いられ、C 1上のリンカーX 1を介して関心分子Mを含む。あるいは、L 1 - L 2のC 1のOHは、図示されたリンカーを利用するのではなく、関心分子M上のカルボン酸と直接反応して-O (C = O) 結合を形成する。アシル鎖に由来する第1の側鎖Rは、水酸基反応性基を介してC 12位で結合し、アシル鎖に由来する第2の側鎖R'は、リシノレイルアルコールのC 9位でY基を介して結合しており、この基の第1の原子は、構造Cに関連して記載されているようにN、O、SまたはPである。この例では、L 1は8の炭素原子、L 2は10の炭素原子である。

【0 2 5 5】

図2の構造Eでは、酸化されたリシノール酸またはリシノレイルアルコールが、水酸基を介してC 12位で結合したアシル鎖Rに由来する側鎖と、Z基を介してC 9位で結合したアシル鎖に由来する第2の側鎖R'を有する足場Lの前駆体として用いられる。Yと同様に、Z基は反応性基であり、上記の構造CとDに関連して述べたように、基の最初の原子はN、O、SまたはPである。薬物部分Dは、C 1の反応性水酸基との化学リンケージによりC 1のリンカーX 1を介して結合する。あるいは、L 1 - L 2のC 1のOHは、リンカーを利用するのではなく、薬物D上のカルボン酸と直接反応して-O (C = O) 結合を形成する。

30

【0 2 5 6】

実施例2：脂質結合体の合成

材料および方法：

40

以下に示す合成手順A～Eを用いて、種々のプロドラッグを調製した。

【0 2 5 7】

試薬・溶剤はいずれも市販業者から購入し、特に断りのない限り、さらなる精製なしに使用した。ただし、テトラヒドロフラン（窒素下でNa / ベンゾフェノンから新たに蒸留したもの）、Et₃N、DMFおよびCH₂Cl₂（窒素下でCaH₂から新たに蒸留したもの）は除く。USPグレードのヒマシ油を地域の薬局（LifeTMブランド）で購入し、そのまま使用した。NMRでは、化学シフトはδスケールで百万分の1（ppm）であり、カップリング定数Jはヘルツ（Hz）である。多重度は、s（シングレット）、d（ダブルット）、dd（ダブルットのダブルット）、dt（トリプレットのダブルット）、ddd（ダブルットのダブルットのダブルット）、t（トリプレット）、td（ダブレ

50

ットのトリプレット)、q (カルテット)、q u i n (クイントプレット)、s e x (セクステット)、m (マルチプレット)として、さらにa p p (明確)およびb r (ブロード)として示される。

【 0 2 5 8 】

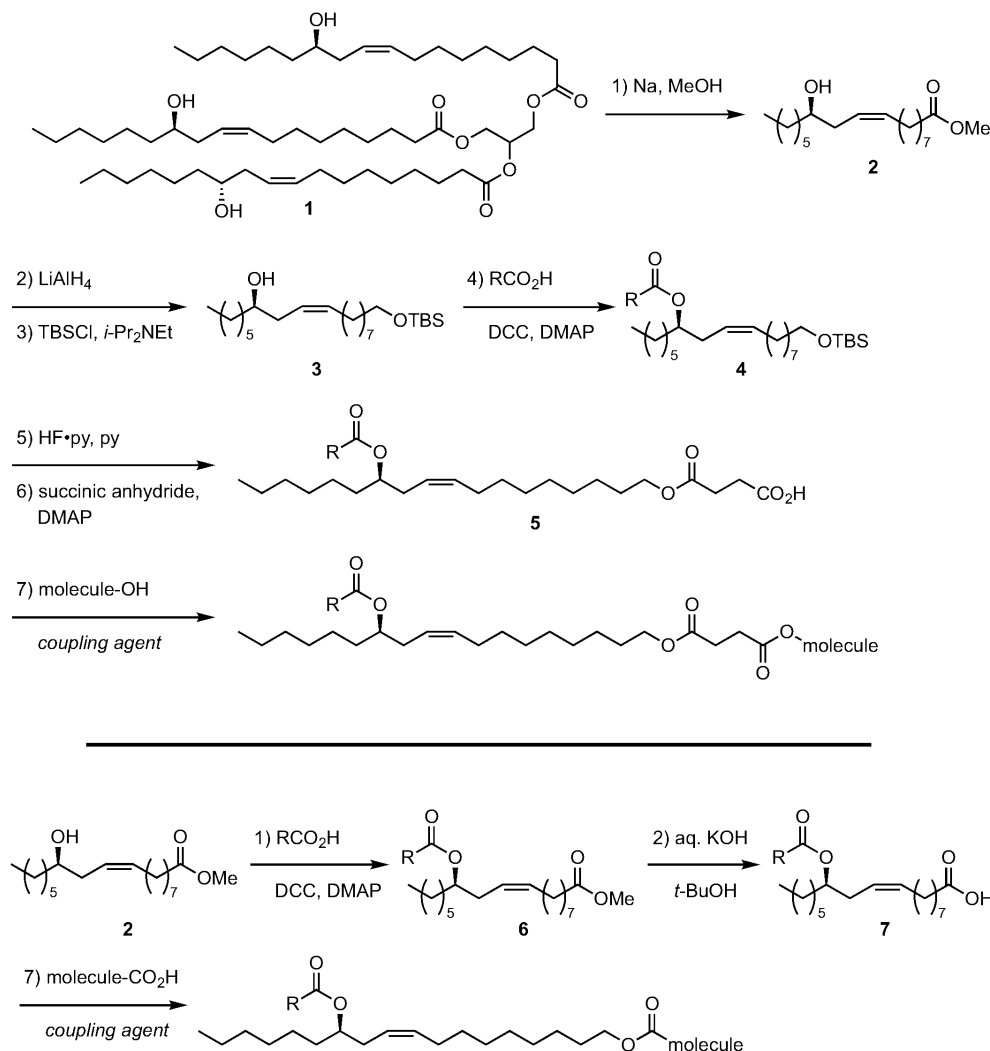
ヒマシ油 (リシノレイン) のヒドロキシおよびカルボキシ誘導体に基づく脂質結合体の一般的な合成のステップを以下のスキーム 1 に示す。次いで、以下の実施例 2 A ~ 2 V のプロドラッグを製造するための工程を記載した、一般的手順 A ~ E と称される、スキーム 1 に続く。

【 0 2 5 9 】

スキーム 1 : ヒマシ油 (リシノレイン) のヒドロキシおよびカルボキシ誘導体に基づく脂質結合体の一般的な合成。

【 0 2 6 0 】

【 化 3 9 】



【 0 2 6 1 】

スキーム I に記載された合成反応によれば、リシノレイン (リシノール酸のグリセリド) としても知られるヒマシ油は、図 3 に示すプロドラッグの合成の出発物質である。

【 0 2 6 2 】

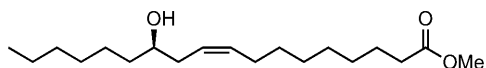
上記ステップ 1) では、丸底フラスコで、ナトリウムメトキシド (MeOH 中 3.0 M 溶液 2.0 mL、6.00 mmol、0.20 当量) をヒマシ油 (28.0 g、30.0 mmol、1.00 当量) の 1 : 1 THF / MeOH (30 mL) 溶液にアルゴン下、室温で攪拌下添加した。14 時間後、反応液を飽和 NH₄Cl 水溶液でクエンチし、Et₂

O (3 × 1 5 0 m L) で抽出した。合わせた有機層を水 (1 × 1 5 0 m L)、塩水 (1 × 1 5 0 m L) で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥し、濃縮して無色透明のメチル (1 2 R) - ヒドロキシオレエート 1 (2 8 . 0 g、定量収率) 油状物を生産し、これをさらに精製せずに使用した。メチル (1 2 R) - ヒドロキシオレエートの構造とその物理的性質を以下に示す：

メチル (1 2 R) - ヒドロキシオレエート (1) ；

【 0 2 6 3 】

【 化 4 0 】



10

【 0 2 6 4 】

R_f = 0 . 5 0 (SiO₂、7 0 : 3 0 ヘキサン / EtOAc) ；

¹H NMR (3 0 0 MHz , CDCl₃) : δ 5 . 6 4 - 5 . 5 0 (m , 1 H) , 5 . 4 9 - 5 . 3 5 (m , 1 H) , 3 . 6 8 (s , 3 H) , 3 . 6 3 (q u i n t , J = 5 . 6 Hz , 1 H) , 2 . 3 2 (t , J = 7 . 6 Hz , 2 H) , 2 . 2 3 (t , J = 6 . 6 Hz , 2 H) , 2 . 1 3 - 2 . 0 0 (m , 2 H) , 1 . 7 2 - 1 . 1 9 (m , 2 0 H) , 0 . 9 0 (t , J = 6 . 4 Hz , 3 H)

【 0 2 6 5 】

上記のスキーム 2) に従い、アルゴン下、丸底フラスコ中の LiAlH₄ (1 . 2 5 g、3 3 . 0 mmol、1 . 1 0 当量) の攪拌氷冷 THF (9 0 mL) 懸濁液に、メチル (1 2 R) - ヒドロキシオレエート (9 . 3 7 g、3 0 . 0 mmol) の室温 THF (1 5 mL) 溶液を添加漏斗から 2 0 ~ 3 0 分かけて加えた。添加終了後、冷浴を除去した。1 4 時間後、反応混合物を氷浴中で冷却し、Et₂O (1 5 0 mL) で希釈し、クエンチング溶液 (1 . 2 5 mL H₂O、1 . 2 5 mL 1 M NaOH 水溶液、3 . 7 5 mL H₂O) でクエンチングし、室温で 1 時間攪拌し、Et₂O で十分に洗浄しながら、セライトでろ過した。このろ液を回転蒸発器で濃縮して粗ジオールを淡黄色油状物 (定量収率) とし、これをさらに精製せずに使用した。

20

【 0 2 6 6 】

上記反応スキームの 3) に従い、アルゴン下、丸底フラスコ中の上記ジオール (8 . 2 1 g、2 8 . 9 mmol、1 . 1 0 当量) および i - Pr₂Net (5 . 7 3 mL、3 2 . 8 mmol、1 . 2 5 当量) の 1 0 ~ 1 5 の DMF (2 5 mL) 溶液に、3 0 分かけて tert - ブチルジメチルシリルクロリド (3 . 9 6 g、2 6 . 2 mmol、1 . 0 0 当量) の室温 DMF (2 0 mL) 溶液を添加漏斗から加えた。反応液を 1 4 時間かけて昇温させた後、飽和 NH₄Cl 水溶液でクエンチし、1 : 1 Et₂O / ヘキサン (3 × 1 0 0 mL) で抽出した。混合有機層を H₂O (3 × 1 0 0 mL)、塩水 (1 × 1 0 0 mL) で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥し、回転蒸発器で濃縮して、粗製の第 1 シリルエーテルを微黄色油状物として得た。シリカゲルのプラグ (SiO₂ 2 2 0 mL、9 9 : 1 → 9 5 : 5 ヘキサン / EtOAc) を用いて粗製をろ過し、シリルエーテル 2 (8 . 3 8 g、収率 8 0 %) からなる無色透明油状物を得た。

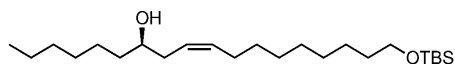
30

シリルエーテル 2 の構造、ならびにその物理的性質：を以下に示す：

I - 1 - (tert - ブチルジメチルシリル) - 1 2 - ヒドロキシオレイルアルコール (2) ；

【 0 2 6 7 】

【 化 4 1 】



40

【 0 2 6 8 】

R_f = 0 . 1 6 (SiO₂、9 5 : 5 ヘキサン / EtOAc) ；

50

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 5.64 - 5.50 (m, 1H)、5.49 - 5.35 (m, 1H)、3.68 (s, 3H)、3.63 (quint, $J = 5.6$ Hz, 1H)、2.32 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H)、2.23 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H)、2.13 - 2.00 (m, 2H)、1.72 - 1.19 (m, 20H)、0.90 (t, $J = 6.4$ Hz, 3H)

【0269】

上記反応スキームの4)に従い、アルゴン下、丸底フラスコ中の RCO_2H (279 mg、2.40 mmol、1.20 当量)の氷冷 CH_2Cl_2 (6 mL)液に $\text{N,N}'$ -ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) (495 mg、2.40 mmol、1.20 当量)を加え、続いて氷浴を除去し、得られた合剤を15分間攪拌した。この例では、 RCO_2H はヘキサン酸であったが、他のアシル基を利用して所望の炭化水素側鎖 S を生成することができる。反応混合物を氷浴中で再度冷却し、シリルエーテルの CH_2Cl_2 (2 mL)溶液、I-1-(tert-ブチルジメチルシリル)-12-ヒドロキシオレイルアルコール2 (797 mg、2.00 mmol)を添加した後、DMAP (366 mg、3.00 mmol、1.50 当量)を加え、反応混合物を室温に14時間かけて加温した。反応混合物を Et_2O で希釈し、10分間かき混ぜた後、セライトでろ過した。ろ液を回転蒸発器で濃縮し、粗エステルを白色半固体として得た。粗エステルをシリカゲルのプラグ (SiO_2 20 mL、95:5 ヘキサン/ EtOAc)を用いてろ過し、 $R_f = 0.53$ (SiO_2 、90:10 ヘキサン/ EtOAc)の中間エステル(定量収率)として無色透明油状物を生成した。

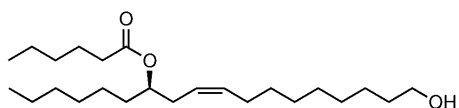
【0270】

上記のスキーム5)に従い、アルゴン下、丸底フラスコ中のピリジン (0.48 mL、6.00 mmol、3.00 等量)および上記シリルエーテル (2.00 mmol)の攪拌した氷冷THF (6 mL)溶液に、純粋な $\text{HF} \cdot \text{ピリジン}$ 溶液 (70% HF のピリジン溶液 0.74 mL、6.00 mmol、3.00 等量)を加えた。2時間後、飽和 NaHCO_3 水溶液で反応を停止した。混合物を Et_2O (2 × 10 mL)で抽出した後、合わせた有機抽出物を H_2O (1 × 10 mL)、塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥し、回転蒸発器で濃縮して粗一級アルコールを得た。粗製物を、シリカゲルのプラグ (20 mL、90:10 ヘキサン/ EtOAc)を通してろ過することによって精製し、以下の構造および物理的特性を有する透明な無色の油として第一級アルコール3 (定量収率)を生成した：

(12R) - ヘキサノイルオキシオレイルアルコール (3) :

【0271】

【化42】



【0272】

上記反応スキーム6)に従い、アルゴン下、丸底フラスコ中の(12R) - ヘキサノイルオキシオレイルアルコール (3) (765 mg、2.00 mmol、1.00 当量)の攪拌室温 CH_2Cl_2 (6 mL)液に固体の無水コハク酸 (400 mg、4.00 mmol、2.00 当量)およびDMAP (611 mg、5.00 mmol、2.50 当量)を添加した。14時間後、1M塩酸水溶液で反応を停止し、 CH_2Cl_2 (2 × 15 mL)で抽出した。次に、混合した有機抽出物を1Mの塩酸水溶液 (1 × 15 mL)、 H_2O (2 × 15 mL)で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥させ、回転蒸発器で濃縮して、淡黄色油状物の中間体ヘミスクシネート(定量収率)を得て、さらなる精製を行わずに使用した。中間体は $R_f = 0.32$ (SiO_2 、50:50 ヘキサン/ EtOAc)であった。

【0273】

反応スキームの7)に従い、固体DCC (99 mg、0.48 mmol、1.20 当量

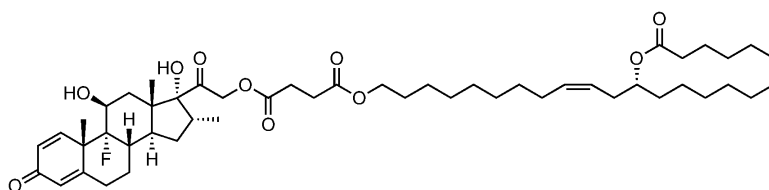
をアルゴン下、丸底フラスコ内の上記ヘミスクシネート（232 mg、0.48 mmol、1.20 当量）の攪拌氷冷 CH_2Cl_2 （2 mL）液に加えた後、氷浴を除去し、15 分間攪拌した。反応混合物を氷浴中で再び冷却し、固体デキサメタゾン（157 mg、0.40 mmol）および DMAP（73 mg、0.60 mmol、1.50 当量）を添加した。14 時間かけて加温し、 Et_2O で希釈し、10 分間かき混ぜた後、セライトでろ過した。ろ液を濃縮して粗製物とし、これを微黄色油状物とした。粗製をフラッシュカラムクロマトグラフィー（50 mL SiO_2 ，80：20→50：50 ヘキサン/ EtOAc ）により精製し、以下の構造および特性を有する所望のプロドラッグ 4（328 mg、95% 収率）として無色透明油状物を得た：

【0274】

2 - ((8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9 - フルオロ - 11, 17 - ジヒドロキシ - 10, 13, 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ[a] 57 ct ad ic 57 re ne - 17 - イル) - 2 - オキソエチル (((R, Z) - 12 (ヘキサノイルオキシ) 57 ct ad ic - 9 - en - 1 - イル) スクシネート (4)) :

【0275】

【化 43】



【0276】

$R_f = 0.38$ (SiO_2 ，50：50 ヘキサン/ EtOAc) ;

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 7.22 (dd, $J = 10.2, 3.9$, 1H), 6.32 (dd, $J = 10.2, 1.7$, 1H), 6.1 (s, 1H), 5.44 - 5.17 (m, 9H), 5.00 - 4.81 (m, 2H), 4.43 - 4.22 (m, 4H), 4.21 - 4.06 (m, 2H), 3.16 - 3.01 (m, 1H), 2.84 - 2.51 (m, 11H), 2.50 - 2.23 (m, 9H), 2.21 - 1.48 (m, 25H), 1.45 - 1.15 (m, 34H), 1.14 - 1.00 (m, 1H), 1.03 (s, 3H), 0.95 - 0.81 (m, 10H)

【0277】

プロドラッグは、スクシネートリンカー (INT - D034) によりデキサメタゾンに結合したヘキサノイル (C6：0) 側鎖を有するリシノレイル足場 L をベースとする。

【0278】

上記実施例では、上記反応の 4) で付加された RCO_2H は、ヘキサン酸であり、ヘキサノイル側鎖 (C6：0) を生成したが、他の脂肪酸を利用してリシノレイル足場 L に所望の炭化水素側鎖 R を生成することができる。

【0279】

一般操作 A

(R) - 1 - (tert - ブチルジメチルシリル) - 12 - ヒドロキシオレイルアルコール 3 (4a - h) のアシル化：

アルゴン下、丸底フラスコ中で所望のカルボン酸 (1.20 当量) の攪拌、氷冷 CH_2Cl_2 液に DCC (1.20 当量) を加え、次いで氷浴を除去し、結果物を 15 分間攪拌した。反応混合物を氷浴で再度冷却し、アルコール 3 の CH_2Cl_2 液 (CH_2Cl_2 中、1.00 当量、0.25 M) を加え、次に DMAP (1.50 当量) を加え、反応混合物を 14 時間かけて室温に加温した。この反応混合物を Et_2O で希釈し、10 分間かき混

10

20

30

40

50

ぜた後、セライト(R)でろ過した。ろ液を回転蒸発器で濃縮し、粗エステルを白色半固体として得た。シリカゲル(95:5ヘキサン/EtOAc)のプラグを通して粗製物をろ過して精製し、純粋なエステルを得た。

【0280】

一般操作B

(12R)-アシルオキシオレイルアルコール4a-h(5a-h)の脱シリル化-サクシニル化:

アルゴン下、丸底フラスコ中のピリジン(3.00当量)および12-アシルリシノールアルコールシリルエーテル(1.00当量)の攪拌氷冷テトラヒドロフラン(出発シリルエーテルに対して0.30M)溶液に、HF・ピリジン溶液(ピリジン中、70%HF、3.00当量)を加えた。TLCが出発物質の摂取(2~8時間)を示したとき、反応液を飽和NaHCO₃水溶液でクエンチした。混合物をEt₂O(2×10mL)で抽出した後、合わせた有機抽出物をH₂O(1×10mL)、塩水で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥し、回転蒸発器で濃縮して粗一級アルコールを得た。

粗製物をシリカゲルのプラグ(90:10ヘキサン/EtOAc)でろ過して精製し、回転蒸発器で濃縮し、高減圧下で乾燥し、無色透明油状物の第一級アルコールを得た後、さらに精製することなくサクシニル化に使用した。

【0281】

固形無水コハク酸(2.00当量)およびDMAP(2.50当量)を、アルゴン下、丸底フラスコ中で攪拌されている室温の12-アシルリシノールアルコール(1.00当量)のCH₂Cl₂(出発第一級アルコールに対して0.30M)溶液に添加した。14時間後、1M塩酸水溶液で反応を停止し、CH₂Cl₂(2×15mL)で抽出した。次に、混合した有機抽出物を、1M塩酸(1×15mL)、H₂O(2×15mL)水溶液で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、回転蒸発器で濃縮した。残留物をヘキサンに再溶解し、活性炭で処理した後、セライト(R)でろ過し、ろ液を濃縮して、無色~微黄色の油状物の中間体ヘミスクシネートを得て、さらなる精製を行わずに使用した。

【0282】

一般操作C

メチル(12R)-リシノレート2(6a-c)のアシル化:

アルゴン下、丸底フラスコ中で所望のカルボン酸(1.20当量)の攪拌、氷冷CH₂Cl₂液にDCC(1.20当量)を加え、次いで氷浴を除去し、結果物を15分間攪拌した。反応混合物を氷浴内で再度冷却し、次に、メチル(12R)-リシノレート(CH₂Cl₂中、0.30M、1.00当量)のCH₂Cl₂液を加え、次にDMAP(1.50当量)を加え、反応混合物を14時間かけて室温まで加温した。反応混合物をヘキサンで希釈し、10分間攪拌した後、セライト(R)でろ過した。ろ液を回転蒸発器で濃縮して、粗ジエステルを白色半固体として得、これをシリカゲル(95:5ヘキサン/EtOAc)のプラグを通してろ過することによって精製し、純粋なエステルを得た。

【0283】

一般手順D

デキサメタゾンのヘミスクシネート5a-hへの結合:

DCC(1.20当量)をアルゴン下、丸底フラスコ中の12-アシルリシノレイルヘミスクシネート(1.20当量)の攪拌、氷冷CH₂Cl₂(デキサメタゾン中0.2M)液に加え、氷浴を除去し、結果物を15分間攪拌した。反応混合物を氷浴中で再び冷却し、固体デキサメタゾン(1.00当量)およびDMAP(1.50当量)を添加した。反応液を14時間かけて加温し、Et₂Oで希釈し、10分間かき混ぜた後、セライト(R)でろ過した。このろ液を濃縮して粗製物を淡黄色油状とし、その後フラッシュカラムクロマトグラフィー(SiO₂, 80:20→50:50ヘキサン/EtOAc)により精製し、所望のデキサメタゾン結合体として無色透明油状物を得た。

【0284】

一般手順E

デキサメタゾンのリシノール酸 12 a - b , 13 への結合：

アルゴン下、丸底フラスコ中のアシルオキシステアリン酸（1.10 当量）の攪拌、氷冷 CH_2Cl_2 （デキサメタゾン中 0.1 M）溶液に DCC（1.10 当量）を加え、氷浴を除去し、結果物を 15 分間攪拌した。反応混合物を氷浴中で再び冷却し、固体デキサメタゾン（1.00 当量）および DMAP（1.50 当量）を添加した。反応液を 14 時間かけて加温し、 Et_2O で希釈し、10 分間かき混ぜた後、セライト(R)でろ過した。ろ液を濃縮して粗製物を微黄色油状とし、フラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、所望の結合体として無色透明油状物を得た。

【0285】

(R, Z) - 18 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) オクタデク - 9 - エン - 7 - イルアセテート (4 a) :

10

塩化アセチル（0.43 mL、6.00 mmol、1.20 当量）を、丸底フラスコ中のシリルエーテル 3（2.00 g、5.00 mmol、1.00 当量）、塩化アセチル（0.43 mL、6.00 mmol、1.20 当量）、トリエチルアミン（0.83 mL、6.00 mmol、1.2 当量）および DMAP（733 mg、6.00 mmol、1.20 当量）の攪拌、氷冷 CH_2Cl_2 （10 mL）溶液にアルゴン下で滴下し、室温に温めた。14 時間後、反応液を CH_2Cl_2 で希釈し、飽和 NH_4 塩素水（1 × 15 mL）、水（2 × 15 mL）で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥させ、回転蒸発器で濃縮した。残留物を溶離液に再溶解し、シリカゲルのプラグ（ SiO_2 30 mL、97 : 3 ヘキサン / EtOAc ）を通し、淡黄色油状のエステル 4 a（1.83 g、83 %）を得た。

20

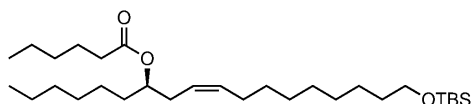
【0286】

$R_f = 0.45$ (SiO_2 , 95 : 5 ヘキサン / EtOAc) ;

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 5.65 - 5.53 (m, 1H)、5.49 - 5.36 (m, 1H)、3.70 - 3.56 (m, 3H)、2.23 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H)、2.13 - 2.00 (m, 2H)、1.58 - 1.23 (m, 22H)、0.97 - 0.86 (m, 12H)、0.07 (s, 6H)

【0287】

【化 4 4】



30

【0288】

(R, Z) - 18 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) オクタデク - 9 - エン - 7 - イルヘキサノエート (4 b)

一般手順 A に従い、 CH_2Cl_2 （15 mL）中のシリルエーテル 3（2.00 g、5.00 mmol）、ヘキサン酸（697 mg、6.00 mmol）、DCC（1.24 g、6.00 mmol）および DMAP（916 mg、7.50 mmol）により、無色透明油状物のエステル 4 b の 2.37 g（2.39 g、定量収量）を得た。

【0289】

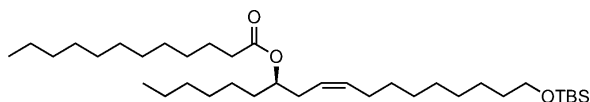
40

$R_f = 0.43$ (SiO_2 , 95 : 5 ヘキサン / EtOAc) ;

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 5.56 - 5.42 (m, 1H)、5.41 - 5.27 (m, 1H)、4.90 (quint, $J = 6.3$ Hz, 1H)、3.61 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H)、2.37 - 2.22 (m, 4H)、2.10 - 1.96 (m, 2H)、1.71 - 1.45 (m, 6H)、1.43 - 1.19 (m, 22H)、0.91 (br s, 15H)、0.07 (s, 6H)

【0290】

【化 4 5】



【0291】

(R,Z)-18-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)オクタデク-9-エン-7-イルラウレート(4c):

一般手順Aに従い、 CH_2Cl_2 (8 mL) 中のシリルエーテル3 (997 mg、2.50 mmol)、ラウリン酸 (601 mg、3.00 mmol)、DCC (619 mg、3.00 mmol) およびDMA P (458 mg、3.75 mmol) により、無色透明油状物のエステル4c (1.38 g、定量収率) を得た。

10

【0292】

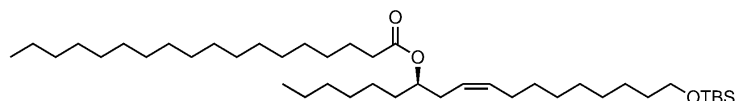
$R_f = 0.56$ (SiO_2 , 95:5ヘキサン/EtOAc);

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 5.56 - 5.41 (m, 1H)、5.41 - 5.26 (m, 1H)、4.90 (quint, $J = 6.2$ Hz, 1H)、3.61 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H)、2.37 - 2.21 (m, 4H)、2.11 - 1.95 (m, 2H)、1.72 - 1.43 (m, 12H)、1.43 - 1.13 (m, 38H)、0.91 (br s, 15H)、0.07 (s, 6H)

20

【0293】

【化 4 6】



【0294】

(R,Z)-18-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)オクタデク-9-エン-7-イルステアレート(4d):

一般般手順Aに従い、2:1 THF/ CH_2Cl_2 (6 mL) 中のシリルエーテル3 (997 mg、2.50 mmol)、ステアリン酸 (853 mg、3.00 mmol)、DCC (619 mg、3.00 mmol) およびDMA P (458 mg、3.75 mmol) により、無色透明油状のエステル4d (1.56 g、94%) を得た。

30

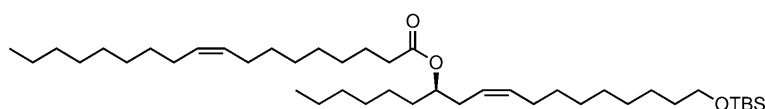
【0295】

$R_f = 0.48$ (SiO_2 , 90:10ヘキサン/EtOAc);

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 5.57 - 5.41 (m, 1H), 5.41 - 5.25 (m, 1H), 4.90 (quint, $J = 6.3$ Hz, 1H), 3.61 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.39 - 2.20 (m, 4H), 2.11 - 1.96 (m, 2H), 1.72 - 1.43 (m, 8H), 1.43 - 1.13 (m, 44H), 0.91 (br s, 15H), 0.07 (s, 6H)

【0296】

【化 4 7】



【0297】

(R,Z)-18-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)オクタデク-9-エン-7-イルオレエート(4e):

一般手順Aに従い、 CH_2Cl_2 (10 mL) 中のシリルエーテル3 (997 mg、2

50

．50 mmol)、オレイン酸(847 mg、3.00 mmol)、DCC(619 mg、3.00 mmol)およびDMAP(458 mg、3.75 mmol)により、無色透明油状物のエステル4e(1.64 g、定量)を得た。

【0298】

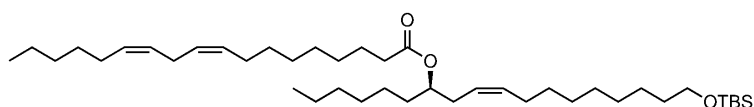
$R_f = 0.41$ (SiO₂, 95:5ヘキサン/EtOAc);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 5.56 - 5.25 (m, 4H)、4.90 (quint, J = 6.2 Hz, 1H)、3.61 (t, J = 6.5 Hz, 2H)、2.42 - 2.19 (m, 8H)、2.11 - 1.93 (m, 6H)、1.70 - 1.44 (m, 8H)、1.44 - 1.17 (m, 40H)、0.91 (br s, 15H)、0.06 (s, 6H)

10

【0299】

【化48】



【0300】

(R, Z) - 18 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) オクタデク - 9 - エン - 7 - イルリノレート (4f):

20

一般般手順Aに従い、CH₂Cl₂ (7 mL) 中のシリルエーテル3 (847 mg、2.12 mmol)、リノール酸 (715 mg、2.55 mmol)、DCC (526 mg、2.55 mmol) およびDMAP (389 mg、3.19 mmol) により、無色透明油状のエステル4f (1.06 g、76%) を得た。

【0301】

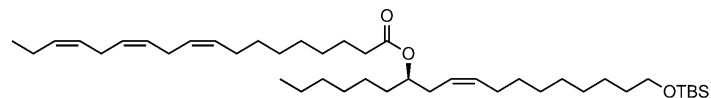
$R_f = 0.46$ (SiO₂, 95:5ヘキサン/EtOAc);

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 5.67 - 5.24 (m, 6H)、4.90 (quint, J = 6.2 Hz, 1H)、3.61 (t, J = 6.6 Hz, 2H)、2.79 (t, J = 5.9 Hz, 2H)、2.40 - 2.17 (m, 4H)、2.15 - 1.94 (m, 4H)、1.71 - 1.44 (m, 8H)、1.43 - 1.17 (m, 26H)、0.91 (br s, 15H)、0.07 (s, 6H)

30

【0302】

【化49】



【0303】

(R, Z) - 18 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) オクタデク - 9 - エン - 7 - イルリノレネート (4g):

40

一般般手順Aに従い、CH₂Cl₂ (8 mL) 中のシリルエーテル3 (997 mg、2.50 mmol)、リノレン酸 (835 mg、3.00 mmol)、DCC (619 mg、3.00 mmol) およびDMAP (458 mg、3.75 mmol) により、無色透明油状のエステル4g (1.52 g、92%) を得た。

【0304】

$R_f = 0.34$ (SiO₂, 95:5ヘキサン/EtOAc);

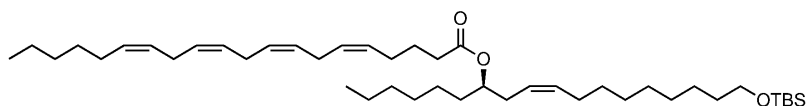
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 5.58 - 5.26 (m, 8H)、4.90 (quint, J = 6.2 Hz, 1H)、3.61 (t, J = 6.5 Hz, 2H)、2.83 (t, J = 5.8 Hz, 4H)、2.35 - 2.22 (m, 4H)、2.17 - 1.97 (m, 6H)、1.69 - 1.44 (m, 6H)、1.43 - 1.18 (m, 26H)

50

H)、1.00 (t, J = 7.5 Hz, 3H)、0.91 (br s, 12H)、0.07 (s, 6H)

【0305】

【化50】



【0306】

(R, Z) - 18 - (tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) オクタデク - 9 - エン - 7 - イルアラキドネート (4h) :

10

一般般手順Aに従い、CH₂Cl₂ (7 mL) 中のシリルエーテル3 (797 mg、2.00 mmol)、アラキドン酸 (670 mg、2.20 mmol)、DCC (227 mg、2.20 mmol) およびDMAP (366 mg、3.00 mmol) により、フラッシュカラムクロマトグラフィー (99 : 1 → 95 : 5 ヘキサン / EtOAc) 後、無色透明油状物のエステル4h (730 mg、53%) を得た。

【0307】

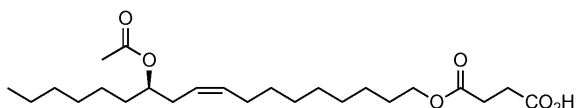
R_f = 0.57 (SiO₂, 95 : 5 ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 5.57 - 5.26 (m, 10H), 4.91 (quint, J = 6.3 Hz, 1H), 3.61 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.94 - 2.84 (m, 6H), 2.38 - 2.22 (m, 4H), 2.20 - 1.96 (m, 6H), 1.71 (quint, J = 7.4 Hz, 2H), 1.63 - 1.46 (m, 4H), 1.45 - 1.16 (m, 26H), 0.91 (br s, 15H), 0.07 (s, 6H)

20

【0308】

【化51】



30

【0309】

(R, Z) - 4 - ((12 - アセトキシオクタデク - 9 - エン - 1 - イル) オキシ) - 4 - オキシブタン酸 (5a) :

一般手順Bに従い、シリルエーテル4a (1.79 g、4.07 mmol) をHF・ピリジン液 (1.52 mL、12.2 mmol)、ピリジン (0.98 mL、12.2 mmol) およびTHF (10 mL) で脱シリル化し、中間第一級アルコール (1.34 g) を得て、これを無水コハク酸 (814 mg、8.14 mmol)、DMAP (1.24 g、10.2 mmol) およびCH₂Cl₂ (10 mL) によりアシル化してカルボン酸5a (1.72 g、定量収率) を得た。

40

【0310】

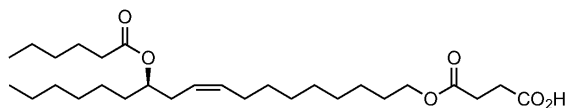
R_f = 0.23 (SiO₂, 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 5.57 - 5.42 (m, 1H)、5.42 - 5.27 (m, 1H)、4.89 (quin, J = 6.2 Hz, 1H)、4.11 (t, J = 6.7 Hz, 2H)、2.76 - 2.57 (m, 4H)、2.11 - 1.97 (m, 2H)、2.05 (s, 3H)、1.72 - 1.46 (m, 4H)、1.46 - 1.16 (m, 18H)、0.90 (m, 3H)

【0311】

50

【化 5 2】



【0312】

(R,Z)-4-(12-(ヘキサノイルオキシ)オクタデク-9-エン-1-イル)オキシ)-4-オキソブタン酸(5b):

一般手順Bに従い、シリルエーテル4b(2.35g、5.00mmol)をHF・ピリジン液(1.86mL、15.0mmol)、ピリジン(1.21mL、15.0mmol)およびTHF(13mL)で脱シリル化し、中間第一級アルコール(2.01g)を得て、これを無水コハク酸(1.00g、10.0mmol)、DMAP(1.53g、12.5mmol)およびCH₂Cl₂(13mL)によりアシル化してカルボン酸5b(2.20g、収率92%)を得た。

10

【0313】

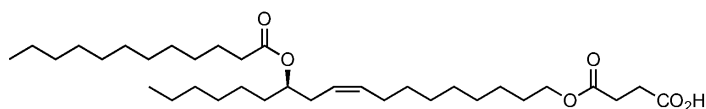
R_f = 0.32 (SiO₂, 50:50ヘキサン/EtOAc);

¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 5.56 - 5.42 (m, 1H)、5.41 - 5.27 (m, 1H)、4.90 (quint, J = 6.4Hz, 1H)、4.11 (t, J = 6.5Hz, 2H)、2.76 - 2.58 (m, 4H)、2.38 - 2.22 (m, 4H)、2.11 - 1.96 (m, 2H)、1.73 - 1.47 (m, 6H)、1.46 - 1.15 (m, 22H)、0.97 - 0.82 (m, 6H)

20

【0314】

【化 5 3】



【0315】

(R,Z)-4-(12-(ラウロイルオキシ)オクタデク-9-エン-1-イル)オキシ)-4-オキソブタン酸(5c):

一般手順Bに従い、シリルエーテル4c(1.38g、2.50mmol)をHF・ピリジン液(0.93mL、7.50mmol)、ピリジン(0.60mL、7.50mmol)およびTHF(8mL)で脱シリル化し、中間第一級アルコール(1.21g)を得て、これを無水コハク酸(500mg、5.00mmol)、DMAP(764mg、6.25mmol)およびCH₂Cl₂(8mL)によりアシル化してカルボン酸5c(1.33g、94%)を得た。

30

【0316】

R_f = 0.44 (SiO₂, 50:50ヘキサン/EtOAc);

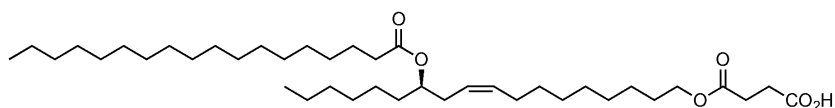
¹H NMR (300MHz, CDCl₃): δ 5.57 - 5.42 (m, 1H)、5.41 - 5.26 (m, 1H)、4.90 (quint, J = 6.2Hz, 1H)、4.12 (t, J = 6.6Hz, 2H)、2.78 - 2.59 (m, 4H)、2.37 - 2.22 (m, 4H)、2.11 - 1.96 (m, 2H)、1.73 - 1.45 (m, 6H)、1.45 - 1.12 (m, 28H)、0.98 - 0.80 (m, 6H)

40

【0317】

50

【化 5 4】



【 0 3 1 8】

(R, Z) - 4 - オキソ - 4 - ((1 2 - (ステアロイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) オキシ) ブタン酸 (5 d) :

一般手順 B に従い、シリルエーテル 4 d (1 . 6 6 g 、 2 . 5 0 m m o l) を H F ・ ピリジン液 (0 . 9 3 m L 、 7 . 5 0 m m o l) 、 ピリジン (0 . 6 0 m L 、 7 . 5 0 m m o l) およびテトラヒドロフラン (8 m L) で脱シリル化し、中間第一級アルコール (1 . 3 0 g) を得て、これを無水コハク酸 (5 0 0 m g 、 5 . 0 0 m m o l) 、 D M A P (7 6 4 m g 、 6 . 2 5 m m o l) および CH_2Cl_2 (8 m L) によりアシル化して、カルボン酸 5 d (1 . 2 9 g 、 7 9 % 収率) を得た。

10

【 0 3 1 9】

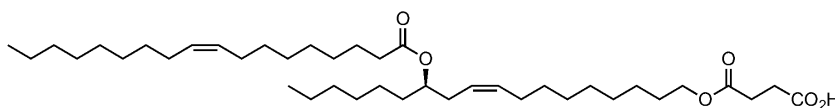
$R_f = 0.35$ (SiO_2 , 50 : 50 ヘキサン / E t O A c) ;

$^1\text{H NMR}$ (3 0 0 M H z , CDCl_3) : δ 5 . 5 6 - 5 . 4 2 (m , 1 H) 、 5 . 4 1 - 5 . 2 7 (m , 1 H) 、 4 . 9 0 (q u i n t , $J = 6.3 \text{ Hz}$, 1 H) 、 4 . 1 1 (t , $J = 6.5 \text{ Hz}$, 2 H) 、 2 . 7 7 - 2 . 5 8 (m , 4 H) 、 2 . 3 9 - 2 . 1 9 (m , 4 H) 、 2 . 1 2 - 1 . 9 5 (m , 2 H) 、 1 . 7 3 - 1 . 4 5 (m , 6 H) 、 1 . 4 4 - 1 . 1 1 (m , 4 6 H) 、 0 . 9 8 - 0 . 8 0 (m , 6 H)

20

【 0 3 2 0】

【化 5 5】



【 0 3 2 1】

(R, Z) - 4 - オキソ - 4 - ((1 2 - (オレオイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) オキシ) ブタン酸 (5 e) :

30

一般手順 B に従い、シリルエーテル 4 e (6 6 3 m g 、 1 . 0 0 m m o l) を H F ・ ピリジン液 (0 . 3 7 m L 、 3 . 0 0 m m o l) 、 ピリジン (0 . 2 4 m L 、 3 . 0 0 m m o l) および T H F (5 m L) で脱シリル化し、中間第一級アルコール (5 4 6 m g) を得て、これを無水コハク酸 (2 0 0 m g 、 2 . 0 0 m m o l) 、 D M A P (3 0 5 m g 、 2 . 5 0 m m o l) および CH_2Cl_2 (5 m L) でアシル化して、カルボン酸 5 e (6 3 0 m g 、 9 7 % 収率) を得た。

【 0 3 2 2】

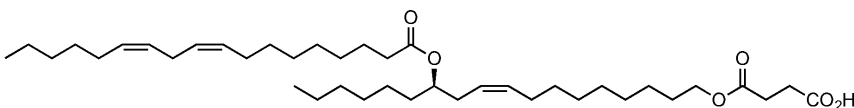
$R_f = 0.42$ (SiO_2 , 50 : 50 ヘキサン / E t O A c) ;

$^1\text{H NMR}$ (3 0 0 M H z , CDCl_3) : δ 5 . 5 7 - 5 . 2 5 (m , 4 H) 、 4 . 9 0 (q u i n t , $J = 6.2 \text{ Hz}$, 1 H) 、 4 . 1 1 (t , $J = 6.5 \text{ Hz}$, 2 H) 、 2 . 7 7 - 2 . 5 9 (m , 4 H) 、 2 . 3 9 - 2 . 2 0 (m , 4 H) 、 2 . 1 3 - 1 . 9 3 (m , 6 H) 、 1 . 7 2 ~ 1 . 4 6 (m , 6 H) 、 1 . 4 6 - 1 . 0 2 (m , 3 4 H) 、 0 . 9 7 - 0 . 8 0 (m , 6 H)

40

【 0 3 2 3】

【化 5 6】



50

【0324】

4 - (((R , Z) - 12 - (リノレオイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) オキシ) - 4 - オキソブタン酸 (5 f) :

一般手順Bに従い、シリルエーテル4f (1.06g、1.60mmol) をHF・ピリジン液 (0.60mL、4.80mmol)、ピリジン (0.39mL、4.80mmol) およびTHF (8mL) で脱シリル化し、中間第一級アルコール (890mg) を得て、これを無水コハク酸 (320mg、3.20mmol)、DMA P (489mg、4.00mmol) およびCH₂Cl₂ (8mL) でアシル化してカルボン酸5f (1.04g、定量収率) を得た。

【0325】

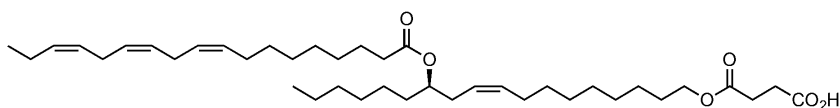
10

R_f = 0.35 (SiO₂, 50 : 50ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 5.57 - 5.26 (m, 6H)、4.90 (quint, J = 6.3Hz, 1H)、4.11 (t, J = 6.7Hz, 2H)、2.79 (t, J = 6.0Hz, 2H)、2.75 - 2.58 (m, 6H)、2.38 - 2.20 (m, 4H)、2.14 ~ 1.94 (m, 6H)、1.72 - 1.46 (m, 8H)、1.46 - 1.14 (m, 30H)、0.98 - 0.81 (m, 6H)

【0326】

【化57】



20

【0327】

4 - (((R , Z) - 12 - (リノレノイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) オキシ) - 4 - オキソブタン酸 (5 g) :

一般手順Bに従い、シリルエーテル4g (1.54g、2.34mmol) をHF・ピリジン液 (0.87mL、7.01mmol)、ピリジン (0.57mL、7.01mmol) およびTHF (6mL) で脱シリル化し、中間第一級アルコール (1.31g) を得て、これを無水コハク酸 (468mg、4.68mmol)、DMA P (714mg、5.84mmol) およびCH₂Cl₂ (6mL) でアシル化して、カルボン酸5g (1.47g、定量収率) を得た。

30

【0328】

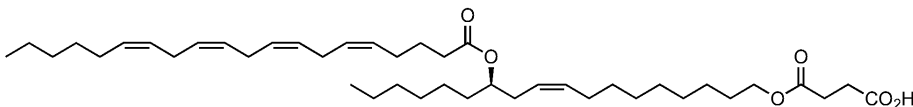
R_f = 0.35 (SiO₂, 50 : 50ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 5.56 - 5.25 (m, 8H)、4.90 (quint, J = 6.2Hz, 1H)、4.11 (t, J = 6.5Hz, 2H)、2.82 (t, J = 5.7Hz, 4H)、2.37 - 2.22 (m, 4H)、2.16 - 1.95 (m, 6H)、1.74 - 1.46 (m, 6H)、1.46 - 1.15 (m, 30H)、0.99 (t, J = 7.6Hz, 3H)、0.94 - 0.83 (m, 6H)

【0329】

【化58】

40



【0330】

4 - (((R , Z) - 12 - (アラキドノイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) オキシ) - 4 - オキソブタン酸 (5 h) :

一般的手順Bに従い、シリルエーテル4h (711mg、1.04mmol) をHF・ピリジン液 (0.39mL、3.11mmol)、ピリジン (0.25mL、3.11mmol) およびTHF (5mL) で脱シリル化し、中間第一級アルコール (593mg)

50

を得て、これを無水コハク酸 (201 mg、2.01 mmol)、DMAP (306 mg、2.51 mmol) および CH_2Cl_2 (5 mL) でアシル化して、カルボン酸 5 h (582 mg、87% 収率) を得た。

【0331】

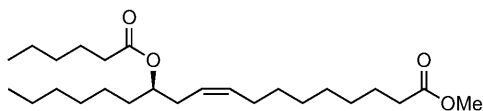
$R_f = 0.31$ (SiO_2 , 50:50 ヘキサン / EtOAc) ;

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 5.58 - 5.24 (m, 10 H)、4.90 (quint, $J = 6.2$ Hz, 1 H)、4.11 (t, $J = 6.7$ Hz, 2 H)、2.93 - 2.75 (m, 6 H)、2.76 - 2.58 (m, 4 H)、2.39 - 2.22 (m, 4 H)、2.20 - 1.96 (m, 6 H)、1.71 (quint, $J = 7.4$ Hz, 2 H)、1.69 - 1.47 (m, 4 H)、1.46 - 1.13 (m, 26 H)、0.99 - 0.80 (m, 6 H)

10

【0332】

【化59】



【0333】

メチル (12R) - ヘキサノイルオキシオレエート (6a) :

20

一般手順 C に従い、 CH_2Cl_2 (10 mL) 中のメチルリシノレート (2.00 g、6.40 mmol)、ヘキサン酸 (898 mg、7.68 mmol)、DCC (1.58 g、7.68 mmol) および DMAP (1.17 g、9.60 mmol) により、シリカゲル (95:5 ヘキサン / EtOAc) でのろ過後、無色透明油状のリシノレート 6 a (2.52 g、収率 96%) を得た。

【0334】

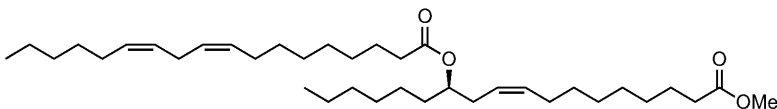
$R_f : 0.62$ (SiO_2 , 70:30 ヘキサン : EtOAc) ;

^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ 5.54 - 5.42 (m, 1 H)、5.40 - 5.28 (m, 1 H)、4.90 (quint, $J = 6.2$ Hz, 1 H)、3.69 (s, 3 H)、2.37 - 2.23 (m, 6 H)、2.11 - 1.97 (m, 2 H)、1.72 - 1.48 (m, 6)、1.43 - 1.20 (m, 20)、0.96 - 0.84 (m, 6 H)

30

【0335】

【化60】



【0336】

40

メチル (12R) - リノレイルオキシオレエート (6b) :

一般手順 C に従い、 CH_2Cl_2 (5 mL) 中のメチルリシノレート (500 mg、1.60 mmol)、リノール酸 (538 mg、1.92 mmol)、DCC (396 mg、1.92 mmol) および DMAP (293 mg、2.40 mmol) により、シリカゲル (95:5 ヘキサン / EtOAc) でのろ過後、淡黄色油状物の、リシノレート 6 c (875 g、収率 93%) を得た。

【0337】

$R_f : 0.67$ (SiO_2 , 80:20 ヘキサン : EtOAc) ;

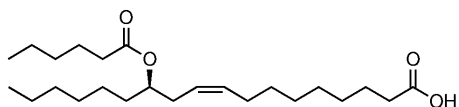
^1H (300 MHz, CDCl_3) : δ 5.54 - 5.42 (m, 1 H)、5.40 - 5.28 (m, 1 H)、4.90 (quint, $J = 6.2$ Hz, 1 H)、3.69 (s,

50

3 H)、2.37 - 2.23 (m, 6 H)、2.11 - 1.97 (m, 2 H)、1.72 - 1.48 (m, 6)、1.43 - 1.20 (m, 20)、0.96 - 0.84 (m, 6 H)

【0338】

【化61】



【0339】

10

(12R) - ヘキサノイルオキシオレイン酸 (7a) :

アルゴンフラッシュした丸底フラスコにメチルエステル6a (1.97 g、4.79 mmol、1.00当量) および t-BuOH (12 mL)、次いで 2.0 M NaOH 水溶液 (1.80 mL、3.60 mmol、0.75当量) を充填した。17時間後、1 M 塩酸水溶液を用いて反応液の pH を 2 に調整し、Et₂O (3 × 30 mL) で抽出した。混合有機物を水 (1 × 30 mL)、塩水 (1 × 30 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ 上で乾燥させ、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。残留物をシリカのプラグ (98 : 2 : 0 → 50 : 45 : 5 ヘキサン : EtOAc : MeOH) でろ過し、淡黄色油状物のカルボン酸 7a (1.30 g、収率 92%) を得た。

【0340】

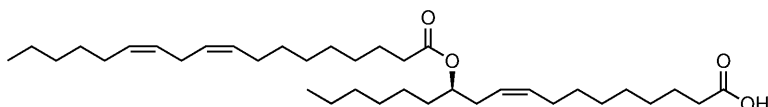
20

R_f = 0.24 (SiO₂, 75 : 20 : 5 ヘキサン / EtOAc / MeOH) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 5.55 - 5.28 (m, 6 H)、4.90 (quint, J = 6.2 Hz, 1 H)、3.69 (s, 3 H)、2.79 (t, J = 5.8 Hz, 2 H)、2.40 - 2.21 (m, 6 H)、2.16 - 1.93 (m, 6 H)、1.72 - 1.46 (m, 8 H)、1.46 - 1.18 (m, 32 H)、1.00 - 0.80 (m, 6 H)

【0341】

【化62】



30

【0342】

(12R) - リノレオイルオキシオレイン酸 (7b) :

アルゴンフラッシュした丸底フラスコにメチルエステル6b (5.97 g、10.4 mmol、1.00当量) および t-BuOH (26 mL)、次いで 2.0 M NaOH 水溶液 (4.70 mL、9.30 mmol、0.90当量) を充填した。17時間後、1 M 塩酸水溶液を用いて反応液の pH を 2 に調整し、Et₂O (3 × 30 mL) で抽出した。混合有機物を水 (1 × 30 mL)、塩水 (1 × 30 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ 上で乾燥させ、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂, 95 : 5 : 0 → 80 : 15 : 5 ヘキサン : EtOAc : MeOH) により精製し、淡黄色油状物のカルボン酸 7b (4.48 g、収率 85%) を得た。

40

【0343】

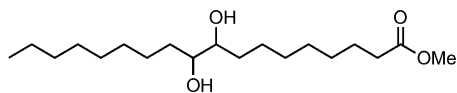
R_f : 0.35 (SiO₂, 75 : 20 : 5 ヘキサン / EtOAc / MeOH) ;

¹H (CDCl₃, 300 MHz) : δ 5.55 - 5.28 (m, 6 H)、4.90 (quint, J = 6.2 Hz, 1 H)、2.79 (t, J = 6.0 Hz, 2 H)、2.43 - 2.21 (m, 6 H)、2.14 - 1.96 (m, 6 H)、1.73 - 1.47 (m, 6 H)、1.46 - 1.18 (m, 30 H)、0.99 - 0.81 (m, 6 H)

【0344】

50

【化 6 3】



【 0 3 4 5】

メチル 9, 10 - ジヒドロキシステアレート (8) :

500 mL の三角フラスコ中、急速にかき混ぜたオレイン酸 (7.06 g、25.0 mmol) と水 (175 mL) の室温混合物に KOH (7.01 g、125 mmol、5.00 当量) を加え、約 100°C に冷却した。KMnO₄ (7.11 g、45.0 mmol、1.80 当量) の水溶液 (75 mL) を 10 分間かけて滴加した。さらに 10 ~ 15 分間かき混ぜた後、飽和 NaHSO₃ 水溶液を加えて反応を停止させ、冷浴で濃塩酸を加えて pH 2 に調整した。白色の綿状混合物を室温で 1 時間攪拌し、次いで、固体を吸引る過によって収集し、空気中で一晩乾燥した。得られた白色固体を熱重力ろ過し、EtOH から再結晶化して (±) - syn - 9, 10 - ジヒドロキシステアリン酸を白色結晶 (5.86 g、収率 74%) とした。

10

【 0 3 4 6】

上記ジヒドロキシ酸 (6.33 g、20.0 mmol) の MeOH (50 mL) 懸濁液に濃 H₂SO₄ (0.06 mL、1.00 mmol、0.05 等量) を加え、還流時に加熱した。14 時間後、室温まで冷却し、減圧下、回転蒸発器で濃縮し、残留物を EtOAc と飽和 NaHCO₃ 水溶液とに分配した。有機層を水 (1 × 75 mL)、塩水で洗浄し、Na₂SO₄ 上で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮して白色固体のメチルエステル 8 (6.44 g、収率 97%) を得た。

20

【 0 3 4 7】

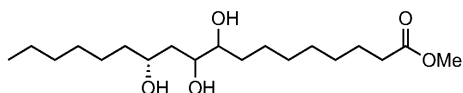
R_f = 0.45 (SiO₂, 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 3.68 (s, 3H), 3.61 (app br s, 2H), 2.32 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.06 - 1.85 (app br s, 2H), 1.73 - 1.16 (m, 26H), 0.96 - 0.81 (m, 3H)

【 0 3 4 8】

30

【化 6 4】



【 0 3 4 9】

メチル 9, 10, 12 R - トリヒドロキシステアレート (9) :

1 L の三角フラスコ中、急速にかき混ぜたリシノール酸 (14.9 g、50.0 mmol) と水 (500 mL) の室温混合物に KOH (5.61 g、100 mmol、2.00 当量) を加え、約 100°C に冷却した。KMnO₄ (13.4 g、85.0 mmol、1.70 当量) の水溶液 (250 mL) を 15 分かけて滴加した。さらに 10 ~ 15 分間かき混ぜた後、飽和 Na₂SO₃ 水溶液を加えて反応を停止させ、冷浴で濃塩酸を加えて pH 2 に調整した。白色の綿状混合物を室温で 4 時間攪拌し、次いで、固体を吸引る過によって収集し、空気中で一晩乾燥した。得られた白色固体を EtOH で熱重力ろ過して粗 9, 10, 12 - トリヒドロキシステアリン酸を得、これをさらに精製せずに用いた。

40

【 0 3 5 0】

上記ジヒドロキシ酸 (6.33 g、20.0 mmol) の MeOH (120 mL) 懸濁液に濃 H₂SO₄ (0.13 mL、2.50 mmol、0.05 等量) を加え、還流時に加熱した。14 時間後に常温に冷却し、減圧下、回転蒸発器で濃縮し、得られた残留物を温 EtOAc と飽和 NaHCO₃ 水溶液とに分配した。有機層を水 (1 × 75 mL)、塩

50

水で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。得られた淡黄色固体を Et_2O で4回トリチュレーションし、白色固体のメチルエステル9 (9.52 g、収率55%)を得た。

【0351】

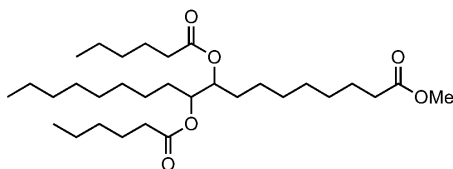
$R_f = 0.33$ (SiO_2 , 50:50 ヘキサン/ EtOAc);

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 4.07 - 3.58 (m, 3H), 3.68 (s, 3H), 2.31 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.86 - 1.14 (m, 24H), 0.90 (br t, 3H)

【0352】

【化65】

10



【0353】

メチル9,10-ジヘキサノイルオキシステアレート(10a):

アルゴン下、丸底フラスコ中、DCC (2.27 g, 11.0 mmol, 2.20 当量) を攪拌しながら氷冷したヘキサン酸 (1.28 g, 11.0 mmol, 2.20 当量) の CH_2Cl_2 (13 mL) 溶液に加え、氷浴を除去し、15分間攪拌した。反応混合物を氷浴中で再び冷却し、ジオール8 (1.65 g, 5.00 mmol) を加え、続いてDMA P (1.53 g, 12.5 mmol, 2.50 当量) を加え、反応混合物を室温に14時間かけて加温した。この反応混合物を Et_2O で希釈し、10分かき混ぜた後、セライト(R)でろ過した。ろ液を1 M 塩酸水溶液 (2 × 30 mL)、1 M NaOH 水溶液 (2 × 30 mL)、 H_2O (1 × 30 mL)、食塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥した後、減圧下、回転蒸発器で濃縮し、無色透明油状物のトリエステル10a (2.61 g、定量収量)を得た。

20

【0354】

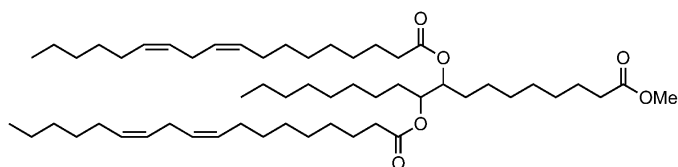
30

$R_f = 0.66$ (SiO_2 , 70:30 ヘキサン/ EtOAc);

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 5.08 - 4.92 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.40 - 2.20 (m, 6H), 1.74 - 1.44 (m, 12H), 1.44 - 1.13 (m, 28H), 1.01 - 0.80 (m, 9H)

【0355】

【化66】



40

【0356】

メチル9,10-ジリノレオイルオキシステアレート(10b):

アルゴン下、丸底フラスコ中、DCC (4.33 g, 21.0 mmol, 2.10 等量) を攪拌、氷冷した、リノール酸 (5.89 g, 21.0 mmol, 2.20 等量) の CH_2Cl_2 (25 mL) 溶液に加え、氷浴を除去し、15分間攪拌した。反応混合物を氷浴中で再び冷却し、ジオール8 (3.30 g, 10.0 mmol) を加え、続いてDMA P (3.05 g, 25.0 mmol, 2.50 当量) を加え、反応混合物を室温に14時間かけて加温した。反応混合物をヘキサンで希釈し、10分間攪拌した後、セライト(R)で

50

ろ過した。ろ液を回転蒸発器で濃縮して白色半固体とし、シリカゲル（９５：５ ヘキサン／ＥｔＯＡｃ）のプラグを通してろ過して精製し、無色透明油状物のトリエステル１０ｂ（７．２４ｇ、収率８５％）を得た。

【０３５７】

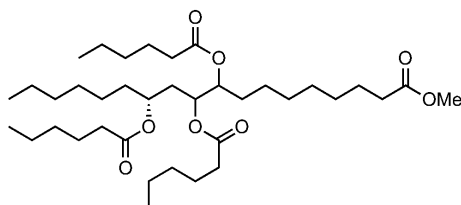
$R_f = 0.57$ （ SiO_2 ，７０：３０ ヘキサン／ＥｔＯＡｃ）；

1H NMR（３００MHz， $CDCl_3$ ）： δ ５．４９－５．２７（m，８H）、５．０５－４．９４（m，２H）、３．６８（s，３H）、２．７９（t， $J = 5.9$ Hz，４H）、２．３９－２．２３（m，６H）、２．１５－１．９７（m，８H）、１．７２－１．４５（m，１０H）、１．４５－１．１５（m，５０H）、０．９８－０．８２（m，９H）

10

【０３５８】

【化６７】



【０３５９】

20

メチル９，１０，１２Ｒ－トリヘキサノイルオキシステアレート（１１）：

アルゴン下、丸底フラスコ中、 DCC （２．６４ｇ、１２．８mmol、３．２０当量）を攪拌しながら氷冷したヘキサン酸（１．４９ｇ、１２．８mmol、３．２０当量）の CH_2Cl_2 （１３mL）溶液に加え、氷浴を除去し、１５分間攪拌した。反応混合物を氷浴中で再び冷却し、トリオール９（１．３９ｇ、４．００mmol）を加え、続いて $DMAP$ （１．７１ｇ、１４．０mmol、３．５０当量）を加え、反応混合物を室温に１４時間かけて加温した。反応混合物をヘキサンで希釈し、１０分間攪拌した後、セライト（R）でろ過した。ろ液を１M HCl 水溶液（２×３０mL）、１M $NaOH$ 水溶液（２×３０mL）、 H_2O （１×３０mL）、塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥し、減圧回転蒸発器で濃縮して無色透明油状物のトリエステル１１（１．９９ｇ、収率７８％）を得た。

30

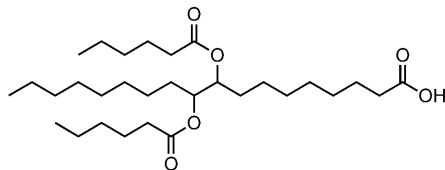
【０３６０】

$R_f = 0.77$ （ SiO_2 ，７０：３０ ヘキサン／ＥｔＯＡｃ）；

1H NMR（３００MHz， $CDCl_3$ ）： δ ５．１３－４．８４（m，３H），３．６８（s，３H），２．３８－２．１９（m，８H），１．９２－１．６９（m，２H），１．６９－１．４２（m，１２H），１．４２－１．１６（m，２８H），１．００－０．８２（m，１２H）

【０３６１】

【化６８】



40

【０３６２】

９，１０－ジヘキサノイルオキシステアリン酸（１２a）：

アルゴン下、丸底フラスコ中のトリエステル１０a（１．０５ｇ、２．００mmol、１．１０当量）の室温 t -BuOH（７mL）溶液に、２．０M KOH 水溶液（０．９１mL、１．８２mmol、１．００当量）を加えた。２０時間かき混ぜた後、３M 塩酸水

50

溶液を加えてpH 2に酸性化し、Et₂O (3×20 mL)で抽出した。混合有機層を塩水で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィー(90:5:5→85:10:5 ヘキサン/EtOAc/MeOH)により粗残留物を精製し、無色透明油状物のカルボン酸12a (802 mg、収率86%)を得た。

【0363】

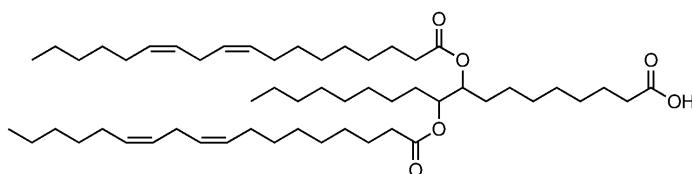
R_f = 0.22 (SiO₂, 85:10:5 ヘキサン/EtOAc/MeOH) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 5.08 - 4.93 (m, 2H), 2.36 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.30 (t, J = 7.6 Hz, 4H), 1.72 - 1.44 (m, 10H), 1.44 - 1.16 (m, 30H), 0.97 - 0.83 (m, 9H)

10

【0364】

【化69】



【0365】

20

9, 10 - ジリノレオイルオキシステアリン酸 (12b) :

アルゴン下、丸底フラスコ中のトリエステル10b (5.64 g、6.60 mmol、1.10当量)の室温t-BuOH (7 mL)溶液に、2.0 M KOH水溶液 (3.00 mL、6.00 mmol、1.00当量)を加えた。20時間攪拌した後、反応混合物を、3 M HCl水溶液の添加によってpH 2に酸性化し、ヘキサン (3×75 mL)で抽出した。混合有機層を塩水で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィー(90:10:0→85:10:5 ヘキサン/EtOAc/MeOH)により粗残留物を精製し、無色透明油状物のカルボン酸12b (2.39 g、収率68%)を得た。

【0366】

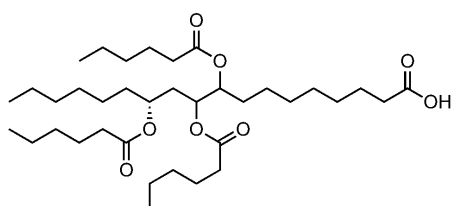
30

R_f = 0.33 (SiO₂, 85:10:5 ヘキサン/EtOAc/MeOH) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 5.49 - 5.25 (m, 8H)、5.07 - 4.93 (m, 2H)、2.79 (t, J = 5.9 Hz, 4H)、2.36 (t, J = 7.7 Hz, 2H)、2.30 (t, J = 7.5 Hz, 4H)、2.13 - 2.00 (m, 8H)、1.72 - 1.45 (m, 10H)、1.45 - 1.15 (m, 50H)、0.98 - 0.81 (m, 9H)

【0367】

【化70】



40

【0368】

9, 10, 12 R - トリヘキサノイルオキシステアリン酸 (13) :

アルゴン下、丸底フラスコ中のテトラエステル11 (1.98 g、3.10 mmol、1.10当量)の室温t-BuOH (10 mL)溶液に、2.0 M KOH水溶液 (1.47 mL、2.94 mmol、1.00当量)を加えた。20時間攪拌した後、反応混合物

50

を、3 M HCl 水溶液の添加によって pH 2 に酸性化し、ヘキサン (3 × 30 mL) で抽出した。混合有機層を塩水で洗浄し、Na₂SO₄ 上で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィー (90 : 10 : 0 → 85 : 10 : 5 → 75 : 20 : 5 ヘキサン / EtOAc / MeOH) により粗残留物を精製し、無色透明油状物のカルボン酸 13 (1.40 g、収率 78%) を得た。

【0369】

R_f = 0.32 (SiO₂, 80 : 15 : 5 ヘキサン / EtOAc / MeOH) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 5.13 - 4.82 (m, 3H), 2.42 - 2.18 (m, 8H), 1.92 - 1.69 (m, 2H), 1.69 - 1.43 (m, 12H), 1.43 - 1.14 (m, 28H), 0.99 - 0.81 (m, 12H)

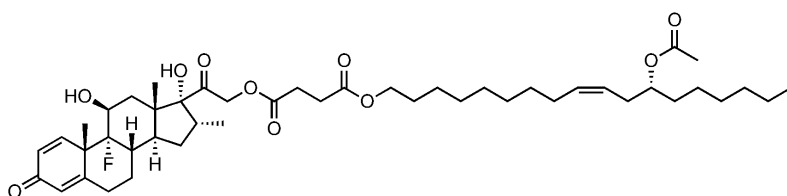
10

【0370】

実施例 2A : INT-D047 の合成

【0371】

【化71】



20

【0372】

(R, Z) - 12 - アセトキシオクタデク - 9 - エン - 1 - イル (2 - ((8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9 - フルオロ - 11, 17 - ジヒドロキシ - 10, 13, 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエチル) サクシネート (INT-D047) :

【0373】

一般手順 D に従い、デキサメタゾン (294 mg、0.75 mmol)、ヘミサクシネート 5a (384 mg、0.90 mmol)、DCC (186 mg、0.90 mmol)、DMA P (137 mg、1.12 mmol) および CH₂Cl₂ (4 mL) で、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂, 80 : 20 → 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) 後、無色透明油状物の INT-D047 (541 mg、90% 収率) を得た。

30

【0374】

R_f = 0.36 (SiO₂, 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 7.21 (d, J = 10.1 Hz), 6.36 (dd, J = 10.2, 1.7 Hz), 6.13 (s, 1H), 5.58 - 5.43 (m, 1H), 5.43 - 5.28 (m, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.89 (quint, J = 6.4 Hz), 4.45 - 4.34 (m, 1H), 4.11 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 3.20 - 3.04 (m, 1H), 2.86 - 2.55 (m, 5H), 2.52 - 2.26 (m, 4H), 2.24 - 2.12 (m, 1H), 2.11 - 1.99 (m, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.90 - 1.46 (m, 12H), 1.44 - 1.17 (m, 15H), 1.06 (s, 3H), 0.99 ~ 0.84 (m, 6H)

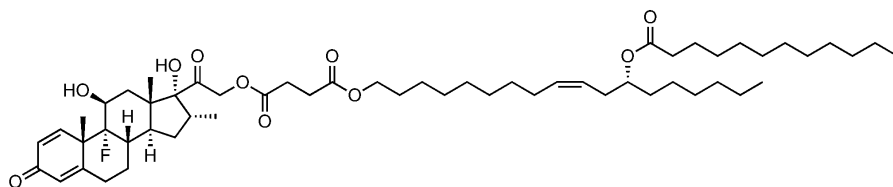
40

【0375】

実施例 2B : INT-D046 の合成

【0376】

【化 7 2】



【 0 3 7 7】

(R, Z) - 12 - (ドデカノイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル (2 - ((8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9 - フルオロ - 11, 17 - ジヒドロキシ - 10, 13, 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエチル) サクシネート (INT - D 0 4 6) :

10

【 0 3 7 8】

一般手順 D に従い、デキサメタゾン (157 mg、0.40 mmol)、ヘミサクシネート 5c (272 mg、0.48 mmol)、DCC (99 mg、0.48 mmol)、DMAP (73 mg、0.60 mmol) および CH₂Cl₂ (2 mL) で、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂, 80 : 20 → 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) 後、透明無色油状物の INT - D 0 4 6 (363 mg、収率 96%) を得た。

20

【 0 3 7 9】

R_f = 0.48 (SiO₂, 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 7.21 (d, J = 10.1 Hz), 6.36 (dd, J = 10.2, 1.7 Hz), 6.13 (s, 1H), 5.57 - 5.42 (m, 1H), 5.40 - 5.28 (m, 1H), 4.92 (s, 2H), 4.90 (quint, J = 6.4 Hz), 4.44 - 4.33 (m, 1H), 4.11 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 3.20 - 3.03 (m, 1H), 2.85 - 2.54 (m, 5H), 2.53 - 1.94 (m, 10H), 1.93 - 1.48 (m, 15H), 1.45 - 1.14 (m, 28H), 1.06 (s, 3H), 0.98 - 0.82 (m, 9H)

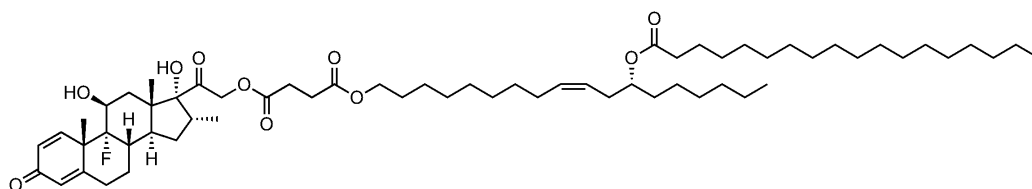
【 0 3 8 0】

30

実施例 2C : INT - D 0 5 0 の合成

【 0 3 8 1】

【化 7 3】



40

【 0 3 8 2】

2 - ((8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9 - フルオロ - 11, 17 - ジヒドロキシ - 10, 13, 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエチル ((R, Z) - 12 - (ステアロイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) サクシネート (INT - D 0 5 0) : JZ - 25 - 009

【 0 3 8 3】

一般手順 D に従い、デキサメタゾン (392 mg、1.00 mmol)、ヘミサクシネート 5d (781 mg、1.28 mmol)、DCC (248 mg、1.28 mmol)

50

、DMAP (183 mg、1.50 mmol) および CH_2Cl_2 (5 mL) で、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 80:20→50:50 ヘキサン/EtOAc) 後、透明無色油状物の INT-D050 (933 mg、91% 収率) を得た。

【0384】

$R_f = 0.42$ (SiO_2 , 50:50 ヘキサン/EtOAc) ;

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 7.22 (d, $J = 10.1$ Hz), 6.36 (dd, $J = 10.1, 1.5$ Hz), 6.13 (s, 1H), 5.55 - 5.41 (m, 1H), 5.40 - 5.27 (m, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.89 (quint, $J = 6.2$ Hz), 4.44 - 4.33 (m, 1H), 4.10 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.20 - 3.04 (m, 1H), 2.85 - 2.55 (m, 5H), 2.53 - 1.95 (m, 11H), 1.91 - 1.45 (m, 15H), 1.43 - 1.15 (m, 44H), 1.06 (s, 3H), 0.98 - 0.81 (m, 9H)

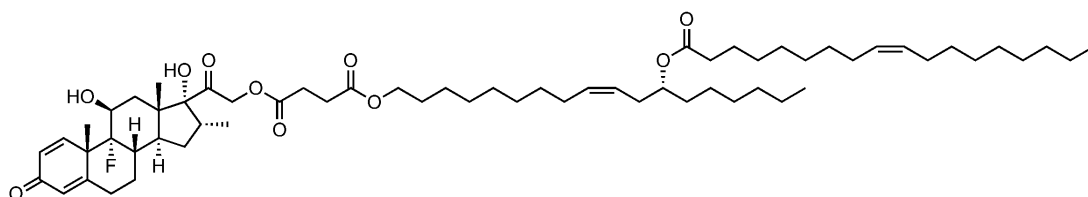
10

【0385】

実施例 2D: INT-D035 の合成

【0386】

【化74】



20

【0387】

2 - ((8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9 - フルオロ - 11, 17 - ジヒドロキシ - 10, 13, 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ[a]フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエチル ((R, Z) - 12 - (オレオイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) サクシネート (INT-D035) :

【0388】

30

一般手順 D に従い、デキサメタゾン (133 mg、0.34 mmol)、ヘミスクシネート 5e (264 mg、0.41 mmol)、DCC (84 mg、0.41 mmol)、DMAP (62 mg、0.51 mmol) および CH_2Cl_2 (2 mL) で、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 80:20→50:50 ヘキサン/EtOAc) 後、透明な無色油の INT-D035 (330 mg、95% 収率) を得た。

【0389】

$R_f = 0.49$ (SiO_2 , 50:50 ヘキサン/EtOAc) ;

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 7.22 (d, $J = 10.1$ Hz), 6.36 (dd, $J = 10.2, 1.8$ Hz), 6.13 (s, 1H), 5.55 - 5.26 (m, 4H), 4.92 (s, 2H), 4.89 (quint, $J = 6.3$ Hz), 4.44 - 4.34 (m, 1H), 4.11 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.20 - 3.04 (m, 1H), 2.85 - 2.54 (m, 5H), 2.54 - 1.94 (m, 13H), 1.92 - 1.46 (m, 16H), 1.44 - 1.16 (m, 36H), 1.06 (s, 3H), 0.99 - 0.81 (m, 9H)

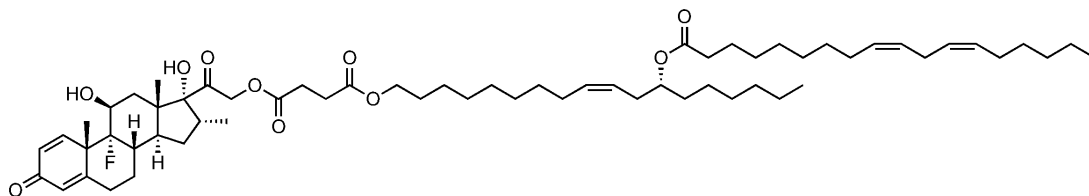
40

【0390】

実施例 2E: INT-D045 の合成

【0391】

【化 7 5】



【0392】

2 - ((8 S , 9 R , 10 S , 11 S , 13 S , 14 S , 16 R , 17 R) - 9 - フル
オロ - 11 , 17 - ジヒドロキシ - 10 , 13 , 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6 , 7
, 8 , 9 , 10 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - ドデカヒドロ - 3 H - シ
クロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエチル (((R , Z) - 1
2 - リノレオイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) サクシネート (INT - D
045) :

10

【0393】

一般手順 D に従い、デキサメタゾン (157 mg 、 0.40 mmol)、ヘミサクシネ
ート 5 f (310 mg 、 0.48 mmol)、DCC (99 mg 、 0.48 mmol)、
DMAP (73 mg 、 0.60 mmol) および CH₂Cl₂ (2 mL) で、フラッシュ
カラムクロマトグラフィー (SiO₂ , 80 : 20 → 50 : 50 ヘキサン / EtOAc
) 後、透明無色油状物の INT - D045 (278 mg 、 収率 68 %) を得た。

20

【0394】

R_f = 0.50 (SiO₂ , 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) ;
¹H NMR (300 MHz , CDCl₃) : δ 7.22 (d , J = 10.1 Hz) , 6.
36 (dd , J = 10.2 , 1.8 Hz) , 6.13 (s , 1 H) , 5.56 - 5.25
(m , 6 H) , 4.93 (s , 2 H) , 4.89 (quint , J = 6.3 Hz) , 4.
46 - 4.31 (m , 1 H) , 4.10 (t , J = 6.8 Hz , 2 H) , 3.20 - 3.
04 (m , 1 H) , 2.88 - 2.54 (m , 7 H) , 2.53 - 1.91 (m , 15 H
) , 1.90 - 1.46 (m , 14 H) , 1.47 - 1.12 (m , 34 H) , 1.06
(s , 3 H) , 0.99 - 0.81 (m , 9 H)

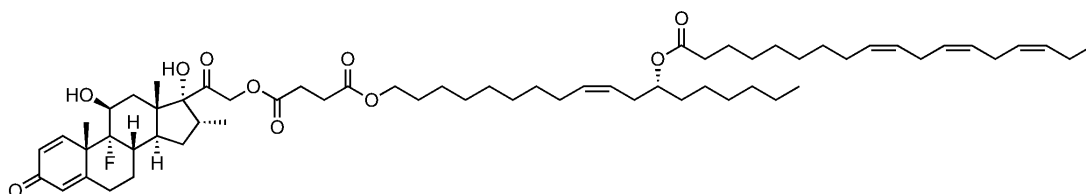
30

【0395】

実施例 2 F : INT - D049 の合成

【0396】

【化 7 6】



40

【0397】

2 - ((8 S , 9 R , 10 S , 11 S , 13 S , 14 S , 16 R , 17 R) - 9 - フル
オロ - 11 , 17 - ジヒドロキシ - 10 , 13 , 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6 , 7
, 8 , 9 , 10 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - ドデカヒドロ - 3 H - シ
クロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエチル (((R , Z) - 1
2 - (リノレノイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) サクシネート (INT -
D049) :

【0398】

一般手順 D に従い、デキサメタゾン (294 mg 、 0.75 mmol)、ヘミサクシネ

50

ート5 g (264 mg、0.90 mmol)、DCC (84 mg、0.90 mmol)、DMAP (137 mg、1.12 mmol) および CH_2Cl_2 (4 mL) で、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 80:20 → 50:50 ヘキサン/EtOAc) 後、透明な無色油の INT-D049 (740 mg、96% 収率) を得た。

【0399】

$R_f = 0.42$ (SiO_2 , 50:50 ヘキサン/EtOAc) ;

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 7.21 (d, $J = 10.1$ Hz), 6.36 (dd, $J = 10.2, 1.8$ Hz), 6.13 (s, 1H), 5.56 - 5.25 (m, 8H), 4.93 (s, 2H), 4.89 (quint, $J = 6.3$ Hz), 4.46 - 4.32 (m, 1H), 4.10 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.22 - 3.03 (m, 1H), 2.90 - 2.53 (m, 9H), 2.53 - 1.91 (m, 17H), 1.90 - 1.44 (m, 14H), 1.46 - 1.12 (m, 28H), 1.06 (s, 3H), 0.99 (t, $J = 7.6$ Hz, 3H) 0.96 - 0.81 (m, 6H)

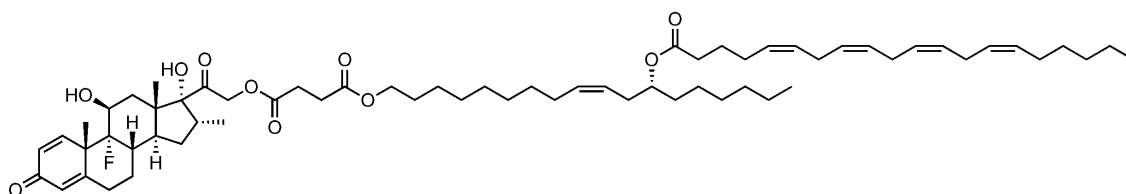
10

【0400】

実施例 2 G : INT-D051 の合成

【0401】

【化 77】



20

【0402】

2 - ((8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9 - フルオロ - 11, 17 - ジヒドロキシ - 10, 13, 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエチル ((R, Z) - 12 - (アラキドノイルオキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) サクシネート (INT-D051) :

30

【0403】

一般手順 D に従い、デキサメタゾン (303 mg、0.77 mmol)、ヘミサクシネート 5f (570 mg、0.85 mmol)、DCC (175 mg、0.85 mmol)、DMAP (142 mg、1.16 mmol) および CH_2Cl_2 (5 mL) で、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 80:20 → 50:50 ヘキサン/EtOAc) 後、透明無色油状物の INT-D051 (758 mg、収率 94%) を得た。

【0404】

$R_f = 0.29$ (SiO_2 , 50:50 ヘキサン/EtOAc) ;

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) : δ 7.22 (d, $J = 10.2$ Hz), 6.36 (dd, $J = 10.2, 1.8$ Hz), 6.13 (s, 1H), 5.56 - 5.26 (m, 10H), 4.93 (s, 2H), 4.88 (quint, $J = 6.3$ Hz), 4.43 - 4.33 (m, 1H), 4.10 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.20 - 3.03 (m, 1H), 2.94 - 2.55 (m, 11H), 2.54 - 1.95 (m, 17H), 1.91 - 1.42 (m, 14H), 1.47 - 1.15 (m, 28H), 1.05 (s, 3H), 1.00 - 0.81 (m, 9H)

40

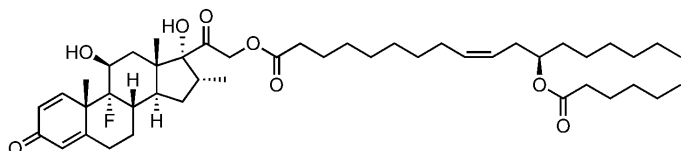
【0405】

実施例 2 H : INT-D055 の合成

【0406】

50

【化 7 8】



【0407】

2 - ((8 S , 9 R , 10 S , 11 S , 13 S , 14 S , 16 R , 17 R) - 9 - フル
オロ - 11 , 17 - ジヒドロキシ - 10 , 13 , 16 - トリメチル - 3 - オキシ - 6 , 7
 , 8 , 9 , 10 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - ドデカヒドロ - 3 H - シ
クロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキシエチル ((R , Z) - 12
 - ヘキサノイルオキシオレエート (INT - D055) :

10

【0408】

アルゴンフラッシュした丸底フラスコにカルボン酸 7 a (114 mg、0.30 mmol、
1.20 当量) および CH_2Cl_2 (1.2 mL) を充填し、氷冷した。
このフラスコに DCC (63 mg、0.30 mmol、1.2 当量) を加え、周囲の室温
で 15 分間攪拌するように放置した。フラスコを氷浴で再び冷却し、別のアルゴンフラッ
シュした丸底フラスコで調製した CH_2Cl_2 (1.3 mL) 中のデキサメタゾン (99
mg、0.25 mmol、1.00 当量) と DMAP (47 mg、0.38 mmol、1
 . 50 当量) の混合物を、シリンジを介して添加した。17 時間後、反応液を Et_2O で
希釈し、Celite(R)でろ過した後、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。フラッシュカラ
ム (80 : 20 → 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) を用いて粗残留物を精製し、微黄
色の粘稠油状物 (185 mg、収率 96 %) として INT - D055 を得た。

20

【0409】

R_f : 0.15 (SiO_2 , 70 : 30 ヘキサン : EtOAc) ;

^1H (300 MHz , CDCl_3) : δ 7.22 (d , $J = 10.2 \text{ Hz}$, 1 H) , 6.
36 (dd , $J = 10.2$, 1.6 Hz , 1 H) , 6.14 (s , 1 H) , 5.55 - 5.
.42 (m , 1 H) , 5.40 - 5.28 (m , 1 H) , 4.96 - 4.82 (m , 3 H
) , 4.44 - 4.34 (m , 1 H) , 3.21 - 3.03 (m , 1 H) , 2.73 - 2.
.55 (m , 1 H) , 2.53 - 1.97 (m , 13 H) , 1.91 - 1.48 (m , 1
2 H) , 1.44 - 1.18 (m , 21 H) , 1.07 (s , 3 H) , 0.98 - 0.8
3 (m , 9 H)

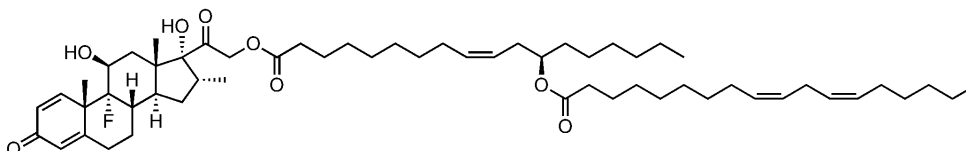
30

【0410】

実施例 2 I : INT - D089 の合成

【0411】

【化 7 9】



40

【0412】

2 - ((8 S , 9 R , 10 S , 11 S , 13 S , 14 S , 16 R , 17 R) - 9 - フル
オロ - 11 , 17 - ジヒドロキシ - 10 , 13 , 16 - トリメチル - 3 - オキシ - 6 , 7
 , 8 , 9 , 10 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - ドデカヒドロ - 3 H - シ
クロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキシエチル (RZ) - 12 - リ
ノレオイルオキシオレエート (INT - D089) :

【0413】

50

アルゴンフラッシュした丸底フラスコにカルボン酸 7b (600 mg、1.07 mmol、1.20 当量) および CH_2Cl_2 (4.4 mL) を充填し、氷浴で冷却した。このフラスコに DCC (221 mg、1.07 mmol、1.20 当量) を加え、周囲の室温で 15 分間攪拌するように放置した。フラスコを氷浴で再び冷却し、別のアルゴンフラッシュした丸底フラスコに調製した CH_2Cl_2 (4.5 mL) 中のデキサメタゾン (350 mg、0.89 mmol、1.00 当量) と DMAP (163 mg、1.34 mmol、1.50 当量) の混合物を、シリンジで加えた。17 時間後、反応液をヘキサンで希釈し、Celite (R) でろ過した後、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。フラッシュカラム (80:20 → 50:50 ヘキサン/EtOAc) を用いて粗残留物を精製し、INT-D089 を微黄色の粘稠油状物 (750 mg、収率 90%) として得た。

10

【0414】

R_f : 0.46 (シリカ、50:50 ヘキサン:EtOAc);

^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 7.22 (d, $J = 10.3$ Hz, 1H), 6.36 (dd, $J = 10.2, 1.5$ Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.55 - 5.28 (m, 6H), 4.97 - 4.82 (m, 3H), 4.46 - 4.33 (m, 1H), 3.21 - 3.04 (m, 1H), 2.79 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 2.71 - 2.55 (m, 1H), 2.53 - 1.97 (m, 16H), 1.91 - 1.46 (m, 14H), 1.45 - 1.19 (m, 30H), 1.07 (s, 3H), 0.98 - 0.84 (m, 9H)

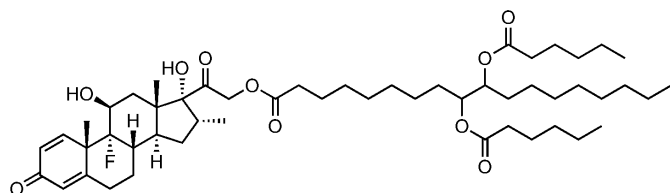
【0415】

20

実施例 2 J: INT-D085 の合成

【0416】

【化80】



30

【0417】

1 - (2 - ((8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9 - フルオロ - 11, 17 - ジヒドロキシ - 10, 13, 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエトキシ) - 1 - オキソオクタデカン - 9, 10 - ジイルジヘキサノエート (INT - D085):

【0418】

一般手順 E に従い、デキサメタゾン (235 mg、0.60 mmol)、カルボン酸 12a (338 mg、0.66 mmol)、DCC (136 mg、0.66 mmol)、DMAP (110 mg、0.90 mmol) および CH_2Cl_2 (6 mL) で、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 80:20 → 50:50 ヘキサン/EtOAc) 後、無色透明油状物の INT-D085 (336 mg、63% 収率) を得た。

40

【0419】

R_f = 0.52 (SiO_2 , 50:50 ヘキサン/EtOAc);

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7.22 (d, $J = 10.1$ Hz), 6.35 (dd, $J = 10.2, 1.7$ Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.07 - 4.94 (m, 2H), 4.90 (s, 2H), 4.44 - 4.32 (m, 1H), 3.21 - 3.02 (m, 1H), 2.63 (dt, $J = 13.4, 5.4$ Hz, 1H), 2.53 - 2.26 (m, 6H), 2.30 (t, $J = 7.3$ Hz, 4H), 2.24 - 2.09 (m, 1H), 2.03 (br s, 1H), 1.92 - 1.44 (m, 18H), 1

50

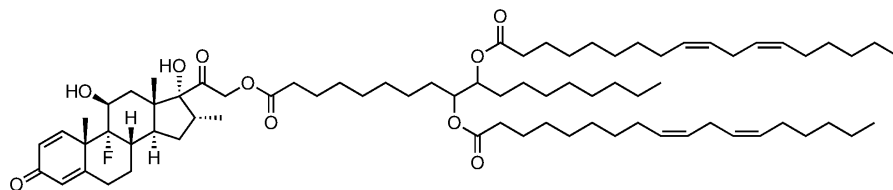
. 43 - 1.15 (m, 30H), 1.06 (s, 3H)、0.99 - 0.79 (m, 12H)

【0420】

実施例2K：INT-D086の合成

【0421】

【化81】



10

【0422】

1 - (2 - ((8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9 - フルオロ - 11, 17 - ジヒドロキシ - 10, 13, 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ[a]フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエトキシ) - 1 - オキソオクタデカン - 9, 10 - ジイル(9Z, 9'Z, 12Z, 12'Z) - ビス(オクタデカ - 9, 12 - ジエノアート)(INT-D086) :

20

【0423】

一般操作Eに従い、デキサメタゾン(235mg、0.60mmol)、カルボン酸12b(555mg、0.66mmol)、DCC(136mg、0.66mmol)、DMAP(110mg、0.90mmol)およびCH₂Cl₂(6mL)で、フラッシュカラムクロマトグラフィー(SiO₂, 80:20→50:50 ヘキサン/EtOAc)後、無色透明油状物のINT-D086(584mg、収率80%)を得た。

【0424】

R_f = 0.28 (SiO₂, 70:30 ヘキサン/EtOAc) ;

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 7.22 (d, J = 10.1Hz, 1H), 6.35 (dd, J = 10.1, 1.6Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.48 - 5.24 (m, 8H), 5.06 - 4.93 (m, 2H), 4.90 (s, 2H), 4.44 - 4.31 (m, 1H), 3.21 - 3.02 (m, 1H), 2.78 (t, J = 5.9Hz, 6H), 2.63 (dt, J = 13.7, 5.9Hz, 1H), 2.52 - 2.33 (m, 6H), 2.30 (t, J = 7.4Hz, 4H), 2.24 - 1.97 (m, 9H), 1.94 - 1.45 (m, 18H), 1.44 - 1.16 (m, 52H), 1.07 (s, 3H), 0.98 - 0.82 (m, 12H)

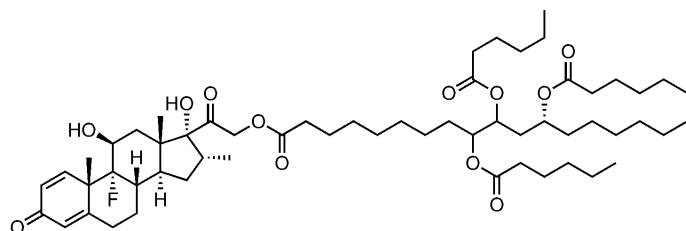
30

【0425】

実施例2L：INT-D056の合成

【0426】

【化82】



40

【0427】

2 - ((8S, 9R, 10S, 11S, 13S, 14S, 16R, 17R) - 9 - フルオロ - 11, 17 - ジヒドロキシ - 10, 13, 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6, 7

50

, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3 H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエチル 9, 10, 12 R - トリヘキサノイルオキシステアレート (INT - D 0 5 6) :

【 0 4 2 8 】

一般手順 E に従い、デキサメタゾン (1 7 5 m g 、 0 . 4 4 m m o l) 、カルボン酸 1 3 (3 0 7 m g 、 0 . 4 9 m m o l) 、 D C C (1 0 1 m g 、 0 . 4 9 m m o l) 、 D M A P (8 2 m g 、 0 . 6 7 m m o l) 、 CH_2Cl_2 (5 m L) で、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、 8 0 : 2 0 → 5 0 : 5 0 ヘキサン / E t O A c) 後、無色透明油状物の INT - D 0 5 6 (3 1 8 m g 、 9 0 % 収率) を得た。

【 0 4 2 9 】

$R_f = 0.50$ (SiO_2 , 5 0 : 5 0 ヘキサン / E t O A c) ;

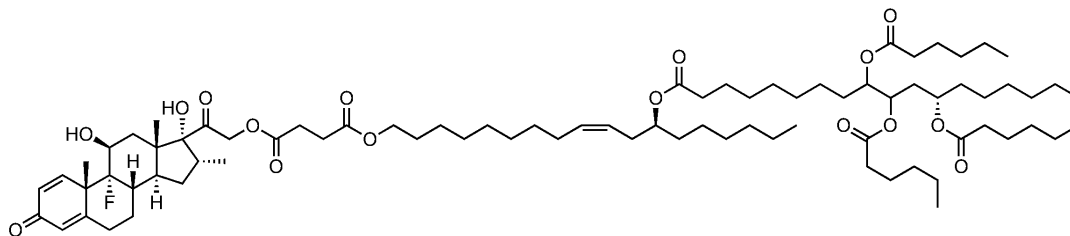
$^1\text{H NMR}$ (3 0 0 M H z , CDCl_3) : δ 7 . 2 3 (d , $J = 10.2$ H z , 1 H) , 6 . 3 3 (d d , $J = 10.1$, 1 . 7 H z , 1 H) , 6 . 1 0 (s , 1 H) , 5 . 1 1 - 4 . 8 9 (m , 3 H) , 4 . 9 0 (s , 2 H) , 4 . 4 2 - 4 . 2 9 (m , 1 H) , 3 . 2 0 - 3 . 0 0 (m , 1 H) , 2 . 6 1 (d t , $J = 13.5$, 5 . 4 H z , 1 H) , 2 . 5 2 - 2 . 0 5 (m , 1 2 H) , 1 . 9 3 - 1 . 4 2 (m , 2 0 H) , 1 . 4 2 - 1 . 1 4 (m , 2 8 H) , 1 . 0 4 (s , 3 H) , 0 . 9 8 - 0 . 7 9 (m , 1 5 H)

【 0 4 3 0 】

実施例 2 M : INT - D 0 5 9 の合成

【 0 4 3 1 】

【 化 8 3 】



【 0 4 3 2 】

2 - ((8 S , 9 R , 10 S , 11 S , 13 S , 14 S , 16 S , 17 R) - 9 - フルオロ - 11 , 17 - ジヒドロキシ - 10 , 13 , 16 - トリメチル - 3 - オキソ - 6 , 7 , 8 , 9 , 10 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - ドデカヒドロ - 3 H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イル) - 2 - オキソエチル ((12 S , Z) - 12 - (((12 S) - 9 , 10 , 12 - トリス (ヘキサノイルオキシ) オクタデカノイル) オキシ) オクタデク - 9 - エン - 1 - イル) サクシネート (INT - D 0 5 9) :

【 0 4 3 3 】

一般手順 E に従って、デキサメタゾン (1 3 7 m g 、 0 . 3 5 m m o l) 、 リシノレイルアルコール 2 およびカルボン酸 1 3 から誘導されるヘミサクシネート (3 8 2 m g 、 0 . 3 8 m m o l) 、 D C C (7 9 m g 、 0 . 3 8 m m o l) 、 D M A P (6 4 m g 、 0 . 5 2 m m o l) および CH_2Cl_2 (3 . 5 m L) で、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO_2 , 7 0 : 3 0 → 5 0 : 5 0 ヘキサン / E t O A c) 後、無色透明油状物として、INT - D 0 5 9 (3 3 6 m g 、 収率 6 6 %) を得た。

【 0 4 3 4 】

$R_f = 0.50$ (SiO_2 , 5 0 : 5 0 ヘキサン / E t O A c) ;

$^1\text{H NMR}$ (3 0 0 M H z , CDCl_3) : δ 7 . 2 2 (d , $J = 10.1$ H z , 1 H) , 6 . 3 6 (d d , $J = 10.2$, 1 . 7 H z , 1 H) , 6 . 1 3 (s , 1 H) , 5 . 5 5 - 5 . 4 1 (m , 1 H) , 5 . 4 0 - 5 . 2 7 (m , 1 H) , 5 . 1 2 - 4 . 8 3 (m , 5 H) , 4 . 9 3 (s , 2 H) , 4 . 4 4 - 4 . 3 3 (m , 1 H) , 4 . 1 0 (t , $J = 6.8$ H z , 2 H) , 3 . 2 0 - 3 . 0 4 (m , 1 H) , 2 . 8 4 - 2 . 5 4 (6 H)

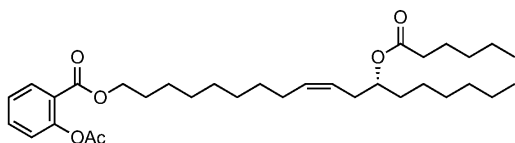
, 2.52 - 2.10 (m, 18H), 2.10 - 1.97 (m, 2H), 1.93 - 1.43 (m, 32H), 1.43 - 1.16 (m, 62H)、1.05 (s, 3H)、0.99 - 0.81 (m, 21H)

【0435】

実施例2N：INT-D060の合成

【0436】

【化84】



10

【0437】

(R,Z)-12-ヘキサノイルオキシオクタデク-9-エン-1-イル2-アセトキシベンゾエート(INT-D060)：

HF・ピリジン液(ピリジン中70%HF 0.53 mL、4.20 mmol、3.00 当量)を、アルゴン下、丸底フラスコ中のピリジン(0.34 mL、4.20 mmol、3.00 当量)およびシリルエーテル4b(700 mg、1.41 mmol)の氷冷THF(7 mL)撹拌下溶液に加えた。TLCが発効物質の摂取(2~8時間)を示したとき、反応液を飽和NaHCO₃水溶液でクエンチした。混合物をEt₂O(2×10 mL)で抽出した後、合わせた有機抽出物をH₂O(1×10 mL)、塩水で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥し、回転蒸発器で濃縮して粗一級アルコールを得た。粗製物を、シリカゲル(90:10 ヘキサン/EtOAc)のプラグを通する過によって精製し、回転蒸発器で濃縮して、中間体第一級アルコール(518 mg)を透明無色油状物として得、これをさらに精製することなく使用した。

20

【0438】

火災乾燥しアルゴンフラッシュした丸底フラスコに、上記アルコール、ピリジン(0.22 mL、2.70 mmol、2.00 当量)およびCH₂Cl₂(6 mL)を充填した後、氷浴中で冷却した。この丸底フラスコに、付加漏斗を備え付け、別のアルゴンフラッシュした丸底フラスコで調製したアセチルサリチロイルクロリド(541 mg、2.73 mmol、2.00 当量)のCH₂Cl₂(7.5 mL)溶液を15分かけて滴加し充填した。16.5時間後、反応溶媒を減圧下、回転蒸発器で除去した。粗残留物を2回連続フラッシュカラムクロマトグラフィー操作(最初の90:10 ヘキサン/EtOAc、次いで95:5 ヘキサン/EtOAc)により精製し、INT-D060を淡黄色油状物(557 mg、収率76%)として得た。

30

【0439】

R_f: 0.60 (SiO₂, 70:30 ヘキサン:EtOAc)；

¹H (300 MHz, CDCl₃) : δ 8.02 (dd, J = 7.9, 1.4 Hz, 1H), 7.55 (td, J = 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.31 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.54 - 5.40 (m, 1H), 5.40 - 5.26 (m, 1H), 4.89 (quint, J = 6.2 Hz, 1H), 4.27 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.33 - 2.21 (m, 4H), 2.09 - 1.96 (m, 2H), 1.74 (quint, J = 7.1 Hz, 2H), 1.62 (quint, J = 7.3 Hz, 2H), 1.58 - 1.48 (m, 2H), 1.48 - 1.16 (m, 22H), 0.97 - 0.80 (m, 6H)

40

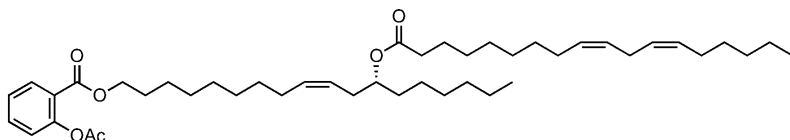
【0440】

実施例2O：INT-D061の合成

【0441】

50

【化 8 5】



【0442】

(R, Z) - 12 - (リノレオイルオキシオクタデク - 9 - エン - 1 - イル 2 - アセトキシベンゾエート (INT - D061)) :

HF・ピリジン液 (ピリジン中 70% HF 0.39 mL、3.20 mmol、3.00 当量) を、アルゴン下、丸底フラスコ中のピリジン (0.26 mL、3.20 mmol、3.00 当量) およびシリルエーテル 4f (700 mg、1.06 mmol) の氷冷 THF (5 mL) 攪拌下溶液に加えた。TLC が出発物質の摂取 (2 ~ 8 時間) を示したとき、反応液を飽和 NaHCO₃ 水溶液でクエンチした。混合物を Et₂O (2 × 10 mL) で抽出した後、合わせた有機抽出物を H₂O (1 × 10 mL)、塩水で洗浄し、Na₂SO₄ 上で乾燥し、回転蒸発器で濃縮して粗一級アルコールを得た。粗製物を、シリカゲル (90 : 10 ヘキサン / EtOAc) のプラグを通する過によって精製し、回転蒸発器で濃縮して、中間体第一級アルコール (553 mg) を透明無色油状物として得、これをさらに精製することなく使用した。

【0443】

アルゴンフラッシュした丸底フラスコに、上記のアルコール (553 mg、1.01 mmol、1.00 当量)、ピリジン (0.13 mL、1.7 mmol、1.60 当量)、および CH₂Cl₂ (4 mL) を充填した後、氷浴で冷却した。別のアルゴンフラッシュ丸底フラスコに、アセチルサリチロイルクロライド (327 mg、1.65 mmol、1.63 当量) の CH₂Cl₂ (6 mL) 溶液を調製し、シリンジを介して少しずつ 15 分間かけてゆっくりと他方の丸底フラスコに移した。18 時間後、反応溶媒を減圧下の回転蒸発器で除去した。粗残留物を 2 回連続フラッシュカラムクロマトグラフィー操作 (95 : 5 ヘキサン / EtOAc) により精製し、INT - D061 を淡黄色油状物 (516 mg、収率 72%) として得た。

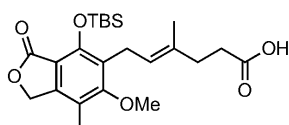
【0444】

R_f : 0.56 (SiO₂, 70 : 30 ヘキサン : EtOAc) ;

¹H (300 MHz, CDCl₃) : δ 8.03 (dd, J = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 7.57 (td, J = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.32 (td, J = 7.6, 1.0 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 5.54 - 5.27 (m, 6H), 4.90 (quint, J = 6.2 Hz, 1H), 4.28 (t, J = 6.7 Hz, 2H), 2.79 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.34 - 2.21 (m, 4H), 2.12 - 1.96 (m, 6H), 1.75 (quint, J = 7.1 Hz, 2H), 1.69 - 1.49 (m, 4H), 1.49 - 1.18 (m, 32H), 0.98 - 0.81 (m, 6H)

【0445】

【化 8 6】



【0446】

(E) - 6 - (4 - tert - ブチルジメチルシリルオキシ - 6 - メトキシ - 7 - メチル - 3 - オキソ - 1, 3 - ジヒドロイソベンゾフラン - 5 - イル) - 4 - メチルヘクス - 4

- エン酸 (1 4) :

火炎乾燥しアルゴンフラッシュした丸底フラスコにDMF (0 . 9 8 m L)、イミダゾール (1 5 9 m g、2 . 3 4 m m o l、7 . 5 0 当量) およびミコフェノール酸 (1 0 0 m g、0 . 3 1 2 m m o l、1 . 0 0 当量) を充填し、この混合物にTBSCl (2 8 2 m g、1 . 8 7 m m o l、6 . 0 0 当量) を加えた。1 時間後、反応混合物 (1 0 m L) からEt₂O (2 × 1 0 m L) で抽出した。混合有機物を水 (3 × 1 0 m L)、塩水 (1 × 1 0 m L) で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、回転蒸発器で、減圧下で濃縮した。粗残留物をテトラヒドロフラン (0 . 6 0 m L) に取り込み、水 (0 . 6 0 m L) および酢酸 (0 . 6 0 m L) で1 時間撹拌した。次に水 (1 × 1 0 m L) からEt₂O (2 × 1 0 m L) で抽出した。混合有機物を水 (5 × 1 0 m L)、塩水 (1 × 1 0 m L) で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。粗残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (8 0 : 2 0 → 2 0 : 8 0 ヘキサン / EtOAc) により精製して、白色固形物のミコフェノール酸シリルエーテル (1 4) (1 2 1 m g、収率 8 9 %) を得た。

10

【 0 4 4 7 】

R_f : 0 . 3 6 (SiO₂, 5 0 : 5 0 ヘキサン : EtOAc) ;

¹H (3 0 0 M H z , C D C l ₃) : δ 5 . 2 3 (t , J = 6 . 3 H z , 1 H) , 5 . 0 9 (s , 2 H) , 3 . 7 6 (s , 3 H) , 3 . 4 1 (d , J = 6 . 3 H z , 2 H) , 2 . 5 0 - 2 . 3 9 (m , 2 H) , 2 . 3 8 - 2 . 2 7 (m , 2 H) , 2 . 1 7 (s , 3 H) , 1 . 7 8 (s , 3 H) , 1 . 0 5 (s , 9 H) , 0 . 2 6 (s , 6 H)

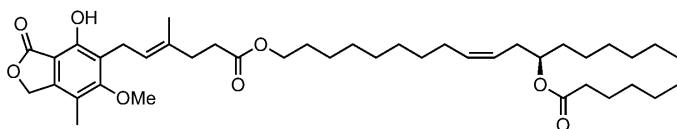
20

【 0 4 4 8 】

実施例 2 P : I N T - D 0 6 2 の合成

【 0 4 4 9 】

【 化 8 7 】



【 0 4 5 0 】

(1 2 R) ヘキサノイルオキシオレイル (E) - 6 - (4 - ヒドロキシ - 6 - メトキシ - 7 - メチル - 3 - オキソ - 1 , 3 - ジヒドロイソベンゾフラン - 5 - イル) - 4 - メチルヘクス - 4 - エノアート (I N T - D 0 6 2) :

30

【 0 4 5 1 】

HF・ピリジン液 (ピリジン中 7 0 % H F 0 . 1 1 m L、0 . 9 1 m m o l、3 . 0 0 当量) を、アルゴン下、丸底フラスコ中のピリジン (0 . 0 7 m L、0 . 9 1 m m o l、3 . 0 0 当量) およびシリルエーテル 4 b (1 5 0 m g、0 . 3 0 m m o l) の氷冷 T H F (1 . 5 m L) 撹拌下溶液に加えた。TLC が出発物質の摂取 (2 ~ 8 時間) を示したとき、反応液を飽和 NaHCO₃ 水溶液でクエンチした。混合物をEt₂O (2 × 5 m L) で抽出した後、合わせた有機抽出物をH₂O (1 × 5 m L)、塩水で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥し、回転蒸発器で濃縮して粗一級アルコールを得た。粗製物を、シリカゲル (9 0 : 1 0 ヘキサン / EtOAc) のプラグを通する過によって精製し、回転蒸発器で濃縮して、中間体第一級アルコール (1 0 2 m g) を透明無色油状物として得、これをさらに精製することなく使用した。

40

【 0 4 5 2 】

氷浴中で冷却したアルゴンフラッシュした丸底フラスコに、CH₂Cl₂ (1 . 2 m L) およびミコフェノール酸シリルエーテル (1 4) (1 0 5 m g、0 . 2 4 m m o l、1 . 0 0 当量) を充填した。このフラスコにDCC (5 0 m g、0 . 2 4 m m o l、1 . 0 0 当量) を加え、氷浴を除去した。1 5 分後、氷浴をフラスコの下で交換し、上記アルコール (1 0 2 m g、0 . 2 6 7 m m o l、1 . 1 0 当量) およびDMA P (4 4 m g、0

50

． 3 6 m m o l 、 1 ． 5 0 当量) の CH_2Cl_2 (1 ． 2 m L) 溶液を加えた。 1 5 ． 5 時間後、反応混合物を減圧下で濃縮した。粗残留物をヘキサン (4 倍体積) で希釈し、*Cel lite* (R) でろ過した後、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (8 5 : 1 5 ヘキサン / *EtOAc*) に付し、生成物含有画分を合わせ、濃縮した。

【 0 4 5 3 】

残留物を丸底フラスコに移し、アルゴンでフラッシュした。このフラスコに CH_2Cl_2 (1 ． 5 m L) およびピリジン (0 ． 0 6 m L 、 0 ． 7 m m o l 、 2 ． 8 8 当量) を加え、氷水浴で冷却した。次に塩化ベンゾイル (0 ． 0 5 m L 、 0 ． 5 0 m m o l 、 2 ． 0 6 当量) をフラスコに加えた。 1 8 時間後、反応混合物を減圧下で回転蒸発器で濃縮した。粗残留物は Et_2O (3 × 1 0 m L) と水 (1 × 1 0 m L) で抽出した。混合有機物は 1 M 塩酸水 (1 × 1 0 m L) 、 1 M NaOH (1 × 1 0 m L) 、 水 (1 × 1 0 m L) 、 塩水 (1 × 1 0 m L) で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。

【 0 4 5 4 】

粗残留物はアルゴンでフラッシュし、氷水浴で冷却した丸底フラスコ中のテトラヒドロフラン (1 ． 4 m L) に取り込んだ。このフラスコにピリジン (0 ． 0 7 m L 、 0 ． 8 0 m m o l 、 3 ． 2 9 当量) と $\text{HF} \cdot \text{ピリジン}$ (7 0 % HF を 0 ． 1 0 m L 、 0 ． 8 3 m m o l 、 3 ． 4 2 当量) を加え、氷浴を除去した。 2 時間後、パブリングが停止するまで飽和 NaHCO_3 水溶液を反応液に徐々に添加した。反応液を Et_2O (1 × 1 0 m L) で抽出し、混合有機層を 1 M 塩酸水溶液 (1 × 1 0 m L) 、 水 (1 × 1 0 m L) 、 塩水 (1 × 1 0 m L) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー (9 0 : 1 0 → 8 0 : 2 0 ヘキサン / *EtOAc*) により精製し、*INT-D062* を無色透明油状物 (1 0 0 m g 、 3 段階にわたり 6 0 % の収率) として得た。

【 0 4 5 5 】

R_f : 0 ． 2 2 (シリカ、 8 0 : 2 0 ヘキサン : *EtOAc*) ;

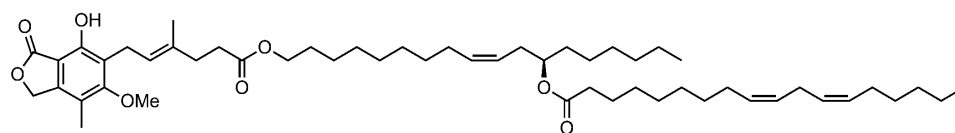
^1H (3 0 0 M H z , CDCl_3) : δ 7 ． 6 9 (s , 1 H) , 5 ． 5 5 - 5 ． 4 1 (m , 1 H) , 5 ． 4 1 - 5 ． 1 7 (m , 4 H) , 4 ． 9 0 (q u i n t , J = 6 ． 2 H z , 1 H) , 4 ． 0 2 (t , J = 6 ． 8 H z , 2 H) , 3 ． 7 8 (s , 3 H) , 3 ． 4 0 (d , J = 6 ． 9 H z , 2 H) , 2 ． 4 7 - 2 ． 3 6 (m , 2 H) , 2 ． 3 6 - 2 ． 2 3 (m , 6 H) , 2 ． 1 7 (s , 3 H) , 2 ． 1 0 - 1 ． 9 7 (m , 2 H) , 1 ． 8 2 (s , 3 H) , 1 ． 7 1 - 1 ． 4 7 (m , 6 H) , 1 ． 4 3 - 1 ． 1 8 (m , 2 2 H) , 0 ． 9 7 - 0 ． 8 3 (m , 6 H)

【 0 4 5 6 】

実施例 2 Q : *INT-D063* の合成

【 0 4 5 7 】

【 化 8 8 】



【 0 4 5 8 】

(1 2 R) リノレオイルオキシオレイル (E) - 6 - (4 - ヒドロキシ - 6 - メトキシ - 7 - メチル - 3 - オキソ - 1 , 3 - ジヒドロイソベンゾフラン - 5 - イル) - 4 - メチルヘクス - 4 - エノエート (*INT-D063*) :

アルゴン下、丸底フラスコ中のピリジン (0 ． 0 5 m L 、 0 ． 6 0 m m o l 、 3 ． 0 0 等量) およびシリルエーテル 4 f (1 2 5 m g 、 0 ． 1 9 m m o l) の攪拌、氷冷 THF (1 ． 5 m L) 溶液に、 $\text{HF} \cdot \text{ピリジン}$ 溶液 (ピリジン中 7 0 % HF 、 0 ． 0 7 m L 、 0 ． 6 0 m m o l 、 3 ． 0 0 等量) を加えた。TLC が出発物質の摂取 (2 ~ 8 時間) を示

したとき、反応液を飽和 NaHCO_3 水溶液でクエンチした。混合物を Et_2O ($2 \times 10 \text{ mL}$) で抽出した後、合わせた有機抽出物を H_2O ($1 \times 10 \text{ mL}$)、塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥し、回転蒸発器で濃縮して粗一級アルコールを得た。粗製物を、シリカゲル ($90:10$ ヘキサン/ EtOAc) のプラグを通する過によって精製し、回転蒸発器で濃縮して、中間体第一級アルコール (95 mg) を透明無色油状物として得、これをさらに精製することなく使用した。

【0459】

氷浴中で冷却したアルゴンフラッシュした丸底フラスコに、 CH_2Cl_2 (0.5 mL) およびミコフェノール酸シリルエーテル (14) (68 mg 、 0.16 mmol 、 1.00 当量) を充填した。このフラスコに DCC (32 mg 、 0.16 mmol 、 1.00 当量) を加え、氷浴を除去した。15分後、氷浴をフラスコの下で交換し、上記アルコールと DMAp (29 mg 、 0.24 mmol 、 1.50 当量) の CH_2Cl_2 (1 mL) 溶液を加えた。19時間後、反応混合物を減圧下で濃縮した。粗残留物をヘキサン (4 倍体積) で希釈し、 Celite(R) でろ過した後、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー ($85:15$ ヘキサン/ EtOAc) に付し、生成物含有画分を合わせ、濃縮した。

【0460】

残留物を丸底フラスコに移し、アルゴンでフラッシュした。このフラスコに CH_2Cl_2 (1 mL) およびピリジン (0.03 mL 、 0.40 mmol 、 2.50 当量) を加え、氷水浴で冷却した。次に塩化ベンゾイル (0.03 mL 、 0.20 mmol 、 1.25 当量) をフラスコに加えた。18時間後、反応混合物を減圧下で、回転蒸発器で濃縮した。粗残留物は Et_2O ($3 \times 10 \text{ mL}$) と水 ($1 \times 10 \text{ mL}$) で抽出した。混合有機物は 1 M 塩酸水溶液 ($1 \times 10 \text{ mL}$)、 1 M NaOH ($1 \times 10 \text{ mL}$)、水 ($1 \times 10 \text{ mL}$)、塩水 ($1 \times 10 \text{ mL}$) で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。

【0461】

粗残留物は、アルゴンでフラッシュされ、氷水浴で冷却した丸底フラスコ中のテトラヒドロフラン (1 mL) に取り込んだ。このフラスコにピリジン (0.04 mL 、 0.50 mmol 、 3.13 当量) と $\text{HF} \cdot \text{ピリジン}$ ($70\% \text{ HF}$ 0.06 mL 、 0.50 mmol 、 3.13 当量) を加え、氷浴を除去した。2時間後、バブリングが停止するまで飽和 NaHCO_3 水溶液を徐々に添加した。反応液を Et_2O ($1 \times 10 \text{ mL}$) で抽出し、混合有機層を 1 M 塩酸水溶液 ($1 \times 10 \text{ mL}$)、水 ($1 \times 10 \text{ mL}$)、塩水 ($1 \times 10 \text{ mL}$) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィー ($90:10$ ヘキサン/ EtOAc) により精製し、 INT-D063 を無色透明油状物 (66 mg 、3段階にわたり 50% の収率) として得た。

【0462】

R_f : 0.17 (SiO_2 , $85:15$ ヘキサン: EtOAc);

^1H (300 MHz , CDCl_3): δ 7.69 (s, 1H), 5.55 - 5.17 (m, 9H), 4.90 (quint, $J = 6.3 \text{ Hz}$, 1H), 4.02 (t, $J = 6.7 \text{ Hz}$, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.40 (d, $J = 6.7 \text{ Hz}$, 2H), 2.79 (t, $J = 6.0 \text{ Hz}$, 2H), 2.46 - 2.36 (m, 2H), 2.36 - 2.23 (m, 6H), 2.17 (s, 3H), 2.13 - 1.96 (m, 6H), 1.82 (s, 3H), 1.70 - 1.47 (m, 6H), 1.45 - 1.19 (m, 32H), 0.96 - 0.81 (m, 6H)

【0463】

実施例 2 R: INT-D065 の合成

【0464】

10

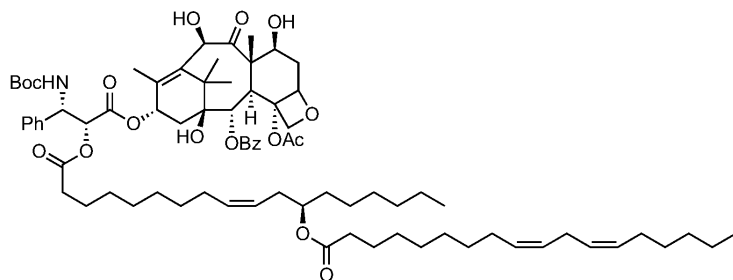
20

30

40

50

【化 8 9】



10

【 0 4 6 5】

(4S, 4aS, 6R, 9S, 11S, 12S, 12aR, 12bS) - 12b - アセトキシ - 9 - ((2R, 3S) - 3 - ((tert - ブトキシカルボニル) アミノ) - 2 - (((R, Z) - 12 - ((9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエノイル) オキシ) オクタデカ - 9 - エノイル) オキシ) - 3 - フェニルプロパノイル) オキシ) - 4, 6, 11 - トリヒドロオキシ - 4a, 8, 13, 13 - テトラメチル - 5 - オキソ - 2a, 3, 4, 4a, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 12a, 12b - ドデカヒドロ - 1H - 7, 11 - メタノシクロデカ[3, 4]ベンゾ[1, 2 - b]オクスエト - 12 - イルベンゾエート (INT - D065) :

【 0 4 6 6】

20

Et₃N (0.10 mL、0.75 mmol、2.50 等量) に続き、Mukaiyama 試薬 (100 mg、0.39 mmol、1.30 等量) をアルゴン下、丸底フラスコ中の、ドセタキセル (242 mg、0.30 mmol) および 12R - リノレオイルオキシオレイン酸 7b (202 mg、0.36 mmol、1.20 等量) の室温 CH₂Cl₂ (3 mL) 溶液に添加した。14 時間攪拌後、反応混合物を EtOAc で希釈し、セライト(R) でろ過し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂, 80 : 20 → 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) により粗残留物を精製し、無色透明油状物 (243 mg、収率 60%) の INT - D065 を得た。

【 0 4 6 7】

R_f = 0.45 (SiO₂, 50 : 50 ヘキサン / EtOAc) ;

30

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 8.12 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.62 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.56 - 7.46 (m, 2H), 7.44 - 7.35 (m, 2H), 7.35 - 7.26 (m, 3H), 6.27 (br t, J = 8.0 Hz, 1H), 5.70 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 5.55 - 5.27 (m, 9H), 5.23 (s, 1H), 4.98 (m, 1H), 4.90 (quint, J = 6.2 Hz, 1H), 4.39 - 4.16 (m, 4H), 3.95 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 2.79 (t, J = 5.8 Hz, 2H), 2.67 - 2.52 (m, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.44 - 2.23 (m, 8H), 2.22 - 1.71 (m, 18H), 1.70 - 1.45 (m, 7H), 1.44 - 1.12 (m, 45H), 1.13 (s, 3H), 0.97 - 0.82 (m, 6H)

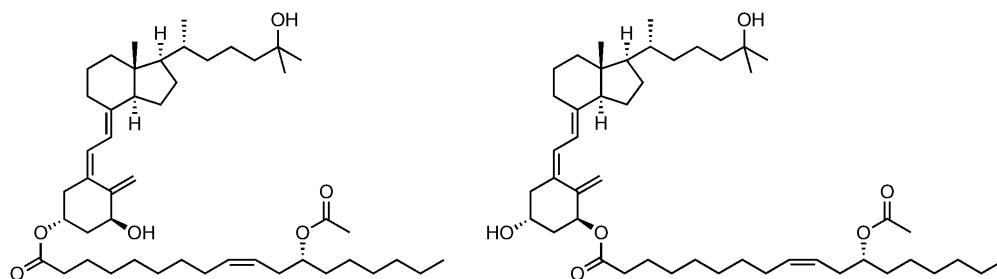
40

【 0 4 6 8】

実施例 2S : INT - D053 の合成

【 0 4 6 9】

【化 9 0】



10

【0 4 7 0】

(1R, 3S, Z) - 3 - ヒドロキシ - 5 - (2 - ((1R, 3aS, 7aR, E)) - 1 - ((R) - 6 - ヒドロキシ - 6 - メチルヘプタン - 2 - イル) - 7a - メチルオクタヒドロ - 4H - インデン - 4 - イリデン) エチリデン) - 4 - メチレンシクロヘキシル (R, Z) - 12 - アセトキシオクタデク - 9 - エノアートおよび (1S, 5R, Z) - 5 - ヒドロキシ - 3 - (2 - ((1R, 3aS, 7aR, E)) - 1 - ((R) - 6 - ヒドロキシ - 6 - メチルヘプタン - 2 - イル) - 7a - メチルオクタヒドロ - 4H - インデン - 4 - イリデン) エチリデン) - 2 - メチレンシクロヘキシル (R, Z) - 12 - アセトキシオクタデク - 9 - エノアート (INT - D 0 5 3) : J Z - 2 5 - 0 5 7 , 0 2 9

【0 4 7 1】

DCC (50 mg、0.24 mmol、1.20 当量) をアルゴン下、丸底フラスコ中の (12R) - アセトキシオレイン酸 (82 mg、0.24 mmol、1.20 当量) の攪拌、氷冷 - 1 : 1 CH₂Cl₂ / THF (4 mL) 溶液に加え、氷浴を除去し、15 分間攪拌した。反応混合物を氷浴中で再び冷却し、固体カルシトリオール (83 mg、0.20 mmol) および DMAP (29 mg、0.24 mmol、1.20 当量) を添加した。反応混合物を 14 時間にわたって加温し、EtOAc で希釈し、10 分間攪拌した後、セライト(R) でろ過した。ろ液を濃縮して淡黄色油状物とし、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂, 80 : 20 → 65 : 35 ヘキサン / EtOAc) により精製し、1 - および 3 - アシル化結合体の ~ 1 : 1 混合物 (61 mg、41% 収率) を無色透明油状物として得た。

20

30

【0 4 7 2】

R_f = 0.33 (SiO₂, 60 : 40 ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 6.44 - 6.25 (m, 2H), 6.02 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 5.92 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 5.56 - 5.40 (m, 3H), 5.40 - 5.27 (m, 4H), 5.26 - 5.16 (m, 1H), 5.07 - 4.97 (m, 2H), 4.87 (quint, J = 6.2 Hz, 2H), 4.45 - 4.34 (m, 1H), 4.23 - 4.10 (m, 1H), 2.89 - 2.74 (m, 2H), 2.68 - 2.51 (m, 2H), 2.48 - 2.18 (m, 11H), 2.17 - 1.77 (m, 25H), 1.76 - 1.13 (m, 90H), 1.12 - 0.99 (m, 2H), 0.99 - 0.80 (m, 13H), 0.55 (s, 3H), 0.52 (s, 3H)

40

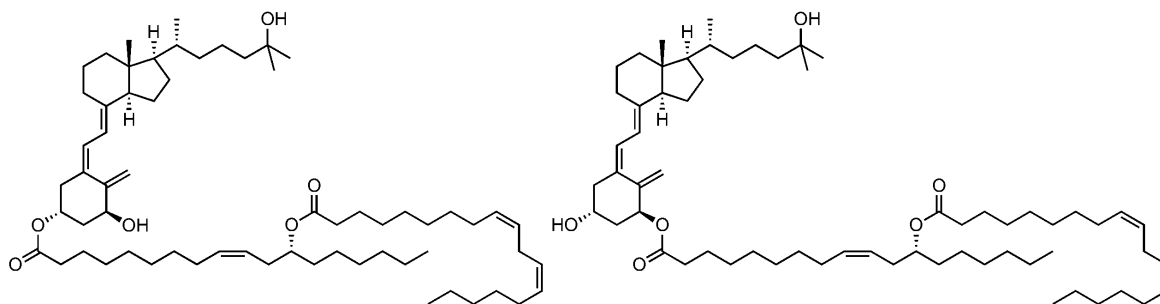
【0 4 7 3】

実施例 2 T : INT - D 0 6 8 の合成

【0 4 7 4】

50

【化 9 1】



10

【0 4 7 5】

(R, Z) - 18 - (((1R, 3S, Z) - 3 - ヒドロキシ - 5 - (2 - ((1R, 3aS, 7aR, E) - 1 - ((R) - 6 - ヒドロキシ - 6 - メチルヘプタン - 2 - イル) - 7a - メチルオクタヒドロ - 4H - インデン - 4 - イリデン) エチリデン) - 4 - メチレンシクロヘキシル) オキシ) - 18 - オキソオクタデク - 9 - エン - 7 - イルリノレートおよび (R, Z) - 18 - (((1S, 5R, Z) - 5 - ヒドロキシ - 3 - (2 - ((1R, 3aS, 7aR, E) - 1 - ((R) - 6 - ヒドロキシ - 6 - メチルヘプタン - 2 - イル) - 7a - メチルオクタヒドロ - 4H - インデン - 4 - イリデン) エチリデン) - 2 - メチレンシクロヘキシル) オキシ) - 18 - オキソオクタデク - 9 - エン - 7 - イルリノレート (INT - D068) ;

20

【0 4 7 6】

DCC (50 mg、0.24 mmol、1.20 当量) をアルゴン下、丸底フラスコ中の (12R) - リノレオイルオキシオレイン酸 (135 mg、0.24 mmol、1.20 当量) の攪拌、氷冷 - 1 : 1 CH₂Cl₂ / THF (4 mL) 溶液に加え、氷浴を除去し、15 分間攪拌した。反応混合物を氷浴中で再び冷却し、固体カルシトリオール (83 mg、0.20 mmol) および DMAP (29 mg、0.24 mmol、1.20 当量) を添加した。反応混合物を 14 時間にわたって加温し、EtOAc で希釈し、10 分間攪拌した後、セライト(R) でろ過した。このろ液を濃縮して淡黄色油状とし、その後フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂, 95 : 5 → 90 : 10 → 70 : 30 ヘキサン / EtOAc) により精製し、1 - および 3 - アシル化結合体の ~ 1 : 1 混合物 (75 mg、39 % 収率) を無色透明油状物として得た。

30

【0 4 7 7】

R_f = 0.26 (SiO₂, 70 : 30 ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) : δ 6.43 - 6.26 (m, 2H), 6.02 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 5.92 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 5.57 - 5.26 (m, 15H), 5.26 - 5.16 (m, 1H), 5.07 - 4.97 (m, 2H), 4.88 (quint, J = 6.2 Hz, 2H), 4.47 - 4.34 (m, 1H), 4.23 - 4.10 (m, 1H), 2.89 - 2.70 (m, 6H), 2.68 - 2.52 (m, 2H), 2.47 - 2.20 (m, 15H), 2.16 - 1.77 (m, 25H), 1.77 - 1.12 (m, 118H), 1.12 - 1.01 (m, 2H), 1.00 - 0.79 (m, 19H), 0.55 (s, 3H), 0.52 (s, 3H)

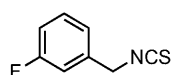
40

【0 4 7 8】

実施例 2 U : INT - D070 の合成

【0 4 7 9】

【化 9 2】



50

【 0 4 8 0 】

3 - フルオロベンジルイソチオシアナート (1 5) :

【 0 4 8 1 】

アルゴン下、丸底フラスコ中の 3 - フルオロベンジルアミン (7 5 0 m g 、 6 . 0 0 m m o l) の氷冷 T H F (1 0 m L) 溶液に、E t ₃ N (2 . 7 5 m L 、 3 . 3 0 m m o l 、 3 . 3 0 当量) を加えた。次に二硫化炭素 (0 . 4 5 m L 、 7 . 2 0 m m o l 、 1 . 2 0 当量) のテトラヒドロフラン (1 0 m L) 溶液を 3 0 分かけてシリンジポンプを介して加えた。反応混合物を室温まで加温し、3 時間後、混合物を氷浴中で再び冷却し、塩化トシル (1 . 2 6 g 、 7 . 2 0 m m o l 、 1 . 2 0 当量) を加えた。さらに 3 時間後、1 M H C l 水溶液 (1 0 m L) を添加し、反応混合物を酢酸エチル (3 × 1 0 m L) で抽出した。混合有機物は塩水で洗浄し、N a ₂ S O ₄ 上で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。粗生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー (9 8 : 2 → 9 6 : 4 ヘキサン / E t O A c) により精製して、イソチオシアネート 1 5 (8 4 6 m g 、 収率 8 4 %) を透明無色油状物で得た。

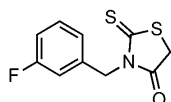
10

R_f = 0 . 4 5 (S i O ₂ , 8 0 : 2 0 ヘキサン / E t O A c) ;

¹ H N M R (3 0 0 M H z , C D C l ₃) : δ 7 . 4 2 - 7 . 3 5 (m , 1 H) , 7 . 1 3 - 7 . 0 4 (m , 3 H) , 7 . 7 4 (s , 2 H)

【 0 4 8 2 】

【 化 9 3 】



20

【 0 4 8 3 】

3 - (3 - フルオロベンジル) - 2 - チオキソチアゾリジン - 4 - オン (1 6) :

アルゴン下、丸底フラスコ中の E t ₃ N (0 . 9 0 m m o l 、 6 . 4 0 m m o l 、 2 . 0 0 当量) と水 (1 0 m L) の氷冷混合物に、チオグリコール酸 (0 . 1 7 m L 、 2 . 4 0 m m o l 、 0 . 7 5 当量) を加え、イソチオシアナート 1 5 (5 3 9 m g 、 3 . 2 0 m m o l) の T H F (5 m L) 溶液を 5 分かけて加えた。反応混合物は、色がうすいだいだい色になるまで室温まで加温した。6 M H C l 水溶液を加えて p H 2 に調整した。反応混合物を還流下で 1 4 時間加熱し、次いで室温に冷却し、E t O A c (3 × 1 0 m L) で抽出した。混合有機物を塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。粗生成物をシリカゲル (5 0 : 5 0 ヘキサン / E t O A c) を通してろ過して精製し、黄色固体のロダニン 1 6 (4 6 6 m g 、 収率 8 0 %) として得た。

30

【 0 4 8 4 】

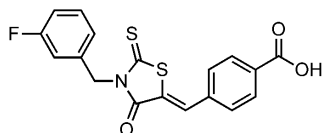
R_f = 0 . 5 2 (S i O ₂ , 7 0 : 3 0 ヘキサン / E t O A c) ;

¹ H N M R (3 0 0 M H z , C D C l ₃) : δ 7 . 7 2 (s , 1 H) , 7 . 6 5 (d , J = 7 . 7 H z , 1 H) , (d , J = 7 . 7 H z , 1 H) , 7 . 4 6 (t , J = 7 . 8 H z , 1 H) , 5 . 2 5 (s , 2 H) , 4 . 0 4 (s , 2 H)

40

【 0 4 8 5 】

【 化 9 4 】



【 0 4 8 6 】

(Z) - 4 - ((3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - オキソ - 2 - チオキソチアゾリジ

50

ン - 5 - イリデン)メチル)安息香酸 (INT - MA014) :

丸底フラスコ中のロダニン16 (221mg、0.92mmol) およびピペリジン (0.01mL、0.14mmol、0.15当量) の EtOH (4mL) 溶液に、4 - カルボキシベンズアルデヒド (151mg、1.01mmol、1.10当量) を添加し、還流時に加熱した。1.5時間後、反応混合物を減圧下で回転蒸発器上に濃縮した。その後、粗液をシリカゲル (90 : 8 : 2 CH₂Cl₂ / MeOH / HOAc) でろ過し、減圧濃縮した。高温 EtOH からの沈殿により黄色固体のロダニンカルボン酸 INT - MA014 (179mg、52%収率) を得た。

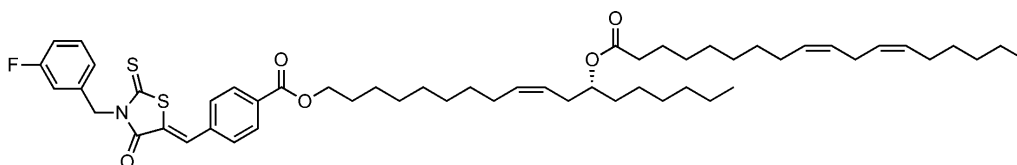
【0487】

$R_f = 0.26$ (SiO₂, 50 : 40 : 10 ヘキサン / EtOAc / MeOH) ;

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 8.08 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.91 (s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.43 - 7.36 (m, 1H), 7.20 - 7.11 (m, 3H), 5.27 (s, 2H)

【0488】

【化95】



【0489】

12R - リノレイルオキシオレイル 4 - ((Z) - (3 - (3 - フルオロベンジル) - 4 - オキソ - 2 - チオキソチアゾリジン - 5 - イリデン)メチル)ベンゾエート (INT - D070) - JZ - 25 - 169

【0490】

i - Pr₂NEt (0.37mL、2.10mmol、1.50当量)、次いでBOP試薬 (682mg、1.54mmol、1.10当量) を、アルゴン下、丸底フラスコ中のカルボン酸 INT - MA014 (523mg、1.40mmol) および12R - リノレイルオキシオレイルアルコール (843mg、1.54mmol、1.10当量) の室温DMF (3.5mL) 溶液に加えた。14時間攪拌後、反応混合物を水で希釈し、t - BuOMe (3 × 15mL) で抽出した。有機層を合わせ、水 (4 × 10mL)、塩水 (1 × 10mL) で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂, 99 : 1 → 95 : 5 ヘキサン / EtOAc) により粗残留物を精製し、黄色油状物 (1.18g、収率93%) の INT - D070 を得た。

【0491】

$R_f = 0.47$ (SiO₂, 90 : 10 ヘキサン / EtOAc) ;

¹H NMR (300MHz, CDCl₃) : δ 8.15 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.78 (s, 1H), 7.58 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.37 - 7.26 (m, 2H), 7.23 - 7.15 (m, 1H), 7.06 - 6.96 (m, 1H), 5.55 - 5.23 (m, 8H), 4.90 (quint, $J = 6.2$ Hz, 1H), 4.36 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 2.79 (t, $J = 5.9$ Hz, 2H), 2.36 - 2.22 (m, 4H), 2.15 - 1.96 (m, 6H), 1.79 (m, 2H), 1.70 - 1.14 (m, 36H), 0.98 - 0.80 (m, 6H)

【0492】

実施例2V : INT - H001の合成

【0493】

10

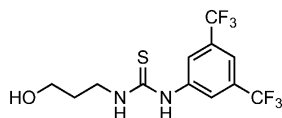
20

30

40

50

【化 9 6】



【0 4 9 4】

1 - (3 , 5 - ビス (トリフルオロメチル) フェニル) - 3 - (3 - ヒドロキシプロピル) チオ尿素 (15) : J Z - 25 - 145

3 - アミノプロパノール (0 . 33 mL、4 . 40 mmol、1 . 10 当量) を、アルゴン下、丸底フラスコ中の 3 , 5 - ビス (トリフルオロメチル) フェニルイソチオシアナート (1 . 08 g、4 . 00 mmol) および Et₃N (0 . 61 mL、4 . 40 当量、1 . 10 当量) の室温 MeCN (8 mL) 液に加えた。14 時間後、反応液を H₂O で希釈し、EtOAc (3 × 15 mL) で抽出した。混合有機層を H₂O (1 × 15 mL)、塩水で洗浄し、を Na₂SO₄ 上で乾燥させ、減圧下、回転蒸発器で濃縮した。粗製半固体をシリカゲル (75 : 25 EtOAc / ヘキサン) のプラグを通してろ過し、濾液を減圧下で濃縮し、次いで t - BuOMe / ヘキサンから再結晶して、チオ尿素 15 (1 . 18 g、収率 85 %) を白色固体として得た。

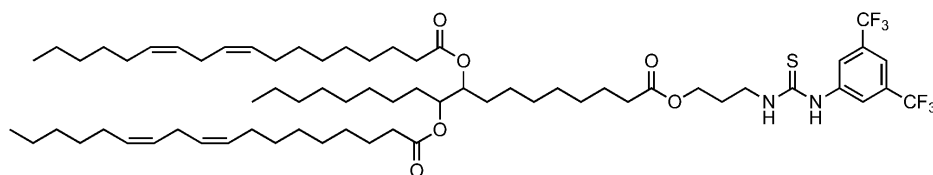
【0 4 9 5】

¹H NMR (300 MHz , DMSO - d₆) : δ 10 . 1 (br s , 1 H) , 8 . 26 (br s , 3 H) , 7 . 72 (br s , 1 H) , 4 . 59 (br s , 1 H) , 3 . 66 - 3 . 39 (m , 4 H) , 1 . 72 (quint , J = 6 . 4 Hz , 2 H) ;

¹³C NMR (75 . 5 MHz , DMSO - d₆) : δ 180 . 4 , 142 . 0 , 130 . 1 (q , J = 34 Hz) , 123 . 3 (q , J = 273 Hz) , 121 . 7 (br) , 115 . 9 (br) , 58 . 7 , 41 . 6 , 31 . 3 .

【0 4 9 6】

【化 9 7】



【0 4 9 7】

1 - (3 , 5 - ビス (トリフルオロメチル) フェニル) - 3 - (3 - ヒドロキシプロピル) チオ尿素 (INT - H001) :

【0 4 9 8】

アルゴン下、丸底フラスコ中のカルボン酸 12b (252 mg、0 . 30 mmol、1 . 10 当量) の攪拌、氷冷した CH₂Cl₂ (3 mL) 溶液に、DCC (68 mg、0 . 33 mmol、1 . 10 当量) を加え、氷浴を除去し、15 分間攪拌した。反応混合物を氷浴中で再び冷却し、チオ尿素 15 (114 mg、0 . 33 mmol) および DMAP (44 mg、0 . 36 mmol、1 . 20 当量) を添加した。反応混合物を 14 時間にわたって加温し、t - BuOMe で希釈し、10 分間攪拌した後、セライト(R)でろ過した。ろ液を濃縮して微黄色油状とし、フラッシュカラムクロマトグラフィー (SiO₂、80 : 18 : 2 ヘキサン / EtOAc / MeOH) により精製し、無色透明油状物として INT - H001 (222 mg、収率 63 %) を得た。

【0 4 9 9】

R_f = 0 . 35 (SiO₂ , 80 : 18 : 2 ヘキサン / EtOAc / MeOH) ;

¹H NMR (300 MHz , CDCl₃) : δ 8 . 06 (br s , 1 H) , 7 . 88 (s , 2 H) , 7 . 72 (s , 1 H) , 6 . 90 (br t , 1 H) , 5 . 49 - 5 . 24 (m

, 8 H), 5.10 - 4.90 (m, 2 H), 4.20 (t, J = 5.6 Hz, 2 H), 3.79 - 3.64 (m, 2 H), 2.79 (t, J = 5.9 Hz, 4 H), 2.29 (m, 6 H), 2.14 - 1.93 (m, 10 H), 1.70 - 1.45 (m, 10 H), 1.45 - 1.16 (m, 48 H), 0.96 - 0.83 (m, 9 H)

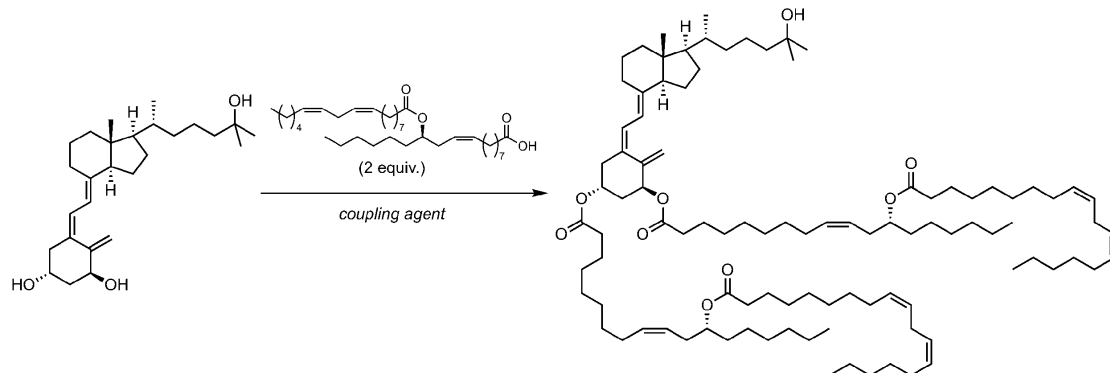
【0500】

実施例 2 W：二置換カルシトリオール、INT-D087 の合成

2つの脂質部分で二置換したカルシトリオール脂質結合体を調製するための合成スキームの例を以下に示す：

【0501】

【化98】



【0502】

INT-D087

実施例 3：脂質ナノ粒子 (LNP) 中のプロドラッグの処方

プロドラッグの脂質様特性は、単に脂質製剤成分と混合することによって、LNP系においてそれらを容易にローディングすることを可能にする。すなわち、いくつかの実施形態において、ローディングは、既知の製剤化プロセスをさらに改変することなく、達成することができる。その結果、これらの薬物-脂質結合体を組み込んだLNPを、押出、エタノール注入およびインライン混合を含むが、これらに限定されない、広く記載された製剤方法論を用いて作成することができる。

【0503】

LNPは、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC)または1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DMPC)、コレステロールおよび1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-ポリ(エチレングリコール)(PEG-DSPPE)をエタノールに溶解して調製した。DSPC、DMPCおよびPEG-DSPPEはAvanti Polar Lipids (Alabaster, AL)から購入し、コレステロールはSigma (St Louis, MO)から入手した。

【0504】

薬物-脂質結合体INT-D034、INT-D035、INT-D045、INT-D046、INT-D047、INT-D048、INT-D049、INT-D050、INT-D051、INT-D053、INT-D060、INT-D061、INT-D062、INT-D063、INT-D083、INT-D085、INT-D086、INT-D088およびINT-D089(構造については図3および実施例7を参照)をイソプロパノールまたはTHFに溶解した。DSPCまたはDMPC、コレステロール、薬物-脂質結合体、およびPEG-DSPPE(モル比49/40/10/1)を、断面ジャンクション混合機を用いてリン酸緩衝生理食塩水(PBS)と迅速に混合することによりLNPを調製した。製剤をPBSに対して透析し、残留エタノールを除去した。10mol%を超えて薬物-脂質結合体を有する製剤では、それに応じてリン脂質又はコレステロールの量が減少した。

10

20

30

40

50

【 0 5 0 5 】

上記のように調製した L N P の物理化学的性質を、続いて特性評価した。リン酸緩衝生理食塩水に緩衝液交換した後、Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern、英国)を用いて動的光散乱により粒子サイズを測定した。数重み付けしたサイズおよび分布データを用いた。脂質濃度は、米国和光化学社(VA州リッチモンド)のコレステロールE酵素測定キットを用いて総コレステロールを測定することにより測定した。LD-DEXを含有するLNP製剤の形態を低温透過型電子顕微鏡(cryoTEM)で解析した。

【 0 5 0 6 】

以下の表4は、本明細書に記載されるプロドラッグが、高カプセル化効率および低多分散性でLNP中に処方され得ることを示しており、これらは両方とも、薬物送達媒体にとって望ましい物理化学的特性である。

10

【 0 5 0 7 】

表4. 10mol%リシノレイル-デキサメタゾン結合体を含むLNPの物理化学的パラメータ

【 0 5 0 8 】

【表4-1】

化合物 ID	一次 PC-脂質	粒子径(nm)	多分散性指数 (PDI)	カプセル化 効率(%)
INT-D034	DSPC	50	0.047	92
INT-D035	DSPC	45	0.066	94
INT-D045	DSPC	45	0.077	90
INT-D046	DSPC	46	0.055	93
INT-D047	DSPC	58	0.054	93
INT-D048	DSPC	50	0.056	88
INT-D049	DSPC	53	0.036	100
INT-D050	DSPC	53	0.033	100
INT-D051	DSPC	54	0.052	100

20

30

【 0 5 0 9 】

40

50

【表 4 - 2】

化合物 ID	一次 P C - 脂質	粒子径 (nm)	多分散性指数 (PDI)	カプセル化 効率 (%)
INT-D034	DSPC	70	0.08	99
INT-D035	DSPC	64	0.11	99
INT-D045	DSPC	64	0.03	100
INT-D046	DSPC	64	0.08	100
INT-D047	DSPC	70	0.06	100
INT-D048	DSPC	62	0.05	98
INT-D049	DSPC	65	0.11	100
INT-D050	DSPC	60	0.05	90
INT-D051	DSPC	61	0.04	100

10

20

【 0 5 1 0 】

【表 4 - 3】

化合物 ID	一次 P C - 脂質	粒子径 (nm)	多分散性指数 (PDI)	カプセル化 効率 (%)
INT-D034	DMPC	72	0.02	100
INT-D035	DMPC	67	0.03	100
INT-D045	DMPC	68	0.03	99
INT-D046	DMPC	69	0.04	93
INT-D047	DMPC	68	0.02	100
INT-D048	DMPC	64	0.03	100
INT-D049	DMPC	68	0.05	94
INT-D050	DMPC	61	0.04	97
INT-D051	DMPC	65	0.03	84

30

40

【 0 5 1 1 】

実施例 4：新規高分子構造の単分散 L N P を形成するプロドラッグ

ヘキサノイル基を有するプロドラッグ、INT-D034、(図3A)を、実施例3に設定した迅速混合技術を用いて0～99mol%プロドラッグ濃度で中性リン脂質およびコレステロールと混合し、単分散LNP製剤を製造した(図4)。INT-D034製剤はいずれも高いカプセル化効率を示し、粒子径は約29～87nm、多分散性指数(PDI)は0.1以下であった(下記表5)。LNP製剤の電子顕微鏡写真は、INT-D034の量が増えるにつれて、膜直下に球状の電子密度の高い領域が拡大することを示しており、プロドラッグINT-D034がLNP脂質二重層中に疎水性油相として存在する

50

ことを示唆している（図４）。

【 0 5 1 2 】

表 5：様々な量のプロドラッグを含む L N P の粒子サイズと多分散性指数

【 0 5 1 3 】

【表 5 - 1】

プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
0	D034	42	0.061
10		48	0.064
20		45	0.068
30		43	0.082
40		41	0.100
50		32	0.085
60		48	0.022
80		87	0.025
95		29	0.082
98		52	0.014
99		86	0.011
プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
10	D045	46	0.076
20		48	0.073
80		69	0.033
90		74	0.054
99		75	0.045

【 0 5 1 4 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
50	D049	44	0.05
60		61	0.02
80		92	0.03
98		69	0.05
99		103	0.03
プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
80	D050	101	0.01
98		61	0.02
99		105	0.01
プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
80	D051	87	0.02
98		56	0.04
99		93	0.01
プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
10	D053	54	0.081
20		56	0.052
80		106	0.019
99		98	0.018
プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
10	D060	46	0.06
20		42	0.116
60		71	0.216
80		67	0.042
99		98	0.034

【 0 5 1 5 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
10	D061	44	0.061
20		39	0.065
60		72	0.186
80		82	0.089
99		123	0.045
プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
10	D062	42	0.085
20		39	0.072
60		70	0.212
80		68	0.021
99		93	0.019
プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
10	D063	41	0.069
20		41	0.056
60		57	0.149
80		91	0.031
99		119	0.028
プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
10	D083	56	0.06
20		51	0.067
99		133	0.026

【 0 5 1 6 】

10

20

30

40

50

【表 5 - 4】

プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
10	D085	42	0.064
20		39	0.075
60		56	0.059
80		124	0.034
99		135	0.006
プロドラッグ濃度(%)	プロドラッグ	サイズ(nm)	PdI
10	D086	38	0.082
20		35	0.117
60		82	0.036
80		165	0.028
99		160	0.026

10

20

【0517】

この新しい超構造が他のリシノレイルベースの結合体と一致するかどうかを決定するために、INT-D035（図3BのようにINT-D034中のヘキサノイル基の代わりにオレオイル基に由来するR炭化水素を有する）を、等量のプロドラッグ（10mol%）で実施例3に記載されているようにLNP中に組み込んだ。INT-D034製剤と同様に、INT-D035製剤も膜直下に球状の電子密度の高い領域を示すことが観察された（図5）。これらの結果は、リシノレイル系結合体がLNP脂質二重層中の疎水性油相として存在する適切な特性を有することを示す。

30

【0518】

INT-D045、INT-D049、INT-D050、INT-D051、INT-D053、INT-D060、INT-D061、INT-D062、INT-D063、INT-D083、INT-D085およびINT-D086を含む、種々R基を含むその他のプロドラッグは、LNP中に99mol%まで効率的に取り込むことができる（表5）。

【0519】

実施例5：S基の疎水性（LogP）の関数としてのLNPからのプロドラッグの解離

LNPからのリシノレイル-デキサメタゾン結合体の放出を、脂質交換が起こる脂質シンクとしてリボ蛋白質を含むヒト血漿を用いるアッセイを用いて調べた。血漿は、リシノレイル-デキサメタゾン結合体を消化する可能性がある活性エステラーゼを欠いており、これにより、インタクトな結合体の検出およびモニタリングを妨げるであろう。

40

【0520】

10~99mol%のINT-D034、INT-D035、INT-D045、INT-D046、INT-D047、INT-D048、INT-D049、INT-D050、INT-D051、INT-D053、INT-D083、INT-D085、INT-D086又はINT-D089（構造は図3および実施例7を参照）を含むLNP製剤を、1.2mMの総脂質で37、0、2又は24時間、ヒト血漿中にインキュベートした。サイズ排除クロマトグラフィーを行い、LNPをリボ蛋白質（1.5×27cm

50

のセファロースCL-4Bサイズ排除カラム)から分離した。2 mLの30分画を採取し、3倍容量のイソプロパノール/メタノール(1:1 v/v)を各分画に加えた。

【0521】

薬物-脂質結合体は、フォトダイオードアレイ検出器(PDA)を搭載したWaters(R)AcquityTMUPLCシステムを用いて超高压液体クロマトグラフィー(UPLC)により定量した; EmpowerTMデータ取得ソフトウェアバージョン2.0を用いた(Waters, USA)。分離は、Waters(R)AcquityTMBEH C18カラム(1.7 μm、2.1×100 mm)を用いて、流量0.5 mL/minで行い、リニアグラジエントは80/20(%A/B)から0/100(%A/B)までとした。移動相Aは水、移動相Bはメタノール/アセトニトリル(1:1, v/v)から成る。本法はカラム温度55℃で6分間かけて実施し、分析対象物は波長239 nmでPDA検出器を監視して測定した。

10

【0522】

UPLCで定量した、それぞれの分画においてLNPと結合したままであった、それぞれのインタクトリシノレイル-デキサメタゾン結合体の量を図6に示す。種々のlog P値を有するリシノレイル-デキサメタゾン結合体は、異なるレベルの解離を示した(図6)。より高い予測log P値(すなわち、より疎水性)を有する結合体では、LNPからの解離が、より低い予測log P値を有するものよりも少なかった。例えば、INT-D086(log P 21.2)の90%以上がLNPにとどまっていたのに対し、INT-D047(log P 8.33)では~40%であった(以下の図6Aと表6)。これらの結果は、ここに記載した足場に基づくプロドラッグの設計が、LNPからの薬物放出を制御する、信頼できる方法であることを示している。LNPが体内を長期間循環して疾病部位(遠位腫瘍など)に到達するのに必要な状況では、薬物がLNPと結合したままであり、早期の薬物漏出を示さないことが望ましく、早期薬物漏出は、低治療活性と直接関連する可能性がある。

20

【0523】

表6: プロドラッグを含むLNP製剤の生物物理学的パラメータ

【0524】

30

40

50

【表 6】

プロドラッグ ID	LNP のサイズ	PdI	% 捕捉	LogP(予測値)
INT-D034	70	0.08	99	10.37
INT-D035	64	0.11	99	15.34
INT-D045	64	0.03	100	14.98
INT-D046	64	0.08	100	13.04
INT-D047	70	0.06	100	8.33
INT-D048	62	0.05	98	10.13
INT-D049	65	0.11	100	14.62
INT-D050	60	0.05	90	15.7
INT-D051	61	0.04	100	15.14
INT-D085	42	0.06	100	11.98
INT-D086	38	0.08	92	21.2
INT-D089	41	0.07	100	14.83

【0525】

実施例 6：生体内分解性があり、*in vitro*で活性があるプロドラッグ

治療活性を提供するために、活性薬物は最終的に結合体から放出されなければならない。例示されたリシノレイルベースの結合体は、活性薬物とリシノレイル足場との間に生分解性、エステラーゼ感受性リンカーを含む。リンカーを切断できる活性エステラーゼを含むため、マウス血漿を用いて、リシノレイルベースの結合体の生分解性を調べた。

【0526】

INT-D034、INT-D035、INT-D045、INT-D046、INT-D047、INT-D048、INT-D049、INT-D050、INT-D051、INT-D053、INT-D083、INT-D085、INT-D086又はINT-D089を含有するLNP製剤をマウス血漿と0又は2時間インキュベートした後、上述のようにUPLCを用いてインタクトな結合体と放出したデキサメタゾン又はカルシトリオールを定量した(図7A、図7Bおよび図7C)。様々なレベルのインタクトリシノレイル-薬物結合体が検出され、血漿エステラーゼによる分解の差次的レベルを示した(図7A)。

【0527】

特に、マウス血漿中に検出された様々な量の遊離デキサメタゾンは、図7Bのプロドラッグが示す分解レベルに対応していた。

【0528】

デキサメタゾンは、望ましくない免疫応答を抑制することが知られている。次に、リポ多糖類(LPS)によって媒介される免疫刺激の細胞モデルにおけるリシノレイルベース

の結合体の活性を実証する。

【0529】

培養マクロファージ細胞株 J 7 7 4 . 2 (図 8) および R a w 2 6 4 . 7 (図 9 A) を、リシノレイル - デキサメタゾン結合体 I N T - D 0 3 4 / I N T - D 0 3 5 とともに、またはこれらを用いずに、免疫刺激 L P S および L N P と共にインキュベートした。24 時間後、細胞を回収し、炎症誘発性サイトカイン I L 1 β 、T N F α および I L - 6 の発現について分析した。細胞から R N A を単離し、炎症誘発性サイトカイン I L 1 β 、T N F α および I L 6 のレベルを q R T - P C R 法により測定した。

【0530】

対照製剤 (すなわち、リシノレイル - デキサメタゾン結合体を含まない) をインキュベートした細胞は、炎症反応を示唆する 3 種類のサイトカインすべてのレベルの上昇を示した。対照的に、I N T - D 0 3 4 または I N T - D 0 3 5 のいずれかを含有する L N P 製剤で処理した細胞は、用量依存的に炎症誘発性サイトカインのレベルの低下を示した。R a w 2 6 4 . 7 の I N T - D 0 4 5、I N T - D 0 4 6、I N T - D 0 4 7、I N T - D 0 4 8 および I N T - D 0 4 9 についても同様の I L 1 β 濃度の低下が認められた (図 9 B)。これらの結果は、リシノレイル - デキサメタゾン結合体が細胞内で処理されて活性薬物 (デキサメタゾン) を放出して望ましくない免疫応答を抑制できることを示唆する。

【0531】

デキサメタゾンとカルシトリオールは、抗原提示細胞 (A P C) を寛容化できる。リシノレイル系デキサメタゾンとカルシトリオール結合体の活性を、免疫寛容の評価のための混合リンパ球反応 (M L R) アッセイで次に実証する。C 5 7 B 1 / 6 雄マウス (C h a r l e s R i v e r) 由来の骨髄由来樹状細胞 (B M D C) を、まず種々の m o l % のデキサメタゾンまたはカルシトリオール結合体を含む L N P で 48 時間処理した後、L P S と 24 時間インキュベートすることにより活性化した。次いで、それらを採取し、B a l b / c J 雄性マウス (J a c k s o n L a b o r a t o r i e s) から単離した C D 4 + T 細胞と 5 : 1 または 10 : 1 の T - B M D C 比で混合した。3 日後の T 細胞増殖のレベルは、フローサイトメトリーを用いて定量した。図 10 に示すように、10 ~ 99 m o l % のデキサメタゾン結合体 (I N T - D 0 3 4 または I N T - D 0 4 5) またはカルシトリオール結合体 (I N T - D 0 5 3 または I N T - D 0 8 3) を含む L N P は、同種 T 細胞増殖を抑制することができ、これらのリシノレイルベースの結合体を細胞内で処理してデキサメタゾンまたはカルシトリオールを放出させて B M D C を寛容化できることが示された。

【0532】

このように、本明細書に記載されるプロドラッグは、制御された薬物放出を可能にするために L N P に大量に効率的にローディングすることができるだけでなく、免疫刺激の i n v i t r o モデルおよび免疫寛容の e x v i v o モデルにおいても示されるように、活性である。

【0533】

実施例 7 : 追加のプロドラッグ例

様々なクラスの薬物が、本明細書に記載されるプロドラッグとして使用され得る。そのような化合物の選択例を以下に示し、例にはアセチルサリチル酸、M C C 9 5 0、I N T - M A 0 1 4、カルシトリオール、ルキソリチニブ、トファシチニブ、シロリムス、ドセタキセル、ミコフェノール酸、カンナビジオールおよびテトラヒドロカンナビノールが含まれる。そのような化合物の例示的なプロドラッグもまた以下に示す：

【0534】

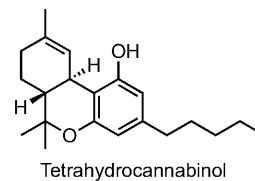
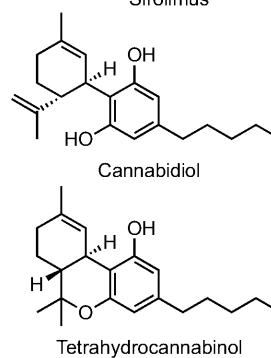
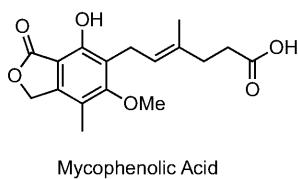
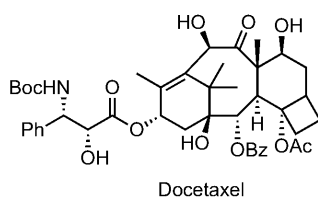
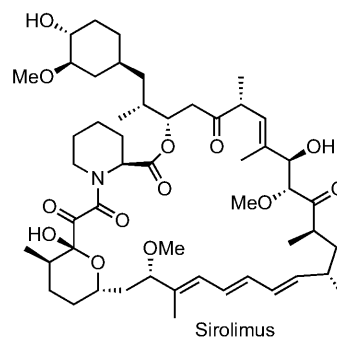
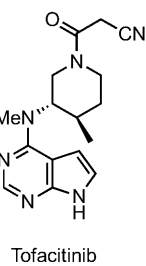
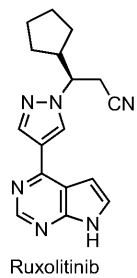
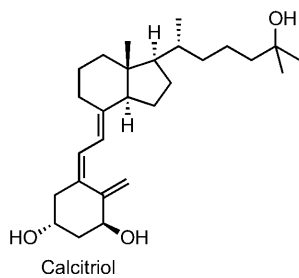
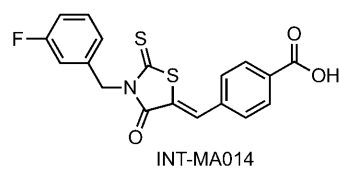
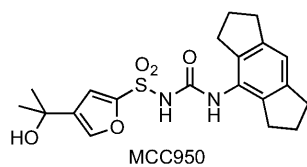
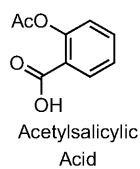
10

20

30

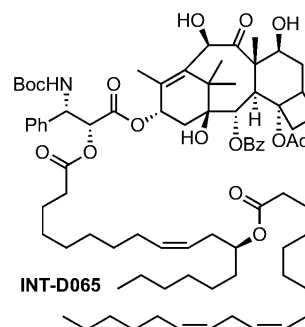
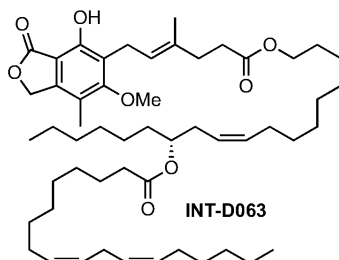
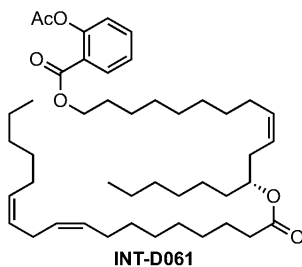
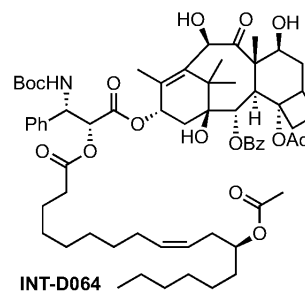
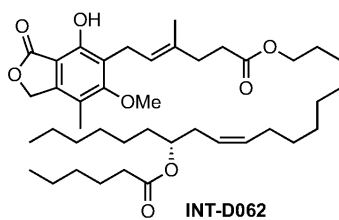
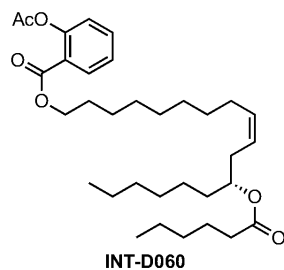
40

【化 9 9】



【 0 5 3 5】

【化 1 0 0】



【 0 5 3 6】

10

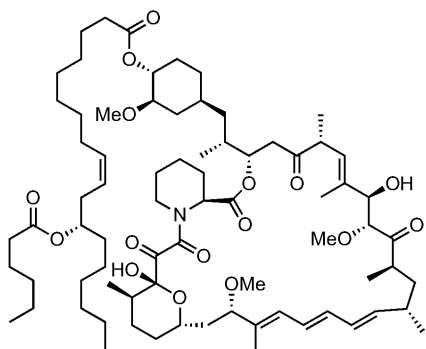
20

30

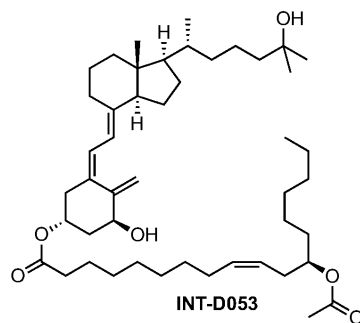
40

50

【化 1 0 1】

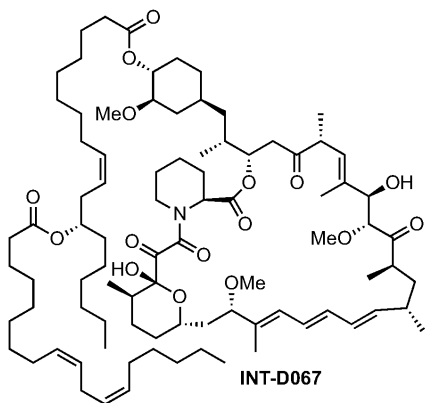


INT-D066

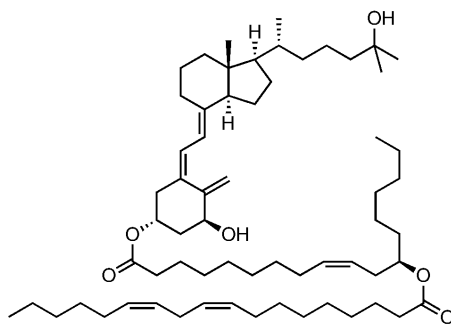


INT-D053

10



INT-D067



INT-D068

20

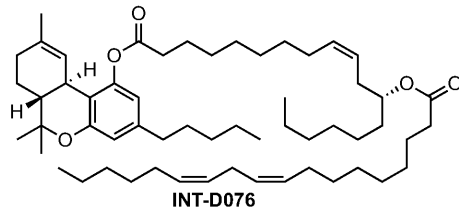
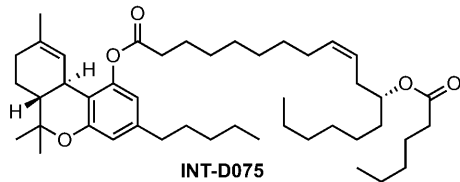
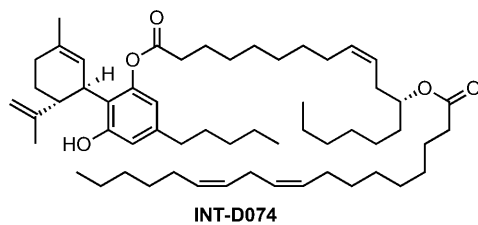
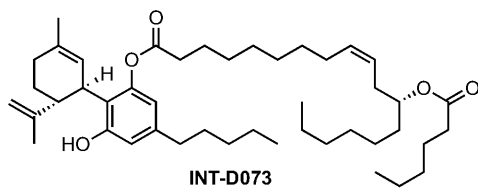
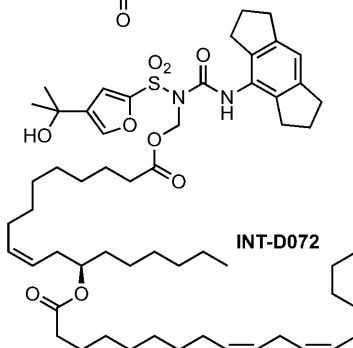
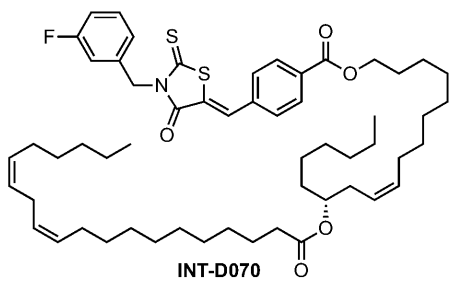
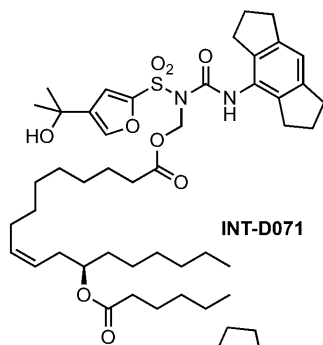
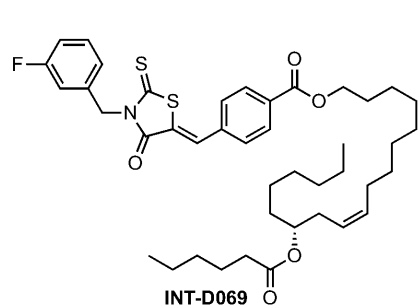
【 0 5 3 7 】

30

40

50

【化 1 0 2】



【 0 5 3 8 】

10

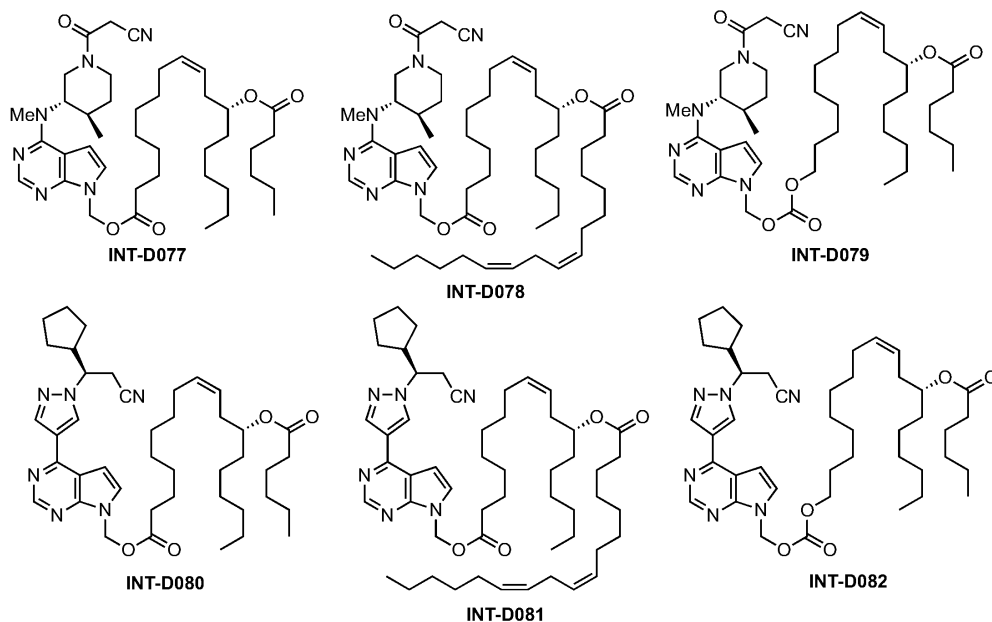
20

30

40

50

【化 1 0 3】

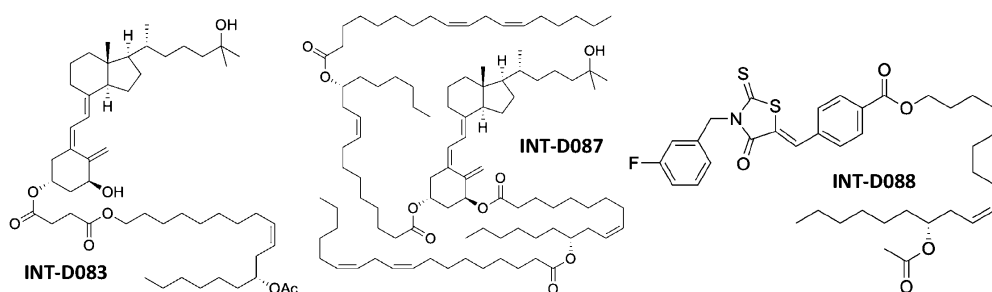


10

【 0 5 3 9】

20

【化 1 0 4】



30

【 0 5 4 0】

これらのプロドラッグは、下記の反応スキームに示されるようにエステルまたはカーボネート×1リンカー基を用いて合成され得る。エステル×1リンカー基を有するルキシリチニブプロドラッグの生分解のメカニズムも以下に示す。第一段階では、エステラーゼがプロドラッグ上のエステル基を切断する。これに続いて生じたヘミアミナルが自発的に分解され、遊離薬物が遊離する。

【 0 5 4 1】

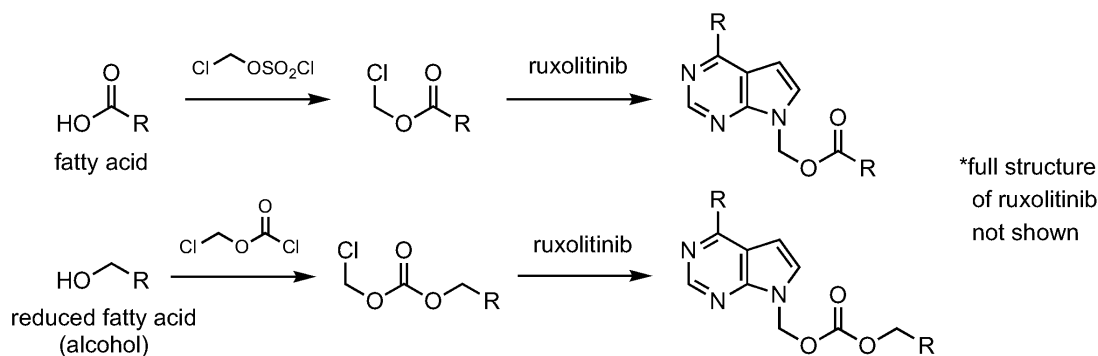
エステルまたはカーボネートを用いたルキシリチニブプロドラッグ合成の例

【 0 5 4 2】

40

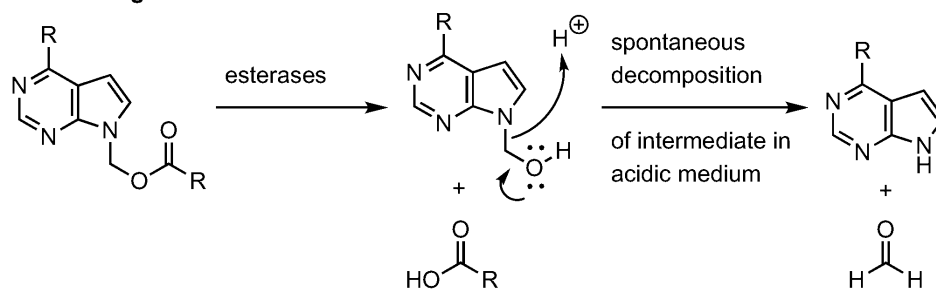
50

【化 1 0 5】



10

Mechanism of biodegradation:



20

【 0 5 4 3】

実施例 8 - 同じ L N P 内に複数のプロドラッグを処方できる

上述の通り、プロドラッグの脂質様特性は、単に脂質製剤成分と混合することで L N P 系へのローディングを容易にすることを可能にする。これらのプロドラッグが脂質様特性を有するため、同じ L N P 系において、異なるそれぞれの親薬物由来の 1 つ以上のプロドラッグをローディングできることが確かめられた。表 7 は、2 つの異なるプロドラッグを等モル比率（すなわち、各々 1 0 モル %）で混合して製造された L N P 製剤を示す。特に、デキサメタゾンとカルシトリオールのプロドラッグを非常に高いレベル（1 0 0 % に近い）で一緒に封入して、P D I < 0 . 1 の直径 4 4 ~ 5 0 n m の単分散ナノ粒子製剤を製造できることが実証された。図 1 1 の電子顕微鏡写真は、これらの配合製剤が、図 4 および 5 に見られるように、単一のプロドラッグを含む製剤で観察されたものと同様に、膜直下で球状の電子密度の高い領域を示すことを示している。これらの形態学的データは制限することなく、異なる親薬物のプロドラッグが L N P 脂質二重層中の疎水性油相として共存する可能性を示唆する。さらに、デキサメタゾンとカルシトリオール結合体のさまざまな比率（各 1 ~ 1 0 m o l % の範囲）を高い封入効率で一緒に配合して、直径約 5 0 ~ 6 0 n m の単分散ナノ粒子を形成できることが確かめられた（表 8）。

30

【 0 5 4 4】

1 0 m o l % のカルシトリオール結合体（I N T - D 0 5 3、I N T - D 0 6 8 または I N T - D 0 8 3）を含むまたは含まない 1 0 m o l % のデキサメタゾン結合体（I N T - D 0 4 5）を含む L N P 製剤を、ヒト血漿またはマウス血漿中で 3 7 °C で 0、2 または 2 4 時間インキュベートし、実施例 5 に記載されているような脂質結合体の解離および生分解を測定した（図 1 2 および図 1 3）。配合剤（すなわち、複数の脂質 - 薬物結合体を含む製剤）は、1 つの脂質 - 薬物結合体のみを含む製剤と比較して、同程度の脂質解離または生分解を示した。これらのデータは、ある種の脂質 - 薬物結合体が、同じ脂質ナノ粒子中の別の脂質 - 薬物結合体とカプセル化された場合に機能したままであり得ることを示す。

40

【 0 5 4 5】

50

表 7 プロドラッグの組合せを含む L N P の粒子サイズと多分散性指数

【 0 5 4 6 】

【 表 7 】

化合物#1	化合物#2	粒子径 (nm)	多分散性 指数 (PDI)	化合物#1 カプセル化 効率 (%)	化合物#2 カプセル化 効率 (%)
INT-D034	INT-D053	50	0.058	98	97
INT-D034	INT-D083	50	0.044	98	96
INT-D045	INT-D053	48	0.059	100	100
INT-D045	INT-D068	44	0.065	98	94
INT-D045	INT-D083	49	0.043	100	100

【 0 5 4 7 】

表 8 異なるモル比のプロドラッグの組み合わせを含む L N P の粒子サイズと多分散性指数

【 0 5 4 8 】

10

20

30

40

50

【表 8】

化合物#1	化合物#2	モル比 (#1:#2)	粒子径 (nm)	多分散性 指数 (PDI)	化合物#1 カプセル化 効率(%)	化合物#2 カプセル化 効率(%)
INT-D045	INT-D053	10:10	51	0.051	100	100
		3:10	53	0.058	100	97
		1:10	51	0.065	93	97
		10:3	49	0.049	100	98
		10:1	48	0.037	99	94
		3:3	52	0.069	94	98
		1:1	56	0.047	100	97
INT-D045	INT-D068	10:10	47	0.055	99	98
		3:10	45	0.059	94	95
		1:10	44	0.054	95	98
		10:3	48	0.054	99	96
		10:1	47	0.055	99	74
		3:3	46	0.107	95	86
		1:1	51	0.035	95	86
INT-D045	INT-D083	10:10	53	0.034	98	98
		3:10	55	0.046	85	97
		1:10	55	0.050	100	98
		10:3	51	0.044	97	91
		10:1	48	0.055	96	97
		3:3	54	0.049	97	83
		1:1	59	0.033	100	76

【0549】

上記の例は、例示的なものに過ぎない。すなわち、本明細書に記載される本発明の特定の態様の範囲から逸脱することなく、様々な変更を行うことができる。

10

20

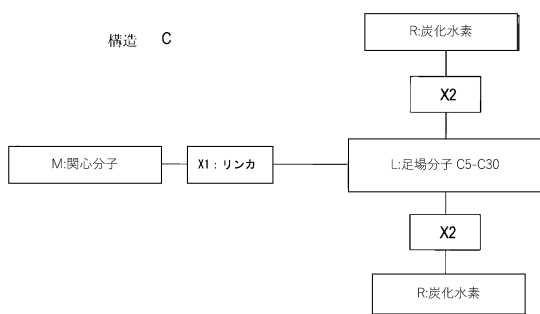
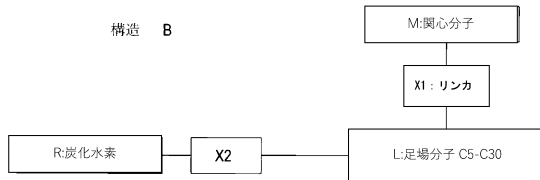
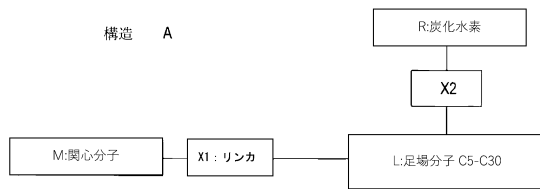
30

40

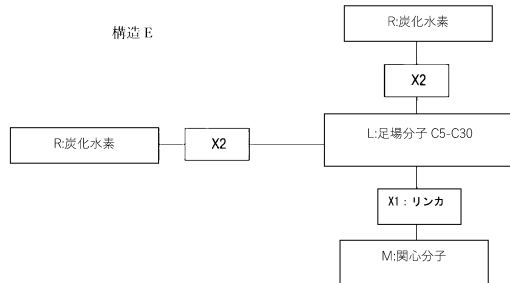
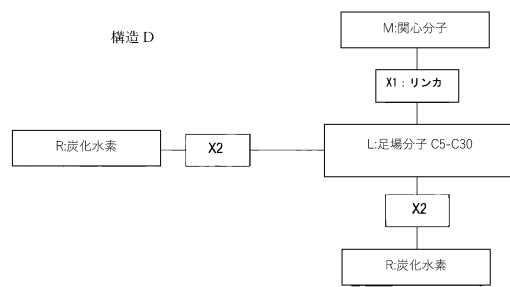
50

【図面】

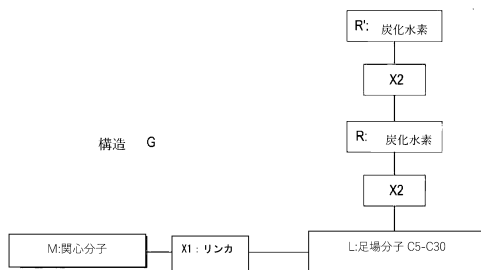
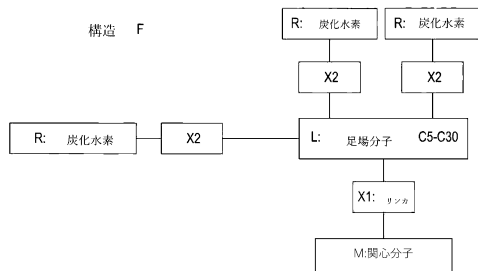
【図 1 A】



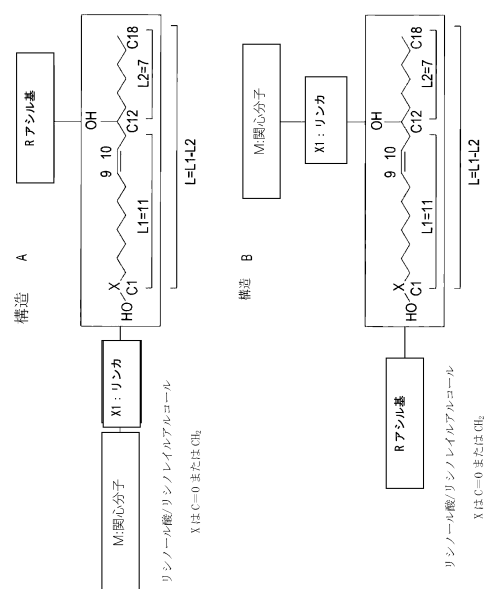
【図 1 B】



【図 1 C】



【図 2 A】



10

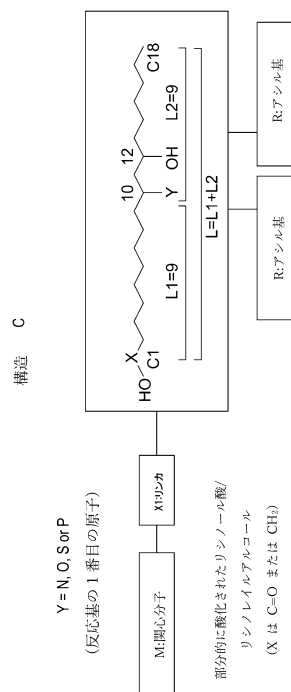
20

30

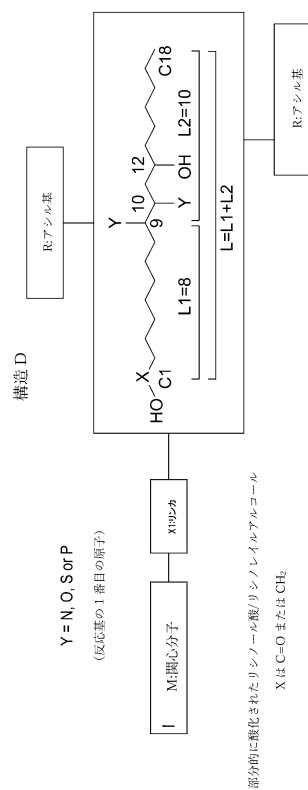
40

50

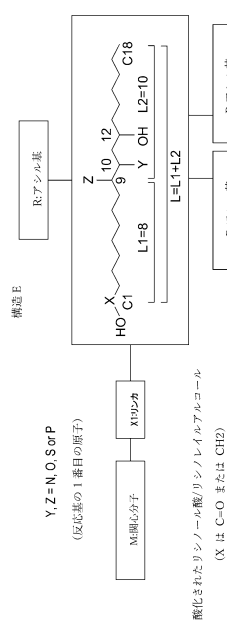
【 図 2 B 】



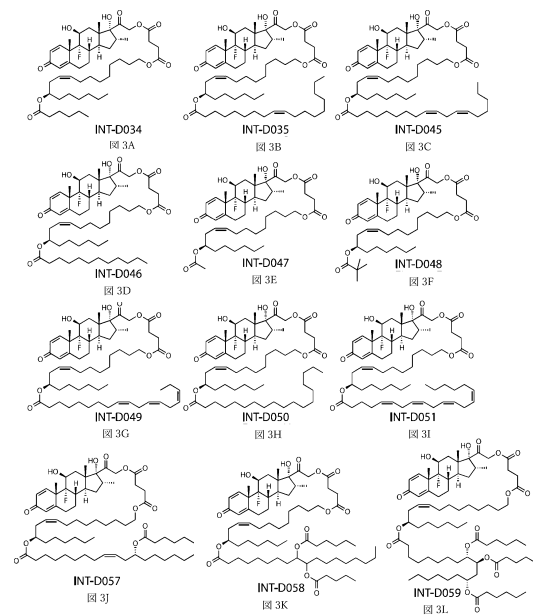
【 図 2 C 】



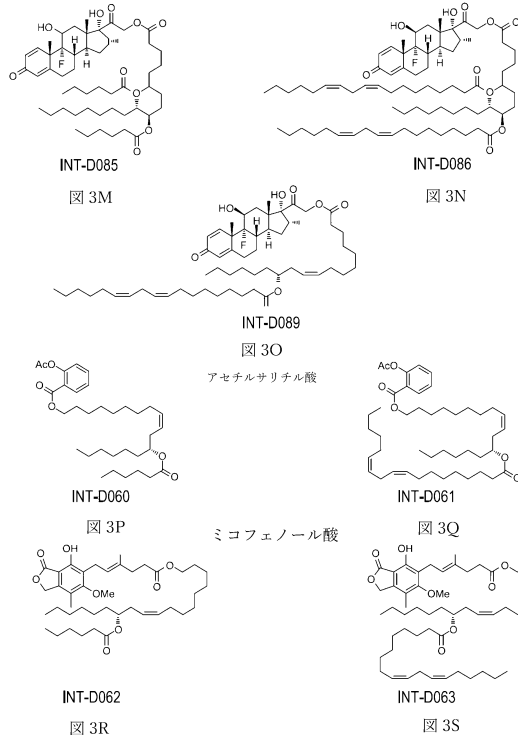
【 図 2 D 】



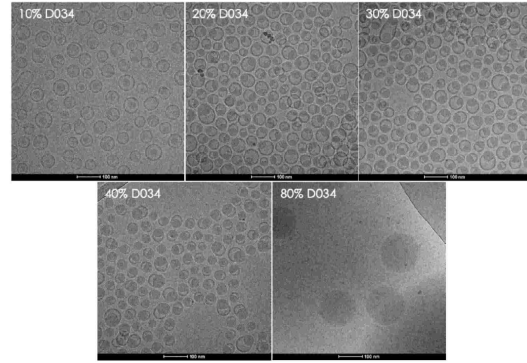
【 図 3 A 】



【図 3 B】



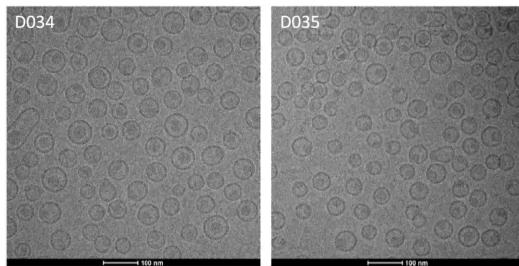
【図 4】



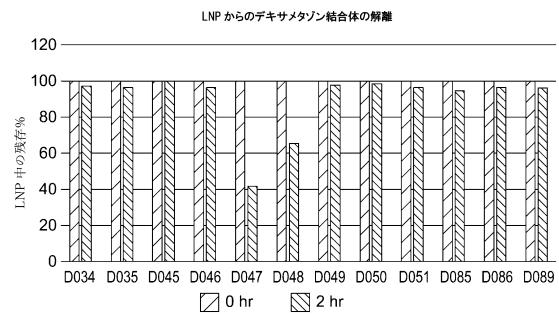
10

20

【図 5】



【図 6 A】

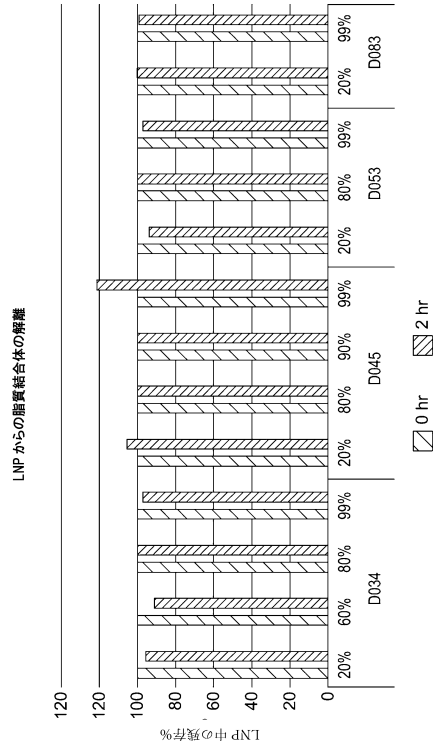


30

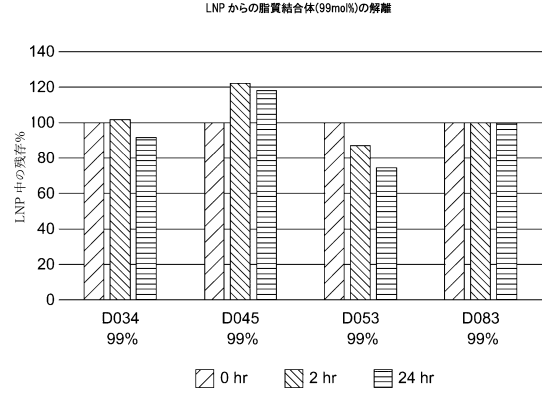
40

50

【図 6 B】



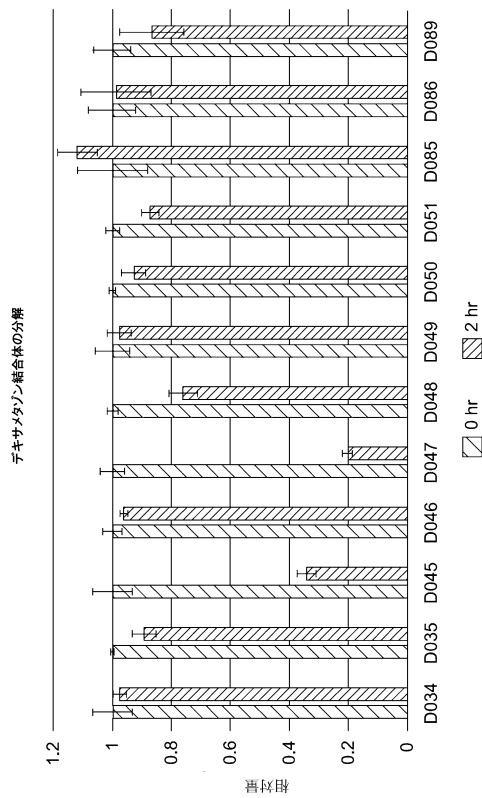
【図 6 C】



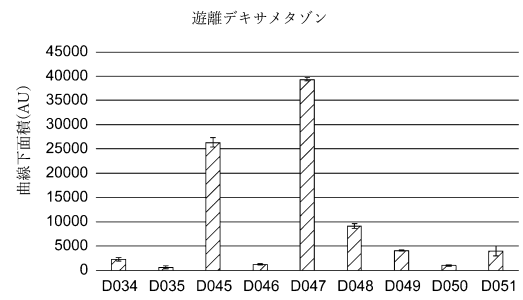
10

20

【図 7 A】



【図 7 B】

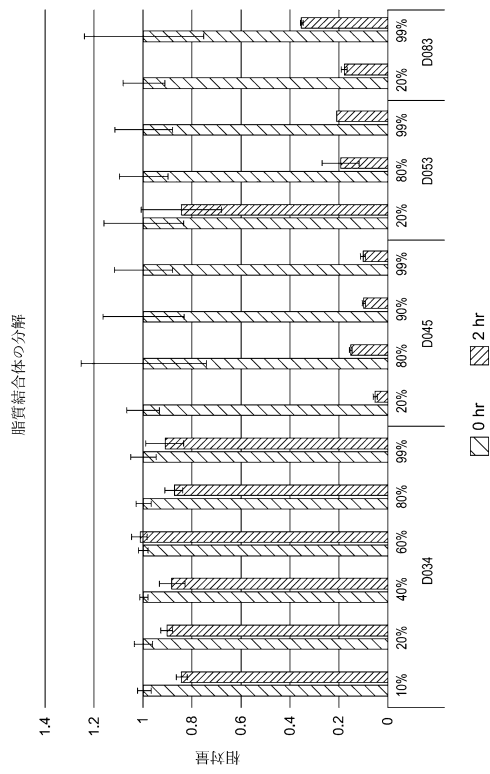


30

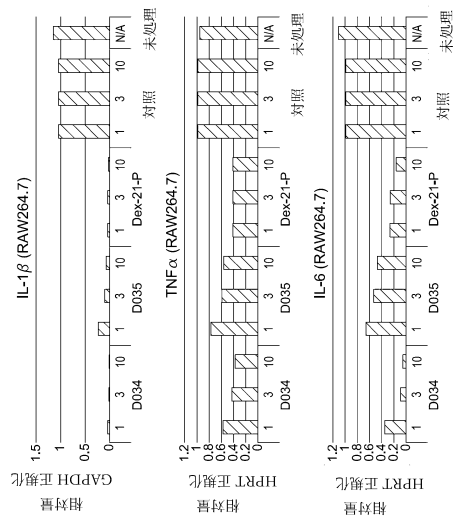
40

50

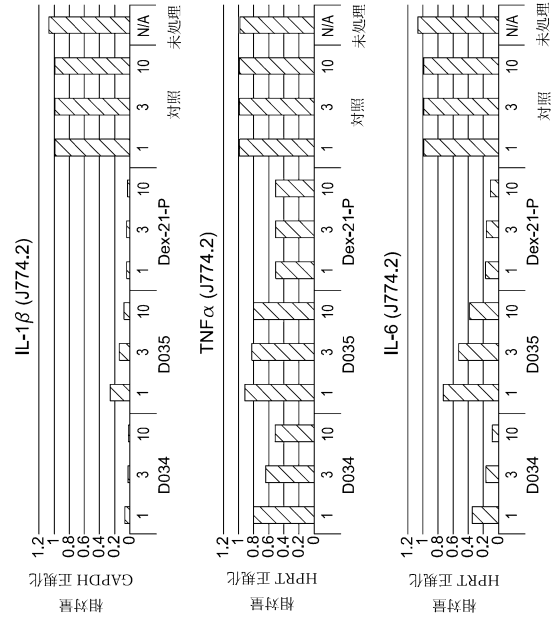
【図 7 C】



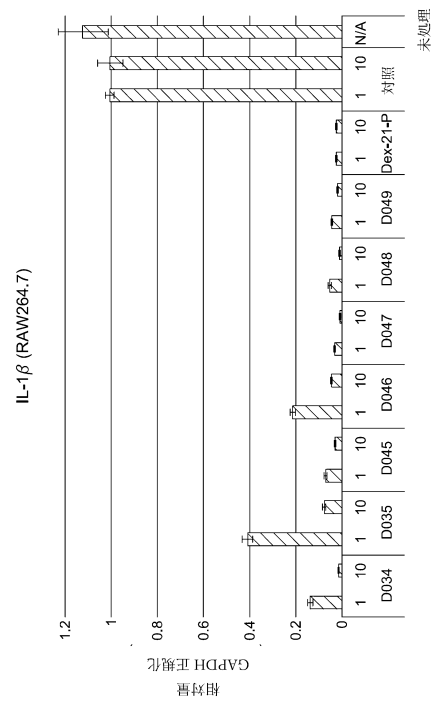
【図 9 A】



【図 8】



【図 9 B】



フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 K	8/55 (2006.01)	A 6 1 K	8/55	
A 2 3 L	33/10 (2016.01)	A 2 3 L	33/10	

カナダ国 V 6 T 1 Z 3 プリティッシュ コロンビア、バンクーバー、アグロノミー ロード 1
0 3 - 6 1 9 0、ユニバーシティ - インダストリー リエゾン オフィス

(74)代理人 110002745

弁理士法人河崎特許事務所

(72)発明者 チェン, サム

カナダ国, プリティッシュコロンビア州 ヴィ5ジー 4エックス4, バーナビー, ウェイバー
ン ドライブ 4 4 7 5, スイート 2 0 5, インテグレイテッド ナノセラピューティクス イン
コーポレイテッド内

(72)発明者 タム, ユエン イー

カナダ国, プリティッシュコロンビア州 ヴィ5ジー 4エックス4, バーナビー, ウェイバー
ン ドライブ 4 4 7 5, スイート 2 0 5, インテグレイテッド ナノセラピューティクス イン
コーポレイテッド内

(72)発明者 ザイフマン, ジョシュア

カナダ国, プリティッシュコロンビア州 ヴィ5ジー 4エックス4, バーナビー, ウェイバー
ン ドライブ 4 4 7 5, スイート 2 0 5, インテグレイテッド ナノセラピューティクス イン
コーポレイテッド内

(72)発明者 シフーリーニ, マルコ

カナダ国, プリティッシュコロンビア州 ヴィ5ジー 4エックス4, バーナビー, ウェイバー
ン ドライブ 4 4 7 5, スイート 2 0 5, インテグレイテッド ナノセラピューティクス イン
コーポレイテッド内

審査官 石井 裕美子

(56)参考文献

国際公開第2017/106957(WO, A1)
国際公開第2019/046491(WO, A1)
特表2000-514405(JP, A)
国際公開第2018/181428(WO, A1)
特表平11-512078(JP, A)
国際公開第2017/021508(WO, A1)
米国特許第02310395(US, A)
Phytochemistry, 1990年, Vol.29. No.5, pp.1615-1617

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2
A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9
A 6 1 K 4 5 / 0 0
A 6 1 K 8 / 0 0 - 8 / 9 9
A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0
A 2 3 L 5 / 4 0 - 5 / 4 9
A 2 3 L 3 1 / 0 0 - 3 3 / 2 9
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
N)