

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7592034号
(P7592034)

(45)発行日 令和6年11月29日(2024.11.29)

(24)登録日 令和6年11月21日(2024.11.21)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 F	9/38 (2006.01)	C 0 7 F	9/38 B
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113 Z Z N A
C 0 7 K	16/46 (2006.01)	C 0 7 K	16/46
C 0 7 K	16/00 (2006.01)	C 0 7 K	16/00
C 0 7 H	19/10 (2006.01)	C 0 7 H	19/10 C S P
請求項の数 10 (全149頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-572518(P2021-572518)	(73)特許権者	518345192
(86)(22)出願日	令和2年6月5日(2020.6.5)		アビディティー バイオサイエンス
(65)公表番号	特表2022-535588(P2022-535588 A)		, インク.
(43)公表日	令和4年8月9日(2022.8.9)		アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォル
(86)国際出願番号	PCT/US2020/036369		ニア州 サンディエゴ サイエンス・セン
(87)国際公開番号	WO2020/247782		ター・ドライブ 1 0 5 7 8 スイート
(87)国際公開日	令和2年12月10日(2020.12.10)	(74)代理人	1 2 5
審査請求日	令和5年4月7日(2023.4.7)		110003797
(31)優先権主張番号	62/858,285		弁理士法人清原国際特許事務所
(32)優先日	令和1年6月6日(2019.6.6)	(72)発明者	ドパラブディ, ヴェンカタ ラマナ
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォル
			ニア州 ラ・ホーヤ ノース・トーリー・
			パインズ・ロード 1 0 9 7 5 スイート
			1 5 0
		(72)発明者	コ克蘭, マイケル カラミアン
			最終頁に続く

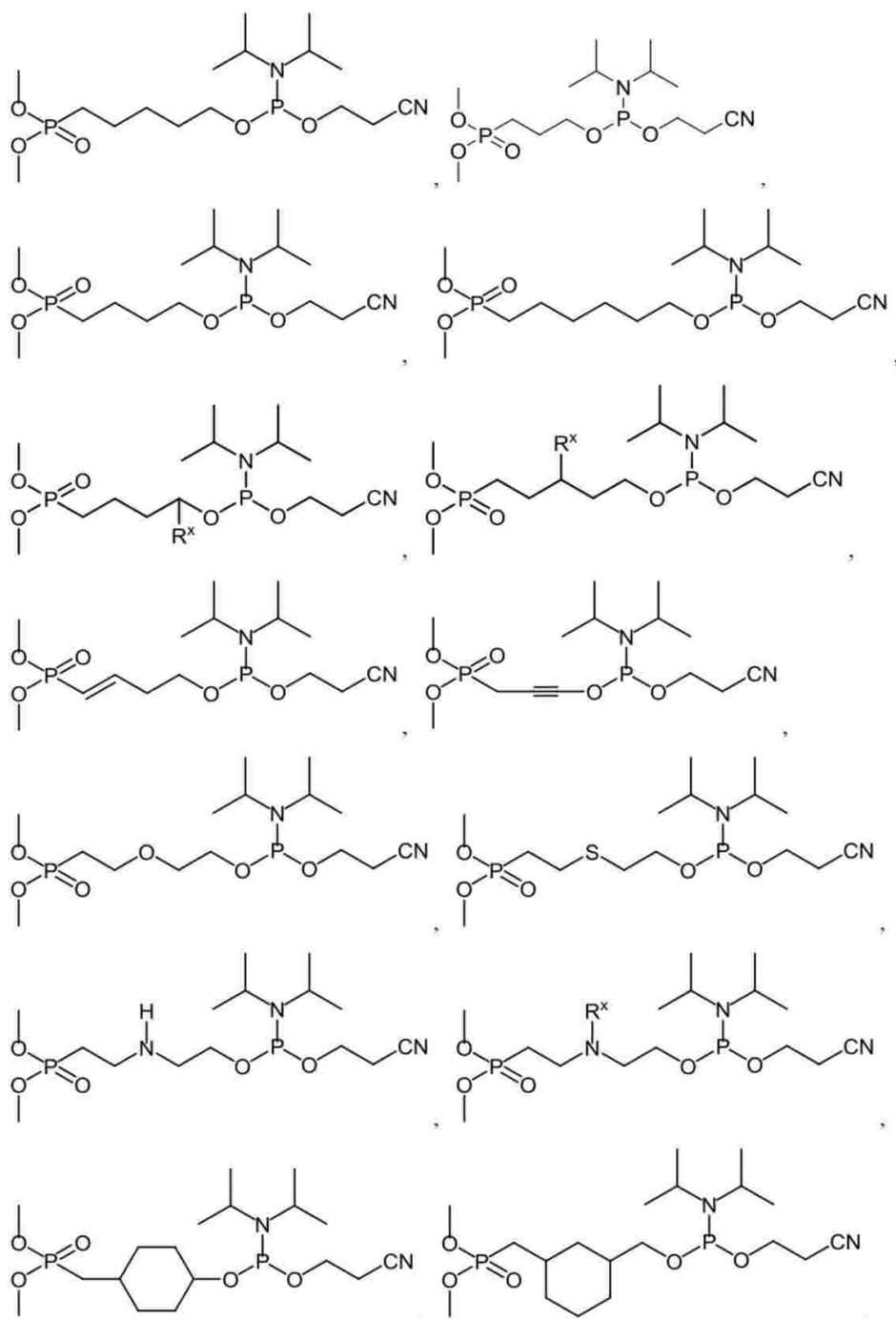
(54)【発明の名称】 核酸ポリペプチド組成物およびその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

オリゴヌクレオチドの合成に適した化合物であって、前記化合物は、

【化 1】



10

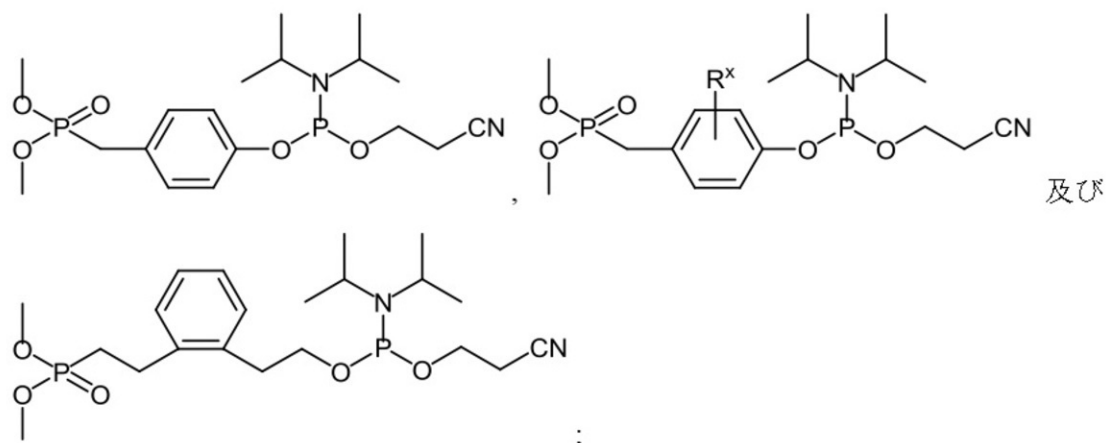
20

30

40

50

【化 2】



10

20

からなる群から選択され、

式中、 R^x は、H、ハロゲン、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、非置換または置換の単環式の複素環、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-O$ -アルキル、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2$ -アルキル、 $-CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CO_2$ -アルキル、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NH$ -アルキル、 $-CH_2C(=O)NH_2$ 、 $-CH_2C(=O)NH$ -アルキル、 $-NH_2$ 、 $-NH$ -アルキル、 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2NH$ -アルキル、 $-NHC(=O)$ アルキル、 $-CH_2NHC(=O)$ アルキル、 $-SH$ 、 $-S$ -アルキル、 $-S(=O)H$ 、 $-S(=O)$ アルキル、 $-SO_2H$ 、 $-SO_2$ -アルキル、 $-SO_2NH_2$ 、または $-SO_2NH$ -アルキルである、

30

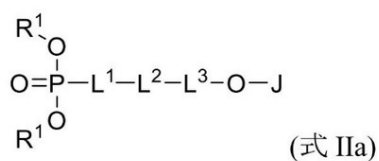
化合物。

【請求項 2】

末端の 1 つに式 (II a) の化合物を含むオリゴヌクレオチドであって、

40

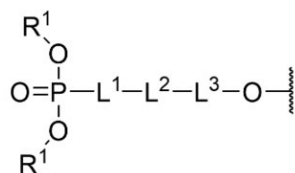
【化 3】



ここで、前記式 (II a) の化合物の

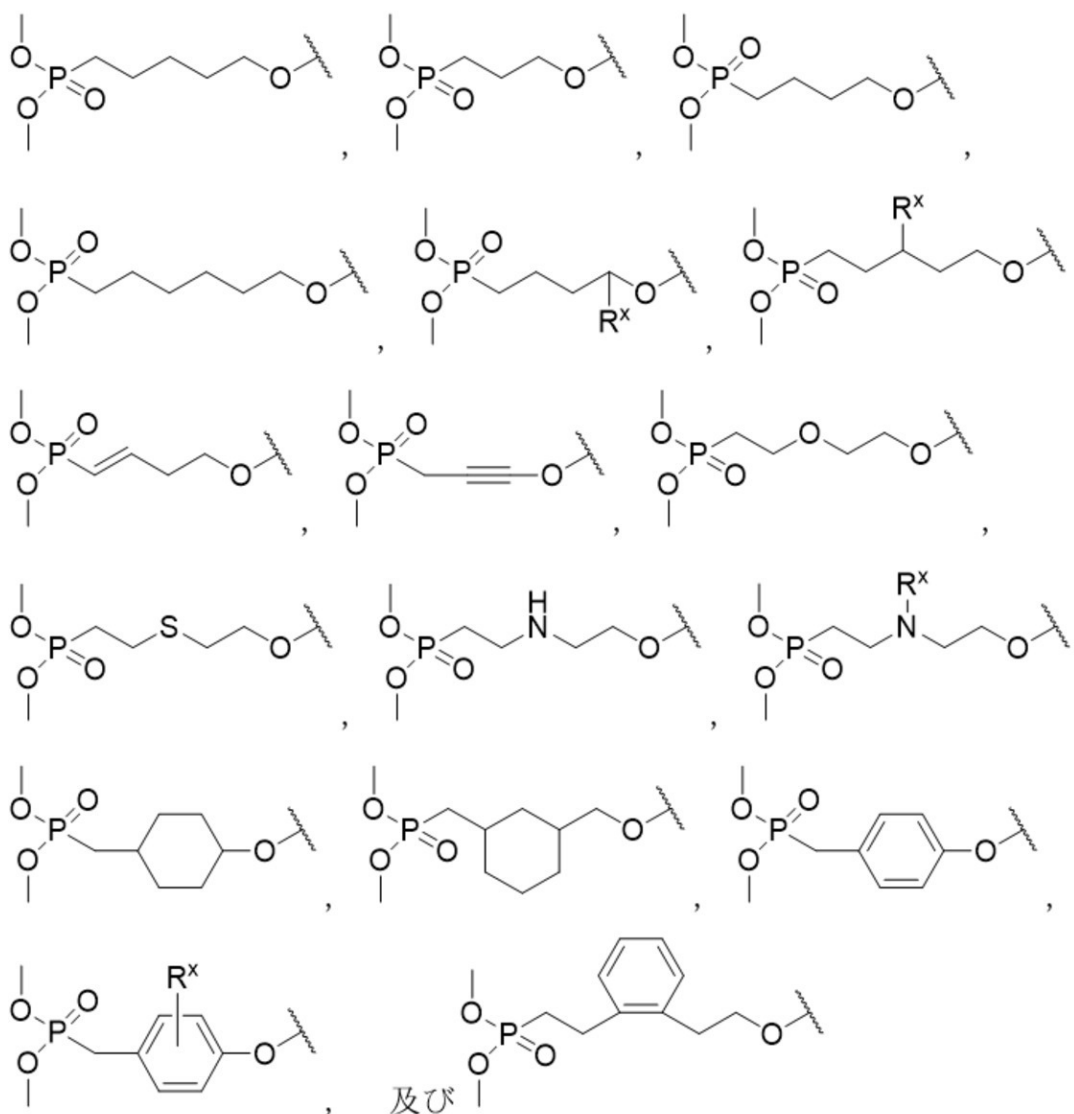
50

【化 4】



は、

【化 5】



からなる群から選択され、

式中、 R^x は、H、ハロゲン、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、非置換または置換の単環式の複素環、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{O}$ —アルキル、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CO}_2$ —アルキル、 $-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CO}_2$ —アルキル、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ —アルキル、 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}$ —アルキル、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH}$ —アルキル、 $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{NH}$ —アルキル、 $-\text{NHC}(=\text{O})$ アルキル、 $-\text{CH}_2\text{NHC}(=\text{O})$ アルキル、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{S}$ —アルキル、 $-\text{S}(=\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{S}(=\text{O})$ アルキル、 $-\text{SO}_2\text{H}$ 、 $-\text{SO}_2$ —アルキル、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、または $-\text{SO}_2\text{NH}$ —アルキルであり、

Jは、オリゴヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基である、
オリゴヌクレオチド。

【請求項3】

前記オリゴヌクレオチドはRNAオリゴヌクレオチドである、請求項2に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項4】

2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル(2'-O-MOE)、2'-デオキシ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)修飾されたヌクレオチド、ロックド核酸(LNA)、またはエチレン核酸(ENA)から選択される少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドをさらに含む、請求項2または3に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項5】

ホスホロチオエート結合、ホスホロジチオエート結合、メチルホスホネート結合、ホストリエステル結合、またはアミド結合から選択される少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合をさらに含む、請求項2-4のいずれか1つに記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項6】

前記オリゴヌクレオチドは結合部分にコンジュゲートする、請求項2-5のいずれか1つに記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項7】

前記結合部分は、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Fab'、二価Fab2、一本鎖可変フラグメント(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ、ナノボディ、単一ドメイン抗体(sdAb)、あるいはラクダ科抗体、またはその結合フラグメント、ペプチド、アプタマー、または小分子を含む、請求項6に記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項8】

1.5~2.5のヌクレオチドを含む、請求項2-7のいずれか1つに記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項9】

対象のタンパク質の発現不全を特徴とする疾患の処置の際に使用するための、請求項2-8のいずれか1つに記載のオリゴヌクレオチドであって、前記処置は、前記タンパク質をコードする遺伝子の発現を調節するために、前記オリゴヌクレオチドを前記対象に投与することを含む、オリゴヌクレオチド。

【請求項10】

対象のタンパク質の過剰発現を特徴とする疾患の処置の際に使用するための、請求項2-8のいずれか1つに記載のオリゴヌクレオチドであって、前記処置は、前記タンパク質をコードする遺伝子の発現を調節するために、前記オリゴヌクレオチドを前記対象に投与することを含む、オリゴヌクレオチド。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

相互参照

【0002】

本出願は、2019年6月6日に出願された米国仮特許出願第62/858,285号の利益を主張するものであり、これは全体として引用によって本明細書に組み込まれる。

【0003】

配列表

本出願は配列表を包含しており、これは、ASCIIフォーマットで電子的に提出され

10

20

30

40

50

、その全体を引用することで本明細書に組み込まれる。2020年6月6日に作成された前記ASCIIのコピーは、45532-734__601__SL.txtという名称であり、3,143,382バイトのサイズである。

【背景技術】

【0004】

RNA誘導された遺伝子サイレンシングによる遺伝子抑制は、複数のレベルの制御：転写不活性化、低分子干渉RNA (siRNA) 誘導mRNA低下、およびsiRNA誘導転写減衰を提供する。いくつかの例では、RNA干渉 (RNAi) は、複数の細胞分裂にわたって長い永続的な効果を与える。したがって、RNAiは、薬物標的の検証、遺伝子機能分析、経路分析、および疾患治療に役立つ実行可能な方法を表す。

10

【発明の概要】

【0005】

ある実施形態では、ポリ核酸分子および任意選択的にポリマーにコンジュゲートした結合部分を含む、組成物と医薬製剤が本明細書に開示される。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子およびポリマーにコンジュゲートした結合部分を含む、組成物と医薬製剤を利用する、疾患または疾病 (例えば、癌) を処置する方法も本明細書に記載される。

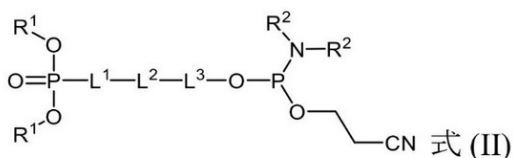
【0006】

ある実施形態では、式 (II) の化合物が本明細書で開示され、

【0007】

【化1】

20



式中、

R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、置換または非置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルであり、

30

R^2 はそれぞれ独立して、水素、重水素、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルであり、

もしくは、2つの R^2 は、それらが結合している窒素原子と一体となって、置換または非置換の C_2-C_{10} ヘテロシクロアルキルを形成し、

L^1 は、結合、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンであり、

L^2 は、結合、O、S、 NR^3 、置換または非置換の C_4-C_7 シクロアルキレン、置換または非置換の C_4-C_7 ヘテロシクロアルキレン、置換または非置換の C_5-C_8 アリーレン、あるいは置換または非置換の C_4-C_8 ヘテロアリーレンであり、

R^3 は、存在する場合、水素、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、および非置換または置換の単環式の複素環から選択され、

40

L^3 は、結合、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンであり、ならびに、

L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも2つは結合ではない。

【0008】

いくつかの例では、 L^2 は、結合、O、S、または、 NR^3 、置換または非置換の C_4-C_7 シクロアルキレン、置換または非置換の C_5-C_8 アリーレン、フェニレン、またはシクロヘキシルである。いくつかの例では、 L^1 は C_1-C_5 アルキレン、 C_1-C_3 アルケニレン、または C_1-C_5 アルキニレンであり、および、 L^3 は C_1-C_5 アルキレン、C

50

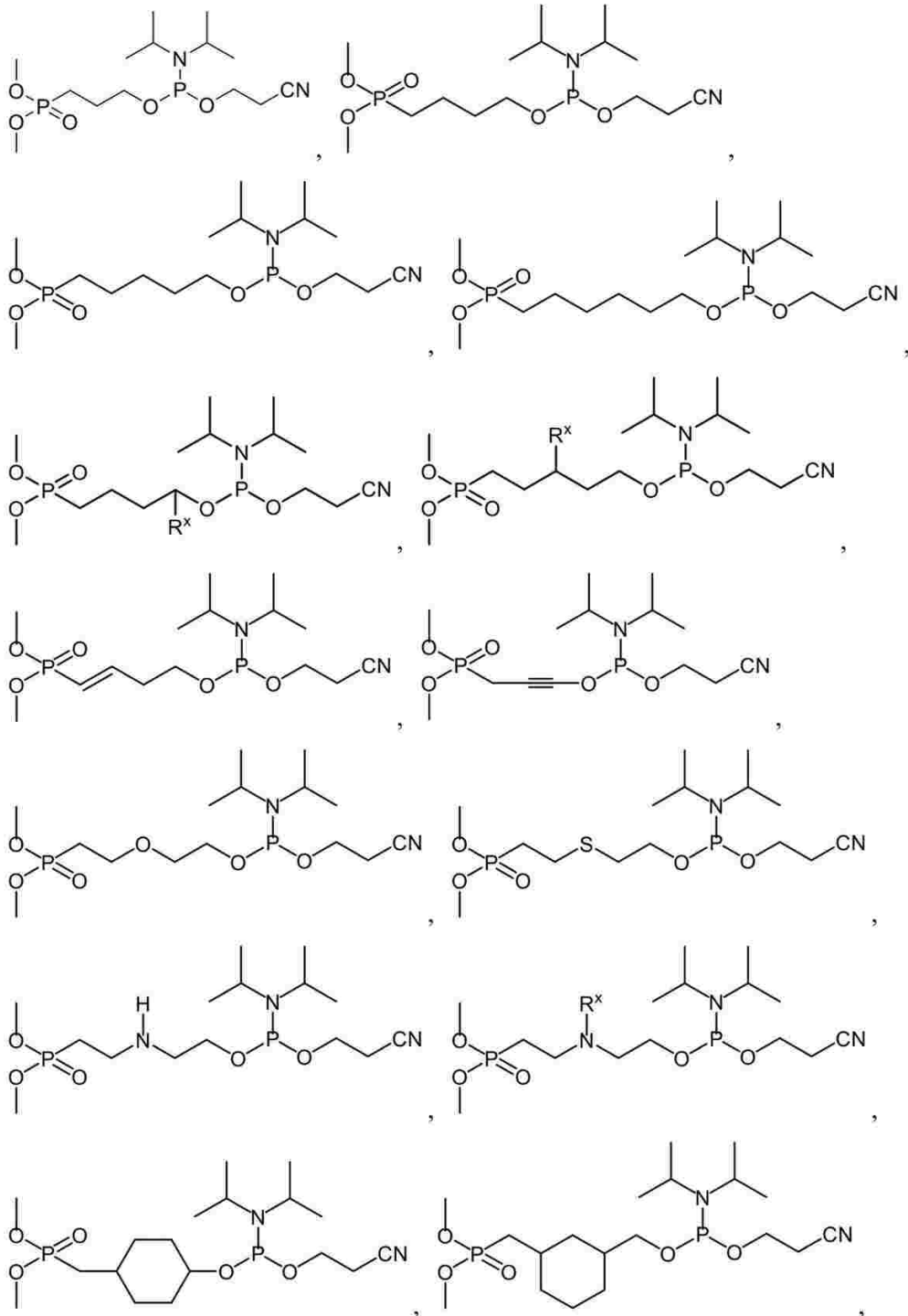
$1-C_3$ アルケニレン、または C_1-C_5 アルキニレンである。いくつかの例では、 L^1 は C_1-C_5 アルキレンであり、および、 L^3 は C_1-C_5 アルキレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はメチレン、結合、O、S、または NR^3 である。

【0009】

いくつかの例では、 R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキルである。いくつかの例では、 R^2 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、 CH_3 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの例では、化合物は、以下からなる群から選択され、

【0010】

【化2】



10

20

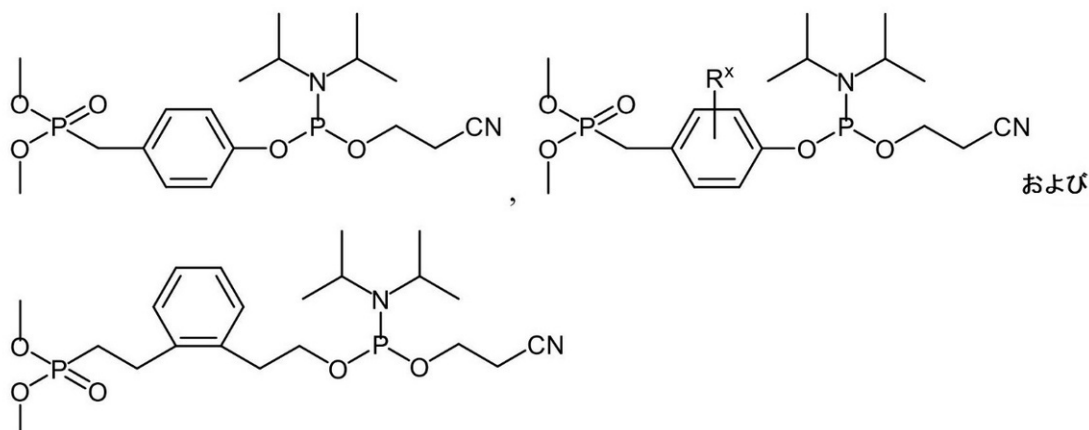
30

40

50

【 0 0 1 1 】

【 化 3 】



10

R^x は、H、ハロゲン、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、非置換または置換の単環式の複素環、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-O$ -アルキル、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2$ -アルキル、 $-CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CO_2$ -アルキル、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NH$ -アルキル、 $-CH_2C(=O)NH_2$ 、 $-CH_2C(=O)NH$ -アルキル、 NH_2 、 $-NH$ -アルキル、 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2NH$ -アルキル、 $-NHC(=O)$ アルキル、 $-CH_2NHC(=O)$ アルキル、 $-SH$ 、 $-S$ -アルキル、 $-S(=O)H$ 、 $-S(=O)$ アルキル、 $-SO_2H$ 、 $-SO_2$ -アルキル、 $-SO_2NH_2$ 、または $-SO_2NH$ -アルキルである。

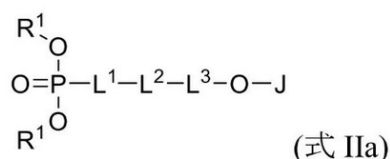
20

【 0 0 1 2 】

末端のうちの1つで式 (I I a) の化合物を含むオリゴヌクレオチドも開示されており、

【 0 0 1 3 】

【 化 4 】



30

式中、

R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、置換または非置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルであり、

40

L^1 は、結合、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンであり、

L^2 は、結合、O、S、 NR^3 、置換または非置換の C_4-C_7 シクロアルキレン、置換または非置換の C_4-C_7 ヘテロシクロアルキレン、置換または非置換の C_5-C_8 アリーレン、あるいは置換または非置換の C_4-C_8 ヘテロアリーレンであり、

R^3 は、存在する場合、水素、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、および非置換または置換の単環式の複素環から選択され、

L^3 は、結合、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンであり、

50

Jは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基であり、ならびに、

L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも2つは結合ではない。

【0014】

いくつかの例では、オリゴヌクレオチドはRNAオリゴヌクレオチドである。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドはさらに、少なくとも1つの修飾、または少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドはさらに、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル(2'-O-MOE)、2'-デオキシ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)修飾されたヌクレオチドから選択される少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドはさらに、ロックド核酸(LNA)またはエチレン核酸(ENA)、少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合から選択される少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドはさらに、ホスホロチオエート結合、ホスホロジチオエート結合、メチルホスホネート結合、ホスホトリエステル結合、またはアミド結合から選択される少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合をさらに含む。

【0015】

いくつかの例では、式(IIa)の化合物は、オリゴヌクレオチドの5'-末端に位置する。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは結合部分にコンジュゲートする。いくつかの実施形態では、式(IIa)の化合物はオリゴヌクレオチドの5'-末端に位置し、結合部分はオリゴヌクレオチドの3'-末端にコンジュゲートする。

【0016】

いくつかの例では、結合部分は、抗体またはその結合フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価Fab'、二価Fab2、一本鎖可変フラグメント(scFv)、ダイアボディ、ミニボディ(minibody)、ナノボディ、単ドメイン抗体(sdAb)、またはラクダ科抗体、あるいはその結合フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、結合部分はペプチド、アプタマー、または小分子を含む。

【0017】

いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約8~約50のヌクレオチド、または約10~約30のヌクレオチドを含む。

【0018】

いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、RNAオリゴヌクレオチドであり、結合部位にコンジュゲートし、約10~約30ヌクレオチドであり、少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドを含み、および少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合を含む。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、標的遺伝子配列の少なくとも8つの隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドはRNA干渉を媒介する。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドはセンス鎖である。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは第2のオリゴヌクレオチドとハイブリダイズすることで、二本鎖オリゴ核酸分子を形成する。いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドはアンチセンス鎖である。いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドはRNAオリゴヌクレオチドである。いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドは少なくとも1つの修飾を含む。いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドは少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドは、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル(2'-O-MOE)、2'-デオキシ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)

、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)修飾されたヌクレオチドから選択された少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドは、ロックド核酸(LNA)またはエチレン核酸(ENA)から選択される少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドは、少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合を含む。いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート結合、ホスホロジチオエート結合、メチルホスホネート結合、ホスホトリエステル結合、またはアミド結合から選択される少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合を含む。

10

【0019】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドはポリマーを含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドはポリエチレングリコールを含む。

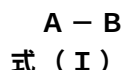
【0020】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは第1の鎖と第2の鎖を含み、ここで、第1の鎖はセンス鎖であり、RNAオリゴヌクレオチドであり、結合部分、ポリマー、またはその組み合わせにコンジュゲートし、約10〜約30ヌクレオチドであり、少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドを含み、および、少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合を含み、ならびに、第2の鎖はアンチセンス鎖、RNAオリゴヌクレオチドであり、約10〜約30ヌクレオチドであり、少なくとも1つの2'修飾されたヌクレオチドを含み、および少なくとも1つの修飾されたヌクレオチド間結合を含む。

20

【0021】

別の実施形態では、式(I)のオリゴヌクレオチドコンジュゲートが本明細書で開示され、



式中、

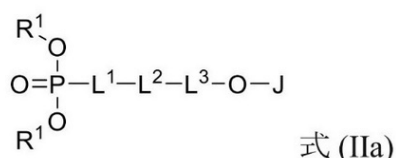
Aは結合部分であり、

Bは式(IIa)のヌクレオチド化合物を含むオリゴヌクレオチドであり、

30

【0022】

【化5】



式中、

R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、置換または非置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルであり、

40

L^1 は、結合、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンであり、

L^2 は、結合、O、S、 NR^3 、置換または非置換の C_4-C_7 シクロアルキレン、置換または非置換の C_4-C_7 ヘテロシクロアルキレン、置換または非置換の C_5-C_8 アリーレン、あるいは置換または非置換の C_4-C_8 ヘテロアリーレンであり、

R^3 は、存在する場合、水素、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、および非置換または置換の単環式の複素環から選択され、

50

L^3 は、結合、置換または非置換の $C_1 - C_5$ アルキレン、置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルケニレン、あるいは置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルキニレンであり、

J は、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基であり、ならびに、

L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも 2 つは結合ではない。

【0023】

いくつかの例では、オリゴヌクレオチドコンジュゲートは、式 $A - B - C$ (式 $I - A$) を形成するために、C をさらに含む。

【0024】

特定の実施形態では、患者の初代細胞中の標的遺伝子の発現を阻害する方法であって、初代細胞に上記の分子を投与する工程を含む、方法が本明細書で開示される。いくつかの実施形態では、上記方法はインビボの方法である。いくつかの実施形態では、患者はヒトである。本明細書では、タンパク質の発現不全を特徴とする疾患または疾病を抱える対象を処置する方法が開示され、上記方法は、タンパク質をコードする遺伝子の発現を調節するために、本明細書に記載されるようなオリゴヌクレオチドを対象に投与する工程であって、それによってタンパク質の発現不全を特徴とする疾患または疾病を処置する、工程を含む。さらに、本明細書では、タンパク質の過剰発現を特徴とする疾患または疾病を抱える対象を処置する方法が開示され、上記方法は、タンパク質をコードする遺伝子の発現を調節するために、本明細書に記載されるようなオリゴヌクレオチドを対象に投与する工程であって、それによって、タンパク質の過剰発現を特徴とする疾患または疾病を処置する、工程を含む。いくつかの例では、疾患または疾病は、ヒトまたは哺乳動物の神経筋疾患、遺伝病、筋ジストロフィー、筋萎縮、筋消耗、癌、遺伝性疾患、または心血管疾患である。

【0025】

ある実施形態では、患者の疾患または障害の処置のための上記の分子を含む免疫腫瘍学的治療が本明細書で開示される。

【0026】

ある実施形態では、上記のような分子、オリゴヌクレオチド、またはオリゴヌクレオチドコンジュゲートを含むキットが本明細書に開示される。

【図面の簡単な説明】

【0027】

以下の図面は、本明細書の一部を形成し、本開示の特定の態様をさらに実証するために含まれる。本開示は、本明細書で提示される特定の実施形態の詳細な記載と組み合わせて、これら図面の 1 以上を言及することによって、より良く理解することができる。

【図 1】ガイド (アンチセンス) 鎖の 5' 末端に結合した式 (II) の化合物を含み、ポリヌクレオチドに直接結合するか、またはリンカーを介してパッセンジャー (センス) 鎖の 5' 末端 (上)、パッセンジャー (センス) 鎖の 3' 末端 (中)、またはガイド (アンチセンス) 鎖の 3' 末端 (下) に結合することができる結合部分 A をさらに含む、ポリヌクレオチド二重鎖の戯画風な表現を示している。

【図 2 A】様々な種類の細胞における相対的な % SSB mRNA レベルのグラフを示す。図 2 A は、分子生物学的例 1 に記載されるように SSB-siRNA をトランスフェクトした HCT116 細胞における濃度 (nM) 対 % SSB mRNA のプロットを示す。

【図 2 B】様々な種類の細胞における相対的な % SSB mRNA レベルのグラフを示す。図 2 B は、分子生物学的例 2 に記載されるように SSB-siRNA をトランスフェクトした DM1 対照筋芽細胞についての濃度 (nM) 対相対的な % SSB mRNA レベル (未処置対照の %) のプロットを示す。

【図 2 C】様々な種類の細胞における相対的な % SSB mRNA レベルのグラフを示す。図 2 C は、分子生物学的例 2 に記載されるように SSB-siRNA による SJC-RH30 トランスフェクションについての濃度 (nM) 対相対的な % SSB mRNA レベル (未処置対照の %) のプロットを示す。

【図3A】様々な種類の細胞における相対的な%MSTN mRNAレベルのグラフを示す。図3Aは、分子生物学的例2に記載されるようにMSTN siRNAを用いたDM1対照筋芽細胞についての濃度(nM)対相対的なMSTN mRNAレベル(未処置対照の%)のプロットを示す。

【図3B】様々な種類の細胞における相対的な%MSTN mRNAレベルのグラフを示す。図3Bは、分子生物学的例2に記載されるようにMSTN siRNAによるSJCRH30トランスフェクションについての濃度(nM)対相対的なMSTN mRNAレベル(未処理対照の%)のプロットを示す。

【図3C】様々な修飾ヌクレオチドを有するMSTN siRNAコンジュゲートのSJCRH30細胞への導入時の相対的な%MSTN mRNAレベルのグラフを示す。

【図3D】様々な修飾ヌクレオチドを有するSSB siRNAコンジュゲートをSJCRH30細胞に導入時の相対的な%SSB mRNAレベルのグラフを示す。

【図4】分子生物学的例3に記載されるように0.1、0.3、1.0、および3.0mg/kgでの抗体siRNAコンジュゲートを静脈投与した1週間後の(左上)腓腹筋、(左下)四頭筋、(右上)横隔膜、および(右下)前脛骨筋におけるインビボのMSTN mRNA ダウンレギュレーションを示す。

【図5】分子生物学的例3に記載されるように抗体siRNAコンジュゲートを静脈投与した1週間後の(左上)腓腹筋、(左下)四頭筋、(右上)横隔膜、および(右下)前脛骨筋における、siRNA濃度対インビボのMSTN mRNA ダウンレギュレーションのプロットを示す。

【図6】分子生物学的例3に記載されるように抗体siRNAコンジュゲートを静脈投与した1週間後の(左上)腓腹筋、(左下)四頭筋、(右上)横隔膜、および(右下)前脛骨筋における、インビボのMSTN mRNA ダウンレギュレーションを示す。

【図7】分子生物学的例3に記載されるように、別のインビボ用量反応試験において、抗体siRNAコンジュゲートを静脈投与した1週間後の(左上)腓腹筋、(左下)四頭筋、(右上)横隔膜、および(右下)前脛骨筋における、インビボのMSTN mRNA ダウンレギュレーションを示す。

【図8A】2つの別個の研究における腓腹筋でのインビボMSTN mRNAダウンレギュレーションおよびsiRNA濃度のグラフを示す。図8Aおよび図8Bは、7、14、21、28、および35日目のmRNAの濃度を測定する1つのインビボ研究における腓腹筋でのインビボMSTN mRNAダウンレギュレーションおよびMSTN siRNA濃度を示す。

【図8B】2つの別個の研究における腓腹筋でのインビボMSTN mRNAダウンレギュレーションおよびsiRNA濃度のグラフを示す。図8Aおよび図8Bは、7、14、21、28、および35日目のmRNAの濃度を測定する1つのインビボ研究における腓腹筋でのインビボMSTN mRNAダウンレギュレーションおよびMSTN siRNA濃度を示す。

【図8C】2つの別個の研究における腓腹筋でのインビボMSTN mRNAダウンレギュレーションおよびsiRNA濃度のグラフを示す。図8Cおよび図8Dは、7、14、21、28、および35日目のmRNAの濃度を測定する別のインビボ研究における腓腹筋でのインビボMSTN mRNAダウンレギュレーションおよびMSTN siRNA濃度を示す。

【図8D】2つの別個の研究における腓腹筋でのインビボMSTN mRNAダウンレギュレーションおよびsiRNA濃度のグラフを示す。図8Cおよび図8Dは、7、14、21、28、および35日目のmRNAの濃度を測定する別のインビボ研究における腓腹筋でのインビボMSTN mRNAダウンレギュレーションおよびMSTN siRNA濃度を示す。

【図9】分子生物学的例3に記載されるように、異なる種類のSSB-siRNAによる肝臓におけるインビボSSB mRNAダウンレギュレーションの用量反応グラフを示す。

【発明を実施するための形態】

10

20

30

40

50

【0028】

核酸（例えば、RNAi）治療は高い選択率と特異性を誇る標的療法である。しかしながら、いくつかの例では、核酸治療も、脆弱な細胞内取り込み、限定的な血液安定性、および非特異的な免疫刺激によって妨害される。こうした諸問題に対応するために、核酸組成物の様々な修飾、例えば、より優れた安定化および／またはより低い毒性のための新規なリンカー、増加した標的特異性および／または標的送達用の結合部分の最適化、ならびに、安定性の増加および／または的外れの効果の減少のための核酸ポリマー修飾などが探求されている。

【0029】

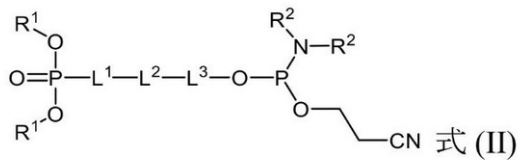
いくつかの実施形態では、核酸組成物を構成する様々な成分の配置または順序はさらに、細胞内取り込み、安定性、毒性、有効性、および／または非特異的な免疫刺激をもたらす。例えば、核酸成分が結合部分、ポリマー、およびポリ核酸分子（または、ポリヌクレオチド）を含む場合、結合部分、ポリマー、および／またはポリ核酸分子（または、ポリヌクレオチド）の順序または配置（例えば、結合部分－ポリ核酸分子－ポリマー、結合部分－ポリマー－ポリ核酸分子、またはポリマー－結合部分－ポリ核酸分子）はさらに、細胞内取り込み、安定性、毒性、有効性、および／または非特異的な免疫刺激をもたらす。

【0030】

いくつかの実施形態では、その核酸成分の配置が細胞内取り込み、安定性、毒性、有効性、および／または非特異的な免疫刺激をもたらすオリゴヌクレオチドコンジュゲートが本明細書に記載される。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドコンジュゲートは、ポリ核酸分子およびポリマーにコンジュゲートした結合部分を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドコンジュゲートは式（II）の化合物を含む。

【0031】

【化6】

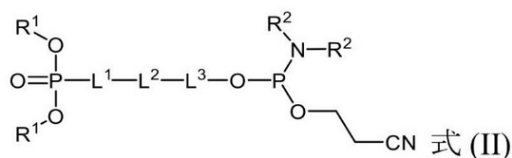


【0032】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるように配置された、ポリ核酸分子およびポリマーにコンジュゲートした結合部分を含むオリゴヌクレオチドコンジュゲートは、細胞内取り込み、安定性、および／または有効性を増強する。いくつかの例では、本明細書に記載されるように配置された、ポリ核酸分子およびポリマーにコンジュゲートした結合部分を含むオリゴヌクレオチドコンジュゲートは、毒性および／または非特異的な免疫刺激を減少させる。場合によっては、オリゴヌクレオチドコンジュゲートは、式（II）の化合物を含む。

【0033】

【化7】



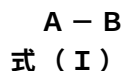
【0034】

追加の実施形態において、本明細書に記載される分子の1つ以上を含むキットが本明細書に記載される。

【0035】

治療用分子プラットフォーム

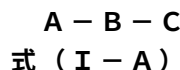
いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるオリゴヌクレオチドコンジュゲート（例えば、治療用オリゴヌクレオチドコンジュゲート）は、1つ以上の修飾されたヌクレオチドを含むポリ核酸分子とポリマーとにコンジュゲートした結合部分を含む。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドコンジュゲートは、式（I）または式（I-A）の化合物を含み、



（式中、

Aは結合部分であり、および、

Bは式（II）の化合物を含むオリゴヌクレオチドである）、



（式中、

Aは結合部分であり、および、

Bは式（II）または（IIa）の化合物を含むオリゴヌクレオチドであり、

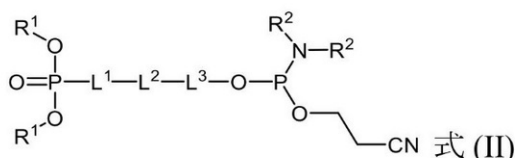
Cは任意選択的にポリマーである）。

【0036】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは式（II）の化合物を含む。

【0037】

【化8】



式中、

R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の $C_1 - C_6$ アルキル、置換または非置換の $C_1 - C_6$ フルオロアルキル、あるいは置換または非置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルであり、

R^2 はそれぞれ独立して、水素、重水素、置換または非置換の $C_1 - C_6$ アルキル、あるいは置換または非置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルであり、

もしくは、2つの R^2 は、それらが結合している窒素原子と一体となって、置換または非置換の $C_2 - C_{10}$ ヘテロシクロアルキルを形成し、

L^1 は、結合、置換または非置換の $C_1 - C_5$ アルキレン、置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルケニレン、あるいは置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルキニレンであり、

L^2 は、結合、O、S、 NR^3 、置換または非置換の $C_4 - C_7$ シクロアルキレン、置換または非置換の $C_4 - C_7$ ヘテロシクロアルキレン、置換または非置換の $C_5 - C_8$ アリーレン、あるいは置換または非置換の $C_4 - C_8$ ヘテロアリーレンであり、

R^3 は、存在する場合、水素、非置換または置換の $C_1 - C_6$ アルキル、非置換または置換の $C_1 - C_6$ フルオロアルキル、非置換または置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、および非置換または置換の単環式の複素環から選択され、

L^3 は、結合、置換または非置換の $C_1 - C_5$ アルキレン、置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルケニレン、あるいは置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルキニレンであり、ならびに、

L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも2つは結合ではない。

【0038】

式（II）の化合物のいくつかの実施形態では、 L^2 は結合、O、S、または NR^3 である。いくつかの実施形態では、 L^2 はO、S、または NR^3 である。いくつかの実施形態では、 L^2 は NR^3 である。いくつかの実施形態では、 L^2 はOである。いくつかの実施

10

20

30

40

50

形態では、 L^2 はSである。いくつかの実施形態では、 L^2 は結合である。

【0039】

式(II)の化合物のいくつかの実施形態では、 L^2 は置換または非置換の C_4-C_7 シクロアルキレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 は置換または非置換の C_5-C_8 アリーレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 は非置換の C_4-C_7 シクロアルキレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はフェニレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はメチレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 は非置換の C_5-C_8 アリーレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はフェニレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はメチレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はシクロヘキシルである。

【0040】

式(II)の化合物のいくつかの実施形態では、 L^1 は、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンであり、および、 L^3 は、結合、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンである。いくつかの実施形態では、 L^1 は C_1-C_5 アルキレン、 C_1-C_3 アルケニレン、または C_1-C_5 アルキニレンであり、および、 L^3 は C_1-C_5 アルキレン、 C_1-C_3 アルケニレン、または C_1-C_5 アルキニレンである。いくつかの実施形態では、 L^1 は C_1-C_5 アルキレンであり、および L^3 は C_1-C_5 アルキレンである。

【0041】

式(II)の化合物のいくつかの実施形態では、 L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも2つは、結合ではない。いくつかの実施形態では、 L^1 は結合である。いくつかの実施形態では、 L^3 は結合である。

【0042】

式(II)の化合物のいくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して置換または非置換の C_1-C_6 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^1 は $-CH_3$ である。

【0043】

式(II)の化合物のいくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ $-CH_2(CH_3)_2$ である。

【0044】

式(II)の化合物のいくつかの実施形態では、2つの R^2 は、それらが結合している窒素原子と一体となって、置換または非置換の C_2-C_{10} ヘテロシクロアルキルを形成する。

【0045】

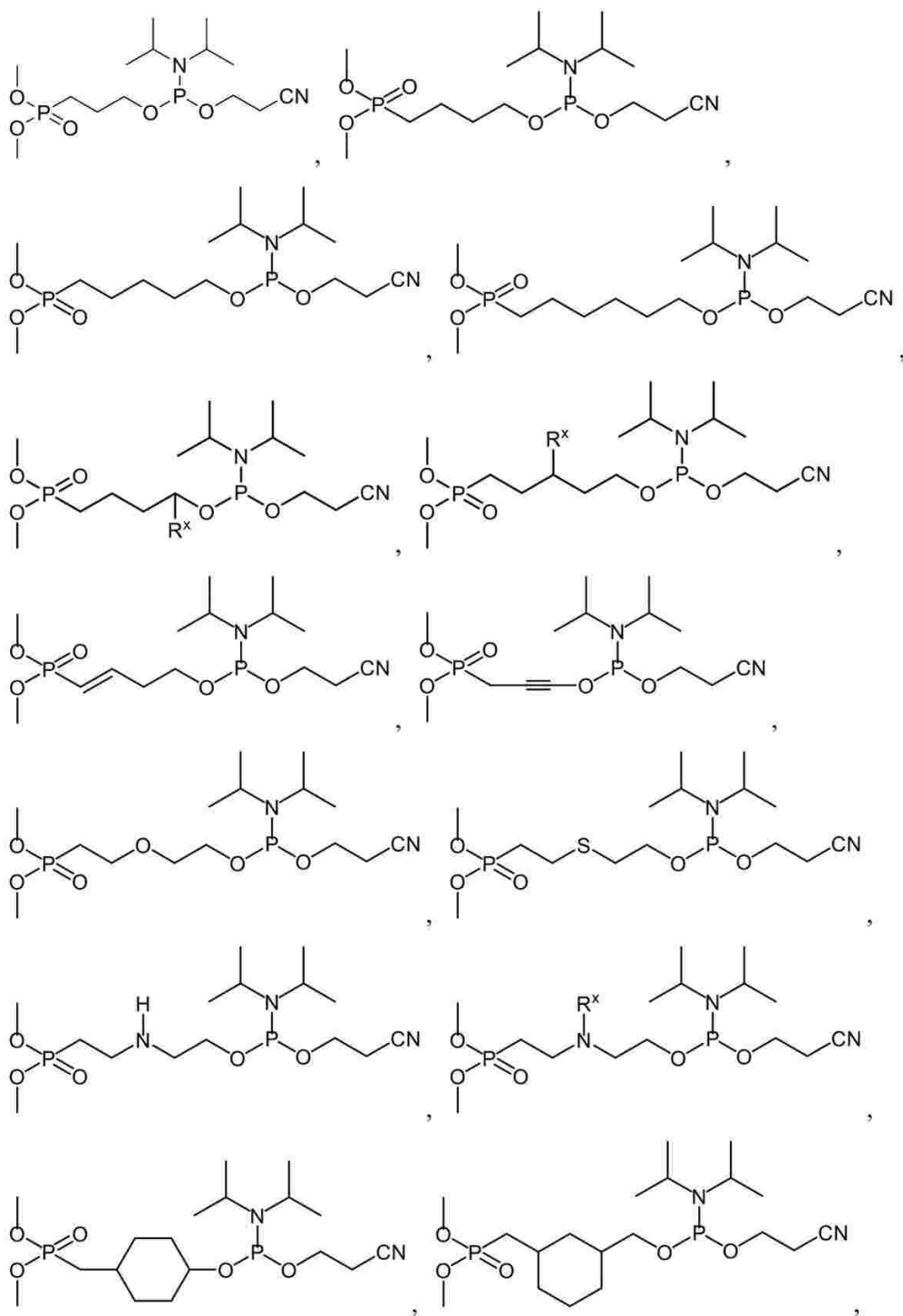
式(II)の化合物のいくつかの実施形態では、 R^3 は、水素、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルから選択される。いくつかの実施形態では、 R^3 は、非置換または置換の単環式の炭素環および非置換または置換の単環式の複素環から選択される。いくつかの実施形態では、 R^3 は水素である。

【0046】

式 (I I) の化合物のいくつかの実施形態では、化合物は以下からなる群から選択される。

【 0 0 4 7 】

【 化 9 】



【 0 0 4 8 】

10

20

30

40

50

【 0 0 4 9 】

【 0 0 5 0 】

【 0 0 5 1 】

$$\begin{array}{c} \text{R}^1\text{-O} \\ | \\ \text{O}=\text{P}-\text{L}^1-\text{L}^2-\text{L}^3-\text{O}-\text{P} \\ | \qquad \qquad \qquad | \\ \text{R}^1\text{-O} \qquad \qquad \qquad \text{R}^2\text{-N} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad | \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \text{R}^2\text{-N} \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad | \\ \qquad \qquad \qquad \qquad \qquad \text{R}^2 \end{array} \quad \text{式(III)}$$

R² はそれぞれ独立して、水素、重水素、置換または非置換の C₁ - C₆ アルキル、ある

いは置換または非置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルであり、

もしくは、2つの R^2 は、それらが結合している窒素原子と一体となって、置換または非置換の $C_2 - C_{10}$ ヘテロシクロアルキルを形成し、

L^1 は、結合、置換または非置換の $C_1 - C_5$ アルキレン、置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルケニレン、あるいは置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルキニレンであり、

L^2 は、結合、O、S、 NR^3 、置換または非置換の $C_4 - C_7$ シクロアルキレン、置換または非置換の $C_4 - C_7$ ヘテロシクロアルキレン、置換または非置換の $C_5 - C_8$ アリーレン、あるいは置換または非置換の $C_4 - C_8$ ヘテロアリーレンであり、

R^3 は、存在する場合、水素、非置換または置換の $C_1 - C_6$ アルキル、非置換または置換の $C_1 - C_6$ フルオロアルキル、非置換または置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、および非置換または置換の単環式の複素環から選択され、

L^3 は、結合、置換または非置換の $C_1 - C_5$ アルキレン、置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルケニレン、あるいは置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルキニレンであり、ならびに、

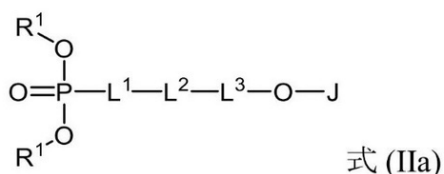
L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも2つは結合ではない。

【0052】

いくつかの実施形態では、Bは3'-末端および5'-末端を含むオリゴヌクレオチドであり、末端のうちの1つは、式(IIa)の化合物を含む。いくつかの実施形態では、Bは3'-末端および5'-末端を含むオリゴヌクレオチドであり、5'-末端は式(IIa)の化合物を含み、

【0053】

【化12】



式中、

R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の $C_1 - C_6$ アルキル、置換または非置換の $C_1 - C_6$ フルオロアルキル、あるいは置換または非置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルであり、

L^1 は、結合、置換または非置換の $C_1 - C_5$ アルキレン、置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルケニレン、あるいは置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルキニレンであり、

L^2 は、結合、O、S、 NR^3 、置換または非置換の $C_4 - C_7$ シクロアルキレン、置換または非置換の $C_4 - C_7$ ヘテロシクロアルキレン、置換または非置換の $C_5 - C_8$ アリーレン、あるいは置換または非置換の $C_4 - C_8$ ヘテロアリーレンであり、

R^3 は、存在する場合、水素、非置換または置換の $C_1 - C_6$ アルキル、非置換または置換の $C_1 - C_6$ フルオロアルキル、非置換または置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、および非置換または置換の単環式の複素環から選択され、

L^3 は、結合、置換または非置換の $C_1 - C_5$ アルキレン、置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルケニレン、あるいは置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルキニレンであり、

Jは、ポリヌクレオチドの隣接するヌクレオチドに結合するヌクレオチド間結合基であり、ならびに、

L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも2つは結合ではない。

【0054】

式(IIa)の化合物のいくつかの実施形態では、 L^2 は結合、O、S、または NR^3 である。いくつかの実施形態では、 L^2 はO、S、または NR^3 である。いくつかの実施形態では、 L^2 は NR^3 である。いくつかの実施形態では、 L^2 はOである。いくつかの実施形態では、 L^2 はSである。いくつかの実施形態では、 L^2 は結合である。

【0055】

式 (I I a) の化合物のいくつかの実施形態では、 L^2 は置換または非置換の $C_4 - C_7$ シクロアルキレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 は置換または非置換の $C_5 - C_8$ アリーレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 は非置換の $C_4 - C_7$ シクロアルキレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はフェニレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はメチレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 は非置換の $C_5 - C_8$ アリーレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はフェニレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はメチレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はシクロヘキシルである。

【0056】

式 (I I a) の化合物のいくつかの実施形態では、 L^1 は、置換または非置換の $C_1 - C_5$ アルキレン、置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルケニレン、あるいは置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルキニレンであり、および、 L^3 は、結合、置換または非置換の $C_1 - C_5$ アルキレン、置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルケニレン、あるいは置換または非置換の $C_2 - C_5$ アルキニレンである。いくつかの実施形態では、 L^1 は $C_1 - C_5$ アルキレン、 $C_1 - C_3$ アルケニレン、または $C_1 - C_5$ アルキニレンであり、および、 L^3 は $C_1 - C_5$ アルキレン、 $C_1 - C_3$ アルケニレン、または $C_1 - C_5$ アルキニレンである。いくつかの実施形態では、 L^1 は $C_1 - C_5$ アルキレンであり、および L^3 は $C_1 - C_5$ アルキレンである。

【0057】

式 (I I a) の化合物のいくつかの実施形態では、 L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも2つは、結合ではない。いくつかの実施形態では、 L^1 は結合である。いくつかの実施形態では、 L^3 は結合である。

【0058】

式 (I I a) のいくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の $C_1 - C_6$ アルキル、あるいは置換または非置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して置換または非置換の $C_1 - C_6$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^1 は $-CH_3$ である。

【0059】

式 (I I a) のいくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、置換または非置換の $C_1 - C_6$ アルキル、あるいは置換または非置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、置換または非置換の $C_1 - C_6$ アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ $-CH_2(CH_3)_2$ である。

【0060】

式 (I I a) のいくつかの実施形態では、2つの R^2 は、それらが結合している窒素原子と一体となって、置換または非置換の $C_2 - C_{10}$ ヘテロシクロアルキルを形成する。

【0061】

式 (I I a) のいくつかの実施形態では、 R^3 は、水素、非置換または置換の $C_1 - C_6$ アルキル、非置換または置換の $C_1 - C_6$ フルオロアルキル、非置換または置換の $C_1 - C_6$ ヘテロアルキルから選択される。いくつかの実施形態では、 R^3 は、非置換または置換の単環式の炭素環および非置換または置換の単環式の複素環から選択される。いくつかの実施形態では、 R^3 は水素である。

【0062】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、少なくとも約1、約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19、約20、約21、約22、約23、約24、約25、

10

20

30

40

50

約 30、またはそれ以上の式 (I I) (例えば、式 I I a) の化合物を含む。場合によっては、オリゴヌクレオチドは、少なくとも約 1、約 2、約 3、約 4、約 5、約 6、約 7、約 8、約 9、約 10、約 11、約 12、約 13、約 14、約 15、またはそれ以上の式 (I I) (例えば、式 I I a) の化合物を含む。いくつかの実施態様では、式 (I I) (例えば、式 I I a) の化合物は、オリゴヌクレオチド内にタンデムで存在する。他の実施態様では、式 (I I) (例えば、式 I I a) の化合物は、オリゴヌクレオチド内に散在しており、ヌクレオチドは以下に記載する 1 以上の追加の修飾によって修飾されている。

【0063】

いくつかの実施態様では、オリゴヌクレオチドは、約 5%～約 100%の修飾、約 10%～約 100%の修飾、約 20%～約 100%の修飾、約 30%～約 100%の修飾、約 40%～約 100%の修飾、約 50%～約 100%の修飾、約 60%～約 100%の修飾、約 70%～約 100%の修飾、約 80%～約 100%の修飾、および約 90%～約 100%の修飾のうちの少なくとも 1 つを含んでおり、修飾は式 (I I) (例えば、式 (I I a)) の化合物である。例えば、オリゴヌクレオチドが 20 のヌクレオチドを有する場合、約 60%の修飾を有するオリゴヌクレオチドは、12 の式 (I I) (例えば、式 I I a) の化合物で置換された約 12 のヌクレオチドを含む。

10

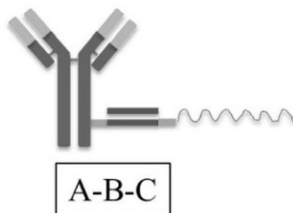
【0064】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドコンジュゲートは、例示されるような分子である。

【0065】

20

【化 13】



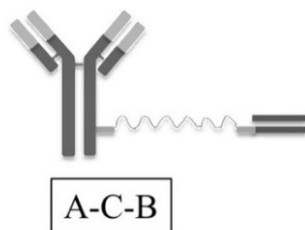
【0066】

30

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドコンジュゲートは、例示されるような分子である。

【0067】

【化 14】



40

【0068】

上記の

【0069】

50

【化 15】



は、例示目的のためのものに過ぎず、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、抗ヒト抗体、抗ネズミ抗体（例えば、抗マウス抗体、抗ラット抗体）、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価 Fab'、二価 Fab₂、一本鎖可変フラグメント (scFv)、ダイアボディ、ミニボディ (minibody)、ナノボディ、単ドメイン抗体 (sdAb)、あるいは、ラクダ科抗体またはその結合フラグメントを包含する。

【0070】

追加の修飾

いくつかの例では、追加の修飾は、リボース部分、リン酸塩部分、ヌクレオシド部分、またはこれらの組み合わせの1つ以上における修飾を含む合成または人工のヌクレオチドアナログまたは塩基を含む。

【0071】

いくつかの実施形態では、2'-ヒドロキシル基での修飾は、2'-デオキシ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル (2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル (2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル (2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル (2'-O-DMAEOE)、または2'-O-N-メチルアセトアミド (2'-O-NMA) を含む。

【0072】

いくつかの実施形態では、ヌクレオチドアナログは修飾された塩基を含み、限定されないが、5-プロピニルウリジン、5-プロピニルシチジン、6-メチルアデニン、6-メチルグアニン、N, N-ジメチルアデニン、2-プロピルアデニン、2-プロピルグアニン、2-アミノアデニン、1-メチルイノシン、3-メチルウリジン、5-メチルシチジン、5-メチルウリジン、および5位置に修飾を有するその他のヌクレオチド、5-(2-アミノ)プロピルウリジン、5-ハロシチジン、5-ハロリジン、4-アセチルシチジン、1-メチルアデノシン、2-メチルアデノシン、3-メチルシチジン、6-メチルウリジン、2-メチルグアノシン、7-メチルグアノシン、2, 2-ジメチルグアノシン、5-メチルアミノエチルウリジン、5-メチルオキシウリジン、デアザヌクレオチド (7-デアザアデノシン、6-アゾリジン、6-アザシチジン、または6-アゾチミジンなど)、5-メチル-2-チオウリジン、その他のチオ塩基 (2-チオウリジン、4-チオウリジン、および2-チオシチジンなど)、ジヒドロウリジン、プソイドウリジン、キューオシン、アルカエオシン (archaeosine)、ナフチル、および置換されたナフチル基、任意のOアルキル化およびNアルキル化されたプリンおよびピリミジン (N6-メチルアデノシン、5-メチルカルボニルメチルウリジン、ウリジン5-オキシ酢酸、ピリジン-4-オン、またはピリジン-2-オンなど)、フェニルおよび修飾されたフェニル基、例えば、アミノフェノールまたは2, 4, 6-トリメトキシベンゼン、Gクランブヌクレオチドとして機能する修飾されたシトシン、8-置換されたアデニンおよびグアニン、5-置換されたウラシルおよびチミン、アザピリミジン、カルボキシヒドロキシアアルキルヌクレオチド、カルボキシアアルキルアミノアルキルヌクレオチド、ならびにアルキルカルボニルアルキル化ヌクレオチドなどである。5'-ホスホネート修飾されたヌクレオチドはさらに、糖部分に対して修飾されるこれらのヌクレオチド、および、リボシルではない糖またはそのアナログを有する5'-ホスホネート修飾されたヌクレオチドを含む。例えば、糖部分は、場合によっては、マンノース、アラビノース、グルコピラノース、ガラ

10

20

30

40

50

クトピラノース、4'-チオリボース、および、その他の糖類、複素環、または炭素環であるか、あるいは、これらがベースである。ヌクレオチドという用語はさらに、ユニバーサル塩基として当該技術分野で知られているものを含む。一例として、ユニバーサル塩基としては、限定されないが、3-ニトロピロール、5-ニトロインドール、またはネブラリンが挙げられる。

【0073】

いくつかの実施形態では、上記のヌクレオチドアナログまたは人工ヌクレオチド塩基は、リボース部分の5'-ヒドロキシル基における修飾を有する5'-ホスホネート修飾されたヌクレオチド核酸を含む。いくつかの実施形態では、上記のヌクレオチドアナログまたは人工ヌクレオチド塩基は、リボース部分の5'-ヒドロキシル基における修飾を有する5'-ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチド核酸を含む。

10

【0074】

いくつかの実施形態では、2'-ヒドロキシル基での修飾は、プロピルリンカーを含む伸長したアミン基がアミン基を2'-酸素に結合させる、2'-O-アミノプロピル修飾である。いくつかの例では、この修飾は、1糖当たりアミン基から1つの正電荷を導入することによってオリゴヌクレオチド分子のホスフェート由来の全体的な負電荷を中和し、それによって、その双性イオン特性による細胞取り込み特性を改善する。

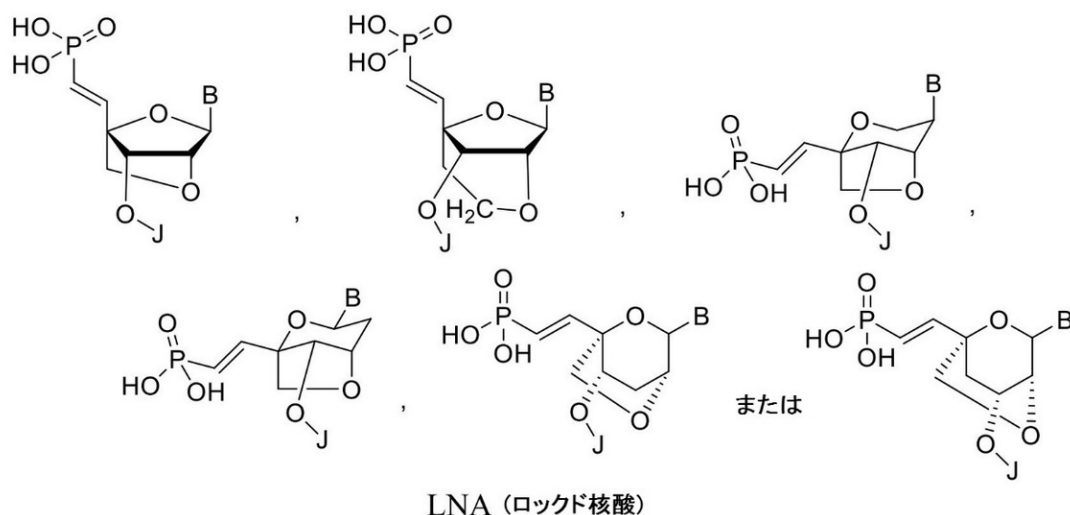
【0075】

いくつかの例では、5'-ホスホネート修飾されたヌクレオチドは、ロックドまたは架橋リボース修飾（例えば、ロックド核酸またはLNA）において2'-ヒドロキシル基にてさらに修飾され、ここで、2'-炭素で結合された酸素分子はメチレン基によって4'-炭素に結合され、それにより、2'-C, 4'-C-オキシーメチレン結合二環式リボヌクレオチドモノマーを形成する。5'-ホスホネート修飾されたLNAの化学構造の例示的な表現が以下に例示され、ここで、Jはヌクレオチド間結合である。

20

【0076】

【化16】



30

40

【0077】

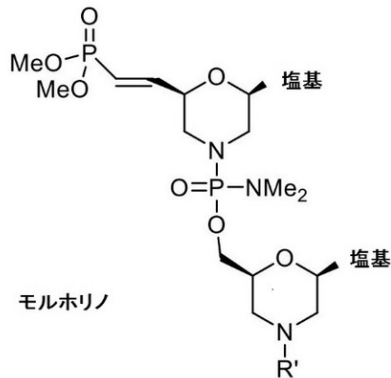
いくつかの実施形態では、追加の修飾はさらに、モルホリノ、ペプチド核酸（PNA）、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、2'-フルオロ N3-P5'-ホスホラミダイト、または1', 5'-アンヒドロヘキシトール核酸（HNA）を含む。モルホリノまたはホスホロジアミデートモルホリノオリゴ（PMO）は合成分子を含み、その構造は、天然の核酸構造を模倣しているが、正常な糖とホスホネートの構造から逸脱している。いくつかの例では、5員のリボース環は、4つの炭素、1つの窒素、および1つの酸素を含有している6員のモルホリノ環で置換される。場合によっては、

50

リボースモノマーは、リン酸基の代わりにホスホロジアミデート基によって結合する。場合によっては、骨格の変化がすべての正電荷と負電荷を取り除き、モルホリノ中性分子は、荷電オリゴヌクレオチドで利用されるような細胞送達剤の助けを借りることなく細胞膜を通過することができるようになる。5'-ホスホネート修飾されたモルホリノオリゴヌクレオチドの非限定的な例が以下に例示される。

【0078】

【化17】



10

【0079】

いくつかの実施形態では、上に記載された5'-ホスホネート修飾されたモルホリノまたはPMOは、正電荷またはカチオン電荷を含むPMOである。いくつかの例では、PMOはPMOplus (Sarepta)である。PMOplusは、任意の数の(1-ピペラジノ)ホスフィリデンオキシ、(1-(4-(オメガ-グアニジノ-アルカノイル))-ピペラジノ)ホスフィリデンオキシ結合(例えば、PCT公開番号WO2008/036127号に記載されるものなど)を含むホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーを指す。いくつかの例では、PMOは、米国特許第7943762号に記載されるPMOである。

20

【0080】

いくつかの実施形態では、上記のモルホリノまたはPMOは、PMO-X (Sarepta)である。場合によっては、PMO-Xは、少なくとも1つの結合、または、開示された末端修飾の少なくとも1つ、例えば、PCT公開第WO2011/150408号と米国特許出願公開第2012/0065169号に開示されているものなどを含むホスホロジアミデートモルホリノオリゴマーを指す。

30

【0081】

いくつかの実施形態では、上記のモルホリノまたはPMOは、米国特許出願公開第2014/0296321号の表5に記載されているようなPMOである。

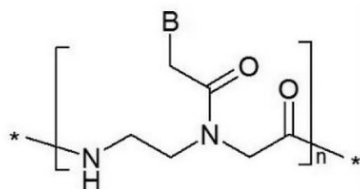
【0082】

いくつかの実施形態では、ペプチド核酸(PNA)は、糖環もホスホネート結合も含まず、塩基は結合し、オリゴグリシン様分子によって適切に間隔を置かれ、したがって、骨格電荷を除去する。

40

【0083】

【化 18】



PNA

10

【0084】

いくつかの実施形態では、上記の1つ以上の修飾がヌクレオチド間結合で生じる。いくつかの例では、修飾されたヌクレオチド間結合としては、限定されないが、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、メチルホスホネート、5'-アルキレンホスホネート、5'-メチルホスホネート、3'-アルキレンホスホネート、三フッ化ホウ素、3'-5'結合または2'-5'結合のボラノリン酸エステルとセレノホスフェート、ホスホトリエステル、チオノアルキルホスホトリエステル、水素ホスホネート結合、アルキルホスホネート、アルキルホスホノチオエート、アリールホスホノチオエート、ホスホロセレノエート、ホスホロジセレノエート、ホスフィネート、ホスホロアミダート、3'-アルキルホスホロアミダート、アミノアルキルホスホロアミダート、チオノホスホロアミダート、ホスホロピペラジデート、ホスホロアニロチオエート、ホスホロアニリデート、ケトン、スルホン、スルホンアミド、カーボネート、カルバメート、メチレンヒドラゾ、メチレンジメチルヒドラゾ、ホルムアセタール、チオホルムアセタール、オキシム、メチレンイミノ、メチレンメチルイミノ、チオアミデート、リボアセチル基との結合、アミノエチルグリシン、シリルまたはシロキサン結合、例えば、飽和または不飽和であり、および／または、置換され、および／またはヘテロ原子を含む、1～10の炭素のヘテロ原子を含むまたは含まないアルキルまたはシクロアルキル結合、塩基が骨格のアザ窒素に直接的または間接的に結合しているモルホリノ構造、アミド、またはポリアミドとの結合、およびこれらの組み合わせが挙げられる。

20

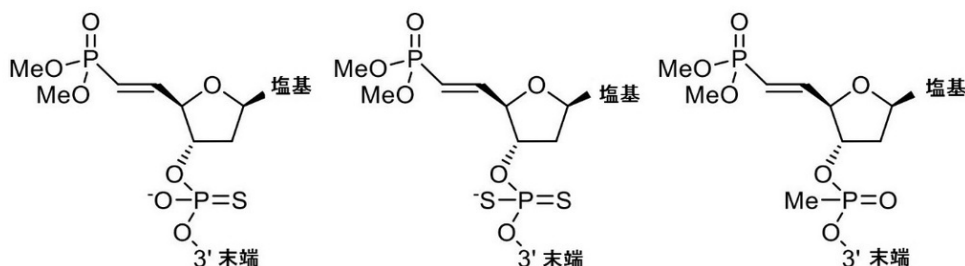
【0085】

いくつかの例では、修飾は、メチルホスホネート修飾またはチオールホスホネート修飾などのメチル修飾またはチオール修飾である。例示的なチオールホスホネートヌクレオチド（左）、ホスホロジチオエート（中）、およびメチルホスホネートヌクレオチド（右）が、以下に例証される。

30

【0086】

【化 19】



40

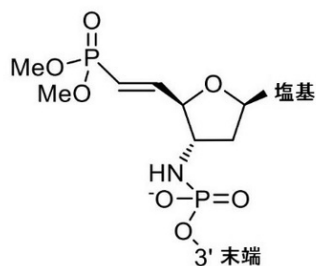
【0087】

いくつかの例では、5'-ビニルホスホネート修飾されたヌクレオチドは、限定されないが、以下として例示されるホスホラミダイトを含む。

【0088】

50

【化 20】



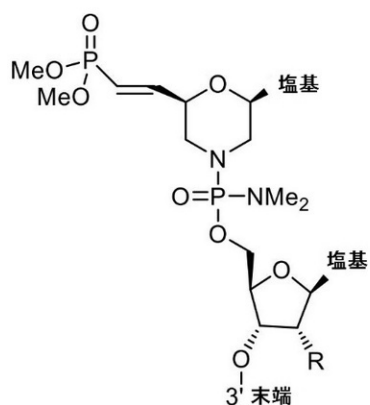
10

【0089】

いくつかの例では、修飾されたヌクレオチド間結合はホスホロジアミデート結合である。モルホリノ系とのホスホロジアミデート結合の非限定的な例が以下に示される。

【0090】

【化 21】



20

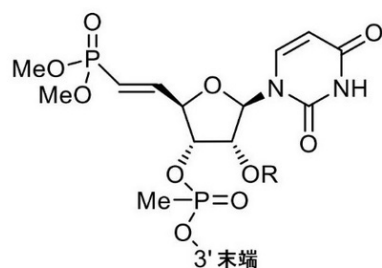
【0091】

いくつかの例では、修飾されたヌクレオチド間結合はメチルホスホネート結合である。メチルホスホネート結合の非限定的な例が以下に示される。

30

【0092】

【化 22】



40

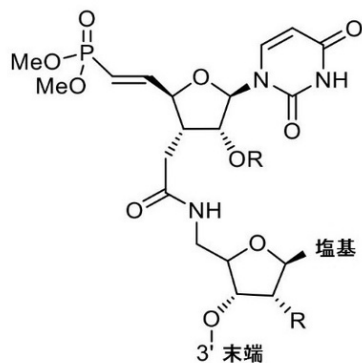
【0093】

いくつかの例では、修飾されたヌクレオチド間結合はアミド結合である。アミド結合の非限定的な例が以下に示される。

【0094】

50

【化 2 3】



10

【0095】

いくつかの実施形態では、1つ以上の修飾は、修飾が中性または無荷電の骨格を生成する、修飾されたリン酸骨格を含む。いくつかの例では、リン酸骨格は、非荷電または中性のリン酸骨格を生成するためにアルキル化によって修飾される。本明細書で使用されるように、アルキル化は、メチル化、エチル化、およびプロピル化を含む。場合によっては、アルキル基は、アルキル化の文脈において本明細書で使用されるように、1～6の炭素原子を含有する直鎖または分岐鎖の飽和炭化水素基を指す。いくつかの例では、例示的なアルキル基としては、限定されないが、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、1,1-ジメチルブチル、2,2-ジメチルブチル、3,3-ジメチルブチル、および2-エチルブチルの基が挙げられる。場合によっては、修飾されたリン酸は、米国特許第9481905号に記載されるリン酸基である。

20

【0096】

いくつかの実施形態では、さらなる修飾されたリン酸骨格は、メチルホスホネート、エチルホスホネート、メチルチオホスホネート、またはメトキシホスホネートを含む。場合によっては、修飾されたリン酸はメチルホスホネートである。場合によっては、修飾されたリン酸はエチルホスホネートである。場合によっては、修飾されたリン酸はメチルチオホスホネートである。場合によっては、修飾されたリン酸はメトキシホスホネートである。

30

【0097】

いくつかの実施形態では、追加の修飾されたリン酸骨格は、以下のうちの1つを含む。

【0098】

40

50

COP(=O)(OC)CCNCNCCOP(=O)(OC)CN, COP(=O)(OC)CCSCCNCCOP(=O)(OC)CN,
COP(=O)(OC)CCOCCOP(=O)(OC)CN, COP(=O)(OC)CC1CCCCC1OCCN(C)C,
COP(=O)(OC)CC1=CC=C(C=C1)COP(=O)(OC)CN, COP(=O)(OC)CC1=CC=C(C=C1)COP(=O)(OC)CN, COP(=O)(OC)CCN(R)CCOP(=O)(OC)CN,
COP(=O)(OC)CCCCC(R)OP(=O)(OC)CN, COP(=O)(OC)CCC(R)CCOP(=O)(OC)CN,
COP(=O)(OC)C=CCCCCOP(=O)(OC)CN, COP(=O)(OC)CCCCC(=O)O, COP(=O)(OC)CCCCC(=O)O, または
COP(=O)(OC)CC1=CC=C(C=C1)COP(=O)(OC)CN

いくつかの実施形態では、式 (I I) (例えば、式 I I a) の化合物を含むオリゴヌクレオチドは、本明細書に記載される人工ヌクレオチドアナログの 1 つ以上をさらに含んでいる。いくつかの実施態様では、式 (I I) (例えば、式 I I a) の化合物を含むオリゴヌクレオチドは、1 つ以上の、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、20、25、またはそれ以上の追加の修飾をさらに含み、例えば、限定されないが、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチ

50

ル(2'-O-MOE)、2'-O-アミノプロピル、2'-デオキシ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)修飾、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、2'-フルオロN3-P5'-ホスホラミダイト、またはそれらの組み合わせである。いくつかの例では、式(II)(例えば、式IIa)の化合物を含むオリゴヌクレオチドはさらに、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル(2'-O-MOE)、2'-O-アミノプロピル、2'-デオキシ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、2'-フルオロN3-P5'-ホスホラミダイト、あるいはこれらの組み合わせから選択された、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、17、18、20、25、またはそれ以上の人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの例では、式(II)(例えば、式IIa)の化合物を含むオリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、20、25、またはそれ以上の2'-O-メチル修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの例では、式(II)(例えば、式IIa)の化合物を含むオリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、20、25、またはそれ以上の2'-O-メトキシエチル(2'-O-MOE)修飾されたヌクレオチドを含む。いくつかの例では、式(II)(例えば、式IIa)の化合物を含むオリゴヌクレオチドは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、20、25、またはそれ以上のチオールホスホネートヌクレオチドを含む。

【0101】

いくつかの例では、式(II)(例えば、式IIa)の化合物を含むオリゴヌクレオチドの約5~約100%は、本明細書に記載される人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子の約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または100%は、本明細書に記載される人工ヌクレオチドアナログを含む。いくつかの実施形態では、人工ヌクレオチドアナログは、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル(2'-O-MOE)、2'-O-アミノプロピル、2'-デオキシ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル(2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル(2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル(2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル(2'-O-DMAEOE)、または、2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、2'-フルオロN3-P5'-ホスホラミダイト、あるいはこれらの組み合わせを含む。

【0102】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されたオリゴヌクレオチド(またはA-B式のB)は、RNAまたはDNAを含む。場合によっては、オリゴヌクレオチドはRNAを含む。いくつかの例では、RNAは低分子干渉RNA(sRNA)、低分子ヘアピン型RNA(shRNA)、マイクロRNA(miRNA)、二本鎖RNA(dsRNA)、転移RNA(tRNA)、リボソームRNA(rRNA)、またはヘテロ核RNA(hnRNA)を含む。いくつかの例では、RNAはshRNAを含む。いくつかの例では、RNAはmiRNAを含む。いくつかの例では、RNAはdsRNAを含む。いくつかの例

では、RNAはtRNAを含む。いくつかの例では、RNAはrRNAを含む。いくつかの例では、RNAはhnRNAを含む。いくつかの例では、RNAはsiRNAを含む。場合によっては、オリゴヌクレオチドはsiRNAのセンス鎖（またはパッセンジャー鎖）を含む。その他の場合には、オリゴヌクレオチドは、siRNAのアンチセンス（またはガイド鎖）を含む。

【0103】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、約10～約50ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約10～約30、約15～約30、約18～約25、約18～約24、約19～約23、または約20～約22ヌクレオチド長である。

【0104】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、約50ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約45ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約40ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約35ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約30ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約25ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約20ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約19ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約18ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約17ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約16ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約15ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約14ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約13ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約12ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約11ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは約10ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約10～約50ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約10～約45ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約10～約40ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約10～約35ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約10～約30ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約10～約25ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約10～約20ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約15～約25ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約19～約23ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約15～約30ヌクレオチド長である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドは、約12～約30ヌクレオチド長である。

【0105】

いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドはさらに第2のオリゴヌクレオチドとハイブリダイズすることで、二重鎖を形成する。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドはセンス鎖またはパッセンジャー鎖である。いくつかの例では、オリゴヌクレオチドはアンチセンス鎖またはガイド鎖である。

【0106】

いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10～約50ヌクレオチド長である。いくつかの実施形態では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10～約30、約15～約30、約18～約25、約18～約24、約19～約23、あるいは約20～約22ヌクレオチド長である。

【0107】

いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約50ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約45ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約40ヌクレオチド長である。いくつかの例では、

、第2のオリゴヌクレオチドは、約35ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約30ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約25ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約20ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約19ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約18ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約17ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約16ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約15ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約14ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約13ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約12ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約11ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10～約50ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10～約45ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10～約40ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10～約35ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10～約30ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10～約25ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約10～約20ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第1のオリゴヌクレオチドは、約15～約25ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第1のオリゴヌクレオチドは、約15～約30ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第1のオリゴヌクレオチドは、約19～約23ヌクレオチド長である。いくつかの例では、第2のオリゴヌクレオチドは、約12～約30ヌクレオチド長である。

【0108】

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は第1のオリゴヌクレオチドと第2のオリゴヌクレオチドを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子はさらに平滑末端、オーバーハング、またはその組み合わせを含む。いくつかの例では、平滑末端は、5'平滑末端、3'平滑末端、またはその両方である。場合によっては、オーバーハングは5'オーバーハング、3'オーバーハング、またはその両方である。場合によっては、オーバーハングは1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10の非塩基対合ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは1、2、3、4、5、または6の非塩基対合ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは1、2、3、または4の非塩基対合ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは1つの非塩基対合ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは2つの非塩基対合ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは3つの非塩基対合ヌクレオチドを含む。場合によっては、オーバーハングは4つの非塩基対合ヌクレオチドを含む。

【0109】

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は、本明細書に記載された標的配列に対して、少なくとも40%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%、または99.5%相補的である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも50%相補的である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも60%相補的である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも70%相補的である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも80%相補的である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも90%相補的である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも95%相補的である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に少なくとも99%相補的である。い

くつかの例では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に100%相補的である。

【0110】

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して5つ以下のミスマッチを有する。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して4つ以下のミスマッチを有する。場合によっては、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して3つ以下のミスマッチを有する。場合によっては、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して2つ以下のミスマッチを有する。場合によっては、ポリ核酸分子の配列は本明細書に記載された標的配列に対して1つ以下のミスマッチを有する。

10

【0111】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載された標的配列にハイブリダイズするポリ核酸分子の特異性は、標的配列に対するポリ核酸分子の95%、98%、99%、99.5%、あるいは100%の配列相補性である。いくつかの例では、ハイブリダイゼーションは高ストリンジェントなハイブリダイゼーション状態である。

【0112】

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、またはそれ以上の隣接する塩基にハイブリダイズする。例示的な標的配列としては、限定されないが、DMD遺伝子またはそのmRNAのいずれかの配列、DMPK遺伝子またはそのmRNAのいずれかの配列、癌遺伝子またはそのmRNAのいずれかの配列、遺伝性疾患または遺伝病に関連する任意の遺伝子（例えば、GYS1）、筋萎縮、筋ジストロフィー、または筋消耗に関連する任意の遺伝子（例えば、DMD、DMPK、DUX4）およびそのmRNAのいずれかの配列が挙げられる。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも8つの隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも9つの隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも10の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも11の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも12の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも13の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも14の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも15の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも16の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも17の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも18の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも19の隣接する塩基にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、本明細書に記載される標的配列の少なくとも20の隣接する塩基にハイブリダイズする。

20

30

40

【0113】

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子はオフターゲット効果を減少させた。いくつかの例では、「オフターゲット」または「オフターゲット効果」とは、所定の標的に対して向けられたポリ核酸ポリマーが、別のmRNA配列、DNA配列、または細胞タンパク質あるいはその他の部分に直接的または間接的に相互作用することによって意図しない効果を引き起こすあらゆる例を指す。いくつかの例では、その他の転写物とポリ核酸分子のセンス鎖および／またはアンチセンス鎖との間の部分的な相同性または相補性によって、他

50

の転写物の同時の分解がある場合に、「オフターゲット効果」が生じる。

【0114】

場合によっては、本明細書に記載された人工ヌクレオチドアナログの1つ以上は、天然のポリ核酸分子と比較して、例えば、RNase Hなどのリボヌクレアーゼ、DNaseなどのデオキシリボヌクレアーゼ、または、5' - 3' エキソヌクレアーゼおよび3' - 5' エキソヌクレアーゼなどのエキソヌクレアーゼなどのヌクレアーゼに対する耐性を有する。いくつかの例では、式II（例えば、式IIa）の化合物、2' - O - メチル、2' - O - メトキシエチル（2' - O - MOE）、2' - O - アミノプロピル、2' - デオキシ、2' - デオキシ - 2' - フルオロ、2' - O - アミノプロピル（2' - O - AP）、2' - O - ジメチルアミノエチル（2' - O - DMAOE）、2' - O - ジメチルアミノプロピル（2' - O - DMAP）、2' - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル（2' - O - DMAEOE）、または、2' - O - N - メチルアセトアミド（2' - O - NMA）修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、2' - フルオロN3 - P5' - ホスホラミダイト、あるいは、これらの組み合わせを含む人工ヌクレオチドアナログは、RNase Hなどのリボヌクレアーゼ、DNaseなどのデオキシリボヌクレアーゼ、または、5' - 3' エキソヌクレアーゼおよび3' - 5' エキソヌクレアーゼなどのエキソヌクレアーゼなどのヌクレアーゼに対する耐性を有する。いくつかの例では、2' - O - メチル修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、2' - O - メトキシエチル（2' - O - MOE）修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、2' - O - アミノプロピル修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、2' - デオキシ修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、あるいは3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、2' - デオキシ - 2' - フルオロ修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、2' - O - アミノプロピル（2' - O - AP）修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、2' - O - ジメチルアミノエチル（2' - O - DMAOE）修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、2' - O - ジメチルアミノプロピル（2' - O - DMAP）修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、2' - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル（2' - O - DMAEOE）修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、2' - O - N - メチルアセトアミド（2' - O - NMA）修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、LNA - 修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、ENA - 修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性）を有する。いくつかの例では、HNA - 修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性（例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの

耐性)を有する。モルホリノは、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性)を有する。いくつかの例では、PNA-修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼに対する耐性(例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性)を有する。いくつかの例では、メチルホスホネートヌクレオチド修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性)を有する。いくつかの例では、チオホスホネートヌクレオチド修飾されたポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性)を有する。いくつかの例では、2' - フルオロN3 - P5' - ホスホラミダイトを含むポリ核酸分子は、ヌクレアーゼ耐性(例えば、RNase H、DNase、5' - 3' エキソヌクレアーゼ、または3' - 5' エキソヌクレアーゼの耐性)を有する。いくつかの例では、本明細書に記載された5' コンジュゲートは、5' - 3' エキソヌクレアーゼ切断を阻害する。いくつかの例では、本明細書に記載された3' コンジュゲートは、3' - 5' エキソヌクレアーゼ切断を阻害する。

【0115】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される式II(例えば、式IIa)の化合物を含む人工修飾ヌクレオチドアナログの1つ以上は、同等の天然ポリヌクレオチド酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性が増加している。式IIの化合物、2' - O - メチル、2' - O - メトキシエチル(2' - O - MOE)、2' - O - アミノプロピル、2' - デオキシ、2' - デオキシ - 2' - フルオロ、2' - O - アミノプロピル(2' - O - AP)、2' - O - ジメチルアミノエチル(2' - O - DMAOE)、2' - O - ジメチルアミノプロピル(2' - O - DMAP)、2' - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル(2' - O - DMAEOE)、または、2' - O - N - メチルアセトアミド(2' - O - NMA)修飾された、LNA、ENA、PNA、HNA、モルホリノ、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、または2' - フルオロN3 - P5' - ホスホラミダイトを含む修飾されたヌクレオチドアナログの1つ以上は、同等の天然のポリ核酸分子と比較してそのmRNAへの増大した結合親和性を有することができる。いくつかの例では、2' - O - メチル修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、2' - O - メトキシエチル(2' - O - MOE)修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、2' - O - アミノプロピル修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、2' - デオキシ修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、2' - デオキシ - 2' - フルオロ修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、2' - O - アミノプロピル(2' - O - AP)修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、2' - O - ジメチルアミノエチル(2' - O - DMAOE)修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、2' - O - ジメチルアミノプロピル(2' - O - DMAP)修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、2' - O - ジメチルアミノエチルオキシエチル(2' - O - DMAEOE)修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、2' - O - N - メチルアセトアミド(2' - O - NMA)修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのmRNA標的に対する結合親和性を増大させている。いくつかの例では、LNA-修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのmRNA

標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、E N A -修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのm R N A 標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、P N A -修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのm R N A 標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、H N A -修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのm R N A 標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、モルホリノー修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのm R N A 標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、メチルホスホネートヌクレオチド修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのm R N A 標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、チオールホスホネートヌクレオチド修飾されたポリ核酸分子は、同等の天然のポリ核酸分子と比較して、そのm R N A 標的に対する結合親和性を増大させた。いくつかの例では、2' -フルオロN 3 - P 5' -ホスホラミダイトを含むポリ核酸分子は、同等の天然ポリ核酸分子と比較して、そのm R N A 標的に対する結合親和性を増大させている。場合によっては、増加した親和性は、低K d、高融解温度(T m)、またはその組み合わせで例証される。

【0116】

一部の実施形態では、本明細書に記載される式I I (例えば、式I I a)の化合物を含む修飾されたヌクレオチドアナログは、キラル純粋な(または立体的に純粋な)ポリ核酸分子、あるいは単一のエナンチオマーを含むポリ核酸分子である。いくつかの例では、ポリ核酸分子はL -ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子はD -ヌクレオチドを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子組成物は、その鏡像異性体の30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%、またはそれ以下を含む。場合によっては、ポリ核酸分子組成物は、ラセミ混合物の30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2%、1%、またはそれ以下を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、米国特許出願公開第2014/194610号と第2015/211006号、および、P C T 国際公開第W O 2015107425号に記載されるポリ核酸分子である。

【0117】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、アプタマーコンジュゲート部分を含めるようにさらに修飾される。いくつかの例では、アプタマーコンジュゲート部分はD N A アプタマーコンジュゲート部分である。いくつかの例では、アプタマーコンジュゲート部分は、A l p h a m e r (C e n t a u r i T h e r a p e u t i c s)であり、これは、特定の細胞表面標的を認識するアプタマー部分と、循環抗体に結合するための特定のエピトープを示す部分とを含んでいる。いくつかの例では、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、米国特許第8,604,184号、第8,591,910号、および第7,850,975号に記載されるようなアプタマーコンジュゲート部分を含めるようにさらに修飾される。

【0118】

さらなる実施形態では、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、その安定性を増大させるために修飾される。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子はR N A (例えば、s i R N A)であり、ポリ核酸分子はその安定性を増大させるために修飾される。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、その安定性を増大させるために、上に記載された修飾の1つ以上によって修飾される。場合によっては、ポリ核酸分子は、2' -O -メチル、2' -O -メトキシエチル(2' -O -M O E)、2' -O -アミノプロピル、2' -デオキシ、2' -デオキシ-2' -フルオロ、2' -O -アミノプロピル(2' -O -A P)、2' -O -ジメチルアミノエチル(2' -O -D M A O E)、2' -O -ジメチルアミノプロピル(2' -O -D M A P)、2' -O -ジメチルアミノエチルオキシエチル(2' -O -D M A E O E)、または、2' -O -N -メチルアセトアミド(2' -O -N M A)修飾、あるいは、ロックドまたは架橋リボース構造(例えば、L N AまたはE N A)によるなどして、2' ヒドロキシル位置で修飾される。場合によっては、ポリ核酸分子は、2' -O -メチルおよび/または2

’-O-メトキシエチルリボースによって修飾される。場合によっては、ポリ核酸分子はさらに、その安定性を増大させるために、モルホリノ、PNA、HNA、メチルホスホネートヌクレオチド、チオールホスホネートヌクレオチド、および／または2’-フルオロN3-P5’-ホスホラミダイトを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子はキラル純粋な（またはステレオ純粋な）ポリ核酸分子である。いくつかの例では、キラル純粋な（またはステレオ純粋な）ポリ核酸分子はその安定性を増大させるために修飾される。送達の安定性を増大させるためのRNAの適切な修飾は当業者には明らかとなるであろう。

【0119】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、上記の遺伝子によってコードされたRNAの発現を調節するRNAi活性を有する。いくつかの例では、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、遺伝子の発現をダウンレギュレートする二本鎖siRNA分子であり、ここで、二本鎖siRNA分子の鎖の1つは、遺伝子、または遺伝子あるいはその一部によってコードされたRNAのヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を含み、および、二本鎖siRNA分子の第2の鎖は、遺伝子、または遺伝子あるいはその一部によってコードされたRNAのヌクレオチド配列に実質的に似ているヌクレオチド配列を含む。場合によっては、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、遺伝子の発現をダウンレギュレートする二本鎖siRNA分子であり、ここで、siRNA分子のそれぞれの鎖は、約15～25、18～24、または19～約23のヌクレオチドを含み、および、それぞれの鎖は、別の鎖のヌクレオチドに相補的な少なくとも約14、17、または19のヌクレオチドを含む。場合によっては、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、遺伝子の発現をダウンレギュレートする二本鎖siRNA分子であり、ここで、siRNA分子のそれぞれの鎖は約19～約23のヌクレオチドを含み、および、それぞれの鎖は、別の鎖のヌクレオチドに相補的な少なくとも約19のヌクレオチドを含む。

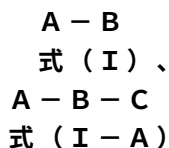
【0120】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるポリ核酸分子は、当該技術分野で知られている手順を用いて、化学合成および／または酵素ライゲーション反応を用いて構築される。例えば、ポリ核酸分子は、自然発生のヌクレオチドを使用して、あるいは、分子の生体安定性を増大させるために、または、ポリ核酸分子と標的核酸との間で形成された二重鎖の物理安定度を増大させるために設計されたさまざまな修飾ヌクレオチドを使用して、化学合成される。例示的な方法は、米国特許第5,142,047号、第5,185,444号、第5,889,136号、第6,008,400号、および、第6,111,086号、PCT国際公開第WO2009099942号、または欧州特許公開第1579015号に記載されるものを含む。追加の例示的な方法は、Griffey et al., “2’-O-aminopropyl ribonucleotides: a zwitterionic modification that enhances the exonuclease resistance and biological activity of antisense oligonucleotides,” J. Med. Chem. 39 (26): 5100-5109 (1997); Obika, et al. “Synthesis of 2’-O, 4’-C-methyleneuridine and -cytidine. Novel bicyclic nucleosides having a fixed C3, -endo sugar pucker.” Tetrahedron Letters 38 (50): 8735-8738 (1997); Koizumi, M. “ENA oligonucleotides as therapeutics.” Current opinion in molecular therapeutics 8 (2): 144-149 (2006); および、Abramova et al., “Novel oligonucleotide analogues based on morpholino nucleoside subunits-antisense technologies: new chemical possibilities,” Indian Journal of Chemistry 48B: 1721-1726 (2009)に記載されるものを含む。代替的に

、ポリ核酸分子は、ポリ核酸分子がアンチセンス配向にサブクローン化された発現ベクターを用いて生物学的に生成される（つまり、挿入されたポリ核酸分子から転写されたRNAは、所望の標的ポリ核酸分子に対してアンチセンス配向になる）。

【0121】

1つの実施形態は、式（I）または式（I-A）のオリゴヌクレオチドコンジュゲートを提供し、



10

式中、

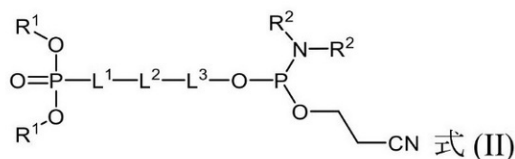
Aは結合部分であり、

Cは任意選択的にポリマーであり、

Bは式（II）のヌクレオチド化合物または式（II）由来のヌクレオチド化合物を含むオリゴヌクレオチド（例えば、式（II）のホスホロアミダイト基はオリゴヌクレオチド構造においてリン酸基に変換する）であり、

【0122】

【化25】



20

式中、

R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、置換または非置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルであり、

R^2 はそれぞれ独立して、水素、重水素、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルであり、

30

もしくは、2つの R^2 は、それらが結合している窒素原子と一体となって、置換または非置換の C_2-C_{10} ヘテロシクロアルキルを形成し、

L^1 は、結合、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンであり、

L^2 は、結合、O、S、 NR^3 、置換または非置換の C_4-C_7 シクロアルキレン、置換または非置換の C_4-C_7 ヘテロシクロアルキレン、置換または非置換の C_5-C_8 アリーレン、あるいは置換または非置換の C_4-C_8 ヘテロアリーレンであり、

R^3 は、存在する場合、水素、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、および非置換または置換の単環式の複素環から選択され、

40

L^3 は、結合、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンであり、ならびに、

L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも2つは結合ではない。

【0123】

式（II）の化合物のいくつかの実施形態では、 L^2 は結合、O、S、または NR^3 である。いくつかの実施形態では、 L^2 はO、S、または NR^3 である。いくつかの実施形態では、 L^2 は NR^3 である。いくつかの実施形態では、 L^2 はOである。いくつかの実施形態では、 L^2 はSである。いくつかの実施形態では、 L^2 は結合である。

【0124】

式（II）の化合物のいくつかの実施形態では、 L^2 は置換または非置換の C_4-C_7 シ

50

クロアルキレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 は置換または非置換の C_5-C_8 アリーレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 は非置換の C_4-C_7 シクロアルキレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はフェニレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はメチレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 は非置換の C_5-C_8 アリーレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はフェニレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はメチレンである。いくつかの実施形態では、 L^2 はシクロヘキシルである。

【0125】

式(I I)の化合物のいくつかの実施形態では、 L^1 は、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンであり、および、 L^3 は、結合、置換または非置換の C_1-C_5 アルキレン、置換または非置換の C_2-C_5 アルケニレン、あるいは置換または非置換の C_2-C_5 アルキニレンである。いくつかの実施形態では、 L^1 は C_1-C_5 アルキレン、 C_1-C_3 アルケニレン、または C_1-C_5 アルキニレンであり、および、 L^3 は C_1-C_5 アルキレン、 C_1-C_3 アルケニレン、または C_1-C_5 アルキニレンである。いくつかの実施形態では、 L^1 は C_1-C_5 アルキレンであり、および L^3 は C_1-C_5 アルキレンである。

10

【0126】

式(I I)の化合物のいくつかの実施形態では、 L^1 、 L^2 、および L^3 の少なくとも2つは、結合ではない。いくつかの実施形態では、 L^1 は結合である。いくつかの実施形態では、 L^3 は結合である。

20

【0127】

式(I I)のいくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して置換または非置換の C_1-C_6 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^1 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^1 は $-CH_3$ である。

【0128】

式(I I)のいくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキル、あるいは置換または非置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、置換または非置換の C_1-C_6 アルキルである。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ独立して、 $-CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、または $-CH_2(CH_3)_2$ である。いくつかの実施形態では、 R^2 はそれぞれ $-CH_2(CH_3)_2$ である。

30

【0129】

式(I I)のいくつかの実施形態では、2つの R^2 は、それらが結合している窒素原子と一体となって、置換または非置換の C_2-C_{10} ヘテロシクロアルキルを形成する。

【0130】

式(I I)のいくつかの実施形態では、 R^3 は、水素、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキルから選択される。いくつかの実施形態では、 R^3 は、非置換または置換の単環式の炭素環および非置換または置換の単環式の複素環から選択される。いくつかの実施形態では、 R^3 は水素である。

40

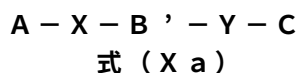
【0131】

式(I)のオリゴヌクレオチドコンジュゲートのいくつかの実施形態では、Bは式(I I)の構造を有する化合物である。

【0132】

1つの実施形態は、式(X a)のオリゴヌクレオチドコンジュゲートを提供し、

50



式中、

A は結合部分であり、

B' は式 (I I) のポリヌクレオチド化合物であり、

C は任意選択的にポリマーであり、

X は単結合または第 1 のリンカーであり、および、

Y は単結合または第 2 のリンカーであり、

ポリヌクレオチドはさらに、1 つ以上の追加の非天然のヌクレオチドを含み、および、

A と C は同じ末端で B に結合しない。

10

【0133】

別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、ここで、ポリヌクレオチドはさらに、少なくとも 1 つの修飾されたヌクレオチド間結合、または少なくとも 1 つの反転脱塩基部分を含む。

【0134】

別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、式 (I I a) の化合物はポリヌクレオチドのヌクレオチド間結合に位置する。

【0135】

別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、式 (I I a) の化合物は 2' 位置でさらに修飾されている。

20

【0136】

別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、1 つ以上の追加の非天然ヌクレオチドは、2'-O-メチル、2'-O-メトキシエチル (2'-O-MOE)、2'-デオキシ、2'-デオキシ-2'-フルオロ、2'-O-アミノプロピル (2'-O-AP)、2'-O-ジメチルアミノエチル (2'-O-DMAOE)、2'-O-ジメチルアミノプロピル (2'-O-DMAP)、2'-O-ジメチルアミノエチルオキシエチル (2'-O-DMAEOE)、または、2'-O-N-メチルアセトアミド (2'-O-NMA) 修飾されたヌクレオチドから選択される 2'-修飾を含む。

【0137】

別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、式 (I I a) の化合物はロックド核酸 (LNA) またはエチレン核酸 (ENA) から選択される。

30

【0138】

別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、少なくとも 1 つの反転脱塩基部分は少なくとも 1 つの末端である。

【0139】

別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは一本鎖である。別の実施形態は、式 (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは二本鎖である。

【0140】

別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは 2 ～ 約 100 残基長である。別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは 2 ～ 約 90 残基長である。別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは 2 ～ 約 80 残基長である。別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは 2 ～ 約 70 残基長である。別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは 2 ～ 約 60 残基長である。別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは 2 ～ 約 50 残基長である。別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは 2 ～ 約 40 残基長である。別の実施形態は、式 (I) または (X a) のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは 2 ～

40

50

約30残基長である。別の実施形態は、式(I)または(Xa)のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは2～約20残基長である。別の実施形態は、式(I)または(Xa)のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは2～約10残基長である。別の実施形態は、式(I)または(Xa)のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは8～約30残基長である。別の実施形態は、式(Xa)のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは10～約30残基長である。別の実施形態は、式(I)または(Xa)のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは14～約30残基長である。別の実施形態は、式(Xa)のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは18～約30残基長である。別の実施形態は、式(I)または(Xa)のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは22～約30残基長である。別の実施形態は、式(I)または(X)のオリゴヌクレオチドを提供し、オリゴヌクレオチドは26～約30残基長である。

10

【0141】

1つの実施形態は、以下の群から選択されたオリゴヌクレオチドの合成に適している化合物を提供し、

【0142】

20

30

40

50

Chemical structures 1-10 are defined as follows:

1. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

2. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

3. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

4. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

5. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

6. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

7. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

8. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

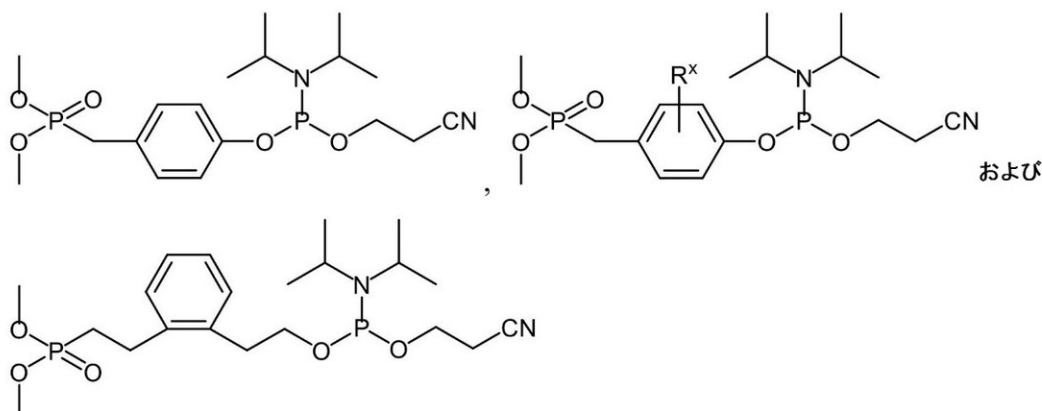
9. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

10. $\text{CH}_3\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{OCH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{P}(\text{O}(\text{CH}_3)_2)-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$

40

【 0 1 4 3 】

【化 27】



式中、 R^x は、H、ハロゲン、非置換または置換の C_1-C_6 アルキル、非置換または置換の C_1-C_6 フルオロアルキル、非置換または置換の C_1-C_6 ヘテロアルキル、非置換または置換の単環式の炭素環、非置換または置換の単環式の複素環、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-O$ -アルキル、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2$ -アルキル、 $-CH_2CO_2H$ 、 $-CH_2CO_2$ -アルキル、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NH$ -アルキル、 $-CH_2C(=O)NH_2$ 、 $-CH_2C(=O)NH$ -アルキル、 NH_2 、 $-NH$ -アルキル、 $-CH_2NH_2$ 、 $-CH_2NH$ -アルキル、 $-NHC(=O)$ アルキル、 $-CH_2NHC(=O)$ アルキル、 $-SH$ 、 $-S$ -アルキル、 $-S(=O)H$ 、 $-S(=O)$ アルキル、 $-SO_2H$ 、 $-SO_2$ -アルキル、 $-SO_2NH_2$ 、または $-SO_2NH$ -アルキルである。

【0144】

コンジュゲーション化学

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は結合部分にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分は、アミノ酸、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、抗体、抗原、毒素、ホルモン、脂質、ヌクレオチド、ヌクレオシド、糖類、炭水化物、ポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールなどのポリマー、ならびに、これらのクラスの物質のすべてのアナログまたは誘導体を含む。結合部分の追加の例はさらに、ステロイド、例えば、コレステロール、リン脂質、ジアシルグリセロールおよびトリアシルグリセロール、脂肪酸、炭化水素（例えば、飽和したもの、不飽和のもの、または、置換を含むもの）、酵素基質、ビオチン、ジゴキシゲニン、および多糖類などを含む。いくつかの例では、結合部分は、抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、ポリ核酸分子はさらにポリマーにコンジュゲートされ、随意にエンドソーム溶解性部分にコンジュゲートされる。

【0145】

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は化学的なライゲーションプロセスによって結合部分にコンジュゲートする。いくつかの例では、ポリ核酸分子は天然のライゲーションによって結合部分にコンジュゲートされる。いくつかの例では、コンジュゲーションは、Dawson, et al. "Synthesis of proteins by native chemical ligation," Science 1994, 266, 776-779; Dawson, et al. "Modulation of Reactivity in Native Chemical Ligation through the Use of Thiol Additives," J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 4325-4329; Hackeng, et al. "Protein synthesis by native chemical ligation: Expanded scope by using straightforward methodology," Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1999, 96, 10068-10073;あるいは、Wu, et al. "Build

ing complex glycopeptides: Development of a cysteine-free native chemical ligation protocol,” *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, 45, 4116–4125に記載される通りである。いくつかの例では、コンジュゲーションは米国特許第8,936,910号に記載されるとおりである。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、天然のライゲーション化学を介して、部位特異的にまたは非特異的に、結合部分にコンジュゲートする。

【0146】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、「トレースレス (traceless)」カップリング技術 (PhiloChem) を利用する部位指定的な方法によって結合部分にコンジュゲートする。いくつかの例では、「トレースレス」カップリング技術は、アルデヒド基を含むポリ核酸分子にコンジュゲートする結合部分のN末端 1,2-アミノチオール基を利用する。(Casi et al., “Site-specific traceless coupling of potent cytotoxic drugs to recombinant antibodies for pharmacodelivery,” *JACS* 134 (13): 5887–5892 (2012) を参照)

10

【0147】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、結合部分に導入された非天然のアミノ酸を利用する部位指定的な方法によって結合部分にコンジュゲートする。いくつかの例では、非天然アミノ酸はp-アセチルフェニルアラニン (pAcPhe) を含む。いくつかの例では、pAcPheのケト基は、オキシム結合を形成するために、アルコキシアミン誘導体コンジュゲート部分に選択的にカップリングされる。(Axup et al., “Synthesis of site-specific antibody-drug conjugates using unnatural amino acids,” *PNAS* 109 (40): 16101–16106 (2012) を参照)。

20

【0148】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、酵素触媒プロセスを利用する部位指定的な方法によって結合部分にコンジュゲートする。いくつかの例では、部位指定的な方法はSMARTag (商標) 技術 (Redwood) を利用する。いくつかの例では、SMARTag (商標) 技術は、アルデヒドタグの存在下での酸化プロセスを介するホルミルグリシン生成酵素 (FGE) によるシステインからのホルミルグリシン (FGly) 残基の生成、および、ヒドラジノーPictet-Spengler (HIPS) ライゲーションを介するアルキルヒドラジン機能化ポリ核酸分子へのFGlyのその後のコンジュゲーションを含む。(Wu et al., “Site-specific chemical modification of recombinant proteins produced in mammalian cells by using the genetically encoded aldehyde tag,” *PNAS* 106 (9): 3000–3005 (2009); Agarwal, et al., “A Pictet-Spengler ligation for protein chemical modification,” *PNAS* 110 (1): 46–51 (2013) を参照)。

30

40

【0149】

いくつかの例では、酵素触媒プロセスは、微生物トランスグルタミナーゼ (mTG) を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、微生物トランスグルタミナーゼ触媒プロセスを用いて結合部分にコンジュゲートする。いくつかの例では、mTGは、認識配列内のグルタミンのアミド側鎖と機能化ポリ核酸分子の一級アミンとの間の共有結合の形成を触媒する。いくつかの例では、mTGはストレプトマイセス・モバラエンシス (*Streptomyces mobarensis*) から産生される。(Strop et al., “Location matters: site of conjugation modulates stability and pharmacokinetics of antibody drug conjugates,” *Chemistry and Bi*

50

ology 20 (2) 161-167 (2013) を参照)。

【0150】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、配列特異的なトランスペプチダーゼを利用する PCT 国際公開第 WO 2014/140317 号に記載されるような方法によって結合部分にコンジュゲートする。

【0151】

いくつかの例では、ポリ核酸分子は、米国特許公開第 2015/0105539 号および第 2015/0105540 号に記載されるような方法によって結合部分にコンジュゲートする。

【0152】

結合部分

いくつかの実施形態では、結合部分 A はポリペプチドである。いくつかの例では、ポリペプチドは、抗体またはそのフラグメントである。場合によっては、フラグメントは結合フラグメントである。いくつかの例では、抗体またはその結合フラグメントは、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、ヒト抗体またはその結合フラグメント、抗ネズミ抗体（例えば、抗マウス抗体、抗ラット抗体など）、抗ヒト抗体（例えば、抗ヒトトランスフェリン受容体抗体）、ネズミ抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価 Fab'、二価 Fab₂、F(ab)₃ フラグメント、一本鎖可変フラグメント (scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ダイアボディ、ミニボディ、ナノボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 Fv タンパク質 (dsFv)、単一ドメイン抗体 (sdAb)、Ig NAR、ラクダ科抗体またはその結合フラグメント、二重特異性抗体またはその結合フラグメント、あるいはこれらの化学修飾された誘導体を含む。

【0153】

いくつかの例では、A は抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、A は、ヒト化抗体またはその結合フラグメント、ネズミ抗体またはその結合フラグメント、キメラ抗体またはその結合フラグメント、モノクローナル抗体またはその結合フラグメント、一価 Fab'、二価 Fab₂、F(ab)₃ フラグメント、一本鎖可変フラグメント (scFv)、bis-scFv、(scFv)₂、ダイアボディ、ミニボディ、ナノボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化 Fv タンパク質 (「dsFv」)、単一ドメイン抗体 (sdAb)、Ig NAR、ラクダ科抗体またはその結合フラグメント、二重特異性抗体またはその結合フラグメント、あるいはその化学修飾された誘導体である。いくつかの例では、A はヒト化抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、A はネズミ抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、A はキメラ抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、A はモノクローナル抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、A はフルサイズの抗体である。いくつかの例では、A は一価 Fab' である。いくつかの例では、A は二価 Fab₂ である。いくつかの例では、A は一本鎖可変フラグメント (scFv) である。

【0154】

いくつかの実施形態では、結合部分 A は、二重特異性抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、二重特異性抗体は三機能性抗体または二重特異性ミニ抗体である。場合によっては、二重特異性抗体は三機能性抗体である。いくつかの例では、三機能性抗体は、2つの異なる抗原のための結合部位を含む完全長のモノクローナル抗体である。例示的な三機能性抗体は、カツマキソマブ (EpcAM と CD3 を標的とする; Fresenius Biotech/Trion Pharma)、エルツマキソマブ (HER2/neu/CD3 を標的とする; Fresenius Biotech/Trion Pharma)、リンフォムン (Lymphomun) FBTA05 (CD20/CD3 を標的とする; Fresenius Biotech/Trion Pharma)、RG7221 (RO5520985; アンジオポエチン 2/VEGF を標的とする; Roche)、RG7597 (Her1/Her3 を標的とする; Genentech/Roche)

10

20

30

40

50

、MM141 (IGF1R/Her3を標的とする; Merrimack)、ABT122 (TNF α /IL17を標的とする; Abbvie)、ABT981 (IL1 α /IL1 β を標的とする; Abbott)、LY3164530 (Her1/cMETを標的とする; Eli Lilly)、および、TRBS07 (エクトマブ (Ektomab); GD2/CD3を標的とする; Trion Research GmbH)を含む。さらなる例示的な三機能性抗体は、F-star Biotechnology Ltd. からのmAb2を含む。いくつかの例では、Aは二重特異性三機能性抗体である。いくつかの実施形態では、Aは、カツマキソマブ (EpCAMとCD3を標的とする; Fresenius Biotech/Trion Pharma)、エルツマキソマブ (HER2/neu/CD3を標的とする; Fresenius Biotech/Trion Pharma)、リンフォムン (lymphomun) FBTA05 (CD20/CD3を標的とする; Fresenius Biotech/Trion Pharma)、RG7221 (RO5520985; アンジオポエチン 2/VEGFを標的とする; Roche)、RG7597 (Her1/Her3を標的とする; Genentech/Roche)、MM141 (IGF1R/Her3を標的とする; Merrimack)、ABT122 (TNF α /IL17を標的とする; Abbvie)、ABT981 (IL1 α /IL1 β を標的とする; Abbott)、LY3164530 (Her1/cMETを標的とする; Eli Lilly)、TRBS07 (エクトマブ (Ektomab); GD2/CD3を標的とする; Trion Research GmbH)、および、F-star Biotechnology Ltd. からのmAb2から選択された二重特異性三機能性抗体である。

【0155】

場合によっては、二重特異性抗体は二重特異性ミニ抗体である。いくつかの例では、二重特異性ミニ抗体は、二価Fab2、F(ab)'₃フラグメント、bis-scFv、(scFv)₂、ダイアボディ、ミニボディ、トリアボディ、テトラボディ、または二重特異性T細胞エンゲージャー (BiTE)を含む。いくつかの実施形態では、二重特異性T細胞エンゲージャーは、2つのscFvsが2つの異なる抗原のエピトープを標的とする2つの一本鎖可変フラグメント (scFvs)を含む融合タンパク質である。例示的な二重特異性ミニ抗体は、限定されないが、DART (二重親和性再標的プラットフォーム; MacroGenics)、プリナツモマブ (MT103あるいはAMG103; CD19/CD3を標的とする; Micromet)、MT111 (CEA/CD3を標的とする; Micromet/Amgen)、MT112 (BAY2010112; PSMA/CD3を標的とする; Micromet/Bayer)、MT110 (AMG 110; EPCAM/CD3を標的とする; Amgen/Micromet)、MGD006 (CD123/CD3を標的とする; MacroGenics)、MGD007 (GPA33/CD3を標的とする; MacroGenics)、BI1034020 (β -アミロイド上の2つの異なるエピトープを標的とする; Ablynx)、ALX0761 (IL17A/IL17Fを標的とする; Ablynx)、TF2 (CEA/ヘプテンを標的とする; Immunomedics)、IL-17/IL-34 biAb (BMS)、AFM13 (CD30/CD16を標的とする; Affimed)、AFM11 (CD19/CD3を標的とする; Affimed)、およびドメイン抗体 (Domantis/GSKからのdAbs)を含む。

【0156】

いくつかの実施形態では、結合部分Aは二重特異性ミニ抗体である。いくつかの例では、Aは二重特異性Fab₂である。いくつかの例では、Aは二重特異性F(ab)'₃フラグメントである。場合によっては、Aは二重特異性bis-scFvである。場合によっては、Aは二重特異性(scFv)₂である。いくつかの実施形態では、Aは二重特異性ダイアボディである。いくつかの実施形態では、Aは二重特異性ミニボディである。いくつかの実施形態では、Aは二重特異性トリアボディである。他の実施形態では、Aは二重特異性テトラボディである。他の実施形態では、Aは二重特異性のT細胞エンゲージャー (

B i T E)である。さらなる実施形態において、Aは、DART (二重親和性再標的プラットフォーム; MacroGenics)、プリナツモマブ (MT103、あるいはAMG103; CD19/CD3を標的とする; Micromet)、MT111 (CEA/CD3を標的とする; Micromet/Amegon)、MT112 (BAY2010112; PSMA/CD3を標的とする; Micromet/Bayer)、MT110 (AMG 110; EPCAM/CD3を標的とする; Amgen/Micromet)、MGD006 (CD123/CD3を標的とする; MacroGenics)、MGD007 (GPA33/CD3を標的とする; MacroGenics)、BI1034020 (β -アミロイド上の2つの異なるエピトープを標的とする; Ablynx)、ALX0761 (IL17A/IL17Fを標的とする; Ablynx)、TF2 (CEA/ヘプテンを標的とする; Immunomedics)、IL-17/IL-34 biAb (BMS)、AFM13 (CD30/CD16を標的とする; Affimed)、AFM11 (CD19/CD3を標的とする; Affimed)、およびドメイン抗体 (Domantis/GSKからのdAbs) から選択された二重特異性ミニ抗体である。

【0157】

いくつかの実施形態では、結合部分Aは三重特異性抗体である。いくつかの例では、三重特異性抗体はF(ab)₃フラグメントまたはトリアボディを含む。いくつかの例では、Aは三重特異性F(ab)₃フラグメントである。場合によっては、Aはトリアボディである。いくつかの実施形態では、Aは、Dimas, et al., “Development of a trispecific antibody designed to simultaneously and efficiently target three different antigens on tumor cells,” Mol. Pharmaceutics, 12 (9): 3490-3501 (2015)に記載されるような三重特異性抗体である。

【0158】

いくつかの実施形態では、結合部分Aは、細胞表面タンパク質を認識する抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、細胞表面タンパク質は癌細胞によって発現される抗原である。例示的な癌抗原は、限定されないが、アルファフェトプロテイン、ASLG659、B7-H3、BAFF-R、プレビカン、CA125 (MUC16)、CA15-3、CA19-9、癌胎児抗原 (CEA)、CA242、CRIPTO (CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、奇形癌由来成長因子)、CTLA-4、CXCR5、E16 (LAT1、SLC7A5)、FcRH2 (IFGP4、IRTA4、SPAP1A (SH2ドメイン含有ホスファターゼアンカータンパク質1a)、SPAP1B、SPAP1C)、上皮成長因子、ETBR、Fc受容体様タンパク質 (FCRH1)、GEDA、HLA-DOB (MHCクラスII分子 (Ia抗原) の β サブユニット)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、ICOS、IL-2受容体、IL20R α 、免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連2 (IRTA2)、L6、Lewis Y、Lewis X、MAGE-1、MAGE-2、MAGE-3、MAGE 4、MART1、メソセリン、MDP、MPF (SMR、MSLN)、MCP1 (CCL2)、マクロファージ阻害因子 (MIF)、MPG、MSG783、ムチン、MUC1-KLH、Napi3b (SLC34A2)、ネクチン-4、Neu癌遺伝子産物、NCA、胎盤アルカリホスファターゼ、前立腺特異的膜抗原 (PMSA)、前立腺酸性ホスファターゼ、PSCA hlg、p97、プリン受容体P2Xリガンド開口型イオンチャネル5 (P2X5)、LY64 (リンパ球抗原64 (RP105)、gp100、P21、前立腺6回膜貫通上皮抗原 (six transmembrane epithelial antigen of prostate) (STEAP1)、STEAP2、Sema 5b)、トランスフェリン受容体、腫瘍関連糖タンパク質72 (TAG-72)、TrpM4 (BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、一過性受容体電位陽イオンチャネル、サブファミリーM、メンバー4)などを含む。いくつかの例では、結合部分は α -トランスフェリン受容体抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、結合部

分は α -ヒトトランスフェリン受容体抗体である。いくつかの例では、結合部分は、PCT/US2019/068078に記載されるような α -ヒトトランスフェリン受容体抗体であり、これは本明細書に参照されることで組み込まれる。

【0159】

いくつかの例では、細胞表面タンパク質は、分化(CD)細胞表面マーカーのクラスタを含む。例示的なCD細胞表面マーカーは、限定されないが、CD1、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD9、CD10、CD11a、CD11b、CD11c、CD11d、CDw12、CD13、CD14、CD15、CD15s、CD16、CDw17、CD18、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD25、CD26、CD27、CD28、CD29、CD30、CD31、CD32、CD33、CD34、CD35、CD36、CD37、CD38、CD39、CD40、CD41、CD42、CD43、CD44、CD45、CD45RO、CD45RA、CD45RB、CD46、CD47、CD48、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、CD50、CD51、CD52、CD53、CD54、CD55、CD56、CD57、CD58、CD59、CDw60、CD61、CD62E、CD62L(L-セレクトリン)、CD62P、CD63、CD64、CD65、CD66a、CD66b、CD66c、CD66d、CD66e、CD71、CD79(例えば、CD79a、CD79b)、CD90、CD95(Fas)、CD103、CD104、CD125(IL5RA)、CD134(OX40)、CD137(4-1BB)、CD152(CTLA-4)、CD221、CD274、CD279(PD-1)、CD319(SLAMF7)、CD326(EPCAM)などを含む。

【0160】

いくつかの例では、結合部分Aは、癌抗原を認識する抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、結合部分Aは、アルファフェトプロテイン、ASLG659、B7-H3、BAFF-R、プレビカン、CA125(MUC16)、CA15-3、CA19-9、癌胎児抗原(CEA)、CA242、CRIPTO(CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、奇形癌由来成長因子)、CTLA-4、CXCR5、E16(LAT1、SLC7A5)、FcRH2(IFGP4、IRTA4、SPAP1A(SH2ドメイン含有ホスファターゼアンカータンパク質1a)、SPAP1B、SPAP1C)、上皮成長因子、ETBR、Fc受容体様タンパク質(FcRH1)、GEDA、HLA-DOB(MHCクラスII分子(Ia抗原)の β サブユニット)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、ICOS、IL-2受容体、IL20R α 、免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連2(IRTA2)、L6、Lewis Y、Lewis X、MAGE-1、MAGE-2、MAGE-3、MAGE 4、MART1、メソテリン、MCP1(CCL2)、MDP、マクロファージ遊走阻止因子(MIF)、MPF(SMR、MSLN)、MPG、MSG783、ムチン、MUC1-KLH、Napi3b(SLC34A2)、ネクチン-4、Neu癌遺伝子産物、NCA、胎盤アルカリホスファターゼ、前立腺特異的膜抗原PMSA)、前立腺酸性ホスファターゼ、PSCA hlg、p97、プリン受容体P2Xリガンド開口型イオンチャネル5(P2X5)、LY64(リンパ球抗原96(RP105)、gp100、P21、前立腺の6つの膜貫通上皮抗原(STEAP1)、STEAP2、Sema 5b、腫瘍関連糖タンパク質72(TAG-72)、TrpM4(BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、一過性受容体電位陽イオンチャネル、サブファミリーM、メンバー4)、あるいはこれらの組み合わせを認識する、抗体またはその結合フラグメントである。

【0161】

いくつかの例では、結合部分Aは、CD細胞表面マーカーを認識する、抗体またはその結合フラグメントである。いくつかの例では、結合部分Aは、CD1、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD9、CD10、CD11a、CD11b、CD11c、CD11d、CDw12、CD13、CD14、CD15、CD15s、CD16、CDw17、CD18、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23

、CD24、CD25、CD26、CD27、CD28、CD29、CD30、CD31、CD32、CD33、CD34、CD35、CD36、CD37、CD38、CD39、CD40、CD41、CD42、CD43、CD44、CD45、CD45RO、CD45RA、CD45RB、CD46、CD47、CD48、CD49a、CD49b、CD49c、CD49d、CD49e、CD49f、CD50、CD51、CD52、CD53、CD54、CD55、CD56、CD57、CD58、CD59、CDw60、CD61、CD62E、CD62L（Lーセレクチン）、CD62P、CD63、CD64、CD65、CD66a、CD66b、CD66c、CD66d、CD66e、CD71、CD79（例えば、CD79a、CD79b）、CD90、CD95（Fas）、CD103、CD104、CD125（IL5RA）、CD134（OX40）、CD137（4-1BB）、CD152（CTLA-4）、CD221、CD274、CD279（PD-1）、CD319（SLAMF7）、CD326（EpCAM）、またはこれらの組み合わせを認識する、抗体またはそのフラグメントである。

【0162】

いくつかの実施形態では、抗体またはその結合フラグメントは、ザルツムマブ（Humax-EGFr、Genmab）、アバゴボマブ（Menarini）、アビツズマブ（Merck）、アデカツムマブ（MT201）、アラシズマブペゴール、アテムツズマブ（Campath（登録商標）、MabCampathまたはCampath-1H；Leukosite）、AlloMune（BioTransplant）、アマツキシマブ（Morphotek Inc.）、抗VEGF（Genentech）、アナツモマブマフェナトックス、アポリズマブ（hu1D10）、アスクリンバクマブ（Pfizer Inc.）、アテゾリズマブ（MPDL3280A；Genentech/Roche）、B43.13（OvaRex、AltaRex Corporation）、バシリキシマブ（Simulect（登録商標）、Novartis）、ベリムマブ（Benlysta（登録商標）、GlaxoSmithKline）、ベバシズマブ（Avastin（登録商標）、Genentech）、ブリナツモマブ（Blinicyto、AMG103；Amgen）、BEC2（ImClone Systems Inc.）、カルルマブ（Janssen Biotech）、カツマキシマブ（Removab、Trion Pharma）、CEAcide（Immunomedics）、セツキシマブ（Erbix（登録商標）、ImClone）、シタツズマブボガトックス（VB6-845）、シズツムマブ（IMC-A12、ImClone Systems Inc.）、コナツムマブ（AMG 655、Amgen）、ダセツズマブ（SGN-40、huS2C6；Seattle Genetics, Inc.）、ダラツムマブ（Darzalex（登録商標）、Janssen Biotech）、デツモマブ、ドロジツマブ（Genentech）、デュルバルマブ（MedImmune）、デュシギツマブ（dusigitumab）（MedImmune）、エドレコロマブ（MAb171A、Panorex、Glaxo Wellcome）、エロツズマブ（Empliciti（商標）、Bristol-Myers Squibb）、エミベツズマブ（Eli Lilly）、エナバツズマブ（Facet Biotech Corp.）、エンフォルツマブベドチン（Seattle Genetics, Inc.）、エノブリツズマブ（MGA271、MacroGenics, Inc.）、エンシツズマブ（ensituxumab）（Neogenix Oncology, Inc.）、エブラツズマブ（LymphoCide、Immunomedics, Inc.）、エルツマキシマブ（Rexomun（登録商標）、Trion Pharma）、エタラシズマブ（Abegrin、MedImmune）、ファーレツズマブ（MORAb-003、Morphotek Inc.）、FBTA05（Lymphomun、Trion Pharma）、フィクラツズマブ（AVEO Pharmaceuticals）、フィギツムマブ（CP-751871、Pfizer）、フランボツマブ（ImClone Systems）、フレゾリムマブ（GC1008、Aanofi-Aventis）、フツキシマブ、グラキシマブ（glaximab）、ガニツマブ（Amgen）、ジレンツキシマブ（Rencarex（登録商

10

20

30

40

50

標)、Willex AG)、IMAB362 (クラウディキシマブ (Claudiximab)、Ganymed Pharmaceuticals AG)、イマルマブ (Baxalta)、IMC-1C11 (ImClone Systems)、IMC-C225 (ImClone Systems Inc.)、イムガツズマブ (Genentech/Roche)、インテツムマブ (Centocor社)、イピリムマブ (Yervoy (登録商標)、Bristol-Myers Squibb)、イラツムマブ (Medarex, Inc.)、イサツキシマブ (SAR650984、Sanofi-Aventis)、ラベツズマブ (CEA-CIDE、Immunomedics)、レクサツムマブ (ETR2-ST01、Cambridge Antibody Technology)、リンツズマブ (SGN-33、Seattle Genetics)、ルカツムマブ (Novartis)、ルミリキシマブ、マパツズマブ (HGS-ETR1、Human Genome Sciences)、マツズマブ (EMD 72000、Merck)、ミラツズマブ (hLL1、Immunomedics, Inc.)、ミツモマブ (BEC-2、ImClone Systems)、ナルナツマブ (narnatumab) (ImClone Systems)、ネシツムマブ (Portrazza (商標)、Eli Lilly)、ネスバクマブ (Regeneron Pharmaceuticals)、ニモツズマブ (h-R3、BIOMAB EGFR、TheraCIM、Theraloc、またはCIMAher; Biotech Pharmaceutical Co.)、ニボルマブ (Opdivo (登録商標)、Bristol-Myers Squibb)、オビヌツズマブ (GazyvaまたはGazyvaro; Hoffmann-La Roche)、オカラツズマブ (AME-133v、LY2469298; Mentrisk Biotech, LLC)、オフアツムマブ (Arzerra (登録商標)、Genmab)、オナルツズマブ (Genentech)、オンツキシズマブ (Ontuxizumab) (Morphotek Inc.)、オレゴボマブ (OvaRex (登録商標) (AltaRex, Corp.)、オトレルツズマブ (otlertuzumab) (Emergent BioSolutions)、パニツムマブ (ABX-EGF、Amgen)、パンコマブ (pankomab) (Glycotope GMBH)、パルサツズマブ (parsatuzumab) (Genentech)、パトリツマブ、ペンブロリズムマブ (Keytruda (登録商標)、Merck)、ペムツモマブ (pemtumomab) (Theragyn、Antisoma)、ペルツズマブ (Perjeta、Genentech)、ピディリズマブ (CT-011、Medivation)、ポラツズマブベドチン (Genentech/Roche)、プリツムマブ、ラコツモマブ (Vaxira (登録商標)、Recombio)、ラムシルマブ (Cyramza (登録商標)、ImClone Systems Inc.)、リツキシマブ (Rituxan (登録商標)、Genentech)、ロバツムマブ (Schering-Plough)、セリバントマブ (Sanofi/Merrimack Pharmaceuticals, Inc.)、シブロツズマブ (sibrotuzumab)、シルツキシマブ (Sylvant (商標)、Janssen Biotech)、Smart MI95 (Protein Design Labs, Inc.)、Smart ID10 (Protein Design Labs, Inc.)、タバルマブ (LY2127399、Eli Lilly)、タブリツモマブパプトクス、テナツモマブ (tenatumomab)、テプロツムマブ (Roche)、テツロマブ (tetulomab)、TGN1412 (CD28-SuperMABあるいはTAB08)、ティガツズマブ (CD-1008、Daichi Sankyo)、トシツモマブ、トラスツズマブ (Herceptin (登録商標))、トレメリムマブ (CP-672, 206; Pfizer)、ツコツズマブセルモロイキン (EMD Pharmaceuticals)、ウブリツキシマブ、ウレルマブ (BMS-663513、Bristol-Myers Squibb)、ボロシキシマブ (M200、Biogen Idec)、ザツキシマブ (zatuximab) などを含む。

【0163】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、結合部分Aは、ザルツムマブ (HuMax-EGFr、Genmab)、アバゴボマブ (Menarini)、アビツズマ (Merck)、アデカツムマブ (MT201)、アラシズマブペゴール、アレムツズマブ (Campath (登録商標)、MabCampathまたはCampath-1H; Leukosite)、AlloMune (BioTransplant)、アマツキシマブ (Morphotek Inc.)、抗VEGF (Genentech)、アナツモマブマフェナトックス、アポリズマブ (hu1D10)、アスクリンバクマブ (Pfizer Inc.)、アテゾリズマブ (MPDL3280A; Genentech/Roche)、B43.13 (OvaRex、AltaRex Corporation)、バシリキシマブ (Simulect (登録商標)、Novartis)、ベリムマブ (Benlysta (登録商標)、GlaxoSmithKline)、ベバシズマブ (Avastin (登録商標)、Genentech)、ブリナツモマブ (Blinicyto、AMG103; Amgen)、BEC2 (ImClone Systems Inc.)、カルルマブ (Janssen Biotech)、カツマキソマブ (Removab、Trion Pharma)、CEAcide (Immunomedics)、セツキシマブ (Erbix (登録商標)、ImClone)、シタツズマブボガトクス (VB6-845)、シズツムマブ (IMC-A12、ImClone Systems Inc.)、コナツムマブ (AMG 655、Amgen)、ダセツズマブ (SGN-40、huS2C6; Seattle Genetics, Inc.)、ダラツムマブ (Darzalex (登録商標)、Janssen Biotech)、デツモマブ、ドロジツマブ (Genentech)、デュルバルマブ (MedImmune)、デュシギツマブ (dusigitumab) (MedImmune)、エドレコロマブ (Mab171A、Panorex、Glaxo Wellcome)、エロツズマブ (Empliciti (商標)、Bristol-Myers Squibb)、エミベツズマブ (Eli Lilly)、エナバツズマブ (Face Biotech Corp.)、エンフォルツマブベドチン (Seattle Genetics, Inc.)、エノブリツズマブ (MGA271、MacroGenics, Inc.)、エンシツズマブ (ensituxumab) (Neogenix Oncology, Inc.)、エプラツズマブ (LymphoCide、Immunomedics, Inc.)、エルツマキソマブ (Rexomun (登録商標)、Trion Pharma)、エタラシズマブ (Abegrin、MedImmune)、ファールツズマブ (MORAb-003、Morphotek Inc.)、FBTA05 (Lymphomun、Trion Pharma)、フィクラツズマブ (AVEO Pharmaceuticals)、フィギツムマブ (CP-751871、Pfizer)、フランボツマブ (ImClone Systems)、フレゾリムマブ (GC1008、Aanofii-Aventis)、フツキシマブ、グラキシマブ (glaximab)、ガニツマブ (Amgen)、ジレンツキシマブ (Rencarex (登録商標)、Wilex AG)、IMAB362 (クラウディキシマブ、Ganymed Pharmaceuticals AG)、イマルマブ (Baxalta)、IMC-1C11 (ImClone Systems)、IMC-C225 (ImClone Systems Inc.)、イムガツズマブ (Genentech/Roche)、インテツムマブ (Centocor社)、イピリムマブ (Yervoy (登録商標)、Bristol-Myers Squibb)、イラツムマブ (Medarex, Inc.)、イサツキシマブ (SAR650984、Sanofi-Aventis)、ラベツズマブ (CEA-CIDE、Immunomedics)、レクサツムマブ (ETR2-ST01、Cambridge Antibody Technology)、リンツズマブ (SGN-33、Seattle Genetics)、ルカツムマブ (Novartis)、ルミリキシマブ、マバツズマブ (HGS-ETR1、Human Genome Sciences)、マツズマブ (EMD 72000、Merck)、ミラツズマブ (hLL1、Immunomedics, Inc.)、ミツモマブ (BEC-2、ImClone Systems)、ナルナツマブ (narnatumab) (ImClone Systems)、ネシツムマブ (Po

10

20

30

40

50

rtrazza (商標)、Eli Lilly)、ネスバクマブ (Regeneron Pharmaceuticals)、ニモツズマブ (h-R3、BIOMAB EGFR、TheraCIM、Theraloc、またはCIMAher; Biotech Pharmaceutical Co.)、ニボルマブ (Opdivo (登録商標)、Bristol-Myers Squibb)、オビヌツズマブ (GazyvaまたはGazyvaro; Hoffmann-La Roche)、オカラツズマブ (AME-133v、LY2469298; Mentrisk Biotech, LLC)、オフアツムマブ (Arzerra (登録商標)、Genmab)、オナルツズマブ (Genentech)、オンツキシズマブ (Ontuxizumab) (Morphotek Inc.)、オレゴボマブ (OvaRex (登録商標) (AltaRex, Corp.))、オトレルツズマブ (otlertuzumab) (Emergent BioSolutions)、パニツムマブ (ABX-EGF、Amgen)、パンコマブ (pankomab) (Glycotope GMBH)、パルサツズマブ (parsatuzumab) (Genentech)、パトリツマブ、ペンブロリズマブ (Keytruda (登録商標)、Merck)、ペムツモマブ (pemtumomab) (Theragyn、Antisoma)、ペルツズマブ (Perjeta、Genentech)、ピディリズマブ (CT-011、Medivation)、ポラツズマブベドチン (Genentech/Roche)、プリツムマブ、ラコツモマブ (Vaxira (登録商標)、Recombio)、ラムシルマブ (Cyramza (登録商標)、ImClone Systems Inc.)、リツキシマブ (Rituxan (登録商標)、Genentech)、ロバツムマブ (Schering-Plough)、セリバントマブ (Sanofi/Merrimack Pharmaceuticals, Inc.)、シブロツズマブ (sibrotuzumab)、シルツキシマブ (Sylvant (商標)、Janssen Biotech)、Smart MI95 (Protein Design Labs, Inc.)、Smart ID10 (Protein Design Labs, Inc.)、タバ

ルマブ (LY2127399、Eli Lilly)、タブリツモマブパプトクス、テナツモマブ (tenatumomab)、テプロツムマブ (Roche)、テツロマブ (tetulomab)、TGN1412 (CD28-SuperMABまたはTAB08)、ティガツズマブ (CD-1008、Daiichi Sankyo)、トシツモマブ、トラスツズマブ (Herceptin (登録商標))、トレメリムマブ (CP-672, 206; Pfizer)、ツコツズマブセルモロイキン (EMD Pharmaceuticals)、ウブリツキシマブ、ウレルマブ (BMS-663513、Bristol-Myers Squibb)、ボロシキシマブ (M200、Biogen Idec)、あるいはザツキシマブ (zatuximab) を含む。いくつかの実施形態では、結合部分Aはザルツムマブ (GenmabによるHuMax-EGFr) である。

【0164】

追加の結合部分

いくつかの実施形態では、結合部分は血漿タンパク質である。いくつかの例では、血漿タンパク質はアルブミンを含む。いくつかの例では、結合部分Aはアルブミンである。いくつかの例では、アルブミンは、本明細書に記載されるコンジュゲーション化学の1つ以上によって、ポリ核酸分子にコンジュゲートされる。いくつかの例では、アルブミンは、天然のライゲーション化学によってポリ核酸分子にコンジュゲートされる。いくつかの例では、アルブミンは、リジン結合によってポリ核酸分子にコンジュゲートされる。

【0165】

いくつかの例では、結合部分Aはステロイドである。例示的なステロイドは、コレステロール、リン脂質、ジアシルグリセロールおよびトリアシルグリセロール、脂肪酸、炭化水素 (飽和したもの、不飽和のもの、置換を含むもの、あるいはそれらの組み合わせである) を含む。いくつかの例では、ステロイドはコレステロールである。いくつかの例では、結合部分はコレステロールである。いくつかの例では、コレステロールは、本明細書に記載されるコンジュゲーション化学の1つ以上によってポリ核酸分子にコンジュゲートさ

10

20

30

40

50

れる。いくつかの例では、コレステロールは、天然のライゲーション化学によってポリ核酸分子にコンジュゲートされる。いくつかの例では、コレステロールは、リジンコンジュゲーションによってポリ核酸分子にコンジュゲートされる。

【0166】

いくつかの例では、結合部分は、限定されないが、細胞上の特定の表面マーカーに結合するポリ核酸分子アプタマーを含むポリマーである。この例では、結合部分は、標的遺伝子またはmRNAにハイブリダイズしないが、その代わりに、細胞表面マーカーのその特定のエピトープに結合する抗体と同様に、細胞表面マーカーに選択的に結合することができるポリ核酸である。

【0167】

場合によっては、結合部分Aはペプチドである。場合によっては、ペプチドは約1～約3kDaを含む。場合によっては、ペプチドは約1.2～約2.8kDa、約1.5～約2.5kDa、または約1.5～約2kDaを含む。いくつかの例では、ペプチドは二環式ペプチドである。場合によっては、二環式ペプチドは拘束二環式ペプチド (constrained bicyclic peptide) である。いくつかの例では、ペプチド部分は二環式ペプチド (例えば、Bicycle Therapeuticsの二環) である。

【0168】

さらなる場合には、結合部分は小分子である。いくつかの例では、小分子は抗体動員小分子 (antibody-recruiting small molecule) である。場合によっては、抗体動員小分子は、標的結合末端および抗体結合末端を含み、標的結合末端は細胞表面受容体を認識して、細胞表面受容体に相互作用することができる例えば、いくつかの例では、グルタミン酸尿素化合物を含む標的結合末端は、PSMAとの相互作用を可能にし、それによって、PSMAを発現する細胞 (例えば、癌細胞) との抗体相互作用を増強する。いくつかの例では、結合部分は、Zhang et al., "A remote arene-binding site on prostate specific membrane antigen revealed by antibody-recruiting small molecules," J Am Chem Soc. 132 (36): 12711-12716 (2010); あるいは、McEnaney, et al., "Antibody-recruiting molecules: an emerging paradigm for engaging immune function in treating human disease," ACS Chem Biol. 7 (7): 1139-1151 (2012) に記載される小分子である。

【0169】

ポリ核酸分子標的

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子Bは、癌遺伝子上の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子 (またはポリヌクレオチド) である。いくつかの例では、癌遺伝子は、いくつかのカテゴリー: 成長因子または分裂促進因子、受容体チロシンキナーゼ、細胞質チロシンキナーゼ、細胞質セリン／トレオニンキナーゼ、制御性GTPアーゼ、および転写因子にさらに分類される。例示的な成長因子はc-Sisを含む。例示的な受容体チロシンキナーゼは、上皮増殖因子受容体 (EGFR)、血小板由来増殖因子受容体 (PDGFR)、血管内皮増殖因子受容体 (VEGFR)、およびHER2/neuを含む。例示的な細胞質チロシンキナーゼは、Srcファミリーチロシンキナーゼ、チロシンキナーゼのSyk-ZAP-70ファミリー、チロシンキナーゼのBTKファミリー、および、CMLにおけるAbl遺伝子を含む。例示的な細胞質セリン／トレオニンキナーゼはRafキナーゼおよびサイクリン依存性キナーゼを含む。例示的な制御性GTPアーゼは、KRASなどのタンパク質のRasファミリーを含む。例示的な転写因子はMYC遺伝子を含む。いくつかの例では、本明細書に記載された癌遺伝子は、成長因子または分裂促進因子、受容体チロシンキナーゼ、細胞質チロシンキナーゼ、細胞質セリン／トレオニンキナー

10

20

30

40

50

ぜ、制御性GTPアーゼ、または転写因子から選択された癌遺伝子を含む。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、成長因子または分裂促進因子、受容体チロシンキナーゼ、細胞質チロシンキナーゼ、細胞質セリン／トレオニンキナーゼ、制御性GTPアーゼ、または転写因子から選択された癌遺伝子の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。

【0170】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される癌遺伝子は、Ab1、AKT-2、ALK、AML1（または、RUNX1）、AR、AXL、BCL-2, 3, 6、BRAF、c-MYC、EGFR、ErbB-2（Her2、Neu）、Fms、FOS、GLI1、HPRT1、IL-3、INTS2、JUN、KIT、KS3、K-sam、LBC（AKAP13）、LCK、LMO1、LMO2、LYL1、MAS1、MDM2、MET、MLL（KMT2A）、MOS、MYB、MYH11/CBFB、NOTCH1（TAN1）、NTRK1（TRK）、OST（SLC51B）、PAX5、PIM1、PRAD-1、RAF、RAR/PML、HRAS、KRAS、NRAS、REL/NRG、RET、ROS、SKI、SRC、TIAM1、またはTSC2を含む。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、Ab1、AKT-2、ALK、AML1（または、RUNX1）、AR、AXL、BCL-2, 3, 6、BRAF、c-MYC、EGFR、ErbB-2（Her2、Neu）、Fms、FOS、GLI1、HPRT1、IL-3、INTS2、JUN、KIT、KS3、K-sam、LBC（AKAP13）、LCK、LMO1、LMO2、LYL1、MAS1、MDM2、MET、MLL（KMT2A）、MOS、MYB、MYH11/CBFB、NOTCH1（TAN1）、NTRK1（TRK）、OST（SLC51B）、PAX5、PIM1、PRAD-1、RAF、RAR/PML、HRAS、KRAS、NRAS、REL/NRG、RET、ROS、SKI、SRC、TIAM1、またはTSC2の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。

【0171】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される癌遺伝子は、KRAS、EGFR、AR、HPRT1、CNNTB1（β-カテニン）、またはβ-カテニン関連遺伝子を含む。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子Bは、KRAS、EGFR、AR、HPRT1、CNNTB1（β-カテニン）、またはβ-カテニン関連遺伝子の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子Bは、KRASの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子Bは、EGFRの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子Bは、ARの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子Bは、CNNTB1（β-カテニン）の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子Bは、CNNTB1（β-カテニン）関連遺伝子の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの例では、β-カテニン関連遺伝子はPIK3CA、PIK3CB、およびMy cを含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子Bは、HPRT1の標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。

【0172】

カーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ（KRAS）を標的とするポリ核酸分子
カーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ（GTPアーゼKRas、V-Ki-rasカーステンラット肉腫ウイルス癌遺伝子ホモログ、またはKRASとしても知られている）は、細胞分裂の調節に関与する。K-Rasタンパク質はRasスーパーファミリーに属するGTPアーゼである。いくつかの例では、K-Rasは細胞周期進行を調節し、様々な環境トリガー（例えば、細胞ストレス、紫外線、熱ショック、またはイオン化放射線照射）の下で、成長停止、アポトーシス、および複製老化を誘導する。場合によっては、野生型KRAS遺伝子は様々なタイプの癌における腫瘍進行中に頻繁に失われることが示されているが、KRAS遺伝子の突然変異は癌の発生に関連している。いくつかの例では、KRAS増幅も、癌の発生に関連している（例えば、Valtorta et al

l. "KRAS gene amplification in colorectal cancer and impact on response to EGFR-targeted therapy," Int. J. Cancer 133: 1259-1266 (2013)を参照)。そのような場合、癌は、患者が特定の阻害剤、または阻害剤のクラスに対して耐性を獲得した難治性の癌に関連する。

【0173】

いくつかの実施形態では、KRAS遺伝子は野生型であるか、または突然変異を含む。いくつかの例では、KRAS mRNAは野生型であるか、または突然変異を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、野生型のKRAS DNA、またはRNAの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。いくつかの例では、ポリ核酸分子は、突然変異（例えば、置換、欠失、または付加）を含む、KRAS DNAまたはRNAの標的領域にハイブリダイズするポリ核酸分子である。

【0174】

いくつかの実施形態では、KRAS DNAまたはRNAは1つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態では、KRAS DNAまたはRNAは、エクソン1のコドン12または13において1つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、KRAS DNAまたはRNAは、コドン61、63、117、119、または146において1つ以上の突然変異を含む。いくつかの例では、KRAS DNAまたはRNAは、KRASポリペプチドのアミノ酸残基12、13、18、19、20、22、24、26、36、59、61、63、64、68、110、116、117、119、146、147、158、164、176、またはこれらの組み合わせに対応する位置に1つ以上の突然変異を含む。いくつかの実施形態では、KRAS DNAまたはRNAは、KRASポリペプチドのG12V、G12D、G12C、G12A、G12S、G12F、G13C、G13D、G13V、A18D、L19F、T20R、Q22K、I24N、N26K、I36L、I36M、A59G、A59E、Q61K、Q61H、Q61L、Q61R、E63K、Y64D、Y64N、R68S、P110S、K117N、C118S、A146T、A146P、A146V、K147N、T158A、R164Q、K176Q、またはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する位置に1つ以上の突然変異を含む。

【0175】

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、1つ以上の突然変異を含むKRAS DNAまたはRNAの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、エクソン1中のコドン12または13における1つ以上の突然変異を含むKRAS DNAまたはRNAの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、コドン61、63、117、119、または146における1つ以上の突然変異を含むKRAS DNAまたはRNAの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、KRASポリペプチドのアミノ酸残基12、13、18、19、20、22、24、26、36、59、61、63、64、68、110、116、117、119、146、147、158、164、176、またはこれらの組み合わせに対応する位置に1つ以上の突然変異を含むKRAS DNAまたはRNAの標的領域にハイブリダイズする。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子は、KRASポリペプチドのG12V、G12D、G12C、G12A、G12S、G12F、G13C、G13D、G13V、A18D、L19F、T20R、Q22K、I24N、N26K、I36L、I36M、A59G、A59E、Q61K、Q61H、Q61L、Q61R、E63K、Y64D、Y64N、R68S、P110S、K117N、C118S、A146T、A146P、A146V、K147N、T158A、R164Q、K176Q、またはこれらの組み合わせから選択されたアミノ酸残基に対応する1つ以上の突然変異を含むKRAS DNAまたはRNAの標的領域にハイブリダイズする。

【0176】

いくつかの実施形態では、結合部分Aは、本明細書に記載のポリ核酸分子（B）および任意選択的にポリマー（C）に、式（I）に従ってコンジュゲートされる。いくつかの例

では、ポリマー C はポリアルキレンオキシド（例えば、ポリエチレングリコール）を含む。

【0177】

いくつかの実施形態では、結合部分 A は、ポリ核酸分子（B）および任意選択的にポリマー（C）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、抗体またはその結合フラグメントである。

【0178】

いくつかの実施形態では、結合部分 A は、ポリ核酸分子（B）に非特異的にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、非部位特異的な手法で、リジン残基またはシステイン残基を介してポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、非部位特異的な手法で、リジン残基を介してポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。場合によっては、結合部分 A は、非部位特異的な手法で、システイン残基を介してポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、抗体またはその結合フラグメントである。

【0179】

いくつかの実施形態では、結合部分 A は、部位特異的な手法で、ポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、リジン残基、システイン残基を介して、5' - 末端で、3' - 末端で、非天然アミノ酸、あるいは酵素修飾または酵素触媒された残基で、部位特異的な手法を介して、ポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、部位特異的な手法で、リジン残基を介してポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、部位特異的な手法で、システイン残基を介してポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、部位特異的な手法で、5' 末端でポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、部位特異的な手法で、3' 末端でポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、部位特異的な手法で、非天然アミノ酸を介してポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、部位特異的な手法で酵素修飾または酵素触媒された残基を介してポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A は、抗体またはその結合フラグメントである。

【0180】

いくつかの実施形態では、結合部分 A（例えば、抗体またはその結合フラグメント）の 1 つ以上の領域は、ポリ核酸分子（B）にコンジュゲートする。いくつかの例では、結合部分 A の 1 つ以上の領域は、結合部分 A の定常領域内に、ヒンジ領域に、または Fc 領域に N 末端、C 末端を含む。いくつかの例では、ポリ核酸分子（B）は、結合部分 A の N 末端（例えば、抗体またはその結合フラグメントの N 末端）にコンジュゲートする。いくつかの例では、ポリ核酸分子（B）は、結合部分 A の C 末端（例えば、抗体またはその結合フラグメントの N 末端）にコンジュゲートする。いくつかの例では、ポリ核酸分子（B）は、結合部分 A の定常領域（例えば、抗体またはその結合フラグメントの定常領域）にコンジュゲートする。いくつかの例では、ポリ核酸分子（B）は、結合部分 A のヒンジ領域（例えば、抗体またはその結合フラグメントの定常領域）にコンジュゲートする。いくつかの例では、ポリ核酸分子（B）は、結合部分 A の Fc 領域（例えば、抗体またはその結合フラグメントの定常領域）にコンジュゲートする。

【0181】

いくつかの実施形態では、1 つ以上のポリ核酸分子（B）は結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、またはそれ以上のポリ核酸分子は、1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 1 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 2 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 3 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 4 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 5 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲート

する。いくつかの例では、約 6 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 7 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 8 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 9 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 10 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 11 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 12 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 13 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 14 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 15 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。いくつかの例では、約 16 個のポリ核酸分子が 1 つの結合部分 A にコンジュゲートする。場合によっては、1 つ以上のポリ核酸分子が同じである。他の例では、1 つ以上のポリ核酸分子が異なる。いくつかの例では、結合部分 A は、抗体またはその結合フラグメントである。

【0182】

いくつかの実施形態では、結合部分 A（例えば、抗体またはその結合フラグメント）にコンジュゲートするポリ核酸分子（B）の数は、ある比率を形成する。いくつかの例では、比率は D A R（薬物対抗体の）比率と呼ばれ、本明細書で言及されるような薬物はポリ核酸分子（B）である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、またはそれ以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 1 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 2 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 3 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 4 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 5 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 6 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 7 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 8 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 9 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 10 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 11 以上である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 12 以上である。

【0183】

いくつかの例では、結合部分 A（例えば、抗体またはその結合フラグメント）に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、または 16 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 1 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 2 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 3 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 4 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 5 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 6 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 7 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 8 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 9 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 10 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 11 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子（B）の D A R 比率は、約 12 である。いく

つかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、約 1 3 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、約 1 4 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、約 1 5 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、約 1 6 である。

【0184】

いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、または 16 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、1 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、2 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、4 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、6 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、8 である。いくつかの例では、結合部分 A に対するポリ核酸分子 (B) の D A R 比率は、12 である。

【0185】

いくつかの実施形態では、抗体またはその結合フラグメントは、当該技術分野で知られている従来の技術を使用して、例えば、単独で、または組み合わせて、アミノ酸の欠失、挿入、置換、付加を用いて、および、組換え、ならびに／あるいは、当該技術分野で知られている他の修飾（例えば、グリコシル化やリン酸化などの翻訳後修飾および化学的な修飾）によって、さらに修飾される。いくつかの例では、修飾は、F c 受容体との相互作用を調節するための修飾をさらに含む。いくつかの例では、1 つ以上の修飾は、例えば、国際公開第 W O 9 7 / 3 4 6 3 1 に記載されるものを含み、当該文献は F c ドメインと F c R n 受容体との間の相互作用に参与するアミノ酸残基を開示している。抗体またはその結合フラグメントのアミノ酸配列の基礎となる核酸配列にそのような修飾を導入する方法は、当業者に周知である。

【0186】

いくつかの例では、抗体結合フラグメントはさらにその誘導体を包含し、少なくとも 1 つの C D R を含むポリペプチド配列を含んでいる。

【0187】

いくつかの例では、本明細書で使用されるような「一本鎖」との用語は、二重特異性の一本鎖構築物の第 1 と第 2 のドメインが、好ましくは、単一核酸分子によってコードすることができる共線状アミノ酸配列 (c o - l i n e a r a m i n o a c i d s e q u e n c e) の形態で共有結合されるということの意味する。

【0188】

いくつかの例では、二重特異性一本鎖抗体構築物は、2 つの抗体由来の結合ドメインを含む構築物に関する。そのような実施形態では、二重特異性の一本鎖抗体構築物はタンデム b i - s c F v またはダイアボディである。いくつかの例では、s c F v は、リンカーペプチドによって接続された V H と V L のドメインを含む。いくつかの例では、リンカーは、第 1 と第 2 のドメインのそれぞれが、互いから独立して、その差次的な結合特異性を保持することができる十分な長さで配列である。

【0189】

いくつかの実施形態では、本明細書で使用されるように、～との結合または～による相互作用とは、互いに少なくとも 2 つの抗原相互作用部位の結合／相互作用を定義する。いくつかの例では、抗原相互作用部位は、特異的な抗原または抗原の特異的な群との特定の相互作用の能力を示すポリペプチドのモチーフを定義する。場合によっては、結合／相互作用は特定の認識を定義するとともに理解される。そのような場合、特定の認識は、抗体またはその結合フラグメントが、標的分子の各々の少なくとも 2 つのアミノ酸に特異的に相互作用および／または結合することができるということを指す。例えば、特定の認識は、抗体分子の特異性に関するか、または標的分子の特定の領域を区別するその能力に関する。

追加の例では、特異的な抗原との抗原相互作用部位の特定の相互作用は、例えば、抗原の立体配座の変化の誘導、抗原のオリゴマー化などによる、シグナルの開始をもたらす。さらなる実施形態では、結合は「鍵と鍵穴の原理 (key-lock-principle)」の特異性によって例証される。したがって、いくつかの例では、抗原相互作用部位および抗原のアミノ酸配列における特定のモチーフは、上記構造の二次修飾の結果と同様に、その1次、2次、または3次構造の結果として互いに結合する。そのような場合、抗原相互作用部位のその特異的な抗原との特定の相互作用は、抗原へのその部位の簡単な結合をもたらす。いくつかの例では、特異的な相互作用はさらに、抗体またはその結合フラグメントの交差反応性の減少、あるいはオフターゲット効果の減少を指す。例えば、対象となるポリペプチド／タンパク質に結合するが、他のポリペプチドのいずれにも本質的には結合しない抗体またはその結合フラグメントは、対象となるポリペプチド／タンパク質に対して特異的であるとみなされる。抗原相互作用部位の特異的な抗原との特定の相互作用の例は、リガンドのその受容体との特異性、例えば、抗原決定基 (エピトープ) の、抗体の抗原結合部位との相互作用を含む。

【0190】

抗体またはその結合フラグメントの産生

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるポリペプチド (例えば、抗体とその結合フラグメント) は、とりわけ、化学合成によって、または組換え発現によって、ポリペプチド (例えば、抗体) の合成に役立つように当該技術分野で知られている任意の方法を使用して生成され、および、好ましくは組換え発現技術によって生成される。

【0191】

いくつかの例では、抗体またはその結合フラグメントは組換え発現され、抗体またはその結合フラグメントをコードする核酸は、化学的に合成されたオリゴヌクレオチドから組み立てられ (例えば、Kutmeier et al., 1994, BioTechniques 17:242に記載されるように)、これは、抗体をコードする配列の一部を含有する重複するオリゴヌクレオチドの合成、それらのオリゴヌクレオチドのアニーリングとライゲーション、および、その後のPCRによるライゲートされたオリゴヌクレオチドの増幅を含む。

【0192】

代替的に、抗体をコードする核酸分子は、配列の3'と5'の末端へハイブリダイズすることができる合成プライマーを使用するPCR増幅によって、あるいは特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用してクローンを作ることによって、適切なソース (例えば、抗体cDNAライブラリー、または免疫グロブリンを発現する任意の組織あるいは細胞から生成されたcDNAライブラリー) から任意選択的に生成される。

【0193】

いくつかの例では、抗体またはその結合は、ポリクローナル抗体を産生するためにウサギなどの動物を免疫化することにより、または、より好ましくは、例えば、KohlerおよびMilstein (1975, Nature 256:495-497) によって記載されるように、または、Kozborら (1983, Immunology Today 4:72)、あるいはColeら (1985 in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96) によって記載されるように、モノクローナル抗体を産生することによって、任意選択的に生成される。代替的に、抗体の少なくともFab部分をコードするクローンは、特異的な抗原に結合するFabフラグメントのクローンのためにFab発現ライブラリー (例えば、Huse et al., 1989, Science 246:1275-1281に記載される) をスクリーニングすることにより、または抗体ライブラリー (Clackson et al., 1991, Nature 352:624; Hane et al., 1997 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:4937を参照) をスクリーニングすることにより、任意選択的に得られる。

【0194】

いくつかの実施形態では、適切な生物学的活性のヒト抗体分子からの遺伝子と一緒に、適切な抗原特異性のマウス抗体分子からの遺伝子をスプライシングすることにより、「キメラ抗体」の産生のために開発された技術（Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. 81:851-855; Neuberger et al., 1984, Nature 312:604-608; Takeda et al., 1985, Nature 314:452-454）が使用される。キメラ抗体は、異なる部分が、ネズミモノクローナル抗体に由来する可変領域、およびヒト免疫グロブリン定常領域、例えば、ヒト化抗体を有する動物種などの様々な動物種に由来する分子である。

【0195】

いくつかの実施形態では、一本鎖抗体の産生について記載された技術（U. S. Pat. No. 4,694,778; Bird, 1988, Science 242:423-42; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; and Ward et al., 1989, Nature 334:544-54）は、一本鎖抗体を産生するために適合される。一本鎖抗体は、アミノ酸ブリッジによってFv領域の重鎖および軽鎖のフラグメントを結合することによって形成され、結果として一本鎖ポリペプチドを生じさせる。大腸菌中の機能的なFvフラグメントの組み立てのための技術も任意選択的に使用される（Skerra et al., 1988, Science 242:1038-1041）。

【0196】

いくつかの実施形態では、抗体のヌクレオチド配列を含む発現ベクターまたは抗体のヌクレオチド配列は、従来の技術（例えば、エレクトロポレーション、リポソームトランスフェクション、および、リン酸カルシウム沈澱反応）によって宿主細胞に導入され、トランスフェクトされた細胞はその後、従来の技術によって培養されて、抗体を産生する。特定の実施形態では、抗体の発現は、構成的な、誘導可能な、または組織特異的なプロモーターによって調節される。

【0197】

いくつかの実施形態では、様々な宿主発現ベクター系は、本明細書に記載される抗体またはその結合フラグメントを発現するために利用される。そのような宿主発現系は、抗体のコード配列が生成され、その後精製されるビヒクルを表すだけでなく、適切なヌクレオチドコード配列で形質転換されるか、またはトランスフェクトされるときに、抗体またはその結合フラグメントをインサイツで発現する細胞も表す。これらは、限定されないが、抗体またはその結合フラグメントコード配列を含む、組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNA、またはコスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌（例えば、大腸菌と枯草菌）などの微生物、抗体またはその結合フラグメントコード配列を含む組換え酵母発現ベクターで形質転換された酵母（例えば、サッカロミセス・ピキア）、抗体またはその結合フラグメントコード配列を含む組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系、組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーマザイクウイルス（CaMV）およびタバコモザイクウイルス（TMV））に感染した、あるいは、抗体またはその結合フラグメントコード配列を含む組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Tiプラスミド）で形質転換された植物細胞系、あるいは、哺乳動物細胞（例えば、メタロチオネイン・プロモーター）のゲノム、または、哺乳動物ウイルス（例えば、アデノウイルス後期プロモーター、ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）に由来するプロモーターを含む、組換え発現構築物を保有する哺乳動物細胞系（例えば、COS、CHO、BH、293、293T、3T3細胞）を含む。

【0198】

組換えタンパク質の長期的かつ高収率の生成のためには、安定した発現が好ましい。いくつかの例では、安定して抗体を発現する細胞株が任意選択的に操作される。ウイルスの複製開始点を含む発現ベクターを使用するのではなく、宿主細胞は、適切な発現制御要素（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部

10

20

30

40

50

位など) および選択可能なマーカーによって制御されたDNAで形質転換される。外来性DNAの導入後に、操作した細胞を富化培地で1-2日間成長させ、その後、選択培地に切り替える。組換えプラスミドにおける選択可能なマーカーは、選択に対する耐性を与え、細胞がプラスミドをその染色体に安定的に統合し、成長してフォーカスを形成することできるようにし、フォーカスはクローン化されて細胞株へと拡大する。この方法は、抗体またはその結合フラグメントを発現する細胞株を操作するために有利に使用することができる。

【0199】

いくつかの例では、限定されないが、それぞれtk細胞、hgprt細胞、またはaprt細胞で利用される、単純疱疹ウイルスチミジンキナーゼ(Wigler et al., 1977, Cell 11:223)、ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(Szybalska & Szybalski, 1972, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202)、およびアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(Lowy et al., 1980, Cell 22:817)遺伝子を含む多くの選択系が使用される。同様に、代謝拮抗薬の耐性は、以下の遺伝子、メトトレキサートに対する耐性を与えるdhfr(Wigler et al., 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:357; O'Hare et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527); ミコフェノール酸に対する耐性を与えるgpt(Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072); アミノグリコシドG-418に対する耐性を与えるneo(Clinical Pharmacology 12:488-505; Wu and Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95; Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan, 1993, Science 260:926-932; およびMorgan and Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217; May, 1993, TIB TECH 11(5):155-215)、ならびに、ヒグロマイシンに対する耐性を与えるhygro(Santerre et al., 1984, Gene 30:147)の選定基準として使用される。使用可能な組換えDNA技術の技術分野で一般的に知られている方法は、Ausubel et al. (eds., 1993, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY; Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY; and in Chapters 12 and 13, Dracopoli et al. (eds), 1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY.; Colberre-Garapin et al., 1981, J. Mol. Biol. 150:1)に記載される。

【0200】

いくつかの例では、抗体の発現レベルは、ベクター増幅によって増加する(検討のために、Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3. (Academic Press, New York, 1987を参照))。抗体を発現するベクター系におけるマーカーが増幅可能である場合、宿主細胞の培養物中に存在する阻害剤のレベルが増加すると、マーカー遺伝子のコピーの数が増加する。増幅領域が抗体のヌクレオチド配列に関連しているため、抗体の産生も増加する(Crouse et al., 1983, Mol. Cell Biol. 3:257)。

【0201】

いくつかの例では、当該技術分野で知られている抗体の精製のための任意の方法は、例えば、クロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、とりわけ、プロテインAの後の特異的な抗原への親和性、および、サイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、差次的溶解性によって、またはタンパク質の精製のための他の標準的な技術によって使用される。

【0202】

ポリマーコンジュゲート部分

いくつかの実施形態では、ポリマー部分Cはさらに、本明細書に記載されるポリ核酸分子、本明細書に記載される結合部分、またはこれらの組み合わせにコンジュゲートする。いくつかの例では、ポリマー部分Cはポリ核酸分子にコンジュゲートされる。場合によっては、ポリマー部分Cは結合部分にコンジュゲートされる。他の場合には、ポリマー部分Cはポリ核酸分子-結合部分分子にコンジュゲートされる。さらなる場合には、ポリマー部分Cは、治療用分子プラットフォームの段落で議論されたとおりにコンジュゲートされる。

【0203】

いくつかの例では、ポリマー部分Cは分岐または非分岐モノマーの長鎖、および／または、二次元または三次元のモノマーの架橋したネットワークからなる、天然または合成のポリマーである。いくつかの例では、ポリマー部分Cは多糖、リグニン、ゴム、またはポリアルキレンオキシド（例えば、ポリエチレングリコール）を含む。いくつかの例では、少なくとも1つのポリマー部分Cとしては、限定されないが、アルファージヒドロキシルポリエチレングリコール、オメガージヒドロキシルポリエチレングリコール、生物分解性ラクトンベースのポリマー、例えば、ポリアクリル酸、ポリラクチド酸（PLA）、ポリ（グリコール酸）（PGA）、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリオレフィン、ポリアミド、ポリシアノアクリレート、ポリイミド、ポリエチレンテレフタレート（PET、PETG）、ポリエチレンテレフタレート（PETE）、ポリテトラメチレングリコール（PTG）、またはポリウレタン、およびこれらの混合物が挙げられる。本明細書で使用されるように、混合物は、ブロックコポリマーに関連する場合と同様に、同じ化合物内の様々なポリマーの使用を指す。場合によっては、ブロックコポリマーは、ポリマーの少なくとも1つの部分が別のポリマーのモノマーから構築されるポリマーである。いくつかの例では、ポリマー部分Cはポリアルキレンオキシドを含む。いくつかの例では、ポリマー部分CはPEGを含む。いくつかの例では、ポリマー部分Cはポリエチレンイミド（PEI）またはヒドロキシエチルデンプン（HES）を含む。

【0204】

いくつかの例では、CはPEG部分である。いくつかの例では、PEG部分はポリ核酸分子の5'末端にコンジュゲートするが、結合部分はポリ核酸分子の3'末端にコンジュゲートする。いくつかの例では、PEG部分はポリ核酸分子の3'末端にコンジュゲートするが、結合部分はポリ核酸分子の5'末端にコンジュゲートする。いくつかの例では、PEG部分はポリ核酸分子の内部部位にコンジュゲートする。いくつかの例では、PEG部分、結合部分、またはその組み合わせは、ポリ核酸分子の内部部位にコンジュゲートする。いくつかの例では、コンジュゲーションは直接コンジュゲーションである。いくつかの例では、コンジュゲーションは天然のライゲーションを介するものである。

【0205】

いくつかの実施形態では、ポリアルキレンオキシド（例えば、PEG）は多分散または単分散の化合物である。いくつかの例では、多分散材料は、平均重量（重量平均）サイズおよび分散度を特徴とする、異なる分子量の材料の分散分布を含む。いくつかの例では、単分散PEGは1つのサイズの分子を含む。いくつかの実施形態では、Cは多分散または単分散のポリアルキレンオキシド（例えば、PEG）であり、示された分子量は、ポリアルキレンオキシド、例えば、PEG分子の分子量の平均を表す。

【0206】

いくつかの実施形態では、ポリアルキレンオキシド（例えば、PEG）の分子量は、約

200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1450、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、3000、3250、3350、3500、3750、4000、4250、4500、4600、4750、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、10,000、12,000、20,000、35,000、40,000、50,000、60,000、または100,000 Daである。

【0207】

いくつかの実施形態では、Cはポリアルキレンオキシド（例えば、PEG）であり、約200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1450、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、3000、3250、3350、3500、3750、4000、4250、4500、4600、4750、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、10,000、12,000、20,000、35,000、40,000、50,000、60,000、または100,000 Daの分子量を有する。いくつかの実施形態では、CはPEGであり、約200、300、400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200、1300、1400、1450、1500、1600、1700、1800、1900、2000、2100、2200、2300、2400、2500、2600、2700、2800、2900、3000、3250、3350、3500、3750、4000、4250、4500、4600、4750、5000、5500、6000、6500、7000、7500、8000、10,000、12,000、20,000、35,000、40,000、50,000、60,000、または100,000 Daの分子量を有する。いくつかの例では、Cの分子量は約200 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約300 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約400 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約500 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約600 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約700 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約800 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約900 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1100 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1200 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1300 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1400 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1450 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1500 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1600 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1700 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1800 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約1900 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2100 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2200 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2300 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2400 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2500 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2600 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2700 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2800 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約2900 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約3000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約3250 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約3350 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約3500 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約3750 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約4000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約4250 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約4500 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約4600 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約4750 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約5000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約5500 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約6000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約6500 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約7000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約7500 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約8000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約10,000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約12,000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約20,000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約35,000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約40,000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約50,000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約60,000 Daである。いくつかの例では、Cの分子量は約100,000 Daである。

10

20

30

40

50

は約 4 7 5 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 5 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 5 5 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 6 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 6 5 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 7 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 7 5 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 8 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 1 0 , 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 1 2 , 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 2 0 , 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 3 5 , 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 4 0 , 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 5 0 , 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 6 0 , 0 0 0 D a である。いくつかの例では、C の分子量は約 1 0 0 , 0 0 0 D a である。

10

【0208】

いくつかの実施形態では、ポリアルキレンオキシド（例えば、P E G）は、分散 P E G であり、分散 P E G は、1 を超える反復エチレンオキシド単位を含むポリマー P E G である。いくつかの例では、分散 P E G（d P E G）は、2 ~ 6 0、2 ~ 5 0、または 2 ~ 4 8 の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は、約 2、3、4、5、6、7、8、9、1 0、1 1、1 2、1 3、1 4、1 5、1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、2 2、2 4、2 6、2 8、3 0、3 5、4 0、4 2、4 8、5 0、またはそれ以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 2 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 3 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 4 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 5 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 6 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 7 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 8 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 9 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 0 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 1 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 2 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 3 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 4 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 5 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 6 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 7 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 8 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 1 9 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 2 0 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 2 2 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 2 4 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 2 6 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 2 8 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 3 0 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 3 5 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 4 0 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 4 2 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 4 8 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。いくつかの例では、d P E G は約 5 0 以上の反復エチレンオキシド単位を含む。場合によっては、d P E G は、純粋な（例えば、約 9 5 %、9 8 %、9 9 %、または 9 9 . 5 %）出発物質から単一分子量化合物として段階的に合成される。場合によっては、d P E G は、平均分子量ではなく、特定の分子量を有する。場合によっては、本明細書に記載される d P E G は、Q u a n t a B i o d e s i g n , L M D の d P E G である。

20

30

40

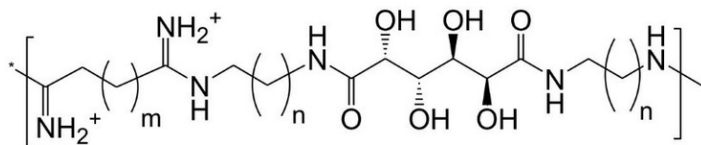
【0209】

50

いくつかの実施形態では、ポリマー部分Cは、カチオン性ムチン酸ベースのポリマー（cMAP）を含む。いくつかの例では、cMAPは、少なくとも1つの反復サブユニットの1つ以上のサブユニットを含み、サブユニット構造は式（III）として表され、

【0210】

【化28】



式 III

10

式中、mは独立して、各出現時、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10、好ましくは、4-6、あるいは5であり、および、nはそれぞれ独立して、各出現時、1、2、3、4、または5である。いくつかの実施形態では、mとnは、例えば、約10である。

【0211】

いくつかの例では、cMAPはさらにPEG部分にコンジュゲートし、cMAP-PEGコポリマー、mPEG-cMAP-PEGmトリブロックポリマー、またはcMAP-PEG-cMAPトリブロックポリマーを生成する。いくつかの例では、PEG部分は約500Da～約50,000Daの範囲である。いくつかの例では、PEG部分は、約500Da～約1000Da、1000Da超～約5000Da、5000Da超～約10,000Da、10,000Da超～約25,000Da、25,000Da超～約50,000Da、またはこれらの範囲の2つ以上の任意の組み合わせの範囲である。

20

【0212】

いくつかの例では、ポリマー部分Cは、cMAP-PEGコポリマー、mPEG-cMAP-PEGmトリブロックポリマー、またはcMAP-PEG-cMAPトリブロックポリマーである。場合によっては、ポリマー部分CはcMAP-PEGコポリマーである。他の場合には、ポリマー部分CはmPEG-cMAP-PEGmトリブロックポリマーである。さらなる場合には、ポリマー部分CはcMAP-PEG-cMAPトリブロックポリマーである。

30

【0213】

エンドソーム溶解性または細胞膜貫通部分

いくつかの実施形態では、式（Xa）：A-X₁-B'-X₂-Cの分子はさらに、付加的なコンジュゲート部分を含む。いくつかの例では、追加のコンジュゲート部分は、エンドソーム溶解性部分および／または細胞膜貫通部分である。場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、細胞区画放出成分、例えば、エンドソーム、リソソーム、小胞体（ER）、ゴルジ体、微小管、ペルオキシソーム、または細胞を有する他の小胞体などの、当該技術分野で知られている細胞区画のいずれかから放出することができる化合物である。場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、エンドソーム溶解性ポリペプチド、エンドソーム溶解性ポリマー、エンドソーム溶解性脂質、またはエンドソーム溶解性小分子を含む。場合によっては、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリペプチドを含む。他の場合では、エンドソーム溶解性部分はエンドソーム溶解性ポリマーを含む。場合によっては、細胞膜貫通部分は、細胞透過性ペプチド（CPP）を含む。他の場合には、細胞膜貫通部分は、細胞透過性脂質を含む。他の場合には、細胞膜貫通部分は、細胞透過性小分子を含む。

40

【0214】

エンドソーム溶解性ポリペプチドおよび細胞膜貫通ポリペプチド

いくつかの実施形態では、式（Xa）：A-X₁-B-X₂-Cの分子は、エンドソーム

50

ム溶解性ポリペプチドとさらにコンジュゲートする。場合によっては、エンドソーム溶解性ポリペプチドはpH依存性膜活性ペプチドである。場合によっては、エンドソーム溶解性ポリペプチドは両親媒性ポリペプチドである。さらなる場合には、エンドソーム溶解性ポリペプチドはペプチド模倣薬である。いくつかの例では、エンドソーム溶解性ポリペプチドは、INF、メリチン、ムチン (meuc in)、またはそのそれぞれの誘導体を含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性ポリペプチドは、INFまたはその誘導体を含む。他の場合には、エンドソーム溶解性ポリペプチドは、メリチンまたはその誘導体を含む。さらなる場合には、エンドソーム溶解性ポリペプチドは、ムチンまたはその誘導体を含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性ポリペプチドは、Pep-1 (Simian Virus 40 ラージ抗原および HIV の逆転写酵素からの NLS に由来する)、Pvec (VE-カドヘリンに由来する)、VT5 (合成ペプチドに由来する)、C105Y (1-アンチトリプシンに由来する)、トランスポーター (ガラニンとマストパランに由来する)、TP10 (ガラニンとマストパランに由来する)、MPG (HIV gp41 と SV40 T 抗原の NLS の融合配列の疎水性ドメインに由来する)、GH625 (HSV I 型の糖タンパク質 gH に由来する)、CADY (PPTG1 ペプチド)、GALA (合成ペプチド)、INF (インフルエンザ HA2 融合ペプチド)、HA2E5-TAT (インフルエンザウイルス X31 株融合ペプチドのインフルエンザ HA2 サブユニット)、HA2-ペネトラチン (インフルエンザウイルス X31 株融合ペプチドのインフルエンザ HA2 サブユニット)、HA-K4 (インフルエンザウイルス X31 株融合ペプチド HA2 サブユニット)、HA2E4 (インフルエンザウイルス X31 株融合ペプチド HA2 サブユニット)、H5WYG (HA2 アナログ)、GALA-INF3-(PEG)6-NH (INF3 融合ペプチド)、または CM18-TAT11 (セクロピン A-メリトチン 2-12 (CM18) 融合ペプチド) を含む。

【0215】

場合によっては、エンドソーム溶解性部分は、Bcl-2 および／または Bcl-xL などの抑制因子標的の拮抗を介してアポトーシスを誘発する Bak BH3 ポリペプチドを含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、Albarran, et al., "Efficient intracellular delivery of a pro-apoptotic peptide with a pH-responsive carrier," Reactive & Functional Polymers 71: 261-265 (2011) に記載される Bak BH3 ポリペプチドを含む。

【0216】

いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、PCT 国際公開第 WO2013/166155 号または第 WO2015/069587 号に記載されるようなポリペプチド (例えば、細胞透過性ポリペプチド) を含む。

【0217】

エンドソーム溶解性脂質

いくつかの実施形態では、エンドソーム溶解性部分は脂質 (例えば、融合性脂質) である。いくつかの実施形態では、式 (Xa) : $A-X_1-B'-X_2-C$ の分子はさらに、エンドソーム溶解性脂質 (例えば、融合性脂質) にコンジュゲートする。例示的な融合性脂質は、1,2-ジレオイル (dileoyl)-sn-3-ホスホエタノールアミン (DOPE)、ホスファチジルエタノールアミン (POPE)、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン (POPC)、(6Z, 9Z, 28Z, 31Z)-ヘプタトリアコンタ-6, 9, 28, 31-テトラエン-19-オール (Di-Lin)、N-メチル (2,2-ジ ((9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエニル)-1,3-ジオキソラン-4-イル) メタンアミン (DLin-k-DMA)、および N-メチル-2- (2,2-ジ ((9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエニル)-1,3-ジオキソラン-4-イル) エタンアミン (XTC) を含む。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、PCT 公開公報第 WO09/126,933 号に記載される脂質 (例えば、融合性脂質) である。

【0218】

エンドソーム溶解性小分子

いくつかの実施形態では、エンドソーム溶解性部分は小分子である。いくつかの実施形態では、式 (Xa) : $A-X_1-B'-X_2-C$ の分子はさらに、エンドソーム溶解性小分子にコンジュゲートされる。エンドソーム溶解性部分として適切な例示的な小分子としては、限定されないが、キニーネ、クロロキン、水酸化クロロキン、アモジアキン (カルノキン (carnoquines))、アモピロキン、プリマキン、メフロキン、ニバキン (nivaquines)、ハロファントリン、キノンイミン、またはそれらの組み合わせが挙げられる。いくつかの例では、キノリンエンドソーム溶解性部分としては、限定されないが、7-クロロ-4-(4-ジエチルアミノ-1-メチルブチル-アミノ)キノリン (クロロキン)、7-クロロ-4-(4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-メチルブチル-アミノ)キノリン (ヒドロキシクロロキン)、7-フルオロ-4-(4-ジエチルアミノ-1-メチルブチル-アミノ)キノリン、4-(4-ジエチルアミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、7-ヒドロキシ-4-(4-ジエチル-アミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、7-クロロ-4-(4-ジエチルアミノ-1-ブチルアミノ)キノリン (デスメチルクロロキン)、7-フルオロ-4-(4-ジエチルアミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、4-(4-ジエチル-アミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、7-ヒドロキシ-4-(4-ジエチルアミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、7-クロロ-4-(1-カルボキシ-4-ジエチルアミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、7-フルオロ-4-(1-カルボキシ-4-ジエチル-アミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、4-(1-カルボキシ-4-ジエチルアミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、7-ヒドロキシ-4-(1-カルボキシ-4-ジエチルアミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、7-クロロ-4-(1-カルボキシ-4-ジエチルアミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、7-フルオロ-4-(1-カルボキシ-4-ジエチル-アミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、4-(1-カルボキシ-4-ジエチルアミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、7-ヒドロキシ-4-(1-カルボキシ-4-ジエチルアミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、7-フルオロ-4-(4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、4-(4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、7-ヒドロキシ-4-(4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、ヒドロキシクロロキンホスフェート、7-クロロ-4-(4-エチル-(2-ヒドロキシエチル-1)-アミノ-1-ブチルアミノ)キノリン (デスメチルヒドロキシクロロキン)、7-フルオロ-4-(4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、4-(4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、7-ヒドロキシ-4-(4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、7-クロロ-4-(1-カルボキシ-4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、7-フルオロ-4-(1-カルボキシ-4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、4-(1-カルボキシ-4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-ブチルアミノ)キノリン、7-ヒドロキシ-4-(1-カルボキシ-4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、7-フルオロ-4-(1-カルボキシ-4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、4-(1-カルボキシ-4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、7-ヒドロキシ-4-(1-カルボキシ-4-エチル-(2-ヒドロキシエチル)-アミノ-1-メチルブチルアミノ)キノリン、8-[(4-アミノペンチル) アミノ-6-メトキシジヒドロクロリドキノリン、1-アセチル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロキノリン、8-[(4-アミノペンチル) アミノ]-6-メトキシキノリンジヒドロクロリド、1-ブチリル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロキノリン、3-クロロ-4-(4-ヒドロキシ

10

20

30

40

50

α , α' -ビス(2-メチル-1-ピロリジニル)-2, 5-キシリジノキノリン、4-[(4-ジエチル-アミノ)-1-メチルブチル-アミノ]-6-メトキシキノリン、3-フルオロ-4-(4-ヒドロキシ- α , α' -ビス(2-メチル-1-ピロリジニル)-2, 5-キシリジノキノリン、4-[(4-ジエチルアミノ)-1-メチルブチル-アミノ]-6-メトキシキノリン、4-(4-ヒドロキシ- α , α' -ビス(2-メチル-1-ピロリジニル)-2, 5-キシリジノキノリン、4-[(4-ジエチルアミノ)-1-メチルブチル-アミノ]-6-メトキシキノリン、3, 4-ジヒドロ-1-(2H)-キノリンカルボキシアルデヒド、1, 1'-ペンタメチレンキノリニウムジヨージド、8-硫酸キノリノール、およびそのアミノ、アルデヒド、カルボン酸、ヒドロキシル、ハロゲン、ケト、スルフヒドリル、ならびにビニル誘導体またはアナログが挙げられる。いくつかの例では、エンドソーム溶解性部分は、Na is b i t t e t a l (1997, J P h a r m a c o l E x p T h e r a p y 280:884-893) および米国特許第5, 736, 557号に記載される小分子である。

10

細胞透過性ポリペプチド(CPP)

いくつかの実施形態では、細胞透過性ポリペプチドは、5~30個のアミノ酸を有する正電荷の短いペプチドを含む。いくつかの実施形態では、細胞透過性ポリペプチドは、アルギニンまたはリジンリッチのアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、細胞透過性ポリペプチドは、アンテナペディアペネトラチン(Antennapedia Penetratin)(43-58)、HIV-1 TATタンパク質(48-60)、pVECカドヘリン(615-632)、トランスポータンガラニン/マストパラン、MPGHIV-gp41/SV40 T-抗原、Pep-1 HIV-逆転写酵素/SV40 T-抗原、ポリアルギニン、MAP、R6W3、NLS、8-リジン、ARF(1-22)、およびアズリン-p28を含む、任意のポリペプチドまたはその組み合わせを含む。

20

【0219】

リンカー

いくつかの実施形態では、本明細書に記載されるリンカーは、切断可能なリンカーまたは切断不可能なリンカーである。いくつかの例では、リンカーは切断可能なリンカーである。いくつかの例では、リンカーは酸切断可能なリンカーである。いくつかの例では、リンカーは切断不可能なリンカーである。いくつかの例では、リンカーはC₁-C₆アルキル基(例えば、C₅、C₄、C₃、C₂、またはC₁アルキル基)を含む。いくつかの例では、リンカーはホモ二官能性架橋リンカー、ヘテロ二官能性架橋リンカーなどを含む。いくつかの例では、リンカーはトレースレスリンカー(または、長さがゼロのリンカー)である。いくつかの例では、リンカーは非ポリマーリンカーである。場合によっては、リンカーは非ペプチドリンカーまたはアミノ酸残基を含まないリンカーである。

30

【0220】

いくつかの例では、リンカーはホモ二官能性リンカーを含む。例示的なホモ二官能性リンカーは、限定されないが、L o m a n tの試薬ジチオビス(スクシンイミジルプロピオネート)DSP、3'3'-ジチオビス(スルホスクシンイミジルプロピオネート(DTSSP)、ジスクシンイミジルスベレート(DSS)、ビス(スルホスクシンイミジル)スベレート(BS)、ジスクシンイミジルタルトレート(DST)、ジスルホスクシンイミジルタルトレート(スルホDST)、エチレングリコビス(スクシンイミジルスクシネート)(EGS)、ジスクシンイミジルグルタレート(DSG)、N,N'-ジスクシンイミジルカルボネート(DSC)、ジメチルアジピミデート(DMA)、ジメチルピメリミデート(DMP)、ジメチルスベリミデート(DMS)、ジメチル-3,3'-ジチオビスプロピオンイミデート(DTBP)、1,4-ジ-3'-(2'-ピリジルジチオ)プロピオンアミド)ブタン(DPDPB)、ビスマレイミドヘキサン(BMH)、ハロゲン化アリール含有化合物(DFDNB)、例えば、1,5-ジフルオロ-2,4-ジニトロベンゼンまたは1,3-ジフルオロ-4,6-ジニトロベンゼン、4,4'-ジフルオロ-3,3'-ジニトロフェニルスルホン(DFDNPS)、ビス-[β -(4-アジドサリチルアミド)エチル]ジスルフィド(BASED)、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、

40

50

1, 4-ブタンジオールジグリシジルエーテル、アジピン酸ジヒドラジド、カルボヒドラジド、o-トルイジン、3, 3'-ジメチルベンジジン、ベンジジン、 α , α' -p-ジアミノジフェニル、ジヨード-p-キシレンスルホン酸、N, N'-エチレンビス(ヨードアセトアミド)、または、N, N'-ヘキサメチレンビス(ヨードアセトアミド)を含む。

【0221】

いくつかの実施形態では、リンカーはヘテロ二官能性リンカーを含む。例示的なヘテロ二官能性リンカーとしては、限定されないが、アミン反応性およびスルフヒドリル架橋リンカー、例えば、N-スクシンイミジル 3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(sPDP)、長鎖N-スクシンイミジル 3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(LC-sPDP)、水溶性の長鎖N-スクシンイミジル 3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(スルホ-LC-sPDP)、スクシンイミジルオキシカルボニル- α -メチル- α -(2-ピリジルジチオ)トルエン(sMPT)、スルホスクシンイミジル-6-[α -メチル- α -(2-ピリジルジチオ)トルアミド]ヘキサノエート(スルホ-LC-sMPT)、スクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサノ-1-カルボキシレート(sMCC)、スルホスクシンイミジル-4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサノ-1-カルボキシレート(スルホ-sMCC)、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスクシンイミドエステル(MBs)、m-マレイミドベンゾイル-N-ヒドロキシスルホスクシンイミドエステル(スルホ-MB)、N-スクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート(sIAB)、スルホスクシンイミジル(4-ヨードアセチル)アミノベンゾエート(スルホ-sIAB)、スクシンイミジル-4-(p-マレイミドフェニル)ブチレート(sMPB)、スルホスクシンイミジル-4-(p-マレイミドフェニル)ブチレート(スルホ-sMPB)、N-(γ -マレイミドブチルオキシ)スクシンイミドエステル(GMB)、N-(γ -マレイミドブチルオキシ)スルホスクシンイミドエステル(スルホ-GMB)、スクシンイミジル 6-((ヨードアセチル)アミノ)ヘキサノエート(sIAX)、スクシンイミジル 6-((ヨードアセチル)アミノ)ヘキサノイルアミノ]ヘキサノエート(sIAXX)、スクシンイミジル 4-((ヨードアセチル)アミノ)メチルシクロヘキサノ-1-カルボキシレート(sIAC)、スクシンイミジル 6-(((4-ヨードアセチル)アミノ)メチル)シクロヘキサノ-1-カルボニルアミノ]ヘキサノエート(sIACX)、p-ニトロフェニルヨードアセテート(NPIA)、カルボニル反応性およびスルフヒドリル反応性の架橋リンカー、例えば、4-(4-N-マレイミドフェニル)酪酸ヒドラジド(MPBH)、4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサノ-1-カルボキシルヒドラジド-8(M2C2H)、3-(2-ピリジルジチオ)プロピオニルヒドラジド(PDPH)、アミン反応性および光反応性の架橋リンカー、例えば、N-ヒドロキシスクシンイミジル-4-アジドサリチル酸(NH-AsA)、N-ヒドロキシスルホスクシンイミジル-4-アジドサリチル酸(スルホ-NH-AsA)、スルホスクシンイミジル(4-アジドサリチルアミド)ヘキサノエート(スルホ-NH-LC-AsA)、スルホスクシンイミジル-2-(p-アジドサリチルアミド)エチル-1, 3'-ジチオプロピオネート(sAsD)、N-ヒドロキシスクシンイミジル-4-アジドベンゾエート(HsAB)、N-ヒドロキシスルホスクシンイミジル-4-アジドベンゾエート(スルホ-HsAB)、N-スクシンイミジル-6-(4'-アジド-2'-ニトロフェニルアミノ)ヘキサノエート(sANPAH)、スルホスクシンイミジル-6-(4'-アジド-2'-ニトロフェニルアミノ)ヘキサノエート(スルホ-sANPAH)、N-5-アジド-2-ニトロベンゾイルオキシスクシンイミド(ANB-NOs)、スルホスクシンイミジル-2-(m-アジド-o-ニトロベンズアミド)-エチル-1, 3'-ジチオプロピオネート(sAND)、N-スクシンイミジル-4-(4-アジドフェニル)1, 3'-ジチオプロピオネート(sADP)、N-スルホスクシンイミジル(4-アジドフェニル)-1, 3'-ジチオプロピオネート(スルホ-sADP)、スルホスクシンイミジル 4-(p-アジドフェニル)ブチレート(スルホ-sAPB)、スルホスクシンイミジル 2-(7

10

20

30

40

50

ーアジドー4ーメチルクマリンー3ーアセトアミド)エチルー1,3'ージチオプロピオネート(sAED)、スルホスクシンイミジル7ーアジドー4ーメチルクマリンー3ーアセテート(スルホー sAMCA)、pーニトロフェニルジアゾビルベート(pNPDP)、pーニトロフェニルー2ージアゾー3,3,3ートリフルオロプロピオネート(PNP-DTP)、スルフヒドリル反応性および光反応性の架橋リンカー、例えば、1ー(pーアジドサリチルアミド)ー4ー(ヨードアセトアミド)ブタン(AsIB)、Nー[4ー(pーアジドサリチルアミド)ブチル]ー3'ー(2'ーピリジルジチオ)プロピオンアミド(APDP)、ベンゾフェノンー4ーヨードアセトアミド、ベンゾフェノンー4ーマレイミドカルボニル反応性および光反応性の架橋リンカー、例えば、pーアジドベンゾイルヒドラジド(ABH)、カルボキシレート反応性および光反応性の架橋リンカー、例えば、4ー(pーアジドサリチルアミド)ブチルアミン(AsBA)、ならびにアルギニン反応性および光反応性の架橋リンカー、例えば、pーアジドフェニルグリオキサール(APG)が挙げられる。

【0222】

いくつかの例では、リンカーは反応性官能基を含む。場合によっては、反応性官能基は、結合部分に存在する求電子基に反応性の求核基を含む。例示的な求電子基は、アルデヒド、ケトン、カルボン酸、エステル、アミド、エノン、ハロゲン化アシル、または酸無水物などのカルボニル基を含む。いくつかの実施形態では、反応性官能基はアルデヒドである。例示的な求核基は、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート、およびアリールヒドラジドを含む。

【0223】

いくつかの実施形態では、リンカーはマレイミド基を含む。いくつかの例では、マレイミド基はマレイミドスパーサーとも呼ばれる。いくつかの例では、マレイミド基はカプロン酸をさらに包含し、マレイミドカプロイル(mc)を形成する。場合によっては、リンカーはマレイミドカプロイル(mc)を含む。場合によっては、リンカーはマレイミドカプロイル(mc)である。他の例では、マレイミド基は、上に記載されたスクシンイミジルー4ー(Nーマレイミドメチル)シクロヘキサンー1ーカルボキシレート(sMCC)またはスルホスクシンイミジルー4ー(Nーマレイミドメチル)シクロヘキサンー1ーカルボキシレート(スルホー sMCC)などのマレイミドメチル基を含む。

【0224】

いくつかの実施形態では、マレイミド基は自己安定化マレイミドである。いくつかの例では、自己安定化マレイミドは、チオスクシンイミド環加水分解の分子内の触媒作用をもたらすために、マレイミドに隣接する塩基性アミノ基を取り込むべくジアミノプロピオン酸(DPR)を利用し、それによって、マレイミドがレトロマイケル反応による脱離反応を経験することのないようにする。いくつかの例では、自己安定化マレイミドは、Lyon, et al., "Self-hydrolyzing maleimides improve the stability and pharmacological properties of antibody-drug conjugates," Nat. Biotechnol. 32(10):1059-1062(2014)に記載されるマレイミド基である。いくつかの例では、リンカーは自己安定化マレイミドを含む。いくつかの例では、リンカーは自己安定化マレイミドである。

【0225】

いくつかの実施形態では、リンカーはペプチド部分を含む。いくつかの例では、ペプチドは少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ以上のアミノ酸残基を含む。いくつかの例では、ペプチド部分は、切断可能なペプチド部分(例えば、酵素的または化学的に)である。いくつかの例では、ペプチド部分は切断不可能なペプチド部分である。いくつかの例では、ペプチド部分は、Val-Cit(バリンーシトルリン)、Gly-Gly-Phe-Gly(配列番号14223)、Phe-Lys、Val-Lys、Gly-Phe-Lys、Phe-Phe-Lys、Ala-Lys、Val-Arg、Phe-Cit、Phe-Arg、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、

Phe-Ala、Ala-Leu-Ala-Leu（配列番号14224）、またはGly-Phe-Leu-Gly（配列番号14225）を含む。いくつかの例では、リンカーは、Val-Cit（バリン-シトルリン）、Gly-Gly-Phe-Gly（配列番号14223）、Phe-Lys、Val-Lys、Gly-Phe-Lys、Phe-Phe-Lys、Ala-Lys、Val-Arg、Phe-Cit、Phe-Arg、Leu-Cit、Ile-Cit、Trp-Cit、Phe-Ala、Ala-Leu-Ala-Leu（配列番号14224）、またはGly-Phe-Leu-Gly（配列番号14225）などのペプチド部分を含む。場合によっては、リンカーはVal-Citを含む。場合によっては、リンカーはVal-Citである。

【0226】

いくつかの実施形態において、リンカーは安息香酸基またはその誘導体を含む。いくつかの例では、安息香酸基またはその誘導体はパラアミノ安息香酸（PABA）を含む。いくつかの例では、安息香酸基またはその誘導体はγ-アミノ酪酸（GABA）を含む。

【0227】

いくつかの実施形態では、リンカーは、任意の組み合わせで、マレイミド基、ペプチド部分、および／または、安息香酸基の1つ以上を含む。いくつかの実施形態では、リンカーは、マレイミド基、ペプチド部分、および／または、安息香酸基の組み合わせを含む。いくつかの例では、マレイミド基はマレイミドカプロイル（mc）である。いくつかの例では、ペプチド基はval-citである。いくつかの例では、安息香酸基はPABAである。いくつかの例では、リンカーはmc-val-cit基を含む。場合によっては、リンカーはval-cit-PABA基を含む。さらなる場合には、リンカーはmc-val-cit-PABA基を含む。

【0228】

いくつかの実施形態では、リンカーは自壊性リンカーあるいは自己脱離リンカーである。場合によっては、リンカーは自壊性リンカーである。他の場合には、リンカーは自己脱離リンカー（例えば、環化自己脱離リンカー）である。いくつかの例では、リンカーは、米国特許第9,089,614号またはPCT公開第WO2015038426号に記載されるリンカーを含む。

【0229】

いくつかの実施形態では、リンカーは樹状型リンカーである。いくつかの例では、樹状型リンカーは分岐した多機能リンカー部分を含む。いくつかの例では、樹状型リンカーは、ポリヌクレオチドB対結合部分Aのモル比を増加させるために使用される。いくつかの例では、樹状型リンカーはPAMAMデンドリマーを含む。

【0230】

いくつかの実施形態では、リンカーは、トレースレスリンカー、または、切断後にリンカー部分（例えば、原子あるいはリンカー基）を結合部分A、ポリヌクレオチドB、ポリマーC、またはエンドソーム溶解性部分Dに残さないリンカーである。例示的なトレースレスリンカーとしては、限定されないが、ゲルマニウムリンカー、ケイ素リンカー（selenium linker）、硫黄リンカー、セレンリンカー、窒素リンカー、リンリンカー、ホウ素リンカー、クロムリンカー、あるいはフェニルヒドラジドリンカーが挙げられる。場合によっては、リンカーは、Hejlesen, et al., "A traceless aryl-triazene linker for DNA-directed chemistry," Org Biomol Chem 11 (15): 2493-2497 (2013)に記載されるトレースレスアリアルートリアゼンリンカーである。いくつかの例では、リンカーは、Blaney, et al., "Traceless solid-phase organic synthesis," Chem. Rev. 102: 2607-2024 (2002)に記載されるトレースレスリンカーである。いくつかの例では、リンカーは、米国特許第6,821,783号に記載されるトレースレスリンカーである。

【0231】

いくつかの例では、リンカーは、リンカーと、コンジュゲート部分（例えば、本明細書に記載されるA、B、C、あるいはD）との間の結合部位で、立体障害（steric hindrance）を発現する（exerts）官能基を含む。いくつかの例では、立体障害はジスルフィド結合のまわりの立体障害である。立体障害を示す例示的なリンカーは、上に記載されるヘテロ二官能性リンカーなどのヘテロ二官能性リンカーを含む。場合によっては、立体障害を示すリンカーはSMCCおよびSPDBを含む。

【0232】

いくつかの例では、リンカーは酸切断可能リンカーである。いくつかの例では、酸切断可能リンカーは、加水切断を受けやすいヒドラゾン結合を含む。場合によっては、酸切断可能リンカーは、チオマレイアミク酸（thiomaleamic acid）リンカーを含む。場合によっては、酸切断可能リンカーは、“Acid-cleavable thiomaleamic acid linker for homogeneous antibody-drug conjugation,” Chem. Commun. 49: 8187-8189 (2013)”に記載されるチオマレイアミク酸（thiomaleamic acid）リンカーである。

【0233】

いくつかの例では、リンカーは、米国特許第6,884,869号、第7,498,298号、第8,288,352号、第8,609,105号、または、第8,697,688号、米国特許公開第2014/0127239号、第2013/028919号、第2014/286970号、第2013/0309256号、第2015/037360号、または、第2014/0294851号、あるいは、PCT公開第WO2015057699号、第WO2014080251号、第WO2014197854号、第WO2014145090号、または、第WO2014177042号に記載されるリンカーである。

【0234】

いくつかの実施形態では、X、Y、およびLは独立して、単結合またはリンカーである。いくつかの例では、X、Y、およびLは独立して、単結合である。場合によっては、X、Y、およびLは独立して、リンカーである。

【0235】

いくつかの例では、Xは単結合またはリンカーである。いくつかの例では、Xは単結合である。いくつかの例では、Xはリンカーである。いくつかの例では、リンカーはC₁-C₆アルキル基である。場合によっては、Xは、例えば、C₅、C₄、C₃、C₂、またはC₁アルキル基などのC₁-C₆アルキル基である。場合によっては、C₁-C₆アルキル基は非置換のC₁-C₆アルキル基である。リンカーの文脈において、とりわけ、Xの文脈において使用される場合、アルキルは、最大で6つの炭素原子を含む飽和した直鎖または分岐鎖の炭化水素ラジカルを意味する。いくつかの例では、Xは非ポリマーリンカーである。いくつかの例では、Xは、上に記載されるホモ二官能性リンカーまたはヘテロ二官能性リンカーを含む。場合によっては、Xはヘテロ二官能性リンカーを含む。場合によっては、XはSMCCを含む。他の例では、Xは、C₁-C₆アルキル基に任意選択的にコンジュゲートしたヘテロ二官能性リンカーを含む。他の例では、Xは、C₁-C₆アルキル基に任意選択的にコンジュゲートしたSMCCを含む。いくつかの追加の例では、Xは、上に記載されたホモ二官能性リンカーまたはヘテロ二官能性リンカーを含まない。

【0236】

いくつかの例では、Yは単結合またはリンカーである。いくつかの例では、Yは単結合である。他の場合には、Yはリンカーである。いくつかの実施形態において、YはC₁-C₆アルキル基である。いくつかの例では、Yは上に記載されるホモ二官能性リンカーまたはヘテロ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Yは上に記載されるホモ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Yは上に記載されるヘテロ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Yは、上に記載されるマレイミドカプロイル（mc）などのマレイミド基、または自己安定化マレイミド基を含む。いくつかの例では、YはVal-Ci

10

20

30

40

50

tなどのペプチド部分を含む。いくつかの例では、YはPABAなどの安息香酸基を含む。さらなる例では、Yは、マレイミド基、ペプチド部分、および／または安息香酸基の組み合わせを含む。さらなる例では、Yはmc基を含む。さらなる例では、Yはmc-val-cit基を含む。さらなる例では、Yはval-cit-PABA基を含む。さらなる例では、Yはmc-val-cit-PABA基を含む。

【0237】

いくつかの例では、Lは単結合またはリンカーである。場合によっては、Lは単結合である。場合によっては、Lはリンカーである。いくつかの実施形態では、LはC₁-C₆アルキル基である。いくつかの例では、Lは上に記載されるホモ二官能性リンカーまたはヘテロ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Lは上に記載されるホモ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Lは上に記載されるヘテロ二官能性リンカーである。いくつかの例では、Lは、上に記載されるマレイミドカプロイル(mc)などのマレイミド基、または自己安定化マレイミド基を含む。いくつかの例では、LはVal-Citなどのペプチド部分を含む。いくつかの例では、LはPABAなどの安息香酸基を含む。さらなる例では、Lは、マレイミド基、ペプチド部分、および／または、安息香酸基の組み合わせを含む。さらなる例では、Lはmc基を含む。さらなる例では、Lはmc-val-cit基を含む。さらなる例では、Lはval-cit-PABA基を含む。さらなる例では、Lはmc-val-cit-PABA基を含む。

【0238】

使用方法

いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子にコンジュゲートした結合部分およびポリマーを含む、本明細書に記載される組成物あるいは医薬製剤は、疾患または障害の処置に使用される。いくつかの例では、疾患または障害は、筋肉ジストロフィー、筋萎縮症、および／または筋消耗である。筋肉ジストロフィーは、筋肉量の減少および／または筋肉の進行性の衰弱と変性を指す。場合によっては、筋肉量の減少および／または筋肉の進行性の衰弱と変性は、高いタンパク質分解率、低いタンパク質合成率、あるいはその両方の組み合わせによって生じる。場合によっては、高い筋タンパク質分解率は、筋タンパク質異化作用（つまり、糖新生のために基質としてアミノ酸を使用するための筋タンパク質の分解）が原因である。いくつかの例では、疾患または障害は癌である。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、疾患または障害の処置のための免疫療法として使用される。いくつかの例では、免疫療法は癌免疫療法である。

【0239】

癌

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、癌の処置に使用される。いくつかの例では、癌は固形腫瘍である。いくつかの例では、癌は血液悪性腫瘍である。いくつかの例では、癌は再発性あるいは難治性の癌、または転移性癌である。いくつかの例では、固形腫瘍は、再発性あるいは難治性の固形腫瘍、または転移性の固形腫瘍である。場合によっては、血液悪性腫瘍は、再発性あるいは難治性の血液悪性腫瘍、または転移性の血液悪性腫瘍である。

【0240】

いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、またはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、固形腫瘍の処置に使用される。いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、またはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、肛門癌、虫垂癌、胆管癌（すなわち、肝内胆管癌）、膀胱癌、脳腫瘍、乳癌、子宮頸癌、結腸癌、原発不明癌（CUP）、食道癌、眼癌、ファロピウス管癌、消化器癌、腎臓癌、肝臓癌、肺癌、髄芽腫、黒色腫、口腔癌、卵巣癌、膵臓癌、副甲状腺疾患、陰茎癌、下垂体腫瘍、前立腺癌、直腸癌、皮膚癌、胃癌、睾丸癌、喉頭癌、甲状腺癌、子宮癌、膣癌、または外陰癌の処置に使用される。いくつかの例では、固形腫瘍は、再発性あるいは難治性の固形腫瘍、または転移性の固形腫瘍である。

【0241】

いくつかの例では、癌は血液悪性腫瘍である。いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、またはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、血液悪性腫瘍の処置に使用される。いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、あるいはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、白血病、リンパ腫、骨髄腫、非ホジキンリンパ腫、あるいはホジキンリンパ腫の処置に使用される。いくつかの例では、血液悪性腫瘍は、慢性リンパ球性白血病（CLL）、小リンパ球性リンパ腫（SLL）、高リスクCLL、非CLL／SLLリンパ腫、前リンパ球性白血病（PLL）、濾胞性リンパ腫（FL）、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫（DLBCL）、マントル細胞リンパ腫（MCL）、ワルデンシュトレーム型マクログロブリン血症、多発性骨髄腫、結節外辺縁帯B細胞リンパ腫、結節性辺縁帯B細胞リンパ腫、バーキットリンパ腫、非バーキット高度B細胞リンパ腫、原発性縦隔洞B細胞リンパ腫（PMBL）、免疫芽細胞性大細胞型リンパ腫、前駆Bリンパ芽球性リンパ腫、B細胞前リンパ球性白血病、リンパ形質細胞性リンパ腫、脾臓周辺帯リンパ腫、形質細胞性骨髄腫、形質細胞腫、縦隔洞（胸腺）大細胞型B細胞リンパ腫、血管内大細胞型B細胞リンパ腫、原発性体腔性リンパ腫、またはリンパ腫様肉芽腫症を含む。場合によっては、血液悪性腫瘍は、再発性あるいは難治性の血液悪性腫瘍、または転移性の血液悪性腫瘍である。

10

【0242】

いくつかの例では、癌は、KRAS関連、EGFR関連、AR関連の癌、HPR T1関連癌、またはβ-カテニン関連癌である。いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、またはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、KRAS関連、EGFR関連、AR関連癌、HPR T1関連癌、またはβ-カテニン関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、またはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、KRAS関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、またはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、EGFR関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、またはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、AR関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、またはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、HPR T1関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、結合部分に任意選択的にコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、ポリマー、またはそれらの組み合わせを含む、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、β-カテニン関連癌の処置に使用される。いくつかの例では、癌は固形腫瘍である。いくつかの例では、癌は血液悪性腫瘍である。いくつかの例では、固形腫瘍は、再発性あるいは難治性の固形腫瘍、または転移性の固形腫瘍である。場合によっては、血液悪性腫瘍は、再発性あるいは難治性の血液悪性腫瘍、または転移性の血液悪性腫瘍である。いくつかの例では、癌は、膀胱癌、乳癌、大腸癌、子宮内膜癌、食道癌、多形神経膠芽腫、頭頸部癌、腎癌、肺癌、卵巣癌、膵臓癌、前立腺癌、甲状腺癌、急性骨髄性白血病、CLL、DLBCL、または多発性骨髄腫を含む。いくつかの例では、β-カテニン関連癌は、PIK3C関連癌および／またはMYC関連癌をさらに含む。

20

30

40

【0243】

免疫療法

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、疾患または障害の処置のための免疫療法として使用される。いくつかの例では、免疫療法は癌免疫療法である。いくつかの例では、癌免疫療法は、能動的、受動的、あるいは組み合わせ（能動的と受動的）の方法に分類される。能動癌免疫療法では、例えば、腫瘍関連抗原（TA

50

A) が免疫系に提示され、これらの T A A を提示する癌細胞への攻撃を引き起こす。いくつかの例では、能動癌免疫療法は、腫瘍標的化および／または免疫標的化剤（例えば、モノクローナル抗体などのチェックポイント阻害剤）、および／または、ワクチン、例えば、インサイチュのワクチン接種および／または細胞ベースあるいは非細胞ベース（例えば、樹状細胞ベース、腫瘍細胞ベース、抗原、抗イディオタイプ、DNA、あるいはベクターベース）のワクチンを含む。いくつかの例では、細胞ベースのワクチンは、患者自身の免疫系から得られ、その後、患者自身の癌によって活性化される、活性化免疫細胞を使用して生成されるワクチンである。いくつかの例では、能動癌免疫療法は、非特異的な能動免疫療法と特異的な能動免疫療法にさらに細分される。いくつかの例では、非特異的な能動免疫療法は、一般的な免疫系応答を誘発するために、サイトカインおよび／または他の細胞シグナル伝達成分を利用する。場合によっては、特異的な能動免疫療法は、免疫応答を誘発するために、特定の T A A を利用する。

【0244】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、疾患または障害（例えば、癌）の処置のための能動癌免疫療法として使用される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は腫瘍標的化剤を含む。いくつかの例では、腫瘍標的化剤は結合部分 A によって包含される。他の例では、腫瘍標的化剤は、式 (I) の分子と組み合わせて使用される追加の薬剤である。いくつかの例では、腫瘍標的化剤は、腫瘍指向性 (tumor-directed) ポリペプチド（例えば、腫瘍指向性抗体）である。いくつかの例では、腫瘍標的化剤は、直接殺傷（例えば、シグナル伝達誘導性アポトーシス）、補体依存細胞毒性 (CDC)、および／または抗体依存性細胞毒性 (ADCC) などのメカニズムによりその抗腫瘍活性を発揮する腫瘍指向性抗体である。さらなる例では、腫瘍標的化剤は、抗腫瘍 T 細胞の誘導を伴う、適応免疫反応を誘発する。

【0245】

いくつかの実施形態では、結合部分 A は、腫瘍指向性ポリペプチド（例えば、腫瘍指向性抗体）である。いくつかの例では、結合部分 A は、直接殺傷（例えば、シグナル伝達誘導性アポトーシス）、補体依存細胞毒性 (CDC)、および／または抗体依存性細胞毒性 (ADCC) などのメカニズムによりその抗腫瘍活性を発揮する腫瘍指向性抗体である。さらなる例では、結合部分 A は、抗腫瘍 T 細胞の誘導を伴う、適応免疫反応を誘発する。

【0246】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、免疫標的化剤を含む。いくつかの例では、免疫標的化剤は結合部分 A によって包含される。他の例では、免疫標的化剤は、式 (I) の分子と組み合わせて使用される追加の薬剤である。いくつかの例では、免疫標的化剤は、サイトカイン、チェックポイント阻害剤、またはそれらの組み合わせを含む。

【0247】

いくつかの実施形態では、免疫標的化剤はチェックポイント阻害剤である。場合によっては、免疫チェックポイント分子は、CD4 T 細胞および／または CD8 T 細胞の細胞表面上で提示される分子である。例示的な免疫チェックポイント分子としては、限定されないが、プログラム死リガンド 1 (PD-L1 (B7-H1、CD274 としても知られる))、プログラム死 1 (PD-1)、CTLA-4、B7H1、B7H4、OX-40、CD137、CD40、2B4、IDO1、IDO2、VISTA、CD27、CD28、PD-L2 (B7-DC、CD273)、LAG3、CD80、CD86、PDL2、B7H3、HVEM、BTLA、KIR、GAL9、TIM3、A2aR、MARCO (コラーゲン構造を有するマクロファージ受容体)、PS (ホスファチジルセリン)、ICOS (誘発性 T 細胞共刺激分子)、HAVCR2、CD276、VTCN1、CD70、および CD160 が挙げられる。

【0248】

いくつかの例では、免疫チェックポイント阻害剤は、免疫チェックポイント分子の活性を調節または阻害する任意の分子を指す。いくつかの例では、免疫チェックポイント阻害剤は、抗体、抗体誘導体（例えば、F A bフラグメント、s c F v、ミニボディ（minobodies）、ダイアボディ）、アンチセンスオリゴヌクレオチド、s i R N A、アプタマー、あるいはペプチドを含む。いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤は、プログラム死リガンド1（P D - L（B 7 - H 1、C D 2 7 4としても知られる））、プログラム死1（P D - 1）、C T L A - 4、P D - L 2（B 7 - D C、C D 2 7 3）、L A G 3、T I M 3、2 B 4、A 2 a R、B 7 H 1、B 7 H 3、B 7 H 4、B T L A、C D 2、C D 2 7、C D 2 8、C D 3 0、C D 4 0、C D 7 0、C D 8 0、C D 8 6、C D 1 3 7、C D 1 6 0、C D 2 2 6、C D 2 7 6、D R 3、G A L 9、G I T R、H A V C R 2、H V E M、I D O 1、I D O 2、I C O S（誘発性T細胞共刺激分子）、K I R、L A I R 1、L I G H T、M A R C O（コラーゲン構造を有するマクロファージ受容体）、P S（ホスファチジルセリン）、O X - 4 0、S L A M、T I G H T、V I S T A、V T C N 1、またはそれらの任意の組み合わせの阻害剤である。

【0249】

いくつかの実施形態では、例示的なチェックポイント阻害剤は以下ものを含む：

【0250】

P D - L 1 阻害剤、例えば、G e n e n t e c h の M P D L 3 2 8 0 A（R G 7 4 4 6）、B i o X c e l l の抗マウスP D - L 1 抗体クローン1 0 F . 9 G 2（C a t # B E 0 1 0 1）、B r i s t o l - M y e r s S q u i b b の抗P D - L 1 モノクローナル抗体M D X - 1 1 0 5（B M S - 9 3 6 5 5 9）とB M S - 9 3 5 5 5 9、M S B 0 0 1 0 7 1 8 C、マウス抗P D - L 1 クローン2 9 E . 2 A 3、およびA s t r a Z e n e c a の M E D I 4 7 3 6；

【0251】

P D - L 2 阻害剤、例えば、G l a x o S m i t h K l i n e の A M P - 2 2 4（A m p l i m m u n e）、およびr H I g M 1 2 B 7；

【0252】

P D - 1 阻害剤、例えば、B i o X c e l l の抗マウスP D - 1 抗体クローンJ 4 3（C a t # B E 0 0 3 3 - 2）、B i o X c e l l の抗マウスP D - 1 抗体クローンR M P 1 - 1 4（C a t # B E 0 1 4 6）、マウス抗P D - 1 抗体クローンE H 1 2、M e r c k の M K - 3 4 7 5 抗マウスP D - 1 抗体（キイトルーダ、ペンブロリズマブ、ランブロリズマブ）、A N B 0 1 1 として知られるA n a p t y s B i o の抗P D - 1 抗体、抗体M D X - 1 1 0 6（O N O - 4 5 3 8）、B r i s t o l - M y e r s S q u i b b のヒトI g G 4 モノクローナル抗体ニボルマブ（O p d i v o（登録商標）、B M S - 9 3 6 5 5 8、M D X 1 1 0 6）、A s t r a Z e n e c a の A M P - 5 1 4 と A M P - 2 2 4、およびC u r e T e c h L t d のピディリズマブ（C T - 0 1 1）；

【0253】

C T L A - 4 阻害剤、例えば、B r i s t o l M e y e r s S q u i b b の抗C T L A - 4 抗体イピリムマブ（Y e r v o y（登録商標）、M D X - 0 1 0、B M S - 7 3 4 0 1 6 およびM D X - 1 0 1 としても知られる）、抗C T L A 4 抗体、M i l l i p o r e のクローン9 H 1 0、P f i z e r のトレメリムマブ（C P - 6 7 5、2 0 6、チシリムマブ）、ならびにA b c a m の抗C T L A 4 抗体クローンB N I 3；

【0254】

L A G 3 阻害剤、例えば、e B i o s c i e n c e の抗L a g - 3 抗体クローンe B i o C 9 B 7 W（C 9 B 7 W）、L i f e S p a n B i o s c i e n c e s の抗L a g 3 抗体L S - B 2 2 3 7、I m m u t e p の I M P 3 2 1（I m m u F a c t）、抗L a g 3 抗体B M S - 9 8 6 0 1 6、およびL A G - 3 キメラ抗体A 9 H 1 2；

【0255】

B 7 - H 3 阻害剤、例えば、M G A 2 7 1；

【0256】

KIR阻害剤、例えば、Lirilumab (IPH2101) ;
【0257】

CD137 (41BB) 阻害剤、例えば、ウレルマブ (urelumab) (BMS-663513 Bristol-Myers Squibb)、PF-05082566 (抗4-1BB、PF-2566、Pfizer)、またはXmAb-5592 (Xencor) ;

【0258】

PS阻害剤、例えば、Bavituximab ; ならびに、阻害剤、例えば、抗体またはそのフラグメント (例えば、モノクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、あるいはキメラ抗体)、RNAi分子、またはTIM3、CD52、CD30、CD20、CD33、CD27、OX40 (CD134)、GITR、ICOS、BTLA (CD272)、CD160、2B4、LAIR1、TIGHT、LIGHT、DR3、CD226、CD2、あるいはSLAMに対する小分子。

【0259】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤を含む結合部分Aは、疾患または障害 (例えば、癌) の処置に使用される。いくつかの例では、結合部分Aは、免疫チェックポイント阻害剤を含む二重特異性抗体あるいはその結合フラグメントである。いくつかの例では、プログラム死-リガンド1 (PD-L1 (B7-H1、CD274としても知られる))、プログラム死1 (PD-1)、CTLA-4、PD-L2 (B7-DC、CD273)、LAG3、TIM3、2B4、A2aR、B7H1、B7H3、B7H4、BTLA、CD2、CD27、CD28、CD30、CD40、CD70、CD80、CD86、CD137、CD160、CD226、CD276、DR3、GAL9、GITR、HAVCR2、HVEM、IDO1、IDO2、ICOS (誘発性T細胞共刺激分子)、KIR、LAIR1、LIGHT、MARCO (コラーゲン構造を有するマクロファージ受容体)、PS (ホスファチジルセリン)、OX-40、SLAM、TIGHT、VISTA、VTCN1、またはそれらの任意の組み合わせの阻害剤を含む結合部分Aは、疾患または障害 (例えば、癌) の処置に使用される。

【0260】

いくつかの実施形態では、免疫チェックポイント阻害剤と組み合わせた式 (I) の分子は、疾患または障害 (例えば、癌) の処置に使用される。いくつかの例では、免疫チェックポイント阻害剤は、プログラム死-リガンド1 (PD-L1、さらにB7-H1、CD274として知られる)、プログラム死1 (PD-1)、CTLA-4、PD-L2 (B7-DC、CD273)、LAG3、TIM3、2B4、A2aR、B7H1、B7H3、B7H4、BTLA、CD2、CD27、CD28、CD30、CD40、CD70、CD80、CD86、CD137、CD160、CD226、CD276、DR3、GAL9、GITR、HAVCR2、HVEM、IDO1、IDO2、ICOS (誘発性T細胞共刺激分子)、KIR、LAIR1、LIGHT、MARCO (コラーゲン構造を有するマクロファージ受容体)、PS (ホスファチジルセリン)、OX-40、SLAM、TIGHT、VISTA、VTCN1、またはそれらの任意の組み合わせの阻害剤を含む。場合によっては、式 (I) の分子は、疾患または障害 (例えば、癌) の処置のために、イピリムマブ、トレメリムマブ、ニボルマブ、ペンブロリズマブ (pembrolizumab)、ピディリズマブ、MPDL3280A、MEDI4736、MSB0010718C、MK-3475、またはBMS-936559と組み合わせて使用される。

【0261】

いくつかの実施形態では、免疫標的化剤はサイトカインである。場合によっては、サイトカインは、ケモカイン、インターフェロン、インターロイキン、および腫瘍壊死因子へとさらにサブグループ化される。いくつかの実施形態では、ケモカインは、細胞の遊走を導く化学誘引剤としての役割を果たし、4つのサブファミリー、すなわち、CX3C、CX3C、CX3C、およびXCに分類される。例示的なケモカインとしては、CCサブファミリー：CCL1、CCL2 (MCP-1)、CCL3、CCL4、CCL5 (RANTES

10

20

30

40

50

)、CCL6、CCL7、CCL8、CCL9 (あるいは、CCL10)、CCL11、CCL12、CCL13、CCL14、CCL15、CCL16、CCL17、CCL18、CCL19、CCL20、CCL21、CCL22、CCL23、CCL24、CCL25、CCL26、CCL27、およびCCL28; CXCSサブファミリー: CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL4、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL12、CXCL13、CXCL14、CXCL15、CXCL16、およびCXCL17; XCサブファミリー: XCL1およびXCL2; ならびに、CX3CSサブファミリー; CX3CL1からのケモカインが挙げられる。

【0262】

インターフェロン (IFN) は、I型インターフェロン (例えば、IFN- α 、IFN- β 、IFN- ϵ 、IFN- κ 、およびIFN- ω)、II型インターフェロン (例えば、IFN- γ)、ならびにIII型インターフェロンを含む。いくつかの実施形態では、IFN- α は、IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17、およびIFNA21を含む、約13のサブタイプにさらに分類される。

【0263】

インターロイキンは、白血球または白血球細胞によって発現され、Tリンパ球およびBリンパ球ならびに造血細胞の発生と分化を促進する。例示的なインターロイキンとしては、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8 (CXCL8)、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL14、IL15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21、IL-22、IL-23、IL-24、IL-25、IL-26、IL-27、IL-28、IL-29、IL-30、IL-31、IL-32、IL-33、IL-35、およびIL-36が挙げられる。

【0264】

腫瘍壊死因子 (TNF) はアポトーシスを調節するサイトカインの群である。いくつかの例では、TNFファミリー内に約19のメンバーがあり、限定されないが、TNF α 、リンフォトキシン- α (LT- α)、リンフォトキシン- β (LT- β)、T細胞抗原 gp39 (CD40L)、CD27L、CD30L、FASL、4-1BBL、OX40L、およびTNF関連アポトーシス誘導リガンド (TRAIL) を含む。

【0265】

いくつかの実施形態では、サイトカインと組み合わせた式 (I) の分子が、疾患または障害 (例えば、癌) の処置に使用される。場合によっては、ケモカインと組み合わせた式 (I) の分子が、疾患または障害 (例えば、癌) の処置に使用される。場合によっては、インターフェロンと組み合わせた式 (I) の分子が、疾患または障害 (例えば、癌) の処置に使用される。場合によっては、インターロイキンと組み合わせた式 (I) の分子が、疾患または障害 (例えば、癌) の処置に使用される。場合によっては、腫瘍壊死因子と組み合わせた式 (I) の分子が、疾患または障害 (例えば癌) の処置に使用される。いくつかの例では、IL-1 β 、IL-2、IL-7、IL-8、IL15、MCP-1 (CCL2)、MIP-1 α 、RANTES、MCP-3、MIP5、CCL19、CCL21、CXCL2、CXCL9、CXCL10、またはCXCL11と組み合わせた式 (I) の分子が、疾患または障害 (例えば、癌) の処置に使用される。

【0266】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物または医薬製剤はワクチンを含む。いくつかの例では、ワクチンはインサイチュのワクチン接種である。いくつかの例では、ワクチンは細胞ベースのワクチンである。いくつかの例では、ワクチンは非細胞ベースのワクチンである。いくつかの例では、樹状細胞ベースのワクチンと組み合わせた式 (I) の分子が、疾患または障害 (例えば、癌) の処置に使用される。いくつかの例では、腫瘍細胞ベースのワクチンと組み合わせた式 (I) の分子が、疾患または障害 (例えば、

10

20

30

40

50

癌)の処置に使用される。いくつかの例では、抗原ワクチンと組み合わせた式(I)の分子が、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。いくつかの例では、抗イディオタイプワクチンと組み合わせた式(I)の分子は、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。いくつかの例では、DNAワクチンと組み合わせた式(I)の分子が、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。いくつかの例では、ベクターベースのワクチンと組み合わせた式(I)の分子が、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。

【0267】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、疾患または障害(例えば、癌)の処置のための受動癌免疫療法として使用される。いくつかの例では、受動的方法は、癌細胞を攻撃するために、適応免疫系成分、例えば、外因的に生成されたT細胞、ナチュラルキラー(NK)T細胞、および/またはキメラ抗原受容体(CAR)T細胞を利用する。

【0268】

いくつかの実施形態では、T細胞ベースの治療剤と組み合わせた式(I)の分子が、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。場合によっては、T細胞ベースの治療剤は、上に記載されるCD細胞表面マーカーの1つ以上を認識する活性化T細胞剤である。いくつかの例では、T細胞ベースの治療剤は、CD2、CD3、CD4、CD5、CD8、CD27、CD28、CD80、CD134、CD137、CD152、CD154、CD160、CD200R、CD223、CD226、CD244、CD258、CD267、CD272、CD274、CD278、CD279、またはCD357の1つ以上を認識する活性化T細胞剤を含む。いくつかの例では、CD2、CD3、CD4、CD5、CD8、CD27、CD28、CD80、CD134、CD137、CD152、CD154、CD160、CD200R、CD223、CD226、CD244、CD258、CD267、CD272、CD274、CD278、CD279、またはCD357の1つ以上を認識する活性化T細胞剤と組み合わせた式(I)の分子が、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。

【0269】

いくつかの実施形態では、ナチュラルキラー(NK)T細胞ベースの治療剤と組み合わせた式(I)の分子が、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。いくつかの例では、NKベースの治療剤は、上に記載されるCD細胞表面マーカーの1つ以上を認識する活性化NK剤である。場合によっては、NKベースの治療剤は、CD2、CD11a、CD11b、CD16、CD56、CD58、CD62L、CD85j、CD158a/b、CD158c、CD158e/f/k、CD158h/j、CD159a、CD162、CD226、CD314、CD335、CD337、CD244、またはCD319の1つ以上を認識する活性化NK剤である。いくつかの例では、CD2、CD11a、CD11b、CD16、CD56、CD58、CD62L、CD85j、CD158a/b、CD158c、CD158e/f/k、CD158h/j、CD159a、CD162、CD226、CD314、CD335、CD337、CD244、またはCD319の1つ以上を認識する活性化NK剤と組み合わせた式(I)の分子が、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。

【0270】

いくつかの実施形態では、CAR-T細胞ベースの治療剤と組み合わせた式(I)の分子が、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。

【0271】

いくつかの実施形態では、エンドソーム膜を不安定にする(あるいは、エンドソームリソソームの膜輸送を妨害する)追加の薬剤と組み合わせた式(I)の分子が、疾患または障害(例えば、癌)の処置に使用される。いくつかの実施形態では、追加の薬剤は有糸分裂阻害剤を含む。例示的な有糸分裂阻害剤としては、限定されないが、パクリタキセルおよびドセタキセルなどのタキサン;ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、お

10

20

30

40

50

よびビノレルビンなどのピンカアルカロイド；カバジタキセル；コルヒチン；エリブリン；エストラムスチン；エトポシド；イクサベピロン；ポドフィロトキシン；テニポシド；または、グリセオフルビンが挙げられる。いくつかの例では、追加の薬剤は、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビン、カバジタキセル、コルヒチン、エリブリン、エストラムスチン、エトポシド、イクサベピロン、ポドフィロトキシン、テニポシド、またはグリセオフルビンを含む。いくつかの例では、追加の薬剤はタキソールを含む。いくつかの例では、追加の薬剤はエトポシドを含む。他の例では、追加の薬剤はビタミンK3を含む。

【0272】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される組成物または医薬製剤は、疾患または障害（例えば、癌）の処置における組み合わせ方法（能動方法と受動方法の両方を含む）として使用される。

【0273】

筋肉ジストロフィー、筋萎縮症、筋消耗

一実施形態では、筋肉ジストロフィーは筋力の著しい減少を指す。筋力の著しい減少とは、対照の対象の同じ筋組織と比較して、対象の病気の、損傷した、または不使用の筋組織における強度の低下を意味する。ある実施形態では、筋力の著しい減少とは、対照の対象の同じ筋組織と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、またはそれ以上の強度の低下である。別の実施形態では、筋力の著しい減少とは、不使用期間前の同じ対象の同じ筋組織の筋力と比較して、不使用の筋組織の強度の低下を意味する。ある実施形態では、筋肉強度の著しい減少とは、不使用期間前の同じ対象の同じ筋組織の筋力と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、またはそれ以上の低下である。

【0274】

別の実施形態では、筋肉ジストロフィーは筋肉量の著しい減少を指す。筋肉量の著しい減少とは、対照の対象の同じ筋組織と比較して、対象の病気の、損傷した、または不使用の筋組織における筋肉体積の減少を意味する。ある実施形態では、筋肉体積の著しい減少とは、対照の対象の同じ筋組織と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、またはそれ以上である。別の実施形態では、筋肉量の著しい減少とは、不使用期間前の同じ対象の同じ筋組織における筋肉体積と比較して、不使用の筋組織における筋肉体積の低下を意味する。ある実施形態では、筋肉組織の著しい減少とは、不使用期間前の同じ対象の同じ筋組織における筋肉体積と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、またはそれ以上である。筋肉体積は、磁気共鳴撮像（例えば、筋肉体積／断面積（CSA）MRI方法による）などによって、筋肉の断面積を評価することにより、任意選択的に測定される。

【0275】

筋緊張性ジストロフィーは、2つの主な型、すなわち、筋緊張性ジストロフィー1型（DM1）と筋緊張性ジストロフィー2型（DM2）とを含む、多全身性神経筋疾患（multisystemic neuromuscular disease）である。DM1は、遺伝子DMプロテインキナーゼ（DMPK）中での優勢遺伝性の「CTG」の反復伸長によって引き起こされ、これは、mRNAへ転写されるとき、タンパク質のMuscleblind-like（MBNL）ファミリーに高い親和性で結合するヘアピンを形成する。MBNLタンパク質は、転写後のスプライシングおよびポリアデニル化（polyadenylation）部位の制御に関与し、MBNLタンパク質機能の喪失は、核病巣

10

20

30

40

50

の下流への蓄積を引き起こし、ミスプライシング事象を増加させ、その後、筋緊張症と他の臨床症状を引き起こす。いくつかの実施形態では、対象の筋肉ジストロフィー、筋萎縮症、および／または筋消耗を処置する方法が本明細書に記載され、上記方法は、本明細書に記載されるポリ核酸分子あるいは本明細書に記載されるポリ核酸分子コンジュゲートを提供する工程と、筋ジストロフィー、筋萎縮症、および／または筋消耗を処置するために、治療上有効な量のポリ核酸分子またはポリ核酸分子コンジュゲートを対象に投与する工程とを含む。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子またはポリ核酸分子コンジュゲートは、遺伝子転写物を標的とし、この遺伝子転写物は、ダウンレギュレーション、欠失、転写物のエクソスキッピングが病気を処置するために望まれるように、変異させられるか、あるいはアップレギュレートされる。いくつかの実施形態では、ポリ核酸分子またはポリ核酸分子コンジュゲートは、DMPK mRNA、DMD mRNA、あるいはGYSL mRNAを標的とする。

10

【0276】

医薬製剤

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される医薬製剤は、限定されないが、非経口（例えば、静脈内、皮下、筋肉内）、経口、鼻腔内、頬側、直腸、または経皮の投与経路を含む、複数の投与経路によって対象に投与される。いくつかの例では、本明細書に記載される医薬組成物は、非経口（例えば、静脈内、皮下、筋肉内）投与のために製剤化される。他の例では、本明細書に記載される医薬組成物は、経口投与用に製剤化される。さらに他の例では、本明細書に記載される医薬組成物は、鼻腔内投与用に製剤化される。

20

【0277】

いくつかの実施形態では、医薬組成物としては、限定されないが、水性分散液、自己乳化分散液、固溶体、リポソーム分散液、エアロゾル、固形剤形、粉末、即時放性製剤、制御放出製剤、速溶製剤、錠剤、カプセル、丸剤、遅延放出製剤、持続放出製剤、パルス放出製剤、多粒子製剤（例えば、ナノ粒子製剤）、および、即時放出と制御放出の混合製剤が挙げられる。

【0278】

いくつかの例では、医薬製剤は多粒子製剤を含む。いくつかの例では、医薬製剤はナノ粒子製剤を含む。いくつかの例では、ナノ粒子は、cMAP、シクロデキストリン、または脂質を含む。場合によっては、ナノ粒子は、固体脂質ナノ粒子、ポリマーナノ粒子、自己乳化ナノ粒子、リポソーム、マイクロエマルジョン、またはミセル溶液を含む。さらなる例示的なナノ粒子としては、限定されないが、常磁性ナノ粒子、超常磁性ナノ粒子、金属ナノ粒子、フラーレン様材料、無機ナノチューブ、デンドリマー（共有結合した金属キレートを含むものなど）、ナノファイバー、ナノホーン、ナノオニオン、ナノロッド、ナノロープ、および量子ドットが挙げられる。いくつかの例では、ナノ粒子は、金属ナノ粒子、例えば、スカンジウム、チタン、バナジウム、クロム、マンガン、鉄、コバルト、ニッケル、銅、亜鉛、イットリウム、ジルコニウム、ニオブ、モリブデン、ルテニウム、ロジウム、パラジウム、銀、カドミウム、ハフニウム、タンタル、タングステン、レニウム、オスミウム、イリジウム、白金、金、ガドリニウム、アルミニウム、ガリウム、インジウム、スズ、タリウム、鉛、ビスマス、マグネシウム、カルシウム、ストロンチウム、バリウム、リチウム、ナトリウム、カリウム、ホウ素、シリコン、リン、ゲルマニウム、ヒ素、アンチモン、およびこれらの組み合わせ、その合金またはオキシドのナノ粒子である。

30

40

【0279】

いくつかの例では、ナノ粒子は、コア、または、コア-シェルナノ粒子のようにコアとシェルを含む。

【0280】

いくつかの例では、ナノ粒子は、機能要素の結合のために分子で（例えば、本明細書に記載されるポリ核酸分子または結合部分の1つ以上で）さらにコーティングされる。いくつかの例では、コーティングは、硫酸コンドロイチン、硫酸デキストラン、カルボキシメ

50

チルデキストラン、アルギン酸、ペクチン、カラギーナン、フコイダン、アガロペクチン、ポルフィラン、カラヤゴム、ジェランゴム、キサンタンゴム、ヒアルロン酸、グルコサミン、ガラクトサミン、キチン（あるいは、キトサン）、ポリグルタミン酸、ポリアスパラギン酸、リゾチーム、チトクロムC、リボヌクレアーゼ、トリプシノーゲン、キモトリプシノーゲン、 α -キモトリプシン、ポリリシン、ポリアルギニン、ヒストン、プロタミン、オバルブミン、デキストリン、またはシクロデキストリンを含む。いくつかの例では、ナノ粒子は、グラフェンコーティングされたナノ粒子を含む。

【0281】

場合によっては、ナノ粒子は、約500 nm、400 nm、300 nm、200 nm、または100 nm未満の少なくとも1つの寸法を有する。

【0282】

いくつかの例では、ナノ粒子製剤は、常磁性ナノ粒子、超常磁性ナノ粒子、金属ナノ粒子、フラーレン様材料、無機ナノチューブ、デンドリマー（共有結合した金属キレートを含むものなど）、ナノファイバー、ナノホーン、ナノオニオン、ナノロッド、ナノロープ、または量子ドットを含む。いくつかの例では、本明細書に記載されるポリ核酸分子または結合部分は、ナノ粒子に直接あるいは間接的にコンジュゲートする。いくつかの例では、本明細書に記載される少なくとも1、5、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、あるいはそれ以上のポリ核酸分子または結合部分は、ナノ粒子に直接あるいは間接的にコンジュゲートする。

【0283】

いくつかの実施形態では、医薬製剤は、本明細書で開示される組成物との互換性および所望の剤形の放出プロファイル特質に基づいて選択される、担体または担体材料を含む。模範的な担体材料としては、例えば、結合剤、懸濁剤、崩壊剤、充填剤、界面活性剤、可溶化剤、安定化剤、滑沢剤、加湿剤、希釈剤などが挙げられる。薬学的に適合可能な担体材料としては、限定されないが、アカシア、ゼラチン、コロイド状二酸化ケイ素、グリセロリン酸カルシウム、乳酸カルシウム、マルトデキストリン、グリセリン、ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン（PVP）、コレステロール、コレステロールエステル、カゼイン酸ナトリウム、大豆レシチン、タウロコール酸、ホスファチジルコリン、塩化ナトリウム、リン酸三カルシウム、リン酸二カリウム、セルロースおよびセルロースコンジュゲート、糖ステアロイル乳酸ナトリウム（sugars sodium stearyl lactylate）、カラギーナン、モノグリセリド、ジグリセリド、 α 化デンプンなどが挙げられる。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H. A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker, New York, N. Y., 1980; および、Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999) を参照されたい。

【0284】

いくつかの例では、医薬製剤は、酢酸、ホウ酸、クエン酸、乳酸、リン酸、および塩酸などの酸；水酸化ナトリウム、リン酸ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、およびトリスーヒドロキシメチルアミノメタンなどの塩基；ならびに、クエン酸塩／デキストロース、重炭酸ナトリウム、および塩化アンモニウムなどの緩衝剤を含む、pH調節剤または緩衝剤をさらに含む。このような酸、塩基、および緩衝液は、組成物のpHを許容可能な範囲で維持するのに必要な量で含まれる。

【0285】

いくつかの例では、医薬製剤は、組成物の浸透圧を許容可能な範囲にするために必要な量で1つ以上の塩を含む。このような塩としては、ナトリウムカチオン、カリウムカチオン、またはアンモニウムカチオン、および塩化物アニオン、クエン酸塩アニオン、アスコルビン酸塩アニオン、ホウ酸塩アニオン、リン酸塩アニオン、重炭酸塩アニオン、硫酸塩アニオン、チオ硫酸塩アニオン、または亜硫酸水素塩アニオンを有するものが挙げられ、適切な塩としては、塩化ナトリウム、塩化カリウム、チオ硫酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、および硫酸アンモニウムが挙げられる。

【0286】

いくつかの例では、医薬製剤は、化合物を安定化させるために使用される希釈液をさらに含む。希釈液はより安定した環境を提供することができるからである。緩衝液（さらにpHの制御または維持をもたらし得る）中に溶解した塩は、当該技術分野の希釈剤として利用され、限定されないが、リン酸緩衝生理食塩溶液を含む。ある例では、希釈液は、組成物の容積を増大させて、圧縮を促進するか、あるいはカプセル剤充填のための均質ブレンドに十分な容積を作り出す。そのような化合物は、例えば、ラクトース、デンプン、マンニトール、ソルビトール、デキストロース、Avicel（登録商標）などの微結晶性セルロース；リン酸水素カルシウム、リン酸カルシウム二水和物；リン酸三カルシウム、リン酸カルシウム；無水乳糖、噴霧乾燥したラクトース； α 化デンプン、Di-Pac（登録商標）（Amstar）などの圧縮可能な糖；マンニトール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース・アセテート・ステアレート、スクロース系の希釈剤、粉砂糖；一塩基の硫酸カルシウム一水和物、硫酸カルシウム二水和物；乳酸カルシウム三水和物、デキストラート（dextrans）；加水分解したシリアル固形物（hydrolyzed cereal solids）、アミロース；粉末セルロース、炭酸カルシウム；グリシン、カオリン；マンニトール、塩化ナトリウム；イノシトール、ベントナイトなどを含むことができる。

【0287】

場合によっては、医薬製剤は、物質の分解または崩壊を促進する分解剤あるいは崩壊剤を含む。「分解する」との用語は、胃腸液と接触した際の剤形の崩壊と分散の両方を含む。崩壊剤の例としては、デンプン、例えば、天然のデンプン、例えば、トウモロコシデンプンまたはジャガイモデンプン、 α 化デンプン、例えば、National 1551またはAmijel（登録商標）、またはナトリウムデンプングリコレート、例えば、Promogel（登録商標）またはExploTab（登録商標）、セルロース、例えば、木製品（wood product）、メチル結晶セルロース、例えば、Avicel（登録商標）、Avicel（登録商標）PH101、Avicel（登録商標）PH102、Avicel（登録商標）PH105、Elcema（登録商標）P100、Emcocel（登録商標）、Vivacel（登録商標）、Min Tia（登録商標）、およびSolka-Floc（登録商標）、メチルセルロース、クロスカルメロース、または架橋セルロース、例えば、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム（Ac-Di-Sol（登録商標））、架橋カルボキシメチルセルロース、または架橋クロスカルメロースナトリウム、架橋デンプン、例えば、デンプングリコール酸ナトリウム、架橋ポリマー、例えば、クロスポビドン、架橋ポリビニルピロリドン、アルギネート（alginate）、例えば、アルギン酸、またはアルギン酸の塩、例えば、アルギン酸ナトリウム、粘土、例えば、Veegum（登録商標）HV（ケイ酸アルミニウムマグネシウム）、ゴム、例えば、寒天、ガウア、イナゴマメ、カラヤ、ペクチン、またはトラガント、デンプングリコール酸ナトリウム、ベントナイト、海綿、界面活性剤、樹脂、例えば、カチオン交換樹脂、柑橘類果肉、ラウリル硫酸ナトリウム、デンプンと組み合わせたラウリル硫酸ナトリウムなどが挙げられる。

【0288】

いくつかの例では、医薬製剤は、ラクトース、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、第二リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、微結晶性セルロース、セルロース粉末、デキストロース、デキストラート、デキストラン、デンプン、 α 化デンプン、スクロース、キシリ

10

20

30

40

50

トール、ラクチトール、マンニトール、ソルビトール、塩化ナトリウム、ポリエチレングリコールなどの充填剤を含む。

【0289】

潤滑剤および滑剤は、材料の付着または摩擦を防ぐか、減少させるか、あるいは阻害するために、本明細書に記載される医薬製剤に任意選択的に含まれる。例示的な滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸、水酸化カルシウム、タルク、ステアシルフマル酸ナトリウム、炭化水素、例えば、鉱油、または水素化大豆油（Sterotex（登録商標））などの水素化植物油、高級脂肪酸およびそれらのアルカリ金属ならびにアルカリ土類金属塩、例えば、アルミニウム、カルシウム、マグネシウム、亜鉛、ステアリン酸、ステアリン酸ナトリウム、グリセロール、タルク、ワックス、Stearowet（登録商標）、ホウ酸、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ロイシン、ポリエチレングリコール（例えば、PEG-4000）またはメキシポリエチレングリコール、例えば、Carbowax（商標）、オレイン酸ナトリウム、安息香酸ナトリウム、ベヘン酸グリセリル、ポリエチレングリコール、マグネシウムまたはラウリル硫酸ナトリウム、Sylolid（商標）、コロイダルシリカ、例えば、Cab-O-Sil（登録商標）、デンプン、例えば、トウモロコシデンプン、シリコン油、界面活性剤などが挙げられる。

10

【0290】

可塑剤は、マイクロカプセル化材料またはフィルムコーティングを軟化することで脆性を抑えるために使用される化合物を含む。適切な可塑剤としては、例えば、PEG300、PEG400、PEG600、PEG1450、PEG3350、およびPEG800などのポリエチレングリコール、ステアリン酸、プロピレングリコール、オレイン酸、トリエチルセルロース、およびトリアセチンが挙げられる。可塑剤は、分散剤または湿潤剤としてさらに作用し得る。

20

【0291】

可溶化剤としては、トリアセチン、クエン酸トリエチル、オレイン酸エチル、カプリル酸エチル、ラウリル硫酸ナトリウム、ドクサートナトリウム、ビタミンE TP GS、ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドン、N-ヒドロキシエチルピロリドン、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルシクロデキストリン、エタノール、n-ブタノール、イソプロピルアルコール、コレステロール、胆汁塩、ポリエチレングリコール200-600、グリコフロール、トランスクトール、プロピレングリコール、およびジメチルイソソルビドなどの化合物が挙げられる。

30

【0292】

安定化剤としては、任意の抗酸化剤、緩衝剤、酸、防腐剤などの混合物が挙げられる。

【0293】

懸濁化剤は、例えば、ポリビニルピロリドンK12、ポリビニルピロリドンK17、ポリビニルピロリドンK25、またはポリビニルピロリドンK30などのポリビニルピロリドン、ビニルピロリドン/酢酸ビニル共重合体（S630）、ポリエチレングリコール（例えば、ポリエチレングリコールは約300～約6000、約3350～約4000、または約7000～約5400の分子量を有し得る）、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロースアセテートステアレート、ポリソルベート80、ヒドロキシエチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ゴム、例えば、トラガカントゴムおよびアラビアゴムなど、グアーゴム、キサンタンガムを含むキサンタン、糖類、例えば、カルボキシルメチルセルロースナトリウムなどのセルロース化合物、メチルセルロース、カルボキシルメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ポリソルベート80、アルギン酸ナトリウム、ポリエトキシ化ソルビタンモノラウレート、ポリエトキシ化ソルビタンモノラウレート、ポビドンなどの化合物を含む。

40

【0294】

界面活性剤は、ラウリル硫酸ナトリウム、ドクセートナトリウム、またはTween 60または80、トリアセチン、ビタミンE TP GS、ソルビタンモノオレエート、ポ

50

リオキシエチレンソルビタンモノオレエート (polyoxyethylene sorbitan monooleate)、ポリソルベート、ポロキサマー (polaxomers)、胆汁酸塩、モノステアリン酸グリセリン、エチレンオキシドおよびプロピレンオキシドのコポリマー、例えば、Pluronic (登録商標) (BASF) などの化合物を含む。追加の界面活性剤としては、ポリオキシエチレン脂肪酸グリセリドおよび植物油、例えば、ポリオキシエチレン (60) 水素化ヒマシ油；ならびに、ポリオキシエチレンアルキルエーテルおよびアルキルフェニルエーテル、例えば、オクトキシノール 10、オクトキシノール 40 が挙げられる。しばしば、界面活性剤は、物理的安定性を高めるために、または他の目的のために含まれる。

【0295】

粘度増強剤としては、例えば、メチルセルロース、キサンタンガム、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートステアレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、カルボマー、ポリビニルアルコール、アルギン酸塩、アカシア、キトサン、およびこれらの組み合わせが挙げられる。

【0296】

湿潤剤は、オレイン酸、モノステアリン酸グリセリル、モノオレイン酸ソルビタン、モノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミン、モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン、モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン、ドクサートナトリウム、オレイン酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ドキュセートナトリウム、トリアセチン、Tween 80、ビタミン E TPGS、アンモニウム塩などの化合物を含む。

【0297】

治療レジメン

いくつかの実施形態では、本明細書に記載される医薬組成物は治療用途のために投与される。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、1日1回、1日2回、1日3回、またはそれ以上投与される。医薬組成物は、毎日、1日おき、週5日、週1日、1週おき、月2週間、月3週間、月1回、月2回、月3回、またはそれ以上投与される。医薬組成物は、少なくとも1か月、2か月、3か月、4か月、5か月、6か月、7か月、8か月、9か月、10か月、11か月、12か月、18か月、2年、3年、またはそれ以上にわたって投与される。

【0298】

いくつかの実施形態では、1つ以上の医薬組成物は、同時に、順次に、またはある時間間隔で投与される。いくつかの実施形態では、1つ以上の医薬組成物が同時に投与される。場合によっては、1つ以上の医薬組成物が順次に投与される。さらなる場合には、1つ以上の医薬組成物は、ある時間間隔で投与される（例えば、第1の医薬組成物の第1の投与は1日目であり、その後、少なくとも第2の医薬組成物の投与前に少なくとも1、2、3、4、5日またはそれ以上の間隔を空ける）。

【0299】

いくつかの実施形態では、2つ以上の異なる医薬組成物が同時投与される。いくつかの例では、2以上の異なる医薬組成物が同時に投与される。場合によっては、2つ以上の異なる医薬組成物が、投与間の間隔なく順次に同時投与される。他の場合には、2つ以上の異なる医薬組成物は、投与間に約0.5時間、1時間、2時間、3時間、12時間、1日、2日、またはそれ以上の間隔をおいて順次に同時投与される。

【0300】

患者の状態が改善する場合、医者の裁量により組成物の投与が継続的に行われるか、あるいは、投与されている組成物の用量が一時的に減らされるか、または特定の期間にわたって一時的に中断される（つまり、「休薬期間」）。いくつかの例では、休薬期間の長さは、2日～1年の間で変動し、ほんの一例として、2日、3日、4日、5日、6日、7日、10日、12日、15日、20日、28日、35日、50日、70日、100日、120日、150日、180日、200日、250日、280日、300日、320日、35

10

20

30

40

50

0日、または365日を含む。休薬日の間の投与量の減少は10%～100%であり、ほんの一例として、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、あるいは100%を含む。

【0301】

いったん患者の状態が改善すると、必要に応じて維持量が投与される。その後、投与量または投与頻度、あるいはその両方は、症状に応じて、改善された疾患、障害、または疾病が保持されるレベルにまで任意選択的に減らされる。

【0302】

いくつかの実施形態では、そのような量に相当する所定の薬剤の量は、特定の化合物、疾患の重症度、処置を必要としている対象または宿主の性質（例えば、体重）などの要因に左右されるが、それにもかかわらず、例えば、投与されている特定の薬剤、投与経路、および処置されている対象または宿主を含む、症例を取り巻く特定の環境に従って、当該技術分野において既知の方法で日常的に判定される。いくつかの例では、所望の用量は一回量で都合よく提示されるか、または同時に（あるいは短時間にわたって）、または適切な間隔を置いて投与された分割量、例えば、1日当たり2、3、4回またはそれ以上の副用量（*sub-doses*）として、都合よく提示される。

【0303】

個々の処置レジメンに関する変数の数が大きいこと、前述の範囲は単なる示唆的なものにすぎず、これらの推奨値からかなり逸脱することは珍しいことではない。そのような投与量は、限定されないが、使用される化合物の活性、処置される疾患または疾病、投与の様式、個々の対象の要件、処置されている疾患または疾病の重症度、および医師の判断を含む、多くの変数に応じて変更される。

【0304】

いくつかの実施形態では、こうした治療レジメンの毒性と治療の有効性は、細胞培養または実験動物における標準的な製薬手順によって決定され、その手順には、限定されないが、LD50（集団の50%までの致死投与量）と、ED50（集団の50%における治療上有効な投与量）の決定が含まれる。毒性と治療効果との間の用量比が治療指数であり、これは、LD50とED50との間の比として表される。高い治療指数を示す化合物が好ましい。細胞培養アッセイと動物研究から得られたデータは、ヒトに使用するための一連の投与量を調合する際に使用される。そのような化合物の投与量は、毒性が最小のED50を含む血中濃度の範囲内にあるのが好ましい。投与量は、使用される剤形と利用される投与経路に応じて、この範囲内で変わる。

【0305】

キット／製品

ある実施形態では、本明細書に記載される1つ以上の組成物および方法とともに使用されるキットおよび製品が本明細書で開示される。このようなキットは、バイアル、チューブなどの1つ以上の容器を収容するために仕切られた運搬装置、包装、または容器を含み、各容器は、本明細書中に記載されている方法を使用するための別個の要素の1つを備える。適切な容器としては、例えば、ボトル、バイアル、注射器、および試験管が挙げられる。一実施形態では、容器は、ガラスまたはプラスチックなどの様々な材料から形成される。

【0306】

本明細書で提供される製品は包装材料を含む。製薬用包装材料の例としては、限定されないが、ブリストパック、ボトル、チューブ、バッグ、容器、瓶、および選択された製剤と意図した投与および処置のモードに適する任意の包装材料が挙げられる。

【0307】

例えば、容器は、本明細書で開示されるように、式(Xa)の分子： $A-X-B'-Y-C$ を含む。このようなキットは任意選択的に、識別用の記載文あるいはラベル、または本明細書に記載の方におけるその使用に関する説明書を含む。

【0308】

キットは典型的には、内容物および／または使用説明書を列挙するラベルと、使用説明書を含む添付文書とを含んでいる。説明書のセットも典型的に含まれている。

【0309】

一実施形態では、ラベルが容器上にあるか容器に付随する。一実施形態では、ラベルを形成する文字、数字、または他の表示が、容器自体に貼り付けられるか、成形されるか、あるいは刻まれている場合は、ラベルは容器上にある。ラベルが、例えば、添付文書として、容器を保持するレセプタクルまたは運搬装置内に存在する場合には、ラベルは容器に付随する。一実施形態では、ラベルは、内容物が特定の治療用途に用いられるべきものであるということを示すために使用される。ラベルは、例えば、本明細書に記載の方法で、内容物の使用方法も示している。

10

【0310】

ある実施形態では、医薬組成物は、本明細書で提供される化合物を含む1以上の単位剤形を含有するパックまたはディスペンサーデバイス中で提示される。例えば、パックは、ブリスターパックなどの金属ホイルまたはプラスチックホイルを含む。一実施形態では、パックまたはディスペンサーデバイスには、投与のための説明書が添付してある。一実施形態では、パックまたはディスペンサーには、医薬品の製造、使用、または販売を規制する政府機関によって規定された形態の容器に付属の通知書が添付してあり、この通知書は、ヒトまたは動物の投与のための薬物の形態についての、政府機関の承認を反映するものである。このような通知書は、例えば、処方薬または承認された添付文書に関して、米国食品医薬品局により承認されたラベルである。一実施形態では、適合する製薬担体中で製剤化される本明細書で提供される化合物を含む組成物も調製され、適切な容器に入れられ、示された疾病の処置のためにラベル付けされる。

20

【0311】

特定の用語

別段の定めのない限り、本明細書で使用される技術用語および科学用語はすべて、主題が属する当該技術分野の当業者によって一般に理解されるものと同じ意味を有する。前述の一般的な記載および以下の詳細な記載が例示的かつ説明的なものにすぎず、いかなる請求される主題も限定するものではないことが理解されよう。本出願では、単数の使用は、特に別記されない限り複数を含む。明細書および添付の請求項内で用いられる場合、単数形「a」、「an」、および「the」は、文脈が明確に他のことを定めていない限り、複数の参照対象を含む。本出願では、「または」の使用は、特に明記されない限り、「および／または」を意味する。さらに、「含む(including)」という用語の使用は、「含む(include)」、「含む(includes)」、および「含まれる(included)」といった他の形態と同様に、限定的なものではない。

30

【0312】

本明細書で使用される場合、範囲および量は、「約」特定の値または範囲として表現可能である。「約」は正確な量も含んでいる。したがって、「約5 μ L」は、「約5 μ L」と「5 μ L」も意味する。一般に、用語「約」は、実験誤差内にあると予想される量を含んでいる。

40

【0313】

本明細書に使用される段落の見出しは、組織化するためのものに過ぎず、記載される主題を限定するものと解釈されてはならない。

【0314】

本明細書で使用されるように、「個体」、「対象」、および「患者」との用語は、任意の哺乳動物を意味する。いくつかの実施形態では、哺乳動物はヒトである。いくつかの実施形態では、哺乳動物は非ヒトである。いかなる用語も、保健従事者(例えば、医者、正看護師、臨床看護師、医師助手、看護助手、あるいはホスピスの職員)の監督(例えば、常時または断続的)を特徴とする状況に限定されない。

【0315】

50

化学的定義

本明細書で使用される略語は、化学分野および生物学分野内でのその従来の意味を有している。本明細書に記載される化学構造および式は、化学分野で既知の化学結合価の標準規則に従って構築される。

【0316】

置換基が、左から右に書かれるそれらの従来の化学式によって特定される場合、その置換基は、右から左に構造を書くことで生じる化学的に同一の置換基を等しく包含し、例えば、 $-\text{CH}_2\text{O}-$ は $-\text{OCH}_2-$ に等しい。

【0317】

「アルキル」との用語は、それ自体で、または別の置換基の一部として、特に明記されない限り、直鎖の（すなわち、分岐していない）炭素鎖または分岐した炭素鎖（あるいは、炭素）、あるいはそれらの組み合わせを意味し、これは、完全に飽和、一不飽和、および多価不飽和であってもよく、かつ、指定された炭素原子の数を有する一価、二価、および多価のラジカルを含み得る（すなわち、 C_1-C_{10} は1から10の炭素を意味する）。アルキルは非環化鎖（*uncyclized chain*）である。飽和炭化水素ラジカルの例としては、限定されないが、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、*t*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、（シクロヘキシル）メチル、例えば、*n*-ペンチル、*n*-ヘキシル、*n*-ヘプチル、*n*-オクチルなどの同族体および異性体などの基が挙げられる。不飽和アルキル基は、1以上の二重結合または三重結合を有するものである。不飽和アルキル基の例としては、限定されないが、ビニル、2-プロペニル、クロチル、2-イソペンテニル、2-（ブタジエニル）、2,4-ペンタジエニル、3-（1,4-ペンタジエニル）、エチニル、1-プロピニルおよび3-プロピニル、3-ブチニル、およびより高度の同族体ならびに異性体が挙げられる。アルコキシは、酸素リンカー（ $-\text{O}-$ ）を介して分子の残部に結合されるアルキルである。

【0318】

「アルキレン」との用語は、それ自体で、または別の置換基の一部として、他に明記されない限り、限定されないが、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ によって例示されるような、アルキルに由来する二価のラジカルを意味する。典型的に、アルキル（または、アルキレン）基は、1~24の炭素原子を有しており、本明細書では10以下の炭素原子を有しているそれらの基が好ましい。「低級アルキル」または「低級アルキレン」は一般に、8以下の炭素原子を有する、短い鎖のアルキルまたはアルキレン基である。「アルケニレン」との用語は、それ自体で、または別の置換基の一部として、他に明記されない限り、アルケン由来の二価のラジカルを意味する。

【0319】

「ヘテロアルキル」との用語は、それ自体で、または別の用語と組み合わせて、他に明記されない限り、安定した直鎖あるいは分岐鎖、あるいはそれらの組み合わせを意味しており、これは、少なくとも1つの炭素原子と、少なくとも1つのヘテロ原子（例えば、O、N、P、Si、ならびにS）とを含み、ここで、窒素原子と硫黄原子は任意選択的に酸化され、窒素ヘテロ原子は任意選択的に四級化され得る。ヘテロ原子（例えば、N、S、Si、またはP）は、ヘテロアルキル基の任意の内部の位置、または、アルキル基が分子の残部に結合される位置に配されてもよい。ヘテロアルキルは非環化鎖である。例としては、限定されないが、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2$ 、 $-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_3$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 、および $-\text{CN}$ が挙げられる。最大2または3のヘテロ原子は、例えば、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$ および $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ のように連続してもよい。ヘテロアルキル部分は、1つのヘテロ原子（例えば、O、N、S、Si、またはP）を含み得る。ヘテロアルキル部分は、2つの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、O、N、S、Si、またはP）を含み得る。ヘテロアルキ

ル部分は、3つの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、O、N、S、Si、またはP）を含み得る。ヘテロアルキル部分は、4つの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、O、N、S、Si、またはP）を含み得る。ヘテロアルキル部分は、5つの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、O、N、S、Si、またはP）を含み得る。ヘテロアルキル部分は、最大8つの任意選択的に異なるヘテロ原子（例えば、O、N、S、Si、またはP）を含み得る。

【0320】

同様に、「ヘテロアルキレン」との用語は、それ自体で、または別の置換基の一部として、他に明記されない限り、限定されないが、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、および $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ によって例示されるような、ヘテロアルキルに由来する二価のラジカルを意味する。ヘテロアルキレン基の場合、ヘテロ原子はまた、鎖の末端のいずれかまたは両方を占めることができる（例えば、アルキレンオキシ、アルキレンジオキシ、アルキレンアミノ、アルキレンジアミノなど）。さらに、アルキレンおよびヘテロアルキレンの連結基の場合、連結基の配向は、連結基の式が書かれる方向によって示唆されるものではない。例えば、式 $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'-$ は、 $-\text{C}(\text{O})_2\text{R}'$ と $-\text{R}'\text{C}(\text{O})_2-$ の両方を表す。上述のように、本明細書で使用されるヘテロアルキル基は、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'$ 、 $-\text{NR}'\text{R}''$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{SR}'$ 、および／または $-\text{SO}_2\text{R}'$ などのヘテロ原子を介して分子の残部に結合される基を含む。 $-\text{NR}'\text{R}''$ などの特定のヘテロアルキル基の記載の後に、「ヘテロアルキル」が記載される場合、用語「ヘテロアルキル」および $-\text{NR}'\text{R}''$ は冗長（redundant）ではなく、相互に排他的でもないことが理解される。むしろ、特定のヘテロアルキル基が、明確性を加えるために記載される。したがって、「ヘテロアルキル」との用語は、 $-\text{NR}'\text{R}''$ などの特定のヘテロアルキル基を除くものとして本明細書において解釈されるべきでない。

【0321】

「シクロアルキル」および「ヘテロシクロアルキル」との用語は、それら自体で、または他の用語と組み合わせて、他に明記されない限り、それぞれ「アルキル」および「ヘテロアルキル」の環式バージョンを意味する。シクロアルキルとヘテロシクロアルキルは芳香族ではない。加えて、ヘテロシクロアルキルの場合、ヘテロ原子は、複素環が分子の残部に結合される位置を占めることができる。シクロアルキルの例としては、限定されないが、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、1-シクロヘキセニル、3-シクロヘキセニル、シクロヘプチルなどが挙げられる。ヘテロシクロアルキルの例としては、限定されないが、1-(1,2,5,6-テトラヒドロピリジル)、1-ピペリジニル、2-ピペリジニル、3-ピペリジニル、4-モルホリニル、3-モルホリニル、テトラヒドロフラン-2-イル、テトラヒドロフラン-3-イル、テトラヒドロチエン-2-イル、テトラヒドロチエン-3-イル、1-ピペラジニル、2-ピペラジニルなどが挙げられる。「シクロアルキレン」および「ヘテロシクロアルキレン」は、単独で、または別の置換基の一部として、それぞれシクロアルキルおよびヘテロシクロアルキルに由来する二価のラジカルを意味する。「シクロアルキル」も、二環式炭化水素環と多環式炭化水素環、例えば、ビシクロ[2.2.1]ヘプタン、ビシクロ[2.2.2]オクタンなどを指すことを意味する。

【0322】

「ハロ」または「ハロゲン」との用語は、それら自体で、または別の置換基の一部として、他に明記されない限り、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素の原子を意味する。加えて、「ハロアルキル」などの用語は、モノハロアルキルおよびポリハロアルキルを含むと意図されている。例えば、「ハロ(C_1-C_4)アルキル」との用語は、限定されないが、フルオロメチル、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、2,2,2-トリフルオロエチル、4-クロロブチル、3-ブロモプロピルなどを含む。

【0323】

「アシル」との用語は、他に明記されない限り、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}$ を意味し、ここで、Rは、置換または非置換のアルキル、置換または非置換のシクロアルキル、置換または非置換

のヘテロアルキル、置換または非置換のヘテロシクロアルキル、置換または非置換のアリール、あるいは置換または非置換のヘテロアリールである。

【0324】

「アリール」との用語は、他に明記されない限り、多価不飽和、芳香族、炭化水素の置換基を意味し、これは、共に縮合されるか（すなわち、縮合環アリール）、または共有結合される、1つの環または複数の環（好ましくは、1～3の環）であり得る。縮合環アリールは、共に縮合された複数の環を指し、ここで、縮合環の少なくとも1つはアリール基である。「ヘテロアリール」との用語は、N、O、またはSなどの少なくとも1つのヘテロ原子を含有するアリール基（または、環）を指し、ここで、窒素原子および硫黄原子は任意選択的に酸化され、窒素原子は任意選択的に四級化される。したがって、「ヘテロアリール」との用語は、縮合環ヘテロアリール基（すなわち、共に縮合された複数の環であり、ここで、縮合環の少なくとも1つは芳香族複素環である）を含む。5，6－縮合環ヘテロアリーレンは、共に縮合された2つの環を指し、ここで、一方の環は5員を有し、他方の環は6員を有し、ここで、少なくとも1つの環はヘテロアリール環である。同様に、6，6－縮合環ヘテロアリーレンは、共に縮合された2つの環を指し、ここで、一方の環は6員を有し、他方の環は6員を有し、ここで、少なくとも1つの環はヘテロアリール環である。および、6，5－縮合環ヘテロアリーレンは、共に縮合された2つの環を指し、ここで、一方の環は6員を有し、他方の環は5員を有し、ここで、少なくとも1つの環はヘテロアリール環である。ヘテロアリール基は、炭素またはヘテロ原子を介して分子の残部に結合され得る。アリール基およびヘテロアリール基の非限定的な例としては、フェニル、ナフチル、ピロリル、ピラゾリル、ピリダジニル、トリアジニル、ピリミジニル、イミダゾリル、ピラジニル、プリニル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、フリル、チエニル、ピリジル、ピリミジル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾフラン、イソベンゾフラニル、インドリル、イソインドリル、ベンゾチオフェニル、イソキノリル、キノキサリニル、キノリル、1－ナフチル、2－ナフチル、4－ビフェニル、1－ピロリル、2－ピロリル、3－ピロリル、3－ピラゾリル、2－イミダゾリル、4－イミダゾリル、ピラジニル、2－オキサゾリル、4－オキサゾリル、2－フェニル－4－オキサゾリル、5－オキサゾリル、3－イソキサゾリル、4－イソキサゾリル、5－イソキサゾリル、2－チアゾリル、4－チアゾリル、5－チアゾリル、2－フリル、3－フリル、2－チエニル、3－チエニル、2－ピリジル、3－ピリジル、4－ピリジル、2－ピリミジル、4－ピリミジル、5－ベンゾチアゾリル、プリニル、2－ベンズイミダゾリル、5－インドリル、1－イソキノリル、5－イソキノリル、2－キノキサリニル、5－キノキサリニル、3－キノリル、および6－キノリルが挙げられる。上述のアリールおよびヘテロアリールの環系の各々のための置換基は、下記の許容可能な置換基の群から選択される。「アリーレン」と「ヘテロアリーレン」は、単独で、または別の置換基の一部として、それぞれアリールとヘテロアリールに由来する二価のラジカルを意味する。ヘテロアリール基の置換基は、環ヘテロ原子窒素に結合された－O－であり得る。

【0325】

スピロ環は、隣接する環が1つの原子を介して結合される2以上の環である。スピロ環内の個々の環は、同一であっても、異なってもよい。スピロ環中の個々の環は置換されるか、または置換されない場合があり、かつ、1セットのスピロ環内の他の個々の環とは異なる置換基を有し得る。スピロ環内の個々の環のための可能性のある置換基は、スピロ環の一部ではない場合に、同じ環のための可能性のある置換基である（例えば、シクロアルキル環またはヘテロシクロアルキルの環のための置換基）。スピロ環は、置換または非置換のシクロアルキル、置換または非置換のシクロアルキレン、置換または非置換のヘテロシクロアルキル、あるいは置換または非置換のヘテロシクロアルキレンであってもよく、スピロ環基内の個々の環は、1つのタイプの全ての環（例えば、全ての環が置換ヘテロシクロアルキレンであり、各環が同じまたは異なる置換ヘテロシクロアルキレンであり得る）を含む、直前のリスト内のいずれかであり得る。スピロ環系に言及する場合、複素

環式スピロ環は、少なくとも1つの環が複素環であり、各環が異なる環である、スピロ環を意味する。スピロ環系に言及する場合、置換スピロ環は、少なくとも1つの環が置換され、各置換基が任意選択的に異なり得るものを意味する。

【0326】

下記の記号

【0327】

【化29】



10

は、分子または化学式の残部への化学部分の結合の場所を示す。

【0328】

「オキソ」との用語は、本明細書で使用される場合、炭素原子に二重結合される酸素を意味する。

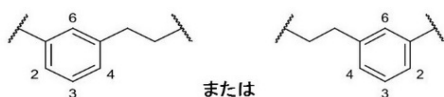
【0329】

アリーレン部分としての「アルキルアリーレン」との用語は、アルキレン部分（本明細書ではアルキレンリンカーとも呼ばれる）に共有結合される。ある実施形態では、アルキルアリーレン基は下の式を有する：

【0330】

【化30】

20



【0331】

アルキルアリーレン部分は、アルキレン部分またはアリーレンリンカー上で（例えば、炭素2、3、4、または6において）、ハロゲン、オキソ、 $-N_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CCl_3$ 、 $-CBr_3$ 、 $-CI_3$ 、 $-CN$ 、 $-CHO$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_2CH_3-SO_3H$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC(O)NHNH_2$ 、置換または非置換の C_1-C_5 アルキル、あるいは置換または非置換の2～5員のヘテロアルキルで置換され得る（例えば、置換基によって）。ある実施形態では、アルキルアリーレンは置換されない。

30

【0332】

上述の用語（例えば、「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「シクロアルキル」、「ヘテロシクロアルキル」、「アリアル」、および「ヘテロアリアル」）の各々は、示されるラジカルの置換形態と非置換形態の両方を含む。各タイプのラジカルに好ましい置換基が以下で提供される。

【0333】

（しばしばアルキレン、アルケニル、ヘテロアルキレン、ヘテロアルケニル（heteroalkenyl）、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、シクロアルケニル、ならびにヘテロシクロアルケニル（heterocycloalkenyl）と呼ばれるそれらの基を含む）アルキルおよびヘテロアルキルのラジカルのための置換基は、限定されないが、 $-OR'$ 、 $=O$ 、 $=NR'$ 、 $=N-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-ハロゲン$ 、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R_2'R''$ 、 $-C(=O)CONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR'R''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR'R''R'''$ 、 $-NC(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR'''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NR_2R'$ 、 $-NR'N$ 、 $R'R''R'''$ 、 $-ONR'R''$ 、 $-NR'C(O)NR'R''R_2'$ 、 $-NR-CN$ 、 $-NO$ 、 SO_2R'' 、 $-NR'C(O)R''$ 、 $-NR'C(O)-OR''$ 、 $-NR'OR''$ から選択され

40

様々な基の1つ以上であり得、ここで、 m' はそのようなラジカル中の炭素原子の総数である。 R 、 R' 、 R'' 、 R''' 、および R'''' はそれぞれ、好ましくは、独立して、水素、置換または非置換のヘテロアルキル、置換または非置換のシクロアルキル、置換または非置換のヘテロシクロアルキル、置換または非置換のアリール（例えば、1～3のハロゲンで置換されたアリール）、置換または非置換のヘテロアリール、置換または非置換のアルキル、アルコキシ、あるいはチオアルコキシ基、もしくはアリールアルキル基を指す。本明細書に記載される化合物が1より多くのR基を含む場合、例えば、R基の各々は独立して、1より多くのこれら基が存在する場合に、それぞれ R' 、 R'' 、 R''' 、および R'''' の基として選択される。 R' および R'' が同じ窒素原子に結合されると、それらは窒素原子と組み合わせられて、4員、5員、6員、または7員の環を形成することができる。例えば、 $-NR'R''$ 10
には、限定されないが、1-ピロリジニルおよび4-モルホリニルが含まれる。上述の置換基に関する記載から、当業者は、「アルキル」との用語が、ハロアルキル（例えば、 $-CF_3$ ならびに $-CH_2CF_3$ ）およびアシル（例えば、 $-C(O)CH_3$ 、 $-C(O)CF_3$ 、 $-C(O)CH_2OCH_3$ など）などの水素基以外の基に結合される炭素原子を含む基を含むように意図されることを、理解する。

【0334】

アルキルラジカルについて記載される置換基と同様に、アリール基およびヘテロアリール基のための置換基は様々であり、芳香環系上のゼロから開放原子価（open valences）の総数までの範囲の数で、例えば、 $-OR'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-SR'$ 、 $-ハロ$ 20
ゲン、 $-SiR'R''R'''$ 、 $-OC(O)R'$ 、 $-C(O)R_2R'$ 、 $-C(=O)ONR'R''$ 、 $-OC(O)NR'R''$ 、 $-NR'R''C(O)R'$ 、 $-NR'-C(O)NR'R''R'''$ 、 $-NC(O)_2R'$ 、 $-NR-C(NR'R''R''')=NR''''$ 、 $-NR-C(NR'R'')=$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)_2NR'R''$ 、 $-NR_2R'$ 、 $-NR'R''$ 、 $-ONR'R''$ 、 $-NR'R''C(O)NR'R''NR'R''R_2R'$ 、 $-R'$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $-N_3$ 、 $-CH(Ph)_2$ 、フルオロ（ C_1-C_4 ）アルコキシ、およびフルオロ（ C_1-C_4 ）アルキル、 $-NR'SOR''$ 、 $-NR'R''C(O)R'$ 、 $-NR'R''C(O)-OR''$ 、 $-NR'OR''$ から選択され、および、 R' 、 R'' 、 R''' 、および R'''' は、好ましくは、独立して、水素、置換または非置換のアルキル、置換または非置換のヘテロアルキル、置換または非置換のシクロアルキル、置換または非置換のヘテロシクロアルキル、置換または非置換のアリール、および置換または非置換のヘテロアリールから選択される。本明細書に記載される化合物が1より多くのR基を含む場合、例えば、R基の各々は独立して、1より多くのこれら基が存在する場合に、それぞれ R' 、 R'' 、 R''' 、および R'''' の基として選択される。 30

【0335】

環（例えば、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール、シクロアルキレン、ヘテロシクロアルキレン、アリーレン、またはヘテロアリーレン）のための置換基は、環の特定の原子上ではなく、環上の置換基として表され得る（共通して浮遊置換基（floating substituent）と呼ばれる）。そのような場合、置換基は（化学結合価の規則に従い）環原子のいずれかに結合されてもよく、および、縮合環またはスピロ環の場合、縮合環またはスピロ環の一員に関連するとして表される置換基（1つの環上の浮遊置換基）は、縮合環またはスピロ環のいずれかの上の置換基（複数の環上の浮遊置換基）であってもよい。置換基は特定の原子（浮遊置換基）ではなく環に結合され、かつ置換基の添字が1より大きな整数である場合、複数の置換基は、同じ原子、同じ環、異なる原子、異なる縮合環、異なるスピロ環上にあってもよく、各置換基は任意選択的に異なるものであってもよい。分子の残部に環が結合する場所が1つの原子（浮遊置換基）に限定されない場合、結合場所は、環の任意の原子であり、縮合環またはスピロ環の場合は、化学結合価の規則に従いながら、縮合環またはスピロ環のいずれかの任意の原子である。環、縮合環、またはスピロ環が1つ以上の環ヘテロ原子を含み、かつ、その環、縮合環、またはスピロ環が1つ以上の浮遊置換基（限定されないが、分子の残部への結合場所を含む）と共に示される場合、上記浮遊置換基はヘテロ原子に結合され得 40 50

る。環ヘテロ原子が、浮遊置換基を有する構造または式において1つ以上の水素（例えば、環原子への2つの結合および水素への3番目の結合を有する窒素原子）に結合されると示される場合、ヘテロ原子が浮遊置換基に結合されると、化学結合価の規則に従いながら、置換基は水素を置き換えると理解される。

【0336】

2つ以上の置換基は、アリール基、ヘテロアリール基、シクロアルキル基、またはヘテロシクロアルキル基を形成するために任意選択的に結合され得る。そのような、いわゆる環形成置換基は、典型的に、必ずではないが、環状塩基構造に結合されると見出される。一実施形態では、環形成置換基は、塩基構造の隣接する員に結合される。例えば、環状塩基構造の隣接する員に結合される2つの環形成置換基が、縮合環構造を作る。別の実施形態では、環形成置換基は、塩基構造の1つの員に結合される。例えば、環状塩基構造の1つの員に結合される2つの環形成置換基が、スピロ環構造を作る。また別の実施形態では、環形成置換基は、塩基構造の隣接していない員に結合される。

【0337】

アリール環またはヘテロアリール環の隣接する原子上の置換基のうち2つは、任意選択的に、式 $-T-C(O)-(CRR')_q-U-$ の環を形成してもよく、ここで、TとUは独立して、 $-NR-$ 、 $-O-$ 、 $-CRR'-$ 、または単結合であり、qは0～3の整数である。代替的に、アリール環またはヘテロアリール環の隣接する原子上の置換基のうち2つは、任意選択的に、式 $-A-(CH_2)_r-B-$ の置換基で置き換えられてもよく、ここで、AとBは独立して、 $-CRR'-$ 、 $-O-$ 、 $-NR-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、または単結合であり、rは1～4の整数である。そのように形成された新たな環の単結合のうち1つは任意選択的に、二重結合で置き換えられ得る。代替的に、アリール環またはヘテロアリール環の隣接する原子上の置換基のうち2つは任意選択的に、式 $-(CRR')_s-X'-(C''R')_d-R$ の置換基で置き換えられてもよく、ここで、sとdは独立して0～3の整数であり、X'は $-O-$ 、 $-NR'-$ 、 $-S-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、または $-S(O)_2NR'-$ である。置換基R、R'、R''、およびR'''は、好ましくは、独立して、水素、置換または非置換のアルキル、置換または非置換のヘテロアルキル、置換または非置換のシクロアルキル、置換または非置換のヘテロシクロアルキル、置換または非置換のアリール、および置換または非置換のヘテロアリールから選択される。

【0338】

本明細書で使用される場合、「ヘテロ原子」または「環ヘテロ原子」との用語は、酸素(O)、窒素(N)、硫黄(S)、リン(P)、およびケイ素(Si)を含むように意図される。

【0339】

「置換基」とは、本明細書で使用される場合、以下の部分から選択される基を意味する：(a) オキソ、ハロゲン、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC=(O)NHNH_2$ 、 $-NHC=(O)NH_2$ 、 $-NH SO_2H$ 、 $-NHC=(O)H$ 、 $-NHC(O)-OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、および(b) 以下から選択される少なくとも1つの置換基で置換された、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール：

(i) オキソ、ハロゲン、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC=(O)NHNH_2$ 、 $-NHC=(O)NH_2$ 、 $-NH SO_2H$ 、 $-NHC=(O)H$ 、 $-NHC(O)-OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、および

(i i) 以下から選択される少なくとも1つの置換基で置換された、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール：

(a) オキソ、ハロゲン、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC=(O)NHNH_2$ 、 $-NHC=(O)NH_2$ 、 $-NHHSO_2H$ 、 $-NHC=(O)H$ 、 $-NHC(O)-OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール、および

(b) 以下から選択される少なくとも1つの置換基で置換された、アルキル、ヘテロアルキル、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、ヘテロアリール：オキソ、ハロゲン、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SH$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_4H$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-NHNH_2$ 、 $-ONH_2$ 、 $-NHC=(O)NHNH_2$ 、 $-NHC=(O)NH_2$ 、 $-NHHSO_2H$ 、 $-NHC=(O)H$ 、 $-NHC(O)-OH$ 、 $-NHOH$ 、 $-OCF_3$ 、 $-OCHF_2$ 、非置換アルキル、非置換ヘテロアルキル、非置換シクロアルキル、非置換ヘテロシクロアルキル、非置換アリール、非置換ヘテロアリール。

【0340】

「サイズ限定置換基 (size-limited substituent)」または「サイズ限定置換基 (size-limited substituent group)」は、本明細書で使用される場合、「置換基」のための上述の置換基のすべてから選択される基を意味し、ここで、各置換または非置換のアルキルはそれぞれ、置換または非置換の C_1-C_{20} アルキルであり、置換または非置換のヘテロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の2～20員のヘテロアルキルであり、置換または非置換のシクロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の C_3-C_8 シクロアルキルであり、置換または非置換のヘテロシクロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の3～8員のヘテロシクロアルキルであり、置換または非置換のアリールはそれぞれ、置換または非置換の C_6-C_{10} アリールであり、および、置換または非置換のヘテロアリールはそれぞれ、置換または非置換の5～10員のヘテロアリールである。

【0341】

「低級置換基 (lower substituent)」または「低級置換基 (lower substituent group)」は、本明細書で使用される場合、「置換基」のための上述の置換基のすべてから選択される基を意味し、ここで、置換または非置換のアルキルはそれぞれ、置換または非置換の C_1-C_8 アルキルであり、置換または非置換のヘテロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の2～8員のヘテロアルキルであり、置換または非置換のシクロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の C_3-C_7 シクロアルキルであり、置換または非置換のヘテロシクロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の3～7員のヘテロシクロアルキルであり、置換または非置換のアリールはそれぞれ、置換または非置換の C_6-C_{10} アリールであり、および、置換または非置換のヘテロアリールはそれぞれ、置換または非置換の5～9員のヘテロアリールである。

【0342】

いくつかの特定の実施形態では、本明細書中の化合物において記載される各置換基は、少なくとも1つの置換基で置換される。より具体的には、いくつかの特定の実施形態では、本明細書中の化合物において記載される置換アルキル、置換ヘテロアルキル、置換シクロアルキル、置換ヘテロシクロアルキル、置換アリール、置換ヘテロアリール、置換アルキレン、置換ヘテロアルキレン、置換シクロアルキレン、置換ヘテロシクロアルキレン、置換アリーレン、および／または置換ヘテロアリーレンはそれぞれ、少なくとも1つの置換基で置換される。他の特定の実施形態では、このような基の少なくとも1つまたはすべてが、少なくとも1つのサイズ限定置換基で置換される。他の特定の実施形態では、このような基の少なくとも1つまたはすべてが、少なくとも1つの低級置換基で置換される。

【0343】

本明細書中の化合物の他の実施形態では、置換または非置換のアルキルはそれぞれ、置換または非置換の C_1-C_{20} アルキルであり、置換または非置換のヘテロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の2～20員のヘテロアルキルであり、置換または非置換のシクロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の C_3-C_8 シクロアルキルであり、置換または非置換のヘテロシクロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の3～8員のヘテロシクロアルキルであり、置換または非置換のアリールはそれぞれ、置換または非置換の C_6-C_{10} アリールであり、および／または置換または非置換のヘテロアリールはそれぞれ、置換または非置換の5～10員のヘテロアリールである。本明細書中の化合物のいくつかの実施形態では、置換または非置換のアルキレンはそれぞれ、置換または非置換の C_1-C_{20} アルキレンであり、置換または非置換のヘテロアルキレンはそれぞれ、置換または非置換の2～20員のヘテロアルキレンであり、置換または非置換のシクロアルキレンはそれぞれ、置換または非置換の C_3-C_8 シクロアルキレンであり、置換または非置換のヘテロシクロアルキレンはそれぞれ、置換または非置換の3～8員のヘテロシクロアルキレンであり、置換または非置換のアリーレンはそれぞれ、置換または非置換の C_6-C_{10} アリーレンであり、および／または置換または非置換のヘテロアリーレンはそれぞれ、置換または非置換の5～10員のヘテロアリーレンである。

【0344】

いくつかの特定の実施形態では、置換または非置換のアルキルはそれぞれ、置換または非置換の C_1-C_8 アルキルであり、置換または非置換のヘテロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の2～8員のヘテロアルキルであり、置換または非置換のシクロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の C_3-C_7 シクロアルキルであり、置換または非置換のヘテロシクロアルキルはそれぞれ、置換または非置換の3～7員のヘテロシクロアルキルであり、置換または非置換のアリールはそれぞれ、置換または非置換の C_6-C_{10} アリールであり、および／または置換または非置換のヘテロアリールはそれぞれ、置換または非置換の5～9員のヘテロアリールである。いくつかの特定の実施形態では、置換または非置換のアルキレンはそれぞれ、置換または非置換の C_1-C_8 アルキレンであり、置換または非置換のヘテロアルキレンはそれぞれ、置換または非置換の2～8員のヘテロアルキレンであり、置換または非置換のシクロアルキレンはそれぞれ、置換または非置換の C_3-C_7 シクロアルキレンであり、置換または非置換のヘテロシクロアルキレンはそれぞれ、置換または非置換の3～7員のヘテロシクロアルキレンであり、置換または非置換のアリーレンはそれぞれ、置換または非置換の C_6-C_{10} アリーレンであり、および／または置換または非置換のヘテロアリーレンはそれぞれ、置換または非置換の5～9員のヘテロアリーレンである。いくつかの特定の実施形態では、化合物は、以下の実施例のセクション、図、または表に記載される化学種である。

【0345】

本発明の特定の化合物は、不斉炭素原子（光学中心またはキラル中心）あるいは二重結合を有し、絶対立体化学に関して、アミノ酸のための（R）-または（S）-、あるいは（D）-または（L）-として定義され得る、エナンチオマー、ラセミ体、ジアステレオマー、互変異性体、幾何異性体、立体異性体（*stereoisomeric*）の形態、および個々の異性体は、本発明の範囲内に包含される。本発明の化合物は、あまりに不安定すぎて合成および／または分離できないと当該技術分野で知られているものを含まない。本発明は、ラセミ形態および光学的に純粋な形態の化合物を含むことが意図される。光学活性の（R）-および（S）-、または（D）-および（L）-の異性体は、キラルシント（*chiral synthon*）またはキラル試薬を使用して調製され得るか、あるいは従来の技術を使用して分離され得る。本明細書に記載される化合物がオレフィンの結合または幾何学的な不斉の他の中心を含む場合、および別段の定めが無い限り、化合物はEとZの幾何異性体の両方を含むことが意図される。

【0346】

本明細書で使用される場合、「異性体」との用語は、同数および同種の原子、したがって同じ分子量を有するが、原子の構造配置または構成に関して異なる化合物を指す。

【0347】

「互変異性体」との用語は、本明細書で使用される場合、平衡状態で存在し、ある異性体形態から別の異性体形態へと容易に変換される、2以上の構造の異性体の1つを指す。

【0348】

本発明の特定の化合物が互変異性形態で存在し、上記化合物のそのような互変異性形態のすべてが本発明の範囲内にあることは、当業者には明白である。

【0349】

特に明記されない限り、本明細書に示される構造はまた、構造のすべての立体化学形態、つまり、各不斉中心のRとSの構成を含むことを意味する。それゆえ、本化合物のエナントオマーとアステレオマーの混合物と同様に、単一の立体化学異性体も本発明の範囲内にある。

10

【0350】

特に明記されない限り、本明細書に記載される構造はまた、1つ以上の同位体濃縮原子 (isotopically enriched atoms) の存在のみが異なる化合物を含むことを意味する。例えば、重水素またはトリチウムによる水素の置き換え、あるいは ^{13}C または ^{14}C 富化炭素による炭素の置き換えを除いて、本発明の構造を有している化合物は本発明の範囲内である。

【0351】

本発明の化合物はまた、そのような化合物を構成する原子の1つ以上において、不自然な比率の原子の同位体を含み得る。例えば、化合物は、例えば、トリチウム (^3H)、ヨウ素 ^{125} (^{125}I)、または炭素 ^{14} (^{14}C) などの放射性同位体で放射標識され得る。本発明の化合物の同位体のバリエーションはすべて、放射性であってもなくても、本発明の範囲内に包含される。

20

【0352】

本出願の全体にわたって、選択肢は、例えば、1より多くの可能なアミノ酸を含有する各アミノ酸位置など、マーカッシュ群で書かれることに注意されたい。マーカッシュ群の各員が別々に考慮されるべきであり、それによって別の実施形態を含み、かつマーカッシュ群は単一ユニットとして読み取られるものでないことが、特に企図されている。

【0353】

「アナログ」または「類似体」は、化学および生物学内のその単純な通常の意味に従って使用され、ならびに、別の化合物（すなわち、いわゆる「基準」化合物）に構造上類似するが、例えば、異なる要素の原子による1つの原子の置き換え、または特定の官能基の存在、または別の官能基による1つの官能基の置き換え、または基準化合物の1つ以上のキラル中心の絶対立体化学などの組成において異なる、化学化合物を指す。したがって、アナログは、構造または起源ではなく、機能および外観において基準化合物に類似するまたは同等である化合物である。

30

【0354】

「1つの(a)」または「1つの(an)」という用語は、本明細書で使用される場合、1つ以上を意味する。加えて、句「1つの(a[n])〜で置換される」とは、本明細書で使用される場合、特定の基が、指定された置換基のいずれかまたはすべての1以上で置換され得ることを意味する。例えば、アルキル基またはヘテロアリール基などの基が、非置換の $\text{C}_1 - \text{C}_{20}$ アルキル、または非置換の2〜20員のヘテロアルキルで置換される場合、その基は、1つ以上の非置換の $\text{C}_1 - \text{C}_{20}$ アルキル、および／または1つ以上の非置換の2〜20員のヘテロアルキルを含み得る。

40

【0355】

さらに、部分がR置換基で置換される場合、基は「R置換される」と言及され得る。部分がR置換される場合、該部分は少なくとも1つのR置換基で置換され、各R置換基は任意選択的に異なる。特定のR基が化学的な属（式(I)など）の記載中に存在する場合、ローマ字記号がその特定のR基の出現をそれぞれ区別するために使用されてもよい。例えば、複数の R^{13} 置換基が存在する場合、各 R^{13} 置換基は、 $\text{R}^{13\text{A}}$ 、 $\text{R}^{13\text{B}}$ 、 $\text{R}^{13\text{C}}$

50

、 R^{13D} などとして区別され得、ここで、 R^{13A} 、 R^{13B} 、 R^{13C} 、 R^{13D} などの各々は、 R^{13} の定義の範囲内で、および任意選択的に異なって定義される。

【0356】

本発明の化合物の説明は、当業者に既知の化学結合の原理により限定される。したがって、基が多く、置換基の1つ以上により置換され得る場合、そのような置換は、化学結合の原理に従うように、かつ、本質的に不安定でない、および／または水性、中性、および様々な既知の生理的条件などの周囲条件下で、おそらく不安定なものとして当業者に知られている、化合物をもたらすように選択される。例えば、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリールは、当業者に既知の化学結合の原理に従って環ヘテロ原子を介して分子の残部に結合され、それにより、本質的に不安定な化合物を回避する。

10

【0357】

「薬学的に許容可能な塩」との用語は、本明細書に記載される化合物上に見出される特定の置換基に応じて、比較的無毒な酸または塩基で調製される活性化合物の塩を含むことを意味する。本発明の化合物が比較的酸性の官能性を含む場合、塩基付加塩が、適切な（*neat*）または適切な不活性溶媒において、そのような化合物の中性形態を十分な量の所望の塩基に接触させることにより、得ることができる。薬学的に許容可能な塩基付加塩の例としては、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、有機アミノ、またはマグネシウムの塩、あるいは同様の塩が挙げられる。本発明の化合物が比較的塩基性の官能性を含む場合、酸付加塩が、適切な（*neat*）または適切な不活性溶媒において、そのような化合物の中性形態を十分な量の所望の酸に接触させることにより、得ることができる。薬学的に許容可能な酸付加塩の例としては、塩酸、臭化水素酸、硝酸、炭酸、一水素炭酸（*monohydrogencarbonic*）、リン酸、一水素リン酸（*monohydrogenphosphoric*）、二水素リン酸（*dihydrogenphosphoric*）、硫酸、一水素硫酸（*monohydrogensulfuric*）、ヨウ化水素酸、または亜リン酸などの無機酸に由来するもの、ならびに、酢酸、プロピオン酸、イソ酪酸、マレイン酸、マロン酸、安息香酸、コハク酸、コルク酸、フマル酸、乳酸、マンデル酸、フタル酸、ベンゼンスルホン酸、*p*-トリルスルホン酸、クエン酸、酒石酸、シュウ酸、メタンスルホン酸などの比較的無毒な有機酸に由来するものが挙げられる。また、アルギニン酸などのアミノ酸の塩、およびグルクロン酸またはガラクトuron酸などの有機酸の塩も含まれる（例えば、Berge et al., “Pharmaceutical Salts”, *Journal of Pharmaceutical Science*, 1977, 66, 1-19を参照）。本発明のある特定の化合物は、その化合物を塩基付加塩または酸付加塩のいずれかに変換することを可能にする、塩基性の官能性と酸性の官能性の両方を含んでいる。

20

30

【0358】

したがって、本発明の化合物は、薬学的に許容可能な酸などと共に、塩として存在し得る。本発明はそのような塩を含む。そのような塩の非限定的な塩としては、塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩、硫酸塩、メタンスルホン酸塩、硝酸塩、マレイン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、フマル酸塩、プロピオン酸塩、酒石酸塩（例えば、（+）-酒石酸塩、（-）-酒石酸塩、またはラセミ混合物を含むそれらの混合物）、コハク酸塩、安息香酸塩、および、グルタミン酸などのアミノ酸を有する塩、および第四級アンモニウム塩（例えば、ヨウ化メチル、ヨウ化エチルなど）が挙げられる。このような塩は、当業者に既知の方法により調製され得る。

40

【0359】

化合物の中性形態は、塩を塩基または酸に接触させ、従来の方法で親化合物を単離することにより、再生成されることが好ましい。化合物の親の形態は、極性溶媒における可溶性などの特定の物理的性質において、様々な塩の形態とは異なり得る。ある実施形態では、本発明の化合物は、化合物を塩基または酸付加塩のいずれかに変換することを可能にする、塩基性の官能性と酸性の官能性の両方を含んでいる。化合物の中性形態は、塩を塩基または酸に接触させ、従来の方法で親化合物を単離することにより、再生成され得る。化

50

化合物の親の形態は、極性溶媒における可溶性などの特定の物理的性質において、様々な塩の形態とは異なるが、特に明記されない限り、本明細書に開示される塩は、本発明の目的のための化合物の親の形態と同等である。

【0360】

塩の形態に加えて、本発明は、プロドラッグ形態である化合物を提供する。本明細書に記載される化合物のプロドラッグは、本発明の化合物を提供するために、生理学条件下で容易に化学変化を受ける化合物である。本明細書に記載される化合物のプロドラッグは、投与後にインビボで変換され得る。加えて、プロドラッグは、例えば、適切な酵素または化学試薬と接触する場合など、エキソビボの環境において、化学的または生化学的方法により本発明の化合物に変換され得る。

10

【0361】

本発明の特定の化合物は、非溶媒和形態ならびに溶媒和形態で存在することができ、これらは水和形態を含む。通常、溶媒和形態は、非溶媒和形態と同等であり、本発明の範囲内に包含される。本発明の特定の化合物は、複数の結晶形態または非晶質形態で存在し得る。通常、物理的形状はすべて、本発明により企図される用途にあてはまり、本発明の範囲内にあるように意図される。

【0362】

「接触させる」とは、その単純な通常の意味に従って使用されるものであり、少なくとも2つの別種（例えば、生体分子または細胞を含む化学化合物）が、反応、相互作用、または物理的接触を行うのに十分に隣接することを可能にするプロセスを指す。しかし、結果として生じる反応生成物は、追加の試薬間の反応から直接生成され得るか、または、反応混合物中に生成され得る追加の試薬の1つ以上からの中間体から生成され得ることを理解されたい。

20

【0363】

「接触させる」との用語は、2つの種が反応、相互作用、または物理的接触を行うことを可能にすることを含み、ここで、上記2つの種は、本明細書に記載される化合物、およびタンパク質または酵素であり得る。いくつかの実施形態では、接触させることは、本明細書に記載される化合物がシグナル経路に関与するタンパク質または酵素と相互作用することを可能にすることを含む。

【0364】

本明細書に定義されるように、タンパク質に関して、「活性化」、「活性化する」、「活性化すること」などの用語は、タンパク質を初期の不活性化状態または不活性化状態から生物学的に活性な誘導体へと変換することを指す。これらの用語は、シグナル伝達または酵素活性、あるいは疾患における減少したタンパク質の量の活性化、またはそれを活性化すること、感作させること、またはアップレギュレートすることを指す。

30

【0365】

「アゴニスト」、「アクチベーター」、「アップレギュレーター (upregulator)」など用語は、所与の遺伝子あるいはタンパク質の発現または活性を検出できるほどに増大させることができる物質を指す。アゴニストは、アゴニストがない状態での対照と比較して、発現または活性を10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%以上増大させることができるある例では、発現または活性は、アゴニストがない状態での発現または活性よりも1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、あるいはそれ以上である。ある実施形態では、アゴニストは、標的の活性化の増大を引き起こすか、または促進するために、標的と相互作用する分子である。ある実施形態では、アクチベーターは、例えば、遺伝子、タンパク質、リガンド、受容体、あるいは細胞を、増大させるか、活性化するか、促進するか、活性化増強するか、感作させるか、またはアップレギュレートする分子である。

40

【0366】

本明細書に定義されるように、タンパク質阻害剤の相互作用に関して、「阻害」、「阻害する」、「阻害すること」などの用語は、阻害剤がない状態でのタンパク質の活性また

50

は機能と比較して、タンパク質の活性または機能に負に影響を及ぼす（例えば、減少させる）ことを意味する。実施形態では、阻害とは、阻害剤がない状態でのタンパク質の濃度またはレベルと比較して、タンパク質の濃度またはレベルに負に影響を及ぼす（例えば、減少させる）ことを意味する。実施形態では、阻害とは、疾患または疾患の症状の低減を指す。ある実施形態では、阻害とは、特定のタンパク質標的の活性の減少を指す。したがって、阻害は、少なくとも部分的に、部分的に、または完全に、刺激を遮断し、活性化を減らし、防ぎ、または遅延させ、あるいは、シグナル伝達、または酵素活性、またはタンパク質の量を不活性化し、脱感作し、またはダウンレギュレートすることを含む。ある実施形態では、阻害とは、直接相互作用（例えば、阻害剤が標的タンパク質に結合する）に起因する標的タンパク質の活性の減少を指す。ある実施形態では、阻害とは、間接的相互作用（例えば、阻害剤が標的タンパク質を活性化するタンパク質に結合し、それにより標的タンパク質の活性化を妨げる）からの標的タンパク質の活性の減少を指す。

【0367】

「阻害剤」、「抑制因子」あるいは「アンタゴニスト」または「ダウンレギュレーター（downregulator）」との用語は、所与の遺伝子もしくはタンパク質の発現または活性を検出できるほどに減少させることができる物質を、交換可能に指す。アンタゴニストは、アンタゴニストがない対照と比較して、発現または活性を10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%以上減少させることができる。ある例では、発現または活性は、アンタゴニストがない発現または活性よりも1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、またはそれよりも低い。アンタゴニストは、アゴニストの活性を防ぐか、減少させるか、阻害するか、あるいは中和し、および、アンタゴニストは、同定されたアゴニストがない場合でさえ、標的、例えば、標的受容体の恒常的活性を防ぐか、阻害するか、減少させることもできる。ある実施形態では、阻害剤は、例えば、遺伝子、タンパク質、リガンド、受容体、あるいは細胞を減少させるか、遮断するか、防ぐか、活性化を遅らせるか、不活性化するか、脱感作するか、またはダウンレギュレートする分子である。阻害剤は、恒常的活性を減少させるか、遮断するか、不活性化する分子としても定義されることがある。「アンタゴニスト」は、アゴニストの作用に対抗する分子である。

【0368】

「疾患」または「疾病」との用語は、本明細書で提供される化合物または方法で処置することができる患者あるいは対象の状態、または健康状態を指す。疾患は癌であり得る。

【0369】

「処置すること（treating）」あるいは「処置（treatment）」との用語は、損傷、疾患、病態、あるいは疾病の治療または寛解における成功の任意の徴候を指し、これには、任意の客観的または主観的なパラメータ、例えば、寛解；症状を減少させるか、または損傷、病態、あるいは疾病を患者にとってより許容できるものにする；変性または衰退の速度を遅くすること；変性の最終ポイントをそれほど衰弱させなくすること；患者の肉体的または精神的な健康を改善することが含まれる。症状の処置または寛解は、身体診察、神経精神医学的検査、および／または精神鑑定の結果を含む、客観的または主観的なパラメータに基づき得る。用語「処置すること」およびその活用形は、損傷、病状、疾病、または疾患の予防を含み得る。ある実施形態では、処置することは予防することである。ある実施形態では、処置することは予防することを含まない。

【0370】

「処置すること」または「処置」は、本明細書で使用される場合（および、当技術分野においてよく理解されるように）、臨床結果を含む対象の状態における有益な結果あるいは所望の結果を得るための任意のアプローチも広く含む。有益または所望の臨床結果としては、限定されないが、部分的または全体的にかかわらず、および、検出可能または検出不可能なものにかかわらず、1以上の症状または状態の緩和または寛解、疾患の範囲の減少、疾患の状態の安定化（すなわち、悪化しない）、病気の伝染または蔓延の予防、疾患進行の遅延または減速、疾患状態の改善または軽減、および寛解が挙げられる。言い換え

れば、「処置」は、本明細書で使用される場合、疾病の任意の治療、寛解、または予防を含む。処置は、疾患が生じることを予防し；疾患の蔓延を阻害し；病気の症状を十分に緩和するか、完全にまたは部分的に病気の根本的な原因を除去するか、病気の持続時間を短くするか、これらのものの組み合わせを行うことができる。

【0371】

「処置する」および「処置」は、明細書で使用される場合、予防処置を含むこともある。処置方法は、治療的に有効な量の本明細書に記載される化合物を対象に投与する工程を含む。投与する工程は、一回投与からなるものであってもよいし、一連の投与を含んでもよい。処置期間の長さは、疾病の重症度、患者の年齢、化合物の濃度、処置で 사용되는組成物の活性、またはそれらの組み合わせなどの、様々な因子に依存する。処置または予防のために使用される薬剤の有効量は、特定の処置または予防レジメンの間に増加または減少され得ることが理解されるだろう。投与量の変化は、当該技術分野で既知の標準的な診断アッセイによって結果として生じ、かつ明白となり得る。いくつかの例では、長期投与が必要とされる場合もある。例えば、組成物は、患者を処置するのに十分な量および期間で対象に投与される。

10

【0372】

「予防する (prevent)」との用語は、患者の症状の発生の減少を指す。上に示されるように、処置がない場合に発生する可能性のある症状と比べて、より少ない症状が観察されるように、予防は完全であり得る（検出可能な症状がない）か、または部分的であり得る。ある実施形態では、予防するとは、疾患、疾病、または状態の進行を遅くするか、あるいは有害な、そうでなければ望ましくない状態への進行を阻害することを指す。

20

【実施例】

【0373】

これらの実施例は、説明目的で提供されるものに過ぎず、本明細書で提供される特許請求の範囲を限定するものではない。

化学合成の実施例

表1の化合物は、以下の実施例に記載されるように調製される。

【0374】

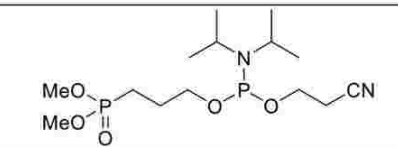
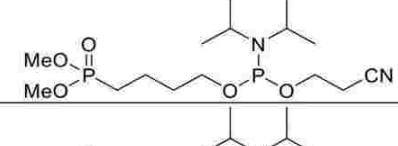
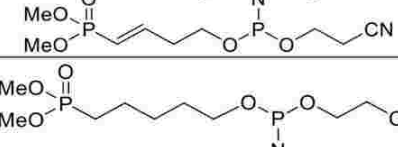
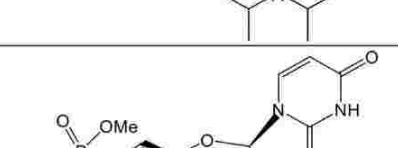
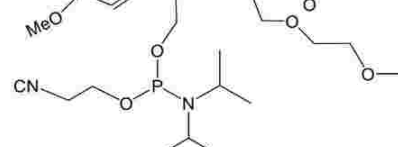
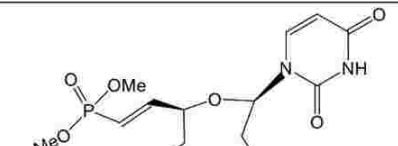
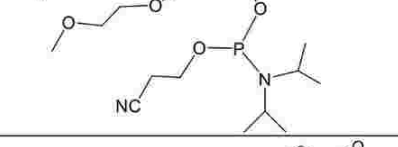
30

40

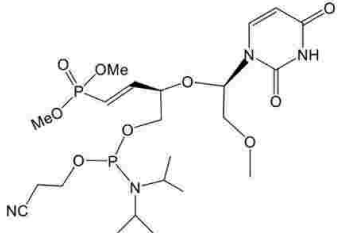
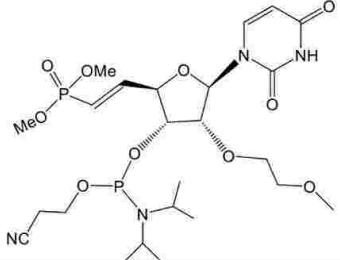
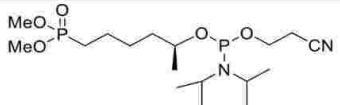
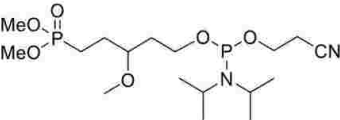
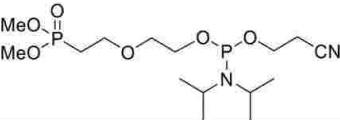
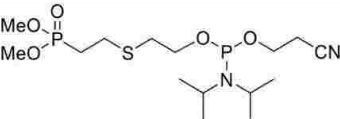
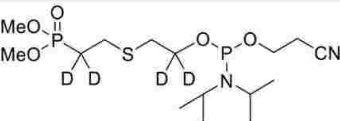
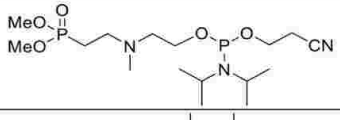
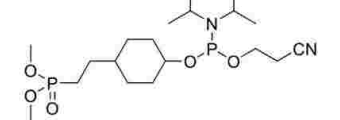
50

【表 1 - 1】

表 1

化合物/ Eg No	構造	AVID No
1		vpUh
2		vpUe
3		vpUb
4		vpUk
5		vPUq
6		vPUw
7		vPUx

【表 1 - 2】

化合物/ Eg No	構造	AVID No
8		vPUy
10		vPUm
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		

【 0 3 7 6 】

10

20

30

40

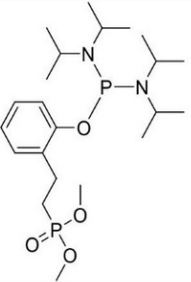
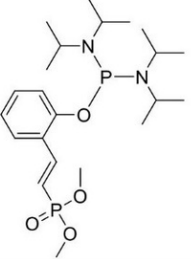
50

【表 1 - 3】

化合物/ Eg No	構造	AVID No
18		
19		10
20		
21		
22		20
23		
24		30
25		

【 0 3 7 7 】

【表 1 - 4】

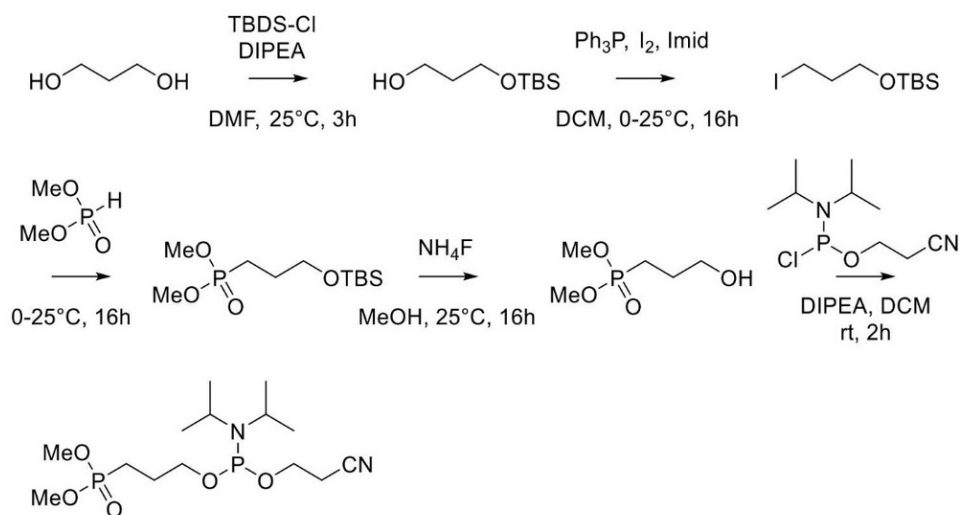
化合物/ Eg No	構造	AVID No
26		
27		

【 0 3 7 8】

実施例 1：2-シアノエチル（3-（ジメトキシホスホリル）プロピル）ジイソプロピル
ホスホルアミダイト

【 0 3 7 9】

【化 3 1】



【 0 3 8 0】

工程 1 A：3-（（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ）プロパン-1-オール

【 0 3 8 1】

【化 3 2】



【0382】

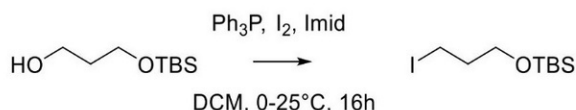
DMF中のプロパン-1, 3-ジオール(1.00当量)の溶液に、DIPEA(10.0当量)およびTBSCl(1.05当量)を添加した。混合物を25℃で16時間攪拌した。TLC(石油エーテル/酢酸エチル=5/1、 $R_f=0.43$)により、プロパン-1, 3-ジオールが完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮し、酢酸エチル(100mL)で希釈し、水(200mL×3)で洗浄した。組み合わせた有機層をブライン(200mL)で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで残渣を得て、これをカラムクロマトグラフィー(SiO_2 、PMA石油エーテル/酢酸エチル=100/1~1/1)によって精製した。

【0383】

工程1B: tert-ブチル(3-ヨードプロポキシ)ジメチルシラン

【0384】

【化33】



【0385】

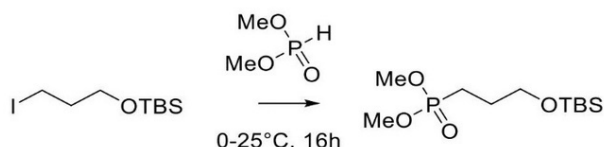
イミダゾール(1.50当量)およびヨード(1.35当量)は、DCM中の PPH_3 (1.20当量)の溶液に添加した。DCM中の3-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)プロパン-1-オール(1.00当量)を混合物に滴下し、これを25℃で16時間攪拌した。TLC(石油エーテル/酢酸エチル=5/1、化合物3B: $R_f=0.89$)により、tert-ブチル(3-ヨードプロポキシ)ジメチルシランが完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮し、結果として生じる残渣をカラムクロマトグラフィー(SiO_2 、PMA石油エーテル/酢酸エチル=1/0~100/1)によって精製した。

【0386】

工程1C: ジメチル(3-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)プロピル)ホスホネート

【0387】

【化34】



【0388】

THF中のジメチルホスホネート(1.30当量)の溶液に、水素化ナトリウム(1.30当量)を0℃で添加した。混合物を0℃で0.5時間攪拌し、その後、70℃で1.5時間攪拌した。その後、混合物を0℃に冷却し、THF中のtert-ブチル(3-ヨードプロポキシ)ジメチルシラン(1.00当量)を混合物に添加し、25℃で24時間攪拌した。TLC(石油エーテル:酢酸エチル=1:1、生成物: $R_f=0.38$)により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を NH_4Cl の添加によってクエンチし、その後、酢酸エチルで希釈し、 NH_4Cl で洗浄した。組み合わせた有機層をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、カラムクロマトグラフィー(SiO_2 、PMA、石油エーテル:酢酸エチル=1:0~1:1)によって精製した。

【0389】

10

20

30

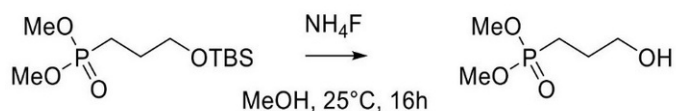
40

50

工程 1 D : ジメチル (3 - ヒドロキシプロピル) ホスホネート

【 0 3 9 0 】

【 化 3 5 】



【 0 3 9 1 】

MeOH 中のジメチル (3 - ((t e r t - ブチルジメチルシリル) オキシ) プロピル) ホスホネート (1 . 0 0 当量) の溶液に、 NH_4F (3 . 0 0 当量) を添加した。混合物を 65°C で 3 時間攪拌した。T L C (石油エーテル / 酢酸エチル = 0 / 1 、生成物 $R_f = 0 . 0 9$) により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮し、結果として生じる残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、 KMnO_4 石油エーテル / 酢酸エチル = 1 0 / 1 ~ 0 : 1) によって精製した。

10

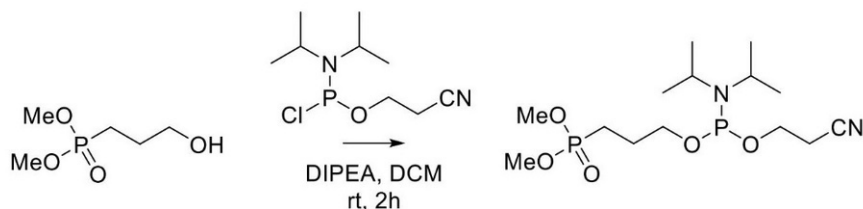
【 0 3 9 2 】

工程 1 E : 2 - シアノエチル (3 - (ジメトキシホスホリル) プロピル) ジイソプロピルホスホルアミダイト

【 0 3 9 3 】

【 化 3 6 】

20



【 0 3 9 4 】

DCM 中のジメチル (3 - ヒドロキシプロピル) ホスホネート (1 . 0 0 当量) の溶液に、 DIPEA (4 . 0 0 当量) および 3 - ((クロロ (ジイソプロピルアミノ) ホスファニル (p h o s p h a n e y l)) オキシ) プロパンニトリル (1 . 2 0 当量) を 0°C で添加した。混合物を 25°C で 1 時間攪拌した。T L C (石油エーテル / 酢酸エチル = 0 / 1 、生成物 $R_f = 0 . 4 3$) により、化合物が完全に消費されたことが示された。反応混合物を NaHCO_3 の添加によってクエンチし、 DCM で希釈し、 DCM ($5\text{ mL} \times 2$) で抽出した。組み合わせた有機層をブラインで洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで残渣を得て、これをカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、石油エーテル / 酢酸エチル / TEA / DCM = 1 0 / 1 / 0 . 5 % / 2 5 % ~ 3 / 1 / 0 . 5 % / 2 5 %) によって精製した。

30

^1H NMR : 400 MHz , CD_3CN : δ ppm 3 . 5 1 - 3 . 7 5 (m , 2 H) , 3 . 5 5 - 3 . 7 0 (m , 1 0 H) , 2 . 6 4 (t , $J = 6 . 0 2 \text{ Hz}$, 2 H) , 1 . 7 6 - 1 . 8 3 (m , 4 H) , 1 . 1 6 - 1 . 1 8 (m , 1 2 H)

40

^{31}P NMR : 162 MHz , CD_3CN : δ ppm 1 4 7 . 1 9 (s , 1 P) , 3 4 . 0 3 (s , 1 P) .

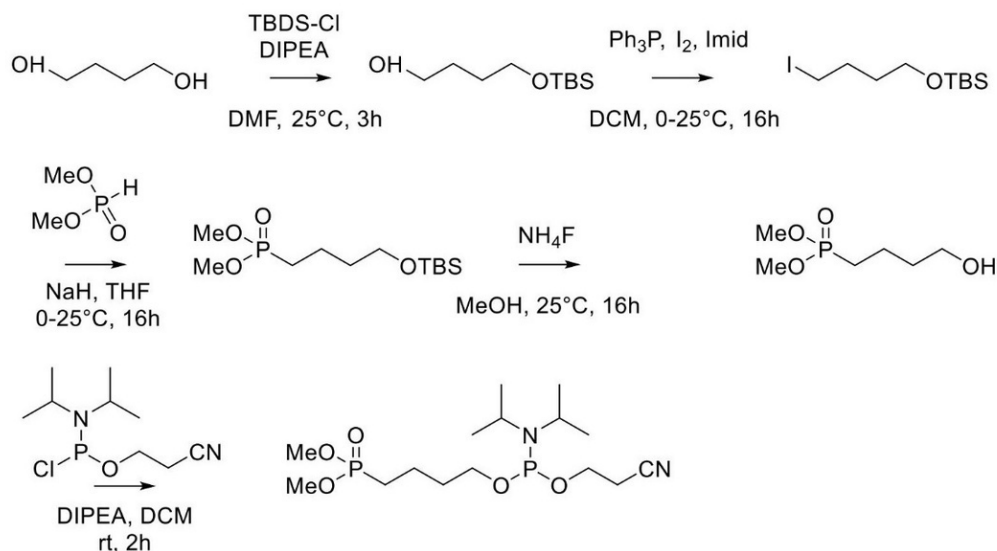
【 0 3 9 5 】

実施例 2 : 2 - シアノエチル (4 - (ジメトキシホスホリル) ブチル) ジイソプロピルホスホルアミダイト

【 0 3 9 6 】

50

【化 3 7】



10

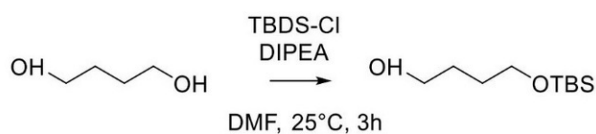
【 0 3 9 7】

工程 2 A : 4 - ((t e r t - ブチルジメチルシリル) オキシ) ブタン - 1 - オール

【 0 3 9 8】

20

【化 3 8】



【 0 3 9 9】

DMF (70.0 mL) 中のブタン - 1, 4 - ジオール (10.0 g、110 mmol、9.80 mL、1.00 当量) の溶液に、DIPEA (143 g、1.11 mol、1.93 mL、10.0 当量) および TBSCl (17.5 g、116 mmol、14.3 mL、1.05 当量) を添加した。混合物を 25°C で 16 時間攪拌した。TLC (石油エーテル / 酢酸エチル = 5 / 1、 $R_f = 0.43$) により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮して残渣を得て、その後、酢酸エチル (100 mL) で希釈し、水 (200 mL × 3) で洗浄した。組み合わせた有機層をブライン (200 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで残渣を得た。残渣を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、PMA 石油エーテル / 酢酸エチル = 100 / 1 ~ 1 / 1) によって精製した。白色固形物として 4 - ((t e r t - ブチルジメチルシリル) オキシ) ブタン - 1 - オール (112 g、58.7 mmol、52.9% の収率) を得た。

30

^1H NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ ppm 3.51 - 3.65 (m, 4H), 1.43 - 1.66 (m, 4H), 0.80 - 0.86 (m, 9H), -0.06 - 0.03 (m, 6H).

40

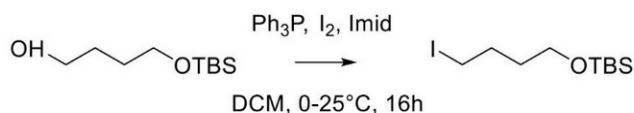
【 0 4 0 0】

工程 2 B : t e r t - ブチル (4 - ヨードブトキシ) ジメチルシラン

【 0 4 0 1】

50

【化 3 9】



【0 4 0 2】

DCM (20.0 mL) 中の PPh_3 (7.70 g、29.3 mmol、1.20 当量) の溶液に、イミダゾール (2.50 g、36.7 mmol、1.50 当量) およびヨード (8.38 g、33.0 mmol、6.65 mL、1.35 当量) を添加した。DCM (15.0 mL) 中の 4-(tert-ブチルジメチルシリル) オキシ) ブタン-1-オール (5.00 g、24.4 mmol、1.00 当量) を混合物に滴下した。混合物を 25°C で 16 時間撹拌した。TLC (石油エーテル/酢酸エチル = 5/1、 $R_f = 0.89$) により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮し、結果として生じる残渣をカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、PMA 石油エーテル/酢酸エチル = 1/0 ~ 100/1) によって精製した。無色の油として tert-ブチル (4-ヨードブトキシ) ジメチルシラン (6.70 g、21.32 mmol、87.1% の収率) を得た。

^1H NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ ppm 3.64 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 3.23 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 1.92 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.58–1.68 (m, 2H), 0.89–0.93 (m, 9H), 0.03–0.08 (m, 6H)。

【0 4 0 3】

工程 2 C: ジメチル (4-(tert-ブチルジメチルシリル) オキシ) ブチル) ホスホネート

【0 4 0 4】

【化 4 0】



【0 4 0 5】

THF (15.0 mL) 中の ジメチルホスホネート (1.46 g、13.2 mmol、1.21 mL、1.30 当量) の溶液に、NaH (529 mg、13.2 mmol、60.0% の純度、1.30 当量) を 0°C で添加し、混合物を 0°C で 0.5 時間および 70°C で 1.5 時間撹拌した。その後、反応混合物を 0°C に冷却し、THF (5.00 mL) 中の tert-ブチル (4-ヨードブトキシ) ジメチルシラン (3.20 g、10.2 mmol、2.64 mL、1.00 当量) を混合物に添加し、25°C で 24 時間撹拌した。TLC (石油エーテル: 酢酸エチル = 1:1、生成物: $R_f = 0.38$) により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を NH_4Cl (100 mL) の添加によってクエンチし、その後、酢酸エチル (100 mL) で希釈し、 NH_4Cl (100 mL) で洗浄した。組み合わせた有機層をブライン (100 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで残渣を得て、これをカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、PMA、石油エーテル: 酢酸エチル = 1:0 ~ 1:1) によって精製した。無色の油として ジメチル (4-(tert-ブチルジメチルシリル) オキシ) ブチル) ホスホネート (2.20 g、7.42 mmol、72.9% の収率) を得た。

^1H NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ ppm 3.74 (d, $J = 10.8$ Hz, 6H), 3.62 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 1.57–1.83 (m, 7H)

), 0.89 (s, 9H), 0.05 (s, 6H)

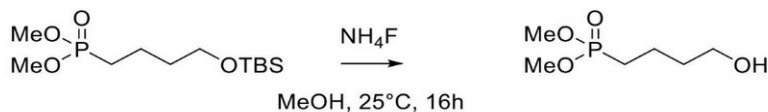
^{31}P NMR: 162 MHz CDCl_3 : δ ppm 34.93 (s, 1P).

【0406】

工程2D: ジメチル(4-ヒドロキシブチル)ホスホネート

【0407】

【化41】



10

【0408】

MeOH (21.0 mL) 中のジメチル(4-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)ブチル)ホスホネート (2.10 g、7.08 mmol、1.00 当量) の溶液に、 NH_4F (787 mg、21.2 mmol、3.00 当量) を添加した。混合物を 65°C で3時間攪拌した。TLC (石油エーテル/酢酸エチル=0/1、 $R_f=0.09$) により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮し、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、 KMnO_4 石油エーテル/酢酸エチル=10/1~0:1) によって精製した。無色の油としてジメチル(4-ヒドロキシブチル)ホスホネート (1.3 g、粗製) を得た。 ^1H NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ ppm 3.74 (d, $J=10.8$ Hz, 6H), 3.66 (t, $J=6.0$ Hz, 2H), 1.98 (s, 1H), 1.62–1.85 (m, 6H).

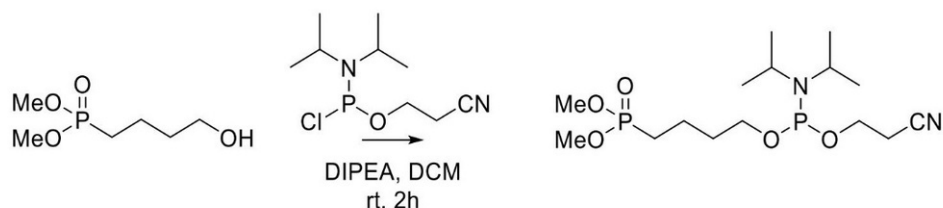
20

【0409】

工程2E: 2-シアノエチル(4-(ジメトキシホスホリル)ブチル)ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0410】

【化42】



30

【0411】

DCM (13.0 mL) 中のジメチル(4-ヒドロキシブチル)ホスホネート (1.30 g、7.14 mmol、1.00 当量) の溶液に、DIPEA (3.69 g、28.5 mmol、4.97 mL、4.00 当量) および3-(クロロ(ジイソプロピルアミノ)ホスファニル)オキシ)プロパンニトリル (2.03 g、8.56 mmol、1.20 当量) を 0°C で添加した。混合物を 25°C で1時間攪拌した。TLC (石油エーテル/酢酸エチル=0/1、生成物: $R_f=0.43$) により、化合物が完全に消費されたことが示された。反応混合物を NaHCO_3 (20 mL) の添加によってクエンチし、その後、 DCM (10 mL) で希釈し、 DCM (5 mL $\times$ 2) で抽出した。組み合わせた有機層を、ブライン (20 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残渣を得た。残渣を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、石油エーテル/酢酸エチル/TEA/DCM=10/1/0.5%/25%~3/1/0.5%/25%) によって精製した。無色の油として2-シアノエチル(4-(ジメトキシホスホリル)ブチル)ジイソプロピルホスホルアミダイト (0.173 g、452 μmol 、6.34% の収率) を得た。

40

^1H NMR: 400 MHz, CD_3CN : δ ppm 3.71–3.84 (m, 2H)

50

, 3.56–3.70 (m, 10H), 2.64 (t, J=6.02 Hz, 2H), 1.58–1.79 (m, 7H), 1.13–1.20 (m, 14H).

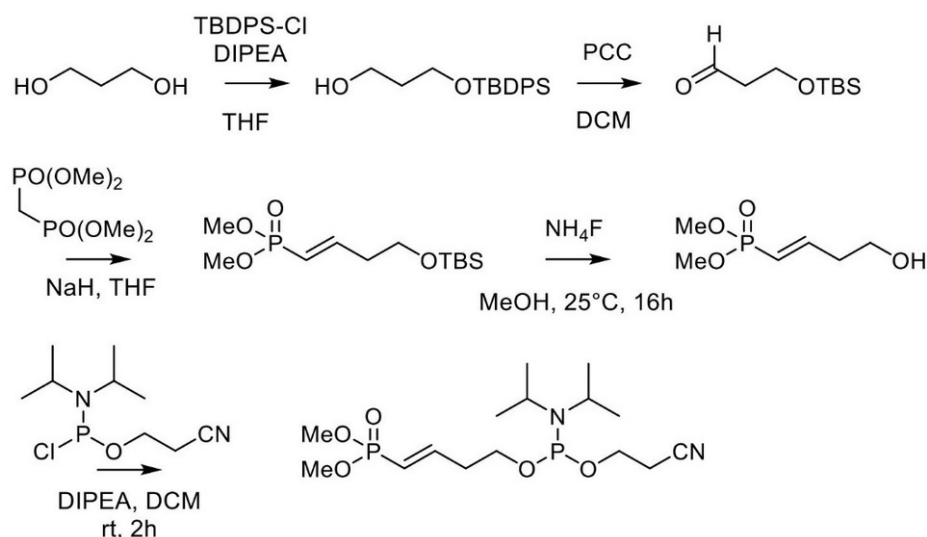
^{31}P NMR: 162 MHz, CD_3CN : δ ppm 147.03 (s, 1P), 34.12 (s, 1P).

【0412】

実施例3：(ジメチル(E)–(5–((2–シアノエトキシ)(ジイソプロピルアミノ)ホスファニル)ペント–1–エン–1–イル)ホスホネート)

【0413】

【化43】

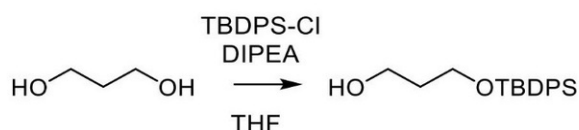


【0414】

工程3A：3–((tert–ブチルジフェニルシリル)オキシ)プロパン–1–オール

【0415】

【化44】



【0416】

DMF (90.0 mL) 中のプロパン–1, 3–ジオール (9.0 g、100 mmol、1 当量) の溶液に、DIPEA (143 g、1.11 mol、193 mL、10.0 当量) および TBDPSCl (30.4 g、110 mmol) を添加した。混合物を 25°C で 16 時間攪拌した。TLC (石油エーテル/酢酸エチル=5/1、生成物 R_f =0.55) により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮し、酢酸エチル (100 mL) で希釈し、 H_2O (200 mL $\times$ 3) で洗浄した。組み合わせた有機層をブライン (200 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで残渣を得た。残渣を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、PMA 石油エーテル/酢酸エチル=100/1~1/1) によって精製した。白色固形物として 3–((tert–ブチルジフェニルシリル)オキシ)プロパン–1–オール (16.4 g、50% の収率) を得た。

【0417】

工程3B：3–((tert–ブチルジフェニルシリル)オキシ)プロパナール

【0418】

10

20

30

40

50

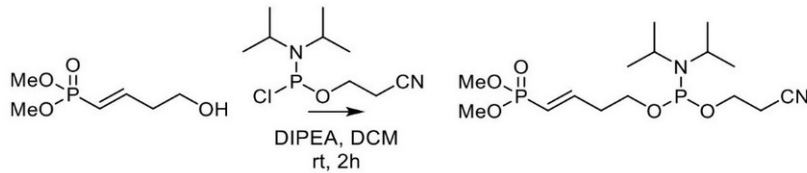
してジメチル- (4-ヒドロキシブト-1-エン-1-イル) ホスホネート (1.06 g) を得た。

【0426】

工程3E: 2-シアノエチル (4- (ジメトキシホスホリル) ブト-3-エン-1-イル) ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0427】

【化48】



10

【0428】

DCM (10 mL) 中のジメチル- (4-ヒドロキシブト-1-エン-1-イル) ホスホネート (0.7 g, 3.8 mmol, 1 当量) の溶液に、ジイソプロピルアンモニウムテトラゾリド (0.84 g) および 2-シアノエチル N, N, N, N-テトライソプロピルホスホロジアミダイト (1.9 g) を添加した。混合物を 0°C で 1 時間攪拌し、NaHCO₃ (20 mL) によってクエンチし、DCM (10 mL) で希釈し、その後、DCM (10 mL × 2) で抽出した。組み合わせた有機層をブライン (20 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで残渣を得て、これをカラムクロマトグラフィー (SiO₂、石油エーテル/酢酸エチル/TEA/DCM = 10/1/0.5% / 25% ~ 3/1/0.5% / 25%) によって精製した。無色の油として 2-シアノエチル (4- (ジメトキシホスホリル) ブト-3-エン-1-イル) ジイソプロピルホスホルアミダイト (0.3) を得た。¹H NMR: 400 MHz, CD₃CN: δ ppm 6.7-7.9 (m, 1H), 5.75 (dd, 1H), 4.1-4.25 (m, 2H), 3.8-3.95 (m, 4H), 3.70-3.85 (m, 6H), 3.50-3.70 (m, 4H), 2.55-2.85 (m, 6H), 1.20-1.50 (m, 6H)

20

³¹P NMR: 162 MHz, CDCl₃: δ ppm 147.81 (s, 1P), 31.39 (s, 1P) .

30

【0429】

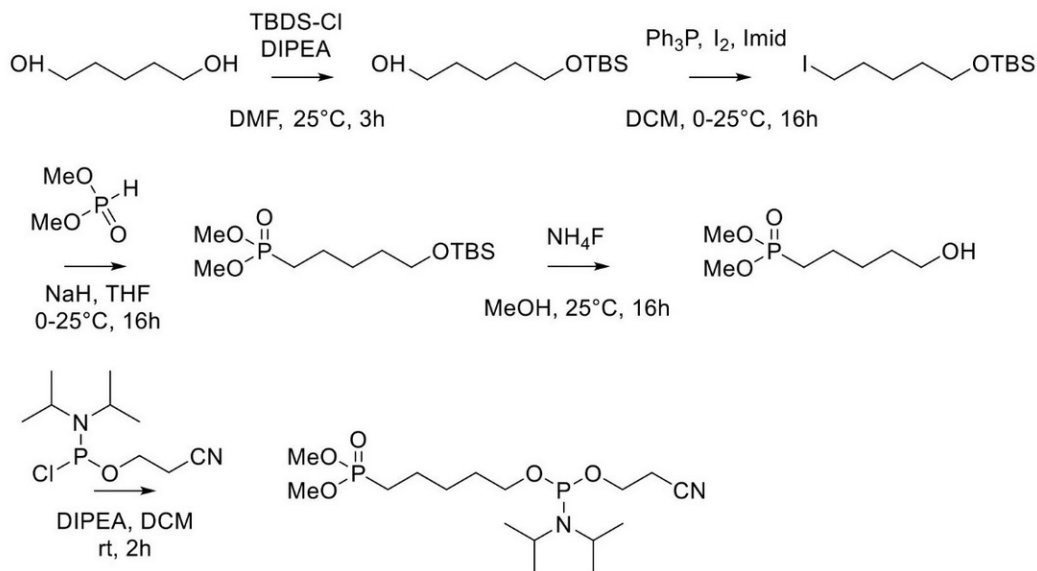
実施例4: 2-シアノエチル (5- (ジメトキシホスホリル) ペンチル) ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0430】

40

50

【化 4 9】



10

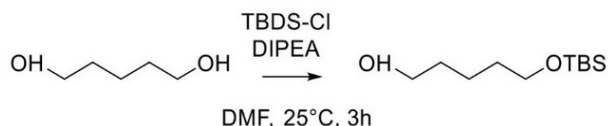
【 0 4 3 1】

工程 4 A : 5 - ((t e r t - ブチルジメチルシリル) オキシ) ペンタン-1-オール

20

【 0 4 3 2】

【化 5 0】



【 0 4 3 3】

DMF (100 mL) 中のペンタン-1, 5-ジオール (10.0 g、96.0 mmol、10.1 mL、1.00 当量) の溶液に、DIPEA (124 g、960 mmol、167 mL、10.0 当量) および TBSCl (15.2 g、100 mmol、12.3 mL、1.05 当量) を添加した。混合物を 25°C で 16 時間攪拌した。TLC (石油エーテル/酢酸エチル = 5/1、生成物: $R_f = 0.43$) により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮し、酢酸エチル (200 mL) で希釈し、水 (200 mL $\times$ 3) で洗浄した。組み合わせた有機層をブライン (400 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで残渣を得て、これをカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、石油エーテル/酢酸エチル = 100/1 ~ 1/1) によって精製した。無色の油として 5 - ((t e r t - ブチルジメチルシリル) オキシ) ペンタン-1-オール (11.5 g、52.6 mmol、54.8% の収率) を得た。

^1H NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ ppm 3.55-3.61 (m, 4 H), 1.88 (s, 1 H), 1.53-1.56 (m, 4 H), 1.46-1.51 (m, 2 H), 0.82-0.85 (m, 9 H), 0.00-0.01 (m, 6 H).

30

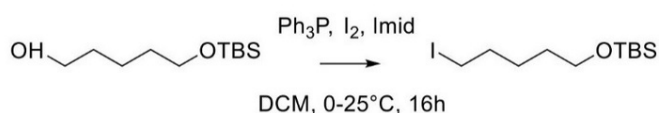
40

【 0 4 3 4】

工程 4 B : t e r t - ブチル ((5 - ヨードペンチル) オキシ) ジメチルシラン

【 0 4 3 5】

【化 5 1】



50

【0436】

DCM (20.0 mL) 中の Ph_3P (7.64 g、29.1 mmol、1.20 当量) の溶液に、イミダゾール (2.48 g、36.4 mmol、1.50 当量) およびヨード (8.31 g、32.7 mmol、6.60 mL、1.35 当量) を 0℃ で添加した。DCM (15.0 mL) 中の 5-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)ペンタン-1-オール (5.30 g、24.2 mmol、1 当量) を混合物に滴下した。混合物を 25℃ で 16 時間撹拌した。TLC (石油エーテル/酢酸エチル=10/1、生成物: $R_f=0.89$) により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮し、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、石油エーテル/酢酸エチル=1/0) によって精製した。無色の油として tert-ブチル((5-ヨードペンチル)オキシ)ジメチルシラン (7.00 g、21.3 mmol、87.8% の収率) を得た。

^1H NMR: 400 MHz, CDCl_3 : δ ppm 3.62 (t, $J=6.2$ Hz, 2H), 3.20 (t, $J=7.0$ Hz, 2H), 1.85 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.51–1.58 (m, 2H), 1.41–1.49 (m, 2H), 0.88–0.92 (m, 9H), 0.06 (d, $J=0.8$ Hz, 6H)。

【0437】

工程 4C: ジメチル(5-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)ペンチル)ホスホネート

【0438】

【化52】



【0439】

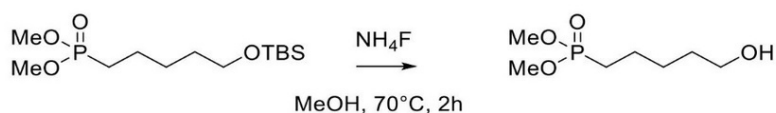
アルゴン下で、三つ口の丸底フラスコに、NaH (792 mg、19.8 mmol、60% の分散、1.30 当量)、THF (30.0 mL)、およびジメチルホスホネート (2.18 g、19.8 mmol、1.82 mL、1.30 当量) を 0℃ で添加した。0℃ で 0.5 時間撹拌し、その後、70℃ で 1.5 時間撹拌した後、tert-ブチル((5-ヨードペンチル)オキシ)ジメチルシラン (5.00 g、15.2 mmol、1.00 当量) を 0℃ で導入した。反応物を 25℃ で 12 時間撹拌した。TLC (石油エーテル: 酢酸エチル=1:1、生成物: $R_f=0.43$) により、微量の出発物質、および形成された 1 つの新しいスポットが示された。反応混合物を 0℃ で NH_4Cl 飽和水溶液 (150 mL) によってクエンチし、その後、DCM (300 mL $\times$ 3) で抽出した。組み合わせた有機層を Na_2SO_4 (30 g) で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで残渣を得て、これをカラムクロマトグラフィー (SiO_2 、PMA、石油エーテル: 酢酸エチル=100:1~1:1) によって精製した。淡黄色油としてジメチル(5-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)ペンチル)ホスホネート (2.00 g、6.44 mmol、42.3% の収率) を得た。

【0440】

工程 4D: ジメチル(5-ヒドロキシペンチル)ホスホネート

【0441】

【化53】



10

20

30

40

50

【0442】

メタノール（20.0 mL）中のジメチル（5-（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ）ペンチル）ホスホネート（1.80 g、5.80 mmol、1.00 当量）の溶液に、NH₄F（644 mg、17.4 mmol、3 当量）を添加する。混合物を70℃で2時間攪拌した。TLC（石油エーテル／酢酸エチル＝0／1、生成物：R_f＝0.04）により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮し、溶媒を除去した。カラムクロマトグラフィー（SiO₂、KMnO₄石油エーテル／酢酸エチル＝10／1～0：1）によって、残渣を精製した。無色の油としてジメチル（5-ヒドロキシペンチル）ホスホネート（1.06 g、5.13 mmol、88.5%の収率、95.0%の純度）を得た。

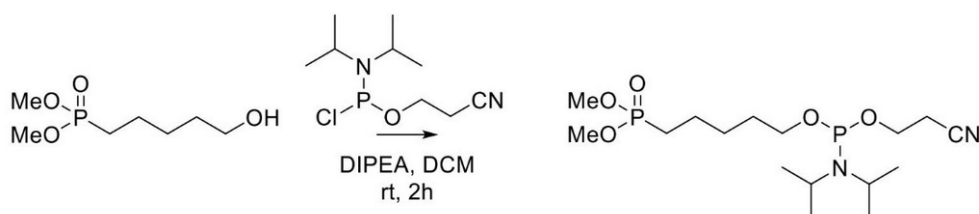
¹H NMR：400 MHz，CDCl₃：δ ppm 3.72（d，J＝10.8 Hz，6H），3.63（t，J＝6.36 Hz，2H），1.69－1.80（m，2H） 1.60－1.69（m，2H） 1.52－1.60（m，2H） 1.41－1.50（m，2H）。

【0443】

工程4E：2-シアノエチル（5-（ジメトキシホスホリル）ペンチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0444】

【化54】



【0445】

DCM（3.60 mL）中のジメチル（5-ヒドロキシペンチル）ホスホネート（0.70 g、3.57 mmol、1.00 当量）の溶液に、DIPEA（1.84 g、14.3 mmol、2.49 mL、4.00 当量）および3-（クロロ（ジイソプロピルアミノ）ホスファニル）オキシ）プロパンニトリル（1.10 g、4.64 mmol、1.30 当量）を添加した。混合物を0℃で1時間攪拌した。TLC（石油エーテル／酢酸エチル＝0／1、生成物：R_f＝0.43）により、出発物質が完全に消費されたことが示された。反応混合物をNaHCO₃（20 mL）の添加によってクエンチし、その後、DCM（10 mL）で希釈し、DCM（5 mL×2）で抽出した。組み合わせた有機層を、ブライン（20 mL）で洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残渣を得た。残渣をカラムクロマトグラフィー（SiO₂、KMnO₄石油エーテル／酢酸エチル／TEA／DCM＝10／1／0.5％／25％～3／1／0.5％／25％）によって精製した。無色の油として2-シアノエチル（5-（ジメトキシホスホリル）ペンチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト（0.38 g、910 μmol、25.5%の収率、95.0%の純度）を得た。¹H NMR：400 MHz，CD₃CN：δ ppm 3.70－3.85（m，2H），3.53－3.70（m，9H），2.64（t，J＝6.0 Hz，2H），1.66－1.78（m，2H），1.40－1.64（m，6H），1.12－1.20（m，12H）

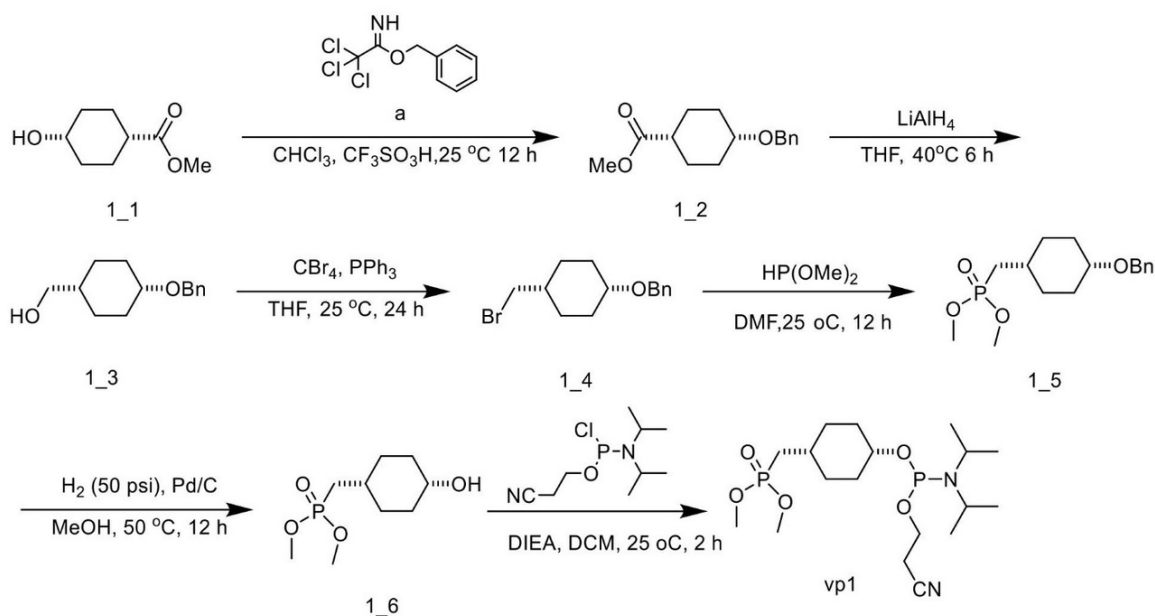
³¹P NMR：162 MHz，CD₃CN：δ ppm 146.93（s，1P），34.24（s，1P）。

【0446】

実施例5：2-シアノエチル（（1s，4s）-4-（（ジメトキシホスホリル）メチル）シクロヘキシル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

【 0 4 4 7 】

【化 5 5】



10

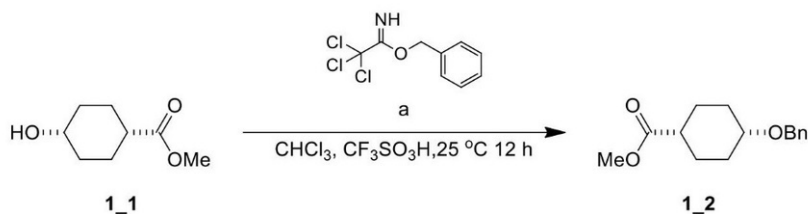
20

【 0 4 4 8 】

工程 5 A : 化合物 1 __ 2 の合成

【 0 4 4 9 】

【化 5 6】



30

【 0 4 5 0 】

化合物 1 __ 1 (1 0 . 0 g 、 6 3 . 2 m m o l 、 1 . 0 0 当量) を、 CH_3Cl (2 0 . 0 m L) およびヘキサン (4 0 . 0 m L) に 2 5 °C で添加した。化合物 a (1 9 . 1 g 、 7 5 . 8 m m o l 、 1 4 . 1 m L 、 1 . 2 0 当量) およびトリフルオロメタンスルホン酸 (1 . 4 2 g 、 9 . 4 8 m m o l 、 8 3 7 μL 、 0 . 1 5 当量) を、反応物に 2 5 °C で添加し、2 5 °C で 1 2 時間攪拌した。T L C (石油エーテル : 酢酸エチル = 1 0 : 1 、 $R_f = 0 . 4 3$) により、反応が完了したことが示された。反応混合物を E t O A c (6 0 . 0 m L) で希釈し、飽和 NaHCO_3 水溶液 (6 0 . 0 m L) 、水 (6 0 . 0 m L) 、およびブライン (6 0 . 0 m L) で洗浄した。有機層を無水 Na_2SO_4 で乾燥させ、減圧下で濃縮した。シリカゲルカラム (M P L C 、 P E / E A = 3 0 / 1 ~ 1 0 / 1) によって精製することで、黄色の油として化合物 1 __ 2 (1 0 . 5 g 、 2 9 . 6 m m o l 、 4 6 . 8 % の収率、7 0 . 0 % の純度) を得た。

40

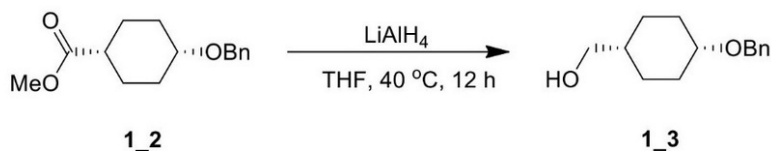
【 0 4 5 1 】

工程 5 B : 化合物 1 __ 3 の合成

【 0 4 5 2 】

50

【化 5 7】



【0 4 5 3】

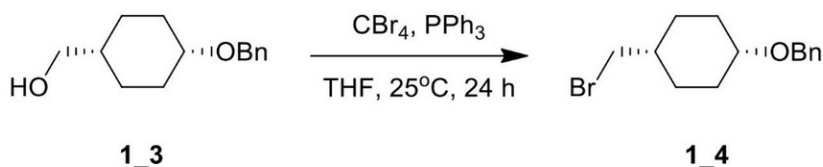
LiAlH₄ (1.60 g、42.0 mmol、1.10 当量) を容器に入れ、窒素下で 0 °C に冷却した。THF (75.0 mL) を 0 °C での反応において、容器に滴下で導入した。THF (20.0 mL) 中の化合物 1__2 (9.50 g、38.2 mmol、1.00 当量) を、0 °C の反応において滴下し、40 °C で 12 時間撹拌した。LCMS 分析により、反応の完了が示された。0 °C に冷却した後、水 (20.0 mL) および 10 % の NaOH (20.0 mL) を混合物相に注ぎ、酢酸エチル (75.0 mL) で抽出し、組み合わせた org. 抽出物を乾燥させ、蒸発させた。黄色の油として化合物 1__3 (8.78 g、粗製) を得て、これをさらに精製することなく次の反応で使用した。

【0 4 5 4】

工程 5 C : 化合物 1__4 の合成

【0 4 5 5】

【化 5 8】



【0 4 5 6】

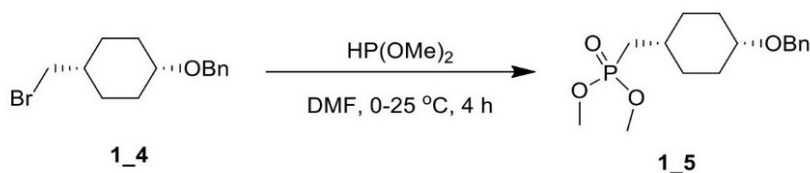
化合物 1__3 (8.43 g、38.2 mmol、1.00 当量) を 25 °C で THF (40.0 mL) に溶解し、0 °C に冷却した。PPh₃ (13.0 g、49.7 mmol、1.30 当量) を 0 °C で反応物に添加し、0 °C で 10 分間撹拌した。CBr₄ (16.5 g、49.7 mmol、1.30 当量) 部分を 0 °C で反応物に添加し、25 °C で 24 時間撹拌した。TLC (石油エーテル : 酢酸エチル = 10 : 1) により、反応が完了したことが示された。濾過し、THF (2 × 20.0 mL) で洗浄し、その後、EtOAc (2 × 20.0 mL) で洗浄した。シリカゲルカラム (MPLC、PE/EA = 30/1 ~ 10/1) によって精製することで、黄色の油として化合物 1__4 (7.58 g、26.7 mmol、69.9 % の収率) を得た。

【0 4 5 7】

工程 5 D : 化合物 1__5 の合成

【0 4 5 8】

【化 5 9】



【0 4 5 9】

水素化ナトリウム (NaH、1.02 g、25.4 mmol、60 % の純度、6.00 当量) を DMF (6.00 mL) に 25 °C で添加し、0 °C に冷却した。メトキシホスホノ

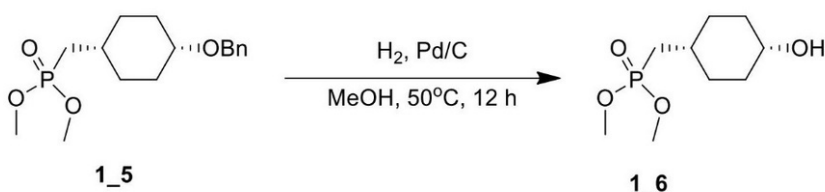
イロキシメタン (3.26 g、29.6 mmol、2.72 mL、7.00 当量) を、0℃で反応物に滴下し、0℃で30分間攪拌し、その後、25℃で1.5時間攪拌してから、0℃に冷却した。化合物 1__4 (1.20 g、4.24 mmol、および1.00 当量) を0℃で反応物に滴下し、25℃で4時間攪拌した。LCMSにより、反応が完了したことが示された。3つの反応物を組み合わせた。0℃に冷却した。NH₄Cl水溶液 (20.0 mL) でクエンチし、その後、EtOAc (2×20.0 mL) で抽出し、Na₂SO₄で乾燥させ、濃縮乾固させた。残渣を、分取HPLC (中性条件、カラム: Phenomenex Gemini-NX 80×30mm×3μm; 移動相: [水-ACN] ; B% : 30%~55%、7分) によって精製した。黄色の油として化合物 1__5 (2.02 g、6.47 mmol、50.8%の収率) を得た。

【0460】

工程 5 E : 化合物 1__6 の合成

【0461】

【化60】



【0462】

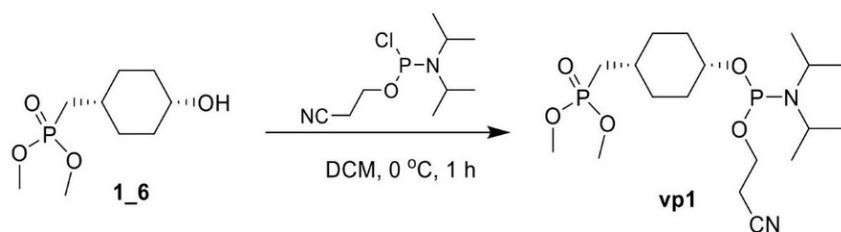
化合物 1__5 (0.7 g、2.24 mmol、1.00 当量) を MeOH (3.00 mL) に25℃で入れ、Pd/C (0.50 g、2.24 mmol、10.0%の純度) を25℃で添加した。容器に水素気体を流し、50 psiにおいて50℃で12時間攪拌した。LC-MSにより、化合物 1__5 が完全に消費されたことが示された。いくつかの新規なピークがLC-MS上で示され、所望の化合物が検出された。反応混合物を濾過し、減圧下で濃縮することで残渣を得て、これをさらに精製することなく次の反応に持ち越した。白色油として化合物 1__6 (0.45 g、1.82 mmol、81.3%の収率、90.0%の純度) を得た。

【0463】

工程 5 F : 標的 vp1 の合成

【0464】

【化61】



【0465】

化合物 1__6 (0.45 g、2.03 mmol、1.00 当量) を0℃でDCM (5.00 mL) に溶解し、3-[クロロ (ジイソプロピルアミノ) ホスファニル] オキシプロパンニトリル (958 mg、4.05 mmol、2.00 当量) およびDIEA (785 mg、6.08 mmol、1.06 mL、3.00 当量) を添加した。混合物を0℃で1時間攪拌した。LC-MSにより、化合物 1__6 が残っていないことが示された。いくつかの新規なピークがLC-MS上で示され、所望の化合物が検出された。反応混合物をDCMで希釈し、NaHCO₃ (25.0 mL×2) で抽出した。組み合わせた有機層を

10

20

30

40

50

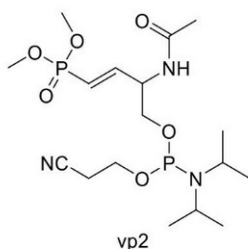
Na₂SO₄で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残渣を得た。残渣を、分取HPLC（中性条件、カラム：Phenomenex Gemini-NX 80*30mm*3um；移動相：[水-ACN]；B%：30%~55%、7分）によって精製した。無色の油として化合物vp1（0.15g、248umol、12.2%の収率、70.0%の純度）を得て、送達した。

【0466】

実施例6：（E）-2-アセタミド-4-（ジメトキシホスホリル）ブト-3-エン-1-イル（2-シアノエチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0467】

【化62】

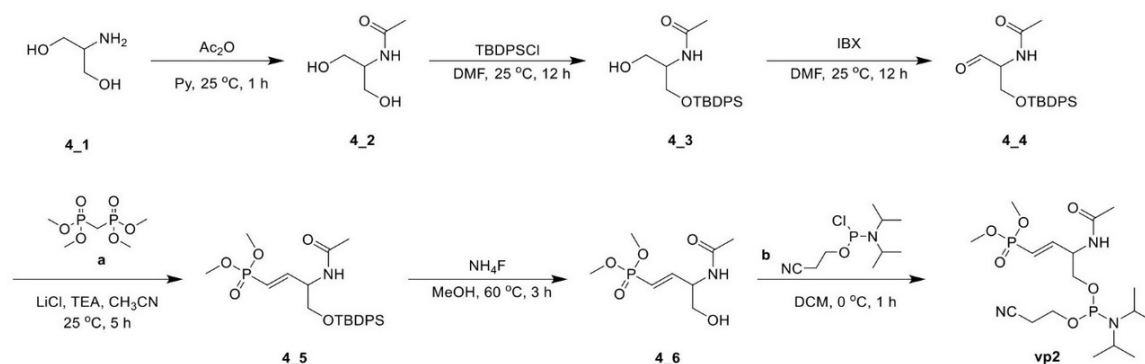


【0468】

（E）-2-アセタミド-4-（ジメトキシホスホリル）ブト-3-エン-1-イル（2-シアノエチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト（vp2）の合成スキーム

【0469】

【化63】

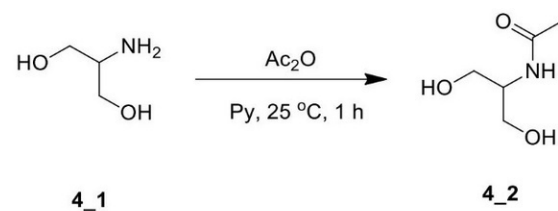


【0470】

工程6A：化合物4__2の合成

【0471】

【化64】



【0472】

Py（120mL）を含む容器に、化合物4__1（20.0g、219mmol、1.00当量）を25℃で添加した。Ac₂O（24.6g、241mmol、22.6mL

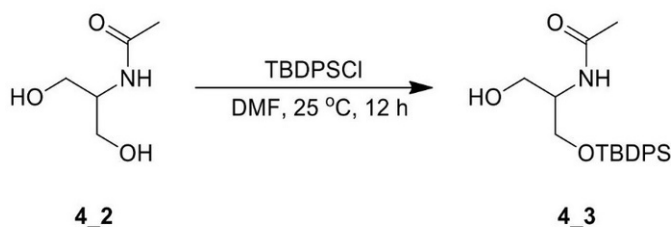
、1.10当量)を、0℃で反応物に滴下し、その後、25℃で1時間攪拌した。TLC (ジクロロメタン：メタノール=5：1、 $R_f=0.35$)により、反応が完了したことが示された。反応混合物を濃縮乾固させ、酢酸エチル(60mL)に溶解した。5℃で10分間攪拌した後、沈殿物が形成された。沈殿物を濾過し、真空下で乾燥させた。白色固形物として化合物4__2(25.1g、188mmol、85.9%の収率)を得て、これをさらに精製することなく次の反応で使用した。

【0473】

工程6B：化合物4__3の合成

【0474】

【化65】



【0475】

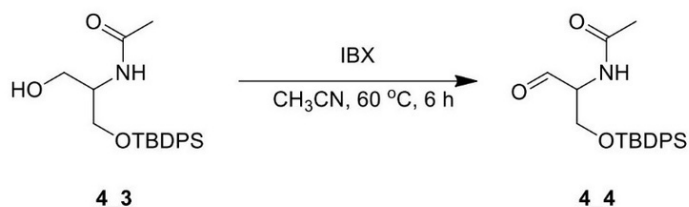
化合物4__2(25.0g、187mmol、1.00当量)を25℃でDMF(150mL)に溶解し、TBDPSCI(46.4g、168mmol、43.4mL、0.90当量)およびイミダゾール(19.1g、281mmol、1.50当量)を添加した。25℃で12時間攪拌した後、TLC(ジクロロメタン：メタノール=10：1、 $R_f=0.43$)、LCMS(ET31864-55-PA1、 $RT=1.30$ 分)により、反応が完了したことが示された。水(30mL)を添加し、酢酸エチル(2×30mL)で抽出した。組み合わせた有機層をブライン(3×20mL)で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、濃縮した。シリカゲルカラム(MPLC、DCM/ME=30/1~10/1)によって精製することで、白色固形物として化合物4__3(26.0g、69.9mmol、37.2%の収率)を得た。

【0476】

工程6C：化合物4__4の合成

【0477】

【化66】



【0478】

化合物4__3(7.00g、18.8mmol、1.00当量)を25℃で CH_3CN (42mL)に溶解し、2-ヨージル安息香酸(iodylbenzoic acid)(6.86g、24.4mmol、1.30当量)を添加した。反応物を60℃で6時間攪拌した。TLC(ジクロロメタン：メタノール=10：1、 $R_f=0.45$)、HPLC($RT=2.76$ 分)、LCMS($RT=1.15$ 分)により、反応が完了したことが示された。濾過し、その後、 CH_3CN (2×20mL)で抽出し、 Na_2SO_4 上で乾燥させ、濃縮乾固させることで、黄色の油として化合物4__4(8.00g、粗製)を得た。

【0479】

工程6D：化合物4__5の合成

10

20

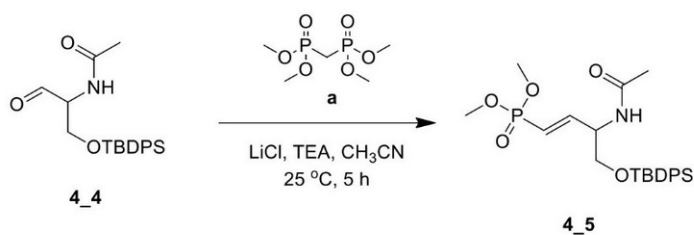
30

40

50

【0480】

【化67】



10

【0481】

LiCl (1.15 g、27.2 mmol、1.44当量)を25℃でCH₃CN (20 mL)に入れてから、容器を0℃に冷却した。化合物a (5.25 g、22.6 mmol、1.20当量)を0℃で反応物に滴下し、その後、CH₃CN (10 mL)中のTEA (2.52 g、24.8 mmol、3.46 mL、1.32当量)を0℃で反応物に添加した。その後、CH₃CN (10 mL)中の化合物4__4 (6.96 g、18.8 mmol、1.00当量)を0℃で反応物に滴下し、25℃で5時間撹拌した。TLC (ジクロロメタン：メタノール＝10：1、R_f＝0.49)、LCMS、およびHPLCの分析により、反応が完了したことが示された。反応物をNH₄Cl水溶液 (20 mL)でクエンチし、その後、酢酸エチル (2×40 mL)で抽出し、Na₂SO₄上で乾燥させ、濃縮乾固させた。シリカゲルカラム (MPLC、DCM/ME＝30/1～10/1)によって精製することで、黄色の油として化合物4__5 (2.22 g、4.67 mmol、24.7%の収率)を得た。

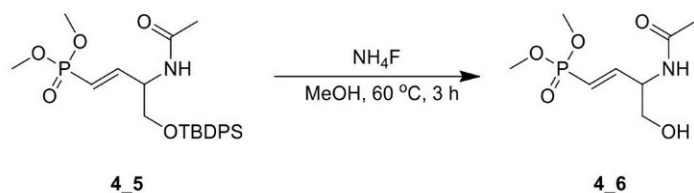
20

【0482】

工程6E：化合物4__6の合成

【0483】

【化68】



30

【0484】

MeOH (5 mL)中の化合物4__5 (0.90 g、1.89 mmol、1.00当量)の溶液に、NH₄F (210 mg、5.68 mmol、3.00当量)を25℃で反応物に添加した。混合物を60℃で3時間撹拌した。LC-MS分析により、化合物4__5が完全に消費され、所望の化合物が検出されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮して、残渣を得た。残渣を分取HPLC (中性条件、カラム：Agela DuraShell C18 250×25 mm×10 μm；移動相：[水 (10 mMのNH₄HCO₃) - ACN]；B%：0%～15%、2.2分)によって精製した。白色固形物として化合物4__6 (0.4 g、1.52 mmol、80.20%の収率、90.0%の純度)を得た。

40

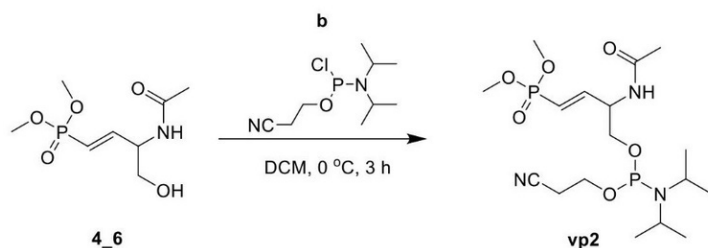
【0485】

工程6F：化合物vp2の合成

【0486】

50

【化 6 9】



【0 4 8 7】

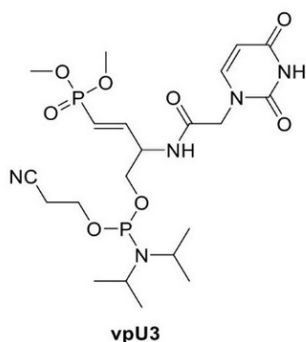
DCM (2.10 mL) 中の化合物 4_6 (350 mg、1.48 mmol、1.00 当量) の溶液を 0 °C に冷却し、化合物 b (698 mg、2.95 mmol、2.00 当量) および DIEA (572 mg、4.43 mmol、771 μ L、3.00 当量) を添加し、混合物を 0 °C で 3 時間攪拌した。LC-MS 分析により、反応物が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。反応混合物を NaHCO₃ で洗浄し、DCM (2 mL) で抽出し、Na₂SO₄ で乾燥し、濾過し、減圧下で濃縮することで、残渣を得た。残渣を、分取 HPLC (カラム: Phenomenex Gemini-NX 150 $\times$ 30 mm $\times$ 5 μ m; 移動相: [水-ACN]; B%: 15% ~ 50%, 12 分) によって精製した。無色の油として化合物 vp2 (0.27 g、556 μ mol、37.7% の収率、90.0% の純度) を得た。

【0 4 8 8】

実施例 7: (E)-2-シアノエチル (4-(ジメトキシホスホリル)-2-(2-(2,4-ジオキソ-3,4-ジヒドロピリミジン-1(2H)-イル)アセタミド)ブト-3-エン-1-イル) ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0 4 8 9】

【化 7 0】



【0 4 9 0】

化合物 vpU3 の合成スキーム

【0 4 9 1】

10

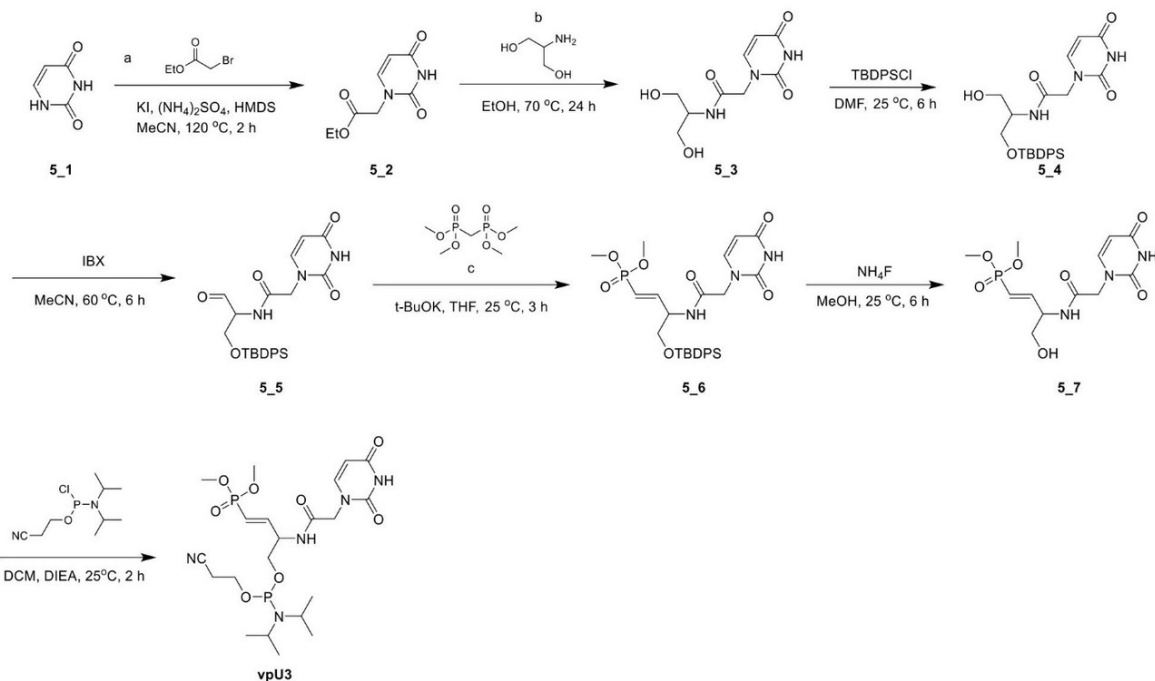
20

30

40

50

【化 7 1】

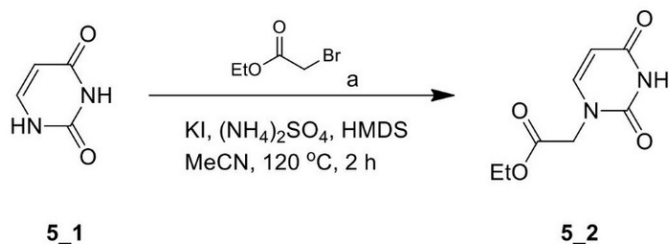


【 0 4 9 2】

工程 7 A：化合物 5 __ 2 の合成

【 0 4 9 3】

【化 7 2】



【 0 4 9 4】

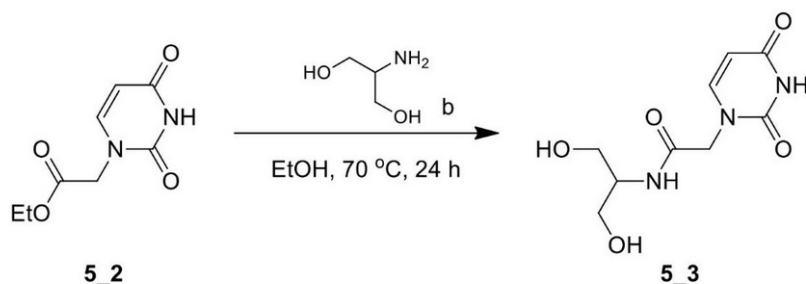
MeCN (30.0 mL) 中の化合物 5 __ 1 (5.00 g、44.6 mmol、1.00 当量) の溶液に、エチル 2-ブロモアセテート (17.9 g、107 mmol、11.8 mL、2.40 当量)、HMDS (4.32 g、26.8 mmol、5.61 mL、0.60 当量)、KI (3.70 g、22.3 mmol、0.50 当量)、およびアンモニア；硫酸 (472 mg、3.57 mmol、266 μ L、0.08 当量) を添加し、120 °C で 2 時間攪拌した。TLC (ジクロロメタン：メタノール = 10 : 1、 R_f = 0.63) により、反応が完了したことが示された。この混合物に MeOH (20.0 mL) を添加し、減圧下で濃縮することで溶媒を除去した。残渣をカラムクロマトグラフィーによって精製した。茶色固形物として化合物 5 __ 2 (7.00 g、28.3 mmol、63.6 % の収率、80.0 % の純度) を得た。

【 0 4 9 5】

工程 7 B：化合物 5 __ 3 の合成

【 0 4 9 6】

【化 7 3】



10

【0 4 9 7】

化合物 5__2 (15.9 g、80.0 mmol、1.00 当量) を EtOH (95.0 mL) に溶解し、化合物 b (8.02 g、88.0 mmol、1.10 当量) を溶液に添加した。混合物を 70 °C で 24 時間撹拌した。LC-MS (ET31755-55-p1a2) により、反応物が完全に消費され、所望の m/z または所望の質量を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。混合物を室温に冷まし、その後、混合物を濾過し、沈殿物を集める。白色固形物として化合物 5__3 (17.1 g、66.8 mmol、83.5 % の収率、95.0 % の純度) を得た。

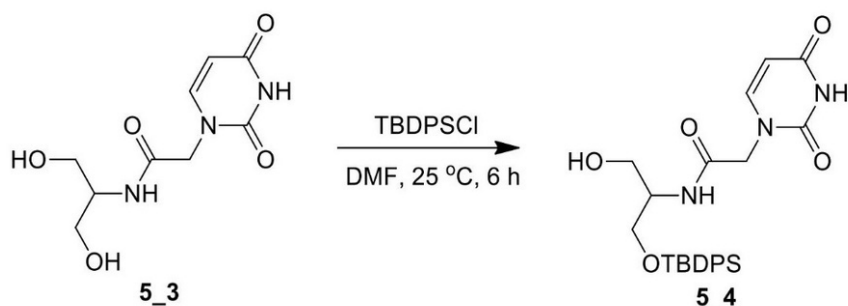
【0 4 9 8】

工程 7 C : 化合物 5__4 の合成

20

【0 4 9 9】

【化 7 4】



30

【0 5 0 0】

DMF (102 mL) 中の化合物 5__3 (17.0 g、69.9 mmol、1.00 当量) の溶液に、TBDPSCI (15.4 g、55.9 mmol、14.4 mL、0.80 当量) およびイミダゾール (7.14 g、105 mmol、1.50 当量) を添加した。混合物を 25 °C で 6 時間撹拌した。LC-MS (ET31755-60-p1a1) により、反応物が完全に消費され、所望の m/z または所望の質量を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。混合物に水 (120 mL) を添加し、溶液を酢酸エチル (200 mL × 2) で抽出した。組み合わせた有機相をブライン (400 mL × 2) で洗浄し、無水 Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗製生成物を、25 °C で DCM (300 mL) からの再結晶化によって精製した。残りの粗製生成物を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、ジクロロメタン : メタノール = 10 : 1、R_f = 0.43) によって精製した。白色固形物として化合物 5__4 (14.0 g、26.2 mmol、37.4 % の収率、90.0 % の純度) を得た。

40

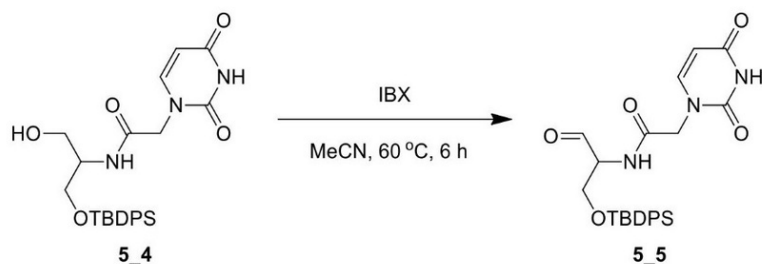
【0 5 0 1】

工程 7 D : 化合物 5__5 の合成

【0 5 0 2】

50

【化 7 5】



10

【0 5 0 3】

MeCN (45.0 mL) 中の化合物 5__4 (6.6 g、13.7 mmol、1.00 当量) の混合物に、IBX (4.99 g、17.8 mmol、1.30 当量) を添加した。混合物を 60 °C で 6 時間攪拌した。TLC (石油エーテル：酢酸エチル＝5：1、 R_f ＝0.2) により、反応が完了したことが示した。LC-MS では、反応物が完全に消費され、所望の m/z を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。混合物を濾過し、溶液を集め、その溶液を減圧下で乾燥させた。粗製生成物をさらに精製することなく次の工程で使用した。黄色いゴムとして化合物 5__5 (7.0 g、粗製) を得た。

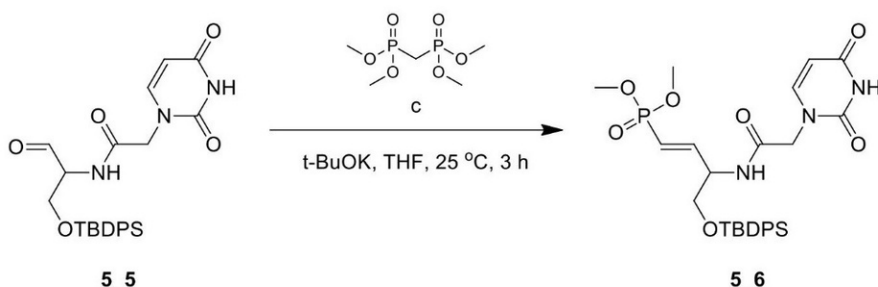
【0 5 0 4】

工程 7 E：化合物 5__6 の合成

20

【0 5 0 5】

【化 7 6】



30

【0 5 0 6】

THF (39.4 mL) 中の化合物 c (3.50 g、15.1 mmol、1.10 当量) の溶液に、 $t\text{-BuOK}$ (1 M、13.7 mL、1.00 当量) を添加した。溶液が濁ると、化合物 5__5 (6.57 g、13.7 mmol、1.00 当量) を混合物に添加した。混合物を 25 °C で 3 時間攪拌した。LC-MS (ET31755-79-p1a1) により、反応物が完全に消費され、所望の m/z または所望の質量を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。反応混合物を NH_4Cl (20.0 mL) の添加によってクエンチし、EA (50.0 mL * 2) で抽出した。組み合わせた有機層を、 NaCl (100 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残渣を得た。残渣を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、ジクロロメタン：メタノール＝10：1、 R_f ＝0.51) によって精製した。白色固形物として化合物 5-6 (1.80 g、2.92 mmol、21.3% の収率、95.0% の純度) を得た。

40

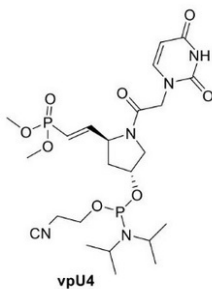
【0 5 0 7】

工程 7 F：化合物 5__7 の合成

【0 5 0 8】

50

【化 7 9】



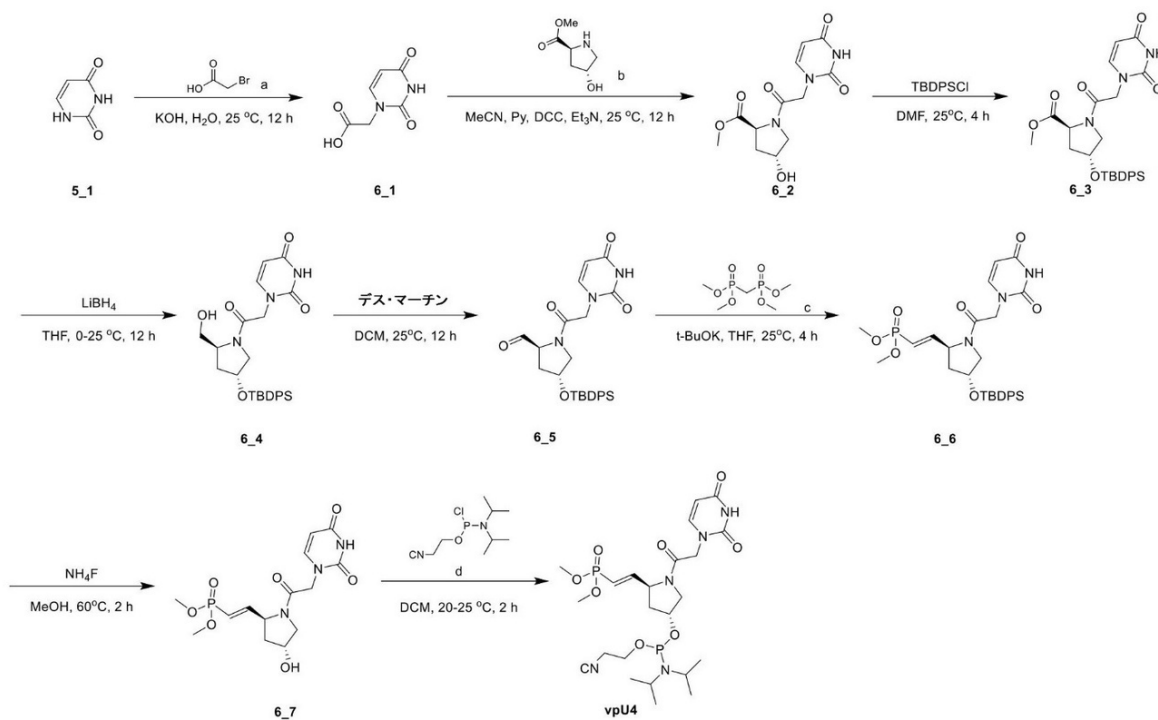
10

【 0 5 1 5】

2-シアノエチル（（3R, 5S）-5-（（E）-2-（ジメトキシホスホリル）ビニル）-1-（2-（2, 4-ジオキソ-3, 4-ジヒドロピリミジン-1（2H）-イル）アセチル）ピロリジン-3-イル）ジイソプロピルホスホルアミダイト（vpU4）の合成スキーム

【 0 5 1 6】

【化 8 0】



20

30

【 0 5 1 7】

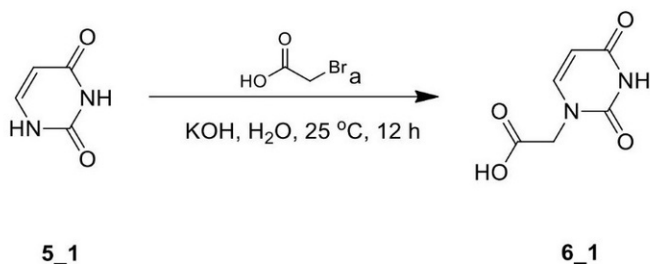
工程 8 A：化合物 6 __ 1 の合成

【 0 5 1 8】

40

50

【化 8 1】



10

【0 5 1 9】

H₂O (90.0 mL) 中の化合物 5__1 (15.0 g、134 mmol、1.00 当量) の溶液に、化合物 a (27.9 g、201 mmol、14.5 mL、1.50 当量) および KOH (28.5 g、509 mmol、669 mL、3.80 当量) を添加した。混合物を 25 °C で 12 時間攪拌した。LC-MS により、反応物が完全に消費され、所望の質量を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。12 M HCl を使用して、混合物の pH を pH 5 に調節し、溶液を冷却し、結果として生じる沈殿物を濾過によって集めた。その後、濾液の pH を 2 に調節し、冷却した。結果として生じる白色沈殿物を濾過によって集め、減圧下で乾燥させた。白色固形物として化合物 6__1 (17.2 g、96.1 mmol、71.8 % の収率、95.0 % の純度) を得た。

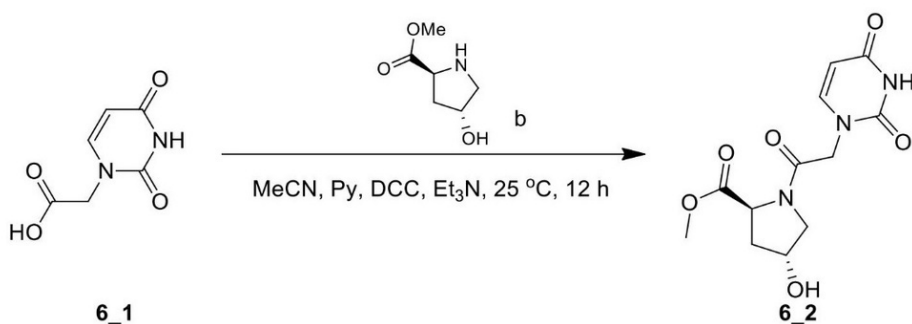
20

【0 5 2 0】

工程 8 B : 化合物 6__2 の合成

【0 5 2 1】

【化 8 2】



30

【0 5 2 2】

化合物 b (16.70 g、91.9 mmol、0.92 当量) を MeCN (51.0 mL) および Py (51.0 mL) に溶解し、溶液に化合物 6__1 (17.0 g、99.9 mmol、1.00 当量)、Et₃N (10.1 g、99.9 mmol、13.9 mL、1.00 当量)、および DCC (24.7 g、120 mmol、24.3 mL、1.20 当量) を添加した。混合物を 25 °C で 12 時間攪拌した。TLC (ジクロロメタン：メタノール = 5 : 1、R_f = 0.29) により、反応物が残っておらず、より低い極性を有する 1 つの主要な新規スポットが検出されたことが示された。反応混合物を H₂O (70.0 mL) の添加によってクエンチし、混合物を濾過し、溶液を集め、減圧下で乾燥させることで、残渣を得た。黄色固形物として化合物 6__2 (30.0 g、粗製) を得た。

40

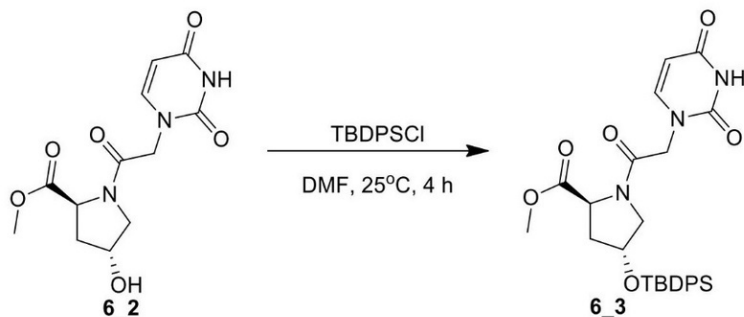
【0 5 2 3】

工程 8 C : 化合物 6__3 の合成

【0 5 2 4】

50

【化 8 3】



10

【0 5 2 5】

DMF (178 mL) 中の化合物 6__2 (29.7 g、99.9 mmol、1.00 当量) の溶液に、TBDPSCI (35.7 g、130 mmol、3.34 mL、1.30 当量) およびイミダゾール (20.4 g、300 mmol、3.00 当量) を添加した。混合物を 25℃で 4 時間攪拌した。TLC (ジクロロメタン：メタノール=10：1、 $R_f=0.43$) により、反応物が残っておらず、より低い極性を有する 1 つの主要な新規スポットが検出されたことが示された。酢酸エチル (200 mL) を残渣に添加し、水 (300 mL) で洗浄した。組み合わせた有機相をブライン (400 mL * 2) で洗浄し、無水 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残渣を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、ジクロロメタン：メタノール=100：1~50：1) によって精製した。黄色固形物として化合物 6__3 (50.0 g、88.7 mmol、88.8% の収率、95.0% の純度) を得た。

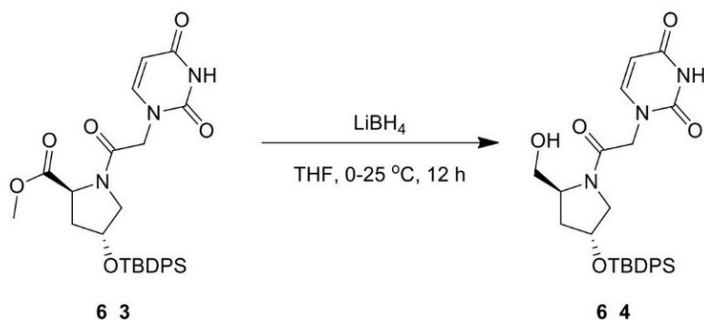
20

【0 5 2 6】

工程 8 D：化合物 6__4 の合成

【0 5 2 7】

【化 8 4】



30

【0 5 2 8】

THF (120 mL) 中の化合物 6__3 (20.0 g、37.3 mmol、1.00 当量) の混合物に、 LiBH_4 (1.63 g、74.7 mmol、2.00 当量) を添加した。混合物を 25℃で 12 時間攪拌した。LC-MS (ET31755-66-P1A1) により、反応物が完全に消費され、所望の m/z を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。反応混合物を、 NH_4Cl (30.0 mL) の添加によって 0℃でクエンチし、その後、1 M HCl (60.0 mL) で pH 7 に希釈し、酢酸エチル (150 mL * 2) で抽出した。組み合わせた有機層を、 NaCl (300 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残渣を得た。残渣を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、ジクロロメタン：メタノール=100：1~25：1) によって精製した。淡黄色固形物として化合物 6__4 (9.67 g、15.24 mmol、40.81% の収率、80% の純度) を得た。

40

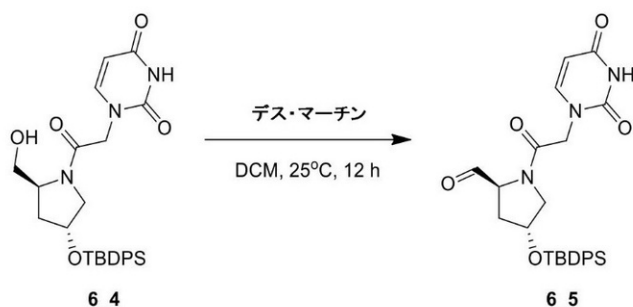
50

【0529】

工程8E：化合物6__5の合成

【0530】

【化85】



10

【0531】

DCM (48.0 mL) 中の化合物 6__4 (8.14 g、16.0 mmol、1.00 当量) の溶液に、デス・マーチン (8.16 g、19.2 mmol、5.96 mL、1.20 当量) を添加した。混合物を 15°C で 12 時間攪拌した。LC-MS より、反応物が完全に消費され、所望の m/z または所望の質量を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。混合物を濾過し、溶液を 3 回集めて、溶液を減圧下で乾燥させ、残渣を得た。黄色固形物として化合物 6__5 (7.27 g、粗製) を得た。

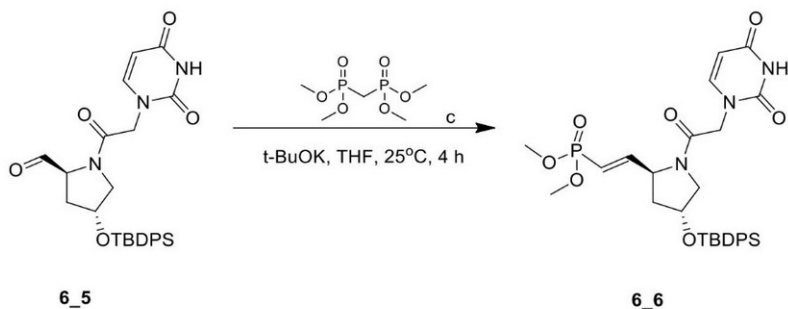
20

【0532】

工程8F：化合物6__6の合成

【0533】

【化86】



30

【0534】

THF (43.0 mL) 中の化合物 c (3.66 g、15.8 mmol、1.10 当量) の溶液に、 $t\text{-BuOK}$ (1 M、14.3 mL、1.00 当量) を添加した。溶液が濁ると、化合物 6__5 (7.24 g、14.32 mmol、1 当量) を混合物に添加した。混合物を 0~25°C で 5 時間攪拌した。LC-MS により、反応物が完全に消費され、所望の m/z または所望の質量を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。 NH_4Cl 水溶液 (4.00 mL) でクエンチし、その後、酢酸エチル (2×4 mL) で抽出し、 Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮乾固させた。残渣を、カラムクロマトグラフィー (SiO_2 、ジクロロメタン：メタノール = 10 : 1) によって精製した。白色固形物として化合物 6__6 (0.88 g、1.22 mmol、8.54% の収率、85.0% の純度) を得た。

40

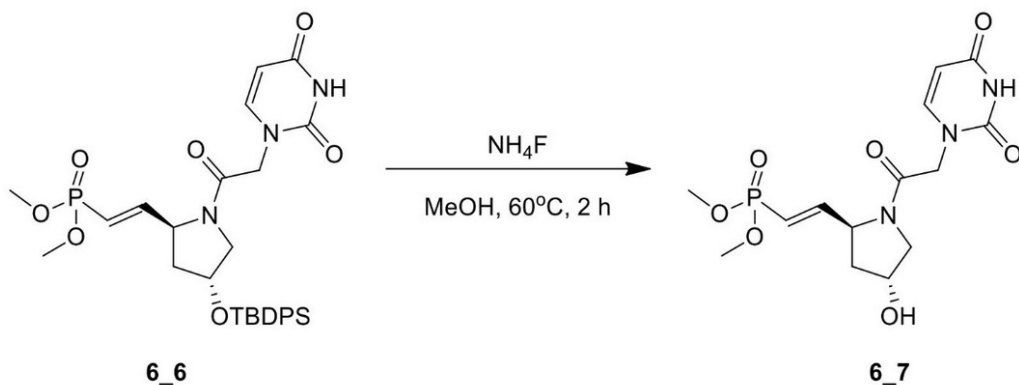
【0535】

工程8G：化合物6__7の合成

【0536】

50

【化 8 7】



10

【0 5 3 7】

MeOH (7.90 mL) 中の化合物 6_6 (1.33 g、2.17 mmol、1.00 当量) の溶液に、NH₄F (242 mg、6.52 mmol、3.00 当量) を添加した。混合物を 60℃で 4 時間攪拌した。LC-MS により、反応物が完全に消費され、所望の m/z または所望の質量を有する 1 つのメインピークが検出されたことが示された。反応混合物を減圧下で濃縮して、残渣を得た。混合物を濾過し、溶液を集めた。残渣を分取 HPLC (カラム: Agela DuraShell C18 250×70 mm×10 μm; 移動相: [水 (10 mM の NH₄HCO₃) - ACN]; B%: 1%~10%、22 分) によって精製した。無色固形物として化合物 6_7 (0.67 g、1.62 mmol、74.3% の収率、90.0% の純度) を得た。

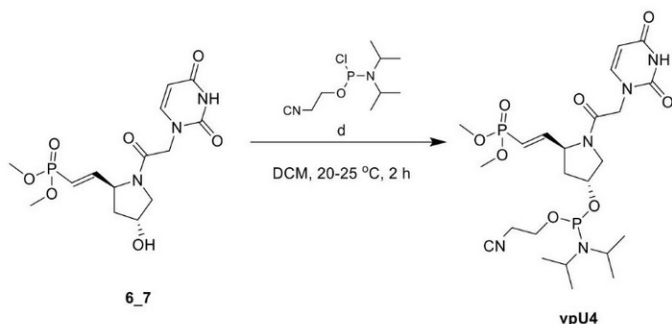
20

【0 5 3 8】

工程 8 H: 化合物 vpU4 の合成

【0 5 3 9】

【化 8 8】



30

【0 5 4 0】

DCM (2.50 mL) 中の化合物 6_7 (0.25 g、669.7 μmol、1.00 当量) の溶液に、DIEA (259.6 mg、2.01 mmol、349.9 μL、3.00 当量) および化合物 d (317.0 mg、1.34 mmol、2.00 当量) を添加した。混合物を 0℃で 2 時間攪拌した。LC-MS により、化合物 6_7 が残っていないことが示された。いくつかの新規なピークが LC-MS 上で示され、所望の化合物が検出された。反応混合物を NaHCO₃ (10 mL) の添加によってクエンチし、DCM (15 mL×2) で抽出した。組み合わせた有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過し、減圧下で濃縮することで、残渣を得た。残渣を、カラムクロマトグラフィー (SiO₂、酢酸エチル/アセトン=100/1~5/1) によって精製した。白色固形物として化合物 標的 6 (0.15 g、167.3 μmol、24.9% の収率、80.0% の純度) を得た。

40

【0 5 4 1】

50

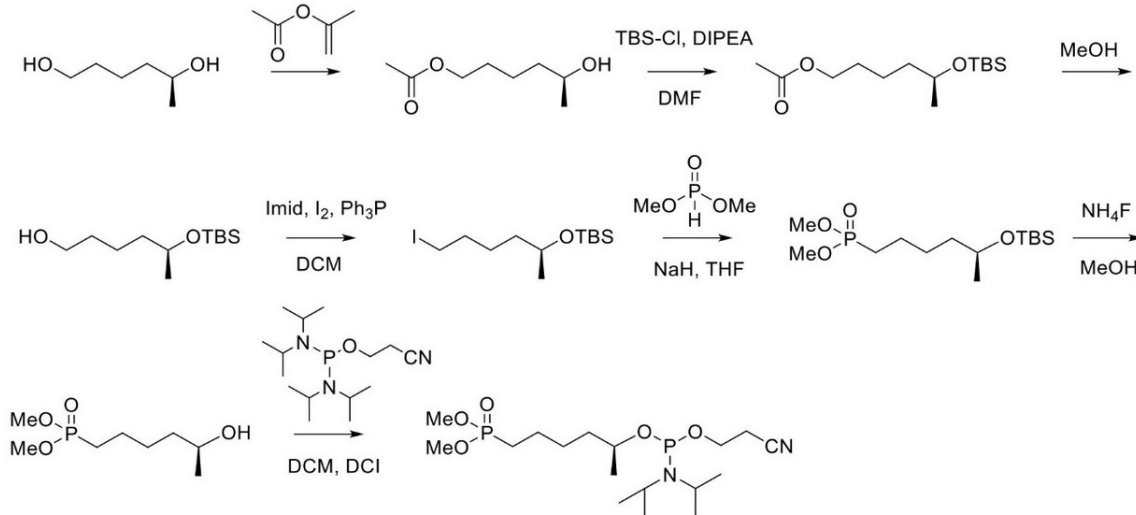
実施例 9：2-シアノエチル（（S）-6-（ジメトキシホスホリル）ヘキサン-2-イル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0542】

以下の合成スキームに従って、（S）-ヘキサン-1,5-ジオールから、2-シアノエチル（（S）-6-（ジメトキシホスホリル）ヘキサン-2-イル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを、調製する。

【0543】

【化89】



10

20

【0544】

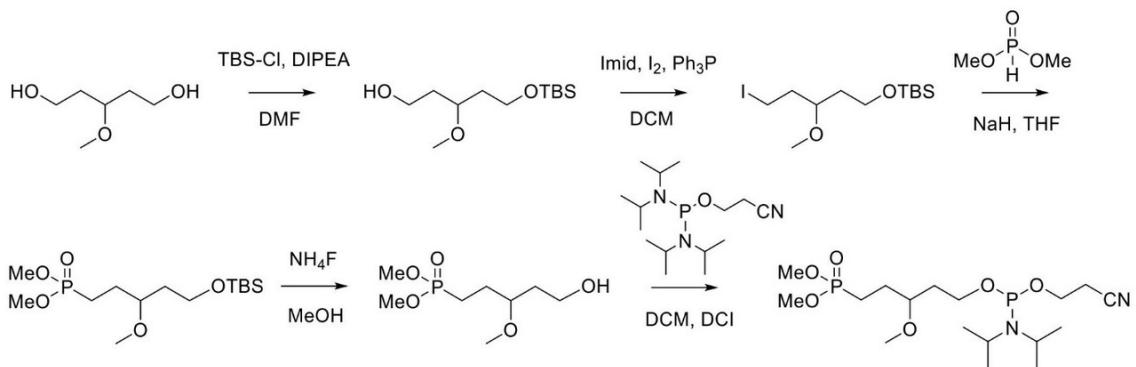
実施例 10：2-シアノエチル（5-（ジメトキシホスホリル）-3-メトキシペンチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0545】

以下の合成スキームに従って、3-メトキシペンタン-1,5-ジオールから、2-シアノエチル（5-（ジメトキシホスホリル）-3-メトキシペンチル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを調製する。

【0546】

【化90】



40

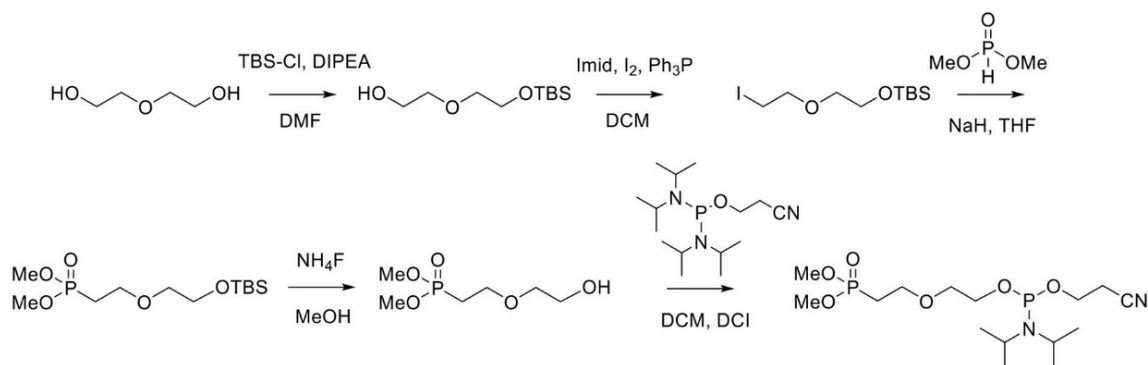
【0547】

実施例 11：2-シアノエチル（2-（2-（ジメトキシホスホリル）エトキシ）エチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト（diisopropyl phosphoramidite）

【0548】

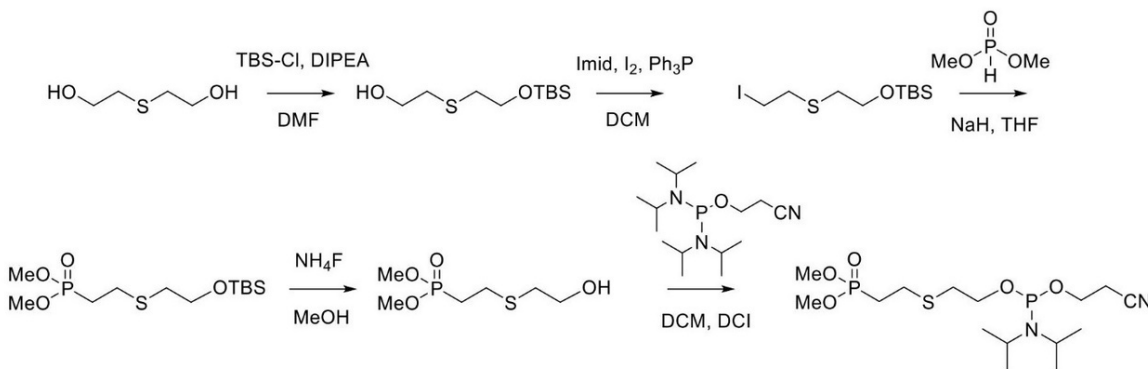
50

【化 9 1】



【 0 5 5 1 】

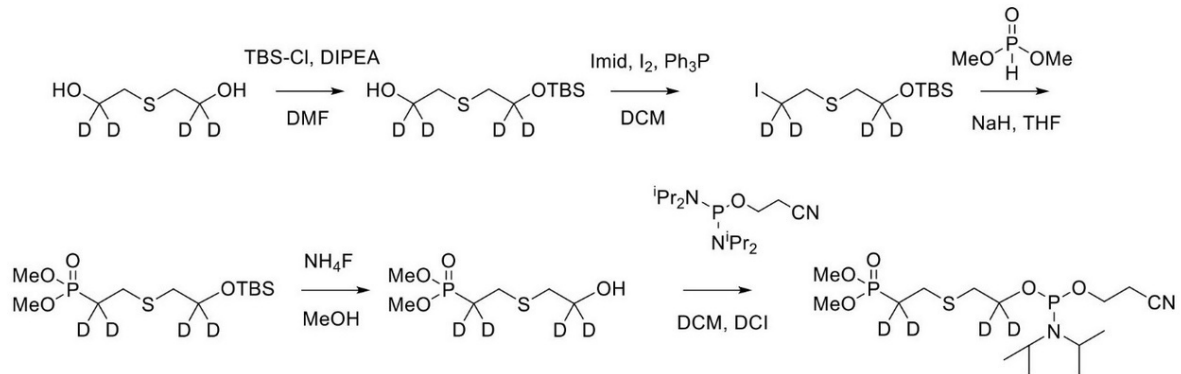
【化 9 2】



【 0 5 5 4 】

【 0 5 5 5 】

【化 9 3】



10

【0 5 5 6】

実施例 14：2-シアノエチル（2-（（2-（ジメトキシホスホリル）エチル）（メチル）アミノ）エチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

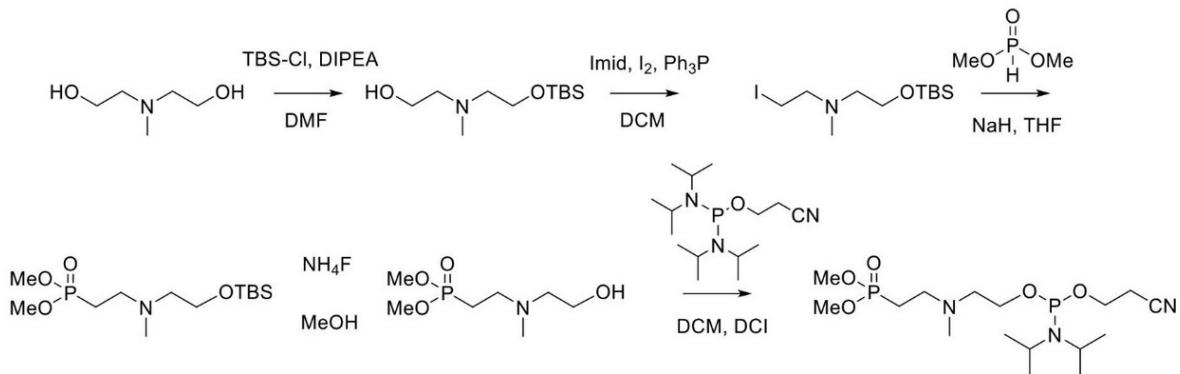
【0 5 5 7】

以下の合成スキームに従って、2，2'-（メチルアザンジイル（*methylazanediyl*））ビス（エタン-1-オール）から、シアノエチル（2-（（2-（ジメトキシホスホリル）エチル）（メチル）アミノ）エチル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを調製する。

20

【0 5 5 8】

【化 9 4】



30

【0 5 5 9】

実施例 15：2-シアノエチル（4-（2-（ジメトキシホスホリル）エチル）シクロヘキシル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

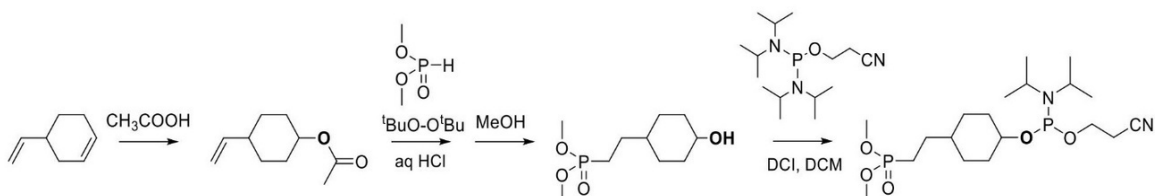
【0 5 6 0】

以下の合成スキームに従って、4-ビニルシクロヘキサ（*vinylcyclohex*）-1-エンから、2-シアノエチル（4-（2-（ジメトキシホスホリル）エチル）シクロヘキシル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを調製する。

40

【0 5 6 1】

【化 9 5】



50

【0562】

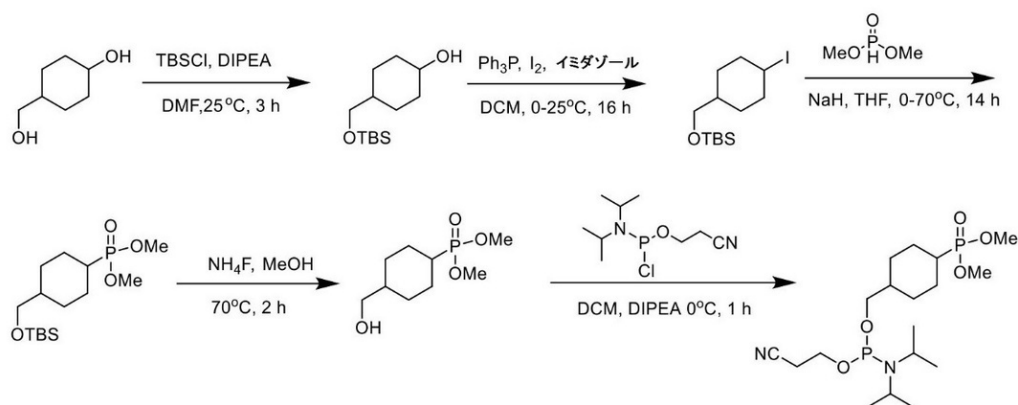
実施例16：2-シアノエチル（（4-（ジメトキシホスホリル）シクロヘキシル）メチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0563】

以下の合成スキームから、4-（ヒドロキシメチル）シクロヘキサノールから、2-シアノエチル（（4-（ジメトキシホスホリル）シクロヘキシル）メチル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを調整する。

【0564】

【化96】



【0565】

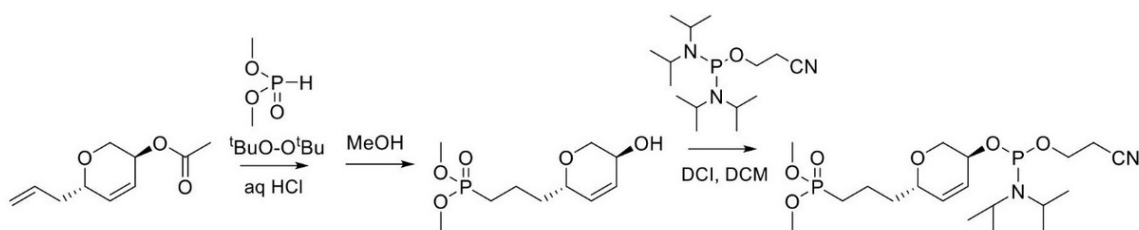
実施例17：2-シアノエチル（（3S, 6S）-6-（3-（ジメトキシホスホリル）プロピル）-3, 6-ジヒドロ-2H-ピラン-3-イル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0566】

以下の合成スキームに従って、（3S, 6S）-6-アリル-3, 6-ジヒドロ-2H-ピラン-3-イルアセテートから、2-シアノエチル（（3S, 6S）-6-（3-（ジメトキシホスホリル）プロピル）-3, 6-ジヒドロ-2H-ピラン-3-イル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを調製する。

【0567】

【化97】



【0568】

実施例14：2-シアノエチル（4-（2-（ジメトキシホスホリル）エチル）ベンジル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0569】

以下の合成スキームに従って、4-ビニルベンジルアセテートから、2-シアノエチル（4-（2-（ジメトキシホスホリル）エチル）ベンジル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを調整する。

【0570】

10

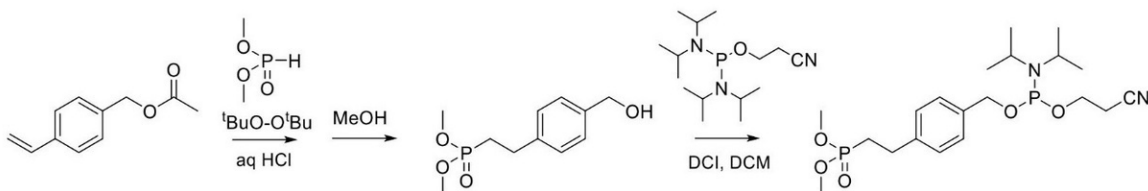
20

30

40

50

【化 9 8】



【0 5 7 1】

実施例 18：2-シアノエチル（4-（（ジメトキシホスホリル）メチル）ベンジル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

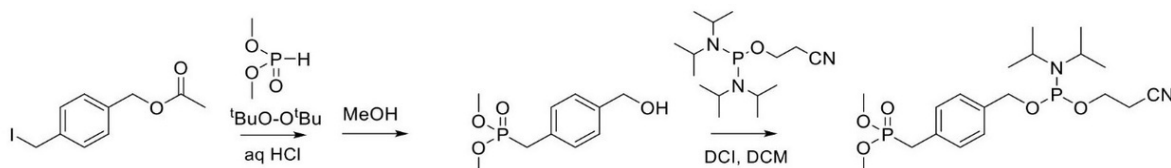
10

【0 5 7 2】

以下の合成スキームに従って、4-（ヨードメチル）ベンジルアセテートから、2-シアノエチル（4-（（ジメトキシホスホリル）メチル）ベンジル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを調製する。

【0 5 7 3】

【化 9 9】



20

【0 5 7 4】

実施例 19：2-シアノエチル（4-（（ジメトキシホスホリル）メチル）シクロヘキシル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

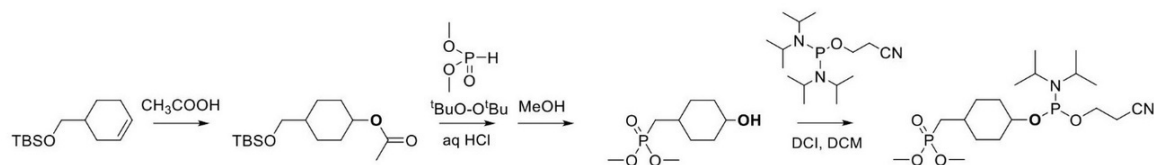
【0 5 7 5】

以下の合成スキームに従って、tert-ブチル（シクロヘキサ（cyclohex）-3-エン-1-イルメトキシ）ジメチルシランから、シアノエチル（4-（（ジメトキシホスホリル）メチル）シクロヘキシル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを調製する。

30

【0 5 7 6】

【化 1 0 0】



【0 5 7 7】

実施例 20：（E）-2-シアノエチル（4-（2-（ジメトキシホスホリル）ビニル）ベンジル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

40

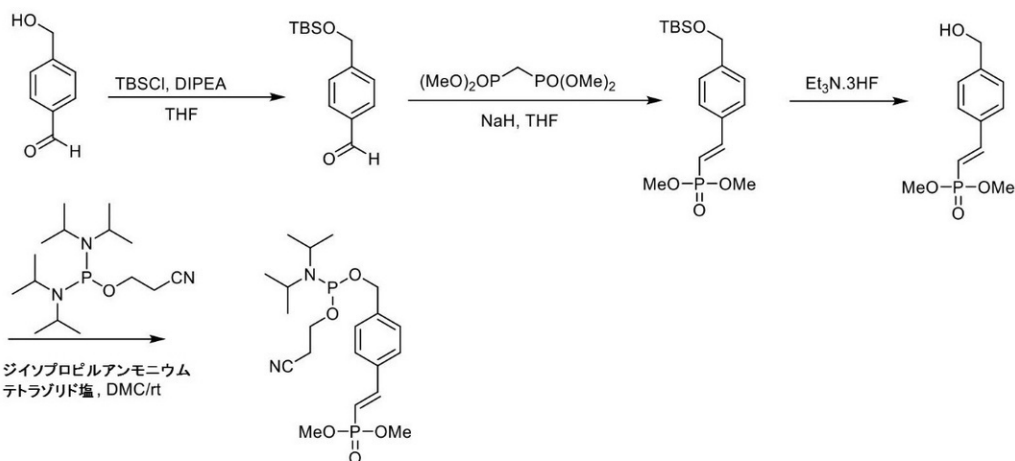
【0 5 7 8】

以下の合成スキームに従って、4-（ヒドロキシメチル）ベンズアルデヒドから、（E）-2-シアノエチル（4-（2-（ジメトキシホスホリル）ビニル）ベンジル）ジイソプロピルホスホルアミダイトを調製する。

【0 5 7 9】

50

【化 1 0 1】



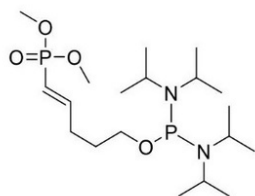
10

【 0 5 8 0】

実施例 21：ジメチル（E）－（5－（（ビス（ジイソプロピルアミノ）ホスファニル）オキシ）ペント－1－エン－1－イル）ホスホネート

【 0 5 8 1】

【化 1 0 2】



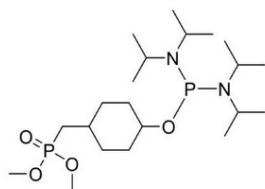
20

【 0 5 8 2】

実施例 22：ジメチル（（4－（（ビス（ジイソプロピルアミノ）ホスファニル）オキシ）シクロヘキシル）メチル）ホスホネート

【 0 5 8 3】

【化 1 0 3】



30

【 0 5 8 4】

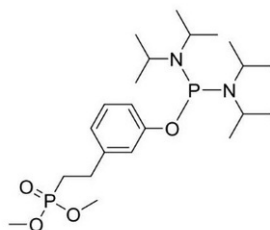
実施例 23：ジメチル（3－（（ビス（ジイソプロピルアミノ）ホスファニル）オキシ）フェネチル）ホスホネート

【 0 5 8 5】

40

50

【化 1 0 4】



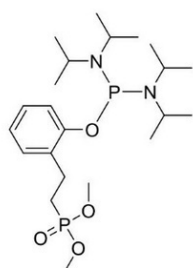
【 0 5 8 6】

10

実施例 24：ジメチル（2（（ビス（ジイソプロピルアミノ）ホスファニル）オキシ）フェネチル）ホスホネート

【 0 5 8 7】

【化 1 0 5】



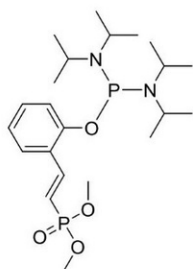
20

【 0 5 8 8】

実施例 25：ジメチル（E）－（2（（ビス（ジイソプロピルアミノ）ホスファニル）オキシ）スチリル）ホスホネート

【 0 5 8 9】

【化 1 0 6】



30

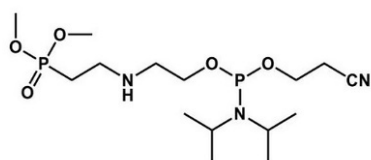
【 0 5 9 0】

実施例 26：2-シアノエチル（2－（（2－（ジメトキシホスホリル）エチル）アミノ）エチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

40

【 0 5 9 1】

【化 1 0 7】



【 0 5 9 2】

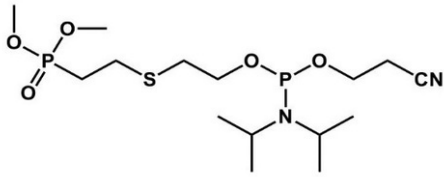
実施例 27：2-シアノエチル（2－（（2－（ジメトキシホスホリル）エチル）アミノ）エチル）ジイソプロピルホスホルアミダイト

50

) エチル) ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0593】

【化108】

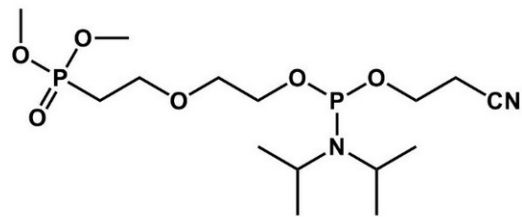


【0594】

実施例28：2-シアノエチル(2-(2-(ジメトキシホスホリル)エトキシ)エチル)ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0595】

【化109】

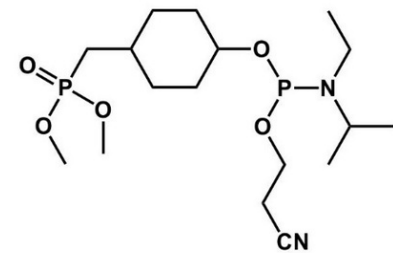


【0596】

実施例28：2-シアノエチル(4-((ジメトキシホスホリル)メチル)シクロヘキシル)エチル(イソプロピル)ホスホルアミダイト

【0597】

【化110】

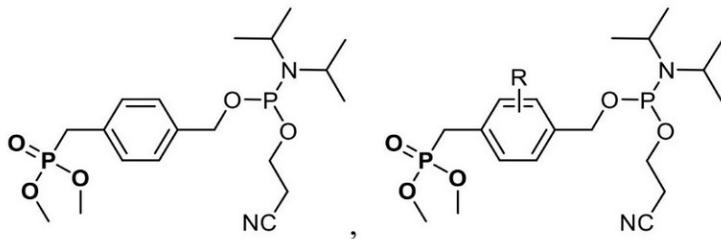


【0598】

実施例29：2-シアノエチル(4-((ジメトキシホスホリル)メチル)ベンジル)ジイソプロピルホスホルアミダイト

【0599】

【化111】

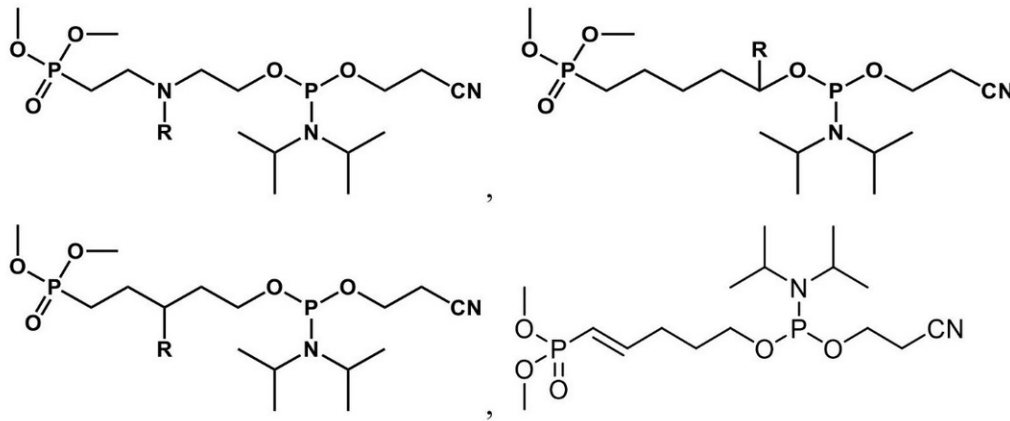


【0600】

実施例30：直鎖安定ホスフェート置換

【 0 6 0 1 】

【 化 1 1 2 】



10

【 0 6 0 2 】

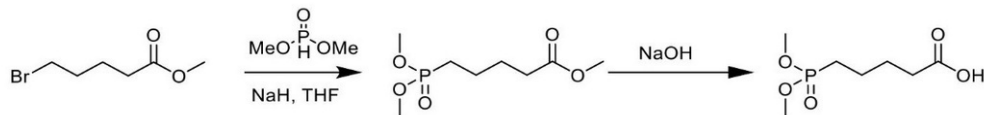
代替ヌクレオチド間結合の実施例

【 0 6 0 3 】

実施例 3 1 : アミド結合

【 0 6 0 4 】

【 化 1 1 3 】



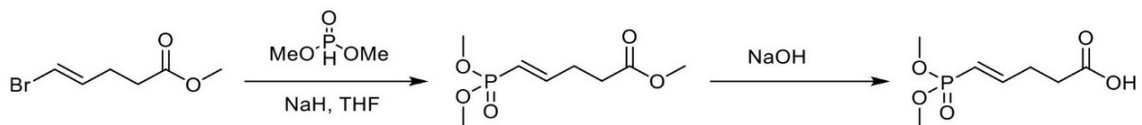
20

【 0 6 0 5 】

実施例 3 2 : アミド結合

【 0 6 0 6 】

【 化 1 1 4 】



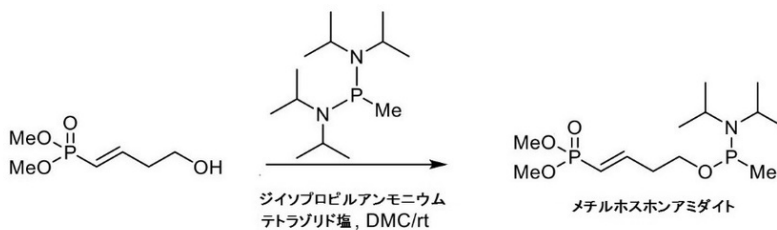
30

【 0 6 0 7 】

実施例 3 3 : メチルホスホネート結合

【 0 6 0 8 】

【 化 1 1 5 】



40

【 0 6 0 9 】

分子生物学の実施例

実施例 1 . H C T 1 1 6 細胞中のホスホネートのインビトロの活性

50

s i R N A の設計および合成：21merのSSBガイド鎖をマウスSSBに対して設計した。ガイド鎖／アンチセンス鎖の配列（5'～3'）は、U U A C A U U A A A G U C U G U U G U U Uであった。ホスホネート修飾ヌクレオチド構造（化合物1、2、および4）を取り込む3つのバージョンを作成した。ガイドおよび完全に相補的なRNAパッセンジャー鎖を、標準のホスホロアミダイト化学を使用して固体相上で組み立て、HPLCで精製した。RNAiの分野で十分に説明されている塩基、糖、およびリン酸の修飾を使用して、二本鎖の潜在能を最適化し、免疫原性を減少させた。精製された一本鎖を二重にして、上に記載される二本鎖s i R N Aを得た。

【0610】

MSTN配列：ガイド鎖／アンチセンス鎖の配列（5'～3'）は、U U A U U A U U U G U U C U U U G C C U Uであった。ガイドおよび完全に相補的なRNAパッセンジャー鎖を、上記と同じように組み立てた。

【0611】

インビトロの試験：様々なs i R N Aを、100nM、10nM、1nM、0.1nM、0.01nM、0.001nM、および0.0001nMの最終濃度で、ヒト大腸癌HCT116細胞にトランスフェクトした。市販のトランスフェクション試薬を用いてs i R N Aを製剤化した。製造者の「フォワードトランスフェクション（forward transfection）」説明書に従った、Lipofectamine RNAiMAX（Life Technologies）。トランスフェクションの24時間前に、1ウェル当たり50000の細胞で24ウェル組織培養プレート上に、細胞を三連でプレATINGした。トランスフェクションの48時間後、細胞をPBSで洗浄し、TRIzol（登録商標）試薬（Life Technologies）を用いて収集した。製造者の説明書に従って、Direct-zol-96 RNA Kit（Zymo Research）を使用して、RNAを単離した。製造者の説明書に従って、High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit（Applied Biosystems）を使用して、10μlのRNAをcDNAに逆転写した。TaqMan（登録商標）Fast Advanced Master Mix（Applied Biosystems）を使用して、SSB特異的およびPPIB特異的なTaqMan遺伝子発現プローブ（Thermo Fisher）を用いて、qPCRによってcDNA試料を評価した。SSB値を、PPIB遺伝子発現に対して各試料内で正規化した。標準的な $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法を使用して、SSBダウンレギュレーションの定量化を実施した。すべての実験を三連で実施した。vpUm.SSB.7f8sを対照として使用した。

【0612】

IC₅₀値は以下の通りであった：

【0613】

【表2】

表2

試料	IC ₅₀ (pM)		
	HCT116	DM1 Ctrl 筋芽細胞	SJCRH30
vpUm.SSB.7f8s	4.00	11.9	14.2
2, vpUe.MSTN.7f8s	0.13	13.7	26.5
1, vpUh.MSTN.7f8s	8.41	42.2	19.4
4, vpUk.MSTN.7f8s	2.36	17.2	24.1

【0614】

図2A～Cは用量反応曲線を示し、この用量反応曲線では、SSB siRNAのガイド鎖の5'末端上の新規なホスホネート修飾ヌクレオチド構造が、二本鎖のインビトロのトランスフェクション後に、RISCにロードされ、標的SSB遺伝子の配列特異的ダウンレギュレーションを媒介することができることが示されている。

【0615】

実施例2. S J C R H 3 0 細胞および明らかに健康なヒト由来の筋芽細胞における s i R N A のインビトロの活性

ヒト横紋筋肉腫ヒト細胞 (S J C R H 3 0、A T C C C R L - 2 0 6 1) において、および明らかに健康なヒト由来の不死化骨格筋芽細胞 (M B) (D e n i s F u r l i n g, I n s t i t u t d e M y o l o g i e, F r a n c e から得た) において、s i R N A の活性を評価した。10%の熱不活性化FBS (G i b c o) および10mMのH E P E S および1mMのピルビン酸ナトリウムで補足されたDMEM中で、S J C R H 3 0 細胞を成長させた。完全な骨格筋細胞増殖培地 (P r o m o C e l l) 中でヒトM B を成長させた。トランスフェクションの24時間前に、1ウェル当たり8500 (S J C R H 3 0) 細胞または4000 (M B) 細胞で、96ウェル組織培養プレート上で、細胞を三通でプレーティングした。50nM、5.5556nM、0.6173nM、0.0686nM、0.0076nM、0.0008nM、および0.0001nMの最終濃度で、s i R N A を両方の細胞型にトランスフェクトした。製造者の「フォワードトランスフェクション」のプロトコルの説明書に従って、s i R N A を市販のトランスフェクション試薬、L i p o f e c t a m i n e R N A i M A X (L i f e T e c h n o l o g i e s) を用いて製剤化した。トランスフェクションの48時間後、細胞をPBSで洗浄し、T R I z o l (登録商標) 試薬 (L i f e T e c h n o l o g i e s) を用いて収集した。製造者の説明書に従って、D i r e c t - z o l - 9 6 R N A K i t (Z y m o R e s e a r c h) を使用して、RNAを単離した。製造者の説明書に従って、H i g h C a p a c i t y c D N A R e v e r s e T r a n s c r i p t i o n K i t (A p p l i e d B i o s y s t e m s) を使用して、10μlのRNAをcDNAに逆転写した。T a q M a n (登録商標) F a s t A d v a n c e d M a s t e r M i x (A p p l i e d B i o s y s t e m s) を使用して、SSB特異的、M S T N 特異的、およびP P I B 特異的なT a q M a n 遺伝子発現プローブ (T h e r m o F i s h e r) を用いて、q P C R によってc D N A 試料を評価した。SSBおよびM S T N の発現値を、各試料内でP P I B 遺伝子発現に対して正規化した。SSBおよびM S T N ダウンレギュレーションの定量化を、基準 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法を使用して実施した。すべての実験を三連で実施した。

【0616】

表3は、標準ホスホネート修飾ヌクレオチド (v p U m . S S B . 7 f 8 s) と比較して達成された、アナログ (化合物1、2、3、および4) の最大半量阻害濃度と、最大ノックダウンとを示す。

【0617】

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3

試料	IC50 (pM)	
	DM1 Ctrl 筋芽細胞	SJCRH30
vpUm.SSB.7f8s	72.3	47.6
3, vpUb.SSB.7f8s	146	>200
2, vpUe.SSB.7f8s	121.5	308
1, vpUh.SSB.7f8s	451	>500
4, vpUk.SSB.7f8s	120	>200

10

【0618】

図3A～Dは用量反応曲線を示し、この用量反応曲線では、MSTN siRNAのガイド鎖上の新規なホスホネート修飾ヌクレオチド構造が、二重鎖のインビトロのトランスフェクション後に、RISCにロードされ、標的MSTN遺伝子の配列特異的ダウンレギュレーションを媒介することができることが示されている。アナログ（化合物1、2、3、および4）の活性は、標準ビニルホスホネート修飾ヌクレオチド（vpUm.SSB.7f8s）に匹敵した。表4は、標準ホスホネート修飾ヌクレオチド（vpUm）と比較して達成された、化合物の最大半量阻害濃度と、最大ノックダウンとを示す。

20

【0619】

【表 4】

表 4

試料	IC50 (pM)	
	MSTN	SSB
vpUm	97.13	17.27
vpUq	150.9	43.49
p1	570	26.11
vp2	323.9	21.44
vpU3	192.5	18.22
vpU4	158.2	12.34

30

【0620】

実施例3．野生型CD-1マウスにおけるsiRNAのインビボの活性

コンジュゲートを、インビボの実験において、筋組織中のMSTN mRNAダウンレギュレーションを媒介するそれらの能力について評価した（野生型CD-1マウス）。PBSビヒクル対照、および指定されたASCと投与量を、静脈内（iv）注射によってマウスに投与した。168時間後、腓腹筋（gastroc）、四頭筋（quadriceps）（quad）、前脛骨筋（tib）、および横隔膜の組織を収集し、液体窒素中で急速冷凍（snap-frozen）した。標的組織中のmRNAノックダウンは、比較用のqPCRアッセイを使用して決定した。全RNAを組織から抽出し、逆転写し、適

40

50

切に設計されたプライマーおよびプローブを用い、TaqMan qPCRを使用して、mRNAのレベルを定量化した。PPIB（ハウスキーピング遺伝子）を内部RNAローディング対照（internal RNA loading control）として使用し、結果を比較Ct方法によって算出し、標的遺伝子Ct値とPPIB Ct値（ ΔCt ）との差を算出し、その後、第2の差（ $\Delta \Delta Ct$ ）を得ることによってPBSの対照群に対してさらに正規化した。

【0621】

直鎖状の安定したリン酸を有するsiRNAのインビボでの有効性は、8つの異なるTfR1-mAbコンジュゲート化合物、すなわち、TfR1-mAb-vpUm.MSTN、TfR1-mAb-vpUq.MSTN、TfR1-mAb-vpUw.MSTN、TfR1-mAb-vpUy.MSTN、TfR1-mAb-vpUb.MSTN、TfR1-mAb-vpUe.MSTN、TfR1-mAb-vpUh.MSTN、TfR1-mAb-vpUk.MSTNを使用して試験した。これらの化合物は、3、1、0.3、0.1mg/kgのsiRNA用量で、2つのインビボの用量反応試験にそれぞれ使用した。TfR1-mAbコンジュゲート化合物の投与の168時間後、組織を収集し、MSTN mRNAノックダウンを測定した。

【0622】

図4および図6は、2つの別個の用量反応試験における、0.1、0.3、1.0、および3.0mg/kgでの抗体siRNAコンジュゲート（TfR1-mAb-vpUq.MSTN、TfR1-mAb-vpUb.MSTN、TfR1-mAb-vpUe.MSTN、TfR1-mAb-vpUh.MSTN、TfR1-mAb-vpUk.MSTN）のIV投与後1週目での腓腹筋（左上）、四頭筋（左下）、横隔膜（右上）、および前脛骨筋（右下）におけるインビボのMSTN mRNAダウンレギュレーションを示す。図5は、抗体siRNAコンジュゲートの単回IV投与後1週目での、腓腹筋（左上）、四頭筋（左下）、横隔膜（右上）、および前脛骨筋（右下）における、siRNA濃度対インビボのMSTN mRNAダウンレギュレーションのプロットを示す。

【0623】

図7は、様々な抗体-siRNAコンジュゲート（TfR1-mAb-vpUm.MSTN、TfR1-mAb-vpUq.MSTN、TfR1-mAb-vpUw.MSTN、TfR1-mAb-vpUy.MSTN）のIV投与後に、腓腹筋（左上）、四頭筋（左下）、横隔膜（右上）、および前脛骨筋（右下）におけるインビボのMSTN mRNAダウンレギュレーションを示す。図8A～Dは、抗体-siRNAコンジュゲート（図8Aおよび8B：TfR1-mAb-vpUm.MSTN、TfR1-mAb-vpUq.MSTN、TfR1-mAb-vpUw.MSTN、TfR1-mAb-vpUy.MSTN；図8Cおよび8D：TfR1-mAb-vpUq.MSTN、TfR1-mAb-vpUb.MSTN、TfR1-mAb-vpUe.MSTN、TfR1-mAb-vpUh.MSTN、TfR1-mAb-vpUk.MSTN）の投与後5週間にわたる様々な抗体-siRNAコンジュゲートによるMSTN mRNAダウンレギュレーションと、腓腹筋組織における期間中のそれらの濃度とを示す。

【0624】

さらに直鎖状の安定したリン酸を有する抗体-SSB siRNAを使用して、肝臓組織における抗体-siRNAコンジュゲートのインビボの有効性を決定した。図9は、3、1、0.3、0.1mg/kgのsiRNA用量で、抗体-siRNAコンジュゲート（ASGR1 Ab-vpUm.SSB、ASGR1 Ab-vpUw.SSB、ASGR1 Ab-vpUy.SSB、ASGR1 Ab-vpUe.SSB、ASGR1 Ab-vpUh.SSB、またはASGR1 Ab-vpUk.SSB）をそれぞれ単回IV投与した後の、インビボのSSB mRNAダウンレギュレーションを示す。ASGR1 SSB siRNAコンジュゲート化合物の投与後168時間で組織を収集し、SSB mRNAノックダウンを測定した。示されるように、本明細書で試験された直鎖状の安定したリン酸を有する抗体-SSB siRNAはすべて、3mg/kgの用量でSSB mRNA

A発現の～75%以上を減少させることができた。

【0625】

本開示の好ましい実施形態が本明細書中で示され、記載されてきたが、このような実施形態はほんの一例として提供されているに過ぎないということは、当業者に明らかであろう。多くの変形、変更、および置き換えは、本開示から逸脱することなく、当業者によって想到されるものである。本明細書に記載される開示の実施形態の様々な代案が、本開示の実施において利用され得ることを理解されたい。以下の特許請求の範囲は本開示の範囲を定義するものであり、ならびに、この特許請求の範囲およびその同等物の範囲内の方法および構造はそれによって包含されることが、意図されている。

10

20

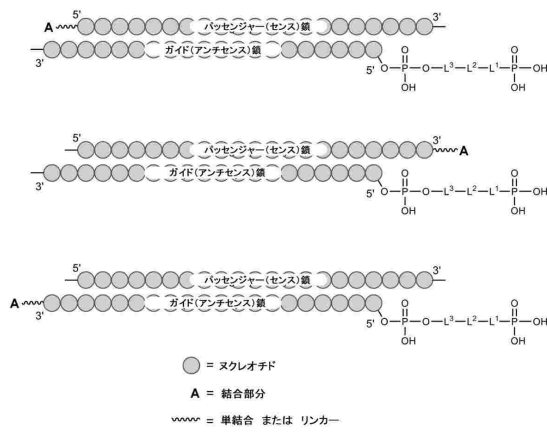
30

40

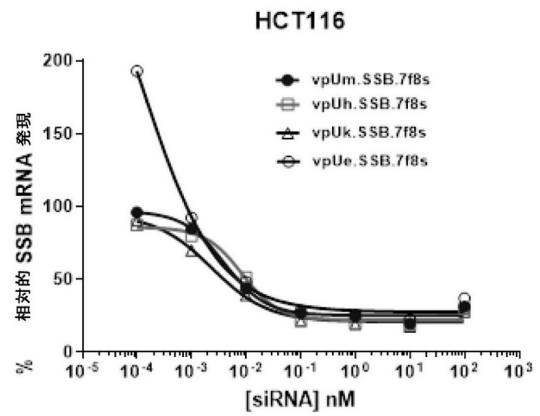
50

【図面】

【図 1】

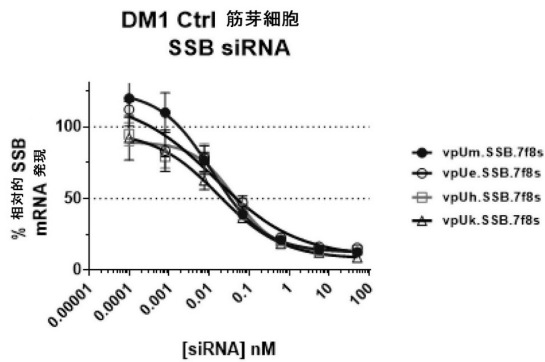


【図 2 A】

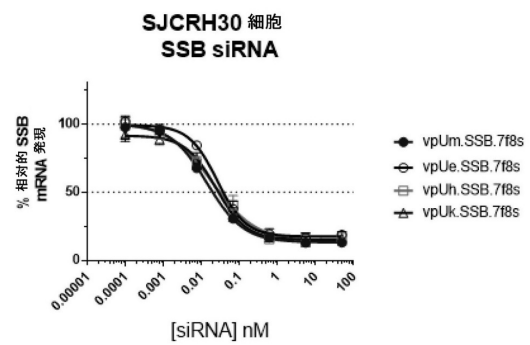


10

【図 2 B】



【図 2 C】



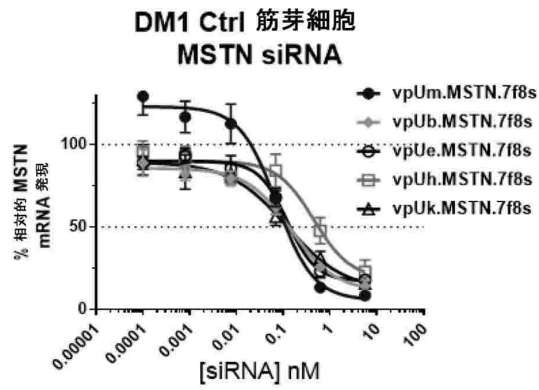
20

30

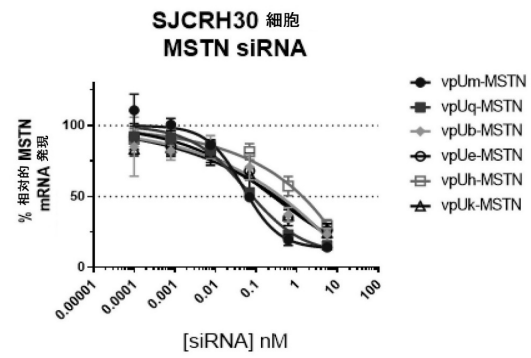
40

50

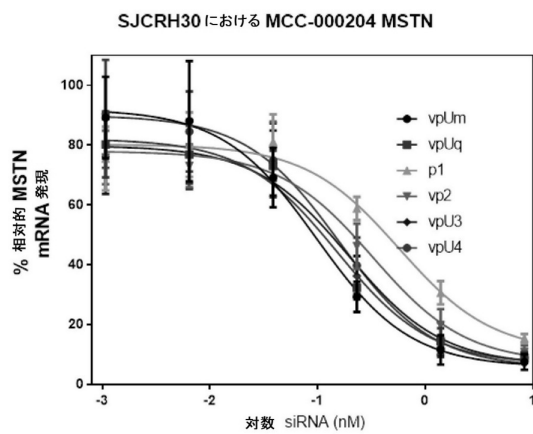
【図 3 A】



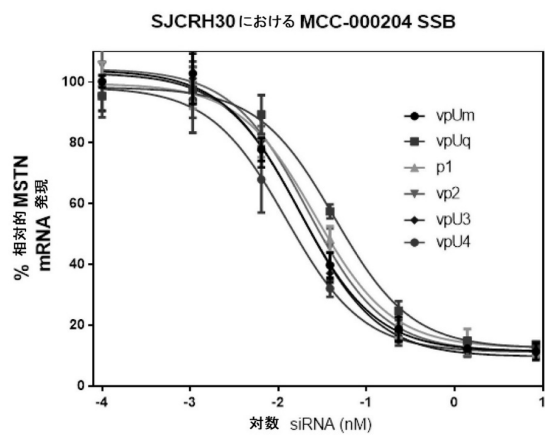
【図 3 B】



【図 3 C】



【図 3 D】



10

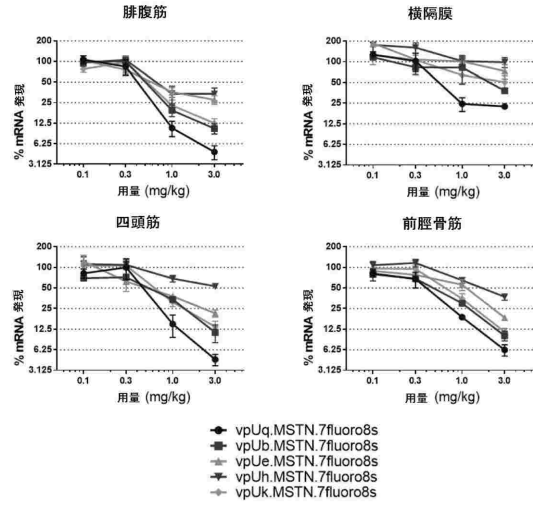
20

30

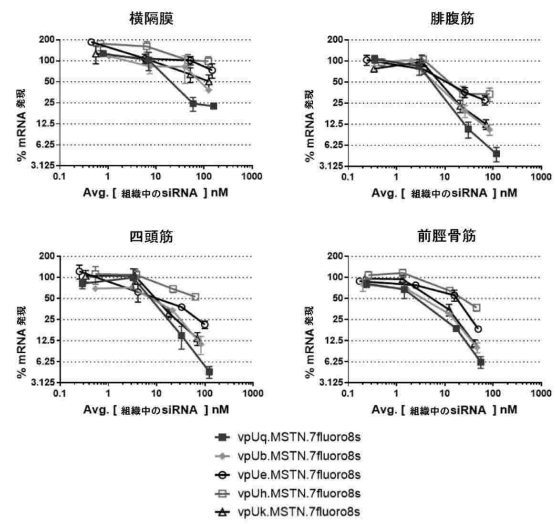
40

50

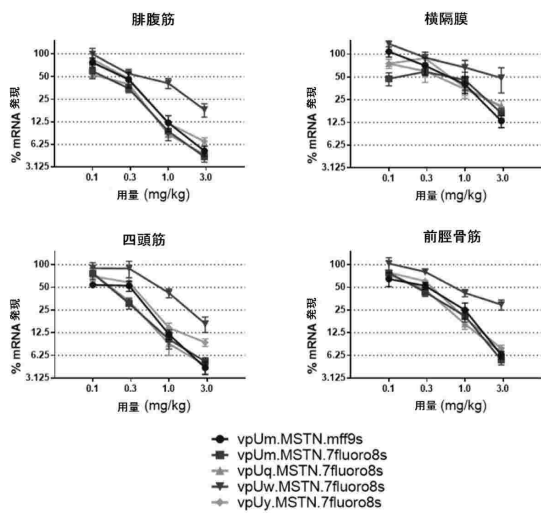
【図 4】



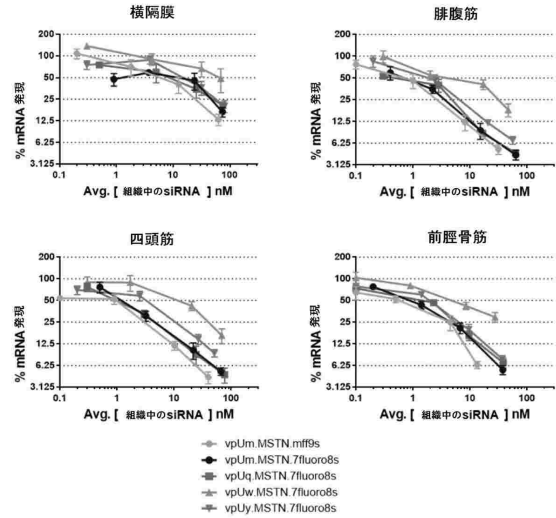
【図 5】



【図 6】



【図 7】



10

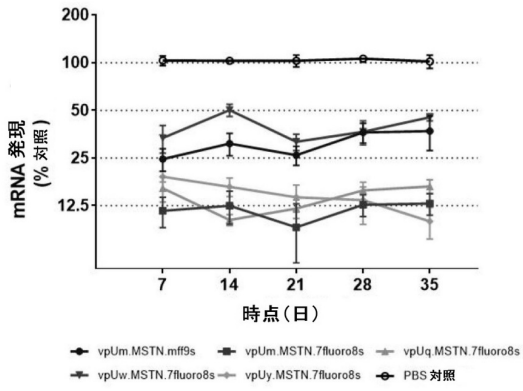
20

30

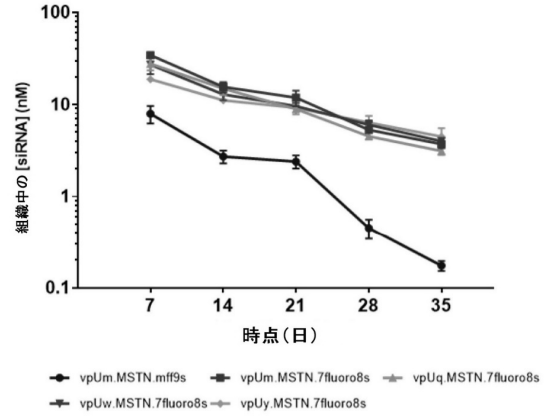
40

50

【図 8 A】

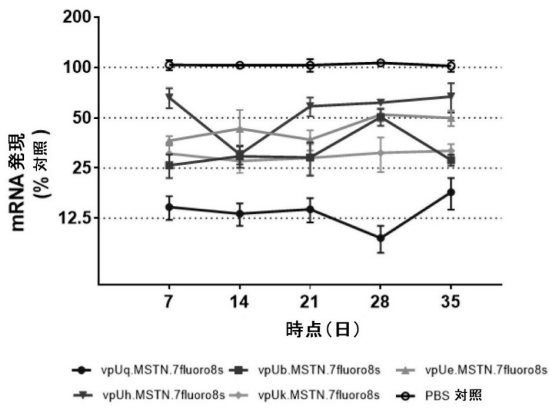


【図 8 B】

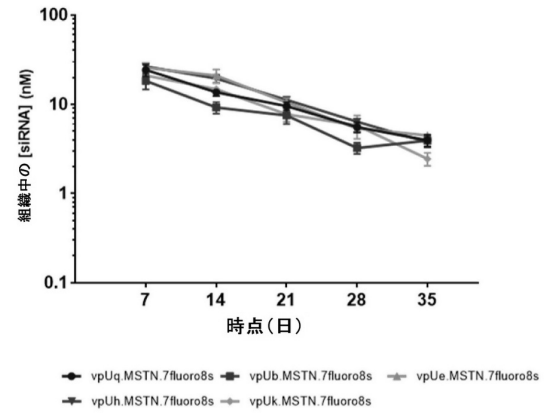


10

【図 8 C】



【図 8 D】



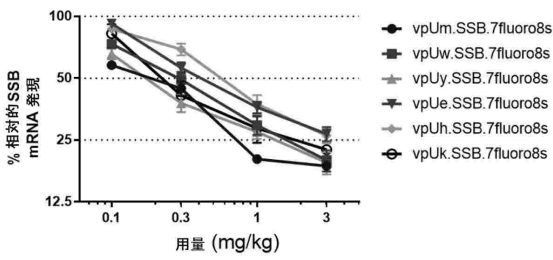
20

30

40

50

【図 9】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/7088(2006.01)	A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	Y

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア州 ラ・ホーヤ ノース・トーリー・パインズ・ロード
1 0 9 7 5 スイート 1 5 0

(72)発明者 チュウ, デイヴィッド サイーホ

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア州 ラ・ホーヤ ノース・トーリー・パインズ・ロード
1 0 9 7 5 スイート 1 5 0

(72)発明者 アリアス, ジョエル ダニエル

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア州 ラ・ホーヤ ノース・トーリー・パインズ・ロード
1 0 9 7 5 スイート 1 5 0

(72)発明者 バーク, ロブ

アメリカ合衆国 9 2 1 2 1 カリフォルニア州 サンディエゴ ロード・トゥ・ザ・キュア 1 0 8
3 5 スイート 2 5 0

審査官 一宮 里枝

(56)参考文献

国際公開第2019/071028 (WO, A1)
国際公開第2011/005860 (WO, A2)
国際公開第2009/061941 (WO, A2)
国際公開第2011/139699 (WO, A2)
国際公開第2018/045317 (WO, A1)
特表2022-535911 (JP, A)
特表2016-505595 (JP, A)
特表2018-529732 (JP, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C 0 7 F 9 / 0 0 - 1 9 / 0 0
C 0 7 H 1 / 0 0 - 9 9 / 0 0
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)