(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2004-537596
(P2004-537596A)
(43)公表日　平成16年12月16日(2004.12.16)

(51)Int.Cl.[7]	F I		テーマコード（参考）
C07K 7/00	C07K 7/00	ZNA	4C076
C07C 277/08	C07C 277/08		4H006
C07C 279/12	C07C 279/12		4H045
C07C 279/14	C07C 279/14		
C07K 5/00	C07K 5/00		

審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 80 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2003-519026(P2003-519026)
(86)(22)出願日　平成14年8月2日(2002.8.2)
(85)翻訳文提出日　平成16年2月3日(2004.2.3)
(86)国際出願番号　PCT/US2002/024645
(87)国際公開番号　WO2003/014076
(87)国際公開日　平成15年2月20日(2003.2.20)
(31)優先権主張番号　60/310,305
(32)優先日　平成13年8月3日(2001.8.3)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　591163122
ザ　ボード　オブ　トラスティーズ　オブ　ザ　リーランド　スタンフォード　ジュニア　ユニバーシティ
アメリカ合衆国、カリフォルニア州　９４３０５、スタンフォード　（番地なし）
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】オリゴグアニジン輸送因子の二方向合成

(57)【要約】
オリゴアルギニン化合物のようなオリゴグアニジン化合物の大規模合成に適合され得る合成経路が記載され、この経路は、ペルグアニジニル化工程を使用してω－アミノ基のうちの１つの基を対応するグアニジニル基に転換する。これらの化合物は輸送因子としての有用性を見出す。改変されたオリゴグアニジン化合物もまた記載される。オリゴグアニジン化合物を調製するための方法であって、（ａ）複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーと保護基除去剤とを接触させて該保護基を除去し、複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーを生成する工程であって、ここで、該結合されたアミンの一部は保護基に結合されている、工程；および（ｂ）該複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーをグアニジニル化試薬と接触させて該化学的に結合された各アミンをグアニジニル基に転換し、オリゴグアニジン化合物を生成する工程、を包含する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
オリゴグアニジン化合物を調製するための方法であって、該方法は、以下：
（ａ）複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーと保護基除去剤とを接触させて該保護基を除去し、複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーを生成する工程であって、ここで、該結合されたアミンの一部は、保護基に結合されている、工程；および
（ｂ）該複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーをグアニジニル化試薬と接触させて該化学的に結合された各アミンをグアニジニル基に転換し、オリゴグアニジン化合物を生成する工程、
を包含する、方法。
【請求項２】
前記グアニジニル化試薬が、ピラゾール－１－カルボキサミジンの塩である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記化学的に結合された各アミン上の保護基が、トリフルオロアセチル基である、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記接触させる工程の両方が、単一の反応容器中で行なわれる、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記接触させる工程が、連続的に実施される、請求項１に記載の方法。
【請求項６】
前記接触させる工程が、同時に実施される、請求項１に記載の方法。
【請求項７】
前記オリゴマーが、ペプチド骨格を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項８】
前記ペプチド骨格が、環状ペプチド骨格である、請求項７に記載の方法。
【請求項９】
前記オリゴマーが、オリゴオルニチン化合物である。請求項７に記載の方法。
【請求項１０】
前記オリゴオルニチン化合物が、オクタオルニチン化合物であり、そして、２つのテトラオルニチン化合物のカップリングによって生成される、請求項９に記載の方法。
【請求項１１】
前記テトラオルニチン化合物の各々が、２つのオルニチンダイマーのカップリングによって生成される、請求項１０に記載の方法。
【請求項１２】
前記オリゴマーが、ペプトイド、ポリ－ｐ－フェニレン、ポリエチレングリコール、ペプチド－ペプトイドハイブリッド、ポリアミド、アザペプチド、ペプチド－尿素ハイブリッド、ポリエナミン、ポリオキサミド、炭化水素、ポリエチレン／ポリプロピレンエーテル、炭水化物およびオキシ置換されたジクロロヘキシエーテルからなる群から選択される非ペプチド骨格を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項１３】
前記非ペプチド骨格が、環状非ペプチド骨格である、請求項１２に記載の方法。
【請求項１４】
前記オリゴグアニジン化合物が、少なくとも４つのアルギニン残基を有する、請求項１に記載の方法。
【請求項１５】
前記オリゴグアニジン化合物が、少なくとも６個のアルギニン残基を有する、請求項１４に記載の方法。
【請求項１６】

前記オリゴグアニジン化合物が、連続した少なくとも８個のアルギニン残基を含む、請求項１５に記載の方法。
【請求項１７】
前記オリゴグアニジン化合物が、Ｄ－アルギニンまたはＬ－アルギニンのオクタマーである、請求項１６に記載の方法。
【請求項１８】
前記オリゴグアニジン化合物が、連続していない４～８個のアルギニン残基を含む、請求項１４に記載の方法。
【請求項１９】
前記オリゴグアニジン化合物が、基本的には、８個～１６個のアミノ酸残基から構成されており、ここで、４個～８個の該アミノ酸残基がアルギニン残基である、請求項１に記載の方法。
【請求項２０】
前記アルギニン残基が、Ｄ－アルギニン、Ｌ－アルギニン、Ｄ－ホモアルギニンおよびＬ－ホモアルギニンからなる群から選択される、請求項１４に記載の方法。
【請求項２１】
前記アルギニン残基が、Ｄ－アルギニンおよびＬ－アルギニンからなる群から選択される、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
請求項１に記載の方法であって、前記オリゴグアニジン化合物が、$(X^0-Arg-X^0)_q$および$(X^0-Arg)_q$からなる群から選択される式を有し、ここで、各X^0は、グアニジノ部分を有さないアミノ酸残基であり；Ａｒｇは、Ｄ－アルギニン、Ｌ－アルギニン、Ｄ－ホモアルギニンおよびＬ－ホモアルギニンからなる群から選択され；そしてｑは、２、４、６、８および１６から選択される整数である、方法。
【請求項２３】
前記オリゴグアニジン化合物が、式$(X^0-Arg-X^0)_q$を有する、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
前記オリゴグアニジン化合物が、式$(X^0-Arg)_q$を有する、請求項２２に記載の方法。
【請求項２５】
前記アルギニン残基の側鎖が改変されている、請求項１４に記載の方法。
【請求項２６】
前記アルギニン残基の側鎖が、Ｃ誘導体、Ｏ誘導体、Ｎ誘導体、Ｓ誘導体またはＢ誘導体を含むように改変されている、請求項２３に記載の方法。
【請求項２７】
前記アルギニン残基の側鎖が、２重結合または３重結合を含むように改変されている、請求項２５に記載の方法。
【請求項２８】
前記アルギニン残基の側鎖が、環状構造を含むように改変されている、請求項２５に記載の方法。
【請求項２９】
前記グアニジニル基が改変されている、請求項１に記載の方法。
【請求項３０】
請求項１に記載の方法であって、前記オリゴグアニジン化合物を塩に転換する工程をさらに包含する、方法。
【請求項３１】
前記塩が、ポリトリフルオロ酢酸塩である、請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】
請求項１に従って調製されるオリゴグアニジン化合物を含む化合物であって、該オリゴグ

アニジン化合物は、治療剤に化学的に結合されている、化合物。
【請求項３３】
請求項２０に従って調製されるオリゴグアニジン化合物を含む化合物であって、該オリゴグアニジン化合物は、治療剤に化学的に結合されている、化合物。
【請求項３４】
適切に保護されたオルニチンモノマーからオリゴアルギニン化合物を調製する方法であって、該方法は、以下：
（ａ）適切に保護された２つの異なるオルニチンモノマーをカップリングして直交的に保護されたカップリングされたオルニチン化合物を生成する、工程；
（ｂ）該直交的に保護されたカップリングされたオルニチン化合物を２つの部分に分割し、そしてアミドカップリングのために該部分の各々を活性化して２つの独立して活性化されたカップリングされたオルニチン化合物を生成する工程；
（ｃ）前記２つの独立して活性化されたカップリングされたオルニチン化合物を、アミドカップリングに十分な条件下で再結合し、新しい、直交的に保護されたカップリングされたオルニチン化合物を生成する工程；
（ｄ）工程（ｃ）の生成物を、該分割する工程、活性化する工程および再結合する工程に０～３回供して、線状構成で４個、８個または１６個のオルニチンモノマーを有するオリゴオルニチン化合物を生成する、工程；
（ｅ）該オリゴオルニチン化合物とペルグアニジル化試薬とを、オリゴアルギニン化合物を生成するのに十分な条件下で接触させる工程、
を包含する、方法。
【請求項３５】
前記オリゴグアニジン化合物が、連続した少なくとも８個のアルギニン残基を含む、請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
前記オリゴアルギニン化合物が、Ｄ－アルギニンのオクタマーである、請求項３５に記載の方法。
【請求項３７】
請求項３４に記載の方法であって、前記オリゴアルギニン化合物が、$(X^0-Arg-X^0)_t$および$(X^0-Arg)_t$からなる群から選択される式を有し、ここで、各X^0は、グアニジノ部分を有さないアミノ酸残基であり；Ａｒｇは、Ｄ－アルギニンおよびＬ－アルギニンからなる群から選択され；そしてｔは、４、８および１６から選択される整数である、方法。
【請求項３８】
各X^0が、グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノ吉草酸、および６－アミノカプロン酸からなる群から選択される、請求項３４に記載の方法。
【請求項３９】
前記オリゴアルギニン化合物が、式$(X^0-Arg)_t$を有し、そして各X^0が、グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノ吉草酸、および６－アミノカプロン酸からなる群から選択される、請求項３４に記載の方法。
【請求項４０】
前記オリゴアルギニン化合物が、式$(X^0-Arg)_t$を有し、そして各X^0が、グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノ吉草酸、および６－アミノカプロン酸からなる群から選択され、そしてｔが８または１６であるる、請求項３４に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（政府助成の通知）
本明細書中に記載される研究の一部は、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ（ＣＡ３１８４１、ＣＡ３１８４５）およびＮａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉ

ｔｕｔｅ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ Ｆｅｌｌｏｗｓｈｉｐ（ＣＡ８０３４４）により助成された。米国政府は、本発明の特定の局面において権利を有し得る。

【０００２】

（技術分野）

本発明は、オリゴグアニジン化合物の合成に関する。より具体的には、本発明は、輸送因子としての用途を見出すオリゴグアニジン化合物の合成に関する。

【背景技術】

【０００３】

（背景技術）

薬物分子およびプローブ分子の間には、かなりの構造的多様性が見出されるが、細胞内標的を有するこれらの薬剤のほとんどの物理的特性は、極性細胞外環境および細胞の非極性脂質二重層を通る輸送を確実にするための狭い範囲に限定される。この範囲の外側に入る薬剤は、水溶性と受動的膜輸送との最適なバランスを達成するために、反復する類似の合成によって、しばしば調整されなければならない。より広い範囲の物理的特性を保有する薬物、薬物候補またはプローブ分子の細胞取り込みを改善または可能にすることに向けられた有望なアプローチは、これらの薬剤を細胞へと能動的に運搬するための、ペプチドベースの分子トランスポーターの使用を含む。Ｗｅｎｄｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９７：１３００３－１３００８（２０００）；Ｍｉｔｃｈｅｌｌら、Ｊ．Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｒｅｓ．５５：３１８－３２５（２０００）；Ｐｒｏｃｈｉａｎｔｚ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．１２：４００－４０６（２０００）；Ｌｉｎｄｇｒｅｎら、Ｔｒｅｎｄｓ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｓｃｉ．２１：９９－１０２（２０００）；Ｓｃｈｗａｒｔｚら、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｍｏｌ．Ｔｈｅｒ．２：１６２－１６７（２０００）；Ｓｃｈｗａｒｚｅら、Ｔｒｅｎｄｓ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ Ｓｃｉ．，２１，４５－４８（２０００）；およびＳｃｈｗａｒｚｅら、Ｔｒｅｎｄｓ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．１０：２９０－２９５（２０００）を参照のこと。このアプローチの代表である、種々のプローブ分子（例えば、フルオレセイン）または薬物（例えば、シクロスポリンＡ）への結合体化の際に、Ｌ－アルギニンのホモオリゴマー（７～９マー）は、細胞（例えば、ヒトＪｕｒｋａｔ）に迅速に進入する、高度に水溶性の結合体を提供する。Ｗｅｎｄｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９７：１３００３－１３００８（２０００）およびＭｉｔｃｈｅｌｌら、Ｊ．Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｒｅｓ．５５：３１８－３２５（２０００）を参照のこと。さらに、これらのアルギニントランスポーターの薬物結合体は、ヒトの皮膚への有意な浸透を示し、そして標的化Ｔ細胞においてそれらの薬物カーゴ（ｃａｒｇｏ）を放出することが示されている（Ｒｏｔｈｂａｒｄら、Ｎａｔｕｒｅ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ ６：１２５３－１２５７（２０００））。

【０００４】

アルギニンベースの分子トランスポーターの大きな可能性は、主にその利用可能性および費用によって、いくつかの適用に制限されている。このようなホモオリゴペプチドは、通常、固相ペプチド合成を使用して調製される（例えば、Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．８５：２１４９－２１５４（１９６３）；Ａｔｈｅｒｔｏｎら、Ｓｏｌｉｄ－Ｐｈａｓｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ；ＩＲＬ：Ｏｘｆｏｒｄ，Ｅｎｇｌ．（１９８９）；およびＦｉｅｌｄｓら、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｐｅｐｔ．Ｐｒｏｔ．Ｒｅｓ．３５：１６１－２１４（１９９０））。このアプローチは、容易に自動化され、そして長いペプチドの合成および精製を可能にするが、樹脂の高い費用、限定された拡張性、ならびに結合および切断についての必要性を含む欠点を被る。対照的に、溶液相合成は、樹脂の費用および拡張の制限を回避し、そして特にオリゴマーの場合、工程を省いた二方向性ストラテジーを使用して実施され得る。後者の点の例示である、固相合成を使用するオクタマーの一方向合成は、１４の工程（各付加されるモノマーについて、１つのカップリング工程および脱保護工程）を必要とし、一方、同じオクタマーの溶液相二方向合成は、７つの工程のみ（３つのカップリング工程および４つの脱保護工程）を必要とする。例えば、Ａｐｐｅｌｌａら、Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１２１：７５７４－７５８１

（１９９９）；Ｈｕｎｇｅｒｆｏｒｄら、Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．，Ｐｅｒｋｉｎ Ｔｒａｎｓ．Ｉ，３６６６－３６７９（２０００）；およびＣｈａｋｒａｂｏｒｔｙら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．４１：８１６７－８１７１（２０００）を参照のこと。アルギニンベースのペプチドの特定の場合において、溶液相合成は、固相合成において必要とされるグアニジニウムサブユニットについての高価な保護基（例えば、Ｍｔｒ、ＰｍｃおよびＰｂｆ；それぞれ、Ａｔｈｅｒｔｏｎら、Ｊ．Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ．Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．，１０６２－１０６３（１９８３）；Ｒａｍａｇｅら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ ４７：６３５３－６３７０（１９９１）；およびＣａｒｐｉｎｏら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．３４：７８２９－７８３２（１９９３）を参照のこと）の使用を回避するという、さらなる利点を提供する。

【０００５】

しかし、当該分野における進歩にもかかわらず、アルギニンオリゴマー、より一般にはオリゴグアニジンの調製のための方法（これらは両方とも、費用効率がよく、かつ拡張可能である）についての必要性が、なお存在する。本発明は、この必要性を扱う。

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【０００６】

（発明の開示）

本発明の１局面は、オリゴグアニジン化合物の調製のための方法に関し、この方法は、以下の工程を包含する：（ａ）複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマー（ここで、結合されたアミンの一部は、保護基に結合されている）を、保護基除去剤と接触させて、保護基の各々を除去して、複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーを生成する工程；および（ｂ）複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーを、グアニジニル化試薬と接触させて、これらの化学的に結合されたアミンの各々をグアニジニル基に転換して、オリゴグアニジン化合物を生成する工程。

【０００７】

本発明の別の局面は、工程（ｂ）のオリゴグアニジン化合物を塩（例えば、ポリトリフルオロ酢酸塩）に転換する工程をさらに提供する。

【０００８】

本発明のなお別の局面は、適切に保護されたオルニチンモノマーからのオリゴアルギニン化合物の調製のための方法に関し、この方法は、以下の工程を包含する：（ａ）２つの異なる適切に保護されたオルニチンモノマーをカップリングして、直交性に保護されたカップリングされたオルニチン化合物を生成する工程；（ｂ）この直交性に保護されたカップリングされたオルニチン化合物を２つの部分に分割し、そしてこれらの部分の各々をアミドカップリングのために活性化して、２つの独立して活性化されたカップリングされたオルニチン化合物を生成する工程；（ｃ）これら２つの独立して活性化されたカップリングされたオルニチン化合物を、アミドカップリングに十分な条件下で再結合して、新たな直交性に保護されたカップリングされたオルニチン化合物を生成する工程；（ｄ）工程ｃ）の化合物を、分割する工程、活性化する工程および再結合する工程に０～３回供して、線状構成で４個、８個または１６個のオルニチンモノマーを有するオリゴオルニチン化合物を生成する工程；ならびに（ｅ）このオリゴオルニチン化合物を、オリゴアルギニン化合物を生成するのに十分な条件下でペルグアニジル化試薬と接触させる工程。

【０００９】

本発明のなお別の局面は、上記方法により生成されるオリゴグアニジン化合物に関する。

【００１０】

（発明の詳細な説明）

（Ｉ．定義および命名法）

本発明の詳細な実施形態を記載する前に、本発明を記載するのに使用される略語および定義を示すことが有用である。示される定義は、この特許中に使用されるような用語に対してのみ適用し、他（例えば、科学文献または他の特許もしくは出願（本発明者らによるか

または共同所有者に譲渡された他の出願も含む））で使用される場合の同一の用語に対しては適用可能でないかもしれない。以下の好ましい実施形態および実施例の記載は、例示および例証として提供される。このように、これらは、特許請求の範囲によって規定される本発明の範囲を限定するものとしてみなされない。さらに、実施例が与えられる場合、これらは、例示のみを意図するものであり、制限するためのものではない。例えば、ある実施例が、特定の特徴を「含む（ｉｎｃｌｕｄｅ）」といわれる場合、この例がこの特徴を有し得るが、このような例が、この特徴を含むものに限定されないことを含意することが意図される。

【００１１】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形の「ａ」「ａｎ」および「ｔｈｅ」は、その内容が他に明らかに示されない限り、複数形の対象を含むことに留意すべきである。従って、例えば、「薬学的に活性な薬剤（ａ ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌｌｙ ａｃｔｉｖｅ ａｇｅｎｔ）」に対する言及は、２種以上のこのような薬剤の混合物を含み、「水酸化物放出薬剤（ａ ｈｙｄｒｏｘｉｄｅ－ｒｅｌｅａｓｉｎｇ ａｇｅｎｔ）」に対する言及は、２種以上のこのような薬剤の混合物を含む、など。

【００１２】

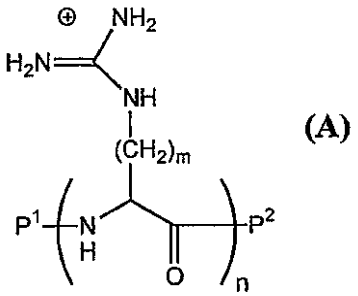
本発明を記載および特許請求する際に、以下の用語法が、以下に示される定義に従って使用される。

【００１３】

本明細書中で使用される場合、用語「オリゴグアニジン化合物」は、サブユニットのオリゴマーをいい、これらの各々は、化学的に結合されたグアニジン基を含む。例示的なサブユニットとしては、アルギニン残基およびアルギニン様残基、ならびに反復基（例えば、Ｇｌｙ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ（より一般的には、X^0－Ａｒｇ－X^0であって、ここで、各X^0は、グアニジノ基を欠くアミノ酸であり、Ａｒｇは、Ｄ－アルギニン残基またはＬ－アルギニン残基およびアルギニン様残基を含むことが意味される））が挙げられる。アルギニン様残基は、アルギニンアミノ酸（Ｄ形態およびＬ形態の両方を含む）の一般構造特徴を有するが、アルギニンのグアニジノ部分とα－炭素との間に６つまでのさらなるメチレン基を有するか、またはアルギニンのグアニジノ部分とα－炭素との間に２つまでのより少ないメチレン基を有する。したがって、本発明の１つの実施形態において、オリゴグアニジン化合物は、ペプチド骨格および以下の式Ａ：

【００１４】

【化１】



(A)

を有し、ここで、ｍは、１～１２の整数であり；ｎは、４～１６の整数であり；P^1は、Ｈまたは窒素保護基であり；そしてP^2は、保護されているかまたは保護されていないヒドロキシ基またはアミノ基である。上記の式において、グアニジノ基は、荷電して示されている。当業者は、オリゴアルギニン化合物が荷電される程度が環境に依存する傾向があり、この環境（媒体、ｐＨなどを含む）において、オリゴアルギニン化合物が存在し、そして荷電形態および非荷電形態の全てが、本発明によって意図されることを理解する。

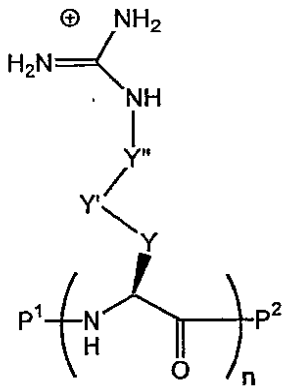
【００１５】

用語「オリゴグアニジン化合物」はまた、式Ａの多くのバリエーションを含むことも意図され、ここで、結合（側鎖）は改変されるが、その末端のグアニジン基（－ＨＮ－Ｃ（Ｎ

H_2）ＮＨ非プロトン化または－ＨＮ－Ｃ（NH_2）NH_2^+プロトン化）は、非荷電のままである（ｎ、P^1およびP^2は、上記定義のとおりである）。側鎖に対する改変は、以下の置換を含む：

【００１６】

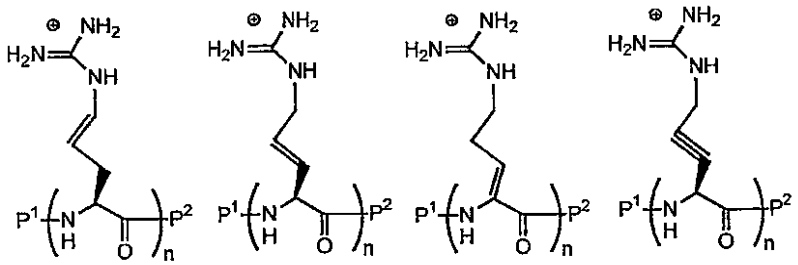
【化２】



ここで、Ｙ、Ｙ’およびＹ’’は、独立して、Ｃ誘導体、Ｏ誘導体、Ｎ誘導体、Ｓ誘導体またはＢ誘導体である。改変は、２重結合または３重結合の配置を含み得る：

【００１７】

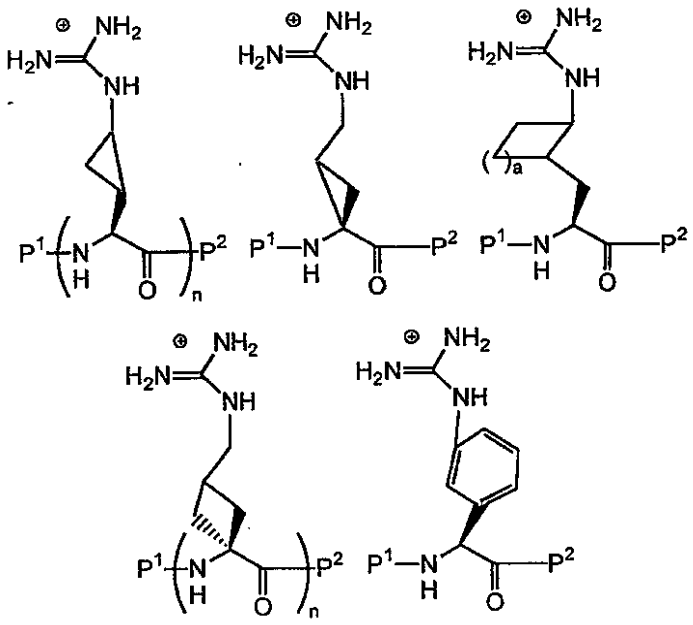
【化３】



改変はまた、環状構造（ａ＝０～５）の付加も含み得、それらの環炭素は、さらに置換され得る：

【００１８】

【化４】



上に示すように、アルギニン側鎖中の炭素のうち２個または３個は、環状構造に含まれ得る。

【００１９】

用語「オリゴグアニジン化合物」はまた、式Ａの非ペプチドバリエーションを含むことが意図される。例は以下に示され、ここで、Ｇは、グアニジニル側鎖であり、そしてｎ、P^1およびP^2は、上記のとおりである。

【００２０】

【化５】



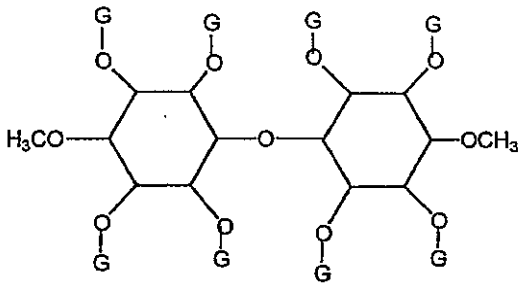
ペプトイド　　ポリ-p-フェニレン

【００２１】

【化６】



ポリエチレンイミン　　ポリエチレングリコール

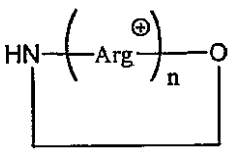


オキシ置換されたジシクロヘキシルエーテル

この骨格はまた、ペプチド－ペプトイドハイブリッド、ポリアミド、アザペプチド（例えば、α－炭素を窒素で置換している）、ペプチド－尿素ハイブリッド、ポリエナミン（P^1－{Ｎ（Ｇ）－［ＣＨ２］$_v$}$_n$－P^2であって、ここで、ｖは１～８、例えば、ｖ＝２は、上記のようなポリエチレンイミン）、ポリオキサミド、炭化水素、ポリエチレン／ポリプロピレンエーテル、炭水化物およびオキシ置換されたジクロロヘキシエーテル（上記のとおり）骨格であり得る。これらの非ペプチド骨格は、増強された生物学的安定性（例えば、インビボでの酵素分解に対する耐性）を提供し得る。この骨格はまた、環状ペプチドまたは非ペプチド系であり得、例えば、以下である：

【００２２】

【化７】

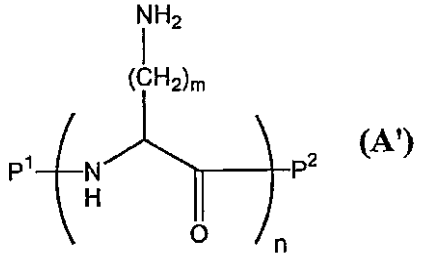


同様に、「化学的に結合されたアミン（ｃｈｅｍｉｃａｌｌｙ　ｔｅｔｈｅｒｅｄ　ａｍｉｎｅ）を有するポリアミドオリゴマー」は、１つ、２つ、または３つのアミノ酸残基の

反復単位を有するポリペプチド化合物のことをいい、ここで、各反復単位は、側鎖アミノ基を有する。このアミノ酸は、α－アミノ酸、β－アミノ酸、γ－アミノ酸、またはδ－アミノ酸であり得るが、各サブユニット中のアミノ酸の少なくとも１つが、側鎖アミノ基（例えば、リジン、オルニチン、ホモオルニチンなど）を有するように選択される。ある意味では、化学的に結合されたアミンを有するポリアミドオリゴマーは、式Ａ’：

【００２３】

【化８】



(A')

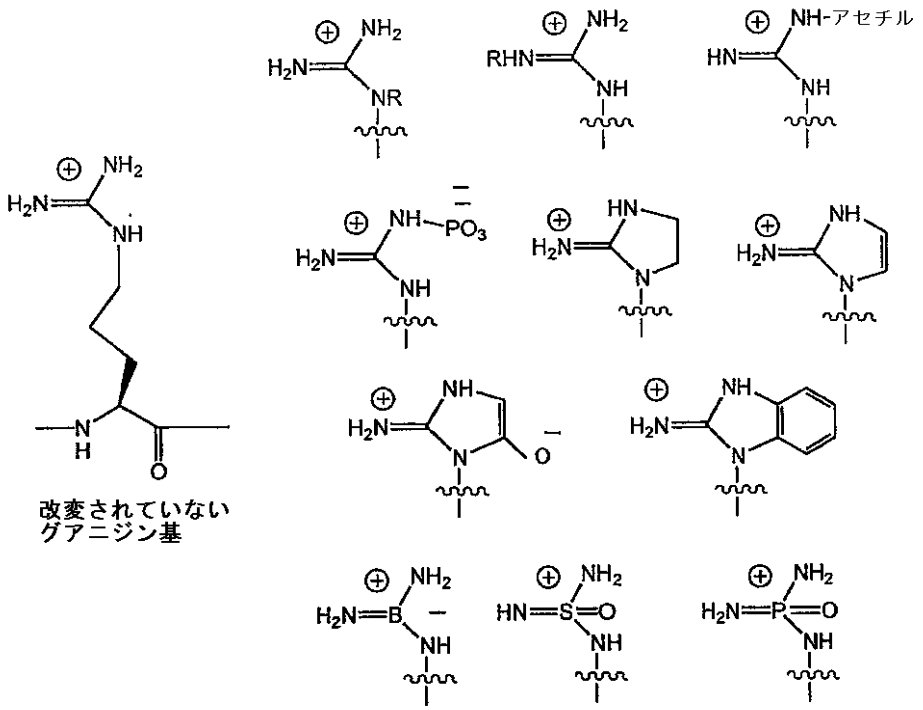
を有する化合物であり得、ここで、ｍ、ｎ、Ｐ^{1}およびＰ^{2}は、上で定義された通りであるが、このポリアミドオリゴマーはまた、さらなるアミノ酸を有し得、このアミノ酸が存在することによって、結合されたアミン残基間に間隔が提供される。式Ａ’の化合物の側鎖はまた、式Ａについて上に記載されたのと同様に改変され得るが、その末端アミン基は、未変化のままである。さらに、全てＤ異性体のオリゴマー、全てＬ異性体のオリゴマーおよびＤ異性体とＬ異性体の混合物は、上記の式の範囲内である。

【００２４】

本明細書中で使用される場合、用語「改変されたオリゴグアニジン化合物」とは、化学的に改変されている、化学的に結合されたグアニジン基をサブユニットの各々が含むサブユニットのオリゴマーのことをいう。グアニジン基に対する改変は、適切な出発物質（すなわち、化学的に結合された「改変された」アミンを有するオリゴマー）を使用することにより合成の前にか、またはこの化合物が合成されている間になされ得る。あるいは、オリゴグアニジン化合物は、本明細書中に記載された通りに作製され得、その後、グアニジン基を改変され得る。好ましくは、この改変は、合成の終わりに生じる。このように、多くのバリエーションが共通の中間体から生成され得る。Ｒは、任意の適切な置換基（例えば、Ｈ、アルキル、ヒドロキシル、シアノ、アルコキシ、＝Ｏ、＝Ｓ，－ＮＯ$_{2}$、ハロ、ヘテロアルキル、アミン、チオエーテル、－ＳＨ、アリールおよびヘテロアルキル）であり得る。

【００２５】

【化９】



（ＩＩ．省略記号）

本発明を記載および特許請求する際に、以下の省略記号が以下の定義に従って使用される。

ＡｃＯＨ	酢酸
Ｂｎ	ベンジル
Ｂｏｃ	ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル
ＤＭＡＰ	４－（ジメチルアミノ）ピリジン
ＤＭＦ	Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド
ＤＭＳＯ	ジメチルスルホキシド
Et_3N	トリエチルアミン
ＥｔＯＡｃ	酢酸エチル
Ｆｍｏｃ	９－フルオレニルメトキシカルボニル
ＭｅＯＨ	メタノール
Ｍｔｒ	４－メトキシ－２，３，６－トリメチルベンゼンスルホニル
ＮＭＭ	Ｎ－メチルモルホリン
Ｏｒｎ	オルニチン
Ｐｂｆ	２，２，４，６，７－ペンタメチルジヒドロベンゾフラン－５－スルホニル
ＰＧ	保護基
Ｐｍｃ	２，２，５，７，８－ペンタメチルクロマン－６－スルホニル
ＲＰ－ＨＰＬＣ	逆相高速液体クロマトグラフィー
ＲＴ	室温
ＴＦＡ	トリフルオロ酢酸
ＴＨＦ	テトラヒドロフラン
Ｚ	ベンジルオキシカルボニル

（ＩＩＩ．反応）

（Ａ．概要）

図１は、直交的に保護されたオルニチン化合物で始められる、アルギニンオクタマー（ｍ＝３の場合）の二方向合成についての図を提供する。この保護オルニチン化合物ｉは、２つの部分に分割される。第１の部分は、脱保護されてｉｉを生じ、一方、第２の部分は、

脱保護されてｉｉｉを生じる。次いで、この２つの部分を適切なカップリング試薬で再結合し、ジペプチドｉｖを得る。再び、この生成物を２つの部分に分割し、第１の部分は、一端を脱保護することによってｖを生じ、一方、第２の部分は、カルボキシ末端を脱保護することによってｖｉを生じる。次いで、化合物ｖおよびｖｉをカップリングして、保護されたテトラペプチドｖｉｉを得る。部分に分割し、選択的に脱保護し、カップリングする、もう１回の手順によりして、P^3 保護基の除去およびペルグアニジル化化学（以下により詳細に提供される）のための中間体として、保護オクタペプチドｘを得る。

【００２６】

図２は、－Ｇｌｙ－Ｏｒｎ－Ｇｌｙ－サブユニットに適用される類似の順序を図示し、完全保護形態の（Ｇｌｙ－Ｏｒｎ－Ｇｌｙ）$_8$ を生じる。

【００２７】

図１および図２に見られ得るように、本発明の二方向方法は、２、４、８、１６または３２のサブユニット（十分な反復を介して実行される場合）を有するオリゴマーを提供する。ここで記されたオリゴマーよりも長いオリゴマーまたは短いオリゴマーについて、任意の中間体化合物が脱保護され得、そして単一のアミノ酸、トリペプチド、ペンタペプチドなどにカップリングされる。

【００２８】

本明細書中に記載される二方向方法は、脱保護／ペルグアニジニル化手順によってオリゴグアニジン化合物を生成し、この手順は、複数の化学的に結合されたアミンを有するポリアミドオリゴマー（例えば、リジン、オルニチン、ホモオルニチン、ならびにこれらのβ－アミノ酸、γ－アミノ酸およびδ－アミノ酸対応物を含有するオリゴマー）を表している。この転換の範囲を図３に示す。図３Ａにおいて、適切に保護されたオルニチンオクタマーは、脱保護されて、示されるとおりの結合されたアミン基を有するオクタマーを生じる。

【００２９】

ペルグアニジニル化によってアルギニンオクタマーを得る。本発明の１つの実施形態において、この脱保護およびペルグアニジニル化は、図３Ｂに示されるように、単一の反応容器中で実施される。

【００３０】

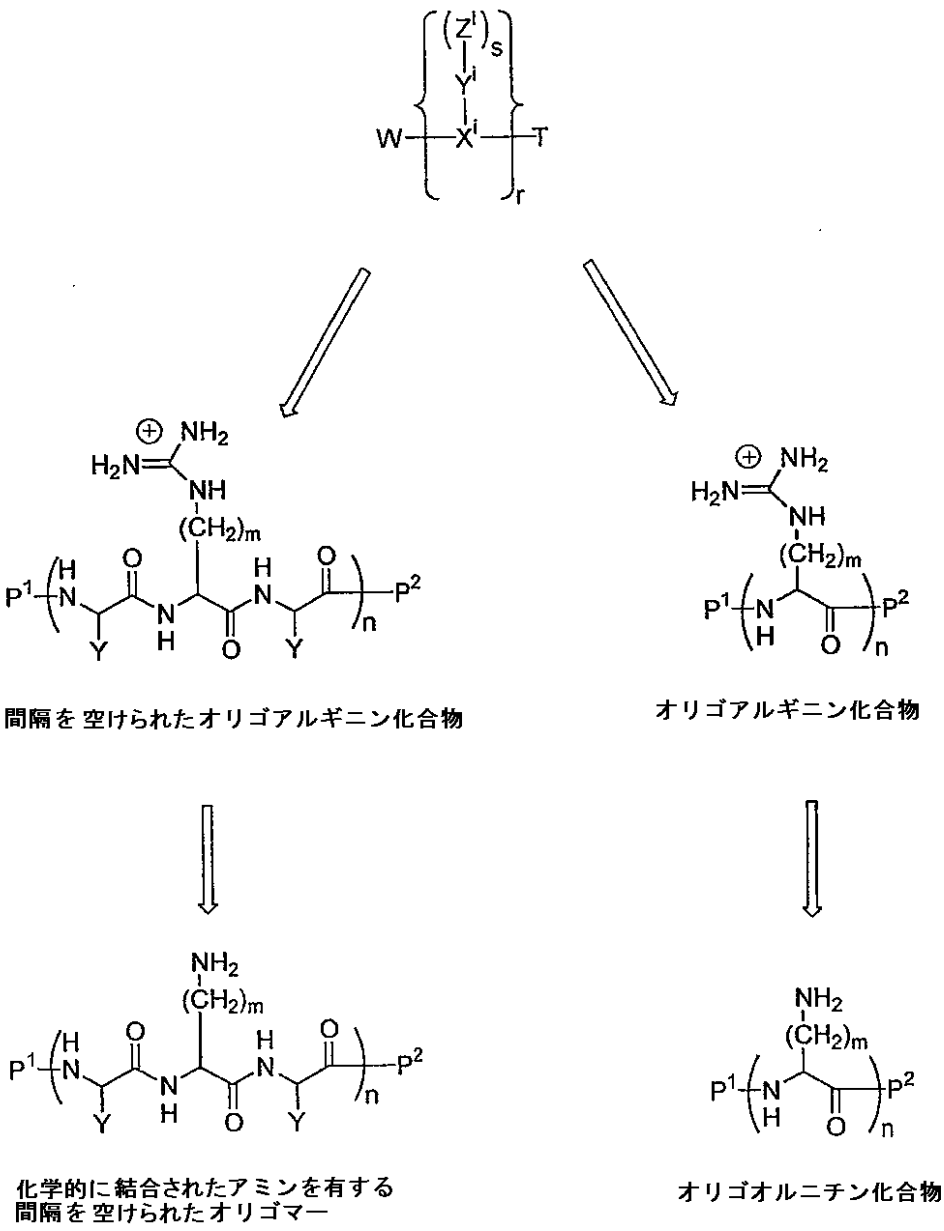
図３Ｃは、γ－アミノ酸のオリゴマーに対する適応性を示し、一方図３Ｄは、間隔を空けられたオリゴマーに対する適応性を示す。ここで、この間隔は、グリシン残基によって与えられる。

【００３１】

本発明の別の実施形態は、以下のスキームで示され、このスキームは、オリゴグアニジン化合物についての一般式を示し、そして間隔を空けられたオリゴアルギニン化合物（化学的に結合されたアミンを有する間隔を空けられたオリゴマーから誘導される）と隣接するオリゴアルギニン化合物（オリゴオルニチン化合物から誘導される）の両方に対するオリゴグアニジン化合物の適用を示す。

【００３２】

【化１０】



前述の考察は、ペプチド骨格を有するオリゴマーに焦点をあてているが、ペプトイド、ポリ－ｐ－フェニレン、ポリエチレンイミン、ポリエチレングリコール、ペプチド－ペプトイドハイブリッド、ポリアミド、アザペプチド、ペプチド－尿素ハイブリッド、ポリエナミン、ポリエナミン、炭化水素、ポリエチレン／ポリプロピレンエーテル、または炭水化物骨格を有するオリゴマーの合成への、本発明の方法の適用の仕方を、当業者は容易に理解することが理解される。所望の骨格は、購入されるかまたは合成され得、単一の工程において、化学的に結合されたアミン側鎖が付加され得、その後保護基除去剤およびグアニジニル化試薬を添加して各保護アミンをグアニジニル基に転換し、オリゴグアニジン化合物を得る。

【００３３】

（Ｂ．本発明の方法の特定の実施形態）

従って、本発明の１つの実施形態は、オリゴグアニジン化合物の調製のための方法であって、この方法は、化学的に結合されたアミン（このアミンの少なくとも一部分は、保護されたている）を有するオリゴマーを、保護基除去剤およびグアニジニル化試薬と接触させて、この各保護アミンをグアニジニル基に転換して、オリゴグアニジン化合物を生成する工程を包含する。より具体的には、この方法は、以下の工程（ａ）および（ｂ）を包含し

得る：（ａ）複数の化学的に結合されたアミン（この結合されたアミンの一部は、保護基と結合している）を有するオリゴマーを、保護基除去剤と接触させて保護基を除去し、複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーを生成する工程；および（ｂ）得られたオリゴマーをグアニジル化試薬と接触させて化学的に結合されたアミンの各々をグアニジニル基に転換して、オリゴグアニジニン化合物を生成する工程。

【００３４】

いくつかの実施形態において、化学的に結合されたアミンを有するポリアミドオリゴマーは、イオン交換クロマトグラフィー、ＨＰＬＣ、カラムクロマトグラフィーなどのような方法を使用して、単離および精製される。このポリアミドオリゴマー（結合されたアミン）化合物は、塩としてかまたは中性形態で単離され得る。しかし、好ましい実施形態において、化学的に結合されたアミンを有するポリアミドオリゴマー化合物は、単離されず、工程（ｂ）に直接持ち越される。

【００３５】

方法は、必要に応じて、オリゴグアニジン生成物を塩（例えば、ポリトリフルオロ酢酸塩）に転換する工程をさらに包含する。

【００３６】

特定の実施形態において、工程（ａ）および（ｂ）は、同じ反応容器中で実施され、そして連続的にかまたは同時に実施され得る。例えば、各ω－アミン上に保護基を有するオリゴオルニチン化合物は、保護基除去剤とグアニジニル化試薬の組み合わせで処理され得、単一の工程でオリゴアルギニン化合物を得る。結果として、特定のアミン基のグアニジニル化の前に全ての保護基が除去される必要はない。１つの特定の好ましい実施形態において、各ω－アミン上にトリフルオロアセチル保護基を有するオリゴオルニチン化合物は、保護基除去剤（好ましくは、炭酸ナトリウム）とグアニジニル化試薬（好ましくは、ピラゾール－１－カルボキサミジンヒドロクロリド）の両方と接触される。

【００３７】

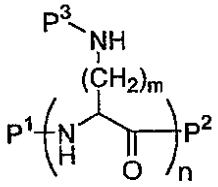
他の実施形態において、化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーは、オリゴオルニチン化合物である。別の実施形態において、このオリゴオルニチン化合物は、オクタオルニチン化合物（ここで、「オルニチン」とは、オルニチンよりも長い鎖または側鎖を有する化合物、ならびにオルニチン自体をいう）であり、好ましくは、２つのテトラオルニチン化合物（これらは、好ましくは、２つのオルニチンダイマーのカップリングによって次々に生成される）のカップリングによって生成される。

【００３８】

なおさらに好ましい実施形態において、保護オリゴマーは、化学的に結合されたアミン（保護形態で）を有するポリアミドであって、以下の式：

【００３９】

【化１１】



を有し、ここで、ｍ、ｎ、P^1およびP^2は、上で定義された通りであり、そしてP^3は、アミノ保護基であるかまたはP^3が結合する窒素原子上の水素原子と一緒になって二価のアミノ保護基を形成する。好ましいｍは、３～６の整数であり、より好ましくは、３～５である。特定の好ましい実施形態の群において、保護ポリアミドオリゴマー化合物は、上の式を有し、ここで、各反復基は、Ｄ異性体（Ｄアミノ酸に対応する立体化学を有する）である。

【００４０】

本発明の別の実施形態は、適切な保護オルニチンモノマーからオリゴアルギニン化合物を

調製するための方法であって、この方法は以下の（ａ）～（ｅ）の工程を包含する：（ａ）適切に保護された２つの異なるオルニチンモノマーをカップリングして、直交的に保護されカップリングされたオルニチン化合物を生成する工程；（ｂ）直交的に保護されカップリングされたオルニチン化合物を２つの部分に分割し、その各部分をアミドカップリングのために活性化して、２つの独立して活性化された、カップリングされたオルニチン化合物を得る工程；（ｃ）アミドカップリングのために十分な条件下で、独立して活性化された２つのカップリングされたオルニチン化合物を再結合して新規の直交的に保護されたカップリングされたオルニチン化合物を得る工程；（ｄ）工程（ｃ）の生成物を０～３回、分割する工程、活性化する工程、および再結合する工程に供して、線状構成で、４個、８個または１６個のオルニチンモノマーを有するオリゴオルニチン化合物を生成する工程；および（ｅ）オリゴオルニチン化合物を、オリゴアルギニン化合物を生成するのに十分な条件下でペルグアニジニル化試薬と接触させる工程。

【００４１】

より一般的な意味において、このカップリング、分割および活性化、カップリング技術は、他のオリゴグアニジン化合物のアセンブリに適用され得、ここで、各サブユニットまたはモノマーは、オルニチン（または他の化学的に結合されたアミン含有アミノ酸）および化学的に結合された側鎖アミンを有さない１つまたは２つのアミノ酸が隣接するオルニチンから選択される。カップリング反応は、公知の溶媒（例えば、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド、Ｎ－メチルピロリジノン、ジクロロメタン、水など）を使用する公知のカップリング法によって実施される。例示的なカップリング試薬としては、Ｏ－ベンゾトリアゾリルオキシテトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート、ジシクロヘキシルカルボジイミド、ブロモ－トリス（ピロリジノ）ホスホニウムブロミド、Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン、４－ピロリジノピリジン、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド、Ｎ－ヒドロキシベンゾトリアゾールなどが挙げられる。

【００４２】

（Ｃ．本発明の例示的な方法）

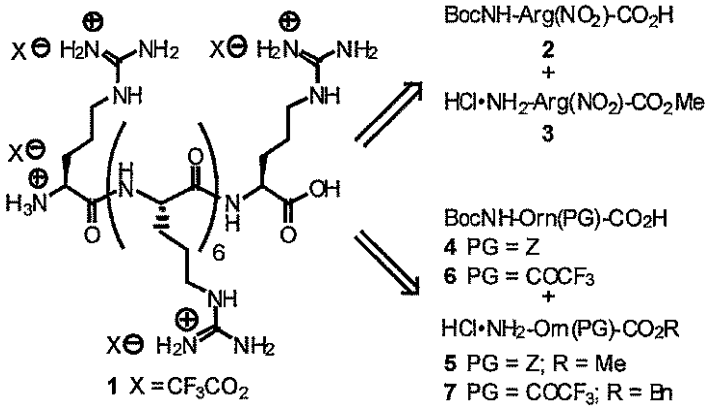
ペルグアニジン化（ｐｅｒｇｕａｎｉｄｉｎｉｎｙｌａｔｉｏｎ）は、グアニジノグリコシドの調製（Ｌｕｅｄｔｋｅら、Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１２２：１２０３５－１２０３６（２０００）およびＦｅｉｃｈｔｉｎｇｅｒら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．６３：３９０４－３８０５（１９９８））およびペプトイド（ｐｅｐｔｉｏｄ）のペルグアニジン化（Ｗｅｎｄｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９７：１３００３－１３００８（２０００））について記載される。ペルグアニジン化は、ここで、本明細書中に記載されるような、オリゴアルギニン誘導体および一定間隔を空けたアルギニン輸送因子の調製において有用性を有することが見出された。

【００４３】

例えば、アルギニンオクタマー１の適切な合成は、膜輸送因子としてのこの化合物の有用性に起因して所望された（Ｒｏｔｈｂａｒｄら、ＷＯ　０１／１３９５７およびＣｏｏｋｅら、ＷＯ　００／７４７０１）。上記されるペルグアニジン化研究を考慮すると、オクタマー１は、原則として、オルニチンオクタマーからペルグアニジン化反応の後期段階によって調製され得る。

【００４４】

【化１２】



市販で入手可能な直交的に保護されたオルニチンモノマーは、ＢｏｃＮＨ－Ｏｒｎ（Ｚ）－ＣＯ$_2$Ｈ（４）およびＨＣｌ・ＮＨ$_2$－Ｏｒｎ（Ｚ）－ＣＯ$_2$Ｍｅ（５）を含む。従って、オルニチンについての直交的保護基戦略は、α－アミン上の酸不安定性Ｂｏｃ基、δ－アミン上の水素化不安定性Ｚ基およびカルボキシル末端の塩基不安定性メチルエステルを使用した。この戦略は、最初から（出発のカップリングおよび続いての脱保護）有望な結果を生じた。しかし、Ｚ－保護オルニチンテトラマーは、有用であるが、有機溶媒において溶解度が限定されていることが見出され、スケールアップされた手順について、大容量の溶媒の使用を必要とする。

【００４５】

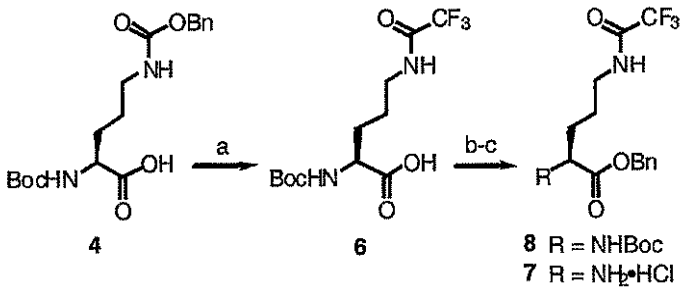
オルニチンオリゴマーの溶解度を改善するために、代替的な保護戦略が開発された。オルニチンのδ－アミンの保護基に塩基不安定性トリフルオロアセトアミド保護基を導入することは、より可溶性の組成物を提供した。α－アミンＢｏｃ保護に加えて、残りの直交的保護基は、カルボキシル末端上の水素化不安定性ベンジルエステルであった。１、ＢｏｃＮＨ－Ｏｒｎ（ＣＯＣＦ$_3$）－ＣＯ$_2$Ｈ（６）およびＨＣｌ・ＮＨ$_2$－Ｏｒｎ（ＣＯＣＦ$_3$）－ＣＯ$_2$Ｍｅ（７）の二方向合成を追跡するために必要とされる必須のオルニチンモノマーは、スキーム１に記載されるように、４から調製された。４のＺ－基を対応する６のトリフルオロアセトアミドに保護基転換することは、水素化と、それに続くトリフルオロ酢酸エチルでの処理とによって定量的収量で達成された。６のエステル化は、クロロ蟻酸ベンジルを用いた処理による公知の手順（Ｋｉｍら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．，５０：５６０－５６５（１９８５））を使用して達成され、これは混合二酸化炭素を与え、その後、ＤＭＡＰ（２０モル％）を用いて処理し、８を定量的収量で得る。最終的に、ＨＣｌを用いるＢｏｃ基の除去によって、９８％の収率で酸７を得た。

【００４６】

（スキームＩ）

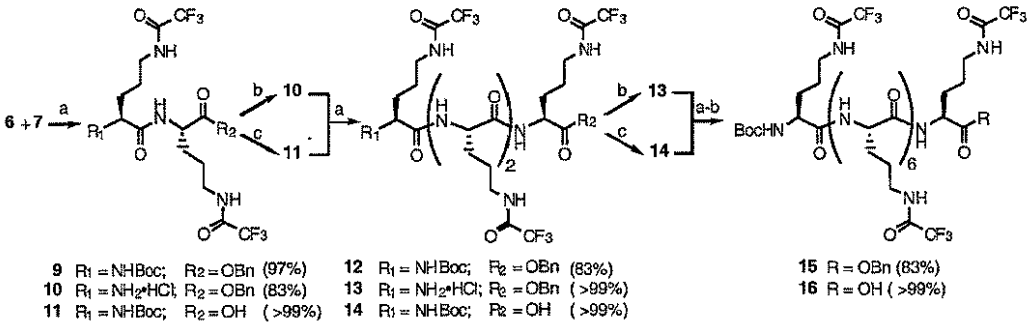
【００４７】

【化１３】



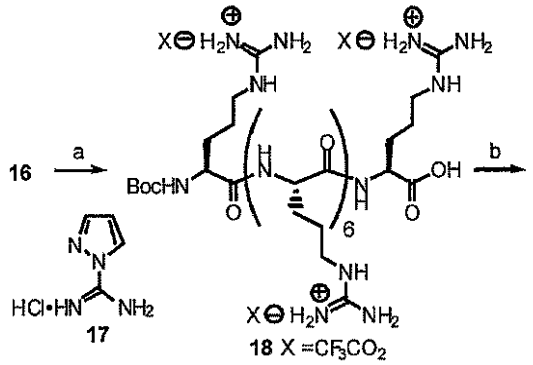
（ａ）ｉ）Ｐｄ／Ｃ，ＭｅＯＨ，Ｈ$_2$；ｉｉ）ＥｔＯ$_2$ＣＣＦ$_3$，Ｅｔ$_3$Ｎ（＞９９％）；（ｂ）ｉ）ＣｌＣ（Ｏ）ＯＢ　ＮＭＭ，ＴＨＦ　－１５℃；ｉｉ）ＤＭＡＰ（＞９９％）（ｃ）ＨＣｌ，ＥｔＯＡｃ（９８％）。

【００４８】
次いで、二方向合成は、スキーム２に示されるように、クロロ蟻酸イソブチルを６の活性化に使用し、そして塩基としてＮＭＭを使用して、酸６とアミン７とをカップリングさせることによって開始された。この反応は、円滑に進行し、以後の反応において直接使用されるようにワークアップした後、十分な純度の完全保護されたオルニチンダイマー９を９７％の収率で与えた。オルニチンダイマー９は、２つの等しい部分に分割され得る。第１の部分は、水素化され、定量的収量で１１を与えるのに対して、第２の部分は、ＨＣｌで処理され、８３％の収率でアミン塩酸塩１０を与えた。両方の化合物は、以後のカップリングに直接使用されるようにワークアップした後、十分純粋であった。
【００４９】
（スキーム２）
【００５０】
【化１４】



（ａ）ｉ）酸、ｉ－ＢｕＯＣＯＣｌ，ＮＭＭ，ＴＨＦ，ＤＭＦ；ｉｉ）アミン，ＮＭＭ；（ｂ）ＨＣｌ，ＥｔＯＡｃまたはジオキサン；（ｃ）H_2，Ｐｄ／Ｃ，ＭｅＯＨ。
【００５１】
オルニチンダイマー１０および１１は、引き続いて、クロロ蟻酸イソブチルおよびＮＭＭとカップリングされ、ワークアップおよびショートプラグのシリカゲルを通した精製において、オルニチンテトラマー１２を８３％の収率で与えた。化合物１２は、数グラム（４ｇ）スケールで酢酸エチル中に容易に可溶であった。次いで、完全に保護されたテトラマー１２は、２つの等しい部分に分割され、各々は、それぞれ、遊離酸１４およびアミン塩酸塩１３の調製のために適切な条件に供された。通常の様式（クロロ蟻酸イソブチルおよびＮＭＭ）でのカップリング１３および１４は、円滑に進行し、完全に保護されたオルニチンオクタマー１５を、８３％の収率およびその後の反応において使用されるのに十分な純度で与えた。１５の水素化は、ベンジルエステルの除去に成功し、定量的収量で遊離酸１６を与えた。
【００５２】
標的１への１６の転化は、段階的な様式（脱保護、次いで、ペルグアニジン化）でまたは単一の操作を介してのいずれかで、達成され得る。水性炭酸ナトリウムは、以前にトリフルオロアセトアミドの脱保護を実施するために使用され（Ｂｏｇｅｒら、Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．５４：２４９８－２５０２（１９８９））、そしてまたアミンのグアニジン化における試薬の１つとして使用されてきた（Ｗｅｎｄｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９７：１３００３－１３００８，（２０００）およびＢｅｒｎａｔｏｗｉｃｚら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．５７：２４９７－２５０２（１９９２））ので、単一工程処理が研究された。このようにして、水性メタノール中での炭酸ナトリウムおよびピラゾール－１－カルボキサミド塩酸塩（１７）でのオクタオルニチン誘導体１６の処理が進行し、スキーム３に示されるように、ＲＰ－ＨＰＬＣ（９９＋純度％）および凍結乾燥による精製の後に、５１％の単離収率でオクタアルギニン誘導体１８を与えた。
【００５３】
（スキーム３）
【００５４】

【化１５】



（ａ）１７，Na_2CO_3，水性ＭｅＯＨ，５５℃（５１％）；（ｂ）ＴＦＡ（＞９９％）。

【００５５】

重要なことに、８個のトリフルオロアセトアミドは、穏やかな条件下で、１つの工程で８個のグアニジンに転化された（全部で１６転化）。最後に、合成は、ＴＦＡによる１８の処理によって完了され、これにより定量的収率で、所望のオクタアルギニン生成物１を与えた。オクタアルギニン１は、全ての点において、Ｆｍｏｃベースの固相合成を使用して調製された真性サンプルに同一であった。

【００５６】

（ＩＶ．保護基および保護基除去剤）

上記されるように、本発明の方法の工程（ａ）は、複数の化学的に結合されたアミン（結合保護基を有する結合アミンの一部分）を有するオリゴマーを、保護基を除去するための保護基除去剤と接触させる工程を包含する。

【００５７】

この工程において使用される正確な条件および試薬または薬剤は、除去される保護基の性質に依存する。側鎖アミン基または化学的に結合されたアミン基の保護のために選択される保護基は、一般的に、オリゴマーの他の部分（例えば、アミノ末端またはカルボキシ末端）での保護基の存在下において除去され得る保護基である。このような保護基は、しばしば、「直交的（ｏｒｔｈｏｇｏｎａｌ）」といわれる。一般的に、試薬および条件は、ＧｒｅｅｎｅおよびＷｕｔｓ，Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，第３版，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ ＮＹ（１９９９），ならびにその中に引用された参考文献のような保護基の論文における指針に従うことによって、使用され得る。

【００５８】

本発明の１つの実施形態において、化学的に結合されたアミンの各々における保護基は、トリフルオロアセチル基、ベンジルオキシカルボニル基、およびｔ－ブトキシカルボニル基から選択される。

【００５９】

従って、保護基除去剤は、使用される保護基に従って選択される。例えば、トリフルオロアセチル基と共に使用されるために適切な保護基除去剤は、好ましくは水性アルコール溶媒中にある、より好ましくは水性メタノール中にある、炭酸ナトリウムである。同様に、好ましさは劣るが、触媒性水素化は、アミンに直接接合される、カルバミン酸ベンジル（Ｃｂｚまたは単純にＺ）基およびベンジル基を切断するために使用され得る（保護基除去剤としてH_2）。トリフルオロ酢酸のような酸は、ｔ－ブトキシカルボニル基を除去するために使用され得る。なお他の方法が、本発明に従って使用され得、当業者に周知である。

【００６０】

結合アミン上の保護基を除去する工程は、対イオンを形成し得、このようなものとしては、限定ではなく例示として、フルオレセイン、ｐＫａ＜１３を有する酸（例えば、トリフ

ルオロアセチル基（CF_3COO-））、ハロ基（Ｃｌ－、Ｆ－、Ｂｒ－、Ｉ－）、およびカルボキシレート（例えば、CH_3COO-）、カルボネート、ビカルボネート、ホスフェート、ホスホネート、スルフェート、スルホネート、スルフィド、ボレート、シリケート、ニトレート、ニトライト、フェノキシド、アジド、チオフェノキシド、ペルヨーダイドおよびハイポクロライトから誘導される基；ならびにアニオン性基（負に荷電する基）（例えば、SiF_6-およびBF_4-）が挙げられる。これらの対イオンは、単独で使用されても、ポリカルボキシレート、ポリホスフェート（核酸およびそれらのアナログにおいて見出されるような）、ポススルフェート、ポリホスフェート／ハライドの組み合わせなどに共有結合されてもよい。

【００６１】

（Ｖ．グアニジン化試薬）

上記されるように、本発明の方法の工程（ｂ）は、複数の化学的に結合されたアミンを有するオリゴマーを、グアニジン化試薬と接触させ、各々の化学的に結合されたアミンをグアニジニル基に転化し、オリゴグアニジン化合物を生成する工程を包含する。

【００６２】

アミノ基をグアニジノ基に転化する工程に有用な任意のグアニジン化試薬が、本発明において使用され得る。好ましくは、グアニジン化試薬は、ピラゾール－１－カルボキサミジンの塩である。最も好ましくは、グアニジン化試薬は、ピラゾール－１－カルボキサミジン塩酸塩である。他の適切なグアニジン化試薬は、Ｂｅｒｎａｔｏｗｉｃｚら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．５７：２４９７－２５０２（１９９２）に記載される。

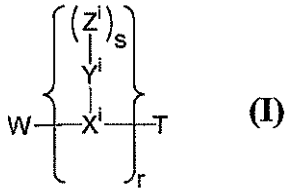
【００６３】

（ＶＩ．本発明の方法によって生成される化合物）

一般的な意味において、本発明は、以下の式（Ｉ）：

【００６４】

【化１６】



(I)

を有する化合物の調製方法を提供し、ここで、ｒは、４～２４までの整数であり；Ｔは、保護されるかまたは保護されていない水酸基であり；そしてＷは、Ｈまたは保護基である。サブユニット部分（括弧にて囲われる）において、ｓは、０または１であり；各X^iは、アミノ酸骨格サブユニット（例えば、－ＮＨ－ＣＨ－Ｃ（Ｏ）－）であり、そしてｉは、１～ｒまでの整数であり、Ｗの下流位置を示し；各Y^iは、ｓが０の場合、Ｈ、アミノ酸側鎖、アリール、およびヘテロアリールから選択されるか；またはｓが１の場合、C_{1-8}アルキレン、C_{2-8}アルケニレン、C_{2-8}アルキニレン、C_{2-8}ヘテロアルキレン、C_{3-8}シクロアルキルアルキレン、C_{2-8}スピロシクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、およびこれらの組み合わせであり；各Z^iは、グアニジノ基またはグアニジウム基である。

【００６５】

例えば、本明細書中に記載される二方向合成方法は、オリゴアルギニン化合物（例えば、４、８、または１６個のアルギニン残基のポリマー）および一定間隔を空けたアルギニン化合物（例えば、式$(X^0-Arg-X^0)_q$または$(X^0-Arg)_q$を有する化合物であり、ここで、ｑは、整数であり、代表的には、２、４、６、８など、より好ましくは、２、４、６、８、または１６などの偶数であり、各X^0は、アルギニンでもグアニジンを含むアミノ酸でもないアミノ酸である）の調製に適用され得る。１つの実施形態において、Ａｒｇは、Ｄ－アルギニン、Ｌ－アルギニン、Ｄ－ホモアルギニンまたはＬ－ホモアルギニンである。

【００６６】
従って、本発明を使用して、例えば、Ｌ－アルギニン（Ｒ７またはＲ８）、Ｄ－アルギニン（ｒ７またはｒ８）、（Ｇｌｙ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ）－（Ｇｌｙ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ）－（Ｇｌｙ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ）－（Ｇｌｙ－Ａｒｇ－Ｇｌｙ）（ここで、Ｇｌｙ－Ａｒｇ－Ｇｌｙは反復単位である）のヘプタマーまたはオクタマー、およびより短いオリゴマーまたはより長いオリゴマー（代表的に、４～２０個のグアニジノ含有サブユニットを有する）を調製し得る。この様式において、本発明の方法を使用して、本質的に８～１６アミノ酸残基（ここで、４～８個の残基がアルギニン残基である）からなる化合物を含む、種々のオリゴグアニジン化合物を調製し得る。
【００６７】
無論、末端官能基（ＷおよびＴ）のさらなる詳細は、保護された連結基または保護されていない連結基、あるいは生物学的に活性な薬剤が結合された連結基を有する化合物を導き得る。
【００６８】
さらに他の実施形態において、生成されるオリゴグアニジン化合物は、少なくとも４個、好ましくは少なくとも６個、そしてさらに好ましくは少なくとも８個のアルギニン残基を有する。ここで、各々のアルギニン残基は、天然に存在するアルギニンのＤ異性体またはＬ異性体のいずれかである。これらのアルギニン残基は、連続であり得るかまたは不連続であり得る。例えば、このオリゴグアニジン化合物は、少なくとも４個以上の連続するアルギニン残基を有し得るか、またはこの化合物は、４個以上の不連続のアルギニン残基を有し得る。
【００６９】
別の実施形態において、生成されるオリゴグアニジン化合物は、ポリトリフルオロ酢酸塩に転換される。一般的に、この転換は、代表的には水性混合物または水性／有機性混合物において、オリゴグアニジン化合物を適切な量のトリフルオロ酢酸と接触させることによって達成される。
【００７０】
上記のカップリング、分割および活性化、カップリング方法は、オリゴグアニジン化合物を生成することにおいて特定の有用性を見出し、ここで、各サブユニットまたは各モノマーは、オルニチン（または他の化学的に結合されたアミンを含むアミノ酸）および化学的に結合された側鎖アミンを有さない１つまたは２つのアミノ酸が隣接したオルニチンから選択される。従って、本発明の１つの実施形態において、調製されるオリゴアルギニン化合物は、$(X^0-Arg-X^0)_t$および$(X^0-Arg)_t$（ここで、各X^0はグアニジノ部分を有さないアミノ酸残基であり；各ＡｒｇはＤ－アルギニンおよびＬ－アルギニンからなる群より選択され；そしてｔは４、８、１６、３２などから選択される整数であるが、好ましくは４、８または１６である）からなる群から選択される式を有する。当業者は、この後者の群のオリゴアルギニン化合物を調製するために使用されるオルニチンモノマーが、$(X^0-Orn^P-X^0)_t$および$(X^0-Orn^P)_t$（ここで、各Orn^Pは適切に保護されたオルニチンを指し、そしてX^0はグアニジノ部分も側鎖アミノ基も有さないアミノ酸残基（例えば、リジン）である）から選択される式を有するサブユニットであることを理解する。好ましくは、各X^0は、グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノ吉草酸、および６－アミノカプロン酸からなる群より選択される。なおさらに好ましい実施形態において、オリゴアルギニン化合物は、$(X^0-Arg)_t$の式を有し、各X^0は、グリシン、β－アラニン、４－アミノ酪酸、５－アミノ吉草酸、および６－アミノカプロン酸の群より選択され、そしてｔは８または１６である。さらに好ましい実施形態において、オリゴアルギニン化合物は、Ｄ－アルギニンのオクタマーであるかまたは$(X^0-Arg)_u$の式を有し、ここで各X^0はグリシンであり、ＡｒｇはＤ－Ａｒｇであり、そしてｔは８である。
【００７１】
（ＶＩＩ．本発明の方法によって作製される化合物との結合体）

上記のように、オリゴグアニジン化合物は、輸送因子としての有用性を見出す。従って、本発明はまた、本明細書中に記載されるオリゴグアニジン化合物に関する。この化合物は治療剤（これは、活性な薬剤およびそのプロドラッグを含む）と化学的に結合される。

【００７２】

オリゴグアニジン化合物は、以下に例示されるように、種々の異なる方法で治療剤と結合され得る。ここで、Ｔは本発明のオリゴグアニジントランスポーターであり、Ｄは適切な治療剤であり、Ｌはリンカーであり、ＲＬは放出可能リンカー（例えば、インビボで切断可能）であり、そしてＰＤはプロドラッグである：

トランスポーター－薬物の結合体（Ｔ－Ｄ）→Ｔ－Ｄ（ここで、Ｔ－Ｄが活性である）；

トランスポーター－リンカー－薬物の結合体（Ｔ－Ｌ－Ｄ）→Ｔ－Ｌ－Ｄ（ここで、Ｔ－Ｌ－Ｄが活性である）；

トランスポーター－放出可能リンカー－薬物の結合体（Ｔ－ＲＬ－Ｄ）→ＲＬ＋Ｄ（ここで、Ｔ－ＲＬは切断され、そしてＤが活性である）；

トランスポーター－放出可能リンカー－プロドラッグの結合体（Ｔ－ＲＬ－ＰＤ）→Ｔ－ＲＬ＋ＰＤ→Ｄ（ここで、Ｄが活性である）。

上記例に注記されるように、治療剤は多くの方法（これは直接結合（例えば、カルボジイミドとの直接結合）を含むか、または連結部分による）で本発明の輸送因子に連結され得る。特に、カルバメート結合、エステル結合、チオエーテル結合、ジスルフィド結合、およびヒドラゾン結合は、一般的に、形成が容易であり、そしてほとんどの適用に適切である。さらに、種々の官能基（例えば、ヒドロキシル、アミノ、ハロゲンなど）を使用して、治療剤を輸送因子に結合させ得る。副反応を最小にするのに役立つように、グアニジノ部分は、従来の保護基（例えば、カルボベンジルオキシ基（ＣＢＺ）、ジ－ｔ－ＢＯＣ、ＰＭＣ、Ｐｂｆ、Ｎ－NO_2など）を使用してブロックされ得る。結合された輸送因子が放出されるまで不活性な治療剤のために、リンカーは、好ましくは容易に切断可能なリンカーであり、このことは、そのリンカーがインビボで酵素的切断または溶媒媒介性切断に感受性であることを意味する。この目的のために、カルボン酸エステル結合およびジスルフィド結合を含むリンカーが好ましく、ここで、前者の基は酵素的かまたは化学的に加水分解され、そして後者の基は、例えばグルタチオンの存在下でのジスルフィド交換によって切断される。

【００７３】

前出のいずれかの非共有結合バリエーションもまた本発明によって企図され、例えば：

トランスポーター－薬物複合体（Ｔ・・Ｄ）→Ｔ＋Ｄ（ここで、Ｄが活性である）。

【００７４】

本発明の輸送因子から利益を受け得る治療剤としては、有機低分子および高分子（例えば、核酸、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、ペプチド、ポリペプチドおよびタンパク質）の両方が挙げられる。例示的な治療剤としては、局所的または全身性の抗癌剤、抗生物質、アンチセンス薬物、プロテアーゼインヒビターなどが挙げられる。さらに、本発明のトランスポーター化合物と共に使用され得る多くの放出可能なリンカーが存在する（例えば、ホスファターゼ、プロテアーゼ、エラスターゼ、酸化還元化合物、光化学薬剤、求核剤、酸性化合物など）。治療剤の放出は、酵素的作用および非酵素的作用の結果であり得る。

【実施例】

【００７５】

(実施例)

本発明の実施は、他に示されない限り、有機合成化学、生化学などの従来の技術を使用し、これらの技術は当業者の範囲内である。これらのような技術は、文献に完全に説明される。例えば、Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｍ．Ｊ．Ｇａｉｔ編、１９８４）；Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ（Ｂ．Ｄ．ＨａｉｎｅｓおよびＳ．Ｊ．Ｈｉｇｇｉｎｓ編、１９８４）；Ｋｉｒｋ－ＯｔｈｍｅｒのＥｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ；ならびにＨ

ｏｕｓｅのＭｏｄｅｒｎ　Ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ　Ｒｅａｃｔｉｏｎｓを参照のこと。

【００７６】

以下の実施例は、当業者に、本発明の組成物／化合物／方法を作製および使用する方法の完全な開示かつ説明を提供するように記載されている。数（例えば、量、温度など）に関する正確性を保証するための試みがなされているが、もちろん、いくらかの実験的な誤差および偏差が許容されるべきである。他に示されない場合、部とは重量部であり、温度とは摂氏の度であり、そして圧力は大気圧であるかまたは大気圧に近い。全ての成分は、他に示されない場合、購入して入手した。

【００７７】

（一般的な方法）

ＢｏｃＮＨ－Ｏｒｎ（Ｚ）－ＯＨ（４）を、Ｎｏｖａｂｉｏｃｈｅｍから購入した。全ての試薬および溶媒を、商業的供給源から購入し、そしてさらなる精製なしに利用した。分析的ＴＬＣを、蛍光指示薬（２５４ｎｍ）と共に０．２５ｍｍのシリカゲル６０Ｆプレートを用いて実施した。プレートを、紫外線およびモリブデン酸アンモニウム染色（９０ｇのモリブデン酸アンモニウム、６ｇの硫酸セリウムおよび１８００ｍＬの１０％ H_2SO_4 を混合することによって調製した）または過マンガン酸カリウム染色（８ｇの$KMnO_4$、６０ｇのK_2CO_3、１６ｍＬの５％ ＮａＯＨおよび９００ｍＬのH_2Oを混合することによって調製した）のいずれかによる処理によって視認可能とした。ＲＰ－ＨＰＬＣを、生成物を紫外線（λ＝２１４ｎｍ）検出を用いて、調製的カラム（Ａｌｌｔｅｃ　Ａｌｌｔｉｍａ　Ｃ１８、２５０×２２ｍｍ）または分析的カラム（Ｖｙｄａｋ　Ｃ１８、１５０×４．６ｍｍ）のいずれかを使用してＶａｒｉａｎ　ＰｒｏＳｔａｒ　２１０／２１５　ＨＰＬＣを用いて実施した。この生成物を、溶媒勾配（溶媒Ａ＝０．１％　ＴＦＡ／H_2O；溶媒Ｂ＝０．１％　ＴＦＡ／CH_3CN）を利用して溶出させた。融点を、Ｔｈｏｍａｓ　Ｈｏｏｖｅｒ単一融解装置を利用する開管キャピラリーチューブ中で測った。ＮＭＲスペクトルを、Ｖａｒｉａｎ　ＧＥＭ－３００（３００ＭＨｚでの^{1}Ｈ　ＮＭＲ；７５ＭＨｚでの^{13}Ｃ　ＮＭＲ）磁気吸収スペクトルメーターで測定した。^{1}Ｈ　ＮＭＲスペクトルについてのデータを以下のように報告する：化学シフト、多重度（Ｓ＝一重項、ｂｒ　ｓ＝幅広な一重項、ｄ＝二重項、ｔ＝三重項、ｑ＝四重項、およびｍ＝多重項）、積分、および結合定数（Ｈｚ）。^{13}Ｃ　ＮＭＲについてのスペクトルを、残存の溶媒ピーク（Ｄ６－ＤＭＳＯ＝３９．５またはCD_3CN＝１．３）に関する化学シフトによって記録する。赤外スペクトルを、Ｐｅｒｋｉｎ－Ｅｌｍｅｒ　１６００　Ｓｅｒｉｅｓ　ＦＴＩＲで報告した。高解像度質量分析（ＨＲＭＳ）を、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　ｏｆ　Ｃａｒｉｆｏｒｎｉａ、Ｓａｎ　ＦｒａｎｃｉｓｃｏのＮＩＨの地域の質量分析施設で記録した。電子スプレーイオン化を利用する質量分析（ＥＳ－ＭＳ）を、Ｆｉｎｎｉｇａｎ　ＬＣＱ四重極イオントラップ質量分析計を利用して、Ｓｔａｎｆｏｒｄ　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙの質量分析ラボで記録した。

【００７８】

（一般手順Ａ：Ｂｏｃ－アミドの脱保護）

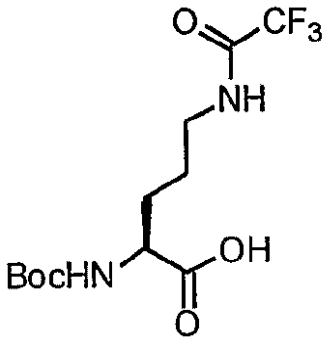
ＥｔＯＡｃ（１５０ｍＬ）またはジオキサン（３００ｍＬ）中のＢｏｃ－アミド（５．０ｍｍｏｌ）の室温（ＲＴ）の撹拌溶液に、ＨＣｌガス（レクチャーボトル（ｌｅｃｔｕｒｅ　ｂｏｔｔｌｅ）から）をバブリングした。この反応混合物を、ＴＬＣが出発物質の消費を示すまで、撹拌した。溶媒の濾過またはエバポレートのいずれかによって、この反応混合物（沈殿物を含有）から所望の生成物を得、これをさらに精製することなく使用した。

【００７９】

（一般手順Ｂ：ベンジルエステルの脱保護）

ＭｅＯＨ（１５０ｍＬ）中のベンジルエステル（５．０ｍｍｏｌ）の脱気溶液に、Ｐｄ／Ｃ（１０％　Ｐｄ、２５０ｍｇ、０．２３ｍｍｏｌ）を添加し、続いて水素ガス（１ａｔｍ、風船）を添加した。この反応混合物を、ＴＬＣが出発物質の完全な消費を示すまで、室温で撹拌した。次いで、この反応混合物をＣｅｌｉｔｅを通して濾過し、そして溶媒を

減圧下で除去して、所望の生成物を得、これをさらに精製することなく使用した。
【００８０】
（一般手順Ｃ：アミドカップリング）
ＴＨＦ（１０ｍＬ）中の酸（１０ｍｍｏｌ）の室温の撹拌溶液に、ＤＭＦ（２００ｍＬ）およびＮＭＭ（１０．５ｍｍｏｌ）を添加した。この反応混合物を、－４０℃まで冷却し、次いで、ＴＨＦ（１０ｍＬ）中のクロロギ酸イソブチル（１０．５ｍｍｏｌ）の溶液で処理した。－４０℃で１時間撹拌した後、この反応混合物を、ＤＭＦ（２０ｍＬ）中のアミン（１０ｍｍｏｌ）およびＮＭＭ（１０ｍｍｏｌ）の溶液で処理した。次いで、この反応混合物を、室温までゆっくりと加温し、そしてＴＬＣが初めの酸の消費を示すまで、撹拌した。次いで、この反応混合物を、多量のＥｔＯＡｃ（１Ｌ）および水（１Ｌ）で処理した。有機層を分離し、そして水層をＥｔＯＡｃ（２×５００ｍＬ）で抽出した。合わせた有機相を、ＨＣｌ水溶液（０．１Ｍ、２×５００ｍＬ）、$NaHCO_3$水溶液（５％ｗ／ｖ、２×５００ｍＬ）、ブライン（２×５００ｍＬ）で洗浄し、そして硫酸マグネシウムで乾燥した。このようにして得た粗物質を、次いで、示されるようにしてさらに精製して、所望の生成物を得た。
【００８１】
（実施例１）
（ＢｏｃＮＨ－Ｏｒｎ（$COCF_3$）－CO_2H（６）の合成）
【００８２】
【化１７】



ＭｅＯＨ（２５０ｍＬ）中の酸４（２５ｇ、６８ｍｍｏｌ）の脱気した溶液に、Ｐｄ／Ｃ（１０％　Ｐｄ、３５０ｍｇ、０．３３ｍｍｏｌ）を添加し、続いて、水素ガス（１ａｔｍ、風船）を添加した。この反応混合物を、室温で１２時間（ＴＬＣが出発物質の完全な消費を示すまでの時間）撹拌した。次いで、この水素の風船を取り外し、そしてＭｅＯＨ（１００ｍＬ）、トリフルオロ酢酸エチル（１４．６ｇ、１０３ｍｍｏｌ）、およびEt_3N（１３．８ｇ、１３６ｍｍｏｌ）を添加した。この反応混合物をさらに９時間撹拌し、そして得られた黒色の懸濁液を、Ｃｅｌｉｔｅを通して濾過した。次いで、この溶媒の一部を、減圧下で除去した。残りの溶液（１００ｍＬ）を、水（１５０ｍＬ）およびＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）で処理した。有機層を除去し、次いで、ＨＣｌ水溶液（２Ｍ）を添加することによって、水層を慎重に酸性化した。この水層を、ＥｔＯＡｃ（５×８０ｍＬ）で抽出し、次いで、合わせた有機抽出物を、ＨＣｌ水溶液（０．１Ｍ、４×２００ｍＬ）、ブライン（２００ｍＬ）で洗浄し、そして硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧下で除去して、所望の生成物６を、粘性の油状物として得た（２２．４ｇ、６８ｍｍｏｌ、定量的収率）：（Ｓａｋａｒｅｌｌｏｓら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．４３：２９３－２９６（１９７８）、粘性の油状物）；R_f＝０．６５（６５：３１：４　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン／ＡｃＯＨ）；
【００８３】
【化１８】

^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 12.50 (br s, 1 H), 9.41 (t, 1 H, J = 3.2 Hz), 7.11 (d, 1 H, J = 4.8 Hz), 3.84-3.87 (m, 1 H), 3.15-3.19 (m, 2 H), 1.51-1.69 (m, 4 H), 1.38 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 174.1, 156.2 (q, J = 35 Hz), 155.7, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.1, 53.2, 38.9, 28.2, 25.2 ppm;

ＩＲ（薄膜）３３１６，１７０９ｃｍ$^{-1}$；ＨＲＭＳ（Ｍ－Ｂｏｃ，$C_7H_{10}F_3N_2O_3$）：計算値　２２７．０６４４、実測値　２２７．０６５８。

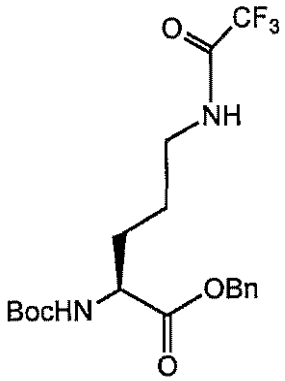
【００８４】

（実施例２）

（ＢｏｃＮＨ－Ｏｒｍ（ＣＯＣＦ$_3$）－ＣＯ$_2$Ｂｎ（８）の合成）

【００８５】

【化１９】



公知の手順の改変に従う（Ｋｉｍら、Ｊ．Ｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．１９８５　５０，５６０－５６５）。ＴＨＦ（１００ｍＬ）中の酸６（１１．３ｇ、３４．６ｍｍｏｌ）の室温の撹拌溶液に、ＮＭＭ（３．５０ｇ、３４．６ｍｍｏｌ）を添加し、そしてこの反応混合物を、－１５℃まで冷却した（ＮａＣｌ／氷／水浴）。この冷却した反応混合物に、ＴＨＦ（５ｍＬ）中のクロロギ酸ベンジル（６．１７ｇ、３６．１ｍｍｏｌ）の溶液を添加した。－１５℃で２分間撹拌した後、この反応混合物を０℃まで加温し（氷／水浴）、そして１５分間撹拌した。この反応混合物に、ＤＭＡＰ（１．０５ｇ、８．６５ｍｍｏｌ）を添加し、そしてこの反応混合物を室温まで加温して、２時間撹拌した。次いで、この反応混合物を、ＥｔＯＡｃ（１００ｍＬ）、水（１００ｍＬ）で処理し、ＨＣｌ水溶液（１Ｍ）で慎重に酸性化した。有機層を分離し、そしてＨＣｌ水溶液（０．１Ｍ、２×５０ｍＬ）で洗浄した。次いで、合わせた水層をＥｔＯＡｃ（２×１００ｍｌ）で抽出した。次いで、合わせた有機層を、ＮａＨＣＯ$_3$水溶液（５％ｗ／ｖ、４×５０ｍＬ）、ブライン（１００ｍＬ）で洗浄し、そして硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下で溶媒を除去して、所望の生成物８を、白色の非結晶性固体として得た（１４．２ｇ、３３．９ｍｍｏｌ、収率９８％）：ｍｐ　７２～７３．５℃；R_f＝０．５８（３：７　ＥｔＯＡｃ／ヘキサン）；

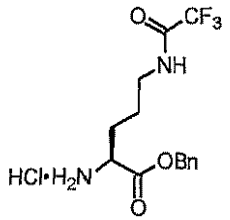
【００８６】

【化２０】

^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.39 (t, 1 H, J = 5.1 Hz), 7.32-7.37 (m, 5 H), 5.04-5.16 (m, 2 H, 回転異性体), 3.94-4.06 (m, 1 H), 3.12-3.18 (m, 2 H), 1.45-1.70 (m, 4 H), 1.36 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 172.4, 156.2 (q, J = 35 Hz), 155.6, 136.0, 128.4, 128.0, 127.7, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.3, 65.8, 53.4, 28.2, 27.8, 25.0 ppm (残余 D_6-DMSOにより不明瞭な $\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ ピーク);

ＩＲ（薄膜）３３３３，１７０９ｃｍ$^{-1}$；ＨＲＭＳ（Ｍ＋２Ｈ－Ｂｏｃ、$C_{14}H_{18}F_3N_2O_3$）計算値　３１９．１２７０，実測値　３１９．１２１５。

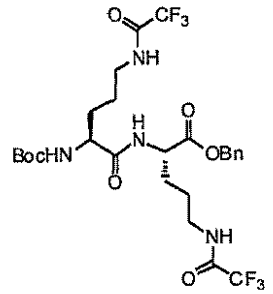
【００８７】
（実施例３）
（ＨＣｌ・NH_2－Ｏｒｎ（$COCF_3$）－CO_2Ｂｎ（７）の合成）
【００８８】
【化２１】



保護化オルニチン６（１４．２ｇ、３３．９ｍｍｏｌ）、ＥｔＯＡｃ（１５０ｍＬ）、および反応時間＝１２時間を用いる一般的手順Ａ。溶媒のエバポレーションによって、所望の生成物７を白色粉末（１２．０ｇ、３３．８ｍｍｏｌ、定量的収率）として得た：
【００８９】
【化２２】

mp 187-188 °C; R_f = 0.33 (25:1 EtOAc/Et_3N); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.61 (t, 1 H, *J* = 3.3 Hz), 8.71 (br s, 3 H), 7.36-7.43 (m, 5 H), 5.24 (s, 2 H), 4.11 (t, 1 H, *J* = 3.8 Hz), 3.17-3.21 (m, 2 H), 1.81-1.86 (m, 2H), 1.62-1.68 (m, 1 H), 1.52-1.56 (m, 1 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 169.3, 156.3 (q, *J* = 35 Hz), 135.2, 128.5, 128.4, 116.0 (q, *J* = 286 Hz), 67.1, 51.6, 38.5, 27.4, 24.0 ppm; IR (**薄膜**) 3314, 3211, 1740, 1699 cm^{-1}; HRMS **計算値** (M + H, $C_{14}H_{18}F_3N_2O_3$) 319.1270, **実測値** 319.1257。

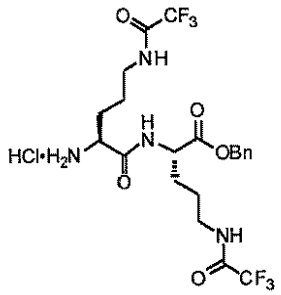
（実施例４）
（ＢｏｃＮＨ－（Ｏｒｎ（$COCF_3$））$_2$－CO_2Ｂｎ（９）の合成）
【００９０】
【化２３】



酸６（４．６９ｇ、１４．３ｍｍｏｌ）およびアミン７（５．０１ｇ、１４．３ｍｍｏｌ）を用いる一般的手順Ｃ。ワークアップ後、減圧での溶媒除去によって、所望の生成物９を白色粉末（８．７５ｇ、１３．９ｍｍｏｌ、９７％収率）として得た：
【００９１】
【化２４】

mp 160-162°C; R_f = 0.80 (1:1 EtOAc/ヘキサン); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.44 (t, 1 H, *J* = 3.2 Hz), 9.40 (t, 1 H, *J* = 3.2 Hz), 8.27 (d, 1 H, *J* = 4.2 Hz), 7.32-7.39 (m, 5 H), 6.90 (d, 1 H, *J* = 4.8 Hz), 5.11 (s, 2 H), 4.31-4.35 (m, 1 H), 3.94 (br m, 1 H), 3.10-3.19 (m, 4 H), 1.72-1.76 (m, 1 H), 1.37-1.66 (m, 7 H), 1.37 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 172.4, 171.7, 156.3 (q, *J* = 35 Hz), 155.3, 135.9, 128.4, 128.1, 116.0 (q, *J* = 286 Hz), 78.1, 66.0, 53.7, 51.6, 29.2, 28.2, 28.1, 25.0, 24.8 ppm (残留D_6-DMSOによって不明瞭な $\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ピーク); IR (薄膜) 3313, 1704 cm^{-1}; HRMS 計算値 (M + 2 H – Boc, $C_{21}H_{27}F_6N_4O_5$) 529.1886, 実測値 529.1889。

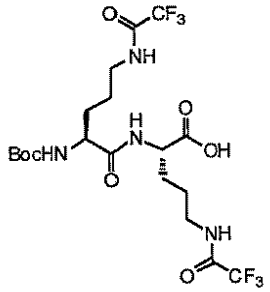
（実施例５）
（ＨＣｌ・NH_2－（Ｏｒｎ（ＣＯＣＦ$_3$））$_2$－CO_2Ｂｎ（１０）の合成）
【００９２】
【化２５】



ジ－オルニチン９（３．８ｇ、６．０ｍｍｏｌ）、ＥｔＯＡｃ（１５０ｍＬ）、反応時間＝１２時間を用いる一般的手順Ａを参照のこと。反応混合物の濾過、固体の洗浄（ＥｔＯＡｃ）、および減圧での乾燥後、所望の生成物１０を、白色粉末（２．９ｇ、５．０ｍｍｏｌ、８３％収率）として得た：
【００９３】
【化２６】

mp 191-194°C; ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.52-9.64 (m, 2 H), 9.04-9.11 (m, 1 H), 8.35 (br s, 3 H), 7.30-7.38 (m, 5 H), 5.12 (s, 2 H), 4.32-4.40 (m, 1 H), 3.80-3.88 (m, 1 H), 3.06-3.25 (m, 4 H), 1.49-1.84 (m, 8 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 171.2, 168.9, 156.3 (q, *J* = 35 Hz), 135.8, 128.5, 128.2, 128.0, 116.0 (q, *J* = 286 Hz), 66.2, 51.8, 51.6, 38.6, 28.5, 27.8, 24.7, 23.8 ppm (残留 D_6-DMSOによって不明瞭な $\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ピーク); IR (薄膜) 3305, 1701, 1659 cm^{-1}; HRMS 計算値 (M + H, $C_{21}H_{27}F_6N_4O_5$) 529.1886, 実測値 529.1881。

（実施例６）
（ＢｏｃＮＨ－（Ｏｒｎ（ＣＯＣＦ$_3$））$_2$－CO_2Ｈ（１１）の合成）
【００９４】
【化２７】



保護化ジーオルニチン９（３．８ｇ、６．０ｍｍｏｌ）および反応時間＝１２時間を用いる一般的手順Ｂを参照のこと。ワークアップ後、所望の生成物１１を白色泡状物（３．３ｇ、６．０ｍｍｏｌ、定量的収率）として得た：

【００９５】

【化２８】

mp 149-151°C; R_f = 0.44 (65:31:4 EtOAc/ヘキサン/AcOH);

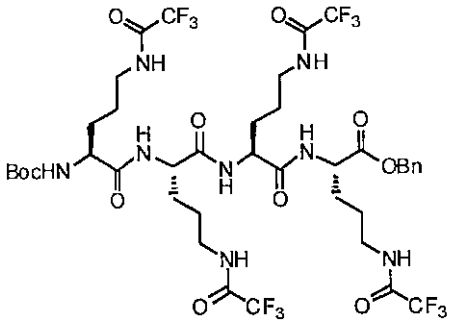
^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.35-9.48 (m, 2 H), 8.00-8.06 (m, 1 H), 6.85-6.93 (m, 1 H), 4.14-4.23 (m, 1 H), 3.86-3.94 (br m, 1 H), 3.12.3.22 (m, 4 H), 1.44-1.76 (m, 8 H), 1.35 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 173.4, 172.1, 157.0 (q, J = 35 Hz), 155.3, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.1, 53.8, 51.4, 39.0, 38.8, 29.2, 28.4, 28.2, 25.0, 24.8 ppm; IR (**薄膜**) 3309, 1713 cm^{-1}; HRMS **計算値** ($M - t$-BuO, $C_{15}H_{19}F_6N_4O_6$) 465.1209, **実測値** 465.1205。

（実施例７）

（ＢｏｃＮＨ－（Ｏｒｎ（ＣＯＣＦ$_3$））$_4$－ＣＯ$_2$Ｂｎ（１２）の合成）

【００９６】

【化２９】



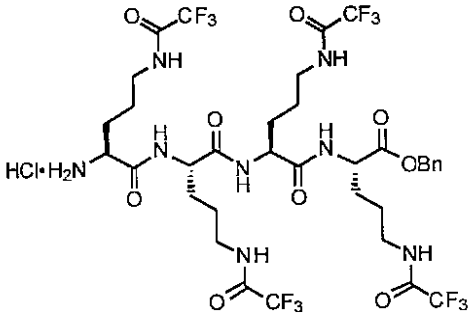
酸１１（２．６０ｇ、４．８２ｍｍｏｌ）およびアミン１０（２．７２ｇ、４．８２ｍｍｏｌ）を用いて一般手順Ｃを参照のこと。ワークアップ後、粗製固体を溶液（９：１　ＥｔＯＡｃ／ＭｅＯＨ）中に取り、シリカゲルのショートプラグを通過させた。減圧下での溶媒の除去により、白色粉末として所望の生成物１２（４．２０ｇ、４．００ｍｍｏｌ、収率８３％）を得た：

【００９７】

【化３０】

mp 197-198°C; R_f = x (溶媒); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 8.72-8.77 (m, 4 H), 7.72 (d, 1 H, J = 7.5 Hz), 7.39 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 7.17 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 6.66-6.73 (m, 5 H), 6.33 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 4.45 (s, 3 H), 3.95 (m, 1H), 3.15 (m, 8H), 1.30-1.74 (m, 25H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 172.3, 171.9, 171.6, 171.2, 156.2 (q, J = 35 Hz), 155.4, 135.9, 128.4, 128.1, 127.9, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.2, 66.0, 54.0, 51.8, 51.7, 51.6, 29.8, 29.6, 29.0, 28.1, 27.9, 25.0, 24.8, 24.7, 18.9 ppm (残余のD_6-DMSOにより隠された $\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ ピーク); IR (薄層) 3306, 1707 cm^{-1}; HRMS 計算値 (M + H, $C_{40}H_{53}F_{12}N_8O_{11}$) 1049.4, 実測値 1049.0.

（実施例８）
（ＨＣｌ・NH_2－（Ｏｒｎ（ＣＯＣＦ$_3$））$_4$－CO_2Ｂｎ（１３）の合成）
【００９８】
【化３１】

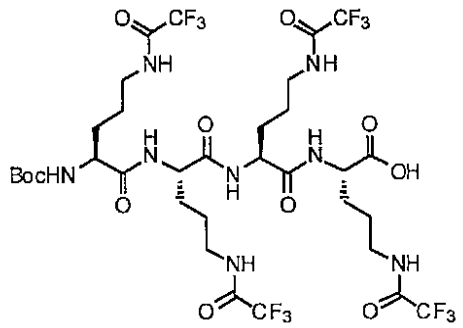


保護されたテトラオルニチン１２（２．０ｇ、１．９ｍｍｏｌ）、ジオキサン（３００ｍＬ）、および反応時間＝１８時間を用いて一般手順Ａを参照のこと。減圧下での溶媒の濃縮の後、所望の生成物１３を、黄色アモルファス固体（１．９ｇ、１．９ｍｍｏｌ、定量的収率）として得た：
【００９９】
【化３２】

mp 238-240°C; ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.44-9.51 (m, 4 H), 8.62 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 8.44 (d, 1 H, J = 7.2 Hz), 8.15-8.20 (m, 4 H), 7.30-7.35 (m, 5 H), 5.09 (s, 2 H), 4.26-4.35 (m, 3 H), 3.75-3.81 (m, 1 H), 3.10-3.20 (m, 8 H), 1.40-1.72 (m, 16 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 171.7, 171.6, 170.8, 168.3, 156.2 (q, J = 36 Hz), 135.8, 128.4, 128.1, 127.8, 116.0 (q, J = 286 Hz), 66.4, 66.0, 52.2, 51.9, 51.7, 29.6, 29.5, 28.64, 28.56, 27.9, 24.8, 24.7, 24.0 ppm (残余のD_6-DMSOにより隠された$\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ ピーク); IR (nujol mull) 3302, 2914, 1702, 1671, 1641, 1562, 1528, 1461, 1377, 1182, 724 cm^{-1}; ES-MS (+ イオン化) 計算値 (M + H, $C_{35}H_{45}F_{12}N_8O_9$) 949.3, 実測値 949.4.

（実施例９）
（ＢｏｃＮＨ－（Ｏｒｎ（ＣＯＣＦ$_3$））$_4$－CO_2Ｈ（１４）の合成）
【０１００】

【化３３】



保護されたテトラオルニチン１２（２．０ｇ、１．９ｍｍｏｌ）および反応時間＝１６時間を用いて一般手順Ｂを参照のこと。ワークアップの後、所望の生成物１４を、白色発泡体（１．８ｇ、１．９ｍｍｏｌ、定量的収率）として得た：

【０１０１】

【化３４】

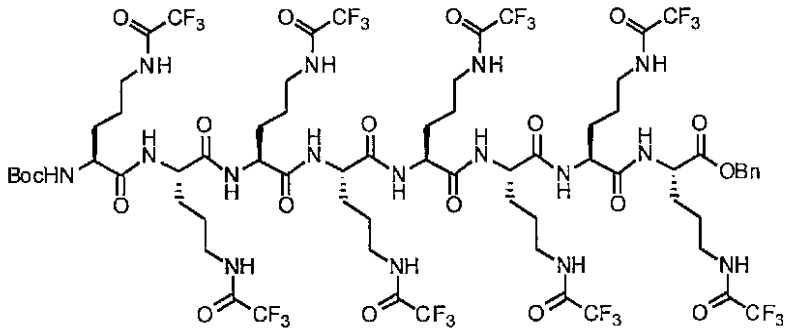
mp 90-105°C; R_f = 0.34 (65:31:4 EtOAc/ ﾍｷｻﾝ /AcOH); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.34-9.43 (m, 4 H), 8.17 (d, 1 H, *J* = 7.5 Hz), 8.02 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 7.82 (d, 1 H, *J* = 8.1 Hz), 6.98 (d, 1 H, *J* = 7.8 Hz), 4.23-4.30 (br m, 2 H), 4.12-4.18 (m, 1 H), 3.85-3.90 (m, 1 H), 3.10-3.18 (br m, 8 H), 1.47-1.68 (m, 16 H), 1.35 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 173.2, 171.9, 171.4, 171.2, 156.2 (q, *J* = 35 Hz), 155.4, 116.0 (q, *J* = 286 Hz), 78.2, 54.0, 51.9 (2 C), 51.5, 39.4, 38.8, 29.8, 29.6, 29.0, 28.3, 28.1, 25.0, 24.9, 24.8, 24.7 ppm (残余のD_6-DMSO により隠された $\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$); IR (薄層) 3306, 1709, 1664 cm^{-1}; ES-MS (+ イオン化) 計算値 (M + H, $C_{33}H_{47}F_{12}N_8O_{11}$) 959.3, 実測値 959.3.

（実施例１０）

（ＢｏｃＮＨ－（Ｏｒｎ（ＣＯＣＦ$_3$））$_8$－ＣＯ$_2$Ｂｎ（１５）の合成）

【０１０２】

【化３５】



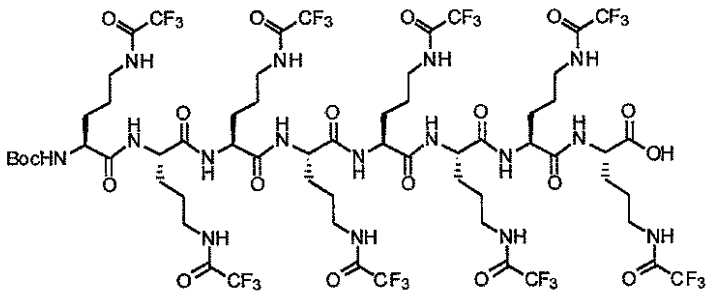
酸１４（３００ｍｇ、０．３１３ｍｍｏｌ）およびアミン１３（３０８ｍｇ、０．３１３ｍｍｏｌ）を用いて一般手順Ｃを参照のこと。ワークアップの後、所望の生成物（１５）を、白色アモルファス固体（４９０ｍｇ、０．２５９ｍｍｏｌ、収率８３％）として得た：

【０１０３】

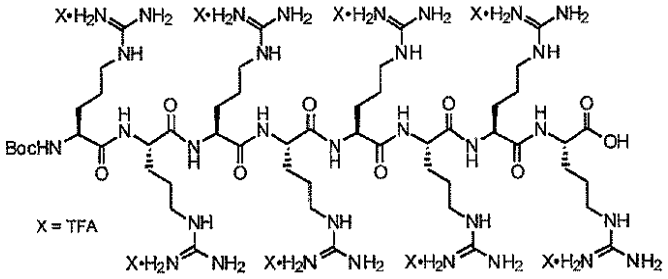
【化３６】

mp 225-226°C (dec); R_f = 0.75 (95:5 EtOAc/MeOH); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.30-9.45 (m, 7 H), 8.37 (d, 1 H, *J* = 6.6 Hz), 7.90-8.08 (m, 4 H), 7.84 (d, 1 H, *J* = 7.5 Hz), 7.25-7.36 (m, 5 H), 6.97 (m, 1 H, J = 7.5 Hz), 5.09 (s, 2 H), 4.20-4.35 (m, 7 H), 3.82-3.91 (m, 1 H), 2.99-3.18 (m, 16 H), 1.25-1.80 (m, 32 H), 1.35 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 172.0, 171.7, 171.6, 171.4, 171.3, 171.2, 156.3 (q, *J* = 35 Hz), 155.4, 135.9, 128.4, 128.1, 127.9, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.2, 66.0, 54.1, 52.1, 51.8, 51.7, 29.7, 29.4, 29.0, 28.1, 28.0, 25.0, 24.8, 18.9 ppm (残余のD_6-DMSO により隠された $\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$); IR (薄層) 3293, 3100, 2944, 1705, 1659, 1548, 1444, 1370, 1156 cm^{-1}; ES-MS (+ イオン化) 計算値 (M + H, $C_{68}H_{89}F_{24}N_{16}O_{19}$) 1889.6, 実測値 1889.2.

（実施例１１）
（ＢｏｃＮＨ－（Ｏｒｎ（ＣＯＣＦ$_3$））$_8$－ＣＯ$_2$Ｈ（１６）の合成）
【０１０４】
【化３７】



保護化オクタオルニチン１５（３６ｍｇ，０．０１９ｍｍｏｌ）、Ｐｄ／Ｃ（１０％，１０ｍｇ，０．００９４ｍｍｏｌ），ＭｅＯＨ（３ｍＬ）および反応時間＝３時間を用いて、一般的手順Ｂを参照のこと。ワークアップの後、所望の生成物１６を白色粉末として得た（３４ｍｇ，０．０１９ｍｍｏｌ，定量的収量）：ｍｐ　２３５－２３９℃（摂氏）；Ｒ$_f$＝０．８０（４：１　ＥｔＯＡｃ／ＭｅＯＨ）；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，２：１　ＣＤ$_3$ＣＮ／Ｄ$_2$Ｏ）δ８．７０－８．７９（ｍ，３Ｈ），７．５５－７．６８（ｍ，４Ｈ），４．０８－４．２６（ｍ，７Ｈ），３．２１（ｂｒ　ｍ，１６Ｈ），１．４９－１．７４（ｍ，３２Ｈ），１．３５（ｓ，９Ｈ）ｐｐｍ；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５ＭＨｚ，２：１　ＣＤ$_3$ＣＮ／Ｄ$_2$Ｏ）δ１７５．６，１７４．８，１７４．７，１７４．６，１７４．１，１７３．６，１７３．５，１７３．４，１５８．５（ｑ，Ｊ＝３６Ｈｚ），１５７．７，１１７．０（ｑ，Ｊ＝２８０Ｈｚ），８１．２，５６．１，５５．５，５５．２，５４．９，５４．４，５３．９，５３．４，５３．０，３９．９（ｍ），２５．５－２９．４（ｍ）ｐｐｍ；ＩＲ（薄膜）３３０５，１７０４，１６５８ｃｍ$^{-1}$；ＥＳ－ＭＳ（－イオン化）（Ｃ$_{61}$Ｈ$_{83}$Ｆ$_{24}$Ｎ$_{16}$Ｏ$_{19}$－Ｈ）計算値１７９８．６，実測値１７９９．２。
【０１０５】
（実施例１２）
（ＢｏｃＮＨ－Ａｒｇ$_8$－ＣＯ$_2$Ｈ（・８ＴＦＡ塩）（１８）の合成）
【０１０６】
【化３８】



ＭｅＯＨ（３ｍＬ）中、１６（１４３ｍｇ，０．０８０ｍｍｏｌ）の溶液に、炭酸ナトリウム（３４５ｍｇ，３．２６ｍｍｏｌ）、ピラゾール－１－カルボキサミジン塩酸塩（１７）（４７８ｍｇ，３．２６ｍｍｏｌ）、および脱イオン水（６ｍＬ）を添加した。溶液を５５℃で３６時間加熱し、次いで、反応混合物を、ＴＦＡの添加によって慎重に酸性化した（ｐＨ約４まで）。溶媒を、減圧下で除去し、白色固体を得、これをＲＰ－ＨＰＬＣを使用して精製した（アイソクラチック：５％溶媒Ａ，５分；勾配：５％溶媒Ａ～５０％溶媒Ａ，１９分）。主要な生成物（R_t＝１５．２分）の凍結乾燥によって、所望の生成物を白色粉末１８として得た（９３ｍｇ，０．０４１ｍｍｏｌ，５１％収率）。：分析用ＲＰ－ＨＰＬＣ（勾配：５％溶媒Ａ～９５％溶媒Ａ，１５分）R_t＝４．６４分，９９＋％純度；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，D_6－ＤＭＳＯ）δ８．２０－８．２８（ｍ，３Ｈ），４．０５－４．２２（ｍ，７Ｈ），３．８０－３．９０（ｍ，１Ｈ），２．９９－３．１０（ｍ，１６Ｈ），１．４０－１．８２（ｍ，３２Ｈ），１．２６（ｓ，９Ｈ）ｐｐｍ；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５ＭＨｚ，D_6－ＤＭＳＯ）δ１６９．７，１６８．０，１６７．９２，１６７．８９，１６７．８，１５７．５（ｑ，Ｊ＝３６Ｈｚ，ＴＦＡ　Ｃ＝Ｏ），１５２．１，１５１．３，１１１．０（ｑ，Ｊ＝２９０Ｈｚ，ＴＦＡ　CF_3），７６．２，４９．２，４８．０，４７．９，４７．１，３５．１，２２．９，２２．３，２２．２，１９．１ｐｐｍ；ＥＳ－ＭＳ（－イオン化）（$C_{53}H_{106}N_{32}O_{11}$－Ｈ）計算値１３６５．９，実測値１３６５．８。

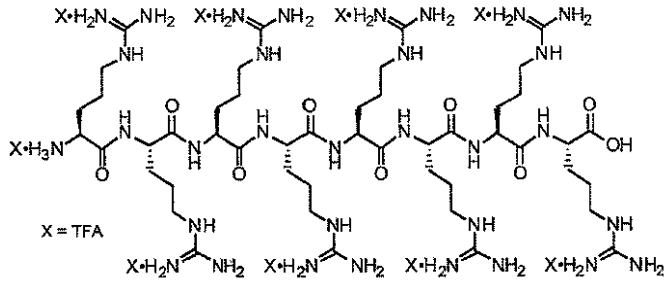
【０１０７】

（実施例１３）

（９ＴＦＡ・NH_3－Ａｒｇ$_8$－CO_2Ｈ（１）の合成）

【０１０８】

【化３９】



１５０μＬのトリイソプロピルシランを含むトリフルオロ酢酸（３ｍＬ）中、１８（８５ｍｇ，０．０３７ｍｍｏｌ）の溶液を、ＲＴで３０分間攪拌した。反応混合物に、脱イオン水（３ｍＬ）を添加し、次いで、溶媒を、凍結乾燥によって除去した。得られた粗残渣を、ＲＰ－ＨＰＬＣによって精製した（アイソクラチック：５％溶媒Ａ，５分；勾配：５％溶媒Ａ～５０％溶媒Ａ，１９分）。主要な生成物（R_t＝１２．８分）の凍結乾燥によって、所望の生成物１（８５ｍｇ，０．０３７ｍｍｏｌ，＞９９％収率）を白色粉末として得た：分析用ＲＰ－ＨＰＬＣ（勾配：５％溶媒Ａ～９５％溶媒Ａ，１５分）R_t＝４．６分，９９＋％純度；ｍｐ１０５－１０８℃；^{1}Ｈ　ＮＭＲ（３００ＭＨｚ，D_2O）δ８．３３－８．５０（ｍ，３Ｈ），４．１２－４．２５（ｍ，７Ｈ），３．９０（ｔ，１Ｈ，Ｊ＝６．６Ｈｚ），３．０２－３．１０（ｍ，１４Ｈ），２．８７（ｔ，２Ｈ，Ｊ＝６．３Ｈｚ），１．４０－１．８２（ｍ，３２Ｈ）ｐｐｍ；^{13}Ｃ　ＮＭＲ（７５ＭＨｚ

．D_2O）δ１６９．９，１６８．０，１６７．９，１６７．７，１６４．１，１５７．６（ｑ，Ｊ＝３５Ｈｚ，ＴＦＡ　Ｃ＝Ｏ），１５１．４，１１１．０（ｑ，Ｊ＝２９０Ｈｚ，ＴＦＡ　CF_3），４８．１，４８．０，４７．８，４７．３，４７．１，３５．２，３５．１，３５．０，３３．５，２３．０，２２．９，２２．７，２２．３，１９．１，１８．９，１８．１，１７．９ｐｐｍ；ＥＳ－ＭＳ（－イオン化）（$C_{48}H_{98}N_{32}O_9$－Ｈ）計算値１２６５．８，実測値１２６５．９。

【０１０９】

本明細書中に記載される実施例および実施形態は、例示的目的のみのためであり、その観点から種々の改変または変更が当業者に示唆され、そして本明細書の精神および範囲ならびに添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれるべきであることが理解される。

【図面の簡単な説明】

【０１１０】

【図１】図１は、保護オルニチンモノマーからの保護アルギニンオクタマーの二方向合成スキームを示す。

【図２】図２は、保護－Ｇｌｙ－Ｏｒｎ－Ｇｌｙ－サブユニットからの間隔を空けられた保護アルギニンオクタマーの二方向合成スキームを示す。

【図３】図３Ａ、３Ｂ、３Ｃおよび３Ｄは、本発明において使用される脱保護／ペルグアニジル化化学の適用性を示す。

【図１】

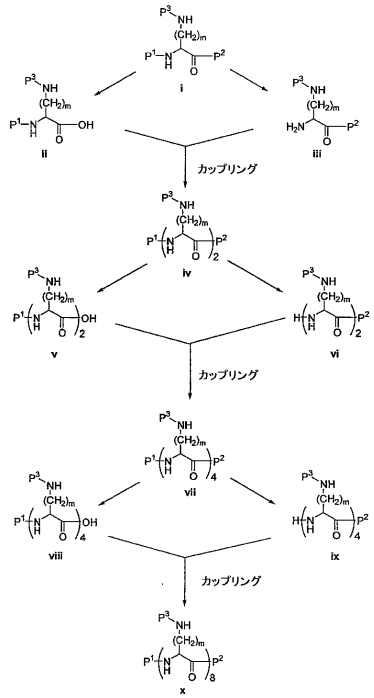


FIG. 1

【図２】

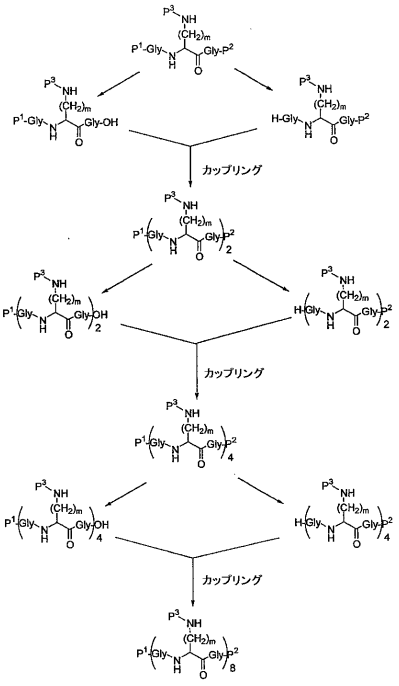


FIG. 2

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
20 February 2003 (20.02.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/014076 A2

(51) International Patent Classification⁷: C07D

(21) International Application Number: PCT/US02/24645

(22) International Filing Date: 2 August 2002 (02.08.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/310,305 3 August 2001 (03.08.2001) US

(71) Applicant: **THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY** [US/US]; Stanford, CA 94305 (US).

(72) Inventors: **WENDER, Paul, A.**; 930 Siskiyou Drive, Menlo Park, CA 94025 (US). **VANDEUSEN, Christopher, L.**; Apt. #57, 750 North Shoreline Blvd., Mountain View, CA 94043 (US). **PATTABIRAMAN, Kanaka**; Apt. B 201, 600 Sharon Park Drive, Menlo Park, CA 94025 (US). **PELKEY, Erin, T.**; 2197 County Road #6, Phelps, NY 14532 (US). **JESSOP, Theodore, C.**; 265 Olive Avenue, Palo Alto, CA 94306 (US).

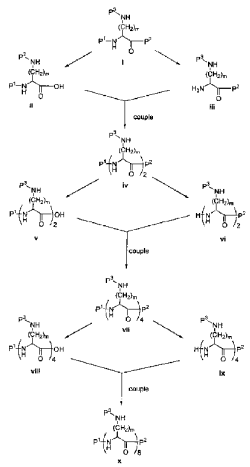
(74) Agents: **EBERLE, Shelley, P.** et al.; Reed & Associates, Suite 210, 800 Menlo Avenue, Menlo Park, CA 94025 (US).

(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),

[Continued on next page]

(54) Title: BI-DIRECTIONAL SYNTHESIS OF OLIGOGUANIDINE TRANSPORT AGENTS



(57) Abstract: Synthesis routes that can be adapted to large scale synthesis of oligoguanidine compounds such as oligoarginine compounds are described which use a perguanidinylation step to convert a group of ω-amino groups to the corresponding guanidinyl groups. These compounds find utility as transport agents. Modified oligoguanidine compounds are also described.

WO 03/014076 A2

WO 03/014076 A2

Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

Published:

without international search report and to be republished upon receipt of that report

BI-DIRECTIONAL SYNTHESIS OF OLIGOGUANIDINE TRANSPORT AGENTS

ACKNOWLEDGEMENT OF GOVERNMENT SUPPORT

A portion of the work described herein was supported the National Institute of Health (CA 31841, CA 31845) and a National Institute of Health Fellowship (CA 80344). The Government may have rights in certain aspects of the invention.

TECHNICAL FIELD

This invention relates to the synthesis of oligoguanidine compounds. More specifically, the invention relates to the synthesis of oligoarginine compounds that find utility as transport agents.

BACKGROUND ART

While considerable structural diversity is found among drugs and probe molecules, the physical properties of most of these agents with intracellular targets are restricted to a narrow range to ensure transport through the polar extra-cellular milieu and the non-polar lipid bilayer of the cell. Agents falling outside of this range must be tuned often through iterative analogue synthesis to achieve the optimum balance of water solubility and passive membrane transport. A promising approach directed at improving or enabling the cellular uptake of drugs, drug candidates, or probe molecules possessing a wider range of physical properties involves the use of peptide-based molecular transporters to carry these agents actively into cells. See Wender et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:13003-13008 (2000); Mitchell et al., *J. Peptide Res.* 55:318-325 (2000); Prochiantz, *Curr. Opin. Cell Biol.* 12:400-406 (2000); Lindgren et al., *Trends Pharmacol. Sci.* 21:99-102 (2000); Schwartz et al., *Curr. Opin. Mol. Ther.* 2:162-167 (2000); Schwarze et al., *Trends Pharmacol Sci.*, **21**, 45-48 (2000); and Schwarze et al., *Trends Cell Biol.* 10:290-295 (2000). Representative of this approach, homooligomers (7-9 mers) of L-arginine upon conjugation to various probe molecules (e.g., fluorescein) or drugs (e.g., cyclosporin A) provide highly water soluble conjugates that rapidly enter cells (e.g., human Jurkat). See Wender et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:13003-13008 (2000) and Mitchell et al., *J. Peptide Res.* 55:318-325 (2000). In addition, drug conjugates of these arginine

transporters have been shown to exhibit significant penetration into human skin and to release their drug cargo in targeted T cells (Rothbard et al., *Nature Medicine* 6:1253-1257 (2000)).

The enormous potential of arginine based molecular transporters is limited for several applications mainly by their availability and cost. Such homooligopeptides are usually prepared using solid-phase peptide synthesis (e.g., Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 85:2149-2154 (1963); Atherton et al., *Solid-Phase Peptide Synthesis*; IRL: Oxford, Engl. (1989); and Fields et al., *Int. J. Pept. Prot. Res.* 35:161-214 (1990)). Although this approach is readily automated and allows for the synthesis and purification of long peptides, it suffers drawbacks including high cost, limited scalability, and the need for resin attachment and cleavage. In contrast, solution phase synthesis avoids the cost and scale restrictions of resins and in the particular case of oligomers can be conducted using a step-saving bidirectional strategy. Illustrative of the latter point, the uni-directional synthesis of an octamer employing solid phase synthesis requires 14 steps (one coupling and deprotection step for each added monomer), whereas a solution phase bi-directional synthesis of the same octamer would require only seven steps (three coupling and four deprotection steps). See, for example, Appella et al., *J. Am. Chem. Soc.* 121:7574-7581 (1999); Hungerford et al., *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I,* 3666-3679 (2000); and Chakraborty et al., *Tetrahedron Lett.* 41:8167-8171 (2000). In the specific case of arginine based peptides, solution phase synthesis offers the additional advantage of avoiding the use of expensive protecting groups for the guanidinium subunit (e.g., Mtr, Pmc and Pbf; see, respectively, Atherton et al., *J. Chem Soc. Chem. Commun.,* 1062-1063 (1983); Ramage et al., *Tetrahedron* 47:6353-6370 (1991); and Carpino et al., *Tetrahedron Lett.* 34:*7829-7832* (1993)) required in solid phase synthesis.

However, in spite of the advances in the art, there remains a need for a method for the preparation of arginine oligomers, or more generally oligoguanidines that is both cost effective and scalable. The present invention addresses that need.

DISCLOSURE OF THE INVENTION

One aspect of the invention relates to a method for the preparation of an oligoguanidine compound, comprising the steps of: (a) contacting an oligomer having a

plurality of chemically tethered amines, wherein a portion of the tethered amines have attached protecting groups, with a protecting group removal agent to remove each of the protecting groups to produce an oligomer having a plurality of chemically tethered amines; and (b) contacting said oligomer having a plurality of chemically tethered amines with a guanidinylation reagent to convert each of said chemically tethered amines to a guanidinyl group to produce an oligoguanidine compound.

Another aspect of the invention provides for the further step of converting the oligoguanidine compound of step (b) to a salt, for example, a poly trifluoroacetate salt.

Yet another aspect of the invention pertains to a method for the preparation of an oligoarginine compound from a suitably protected ornithine monomer, comprising the steps of: (a) coupling two different suitably protected ornithine monomers to produce an orthogonally protected coupled ornithine compound; (b) dividing the orthogonally protected coupled ornithine compound into two portions and activating each of the portions for amide coupling to produce two independently activated coupled ornithine compounds; (c) recombining the two independently activated coupled ornithine compounds under conditions sufficient for amide coupling to produce a new orthogonally protected coupled ornithine compound; (d) subjecting the product of step c) to dividing, activating, and recombining for from zero to three times to produce an oligoornithine compound having 4, 8 or 16 ornithine monomers in a linear configuration; and (e) contacting the oligoornithine compound with a perguanidinylation reagent under conditions sufficient to produce an oligoarginine compound.

Still another aspect of the invention relates to oligoguanidine compounds produced by the aforementioned methods.

Brief Description Of The Drawing

FIG. 1 illustrates a bi-directional synthesis scheme of a protected arginine octamer from a protected ornithine monomer.

FIG. 2 illustrates a bi-directional synthesis scheme of a spaced protected arginine octamer from a protected -Gly-Orn-Gly- subunit.

FIGS. 3A, 3B, 3C, and 3D illustrate the applicability of the deprotection/perguanidinylation chemistry that is used in the present invention.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

I. DEFINITIONS AND NOMENCLATURE

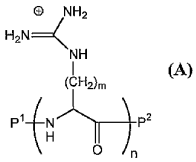
Before describing detailed embodiments of the invention, it will be useful to set forth abbreviations and definitions that are used in describing the invention. The definitions set forth apply only to the terms as they are used in this patent and may not be applicable to the same terms as used elsewhere, for example in scientific literature or other patents or applications including other applications by these inventors or assigned to common owners. The following description of the preferred embodiments and examples are provided by way of explanation and illustration. As such, they are not to be viewed as limiting the scope of the invention as defined by the claims. Additionally, when examples are given, they are intended to be exemplary only and not to be restrictive. For example, when an example is said to "include" a specific feature, that is intended to imply that it may have that feature but not that such examples are limited to those that include that feature.

It must be noted that, as used in this specification and the appended claims, the singular forms "a", "an" and "the" include plural referents unless the context clearly dictates otherwise. Thus, for example, reference to "a pharmacologically active agent" includes a mixture of two or more such agents, reference to "a hydroxide-releasing agent" includes mixtures of two or more such agents, and the like.

In describing and claiming the present invention, the following terminology will be used in accordance with the definitions set out below.

As used herein, the term "oligoguanidine compound" refers to an oligomer of subunits, each of which contain a chemically tethered guanidine group. Exemplary subunits include arginine and arginine-like residues, as well as repeating groups such as Gly-Arg-Gly (more generally X^0-Arg-X^0 wherein each X^0 is an amino acid that is devoid of a guanidino group and Arg is meant to include D- or L-arginine as well as arginine-like residues). An arginine-like residue has the general structural characteristics of an arginine amino acid (including both D- and L- forms), but has up to 6 additional methylene groups between the guanidino moiety and the α-carbon of arginine, or has up to 2 fewer methylene groups between the guanidino moiety and the α-carbon of arginine.

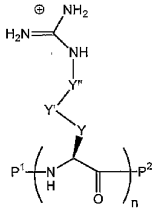
Accordingly, in one embodiment of the invention, an oligoguanidine compound has a peptide backbone and the following formula A:



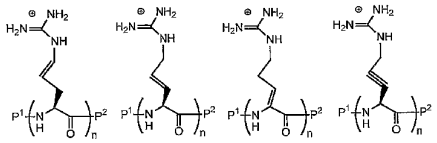
(A)

wherein: m is an integer of from 1 to 12; n is an integer of from 4 to 16; P^1 is H or a nitrogen protecting group; and P^2 is a protected or unprotected hydroxy or amino group. In the formula above, the guandino group is illustrated as being charged. One of skill in the art will appreciate that the extent to which an oligoarginine compound is charged will depend on the environment in which it is present (including medium, pH, etc.) and all charged and uncharged forms are contemplated by the present invention.

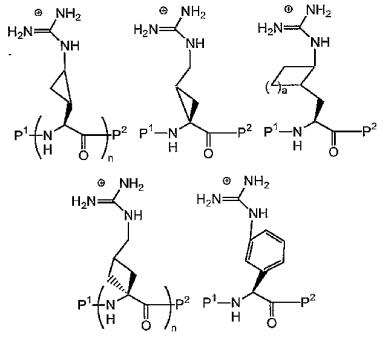
The term "oligoguanidine compound" is also intended to include numerous variations of formula A, where the tether (side chain) is modified but the terminal guanidine group (-HN-C(NH_2)NH unprotonated or -HN-C(NH_2)NH_2^+ protonated) remains unchanged (n, P^1 and P^2 are as defined above). Modifications to the side chain include the following substitutions:



where Y, Y' and Y" are independently C, O, N, S or B derivatives. Modifications can include the positioning of double or triple bonds:

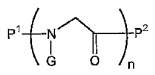


Modifications can also include the addition of cyclic structures (a=0-5), and the ring carbons may be further substituted:

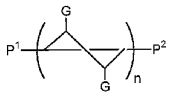


As is shown above, 2 or 3 of the carbons in the arginine side chain may be included in the cyclic structure.

The term "oligoguanidine compound" is also intended to include non-peptide variations of formula A. Examples are shown below, where G is the guanidinyl side chain, and n, P^1 and P^2 are as defined above.



peptoid

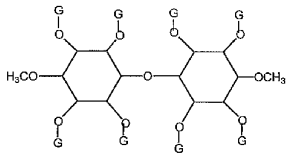


poly-*p*-phenylene



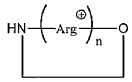
polyethyleneimine

polyethyleneglycol

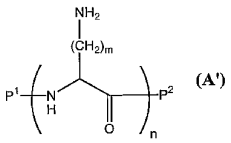


oxy-substituted dicyclohexyl ether

The backbone may also be a peptide-peptoid hybrid, a polyamide, an azapeptide (e.g., replacing the α-carbon with nitrogen), a peptide-urea hybrid, a polyenamine (P^1-{N(G)-$[CH2]_v$}$_n$-P^2, where v is from 1-8, for example v=2 is polyethylenimine, as shown above), a polyoxamide, a hydrocarbon, a polyethylene/polypropylene ether, a carbohydrate and an oxy-substituted dicyclohexyl ether (as shown above) backbone. These non-peptide backbones may provide enhanced biological stability (for example, resistance to enzymatic degradation *in vivo*). The backbone can also be a cyclic peptide or non-peptide system, for example:



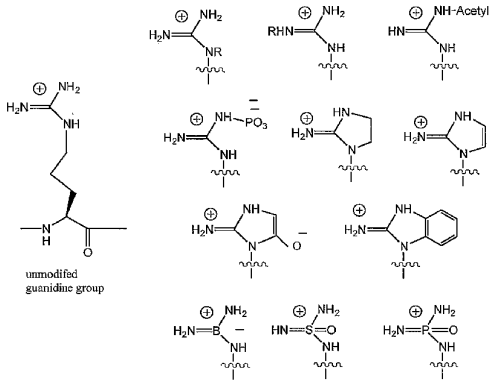
Similarly, a "polyamide oligomer having chemically tethered amines" refers to a polypeptide compound having repeating units of one, two or three amino acid residues wherein each of the repeating units has a sidechain amino group. The amino acids can be α-, β-, γ- or δ-amino acids, but are selected so that at least one of the amino acids in each subunit has a sidechain amino group (e.g., lysine, ornithine, homoornithine, and the like). In one sense the polyamide oligomer having chemically tethered amines can be a compound having the formula A':



(A')

where m, n, P^1 and P^2 are as defined above, but the polyamide oligomer can also have additional amino acids that are present to provide spacing between the tethered amine residues. The side chain of the compound of formula A' can also be similarly modified as described above for formula A, while the terminal amine group remains unchanged. Additionally, oligomers of all D-isomers, all L-isomers and mixtures of D- and L-isomers are within the scope of the formulas above.

As used herein, the term "modified oligoguanidine compound" refers to an oligomer of subunits, each of which contain a chemically tethered guanidine group that has been chemically modified. Modification to the guanidine group can be done prior to the synthesis by using an appropriate starting material (i.e., an oligomer having chemically tethered "modified" amines) or while the compound is being synthesized. Alternately, an oligoguanidine compound can be made as described herein, followed by modification of the guanidine groups. Preferably, the modification occurs at the end of the synthesis. In this manner, numerous variations can be produced from a common intermediate. R can be any suitable substituent, for example, H, alkyl, hydroxyl, cyano, alkoxy, =O, =S, $-NO_2$, halo, heteroalkyl, amine, thioether, -SH, aryl and heteroalkyl.



II. ABBREVIATIONS

In describing and claiming the present invention, the following abbreviations will be used in accordance with the definitions set out below.

AcOH	acetic acid
Bn	benzyl
Boc	*tert*-butoxycarbonyl
DMAP	4-(dimethylamino)pyridine
DMF	*N*,*N*-dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide
Et_3N	triethylamine
EtOAc	ethyl acetate
Fmoc	9-fluorenylmethoxycarbonyl
MeOH	methanol
Mtr	4-methoxy-2,3,6-trimethylbenzenesulfonyl
NMM	*N*-methylmorpholine
Orn	ornithine

Pbf	2,2,4,6,7-pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl
PG	protecting group
Pmc	2,2,5,7,8-pentamethylchroman-6-sulfonyl
RP-HPLC	reverse phase high performance liquid chromatography
RT	room temperature
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
Z	benzyloxycarbonyl

III. REACTIONS

A. GENERAL

FIG. 1 provides an illustration for the bi-directional synthesis of an arginine octamer (when m=3) beginning with an orthogonally protected ornithine compound. The protected ornithine compound **i**, is divided into two portions. The first portion is deprotected to provide **ii**, while the second portion is deprotected to provide **iii**. The two portions are then recombined with a suitable coupling reagent to provide the dipeptide **iv**. Once again, the product is divided into two portions and the first portion is deprotected on one terminus to provide **v**, while the second portion is deprotected on the carboxy terminus to provide **vi**. Compounds **v** and **vi** are then coupled to provide the protected tetrapeptide **vii**. One more sequence of divide into portions, selectively deprotect and couple, provides the protected octapeptide **x** as an intermediate for the removal of P^3 protecting groups and perguanidinylation chemistry provided in more detail below.

FIG. 2 illustrates a similar sequence applied to a -Gly-Orn-Gly- subunit, resulting in a fully-protected form of $(Gly\text{-}Orn\text{-}Gly)_8$.

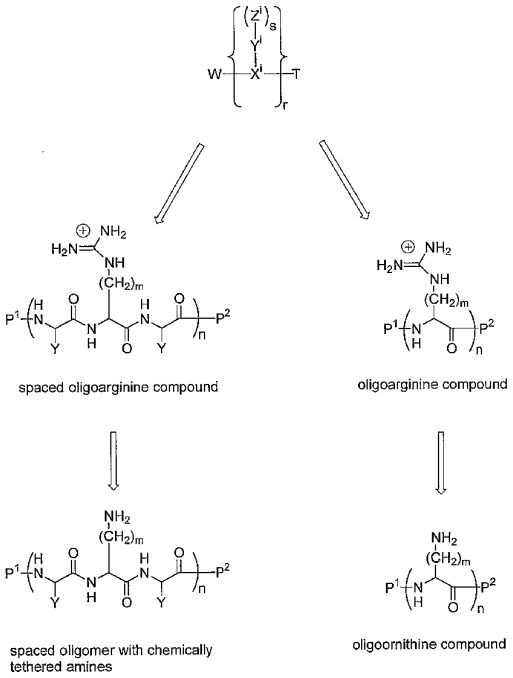
As can be seen from FIGS. 1 and 2, the bi-directional methods of the invention provide for oligomers having 2, 4, 8, 16 or 32 subunits (if carried through sufficient iterations). For longer or shorter oligomers than those just noted, any of the intermediate compounds can be deprotected and coupled to single amino acids, tripeptides, pentapeptides and the like.

The bi-directional methods described herein produce oligoguanidine compounds

by a deprotection/perguanidinylation procedure that has now been demonstrated for polyamide oligomers having a plurality of chemically tethered amines (e.g., oligomers containing lysine, ornithine, homoornithine as well as their β-, γ- and δ-amino acid counterparts). The scope of this transformation is illustrated in FIG. 3. In FIG. 3A, a suitably protected ornithine octamer is deprotected to provide the octamer having tethered amine groups as shown. Perguanidinylation provides an arginine octamer. In one embodiment of the invention, the deprotection and perguanidinylation is carried out in a single reaction vessel as shown in Figure 3B.

FIG. 3C illustrates the applicability to an oligomer of γ-amino acids, while FIG. 3D illustrates the applicability to spaced oligomers wherein the spacing is provided by glycine residues.

Another embodiment of the invention is illustrated in the scheme below, which shows a general formula for oligoguanidine compounds, and its application to both spaced oligoarginine compounds (derived from spaced oligomers having chemically tethered amines) and contiguous oligoarginine compounds (derived from oligoornithine compounds).



The aforementioned discussion has focused on oligomers having a peptide backbone, but it is understood that one of skill in the art will readily understand how to apply the methods of the inventions to the synthesis of oligomers having a peptoid, poly-*p*-phenylene, polyethyleneimine, polyethyleneglycol, peptide-peptoid hybrid, a polyamide, azapeptide, a peptide-urea hybrid, polyenamine, polyenamine, hydrocarbon, polyethylene/polypropylene ether, or carbohydrate backbone. The desired backbone can

be purchased commercially or synthesized, then in a single step the chemically tethered amine side chains can be added, followed by the addition of a protecting group removal agent and a guanidinylation reagent to convert each of the protected amines to a guanidinyl group, to produce an oligoguanidine compound.

B. SPECIFIC EMBODIMENTS OF THE METHODS OF THE INVENTION

Accordingly, one embodiment of the invention is a method for the preparation of an oligoguanidine compound, comprising contacting an oligomer having chemically tethered amines, at least a portion of which are protected, with a protecting group removal agent and a guanidinylation reagent to convert each of said protected amines to a guanidinyl group, to produce an oligoguanidine compound. More specifically, the method may comprise the steps of (a) contacting an oligomer having a plurality of chemically tethered amines, wherein a portion of the tethered amines have attached protecting groups, with a protecting group removal agent to remove the protecting groups to produce an oligomer having a plurality of chemically tethered amines; and (b) contacting the resulting oligomer with a guanidinylation reagent to convert each of the chemically tethered amines to a guanidinyl group to produce an oligoguanidine compound.

In some embodiments, the polyamide oligomer having chemically tethered amines will be isolated and purified using methods such as ion exchange chromatography, HPLC, column chromatography and the like. This polyamide oligomer (tethered amine) compound can be isolated as a salt or in neutral form. However, in a preferred embodiment, the polyamide oligomer compound having chemically tethered amines is not isolated, but is carried on directly to step (b).

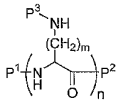
The method my optionally further comprise the step of converting the oligoguanidine product to a salt, for example, a poly trifluoroacetate salt.

In certain embodiments, steps (a) and (b) are carried out in the same reaction vessel, and may be carried out sequentially or concurrently. For example, an oligoornithine compound having protecting groups on each of the ω-amines can be treated with a combination of a protecting group removal agent and a guanidinylation reagent to provide the oligoarginine compound in a single step. As a result, it is not necessary for all protecting groups to be removed prior to guanidinylation of a particular amine group. In

one particularly preferred embodiment, an oligoornithine compound having trifluoroacetyl protecting groups on each of the ω-amines is contacted with both a protecting group removal agent, preferably sodium carbonate, and with a guanidinylation reagent, preferably pyrazole-1-carboxamidine hydrochloride.

In other embodiments, the oligomer having chemically tethered amines is an oligoornithine compound. In another embodiment, the oligoornithine compound is an octaornithine compound (wherein "ornithine" refers to those compounds having longer or side chains than ornithine, as well as ornithine itself), preferably produced by coupling of two tetraornithine compounds, which are in turn preferably produced by coupling of two ornithine dimers.

Still further preferred are those embodiments in which the protected oligomers are polyamides having chemically tethered amines (in protected form), having the formula:



where m, n, P^1 and P^2 are as defined above, and P^3 is an amino-protecting group or in combination with the hydrogen atom on the nitrogen atom to which P^3 is attached forms a bivalent amino-protecting group. Preferably m is an integer from 3 to 6, more preferably from 3 to 5. In one particularly preferred group of embodiments, the protected polyamide oligomer compound has the formula above wherein each repeating group is a D-isomer (with stereochemistry corresponding to the D-amino acids).

Another embodiment of the invention is a method for the preparation of an oligoarginine compound from a suitably protected ornithine monomer, comprising the steps of: (a) coupling two different suitably protected ornithine monomers to produce an orthogonally protected coupled ornithine compound; (b) dividing the orthogonally protected coupled ornithine compound into two portions and activating each of the portions for amide coupling to produce two independently activated coupled ornithine compounds; (c) recombining the two independently activated coupled ornithine compounds under conditions sufficient for amide coupling to produce a new orthogonally

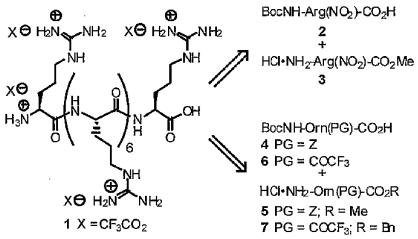
protected coupled ornithine compound; (d) subjecting the product of step c) to dividing, activating, and recombining for from zero to three times to produce an oligoornithine compound having 4, 8 or 16 ornithine monomers in a linear configuration; and (e) contacting the oligoornithine compound with a perguanidinylation reagent under conditions sufficient to produce an oligoarginine compound.

In a more general sense, this couple, divide and activate, couple technology can be applied to the assembly of other oligoguanidine compounds wherein each subunit or monomer is selected from an ornithine (or other chemically tethered amine-containing amino acid) and an ornithine that is flanked by one or two amino acids that do not have chemically tethered sidechain amines. The coupling reactions are performed by known coupling methods using known solvents, such as *N, N*-dimethyl formamide, N-methyl pyrrolidinone, dichloromethane, water, and the like. Exemplary coupling reagents include O-benzotriazolyloxy tetramethyluronium hexafluorophosphate, dicyclohexyl carbodiimide, bromo-tris (pyrrolidino) phosphonium bromide, *N, N*-dimethylamino pyridine, 4-pyrrolidino pyridine, *N*-hydroxy succinimide, N-hydroxy benzotriazole, and so forth.

C. EXEMPLARY METHOD OF THE INVENTION

Perguanidininylation has been described for the preparation of guanidinoglycosides (Luedtke et al., *J. Am. Chem. Soc.* 122:12035-12036 (2000) and Feichtinger et al., *J. Org. Chem.* 63:3904-3805 (1998)) and for the perguanidinylation of peptoids (Wender et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97:13003-13008 (2000)). Perguanidininylation has now been found to have utility in the preparation of oligoarginine derivatives and spaced arginine transport reagents as described herein.

For example, a suitable synthesis of the arginine octamer **1** was desired due to the utility of this compound as a membrane transport reagent (Rothbard et al., WO 01/13957 and Cooke et al., WO 00/74701). In view of the perguanidinylation studies noted above, octamer **1** could in principle be prepared from an ornithine octamer through a late stage perguanidinylation reaction.

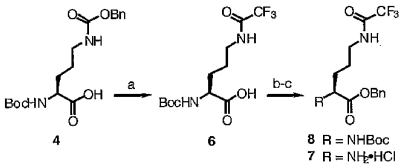


Orthogonally protected ornithine monomers that are commercially available include BocNH-Orn(Z)-CO_2H (**4**) and HCl•NH_2-Orn(Z)-CO_2Me (**5**). Thus the orthogonal protecting group strategy for ornithine utilized an acid-labile Boc group on the α-amine, a hydrogenation-labile Z group on the δ-amine, and a base-labile methyl ester on the carboxyl terminus. This strategy yielded promising results at the outset (initial couplings and subsequent deprotections). However, the Z-protected ornithine tetramers, while useful, proved to have limited solubility in organic solvents, necessitating the use of large volumes of solvent for scale up procedures.

In order to improve the solubilities of the ornithine oligomers, an alternative protection strategy was developed. Incorporation of the base-labile trifluoroacetamide protecting group on the δ-amine of ornithine provided more soluble compositions. In addition to α-amine Boc protection, the remaining orthogonal protecting group was a hydrogenation-labile benzyl ester on the carboxyl terminus. The requisite ornithine monomers needed to pursue a bi-directional synthesis of **1**, BocNH-Orn($COCF_3$)-CO_2H (**6**) and HCl•NH_2-Orn($COCF_3$)-CO_2Me (**7**), were prepared from **4**, as described in Scheme 1. Protecting group interconversion of the Z group of **4** to the corresponding trifluoroacetamide of **6** was accomplished in quantitative yield by hydrogenation followed by treatment with ethyl trifluoroacetate. Esterification of **6** was accomplished using a known procedure (Kim et al., *J. Org. Chem.*, 50:560-565 (1985)) by treatment with benzyl chloroformate which gave the mixed carbonic anhydride followed by treatment with

DMAP (20 mol%) to give **8** in quantitative yield. Finally, removal of the Boc group with HCl gave acid **7** in 98% yield.

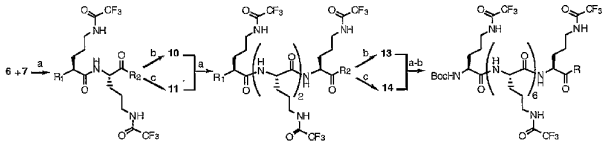
Scheme 1



(a) i) Pd/C, MeOH, H_2 ; ii) EtO_2CCF_3, EtN (>99%); (b) i) ClC(O)OB NMM, THF -15 °C; ii) DMAP (>99%) (c) HCl, EtOAc (98%)

Bi-directional synthesis was then initiated by the coupling of acid **6** with amine **7** using isobutyl chloroformate for activation of **6** and NMM as a base, as shown in Scheme 2. This reaction proceeded smoothly to give the fully protected ornithine dimer **9** in 97% yield with sufficient purity after extractive work-up to be utilized directly in subsequent reactions. Ornithine dimer **9** was divided into two equal portions. The first part was hydrogenated giving **11** in quantitative yield, while the second part was treated with HCl giving the amine hydrochloride salt **10** in 83% yield. Both compounds were of sufficient purity after work-up to be utilized directly in the subsequent coupling.

Scheme 2



9 R_1 = NHBoc; R_2 = OBn (97%) **12** R_1 = NHBoc; R_2 = OBn (83%) **15** R = OBn (83%)
10 R_1 = NH_2•HCl; R_2 = OBn (83%) **13** R_1 = NH_2•HCl; R_2 = OBn (>99%) **16** R = OH (>99%)
11 R_1 = NHBoc; R_2 = OH (>99%) **14** R_1 = NHBoc; R_2 = OH (>99%)

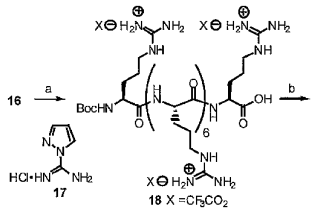
(a) i) acid, *i*-BuOCOCl,NMM, THF, DMF; ii) amine, NMM; (b) HCl, EtOAc or dioxane; (c) H_2 , Pd/C, MeOH

The ornithine dimers **10** and **11** were subsequently coupled with isobutyl chloroformate and NMM and upon extractive work-up and purification through a short

plug of silica gel gave the ornithine tetramer **12** in 83% yield. Compound **12** was readily soluble in ethyl acetate on a multigram (4 g) scale. The fully protected tetramer **12** was then divided into two equal portions and each was subjected to the appropriate conditions for the preparation of the free acid **14** and the amine hydrochloride salt **13**, respectively. Coupling **13** and **14** in the usual fashion (isobutyl chloroformate and NMM) proceeded smoothly to give the fully protected ornithine octamer **15** in 83% yield and in sufficient purity to be utilized in subsequent reactions. Hydrogenation of **15** was successful in removing the benzyl ester, giving the free acid **16** in quantitative yield.

Conversion of **16** into the target **1**, can be accomplished either in a stepwise fashion (deprotection then perguanidinylation), or via a single operation. Since aqueous sodium carbonate has previously been utilized to effect the deprotection of trifluoroacetamides, (Boger et al., *Org. Chem.* 54:2498-2502 (1989)) and also as one of the reagents in the guanidinylation of amines, (Wender et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:13003-13008, (2000) and Bernatowicz et al., *J. Org. Chem.* 57:2497-2502 (1992)) a single step process was investigated. Thus, treatment of the octaornithine derivative **16** with sodium carbonate and pyrazole-1-carboxamidine hydrochloride (**17**) in aqueous methanol proceeded to give the octaarginine derivative **18** in 51% isolated yield after purification by RP-HPLC (99+% purity) and lyophilization, as shown in Scheme 3.

Scheme 3



(a) **17**, Na_2CO_3, aq. MeOH, 55 °C (51%); (b) TFA (>99%)

Significantly, eight trifluoroacetamides were converted to eight guanidines in one step (16 transformations overall) under mild conditions. Finally, the synthesis was completed by treatment of **18** with TFA which gave the desired octaarginine product **1** in

quantitative yield. Octaarginine **1** was identical in all respects to an authentic sample prepared using Fmoc-based solid-phase synthesis.

IV. PROTECTING GROUPS AND PROTECTING GROUP REMOVAL AGENTS

As noted above, step (a) of the method of the invention involves contacting an oligomer having a plurality of chemically tethered amines (a portion of the tethered amines having attached protecting groups), with a protecting group removal agent to remove the protecting groups.

The precise conditions and reagents or agents used in this step will depend on the nature of the protecting groups to be removed. Protecting groups selected for the protection of the sidechain- or chemically tethered amine groups are generally those groups that can be removed in the presence of protecting groups in other portions of the oligomer (e.g., the amino or carboxy terminii). Such protecting groups are often referred to as "orthogonal." Generally, the reagents and conditions can be employed by following the guidelines in such protecting group treatises as Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd ed., John Wiley & Sons, New York NY (1999), and the references cited therein.

In one embodiment of the invention, the protecting groups on each of the chemically tethered amines are selected from trifluoroacetyl groups, benzyloxycarbonyl groups, and *t*-butoxycarbonyl groups.

Accordingly, protecting group removal agents will be selected according to the protecting group used. For example, a suitable protecting group removal agent for use with trifluoroacetyl groups is sodium carbonate, preferably in an aqueous alcohol solvent, more preferably in aqueous methanol. Similarly, though less preferred, catalytic hydrogenation can be used (H_2 as the protecting group removal agent) to cleave benzyl carbamate (Cbz or simply Z) groups as well as benzyl groups directly attached to the amines. Acids, such as trifluoroacetic acid, can be used to remove *t*-butoxycarbonyl groups. Still other methods can be used in accordance with the present invention and are well-known to those of skill in the art.

The step of removing the protecting group on the tethered amines can result in the formation of counterions, which include by way of illustration and not limitation,

fluorescein, acids having a pKa < 13 such as trifluoroacetyl groups (CF_3COO-), halo groups (Cl-, F-, Br-, I-), and groups derived from carboxylates (e.g., CH_3COO-), carbonates, bicarbonates, phosphates, phosphonates, sulfates, sulfonates, sulfides, borates, silicates, nitrates, nitrites, phenoxides, azides, thiophenoxides, periodates and hypochlorites; and anionic (negatively charged groups) such as SiF_6- and BF_4-. These counterions can be used alone or can be covalently linked to polycarboxylates, polyphosphates (as found in nucleic acids and their analogues), polysulfates, polyphosphate/halide combinations and so forth.

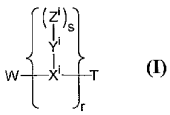
V. GUANIDINYLATION REAGENTS

As noted above, step (b) of the method of the invention involves contacting the oligomer having a plurality of chemically tethered amines, with a guanidinylation reagent to convert each of the chemically tethered amines to a guanidinyl group to produce an oligoguanidine compound.

Any guanidinylation reagent useful for converting an amino group to a guanidino group can be used in the present invention. Preferably, the guanidinylation reagent is a salt of pyrazole-1-carboxamidine. Most preferably, the guanidinylation reagent is pyrazole-1-carboxamidine hydrochloride. Other suitable guanidinylation reagents are described in Bernatowicz et al., *J. Org. Chem.* 57:2497-2502 (1992).

VI. COMPOUNDS PRODUCED BY THE METHODS OF THE INVENTION

In a general sense, the present invention provides a method for the preparation of compounds having the formula (I):



(I)

wherein r is an integer of from 4 to 24; T is a protected or unprotected hydroxy group; and W is H or a protecting group. In the subunit portion (enclosed by brackets), s is 0 or 1; each X^i is an amino acid backbone subunit (e.g. –NH-CH-C(O)-), and i is an integer of from 1 to r and denotes the position downstream of W; each Y^i is selected from H, an

amino acid sidechain, aryl, and heteroaryl, when s is 0; or is selected from C_{1-8}alkylene, C_{2-8}alkenylene, C_{2-8}alkynylene, C_{2-8}heteroalkylene, C_{3-8}cycloalkylalkylene, C_{2-8}spirocycloalkylene, arylene, heteroarylene, and combinations thereof, when s is 1; each Z^i is a guanidino or guanidinium group.

For example, the bi-directional method of synthesis described herein can be applied to the preparation of oligoarginine compounds (e.g., polymers of 4, 8 or 16 arginine residues) and spaced arginine compounds (e.g., compounds having the formula $(X^0\text{-Arg-}X^0)_q$ or $(X^0\text{-Arg})_q$ wherein q is an integer, typically an even integer of 2, 4, 6, 8, etc, more preferably 2, 4, 6, 8 or 16, and each X^0 is an amino acid other than arginine or a guanidine-containing amino acid). In one embodiment, Arg is D-arginine, L-arginine, D-homoarginine or L-homoarginine.

Accordingly, the present invention can be used to prepare, for example, a heptamer or octamer of L-arginine (R7 or R8), D-arginine (r7 or r8), (Gly-Arg-Gly)-(Gly-Arg-Gly)-(Gly-Arg-Gly)-(Gly-Arg-Gly)-(Gly-Arg-Gly) (wherein Gly-Arg-Gly is the repeating subunit), and shorter or longer oligomers, typically having from 4 to 20 guanidino-containing subunits. In this manner, the methods of the invention can be used to prepare a variety of oligoguanidine compounds including those consisting essentially of from eight to sixteen amino acid residues, where from four to eight of the residues are arginine residues.

Of course, further elaboration of the terminal functional groups (W and T) can lead to compounds having a protected or unprotected linking group, or a linking group having an attached biologically active agent.

In still other embodiments, the oligoguanidine compound that is produced has at least four, preferably at least six, and more preferably at least eight arginine residues, wherein each of the arginine residues is either a D- or L-isomer of the naturally-occurring arginine amino acid. These arginine residues can be contiguous or non-contiguous. For example, the oligoguanidine compound can have at least four or more contiguous arginine residues or the compound can have at four or more non-contiguous arginine residues.

In another embodiment, the oligoguanidine compound that is produced is converted to a poly trifluoroacetate salt. In general, this conversion is accomplished by contacting the oligoguanidine compound with a suitable amount of trifluoroacetic acid, typically in an aqueous or aqueous/organic mixture.

The couple, divide and activate, couple method described above, find particular utility in producing oligoguanidine compounds wherein each subunit or monomer is selected from an ornithine (or other chemically tethered amine-containing amino acid) and an ornithine that is flanked by one or two amino acids that do not have chemically tethered sidechain amines. Accordingly, in one embodiment of the invention, the oligoarginine compound that is prepared has a formula selected from the group consisting of $(X^0\text{-Arg-}X^0)_t$ and $(X^0\text{-Arg})_t$ wherein each X^0 is an amino acid residue that does not have a guanidino moiety; each Arg is selected from the group consisting of D-arginine and L-arginine; and t is an integer selected from 4, 8, 16, 32 and so forth, but is preferably 4, 8, or 16. One of skill in the art will appreciate that the ornithine monomers used to prepare this latter group of oligoarginine compounds are subunits having formula selected from $(X^0\text{-Orn}^p\text{-}X^0)$ and $(X^0\text{-Orn}^p)$ wherein Orn^p refers to a suitably protected ornithine and each X^0 is an amino acid residue that does not have a guanidino moiety or a sidechain amino group (e.g. Lysine). Preferably, each X^0 is selected from the group consisting of glycine, β-alanine, 4-aminobutyric acid, 5-aminovaleric acid and 6-aminocaproic acid. In still further preferred embodiments, the oligoarginine compound has a formula of $(X^0\text{-Arg})_t$, each X^0 is selected from the group glycine, β-alanine, 4-aminobutyric acid, 5-aminovaleric acid and 6-aminocaproic acid and t is 8 or 16. In a further preferred embodiment, the oligoarginine compound is an octamer of D-arginine or has the formula $(X^0\text{-Arg})_t$, wherein each X^0 is glycine, Arg is D-Arg and t is 8.

VII. Conjugates with Compounds Produced By the Methods of the Invention

As noted above, oligoguanidine compounds find utility as transport agents. Accordingly, the invention also relates to the oligoguanidine compounds described herein, that are chemically tethered to a therapeutic agent (which includes active agents and prodrugs thereof).

The oligoguanidine compounds can be tethered to the therapeutic agent in a variety of different ways, as is illustrated below, where T is the oligoguanidine transporter of the invention, D is a suitable therapeutic agent, L is a linker, RL is a releasable linker (e.g., cleavable *in vivo*) and PD is a prodrug:

Transporter-drug conjugate, T-D → T-D, where T-D is active;

Transporter-linker-drug conjugate, T-L-D → T-L-D, where T-L-D is active;

Transporter-releasable linker-drug conjugate, T-RL-D → RL + D, where T-RL is cleaved and D is active; and

Transporter-releasable linker-prodrug conjugate, T-RL-PD → T-RL + PD → D, where D is active.

As noted in the examples above, the therapeutic agents can be linked to transport agent of the invention in numerous ways, including a direct bond (e.g., with a carbodiimide) or by means of a linking moiety. In particular, carbamate, ester, thioether, disulfide, and hydrazone linkages are generally easy to form and suitable for most applications. In addition, various functional groups (e.g., hydroxyl, amino, halogen, etc.) can be used to attach the therapeutic agent to the transport agent. To help minimize side-reactions, the guanidino moieties can be blocked using conventional protecting groups, such as carbobenzyloxy groups (CBZ), di-t-BOC, PMC, Pbf, N-NO_2, and the like. For those therapeutic agents that are inactive until the attached transport agent is released, the linker is preferably a readily cleavable linker, meaning that it is susceptible to enzymatic or solvent-mediated cleavage *in vivo*. For this purpose, linkers containing carboxylic acid esters and disulfide bonds are preferred, where the former groups are hydrolyzed enzymatically or chemically, and the latter are severed by disulfide exchange, e.g., in the presence of glutathione.

Non-covalent variations of any of the foregoing are also contemplated by the invention, for example:

Transporter-drug complex, T••D → T + D, where D is active.

Therapeutic agents that can benefit from the transport agents of the invention include both small organic molecules and macromolecules (e.g., nucleic acids, oligonucleotides, polynucleotides, peptides, polypeptides and proteins). Exemplary therapeutic agents include local and systemic anti-cancer agents, antibiotics, antisense drugs, protease inhibitors, and so forth. In addition, there are numerous releasable linkers that can be used with the transporter compounds of the invention, such as phosphatases, proteases, esterases, redox compounds, photochemical agents, nucleophilic agents, acidic compounds, and so forth. Release of the therapeutic agent can be the result of enzymatic as well as non-enzymatic action.

EXAMPLES

The practice of the present invention will employ, unless otherwise indicated, conventional techniques of synthetic organic chemistry, biochemistry, and the like, which are within the skill of the art. Such techniques are explained fully in the literature. See, for example, *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait, ed., 1984); *Nucleic Acid Hybridization* (B. D. Haines & S. J. Higgins, eds., 1984); Kirk-Othmer's *Encyclopedia of Chemical Technology*; and House's *Modern Synthetic Reactions*.

The following examples are put forth so as to provide those of ordinary skill in the art with a complete disclosure and description of how to make and use the compositions/compound/methods of the invention. Efforts have been made to ensure accuracy with respect to numbers (e.g., amounts, temperature, etc.) but some experimental error and deviations should, of course, be allowed for. Unless indicated otherwise, parts are parts by weight, temperature is degrees centigrade and pressure is at or near atmospheric. All components were obtained commercially unless otherwise indicated.

GENERAL METHODS

BocNH-Orn(Z)-OH (**4**) was purchased from Novabiochem. All reagents and solvents were purchased from commercial sources and utilized without further purification. Analytical TLC was performed with 0.25 mm silica gel 60F plates with fluorescent indicator (254 nm). Plates were visualized by ultraviolet light and treatment with either ammonium molybdate stain (prepared by combining 90 g of ammonium molybdate, 6 g of cerium sulfate, and 1800 mL of 10% H_2SO_4) or potassium permanganate stain (prepared by combining 8 g of $KMnO_4$, 60 g of K_2CO_3, 16 mL of 5% NaOH, and 900 mL H_2O). RP-HPLC was performed with a Varian ProStar 210/215 HPLC using either a preparative column (Alltec Alltima C18, 250 x 22 mm) or analytical column (Vydak C18, 150 x 4.6 mm) with ultraviolet detection of product (λ = 214 nm). The products were eluted utilizing a solvent gradient (solvent A = 0.1% TFA/H_2O; solvent B = 0.1% TFA/CH_3CN). Melting points were taken in open capillary tubes utilizing a Thomas Hoover uni-melt apparatus. NMR spectra were measured on a Varian GEM-300 (^{1}H NMR at 300 MHz; ^{13}C NMR at 75 MHz) magnetic resonance spectrometer. Data for ^{1}H NMR

spectra are reported as follows: chemical shift, multiplicity (s = singlet, br s = broad singlet, d = doublet, t = triplet, q = quartet, and m = multiplet), integration, and coupling constant (Hz). Data for ^{13}C NMR spectra are reported in terms of chemical shift relative to residual solvent peak (D_6-DMSO = 39.5 or CD_3CN = 1.3). Infrared spectra were recorded on a Perkin-Elmer 1600 Series FTIR. High resolution mass spectra (HRMS) were recorded at the NIH regional mass spectrometry facility at the University of California, San Francisco. Mass spectra utilizing electrospray ionization (ES-MS) were recorded at the mass spectrometry lab at Stanford University utilizing a Finnigan LCQ quadrupole ion trap mass spectrometer.

GENERAL PROCEDURE A: DEPROTECTION OF BOC-AMIDES

To a RT stirred solution of Boc-amide (5.0 mmol) in EtOAc (150 mL) or dioxane (300 mL) was bubbled in HCl gas (from a lecture bottle). The reaction mixture was stirred until TLC showed the consumption of the starting material. The desired product was obtained from the reaction mixture (containing precipitate) either by filtration or evaporation of the solvent and used without further purification.

GENERAL PROCEDURE B: DEPROTECTION OF BENZYL ESTERS

To a degassed solution of benzyl ester (5.0 mmol) in MeOH (150 mL) was added Pd/C (10% Pd, 250 mg, 0.23 mmol) followed by hydrogen gas (1 atm, balloon). The reaction mixture was stirred at RT until TLC showed complete consumption of the starting material. The reaction mixture was then filtered through Celite and the solvent was removed in vacuo to give the desired product which was used without further purification.

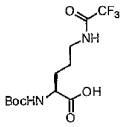
GENERAL PROCEDURE C: AMIDE COUPLING

To a room temperature stirred solution of acid (10 mmol) in THF (10 mL) was added DMF (200 mL) and NMM (10.5 mmol). The reaction mixture was cooled to -40°C and then was treated with a solution of isobutyl chloroformate (10.5 mmol) in THF (10 mL). After stirring at -40°C for 1 h, the reaction mixture was treated with a solution of amine (10 mmol) and NMM (10 mmol) in DMF (20 mL). The reaction mixture was then allowed to slowly warm up to RT and stirred until TLC revealed the consumption of the

starting acid. The reaction mixture was then treated with copious amounts of EtOAc (1 L) and water (1 L). The organic layer was separated and aqueous layer was extracted with EtOAc (2 x 500 mL). The combined organic layers were washed with an aqueous solution of HCl (0.1 M, 2 x 500 mL), an aqueous solution of $NaHCO_3$ (5% w/v, 2 x 500 mL), brine (2 x 500 mL), and dried over magnesium sulfate. The crude material thus obtained was then purified further as indicated to give the desired product.

EXAMPLE 1

Synthesis of BocNH-Orn($COCF_3$)-CO_2H **(6)**

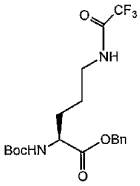


To a degassed solution of acid **4** (25 g, 68 mmol) in MeOH (250 mL) was added Pd/C (10% Pd, 350 mg, 0.33 mmol) followed by hydrogen gas (1 atm, balloon). The reaction mixture was stirred at RT for 12 h by which time TLC showed complete consumption of the starting material. The balloon of hydrogen was then removed and MeOH (100 mL), ethyl trifluoroacetate (14.6 g, 103 mmol), and Et_3N (13.8 g, 136 mmol) were added. The reaction mixture was stirred an additional 9 h and the resulting black suspension was filtered through Celite. A portion of the solvent was then removed *in vacuo*. The remaining solution (100 mL) was treated with water (150 mL) and EtOAc (100 mL). The organic layer was removed and the aqueous layer was then carefully acidified by the addition of an aqueous solution of HCl (2M). The aqueous layer was extracted with EtOAc (5 x 80 mL), and the combined organic extracts were then washed with an aqueous solution of HCl (0.1 M, 4 x 200 mL), brine (200 mL), and dried over magnesium sulfate. Removal of the solvent *in vacuo* gave the desired product **6** as a viscous oil (22.4 g, 68 mmol, quantitative yield): (Sakarellos et al., *J. Org. Chem.* 43: 293-296 (1978), viscous oil); R_f = 0.65 (65:31:4 EtOAc/hexane/AcOH); ^1H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 12.50 (br s, 1 H), 9.41 (t, 1 H, J = 3.2 Hz), 7.11 (d, 1 H, J = 4.8 Hz), 3.84-3.87 (m, 1 H), 3.15-3.19 (m, 2 H), 1.51-1.69 (m, 4 H), 1.38 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75

MHz, D_6-DMSO) δ 174.1, 156.2 (q, J = 35 Hz), 155.7, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.1, 53.2, 38.9, 28.2, 25.2 ppm; IR (thin film) 3316, 1709 cm^{-1}; HRMS calculated (M-Boc, $C_7H_{10}F_3N_2O_3$) 227.0644, found 227.0658.

EXAMPLE 2

Synthesis of BocNH-Orn($COCF_3$)-CO_2Bn **(8)**

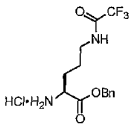


A modification of a known procedure was followed (Kim et al., *J. Org. Chem.* **1985** *50*, 560-565). To a RT stirred solution of acid **6** (11.3 g, 34.6 mmol) in THF (100 mL) was added NMM (3.50 g, 34.6 mmol) and the reaction mixture was cooled to -15°C (NaCl/ice/water bath). To the cooled reaction mixture was added a solution of benzyl chloroformate (6.17 g, 36.1 mmol) in THF (5 mL). After stirring at -15°C for 2 min, the reaction mixture was warmed to 0°C (ice/water bath) and stirred for 15 min. To the reaction mixture was added DMAP (1.05 g, 8.65 mmol) and reaction mixture was allowed to warm to RT and stirred for 2 h. The reaction mixture was then treated with EtOAc (100 mL), water (100 mL), and carefully acidified with an aqueous solution of HCl (1 M). The organic layer was separated and washed with an aqueous solution of HCl (0.1 M, 2 x 50 mL). The combined aqueous layers were then extracted with EtOAc (2 x 100 mL). The combined organic layers were washed with an aqueous solution of $NaHCO_3$ (5% w/v, 4 x 50 mL), brine (100 mL), and dried over magnesium sulfate. Removal of the solvent *in vacuo* gave the desired product **8** as a white amorphous solid (14.2 g, 33.9 mmol, 98% yield): mp 72-73.5°C; R_f = 0.58 (3:7 EtOAc/hexane); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.39 (t, 1 H, J = 5.1 Hz), 7.32-7.37 (m, 5 H), 5.04-5.16 (m, 2 H, rotamers), 3.94-4.06 (m, 1 H), 3.12-3.18 (m, 2 H), 1.45-1.70 (m, 4 H), 1.36 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 172.4, 156.2 (q, J = 35 Hz), 155.6, 136.0, 128.4, 128.0, 127.7, 116.0 (q, J = 286

Hz), 78.3, 65.8, 53.4, 28.2, 27.8, 25.0 ppm ($\underline{CH_2}$-NHCOCF$_3$ peaks obscured by residual D_6-DMSO); IR (thin film) 3333, 1709 cm^{-1}; HRMS calculated (M + 2H - Boc, $C_{14}H_{18}F_3N_2O_3$) 319.1270, found 319.1215.

EXAMPLE 3

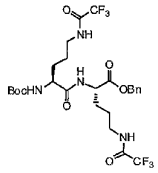
Synthesis of HCl•NH$_2$-Orn(COCF$_3$)-CO$_2$Bn **(7)**



General procedure A with protected ornithine **6** (14.2 g, 33.9 mmol), EtOAc (150 mL), and reaction time = 12 h. Evaporation of the solvent gave the desired product **7** as a white powder (12.0 g, 33.8 mmol, quantitative yield): mp 187-188 °C; R_f = 0.33 (25:1 EtOAc/Et$_3$N); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.61 (t, 1 H, J = 3.3 Hz), 8.71 (br s, 3 H), 7.36-7.43 (m, 5 H), 5.24 (s, 2 H), 4.11 (t, 1 H, J = 3.8 Hz), 3.17-3.21 (m, 2 H), 1.81-1.86 (m, 2H), 1.62-1.68 (m, 1 H), 1.52-1.56 (m, 1 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 169.3, 156.3 (q, J = 35 Hz), 135.2, 128.5, 128.4, 116.0 (q, J = 286 Hz), 67.1, 51.6, 38.5, 27.4, 24.0 ppm; IR (thin film) 3314, 3211, 1740, 1699 cm^{-1}; HRMS calculated (M + H, $C_{14}H_{18}F_3N_2O_3$) 319.1270, found 319.1257.

EXAMPLE 4

Synthesis of BocNH-(Orn(COCF$_3$))$_2$-CO$_2$Bn **(9)**

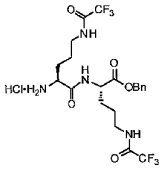


General procedure C with acid **6** (4.69 g, 14.3 mmol) and amine **7** (5.01 g, 14.3 mmol). After work-up, removal of the solvent *in vacuo* gave the desired product **9** as a

white powder (8.75 g, 13.9 mmol, 97% yield): mp 160-162°C; R_f = 0.80 (1:1 EtOAc/hexane); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.44 (t, 1 H, J = 3.2 Hz), 9.40 (t, 1 H, J = 3.2 Hz), 8.27 (d, 1 H, J = 4.2 Hz), 7.32-7.39 (m, 5 H), 6.90 (d, 1 H, J = 4.8 Hz), 5.11 (s, 2 H), 4.31-4.35 (m, 1 H), 3.94 (br m, 1 H), 3.10-3.19 (m, 4 H), 1.72-1.76 (m, 1 H), 1.37-1.66 (m, 7 H), 1.37 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 172.4, 171.7, 156.3 (q, J = 35 Hz), 155.3, 135.9, 128.4, 128.1, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.1, 66.0, 53.7, 51.6, 29.2, 28.2, 28.1, 25.0, 24.8 ppm ($\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ peaks obscured by residual D_6-DMSO); IR (thin film) 3313, 1704 cm^{-1}; HRMS calculated (M + 2 H – Boc, $C_{21}H_{27}F_6N_4O_5$) 529.1886, found 529.1889.

EXAMPLE 5

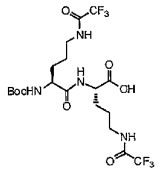
Synthesis of HCl•NH_2-(Orn($COCF_3$))$_2$-CO_2Bn **(10)**



See general procedure A with protected di-ornithine **9** (3.8 g, 6.0 mmol), EtOAc (150 mL), reaction time = 12 h. After filtration of the reaction mixture, washing the solid (EtOAc), and drying *in vacuo*, the desired product **10** was obtained as a white powder (2.9 g, 5.0 mmol, 83% yield): mp 191-194°C; ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.52-9.64 (m, 2 H), 9.04-9.11 (m, 1 H), 8.35 (br s, 3 H), 7.30-7.38 (m, 5 H), 5.12 (s, 2 H), 4.32-4.40 (m, 1 H), 3.80-3.88 (m, 1 H), 3.06-3.25 (m, 4 H), 1.49-1.84 (m, 8 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 171.2, 168.9, 156.3 (q, J = 35 Hz), 135.8, 128.5, 128.2, 128.0, 116.0 (q, J = 286 Hz), 66.2, 51.8, 51.6, 38.6, 28.5, 27.8, 24.7, 23.8 ppm ($\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ peaks obscured by residual D_6-DMSO); IR (thin film) 3305, 1701, 1659 cm^{-1}; HRMS calculated (M + H, $C_{21}H_{27}F_6N_4O_5$) 529.1886, found 529.1881.

EXAMPLE 6

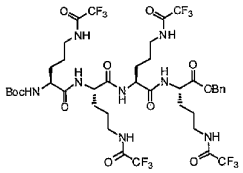
Synthesis of BocNH-(Orn(COCF$_3$))$_2$-CO$_2$H **(11)**



See general procedure B with protected di-ornithine **9** (3.8 g, 6.0 mmol) and reaction time = 12 h. After work-up, the desired product **11** was obtained as a white foam (3.3 g, 6.0 mmol, quantitative): mp 149-151°C; R_f = 0.44 (65:31:4 EtOAc/hexane/AcOH); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.35-9.48 (m, 2 H), 8.00-8.06 (m, 1 H), 6.85-6.93 (m, 1 H), 4.14-4.23 (m, 1 H), 3.86-3.94 (br m, 1 H), 3.12.3.22 (m, 4 H), 1.44-1.76 (m, 8 H), 1.35 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 173.4, 172.1, 157.0 (q, J = 35 Hz), 155.3, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.1, 53.8, 51.4, 39.0, 38.8, 29.2, 28.4, 28.2, 25.0, 24.8 ppm; IR (thin film) 3309, 1713 cm^{-1}; HRMS calculated (M – *t*-BuO, $C_{15}H_{19}F_6N_4O_6$) 465.1209, found 465.1205.

EXAMPLE 7

Synthesis of BocNH-(Orn(COCF$_3$))$_4$-CO$_2$Bn **(12)**

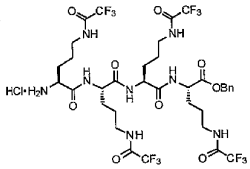


See general procedure C with acid **11** (2.60 g, 4.82 mmol) and amine **10** (2.72 g, 4.82 mmol). After work-up, the crude solid was taken up in solution (9:1 EtOAc/MeOH) and passed through a short plug of silica gel. Removal of the solvent *in vacuo* gave the desired product **12** as a white powder (4.20 g, 4.00 mmol, 83% yield): mp 197-198°C; R_f = x (solvent); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 8.72-8.77 (m, 4 H), 7.72 (d, 1 H, J = 7.5

Hz), 7.39 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 7.17 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 6.66-6.73 (m, 5 H), 6.33 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 4.45 (s, 3 H), 3.95 (m, 1H), 3.15 (m, 8H), 1.30-1.74 (m, 25H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 172.3, 171.9, 171.6, 171.2, 156.2 (q, J = 35 Hz), 155.4, 135.9, 128.4, 128.1, 127.9, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.2, 66.0, 54.0, 51.8, 51.7, 51.6, 29.8, 29.6, 29.0, 28.1, 27.9, 25.0, 24.8, 24.7, 18.9 ppm ($\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ peaks obscured by residual D_6-DMSO); IR (thin film) 3306, 1707 cm^{-1}; HRMS calculated (M + H, $C_{40}H_{53}F_{12}N_8O_{11}$) 1049.4, found 1049.0.

EXAMPLE 8

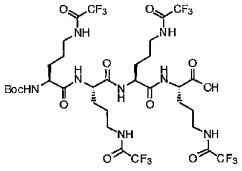
Synthesis of HCl•NH_2-(Orn($COCF_3$))$_4$-CO_2Bn (**13**)



See general procedure A with protected tetra-ornithine **12** (2.0 g, 1.9 mmol), dioxane (300 mL), and reaction time = 18 h. After concentration of the solvent *in vacuo*, the desired product **13** was obtained as a yellow amorphous solid (1.9 g, 1.9 mmol, quantitative yield): mp 238-240°C; ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.44-9.51 (m, 4 H), 8.62 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 8.44 (d, 1 H, J = 7.2 Hz), 8.15-8.20 (m, 4 H), 7.30-7.35 (m, 5 H), 5.09 (s, 2 H), 4.26-4.35 (m, 3 H), 3.75-3.81 (m, 1 H), 3.10-3.20 (m, 8 H), 1.40-1.72 (m, 16 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 171.7, 171.6, 170.8, 168.3, 156.2 (q, J = 36 Hz), 135.8, 128.4, 128.1, 127.8, 116.0 (q, J = 286 Hz), 66.4, 66.0, 52.2, 51.9, 51.7, 29.6, 29.5, 28.64, 28.56, 27.9, 24.8, 24.7, 24.0 ppm ($\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ peaks obscured by residual D_6-DMSO); IR (nujol mull) 3302, 2914, 1702, 1671, 1641, 1562, 1528, 1461, 1377, 1182, 724 cm^{-1}; ES-MS (+ ionization) calculated (M + H, $C_{35}H_{45}F_{12}N_8O_9$) 949.3, found 949.4.

EXAMPLE 9

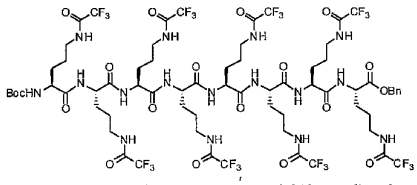
Synthesis of BocNH-(Orn($COCF_3$))$_4$-CO_2H **(14)**



See general procedure B with protected tetra-ornithine **12** (2.0 g, 1.9 mmol) and reaction time = 16 h. After work-up, the desired product **14** was obtained as a white foam (1.8 g, 1.9 mmol, quantitative yield): mp 90-105°C; R_f = 0.34 (65:31:4 EtOAc/hexane/AcOH); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.34-9.43 (m, 4 H), 8.17 (d, 1 H, J = 7.5 Hz), 8.02 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 7.82 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 6.98 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 4.23-4.30 (br m, 2 H), 4.12-4.18 (m, 1 H), 3.85-3.90 (m, 1 H), 3.10-3.18 (br m, 8 H), 1.47-1.68 (m, 16 H), 1.35 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 173.2, 171.9, 171.4, 171.2, 156.2 (q, J = 35 Hz), 155.4, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.2, 54.0, 51.9 (2 C), 51.5, 39.4, 38.8, 29.8, 29.6, 29.0, 28.3, 28.1, 25.0, 24.9, 24.8, 24.7 ppm ($\underline{C}H_2$-$NHCOCF_3$ peaks obscured by residual D_6-DMSO); IR (thin film) 3306, 1709, 1664 cm^{-1}; ES-MS (+ ionization) calculated (M + H, $C_{33}H_{47}F_{12}N_8O_{11}$) 959.3, found 959.3.

EXAMPLE 10

Synthesis of BocNH-(Orn($COCF_3$))$_8$-CO_2Bn **(15)**

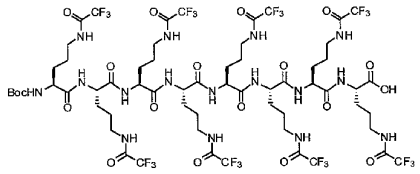


See general procedure C with acid **14** (300 mg, 0.313 mmol) and amine **13** (308 mg, 0.313 mmol). After work-up, the desired product **15** was obtained as a white amorphous solid (490 mg, 0.259 mmol, 83% yield): mp 225-226°C (dec); R_f = 0.75 (95:5

EtOAc/MeOH); ^{1}H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 9.30-9.45 (m, 7 H), 8.37 (d, 1 H, J = 6.6 Hz), 7.90-8.08 (m, 4 H), 7.84 (d, 1 H, J = 7.5 Hz), 7.25-7.36 (m, 5 H), 6.97 (m, 1 H, J = 7.5 Hz), 5.09 (s, 2 H), 4.20-4.35 (m, 7 H), 3.82-3.91 (m, 1 H), 2.99-3.18 (m, 16 H), 1.25-1.80 (m, 32 H), 1.35 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 172.0, 171.7, 171.6, 171.4, 171.3, 171.2, 156.3 (q, J = 35 Hz), 155.4, 135.9, 128.4, 128.1, 127.9, 116.0 (q, J = 286 Hz), 78.2, 66.0, 54.1, 52.1, 51.8, 51.7, 29.7, 29.4, 29.0, 28.1, 28.0, 25.0, 24.8, 18.9 ppm ($\underline{C}H_2$-NHCOCF$_3$ peaks obscured by residual D_6-DMSO); IR (thin film) 3293, 3100, 2944, 1705, 1659, 1548, 1444, 1370, 1156 cm^{-1}; ES-MS (+ ionization) calculated (M + H, $C_{68}H_{89}F_{24}N_{16}O_{19}$) 1889.6, found 1889.2.

EXAMPLE 11

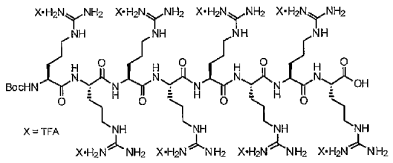
Synthesis of BocNH-(Orn(COCF$_3$))$_8$-CO$_2$H **(16)**



See general procedure B with protected octa-ornithine **15** (36 mg, 0.019 mmol), Pd/C (10%, 10 mg, 0.0094 mmol), MeOH (3 mL), and reaction time = 3 h. After work-up, the desired product **16** was obtained as a white powder (34 mg, 0.019 mmol, quantitative yield): mp 235-239°C (dec); R_f = 0.80 (4:1 EtOAc/MeOH); ^{1}H NMR (300 MHz, 2:1 CD_3CN/D_2O) δ 8.70-8.79 (m, 3 H), 7.55-7.68 (m, 4 H), 4.08-4.26 (m, 7 H), 3.21 (br m, 16 H), 1.49-1.74 (m, 32 H), 1.35 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, 2:1 CD_3CN/D_2O) δ 175.6, 174.8, 174.7, 174.6, 174.1, 173.6, 173.5, 173.4, 158.5 (q, J = 36 Hz), 157.7, 117.0 (q, J = 280 Hz), 81.2, 56.1, 55.5, 55.2, 54.9, 54.4, 53.9, 53.4, 53.0, 39.9 (m), 25.5-29.4 (m) ppm; IR (thin film) 3305, 1704, 1658 cm^{-1}; ES-MS (- ionization) calculated ($C_{61}H_{83}F_{24}N_{16}O_{19}$ - H) 1798.6, found 1799.2.

EXAMPLE 12

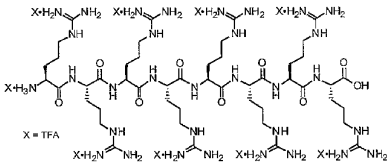
Synthesis of BocNH-Arg_8-CO_2H (•8TFA salt) **(18)**



To a solution of **16** (143 mg, 0.080 mmol) in MeOH (3 mL) was added sodium carbonate (345 mg, 3.26 mmol), pyrazole-1-carboxamidine hydrochloride (**17**) (478 mg, 3.26 mmol), and deionized water (6 mL). The solution was heated at 55°C for 36 h and then the reaction mixture was carefully acidified by the addition of TFA (to pH ~ 4). The solvent was removed *in vacuo* giving a white residue which was purified using RP-HPLC (isocratic: 5% solvent A, 5 min; gradient: 5% solvent A to 50% solvent A, 19 min). Lyophilization of the major product (R_t = 15.2 min) gave the desired product as a white powder **18** (93 mg, 0.041 mmol, 51% yield): analytical RP-HPLC (gradient: 5% solvent A to 95% solvent A, 15 min) R_t = 4.64 min, 99+% purity; ^1H NMR (300 MHz, D_6-DMSO) δ 8.20-8.28 (m, 3 H), 4.05-4.22 (m, 7 H), 3.80-3.90 (m, 1 H), 2.99-3.10 (m, 16 H), 1.40-1.82 (m, 32 H), 1.26 (s, 9 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_6-DMSO) δ 169.7, 168.0, 167.92, 167.89, 167.8, 157.5 (q, J = 36 Hz, TFA C=O), 152.1, 151.3, 111.0 (q, J = 290 Hz, TFA CF_3), 76.2, 49.2, 48.0, 47.9, 47.1, 35.1, 22.9, 22.3, 22.2, 19.1 ppm; ES-MS (- ionization) calculated ($C_{53}H_{106}N_{32}O_{11}$ - H) 1365.9, found 1365.8.

EXAMPLE 13

Synthesis of 9TFA•NH_3-Arg_8-CO_2H **(1)**



A solution of **18** (85 mg, 0.037 mmol) in trifluoroacetic acid (3 mL) with 150 µL of triisopropyl silane was stirred at RT for 30 min. To the reaction mixture was added deionized water (3 mL) and the solvent was then removed by lyophilization. The resulting crude residue was purified by RP-HPLC (isocratic: 5% solvent A, 5 min; gradient: 5% solvent A to 50% solvent A, 19 min). Lyophilization of the major product (R_t = 12.8 min) gave the desired product **1** (85 mg, 0.037 mmol, >99% yield) as a white powder: analytical RP-HPLC (gradient: 5% solvent A to 95% solvent A, 15 min) R_t = 4.6 min, 99+% purity; mp 105-108 °C; ^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 8.33-8.50 (m, 3 H), 4.12-4.25 (m, 7 H), 3.90 (t, 1 H, J = 6.6 Hz), 3.02-3.10 (m, 14 H), 2.87 (t, 2 H, J = 6.3 Hz), 1.40-1.82 (m, 32 H) ppm; ^{13}C NMR (75 MHz, D_2O) δ 169.9, 168.0, 167.9, 167.7, 164.1, 157.6 (q, J = 35 Hz, TFA C=O), 151.4, 111.0 (q, J = 290 Hz, TFA CF_3), 48.1, 48.0, 47.8, 47.3, 47.1, 35.2, 35.1, 35.0, 33.5, 23.0, 22.9, 22.7, 22.3, 19.1, 18.9, 18.1, 17.9 ppm; ES-MS (- ionization) calculated ($C_{48}H_{98}N_{32}O_9$ - H) 1265.8, found 1265.9.

It is understood that the examples and embodiments described herein are for illustrative purposes only and that various modifications or changes in light thereof will be suggested to persons skilled in the art and are to be included within the spirit and purview of this application and scope of the appended claims.

CLAIMS

1. A method for the preparation of an oligoguanidine compound, comprising:

(a) contacting an oligomer having a plurality of chemically tethered amines, wherein a portion of said tethered amines have attached protecting groups, with a protecting group removal agent to remove said protecting groups to produce an oligomer having a plurality of chemically tethered amines; and

(b) contacting said oligomer having a plurality of chemically tethered amines with a guanidinylation reagent to convert each of said chemically tethered amines to a guanidinyl group to produce an oligoguanidine compound.

2. The method of Claim 1, wherein the guanidinylation reagent is a salt of pyrazole-1-carboxamidine.

3. The method of Claim 1, wherein the protecting groups on each of the chemically tethered amines are trifluoroacetyl groups.

4. The method of Claim 1, wherein both of the contacting steps are conducted in a single reaction vessel.

5. The method of Claim 1, wherein the contacting steps are carried out sequentially.

6. The method of Claim 1, wherein the contacting steps are carried out concurrently.

7. The method of Claim 1, wherein the oligomer has a peptide backbone.

8. The method of Claim 7 wherein the peptide backbone is a cyclic peptide backbone.

9. The method of Claim 7, wherein the oligomer is an oligoornithine compound.

10. The method of Claim 9, wherein the oligoornithine compound is an octaornithine compound and is produced by coupling of two tetraornithine compounds.

11. The method of Claim 10, wherein each of the tetraornithine compounds are produced by the coupling of two ornithine dimers.

12. The method of Claim 1, wherein the oligomer has a non-peptide backbone selected from the group consisting of peptoid, poly-*p*-phenylene, polyethyleneglycol, peptide-peptoid hybrid, a polyamide, azapeptide, a peptide-urea hybrid, polyenamine, polyoxamide, hydrocarbon, polyethylene/polypropylene ether, carbohydrate, and oxy-substituted dicyclohexyl ether.

13. The method of Claim 12, wherein the non-peptide backbone is a cyclic non-peptide backbone.

14. The method of Claim 1, wherein the oligoguanidine compound has at least four arginine residues.

15. The method of Claim 14, wherein the oligoguanidine compound has at least six arginine residues.

16. The method of Claim 15, wherein the oligoguanidine compound comprises at least eight arginine residues that are contiguous.

17. The method of Claim 16, wherein the oligoarginine compound is an octamer of D-arginine or L-arginine.

18. The method of Claim 14, wherein the oligoguanidine compound comprises from four to eight arginine residues that are non-contiguous.

19. The method of Claim 1, wherein the oligoguanidine compound consists essentially of from eight to sixteen amino acid residues, wherein from four to eight of the amino acid residues are arginine residues.

20. The method of Claim 14, wherein the arginine residues are selected from the group consisting of D-arginine, L-arginine, D-homoarginine and L-homoarginine.

21. The method of Claim 20, wherein the arginine residues are selected from the group consisting of D-arginine and L-arginine.

22. The method of Claim 1, wherein the oligoguanidine compound has a formula selected from the group consisting of $(X^0\text{-Arg-}X^0)_q$ and $(X^0\text{-Arg})_q$ wherein each X^0 is an amino acid residue that does not have a guanidino moiety; Arg is selected from the group consisting of D-arginine, L-arginine, D-homoarginine and L-homoarginine; and q is an integer selected from 2, 4, 6, 8 and 16.

23. The method of Claim 22, wherein the oligoguanidine compound has the formula $(X^0\text{-Arg-}X^0)_q$.

24. The method of Claim 22, wherein the oligoguanidine compound has the formula $(X^0\text{-Arg})_q$.

25. The method of Claim 14, wherein the side chains of the arginine residues are modified.

26. The method of Claim 23, wherein the side chains of the arginine residues are modified to include a C, O, N, S or B derivative.

27. The method of Claim 25, wherein the side chains of the arginine residues are modified to include a double or a triple bond.

28. The method of Claim 25, wherein the side chains of the arginine residues are modified to include a cyclic structure.

29. The method of Claim 1, wherein the guanidinyl groups are modified.

30. The method of Claim 1, which further comprises the step of converting the oligoguanidine compound to a salt.

31. The method of Claim 30, wherein the salt is a poly trifluoroacetate salt.

32. A compound comprising an oligoguanidine compound prepared according to Claim 1 that is chemically tethered to a therapeutic agent.

33. A compound comprising an oligoguanidine compound prepared according to Claim 20 that is chemically tethered to a therapeutic agent.

34. A method of preparing an oligoarginine compound from a suitably protected ornithine monomer, comprising:

(a) coupling two different suitably protected ornithine monomers to produce an orthogonally protected coupled ornithine compound;

(b) dividing said orthogonally protected coupled ornithine compound into two portions and activating each of said portions for amide coupling to produce two independently activated coupled ornithine compounds;

(c) recombining said two independently activated coupled ornithine compounds under conditions sufficient for amide coupling to produce a new orthogonally protected coupled ornithine compound;

(d) subjecting the product of step c) to said dividing, activating, and recombining for from zero to three times to produce an oligoornithine compound having 4, 8 or 16 ornithine monomers in a linear configuration; and

(e) contacting said oligoornithine compound with a perguanidinylation reagent under conditions sufficient to produce an oligoarginine compound.

35. The method of Claim 34, wherein the oligoguanidine compound comprises at least eight arginine residues that are contiguous.

36. The method of Claim 35, wherein the oligoarginine compound is an octamer of D-arginine.

37. The method of Claim 34, wherein the oligoarginine compound has a formula selected from the group consisting of $(X^0\text{-Arg-}X^0)_t$ and $(X^0\text{-Arg})_t$ wherein each X^0 is an amino acid residue that does not have a guanidino moiety; Arg is selected from the group consisting of D-arginine and L-arginine; and t is an integer selected from 4, 8 and 16.

38. The method of Claim 34, wherein each X^0 is selected from the group consisting of glycine, β-alanine, 4-aminobutyric acid, 5-aminovaleric acid and 6-aminocaproic acid.

39. The method of Claim 34, wherein the oligoarginine compound has a formula of $(X^0\text{-Arg})_t$ and each X^0 is selected from the group glycine, β-alanine, 4-aminobutyric acid, 5-aminovaleric acid and 6-aminocaproic acid.

40. The method of Claim 34, wherein the oligoarginine compound has a formula of $(X^0\text{-Arg})_t$, each X^0 is selected from the group glycine, β-alanine, 4-aminobutyric acid, 5-aminovaleric acid and 6-aminocaproic acid and t is 8 or 16.

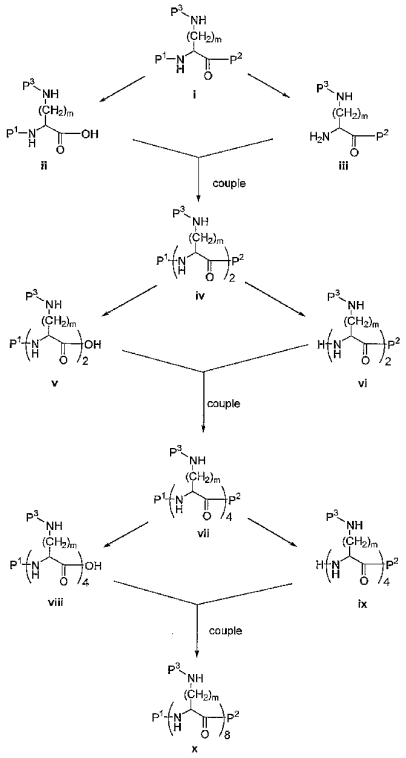


FIG. 1

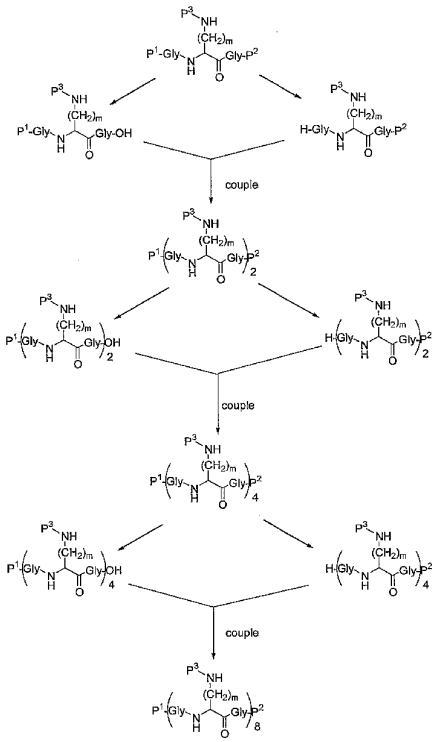


FIG. 2

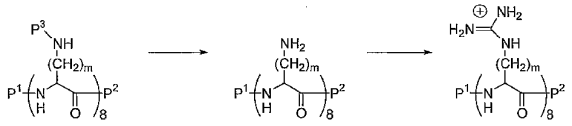


FIG. 3A

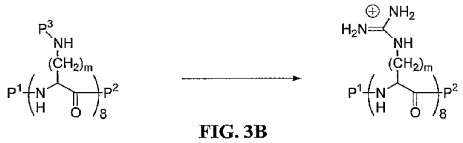


FIG. 3B

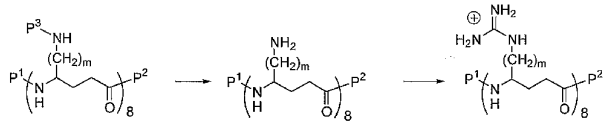


FIG. 3C

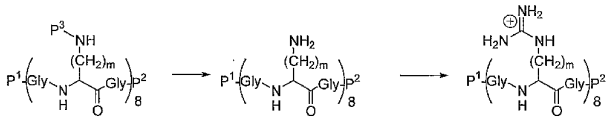


FIG. 3D

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
20 February 2003 (20.02.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/014076 A3

(51) International Patent Classification⁷: C07K 1/107

(21) International Application Number: PCT/US02/24645

(22) International Filing Date: 2 August 2002 (02.08.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/310,305 3 August 2001 (03.08.2001) US

(71) Applicant: **THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND STANFORD JUNIOR UNIVERSITY** [US/US]; Stanford, CA 94305 (US).

(72) Inventors: **WENDER, Paul, A.**; 930 Siskiyou Drive, Menlo Park, CA 94025 (US). **VANDEUSEN, Christopher, L.**; Apt. #57, 750 North Shoreline Blvd., Mountain View, CA 94043 (US). **PATTABIRAMAN, Kanaka**; Apt. B 201, 600 Sharon Park Drive, Menlo Park, CA 94025 (US). **PELKEY, Erin, T.**; 2197 County Road #6, Phelps, NY 14532 (US). **JESSOP, Theodore, C.**; 265 Olive Avenue, Palo Alto, CA 94306 (US).

(74) Agents: **EBERLE, Shelley, P.** et al.; Reed & Eberle LLP, Suite 210, 800 Menlo Avenue, Menlo Park, CA 94025 (US).

(81) Designated States *(national)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(regional)*: ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
with international search report

(88) Date of publication of the international search report:
9 October 2003

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

WO 03/014076 A3

(54) Title: BI-DIRECTIONAL SYNTHESIS OF OLIGOGUANIDINE TRANSPORT AGENTS

(57) Abstract: Synthesis routes that can be adapted to large scale synthesis of oligoguanidine compounds such as oligoarginine compounds are described which use a perguanidinylation step to convert a group of ω-amino groups to the corresponding guanidinyl groups. These compounds find utility as transport agents. Modified oligoguanidine compounds are also described.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US02/24645

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(7) : C07K 1/107
US CL : 530/333
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
U.S. : 530/333

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A, P	WENDER, P.A. et al. Oligocarbamate Molecular Transporters: Design, Synthesis and Biological Evaluation of a New Class of Transporters for Drug Delivery. J. Am. Chem. Soc. 2002, Vol. 124, No. 45, pages 13382-13383.	1-40
A, E	US 6,495,663 A (ROTHBARD et al) 17 December 2002 (17.12.2002), see entire document.	1-40

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

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

Date of the actual completion of the international search 04 March 2003 (04.03.2003)	Date of mailing of the international search report 12 JUN 2003
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231	Authorized officer Larlon David
Facsimile No. (703)305-3230	Telephone No. 703-308-0196

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI	テーマコード（参考）
Ｃ０７Ｋ 5/11	Ｃ０７Ｋ 5/11	
Ｃ０７Ｋ 5/12	Ｃ０７Ｋ 5/12	
Ｃ０７Ｋ 7/04	Ｃ０７Ｋ 7/04	
Ｃ０７Ｋ 7/06	Ｃ０７Ｋ 7/06	
Ｃ０７Ｋ 7/50	Ｃ０７Ｋ 7/50	
Ｃ０７Ｋ 7/64	Ｃ０７Ｋ 7/64	
Ｃ０７Ｋ 14/00	Ｃ０７Ｋ 14/00	
// Ａ６１Ｋ 47/42	Ａ６１Ｋ 47/42	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ベンダー, ポウル エイ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０２５, メンロ パーク, シスキユ ドライブ ９３０
(72)発明者 バンドイセン, クリストファー エル.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０４３, マウンテン ビュー, ノース ショアライン ブルバード ７５０, アパートメント ナンバー５７
(72)発明者 パッタビラマン, カナカ
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４０２５, メンロ パーク, シャロン パーク ドライブ ６００, アパートメント ビー ２０１
(72)発明者 ペルケイ, エリン ティー.
アメリカ合衆国 ニューヨーク １４５３２, フェルプス, カウンティ ロード ２１９７ ナンバー６
(72)発明者 ジェソップ, セオドア シー.
アメリカ合衆国 カリフォルニア ９４３０６, パロ アルト, オリーブ アベニュー ２６５

Ｆターム(参考) 4C076 EE41 EE59 FF34
4H006 AA02 AC59
4H045 AA10 AA20 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17 EA20 FA30 FA44
FA58 FA59 FA61