(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2019年2月7日(07.02.2019)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2019/027015 A1

(51) 国際特許分類:
C12N 15/113 (2010.01)　*A61K 48/00* (2006.01)
A61K 31/713 (2006.01)　*A61P 37/02* (2006.01)
A61K 47/54 (2017.01)　*A61P 43/00* (2006.01)

(21) 国際出願番号：　PCT/JP2018/029113

(22) 国際出願日：　2018年8月2日(02.08.2018)

(25) 国際出願の言語：　日本語

(26) 国際公開の言語：　日本語

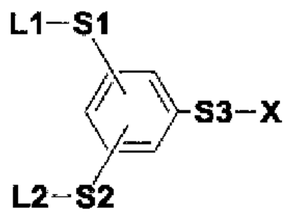
(30) 優先権データ：
特願 2017-149761　2017年8月2日(02.08.2017)　JP

(71) 出願人: 協和発酵キリン株式会社(**KYOWA HAKKO KIRIN CO., LTD.**) [JP/JP]; 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目６番１号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 山田 陽史(**YAMADA, Yoji**); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目６番１号 協和発酵キリン株式会社 本社内 Tokyo (JP). 牧野 麻奈(**MAKINO, Asana**); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目６番１号 協和発酵キリン株式会社 本社内 Tokyo (JP). 長谷川 尚(**HASEGAWA, Hisashi**); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目６番１号 協和発酵キリン株式会社 本社内 Tokyo (JP). 岩井 宏徒(**IWAI, Hiroto**); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目６番１号 協和発酵キリン株式会社 本社内 Tokyo (JP). 上原 啓嗣(**UEHARA, Keiji**); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目６番１号 協和発酵キリン株式会社 本社内 Tokyo (JP). 鈴木 康裕(**SUZUKI, Yasuhiro**); 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目６番１号 協和発酵キリン株式会社 本社内 Tokyo (JP).

(54) **Title:** NUCLEIC ACID COMPLEX

(54) 発明の名称： 核酸複合体



(57) **Abstract:** The present invention provides a nucleic acid complex represented by formula 1, the nucleic acid complex being capable of suppressing the expression of complement factor B (CFB). Formula 1: (in formula 1, X is a double-stranded nucleic acid that comprises a sense strand and an antisense strand and includes a duplex region of at least 11 base pairs; the double-stranded nucleic acid is complementary with any of the CFB mRNA sequences of interest described in Tables 1-1 to 1-3 in an oligonucleotide strand having a strand length of 17-30 nucleotides in the antisense strand, and the 3' end or 5' end of the sense strand bonds to S3; L1 and L2 each independently represent a sugar ligand; S1, S2, and S3 each independently represent a linker.)

(57) 要約：本発明は下記式１で表される、補体B因子（CFB）の発現を抑制することが可能な核酸複合体を提供する。 式１：（式１中、 Ｘは、センス鎖およびアンチセンス鎖からなり、少なくとも11個の塩基対の二重鎖領域を含む二本鎖核酸であり、 該二本鎖核酸は、該アンチセンス鎖中の、17個～30個のヌクレオチドの鎖長のオリゴヌクレオチド鎖において、表1-1～表1-3に記載された標的CFB mRNA配列のいずれかと相補的であり、 該センス鎖の3'末端または5'末端はＳ３に結合し、 Ｌ１およびＬ２は、それぞれ独立して、糖リガンドであり、 Ｓ１、Ｓ２およびＳ３は、それぞれ独立して、リンカーである。）

［続葉有］

WO 2019/027015 A1

(74) 代理人:稲葉 良幸，外(**INABA, Yoshiyuki** et al.);
〒1066123 東京都港区六本木６－１０－１ 六本木ヒルズ森タワー２３階 ＴＭＩ総合法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

— 国際調査報告（条約第21条(3)）

— 明細書の別個の部分として表した配列リスト（規則5.2(a)）

明　細　書

発明の名称 ： 核酸複合体

技術分野

[0001] 本発明は、核酸複合体および該核酸複合体を含む医薬組成物等に関する。

背景技術

[0002] 核酸医薬として、アプタマー、アンチセンス、デコイ核酸、リボザイム、ｓｉＲＮＡ、ｍｉＲＮＡおよびａｎｔｉｍｉＲＮＡ等が知られている。核酸医薬は、細胞内のあらゆる遺伝子を制御できる汎用性の高さから、今まで治療困難とされてきたさまざまな疾患への臨床応用が期待されている。

また、核酸医薬は、細胞内における標的選択性と活性の高さから抗体、低分子医薬に次ぐ、次世代医薬として期待されている。

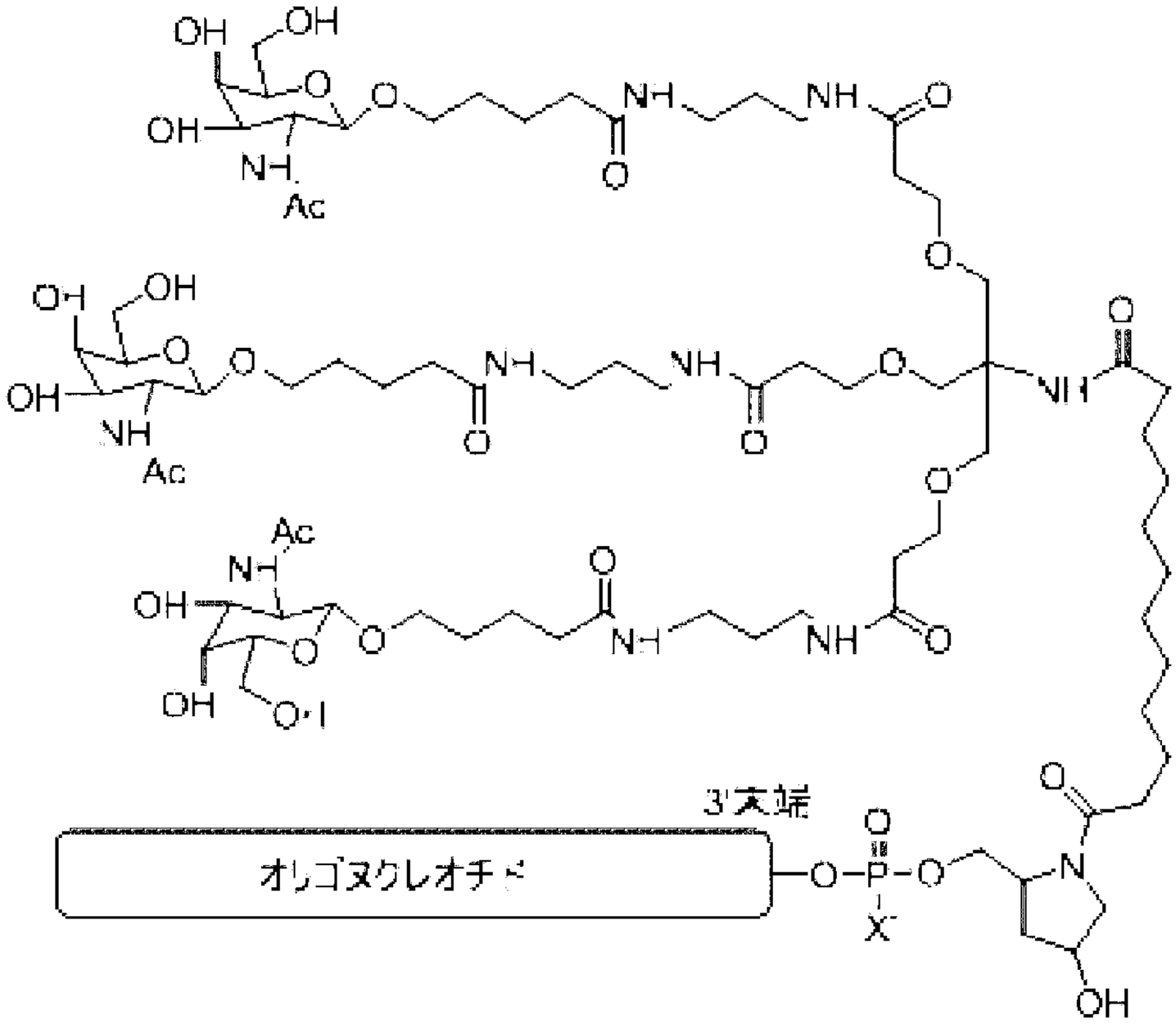
しかしながら、核酸医薬は、標的組織への送達が困難であることが問題点として挙げられる。

[0003] インビボにおける効果的な核酸医薬の送達法の１つとして、標的化化合物と核酸との核酸複合体（コンジュゲート）を用いることが報告されている。標的化化合物としては、細胞外に発現する受容体に結合可能なリガンドが挙げられる。その中でも特に、肝細胞に極めて高発現しているアシアロ糖タンパク質受容体（ＡＳＧＰＲ）に結合可能であるリガンドとしてＮ－アセチル－Ｄ－ガラクトサミン（ＧａｌＮＡｃ）等を利用した核酸複合体が複数報告されている。近年では、これらのリガンドとｓｉＲＮＡ類とを結合した核酸複合体が肝細胞に効率的に送達されることが報告されている（非特許文献１）。

[0004] 標的化化合物とオリゴヌクレオチドの複合体として、特許文献１および２には、例えば、以下に示す核酸複合体が開示されている。

[0005]

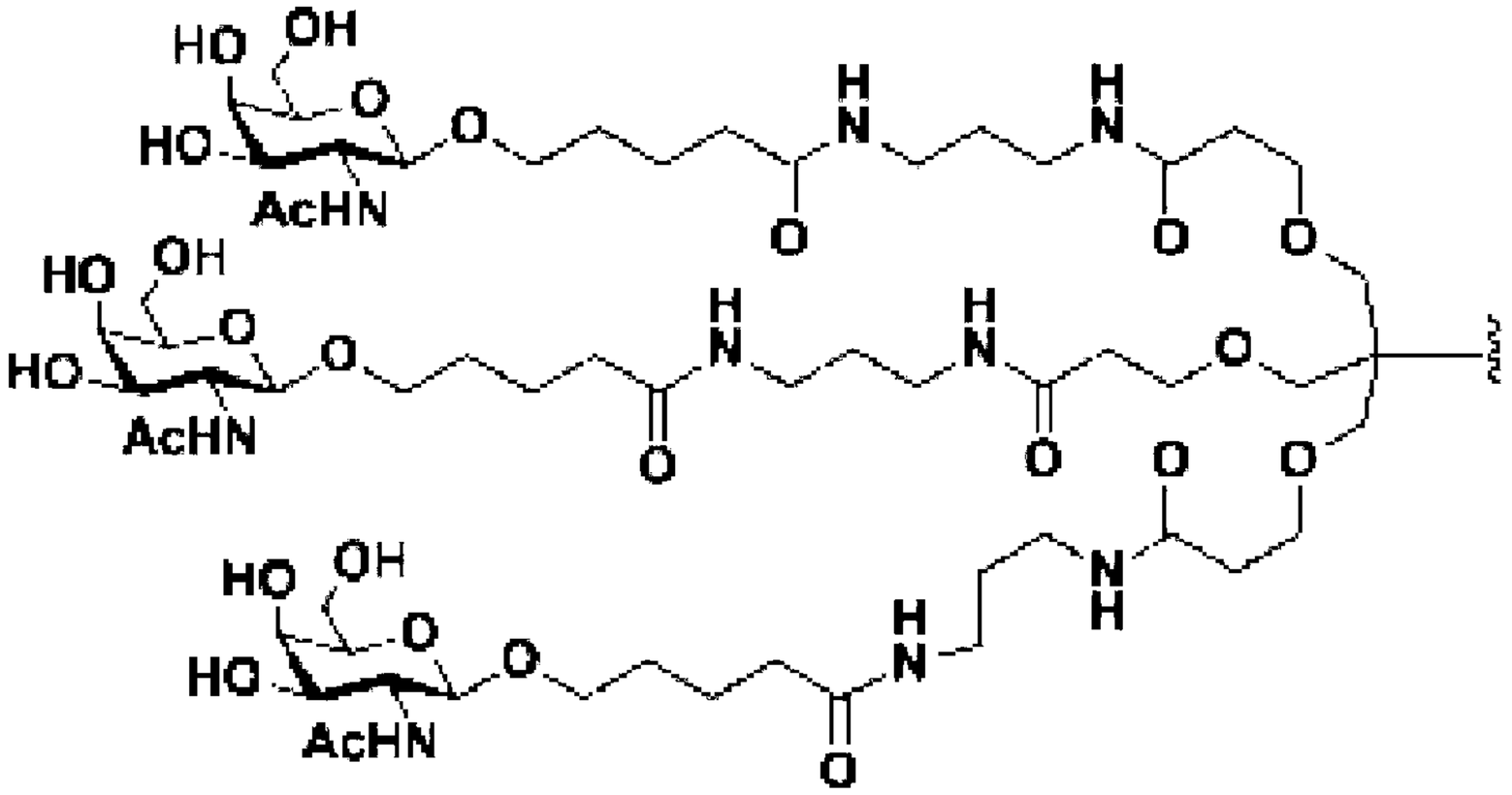
[化1]



（式中、Ａｃはアセチル基を表す。以下、本明細書において同様である。）

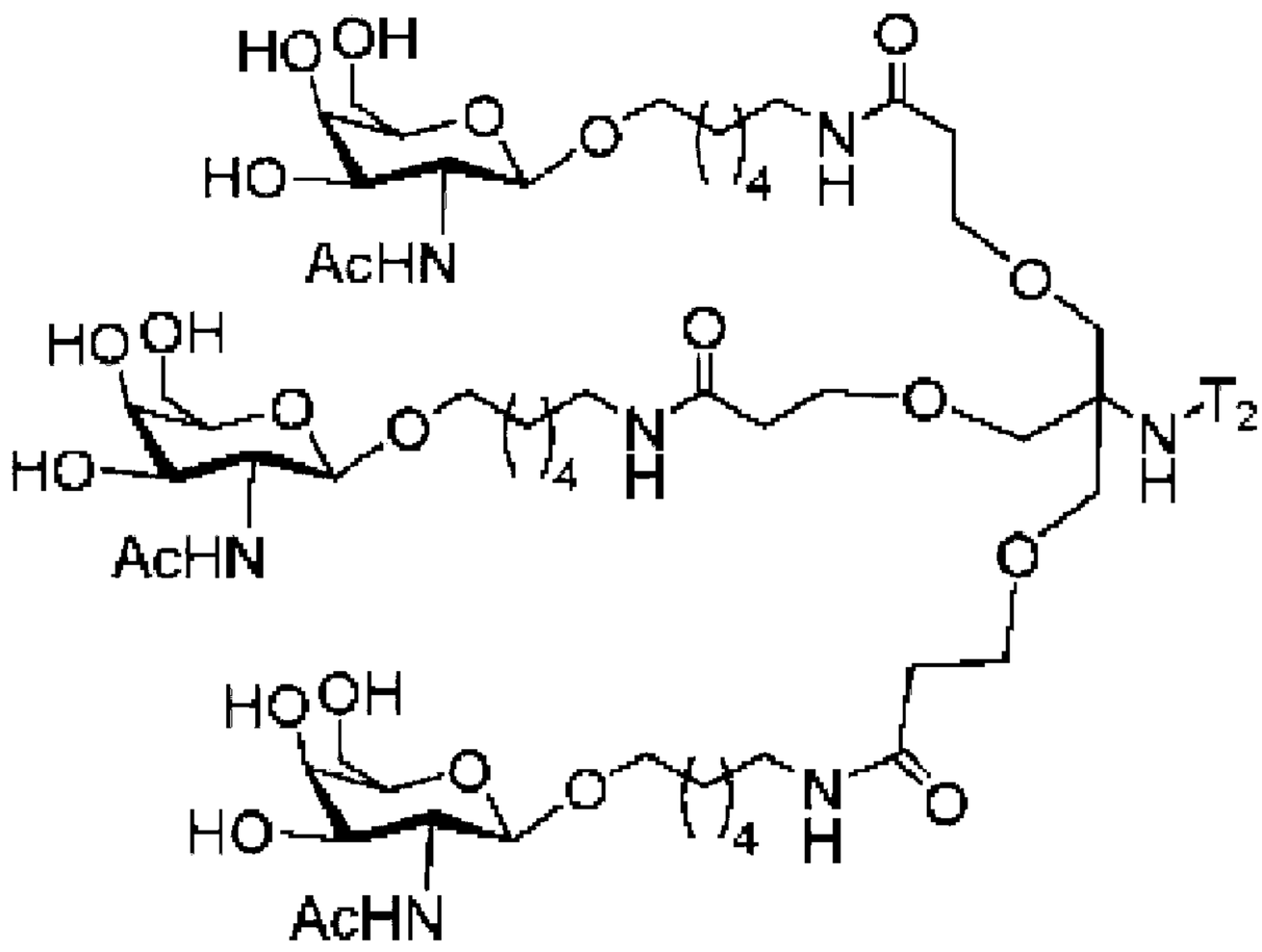
[0006]　また、特許文献３には、特許文献１および２と同様の糖リガンドーテザーユニットを有する以下の構造を有する核酸複合体が開示されている。

[0007][化2]



[0008]　また、特許文献４には、糖リガンドーテザーユニットとして、以下に示す構造を有する核酸複合体が開示されている。

[0009] [化3]



[0010] 補体は免疫反応を媒介する血中タンパク質の一群であり、補体の作用としては、食細胞による病原菌の食作用促進や外膜を持つウィルスに対して傷害を与えて感染力を失わせる等が挙げられる。補体の中でもC3は血清中に最も多量に存在し、補体第二経路では補体B因子（complement factor B；CFB）等によって活性化されることによってその作用が制御されている（非特許文献２）。

[0011] 補体第二経路に関わる制御因子の異常や、C3転換酵素に対する自己抗体での安定化などにより、C3が活性化され続けると、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、加齢黄斑変性症（AMD）、膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN）、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎（RPGN）、急性腎障害（AKI）、ANCA関連血管炎、ループス腎炎、喘息、自己免疫疾患（例えば、全身性エリテマトーデス(SLE)、乾癬、視神経脊髄炎、重症筋無力症等）などの疾患発症に関連することが知られている（非特許文献３、４）。補体B因子の作用を特異的に阻害することにより、上記の疾患を予防あるいは治療できると期待できるが、補体B因子は血中に300μg/mLという比較的高濃度で存在しており（非特許文献５）、これら全ての補体B因子を例えば一般的な抗体医薬によって阻害し続けることは容易ではない。

先行技術文献

特許文献

[0012] 特許文献1：国際公開第２００９／０７３８０９号

特許文献2：国際公開第２０１３／０７５０３５号

特許文献3：国際公開第２０１５／１０５０８３号

特許文献4：国際公開第２０１４／１７９６２０号

非特許文献

[0013] 非特許文献1：ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティー（Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｓｏｃｉｅｔｙ），２０１４年，第１３６巻，ｐ１６９５８－１６９６１

非特許文献2：プロシーディング・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・ザ・ユナイテッド・ステイツ・オブ・アメリカ（Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ａｃａｄｅｍｙ　ｏｆ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｕｎｉｔｅｄ　Ｓｔａｔｅｓ　ｏｆ　Ａｍｅｒｉｃａ）１９９７年，　第９４巻，　ｐ８７２０－８７２５

非特許文献3：イムノロジカル・レビュー（Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｒｅｖｉｅｗｓ）２００８年，　第２２３巻，　ｐ３００－３１６

非特許文献4：ジャーナル・オブ・アメリカン・ソサエティ・オブ・ネフロロジー（Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｓｏｃｉｅｔｙ　ｏｆ　Ｎｅｐｈｒｏｌｏｇｙ　２０１５年，　第２６巻，ｐ　２９１７－２９２９

非特許文献5：補体への招待、２０１１年、メディカルビュー社、ｐ１８

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0014]　本発明の目的は、補体B因子（CFB）の発現を抑制することが可能な核酸複合体を提供することにある。

課題を解決するための手段

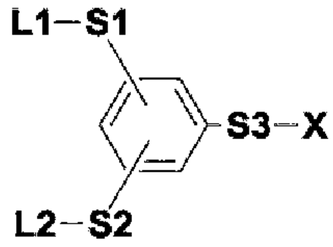
[0015] 本発明は、以下に関する。

［１］

下記式１で表される核酸複合体。

式１：

[化4]



（式１中、

Ｘは、センス鎖およびアンチセンス鎖からなり、少なくとも11個の塩基対の二重鎖領域を含む二本鎖核酸であり、

該二本鎖核酸は、該アンチセンス鎖中の、17個～30個のヌクレオチドの鎖長のオリゴヌクレオチド鎖において、表1-1～表1-3に記載された標的CFB mRNA配列のいずれかと相補的であり、

該センス鎖の3’末端または5’末端はＳ３に結合し、

Ｌ１およびＬ２は、それぞれ独立して、糖リガンドであり、

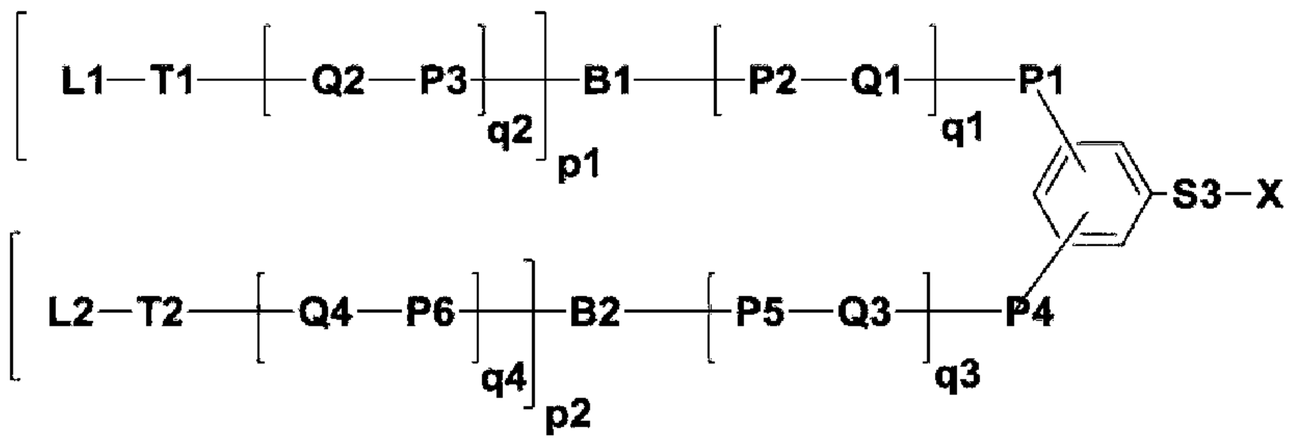
Ｓ１、Ｓ２およびＳ３は、それぞれ独立して、リンカーである。）

［２］

下記式２で表される構造を有する、［１］に記載の核酸複合体。

式２：

[化5]



（式２中、

Ｘ、Ｌ１、Ｌ２およびＳ３は、それぞれ前記と同義であり、

Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３、Ｐ４、Ｐ５およびＰ６、ならびにＴ１およびＴ２は、

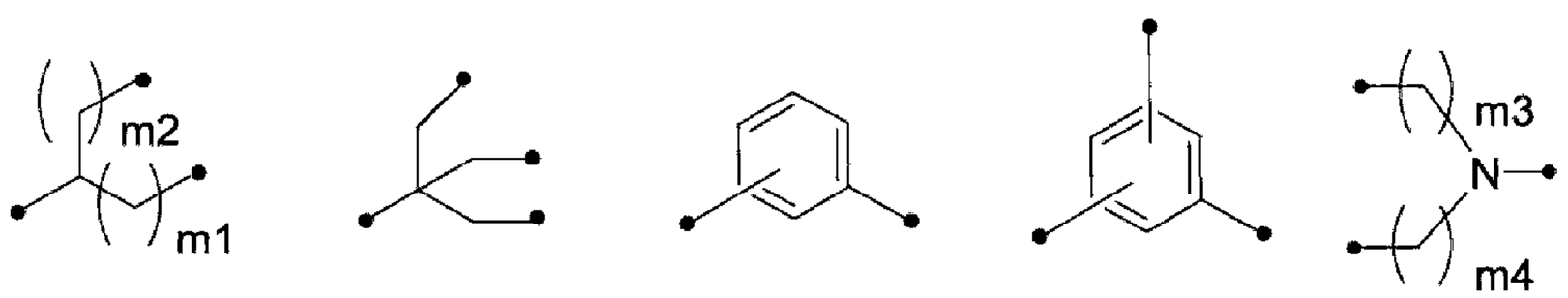
それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であり、

Ｑ１、Ｑ２、Ｑ３およびＱ４は、それぞれ独立して、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_n$－CH_2CH_2－であり、ｎは０～９９の整数であり、

Ｂ１およびＢ２は、それぞれ独立して、結合手であるか、または、下記式２－１で表されるいずれかの構造であり、各構造における末端の黒丸点は、それぞれ、Ｐ２またはＰ３あるいはＰ５またはＰ６との結合点であり、ｍ１、ｍ２、ｍ３およびｍ４は、それぞれ独立して、０～１０の整数であり、

式２－１：

[化6]



ｐ１およびｐ２は、それぞれ独立して、１、２または３の整数であり、

ｑ１、ｑ２、ｑ３およびｑ４は、それぞれ独立して、０～１０の整数であり、

ただし、ｐ１およびｐ２がそれぞれ２または３の整数であるとき、それぞれのＰ３およびＰ６、Ｑ２およびＱ４、Ｔ１およびＴ２ならびにＬ１およびＬ２は、同一または異なっていてもよく、ｑ１～ｑ４が２～１０のとき、それぞれの－［Ｐ２－Ｑ１］－，－［Ｑ２－Ｐ３］－，－［－Ｐ５－Ｑ３］－，－［Ｑ４－Ｐ６］－の組み合わせは同一または異なっていてもよい。）

［３］

Ｐ１およびＰ４が、それぞれ独立して、－ＣＯ－ＮＨ－、－ＮＨ－ＣＯ－または－Ｏ－である［２］に記載の核酸複合体。

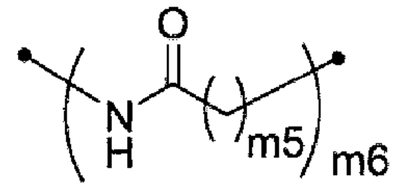
［４］

－［Ｐ２－Ｑ１］$_{q1}$－および－［Ｐ５－Ｑ３］$_{q3}$－がそれぞれ独立して、

存在しないか、または下記式３－１～式３－３で表されるいずれかの構造である、［２］または［３］に記載の核酸複合体。

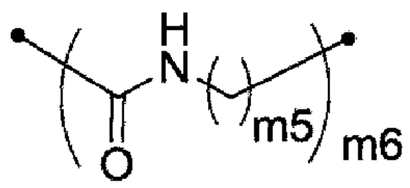
式３－１：

[化7]



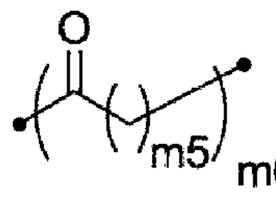
式３－２：

[化8]



式３－３：

[化9]



（式３－１～式３－３中、

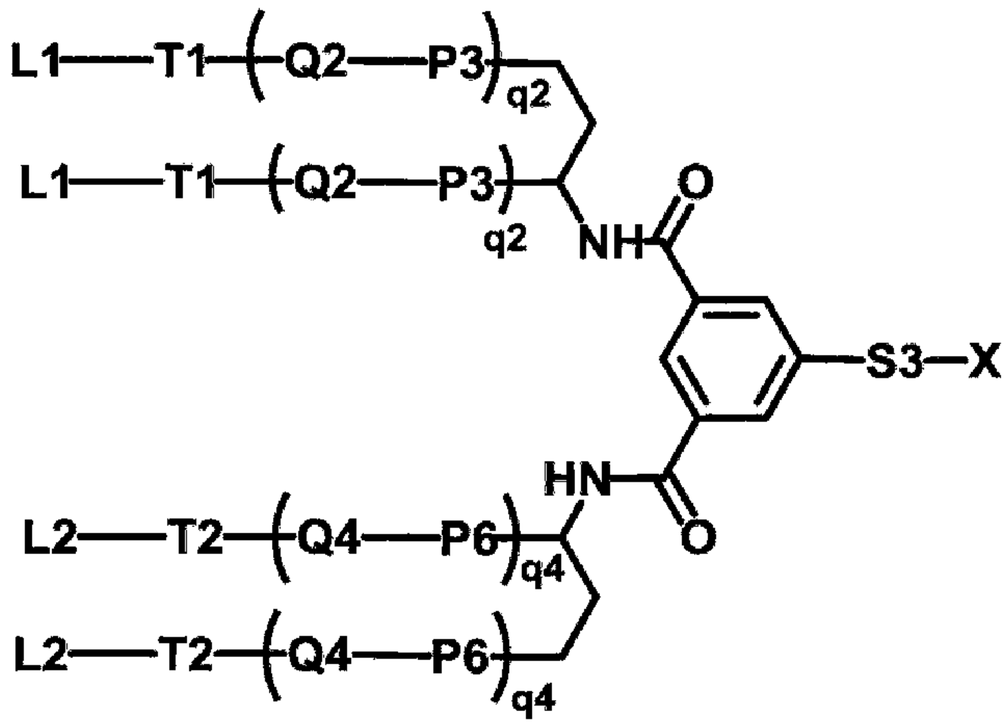
ｍ５およびｍ６は、それぞれ独立して、０～１０の整数であり、式３－１～式３－３の構造における末端の黒丸点は、それぞれ、Ｂ１またはＢ２あるいはＰ１またはＰ４との結合点である。）

［５］

下記式４－１～式４－９で表されるいずれかの構造を有する、［２］～［４］のいずれか１項に記載の核酸複合体。

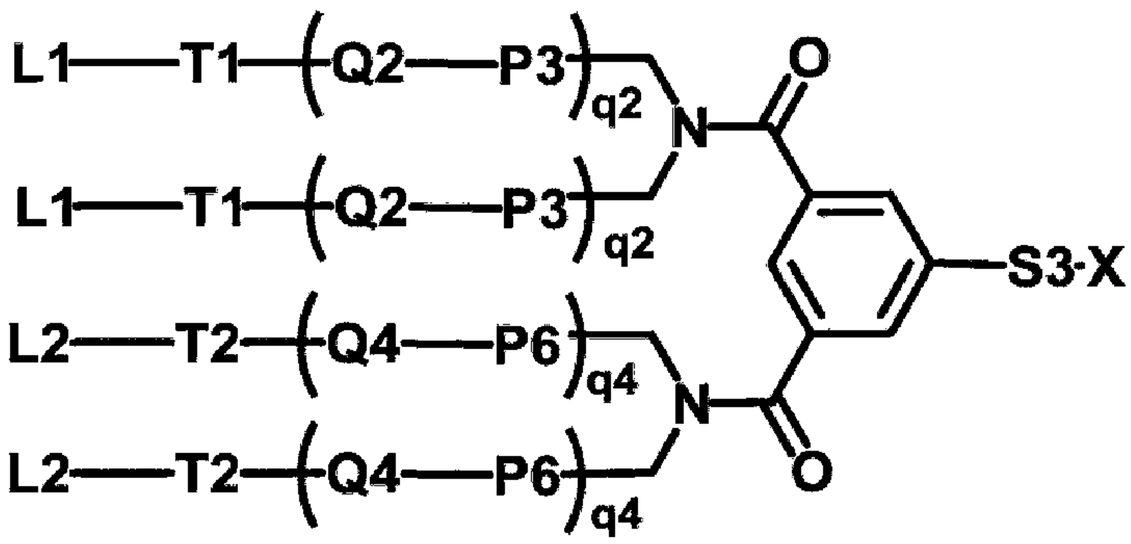
式４－１：

[化10]



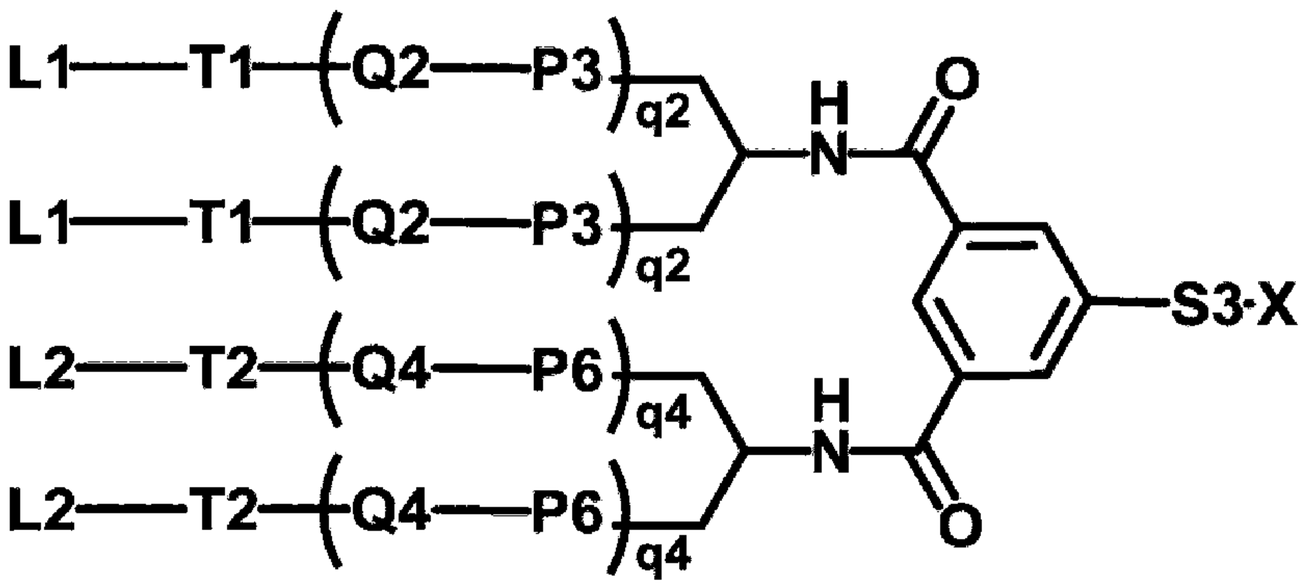
式４－２：

[化11]



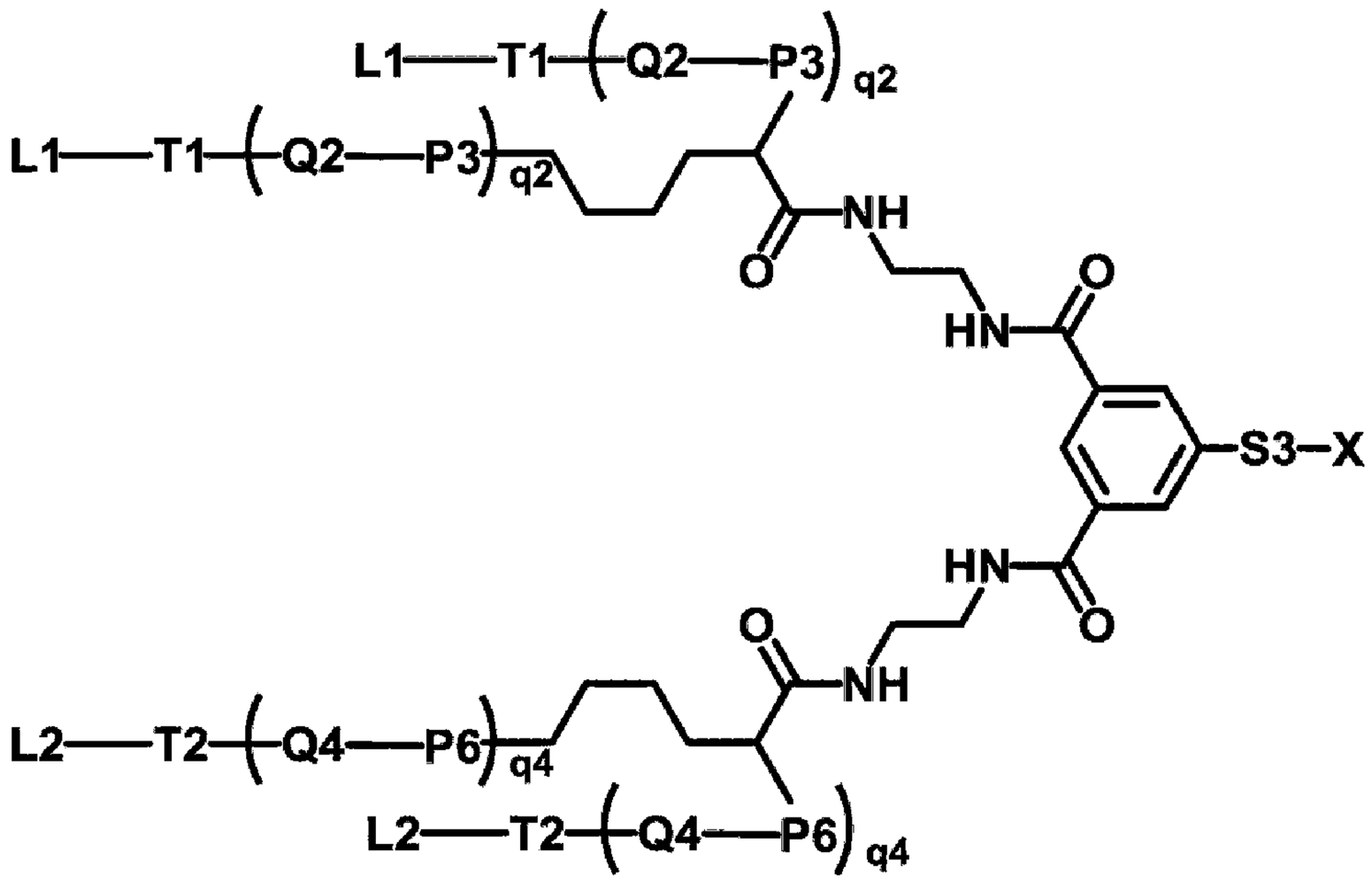
式４－３：

[化12]



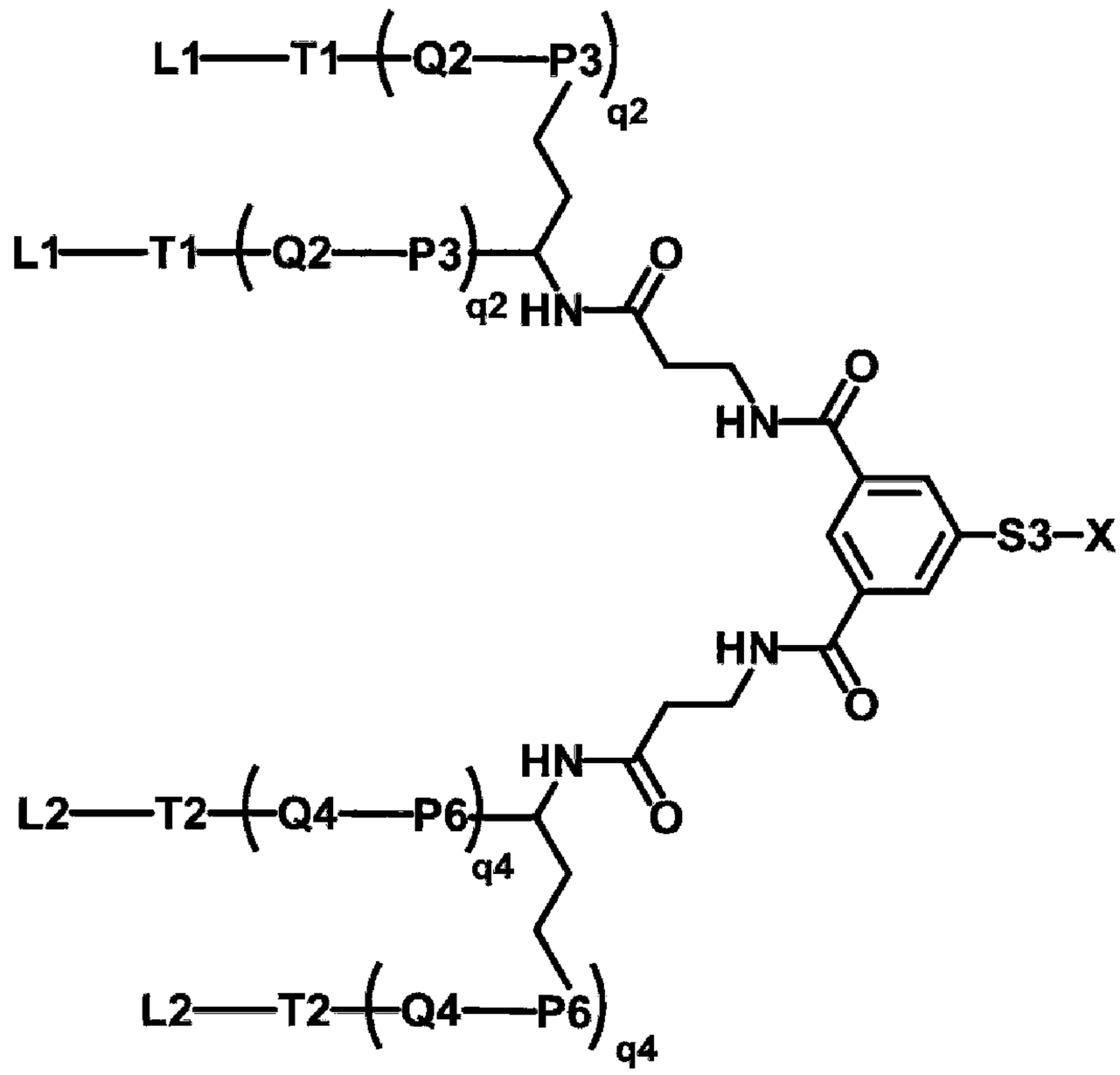
式４－４：

[化13]



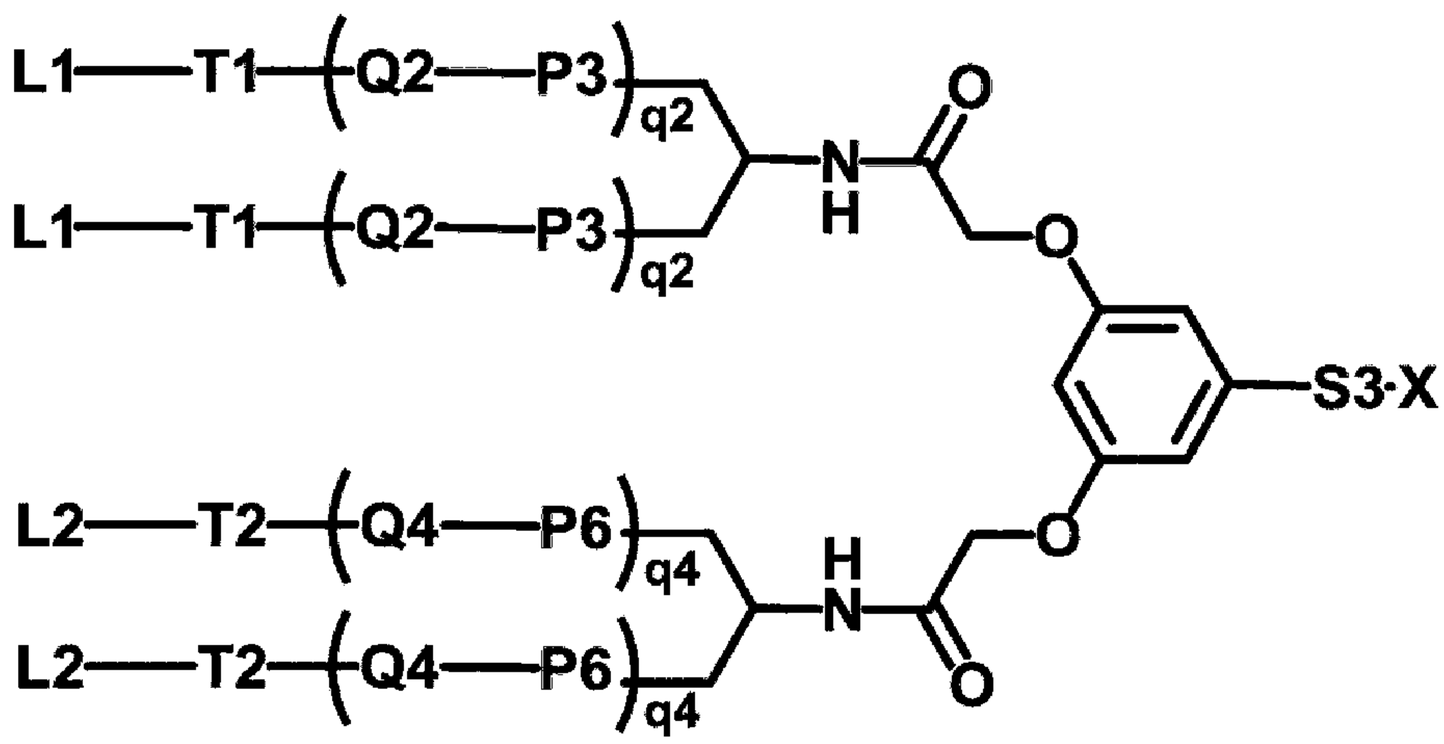
式４－５：

[化14]



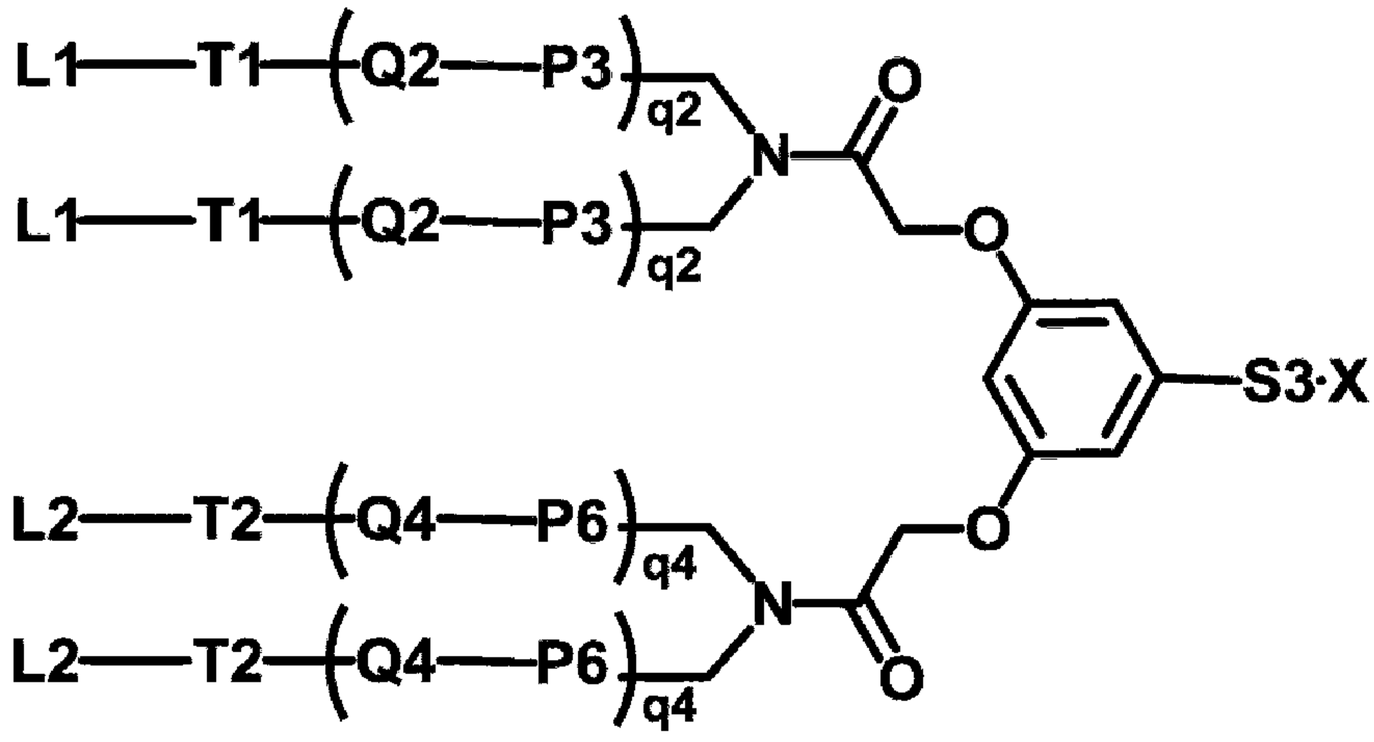
式４－６：

[化15]



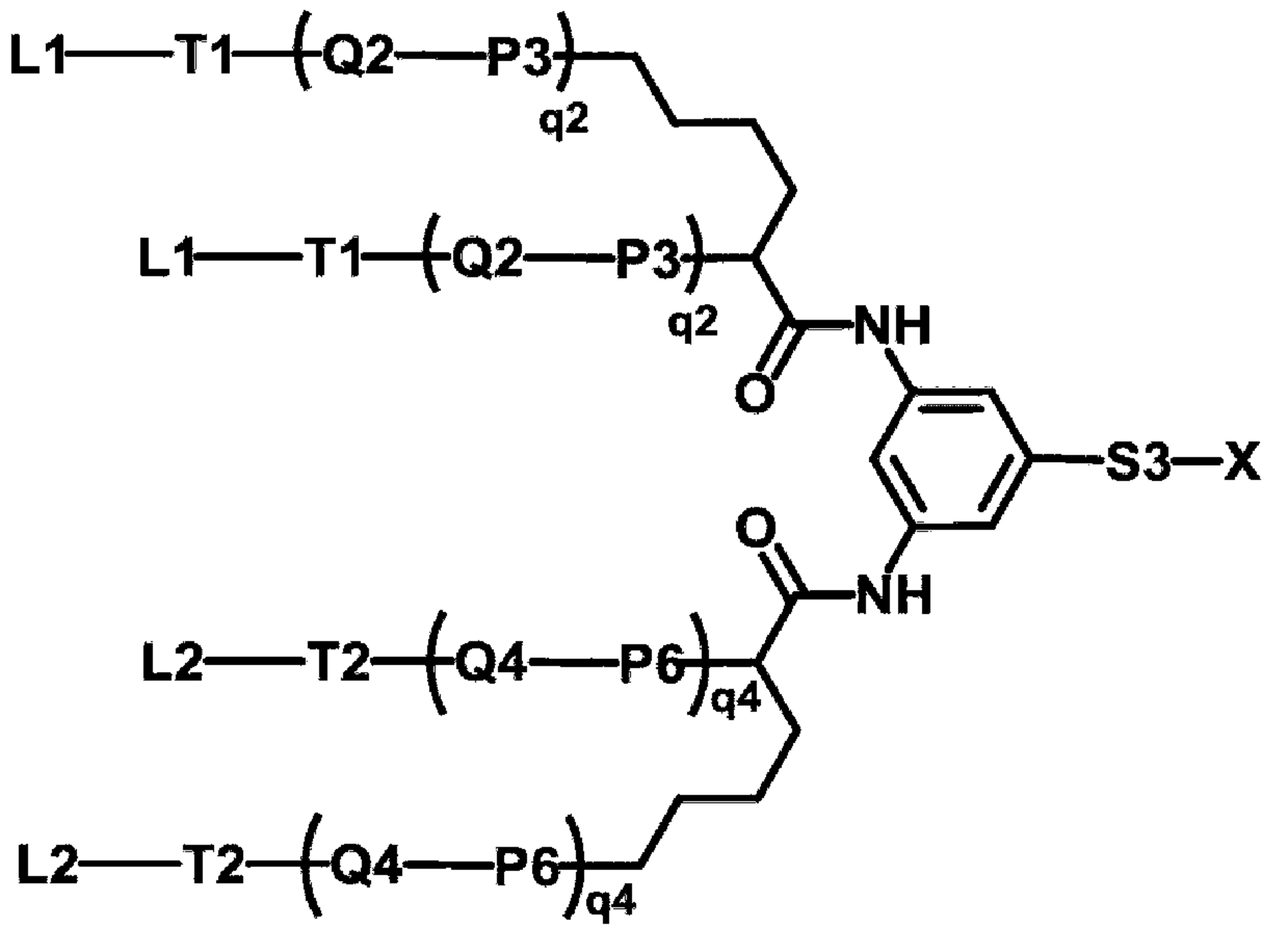
式４－７：

[化16]



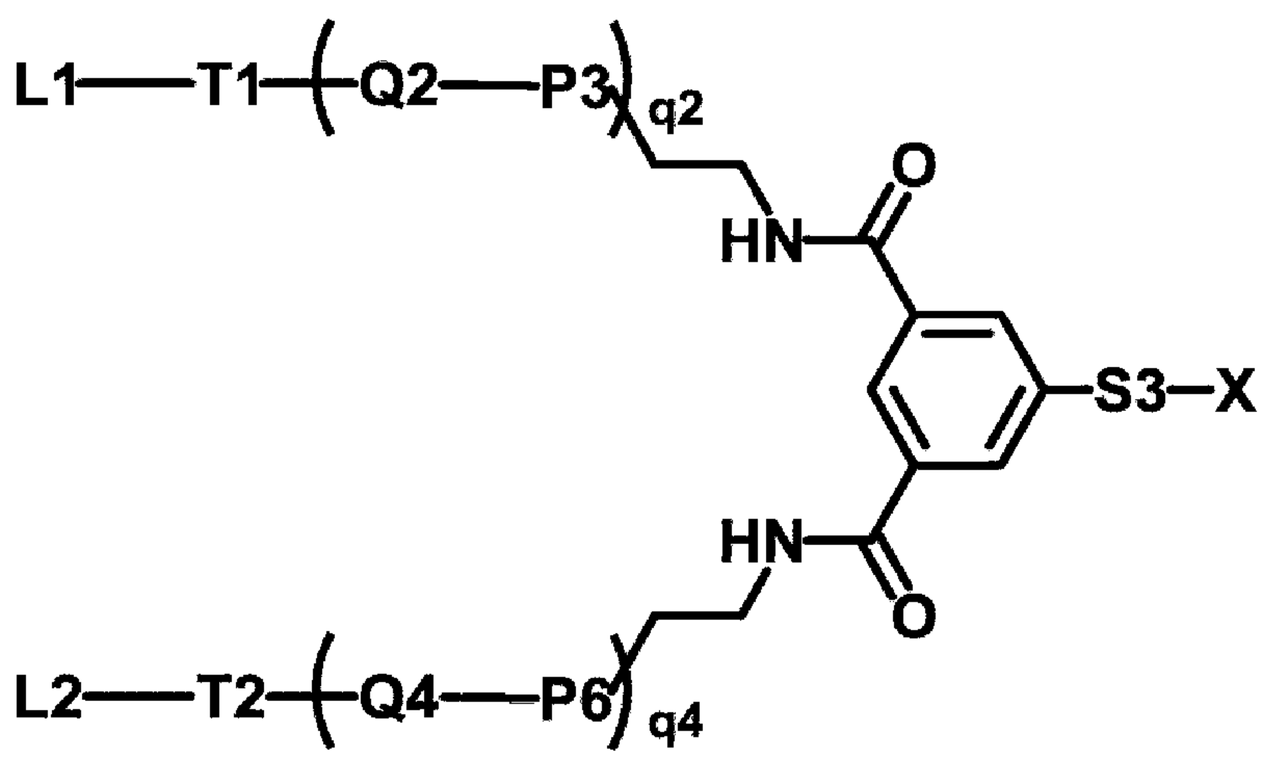
式４－８：

[化17]



式４－９：

[化18]



（式４－１～４－９中、

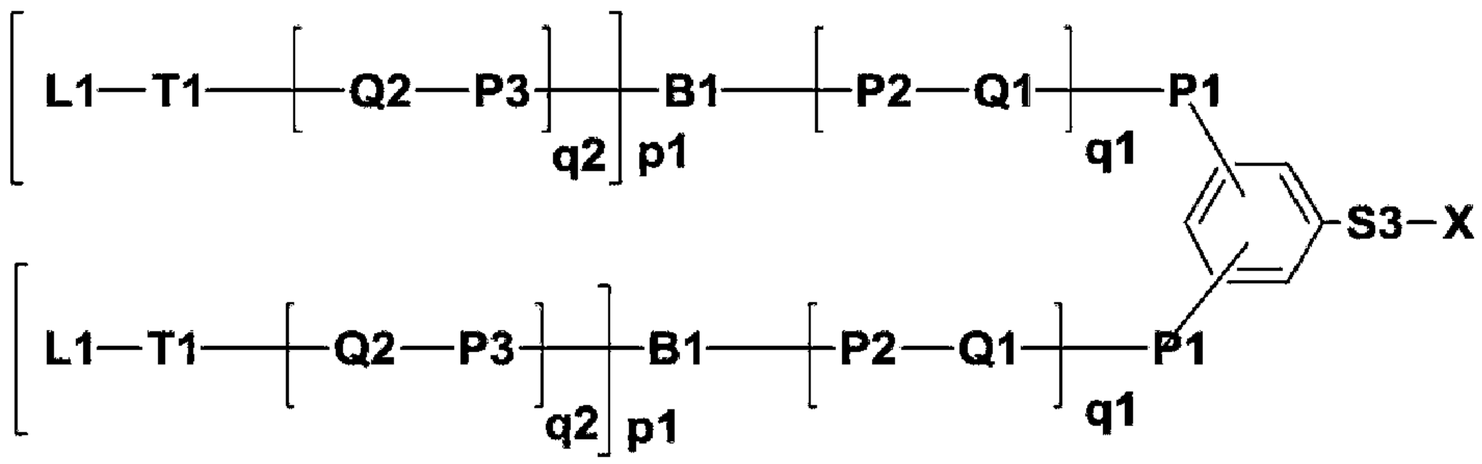
Ｘ、Ｌ１、Ｌ２、Ｓ３、Ｐ３、Ｐ６、Ｔ１、Ｔ２、Ｑ２、Ｑ４、ｑ２およびｑ４はそれぞれ前記と同義である。）

［６］

下記式５で表される構造を有する、［１］に記載の核酸複合体。

式５：

[化19]



（式５中、

Ｘ、Ｓ３、Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３、Ｑ１、Ｑ２、Ｂ１、Ｔ１、Ｌ１、ｐ１、ｑ１およびｑ２はそれぞれ前記と同義である。）

［７］

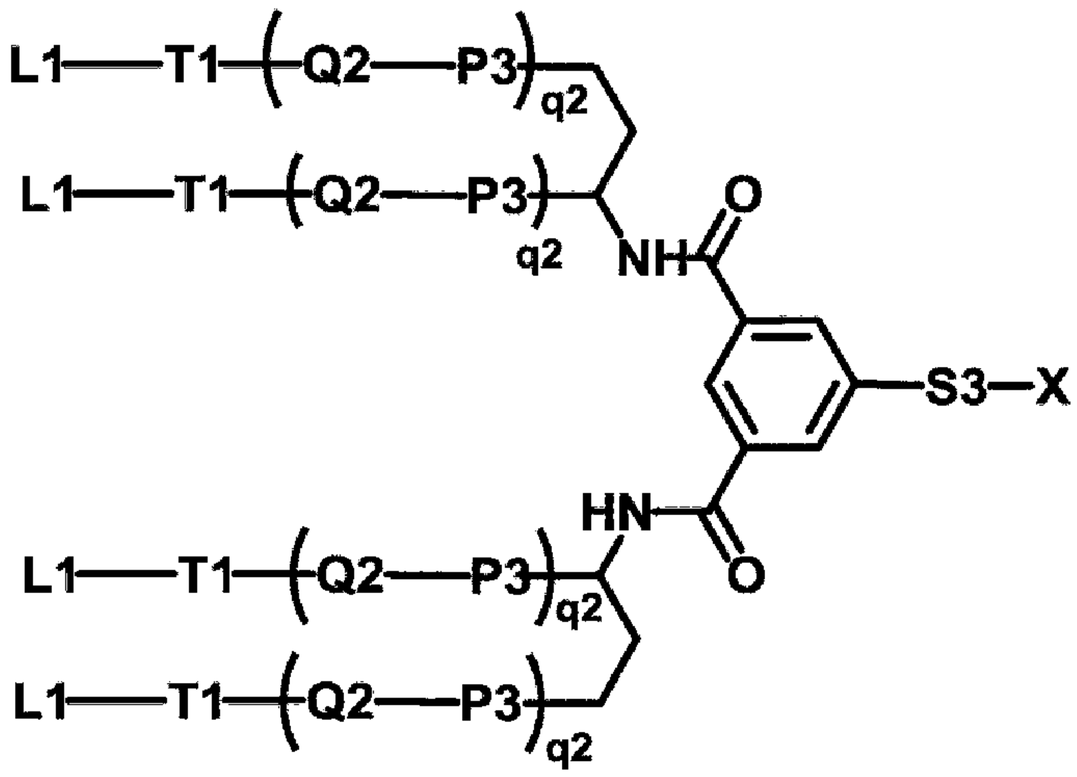
Ｐ１が－ＣＯ－ＮＨ－、－ＮＨ－ＣＯ－または－Ｏ－である［６］に記載の核酸複合体。

［８］

下記式６－１～式６－９で表されるいずれかの構造を有する、［６］または［７］に記載の核酸複合体。

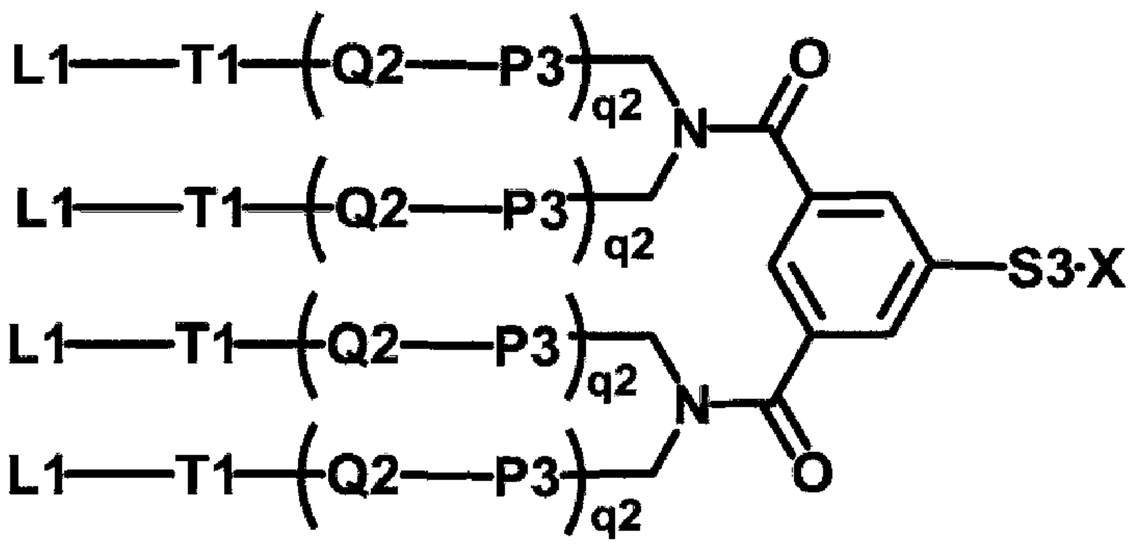
式６－１：

[化20]



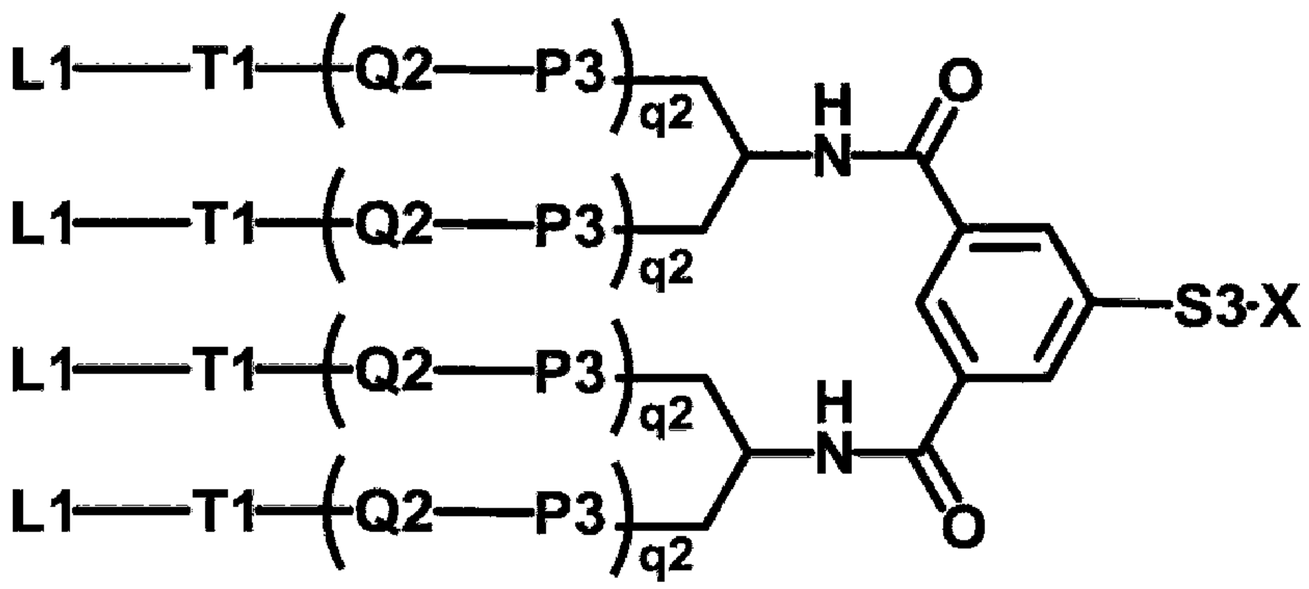
式６－２：

[化21]



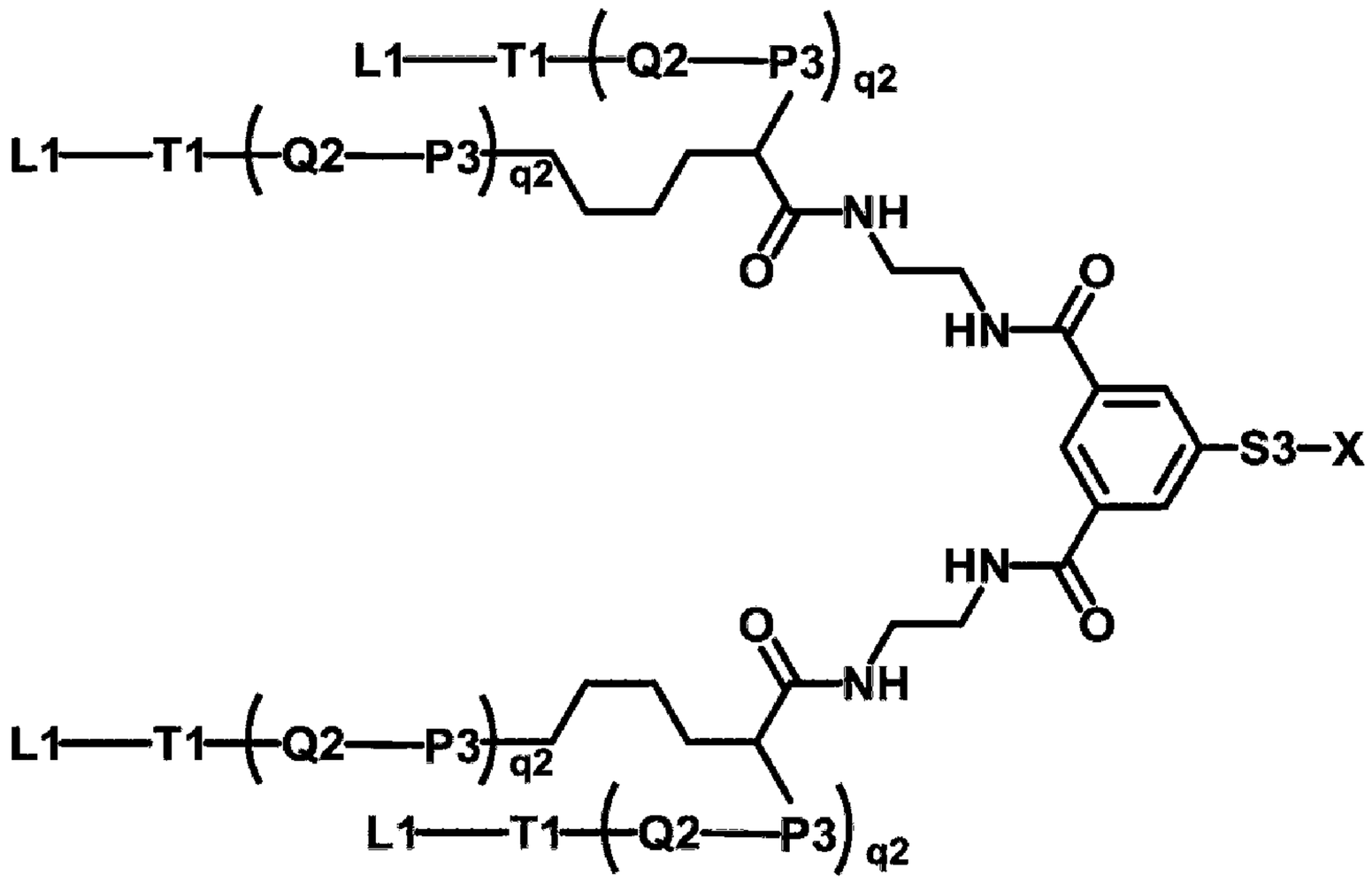
式６－３：

[化22]



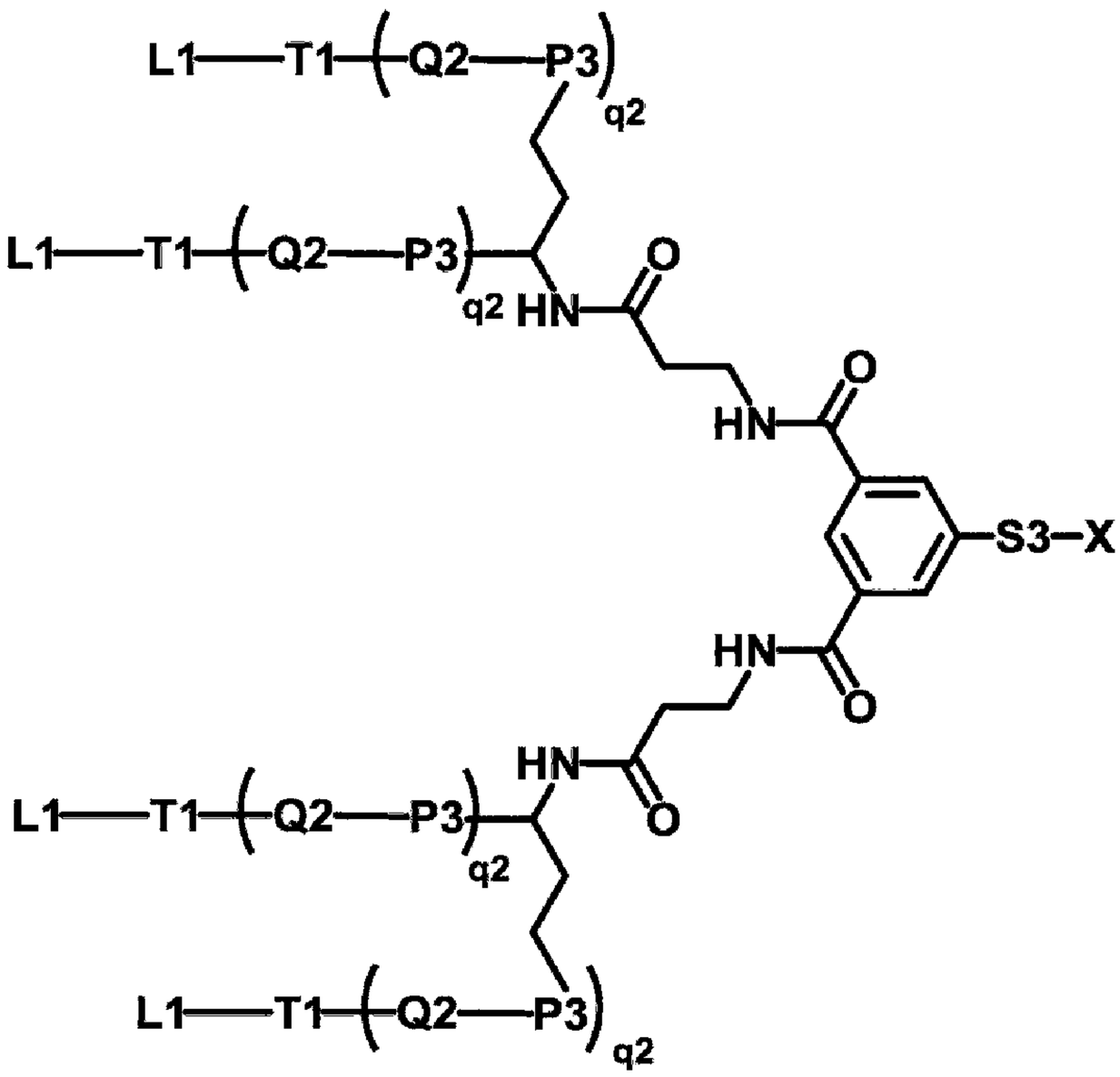
式６－４：

[化23]



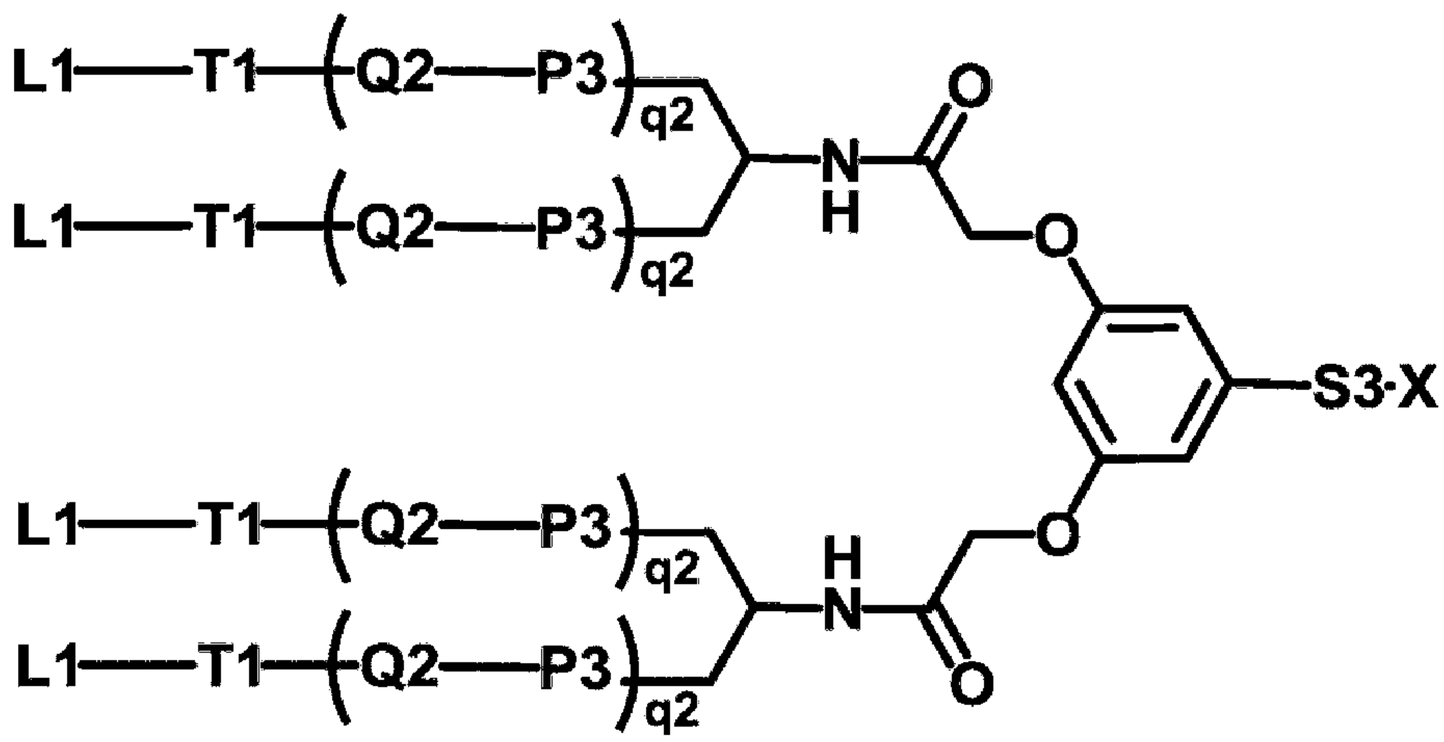
式６－５：

[化24]



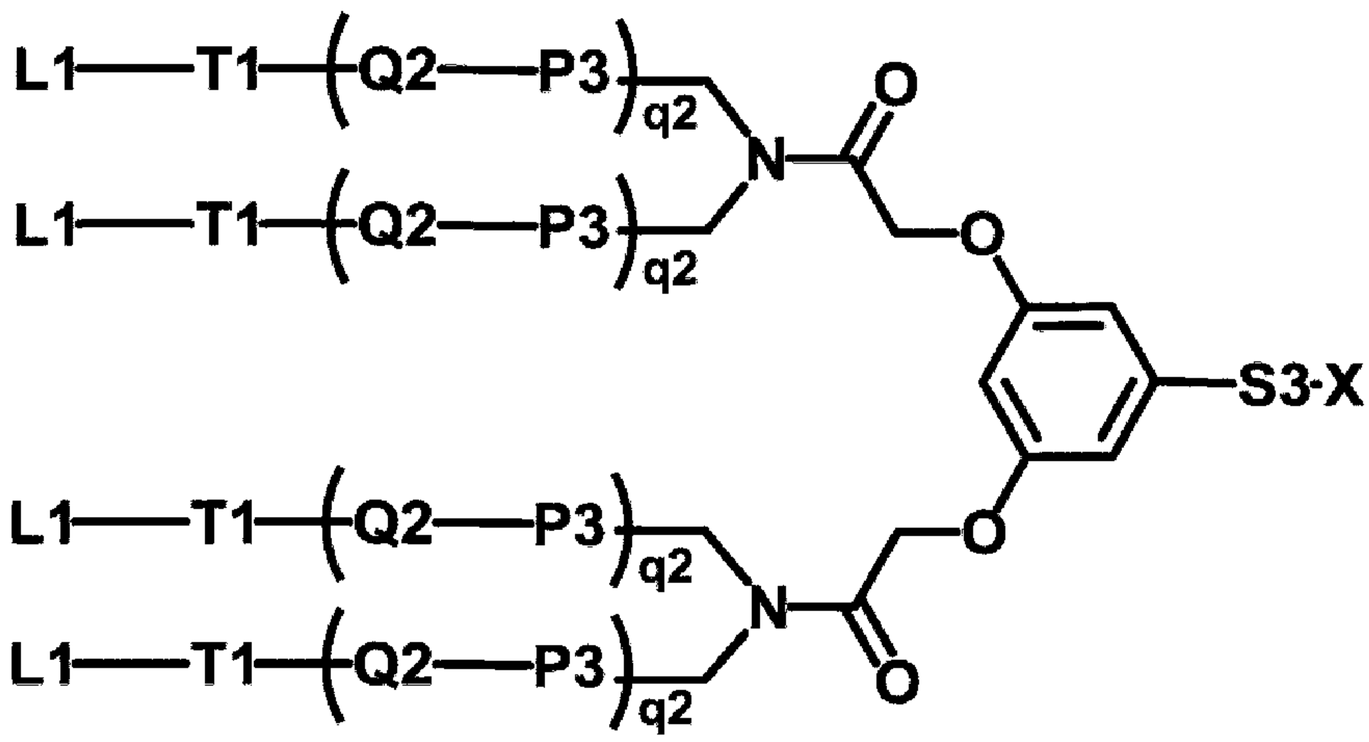
式６－６：

[化25]



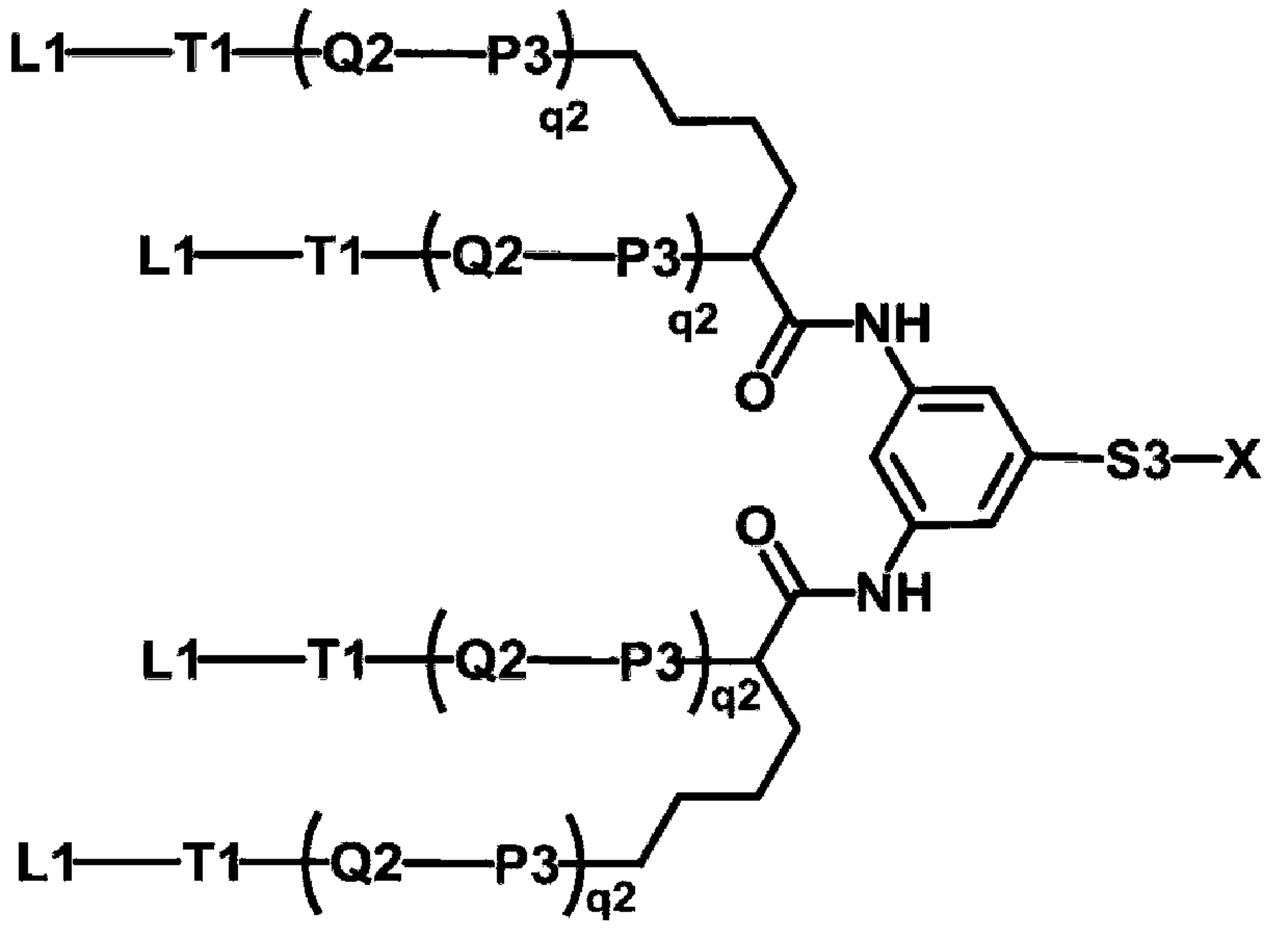
式６－７：

[化26]



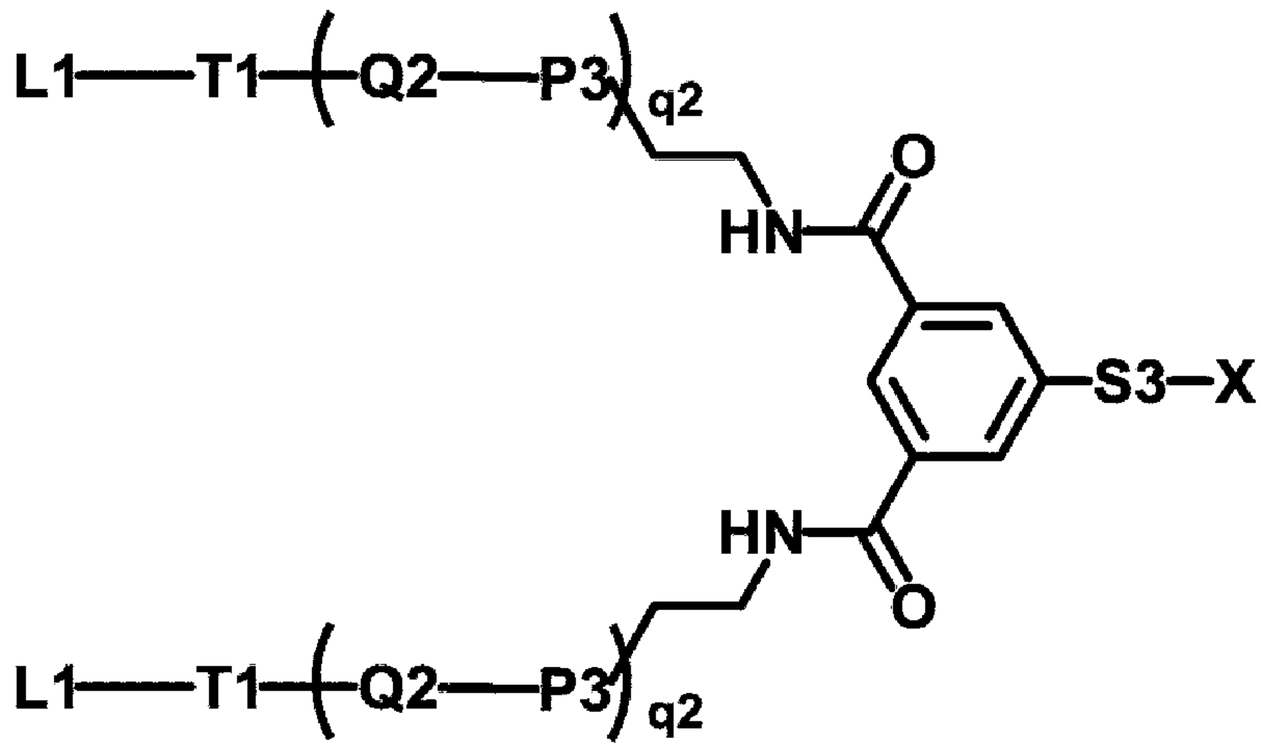
式６－８：

[化27]



式６－９：

[化28]



（式６－１～６－９中、

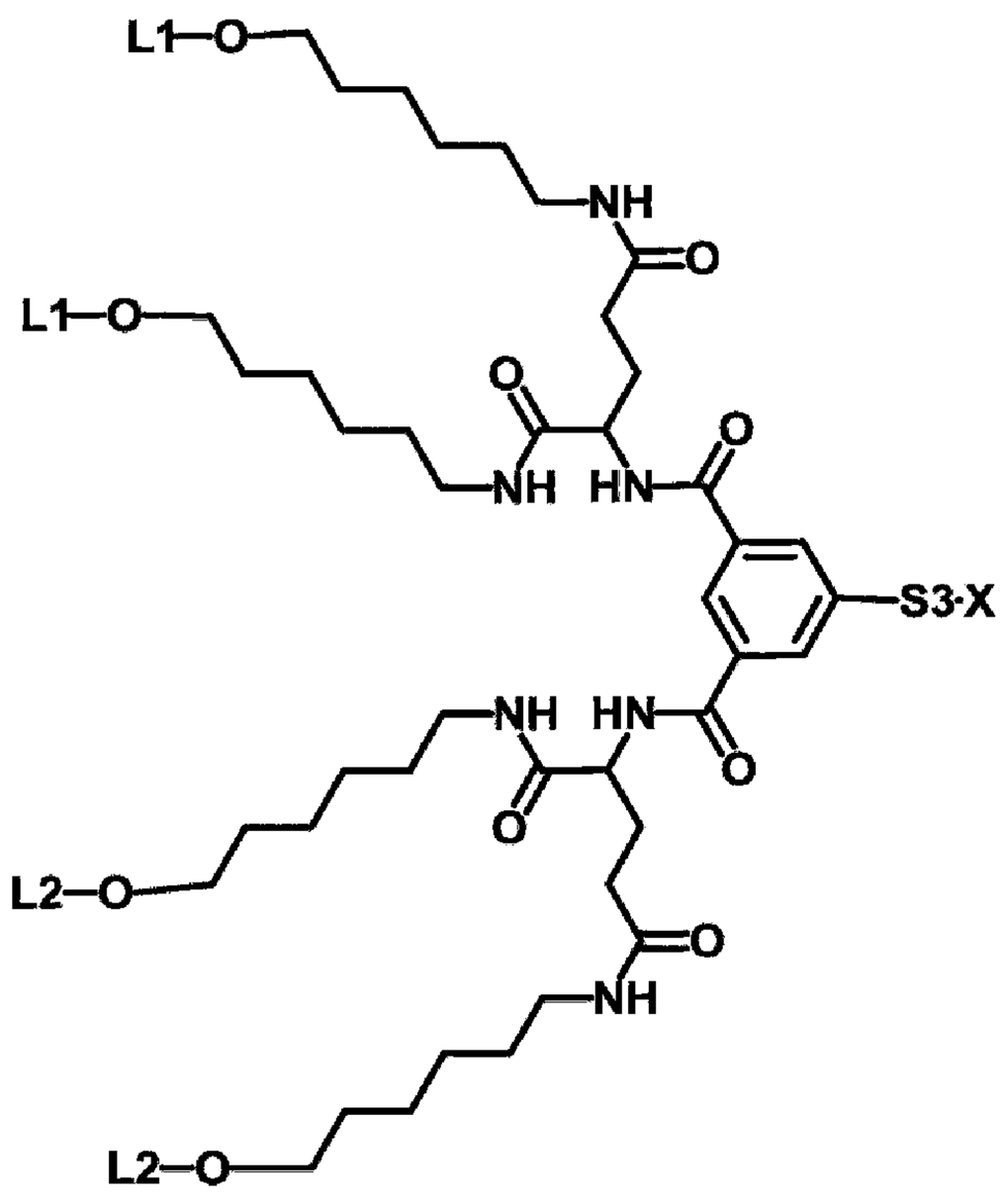
Ｘ、Ｓ３、Ｐ３、Ｑ２、Ｔ1、Ｌ１およびｑ２は、それぞれ前記と同義である。）

［９］

下記式７－１～式７－９で表されるいずれかの構造を有する、［２］～［５］に記載の核酸複合体。

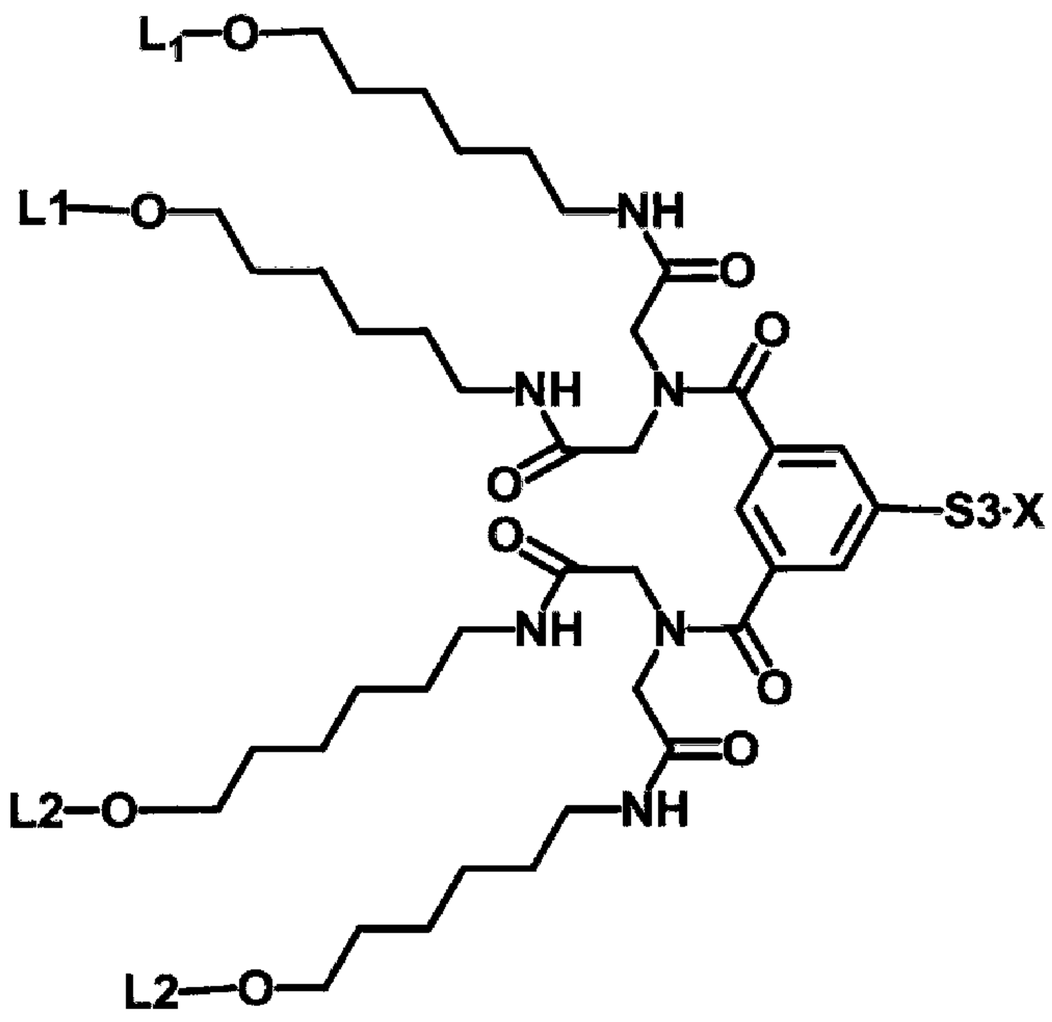
式７－１：

[化29]



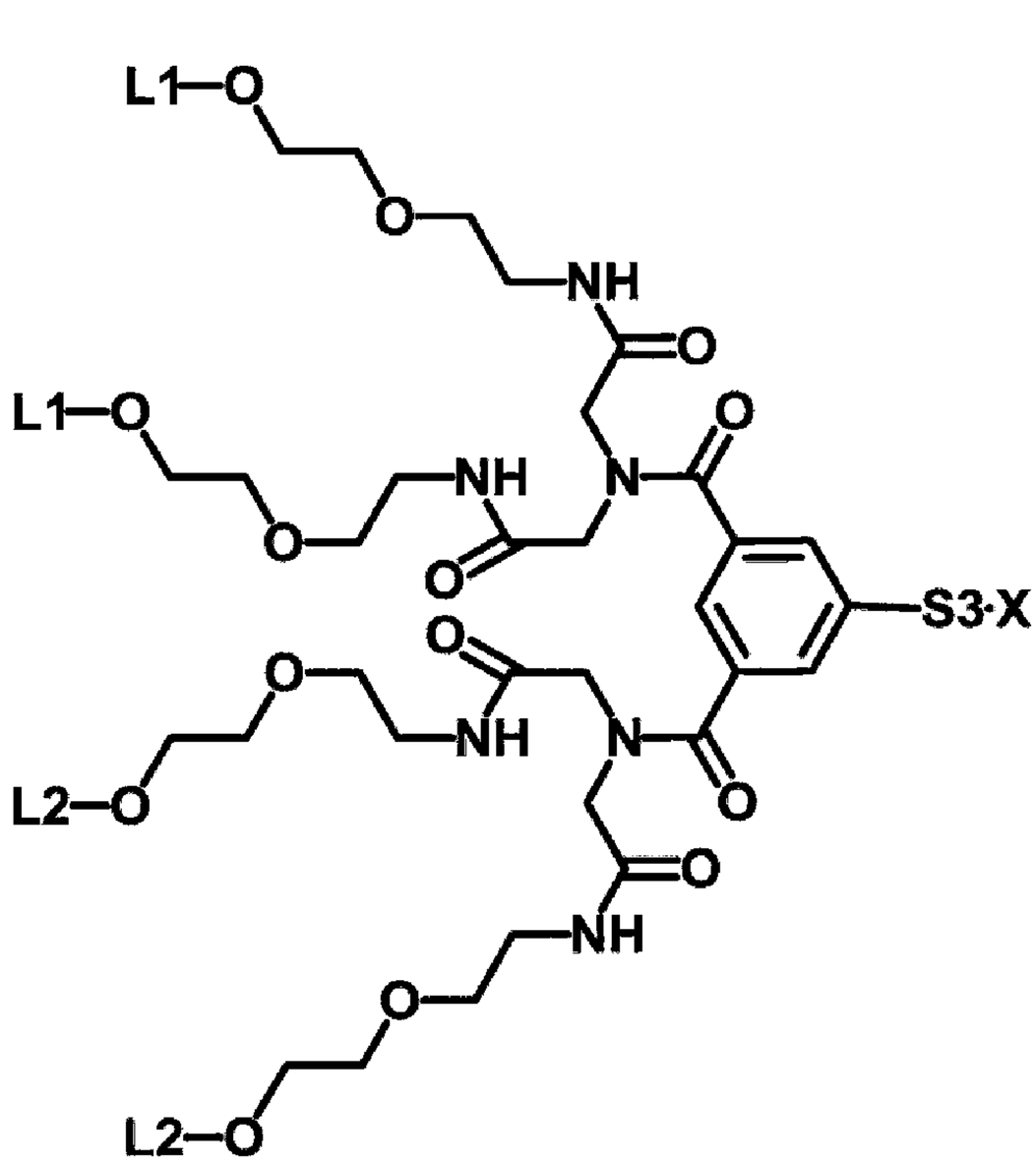
式７－２：

[化30]



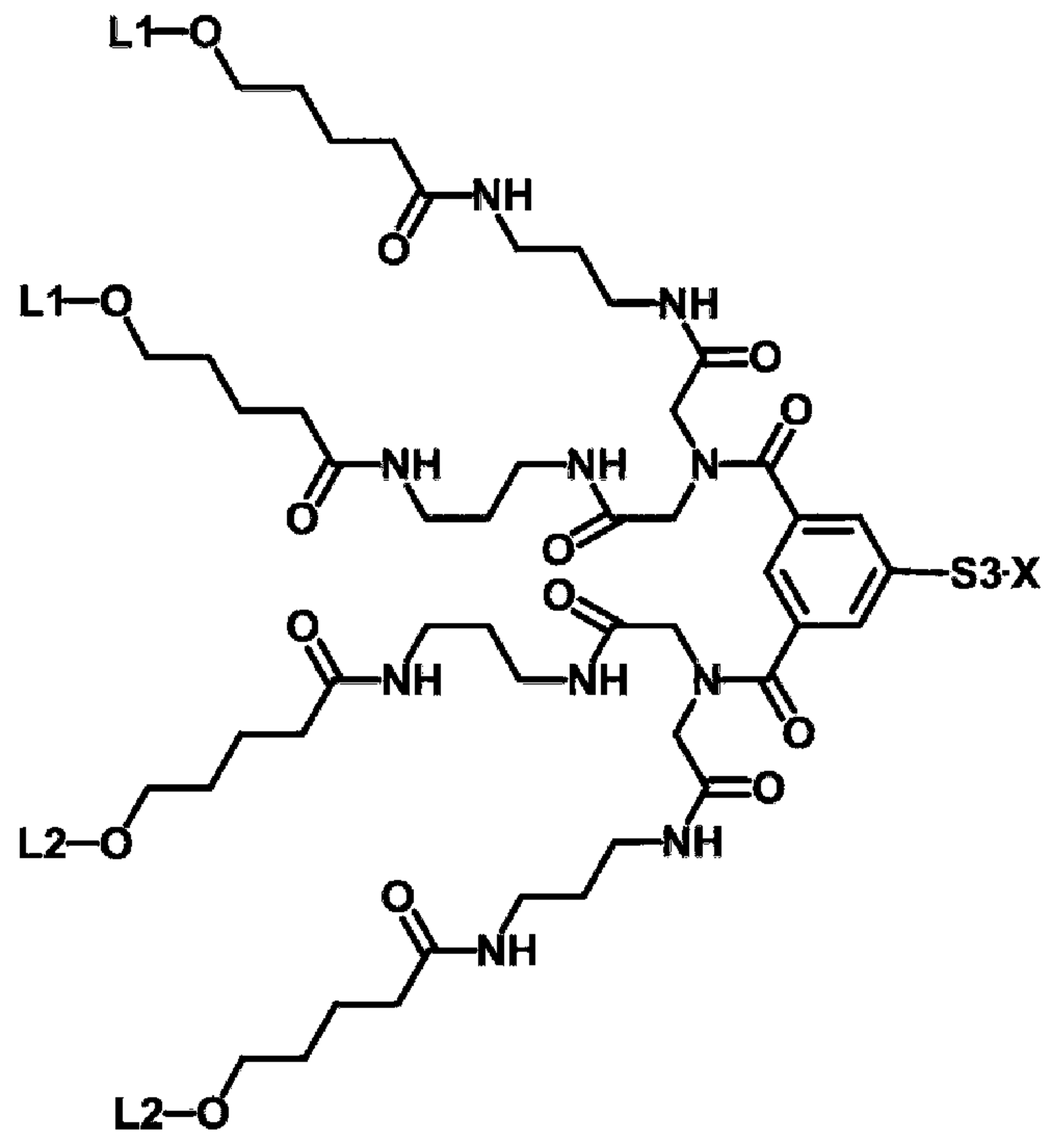
式７－３：

[化31]



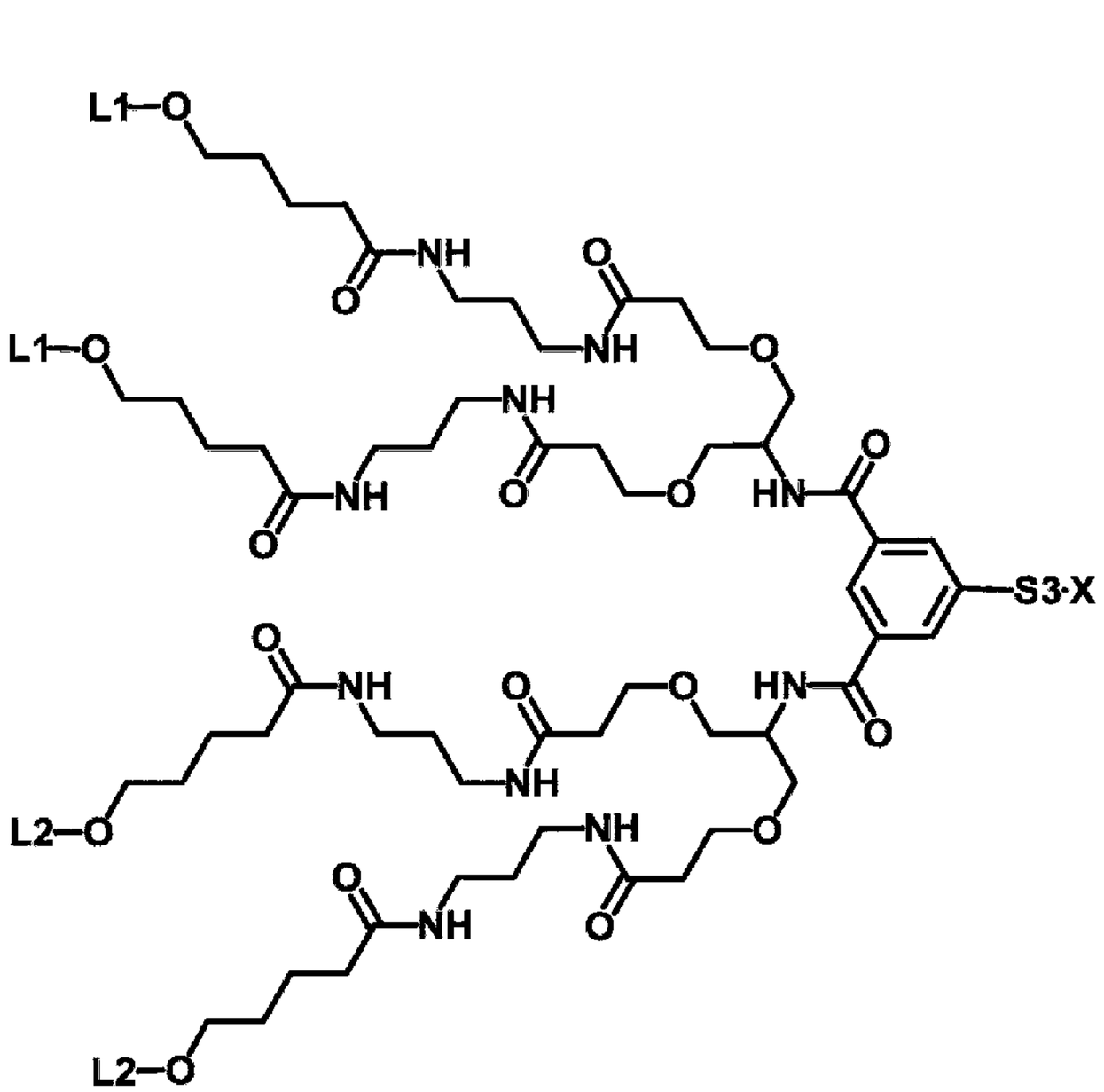
式７－４：

[化32]



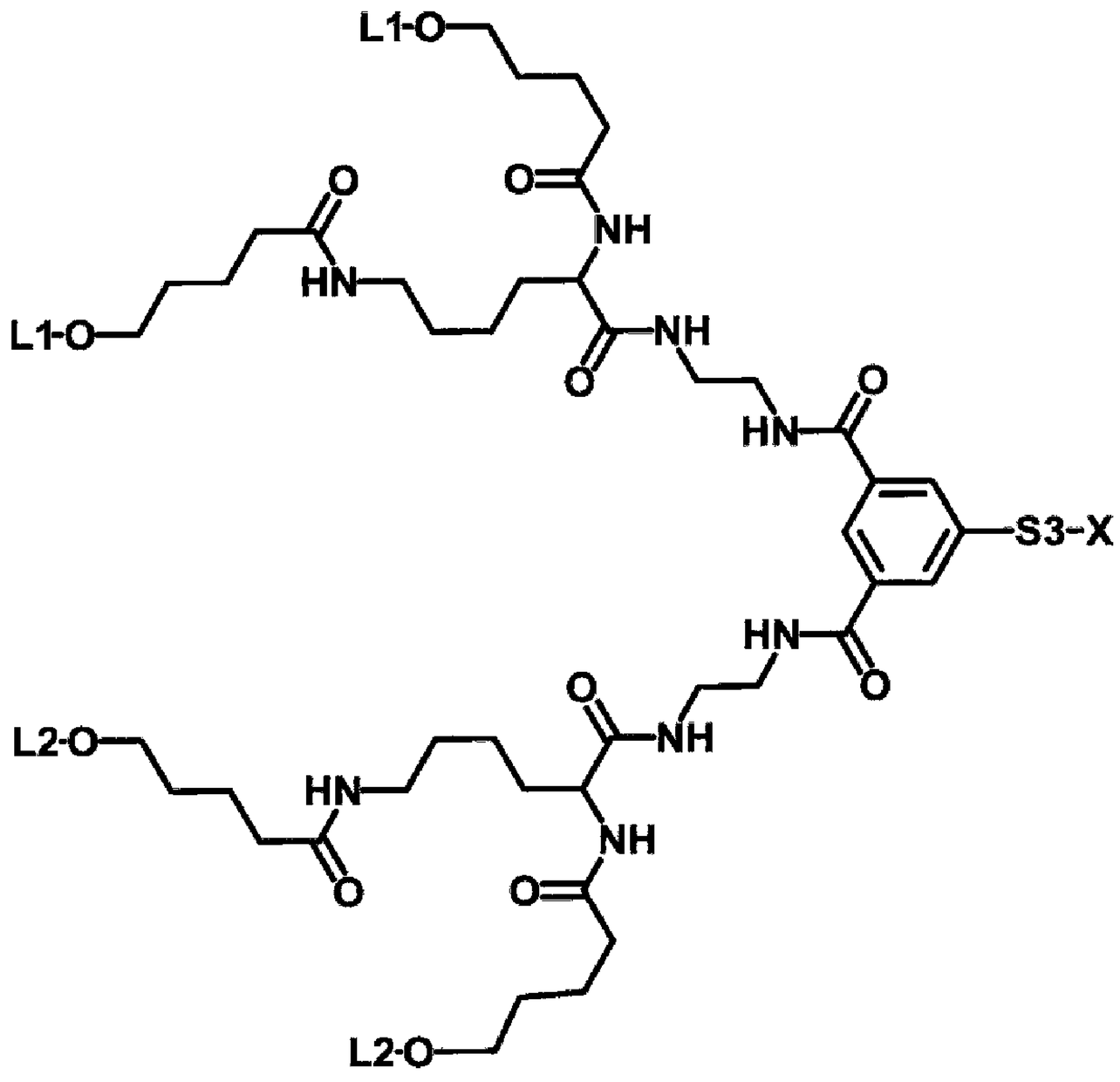
式７－５：

[化33]



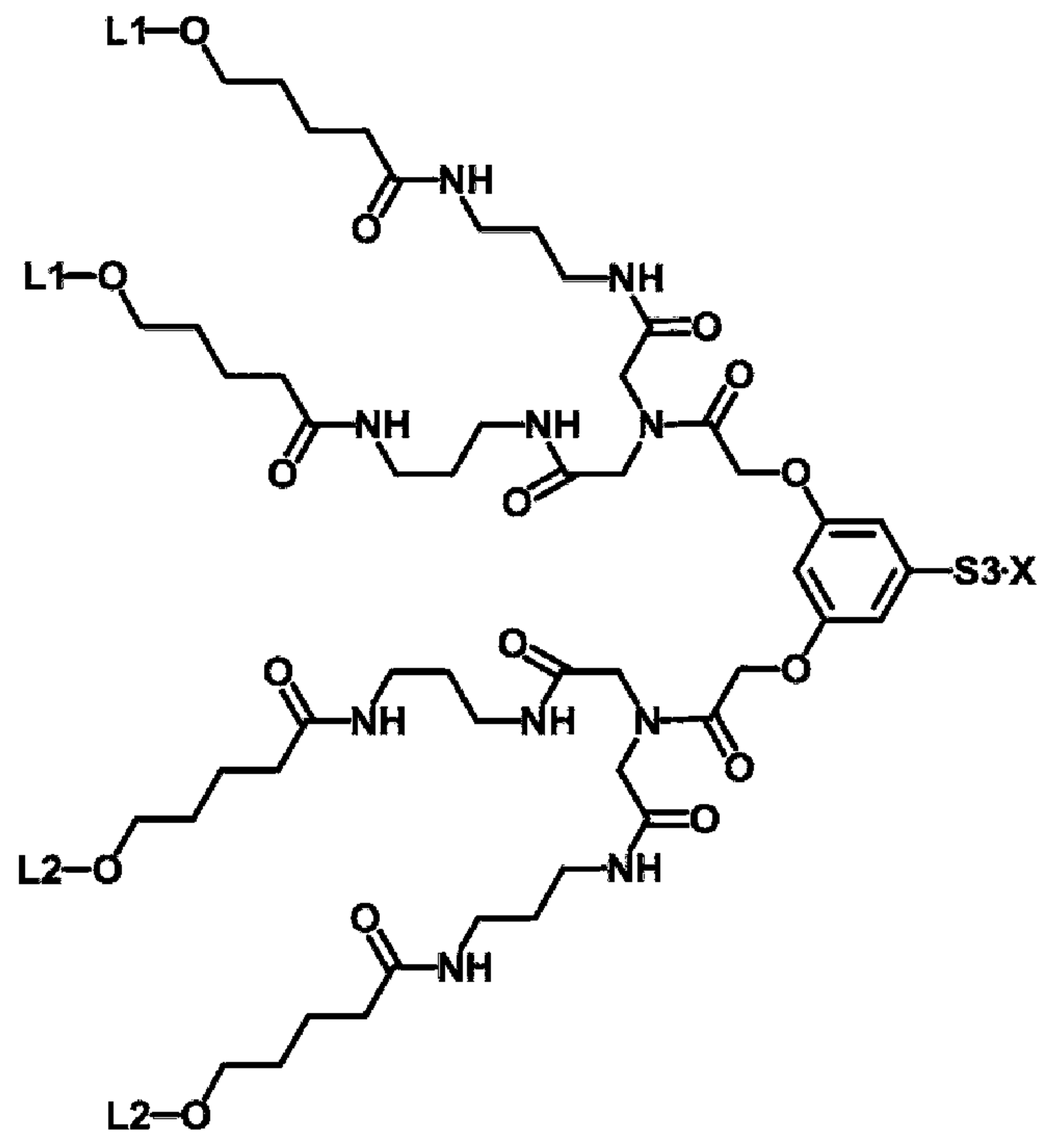
式７－６：

[化34]



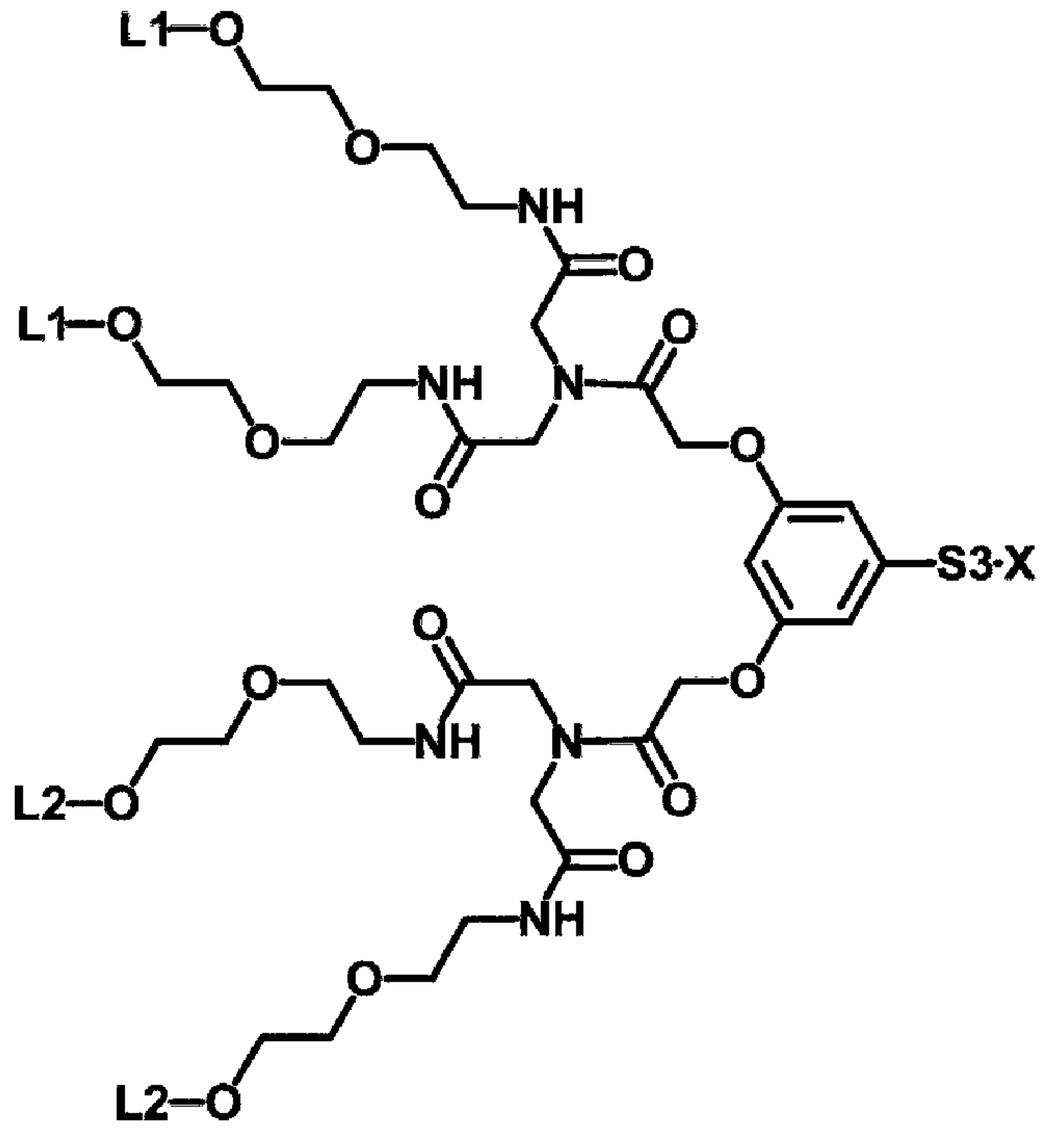
式７－７：

[化35]



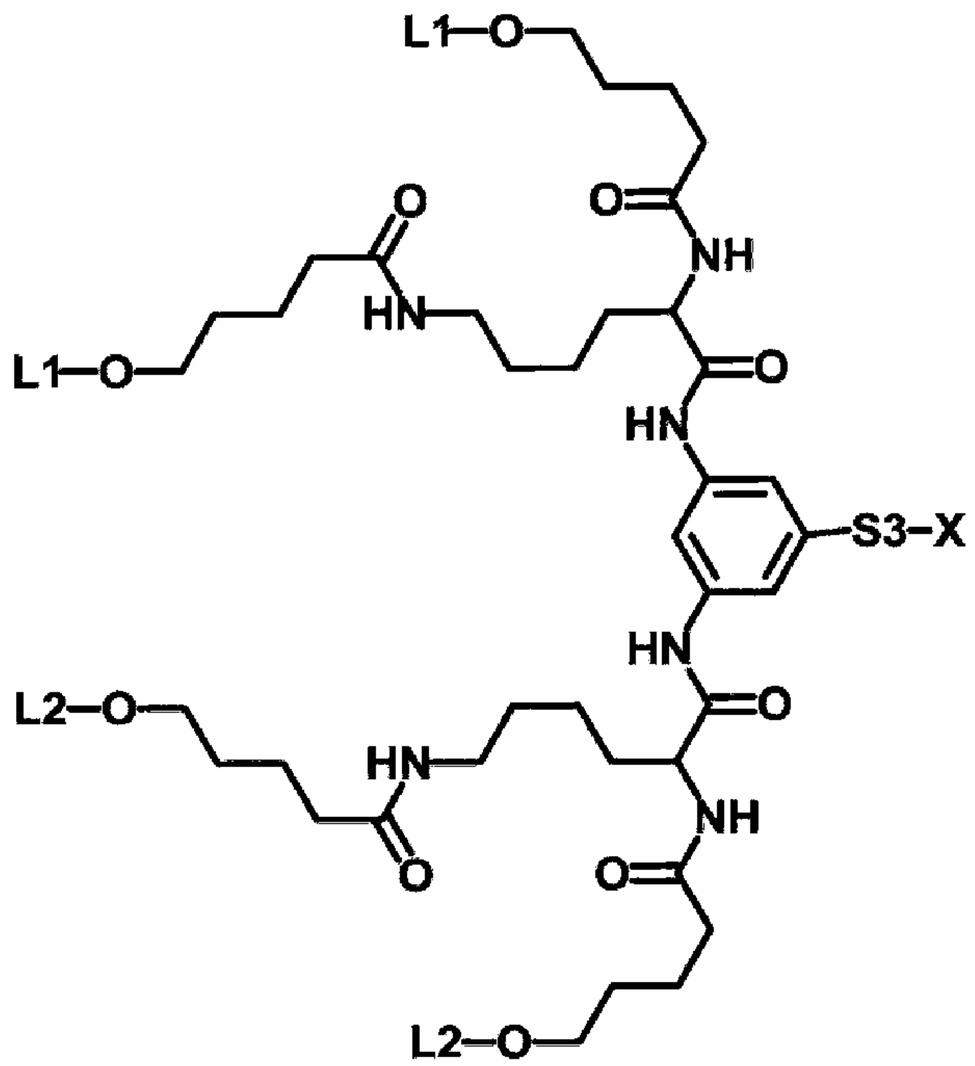
式７－８：

[化36]



式７－９：

[化37]



（式７－１～７－９中、

Ｘ、Ｓ３、Ｌ１およびＬ２は、それぞれ前記と同義である。）

［１０］

前記糖リガンドが、Ｎ－アセチルガラクトサミンである、［１］～［９］のいずれか１項に記載の核酸複合体。

［１１］

前記二本鎖核酸が修飾ヌクレオチドを含む、［１］～［１０］のいずれか１項に記載の核酸複合体。

［１２］

センス鎖の3’末端およびアンチセンス鎖の5’末端は、平滑末端を形成する、［１］～［１１］のいずれか１項に記載の核酸複合体。

［１３］

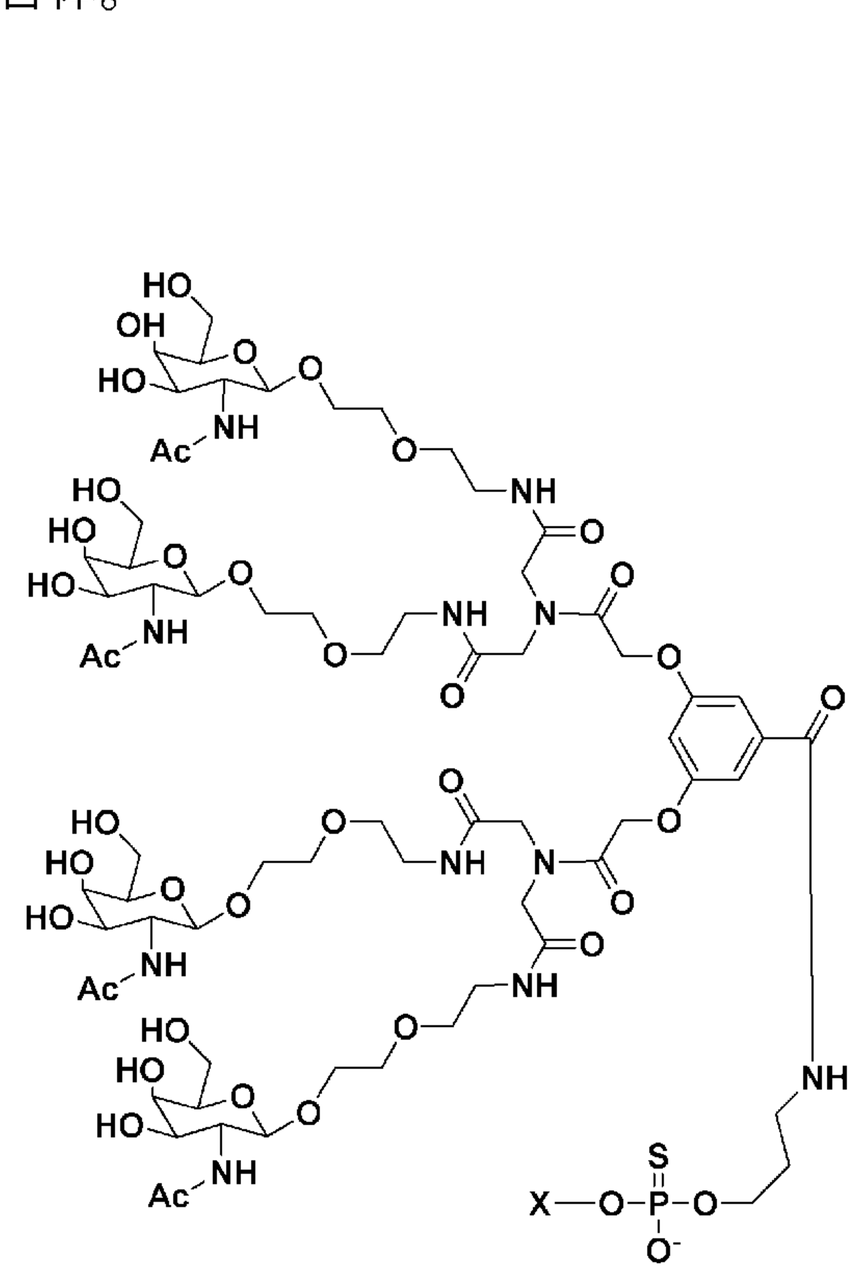
前記二本鎖核酸が、糖部修飾ヌクレオチドを含む、［１１］に記載の核酸複合体。

［１４］

下記式７－８－１で表される構造を有する、［１］～［１３］のいずれか１項に記載の核酸複合体。

式７－８－１：

[化38]



（式７－８－１中、Ｘは前記と同義である。）

［１５］

Ｘが、表1-1～表1-3に記載のセンス鎖／アンチセンス鎖からなる群から選択される1対のセンス鎖／アンチセンス鎖である、［１］～［１４］のいずれか１項に記載の核酸複合体。

［１６］

Ｘが、表M1-1～表M1-3に記載のセンス鎖／アンチセンス鎖からなる群から選択される1対のセンス鎖／アンチセンス鎖である、［１］～［１４］のいずれか１項に記載の核酸複合体。

［１７］

Ｘが、表M1-4に記載のセンス鎖／アンチセンス鎖からなる群から選択される１対のセンス鎖／アンチセンス鎖である、［１］～［１４］のいずれか１項に記載の核酸複合体。

［１８］

Ｘが、表M1-4に記載のＥＢ０１２５で表される１対のセンス鎖／アンチセンス鎖である、［１７］に記載の核酸複合体。

［１９］

［１］～［１８］のいずれか１項に記載の核酸複合体を含む、医薬組成物。

［２０］

細胞内に導入するための、［１９］に記載の医薬組成物。

［２１］

静脈内投与または皮下投与される、［１９］または［２０］に記載の医薬組成物。

［２２］

［１］～［１８］のいずれか１項に記載の核酸複合体または［１９］～［２１］のいずれか１項に記載の医薬組成物を、それを必要とする患者に投与することを含む、疾患の治療または予防方法。

［２３］

［１］～［１８］のいずれか１項に記載の核酸複合体または［１９］～［

２１］のいずれか１項に記載の医薬組成物を用いて二本鎖核酸を細胞内に導入することを含む、CFB遺伝子の発現を抑制する方法。

［２４］

［１］～［１８］のいずれか１項に記載の核酸複合体または［１９］～［２１］のいずれか１項に記載の医薬組成物を哺乳動物に投与することを含む、CFB関連疾患の治療方法。

［２５］

［１］～［１８］のいずれか１項に記載の核酸複合体または［１９］～［２１］のいずれか１項に記載の医薬組成物を含む、CFB関連疾患の治療に用いるための医薬。

［２６］

［１］～［１８］のいずれか１項に記載の核酸複合体または［１９］～［２１］のいずれか１項に記載の医薬組成物を含む、CFB関連疾患の治療剤。

［２７］

CFB関連疾患が、非典型溶血性尿毒症症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿症、加齢黄斑変性症、膜性増殖性糸球体腎炎、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎（RPGN）、急性腎障害（AKI）、ANCA関連血管炎、ループス腎炎、喘息、全身性エリテマトーデス(SLE)、乾癬、視神経脊髄炎または重症筋無力症である、［２４］に記載の治療方法。

［２８］

CFB関連疾患が、非典型溶血性尿毒症症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿症、加齢黄斑変性症、膜性増殖性糸球体腎炎、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性糸球体腎炎（RPGN）、急性腎障害（AKI）、ANCA関連血管炎、ループス腎炎、喘息、全身性エリテマトーデス(SLE)、乾癬、視神経脊髄炎または重症筋無力症である、［２５］に記載の医薬。

［２９］

CFB関連疾患が、非典型溶血性尿毒症症候群、発作性夜間ヘモグロビン尿症、加齢黄斑変性症、膜性増殖性糸球体腎炎、C3腎炎、膜性腎症、急速進行性

糸球体腎炎（RPGN）、急性腎障害（AKI）、ANCA関連血管炎、ループス腎炎、喘息、全身性エリテマトーデス(SLE)、乾癬、視神経脊髄炎または重症筋無力症である、［２６］に記載の治療剤。

発明の効果

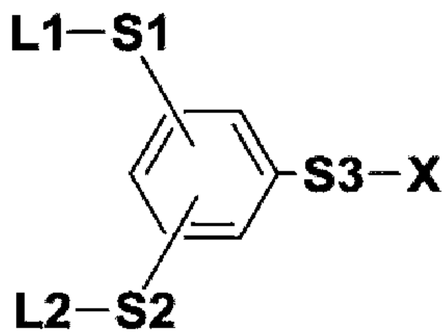
[0016] 例えば本発明の核酸複合体を含む医薬組成物を、哺乳動物に投与して、生体内において、各種関連疾患を治療することができる。

発明を実施するための形態

[0017] 本発明の核酸複合体は、下記式１で表される核酸複合体である。

式１：

[0018] [化39]



[0019] 式１中、

Ｘは、センス鎖およびアンチセンス鎖からなり、少なくとも11個の塩基対の二重鎖領域を含む二本鎖核酸であり、

該二本鎖核酸は、該アンチセンス鎖中の、17個～30個のヌクレオチドの鎖長のオリゴヌクレオチド鎖において、表1-1～表1-3に記載された標的CFB mRNA配列のいずれかと相補的であり、

該センス鎖の3’末端または5’末端はＳ３に結合し、

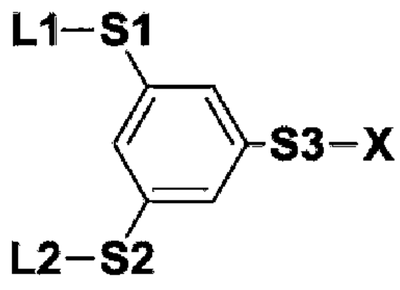
Ｌ１およびＬ２は、それぞれ独立して、糖リガンドであり、

Ｓ１、Ｓ２およびＳ３は、それぞれ独立して、リンカーである。

[0020] 本発明において、Ｓ１およびＳ２は、Ｓ３のベンゼン環上の置換位置に対して、それぞれオルト位、メタ位、パラ位でベンゼン環と結合し得るが、下記式１－１で表される核酸複合体であることが好適である。式１におけるＳ１およびＳ２のベンゼン環への結合手は、ベンゼン環上のＳ３の置換位置以外で任意の位置であり得ることを意味する。

式１－１：

[0021] [化40]



[0022] 式１－１中、

Ｘ、Ｌ１、Ｌ２、Ｓ１、Ｓ２およびＳ３は、それぞれ前記と同義である。

本明細書において、前記と同義とは、式１－１中を例示して説明すると、式１－１中のＸ、Ｌ１、Ｌ２、Ｓ１およびＳ２それぞれについて、式１において前記するＸ、Ｌ１、Ｌ２、Ｓ１およびＳ２それぞれについての定義と同様の基であり得ることを意味している。

[0023] 本発明において、Ｘは、センス鎖およびアンチセンス鎖からなり、少なくとも11個の塩基対の二重鎖領域を含む二本鎖核酸である。

また、該二本鎖核酸は、該アンチセンス鎖中の、17個～30個のヌクレオチドの鎖長のオリゴヌクレオチド鎖において、後述する表1-1～表1-3に記載された標的CFB mRNA配列のいずれかと相補的である。

さらにまた、該センス鎖の3’末端または5’末端はＳ３に結合する。

[0024] Ｌ１およびＬ２は、それぞれ独立して、糖リガンドである。

本発明において、糖リガンドとしては、標的細胞に発現している受容体に結合可能な糖類（単糖、二糖、三糖および多糖等）に由来する基を意味する。本発明においては、糖リガンドがＯ－結合によりＳ１およびＳ２のリンカーに結合している場合には、糖リガンドを構成する糖類の結合に関与する水酸基を除いた部分が糖類に由来する基としての糖リガンドを意味する。

本発明においては、オリゴヌクレオチドの標的細胞となる糖リガンドを選択すればよい。

単糖としては、例えば、アロース、アルトース、アラビノース、クラジノース、エリトロース、エリスルロース、フルクトース、Ｄ－フシトール、Ｌ－フシトール、フコサミン、フコース、フクロース、ガラクトサミン、Ｄ－

ガラクトサミニトール、Ｎ－アセチル－ガラクトサミン、ガラクトース、グルコサミン、Ｎ－アセチル－グルコサミン、グルコサミニトール、グルコース、グルコース－６－リン酸、グロース、グリセルアルデヒド、Ｌ－グリセロ－Ｄ－マンノ－ヘプトース、グリセロール、グリセロン、グロース、イドース、リキソース、マンノサミン、マンノース、マンノース－６－リン酸、プシコース、キノボース、キノボサミン、ラムニトール、ラムノサミン、ラムノース、リボース、リブロース、セドヘプツロース、ソルボース、タガトース、タロース、酒石酸、トレオース、キシロース、およびキシルロース等が挙げられる。

二糖、三糖、多糖としては、例えば、アベクオース、アクラボース、アミセトース、アミロペクチン、アミロース、アピオース、アルカノース、アスカリロース、アスコルビン酸、ボイビノース、セロビオース、セロトリオース、セルロース、カコトリオース、カルコース、キチン、コリトース、シクロデキストリン、シマロース、デキストリン、２－デオキシリボース、２－デオキシグルコース、ジギノース、ジギタロース、ジギトキソース、エバロース、エベミトロース（ｅｖｅｍｉｔｒｏｓｅ）、フルクトオリゴ糖、ガルトオリゴ糖（ｇａｌｔｏ－ｏｌｉｇｏｓａｃｃｈａｒｉｄｅ）、ゲンチアノース、ゲンチオビオース、グルカン、グルコーゲン、グリコーゲン、ハマメロース、ヘパリン、イヌリン、イソレボグルコセノン、イソマルトース、イソマルトトリオース、イソパノース、コジビオース、ラクトース、ラクトサミン、ラクトースジアミン、ラミナラビオース、レボグルコサン、レボグルコセノン、β－マルトース、マルトリオース、マンナン－オリゴ糖、マンニノトリオース、メレチトース、メリビオース、ムラミン酸、ミカロース、ミシノース、ノイラミン酸、シアル酸含有糖鎖、ニゲロース、ノジリミシン、ノビオース、オレアンドロース、パノース、パラトース、プランテオース、プリメベロース、ラフィノース、ロジノース、ルチノース、サルメントース、セドヘプツロース、セドヘプツロサン、ソラトリオース、ソホロース、スタキオース、ストレプトース、スクロース、α，α－トレハロース、トラハ

ロサミン、ツラノース、チベロース、キシロビオース、ウンベリフェロース等が挙げられる。

[0025] 糖類における各単糖は、Ｄ体またはＬ体であってもよく、Ｄ体とＬ体の任意割合による混合物であってもよい。

糖類は、デオキシ糖（アルコールヒドロキシ基を水素原子に置換したもの）、アミノ糖（アルコールヒドロキシ基をアミノ基に置換したもの）、チオ糖（アルコールヒドロキシ基をチオールに置換したもの、またはＣ＝ＯをＣ＝Ｓに置換したもの、または環酸素を硫黄に置換したもの）、セレノ糖、テルロ糖、アザ糖（環炭素を窒素に置換したもの）、イミノ糖（環酸素を窒素に置換したもの）、ホスファノ糖（環酸素をリンに置換したもの）、ホスファ糖（環炭素をリンに置換したもの）、Ｃ－置換単糖（非末端炭素原子における水素原子を炭素原子で置換したもの）、不飽和単糖、アルジトール（カルボニル基をＣＨＯＨ基で置換したもの）、アルドン酸（アルデヒド基をカルボキシ基に置換したもの）、ケトアルドン酸、ウロン酸、アルダル酸等を含んでいてもよい。

アミノ糖としては、糖類におけるアミノ単糖として、ガラクトサミン、グルコサミン、マンノサミン、フコサミン、キノボサミン、ノイラミン酸、ムラミン酸、ラクトースジアミン、アコサミン、バシロサミン、ダウノサミン、デソサミン、フォロサミン、ガロサミン、カノサミン、カンソサミン（ｋａｎｓｏｓａｍｉｎｅ）、ミカミノース、ミコサミン、ペロサミン、プノイモサミン、プルプロサミン（ｐｕｒｐｕｒｏｓａｍｉｎｅ）、ロドサミン等が挙げられる。また、アミノ糖のアミノ基は、アセチル基等で置換されていてもよい。

シアル酸含有糖鎖としては、ＮｅｕＡｃを糖鎖非還元末端に含有する糖鎖が挙げられ、ＮｅｕＡｃ－Ｇａｌ－ＧｌｃＮＡｃを含有する糖鎖や、Ｎｅｕ５ＡｃαＧａｌβ（１－３）ＧｌｃＮＡｃ等が挙げられる。

糖類における各単糖は、標的細胞に発現している受容体に結合可能であることを限度として、置換基で置換されていてもよく、例えば、水酸基が置換

されていてもよく、各単糖における水素原子がアジドおよび／または置換されていてもよいアリール基で１～複数置換されていてもよい。

[0026] 糖リガンドとしては、標的とする各臓器に対応して標的細胞の表面に発現する受容体に結合する糖リガンドを選択することが好ましく、例えば、標的細胞が肝細胞である場合、肝細胞表面に発現する受容体に対する糖リガンドが好ましく、アシアロ糖タンパク質受容体（ＡＳＧＰＲ）に対する糖リガンドがより好ましい。

[0027] ＡＳＧＰＲに対する糖リガンドとしては、マンノースまたはＮ－アセチルガラクトサミンが好ましく、Ｎ－アセチルガラクトサミンがより好ましい。

ＡＳＧＰＲに対してより親和性の高い糖リガンドとして、例えばＢｉｏｏｒｇａｎｉｃ Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，１７，７２５４（２００９）、およびＪｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｓｏｃｉｅｔｙ，１３４，１９７８（２０１２）等に記載の糖誘導体が知られており、これらを用いてもよい。

[0028] 本発明において、Ｓ１、Ｓ２およびＳ３は、リンカーである。

Ｓ１とＳ２は、糖リガンドであるＬ１とＬ２と、ベンゼン環とを連結する構造であれば特に限定されるものではなく、核酸複合体において用いられる公知の構造を採用してもよい。Ｓ１とＳ２は、同一であってもよく、異なっていてもよい。

糖リガンドであるＬ１とＬ２は、Ｓ１およびＳ２とグリコシド結合により連結していることが好ましく、Ｓ１およびＳ２は、ベンゼン環と、例えば、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－結合によりそれぞれ連結していてもよい。

[0029] Ｓ３は、二本鎖核酸であるＸと、ベンゼン環とを連結する構造であれば特に限定されるものではなく、核酸複合体において用いられる公知の構造を採用してよい。

オリゴヌクレオチドであるＸは、Ｓ３とホスホジエステル結合により連結

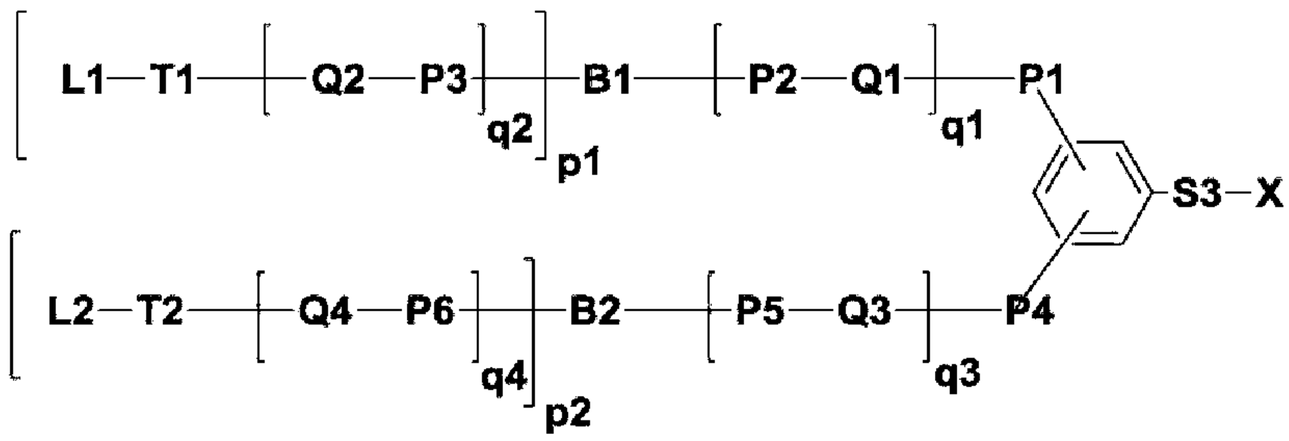
していることが好ましく、Ｓ３は、ベンゼン環と、例えば、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－結合により連結していてもよい。

[0030] Ｓ１、Ｓ２およびＳ３のリンカーとしては、例えば、国際公開第２００９／０７３８０９号、国際公開第２０１３／０７５０３５号、国際公開第２０１５／１０５０８３号、国際公開第２０１４／１７９６２０号、国際公開第２０１５／００６７４０号に開示される構造を採用してもよい。

[0031] 本発明において、核酸複合体は、下記式２で表される構造を有する核酸複合体であることが好適である。

式２：

[0032] [化41]



[0033] 式２中、

Ｘ、Ｌ１、Ｌ２およびＳ３は、それぞれ前記と同義であり、

Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３、Ｐ４、Ｐ５およびＰ６、ならびにＴ１およびＴ２は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であり、

Ｑ１、Ｑ２、Ｑ３およびＱ４は、それぞれ独立して、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_n$－CH_2CH_2－であり、ｎは０～９９の整数である。

[0034] Ｐ１およびＰ４は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であるが、－Ｏ－

、－Ｏ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－または－ＣＯ－ＮＨ－であることが好ましく、－Ｏ－、－ＮＨ－ＣＯ－または－ＣＯ－ＮＨ－であることがより好ましく、－ＮＨ－ＣＯ－であることがさらに好ましい。

Ｐ１またはＰ４が、例えば、－ＮＨ－ＣＯ－である場合、－ＮＨ－ＣＯ－ベンゼン環という部分構造を有する。

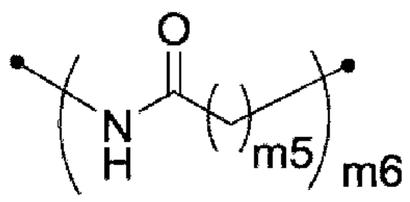
[0035] Ｑ１、Ｑ２、Ｑ３およびＱ４は、それぞれ独立して、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_n$－CH_2CH_2－であり、ｎは０～９９の整数であるが、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンであることが好ましく、無置換の炭素数１～１２のアルキレンであることがより好ましく、無置換の炭素数１～６のアルキレンであることがさらに好ましく、無置換の炭素数１～４のアルキレンであることがよりさらに好ましい。

[0036] Ｐ２およびＰ５は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であるが、存在しないか、－ＣＯ－Ｏ－または－ＣＯ－ＮＨ－であることが好ましく、存在しないか、－ＣＯ－ＮＨ－であることがより好ましい。Ｐ２およびＰ５が、例えば、－ＣＯ－ＮＨ－である場合、Ｂ１－ＣＯ－ＮＨ－Ｑ１およびＢ２－ＣＯ－ＮＨ－Ｑ３という部分構造を有する。

[0037] －［Ｐ２－Ｑ１］$_{q1}$－および－［Ｐ５－Ｑ３］$_{q3}$－がそれぞれ独立して、存在しないか、または下記式３－１～式３－３で表されるいずれかの構造であることが好適である。

式３－１：

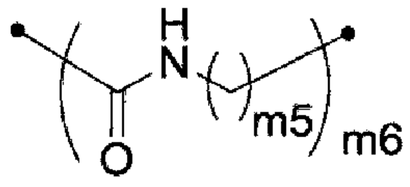
[0038] [化42]



式３－２：

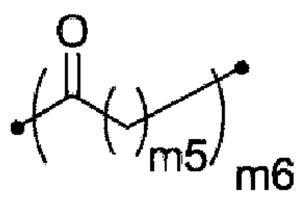
[0039]

[化43]



式３－３：

[0040] [化44]

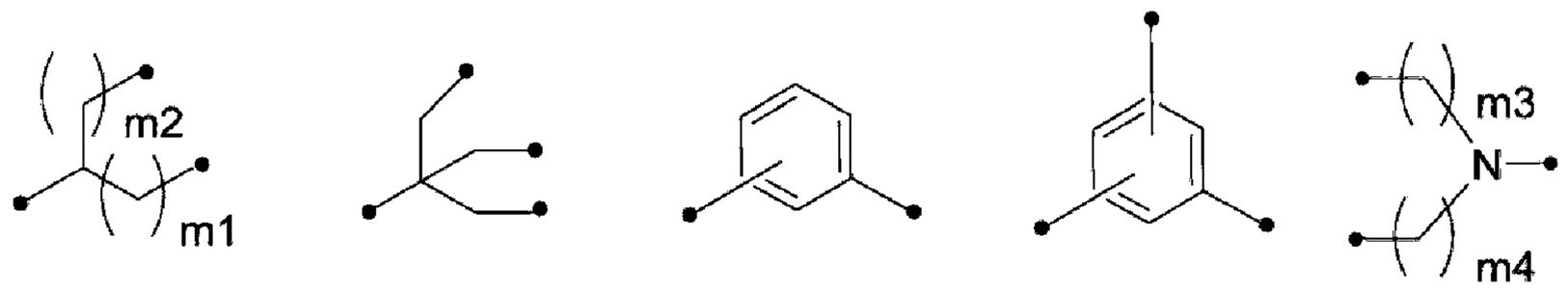


[0041] 式３－１～３－３中、

ｍ５およびｍ６は、それぞれ独立して、０～１０の整数であり、式３－１～式３－３の構造における末端の黒丸点は、それぞれ、Ｂ１またはＢ２あるいはＰ１またはＰ４との結合点である。

[0042] Ｂ１およびＢ２は、それぞれ独立して、結合手であるか、または、下記式で表されるいずれかの構造であり、各構造における末端の黒丸点は、それぞれ、Ｐ２またはＰ３あるいはＰ５またはＰ６との結合点であり、ｍ１、ｍ２、ｍ３およびｍ４は、それぞれ独立して、０～１０の整数である。

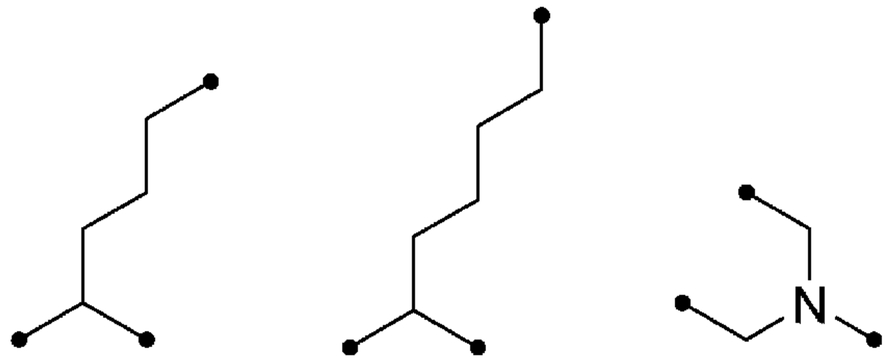
[0043] [化45]



[0044] Ｂ１およびＢ２は、グルタミン酸、アスパラギン酸、リジン、イミノ二酢酸等の非天然アミノ酸を含むアミノ酸、または2-アミノ-1，3－プロパンジオール等のアミノアルコールに由来する基であることが好ましく、Ｂ１およびＢ２がグルタミン酸およびアスパラギン酸に由来する基である場合、グルタミン酸およびアスパラギン酸のアミノ基がそれぞれ結合して、Ｐ２およびＰ５として、－ＮＨ－ＣＯ－結合であることが好ましく、Ｂ１およびＢ２がリジンに由来する基である場合、リジンのカルボキシル基がそれぞれ結合して、Ｐ２およびＰ５として、－ＣＯ－ＮＨ－結合であることが好ましく、Ｂ１およびＢ２がイミノ二酢酸に由来する基である場合、イミノ二酢酸のアミノ

基がそれぞれ結合して、Ｐ２およびＰ５として、－ＣＯ－結合となることが好ましい。Ｂ１およびＢ２は、具体的には、以下の構造を持つことが好ましい。

[0045] [化46]



[0046] ｐ１およびｐ２がそれぞれ２または３の整数であるとき、それぞれのＰ３およびＰ６、Ｑ２およびＱ４、Ｔ１およびＴ２ならびにＬ１およびＬ２は、同一または異なっていてもよい。

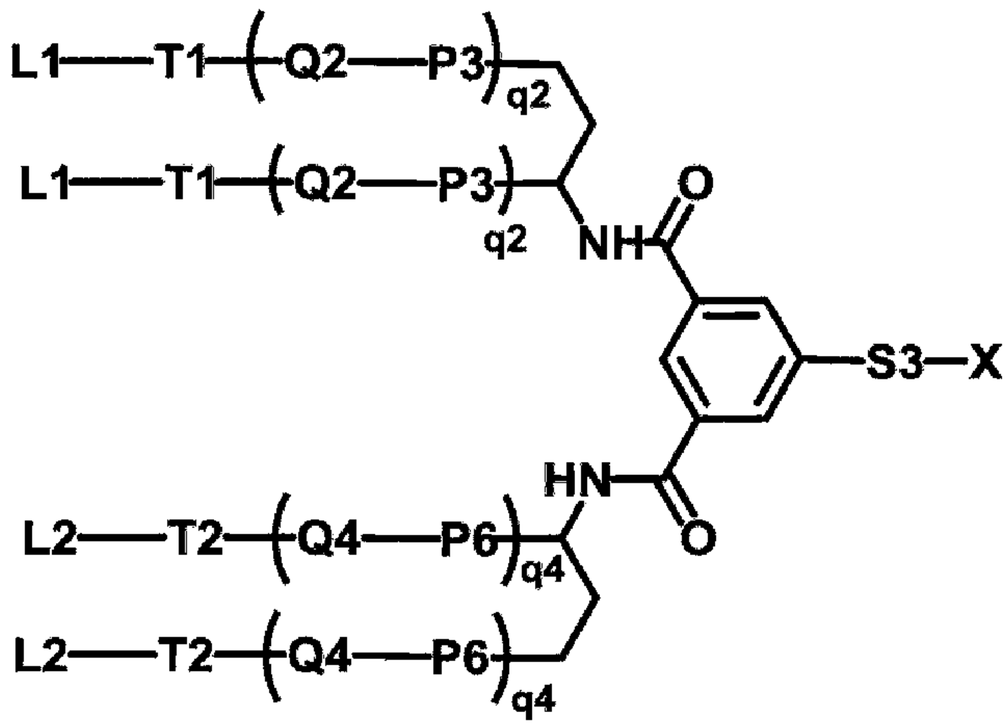
ｑ１～ｑ４が２～１０のとき、それぞれの－［Ｐ２－Ｑ１］－，－［Ｑ２－Ｐ３］－，－［Ｐ５－Ｑ３］－，－［Ｑ４－Ｐ６］－の組み合わせは同一または異なっていてもよい。それぞれの－［Ｐ２－Ｑ１］－，－［Ｑ２－Ｐ３］－，－［Ｐ５－Ｑ３］－，および－［Ｑ４－Ｐ６］－の組み合わせが同一または異なるとは、－［Ｐ２－Ｑ１］－，－［Ｑ２－Ｐ３］－，－［Ｐ５－Ｑ３］－，および－［Ｑ４－Ｐ６］－で示される各２～１０の単位が、同一である場合と異なる場合があることを意味する。

[0047] 本発明において、核酸複合体は、下記式４－１～４－９で表される構造を有する核酸複合体であることが好適である。

式４－１：

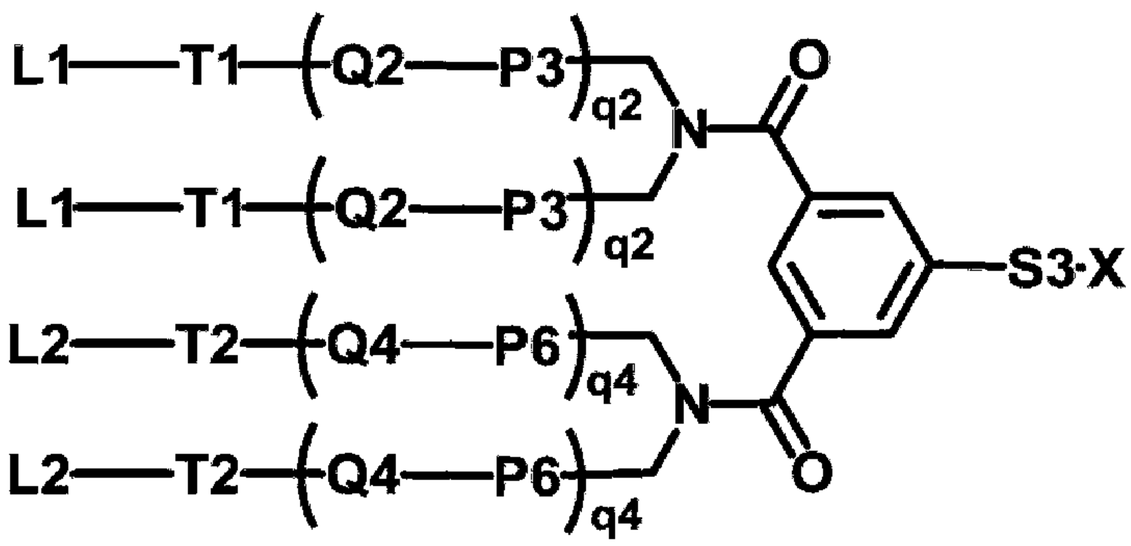
[0048]

[化47]



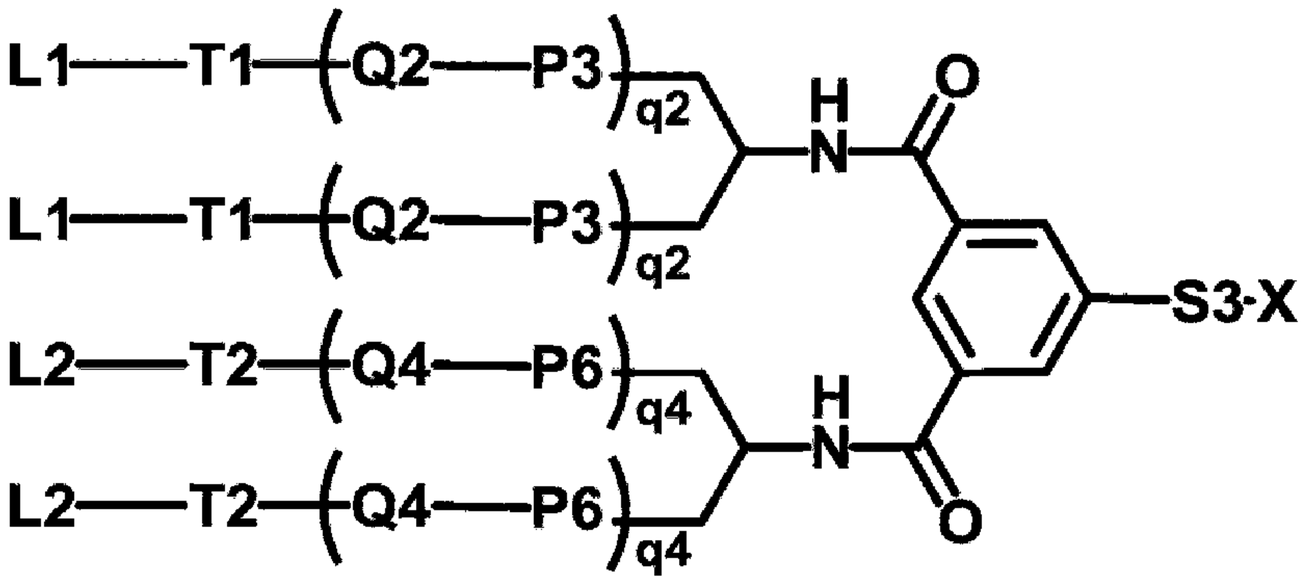
式４－２：

[0049] [化48]



式４－３：

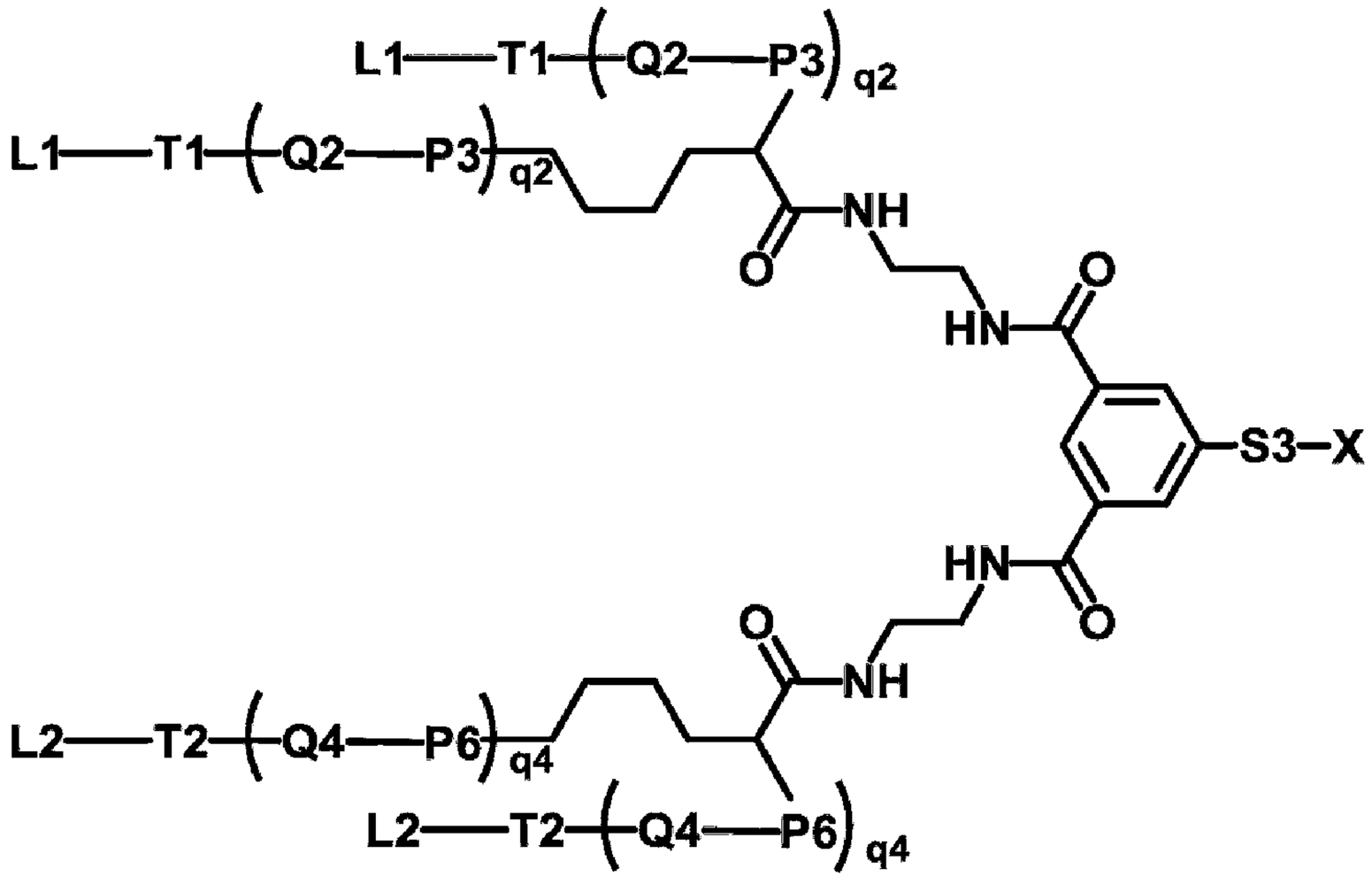
[0050] [化49]



式４－４：

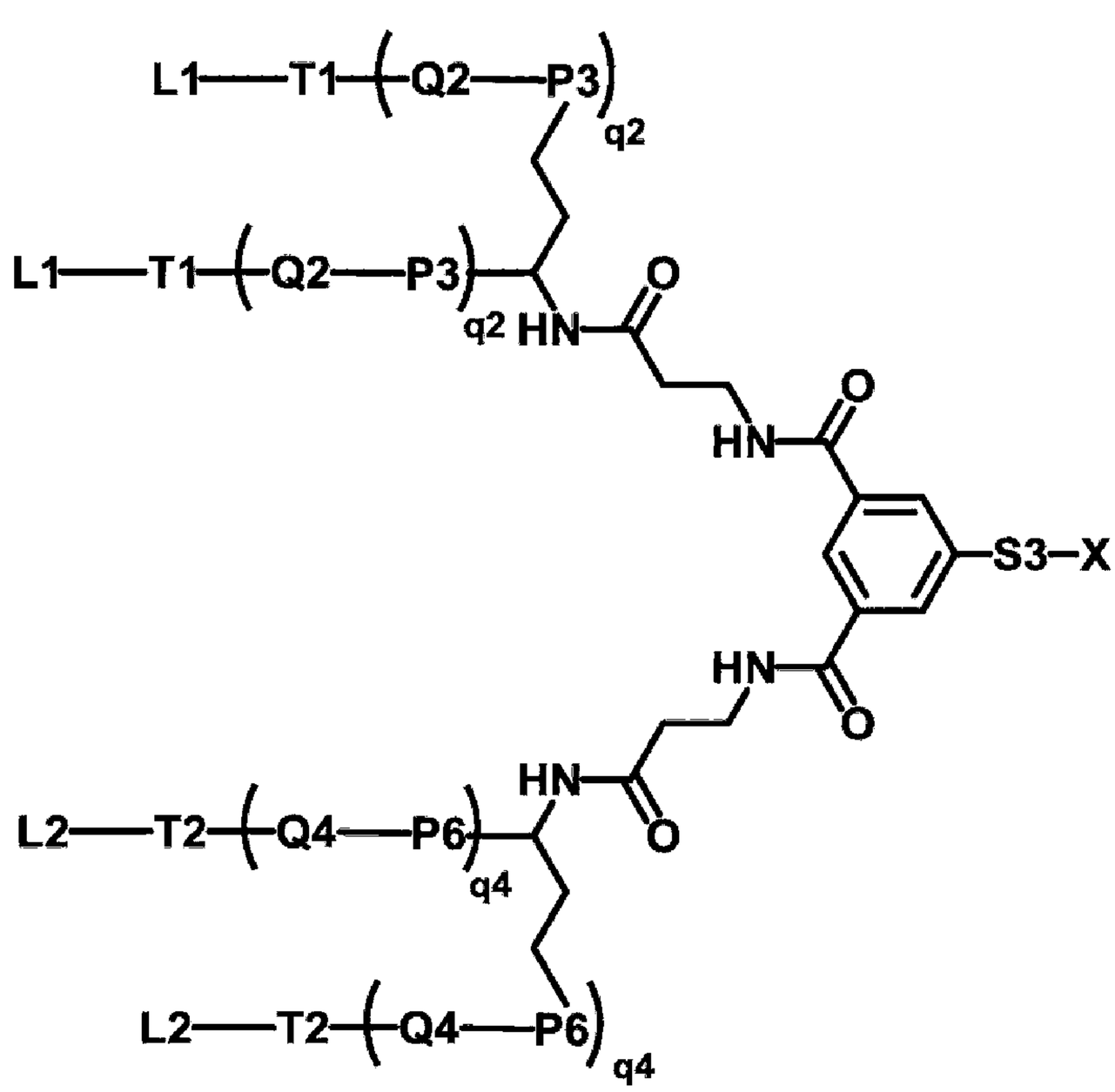
[0051]

[化50]



式４－５：

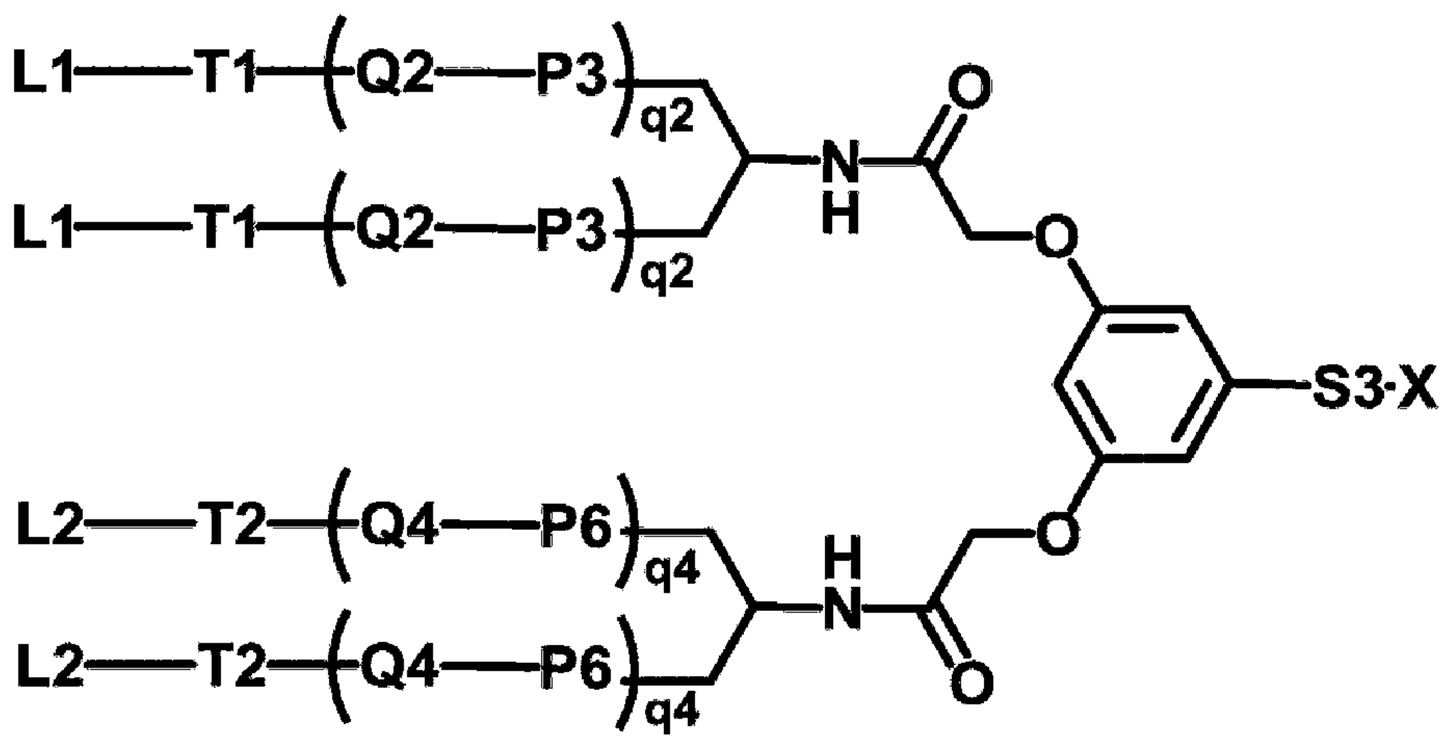
[0052] [化51]



式４－６：

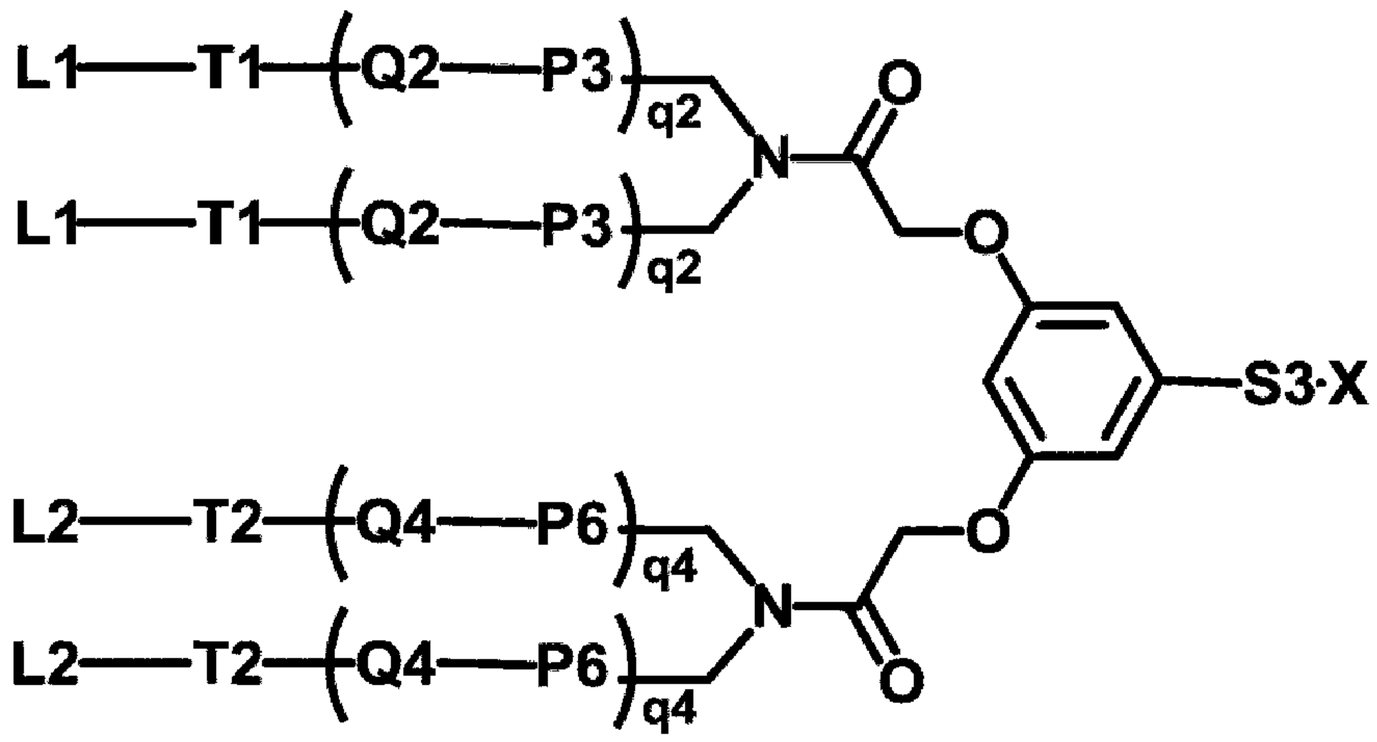
[0053]

[化52]



式４－７：

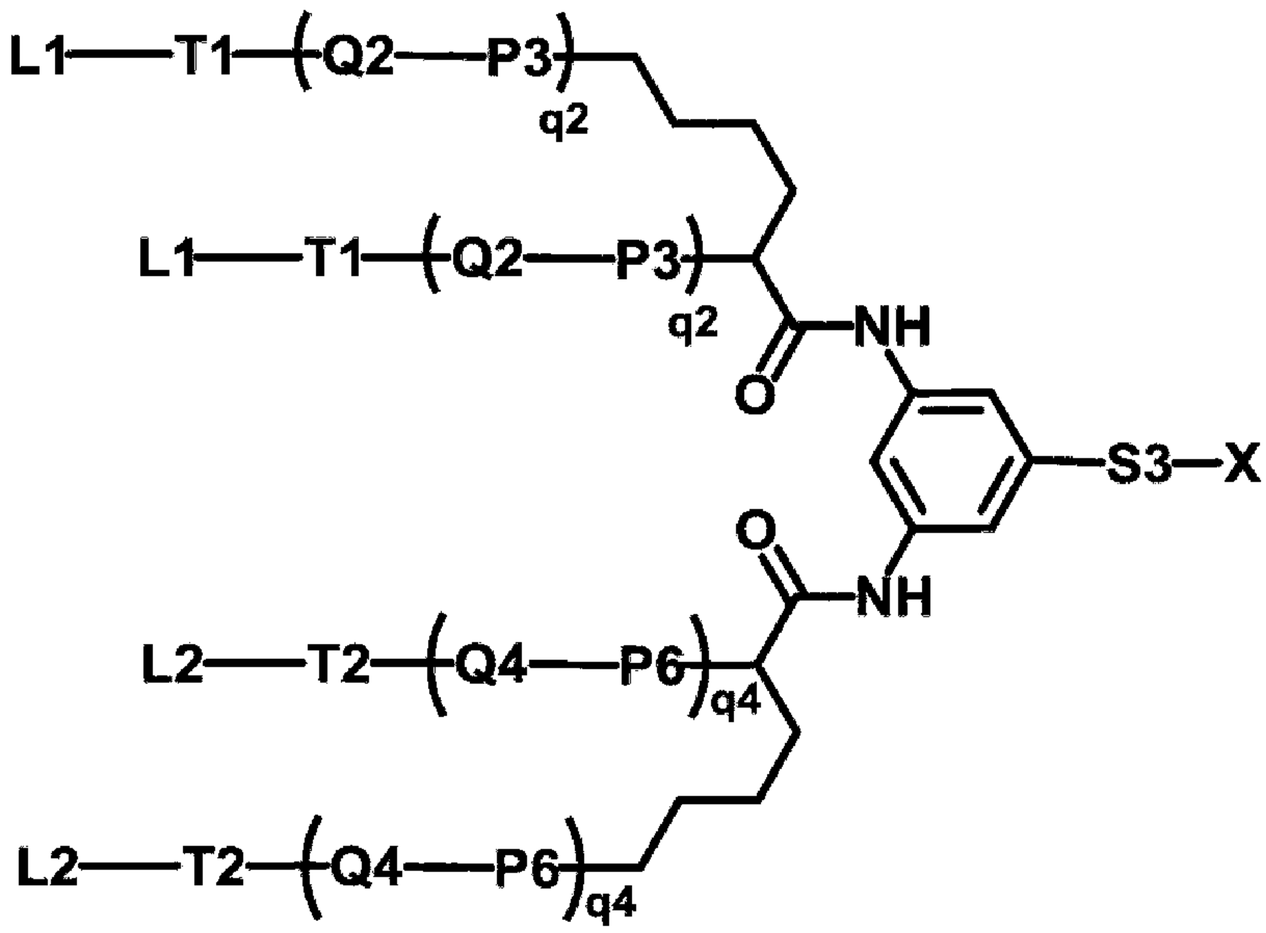
[0054] [化53]



式４－８：

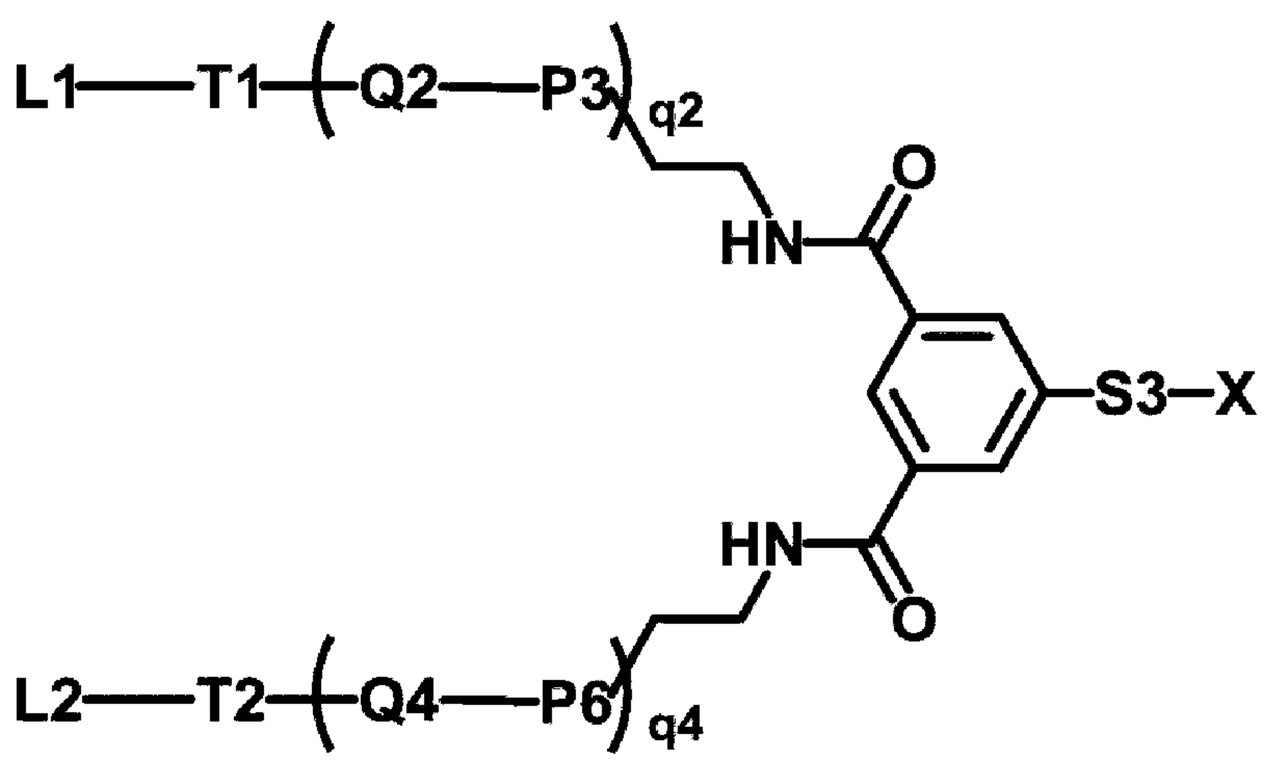
[0055]

[化54]



式４－９：

[0056] [化55]



[0057] 式４－１～４－９中、

Ｘ、Ｌ１、Ｌ２、Ｓ３、Ｐ３、Ｐ６、Ｔ１、Ｔ２、Ｑ２、Ｑ４、ｑ２およびｑ４はそれぞれ前記と同義である。

[0058] Ｐ３およびＰ６は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であるが、－Ｏ－ＣＯ－または－ＮＨ－ＣＯ－であることが好ましく、－ＮＨ－ＣＯ－であることがより好ましい。Ｐ３およびＰ６が、例えば、－ＮＨ－ＣＯ－である場

合、それぞれ、Ｂ１－ＮＨ－ＣＯ－Ｑ２およびＢ２－ＮＨ－ＣＯ－Ｑ４という部分構造を有する。

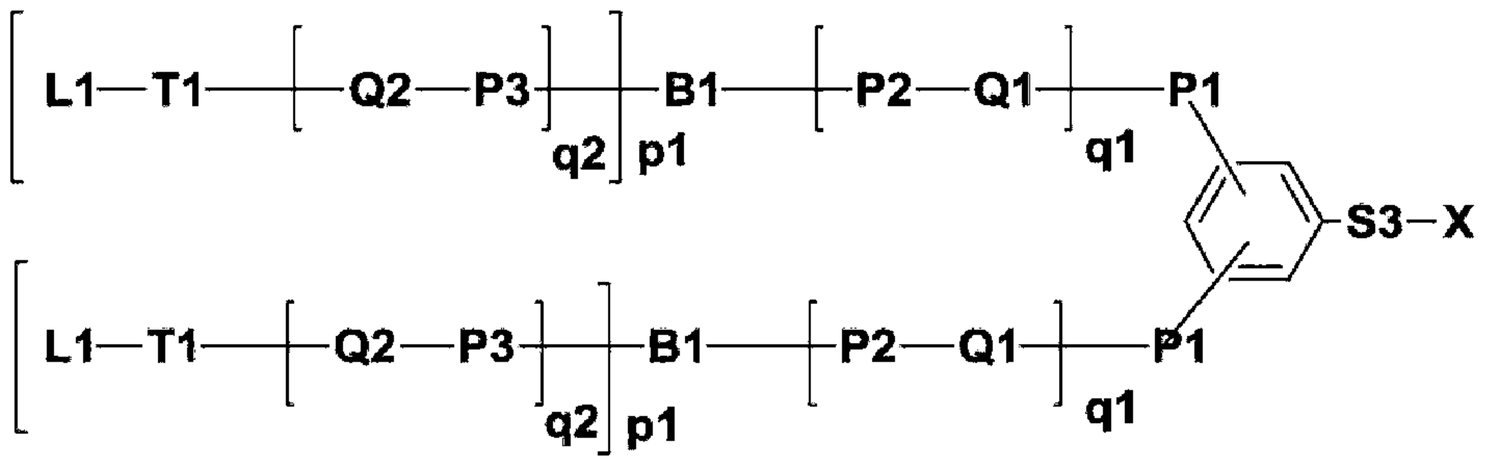
[0059] Ｔ１およびＴ２は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であるが、－Ｏ－または－Ｓ－であることが好ましく、－Ｏ－であることがより好ましい。

[0060] 本発明において、核酸複合体は、下記式５で表される構造を有する核酸複合体であることが好適である。

式５では、式２におけるＰ１とＰ４、Ｐ２とＰ５、Ｐ３とＰ６、Ｑ１とＱ３、Ｑ２とＱ４、Ｂ１とＢ２、Ｔ１とＴ２、Ｌ１とＬ２、ｐ１とｐ２、ｑ１とｑ３ならびにｑ２とｑ４がそれぞれ同一である。

式５：

[0061] [化56]



[0062] 式５中、

Ｘ、Ｓ３、Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３、Ｑ１、Ｑ２、Ｂ１、Ｔ１、Ｌ１、ｐ１、ｑ１およびｑ２はそれぞれ前記と同義である。

また、式５におけるＸ、Ｓ３、Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３、Ｑ１、Ｑ２、Ｂ１、Ｔ１、Ｌ１、ｐ１、ｑ１およびｑ２は、各々、上述した好適な基であって良いが、Ｐ１が－ＣＯ－ＮＨ－、－ＮＨ－ＣＯ－または－Ｏ－であることが好ましい。

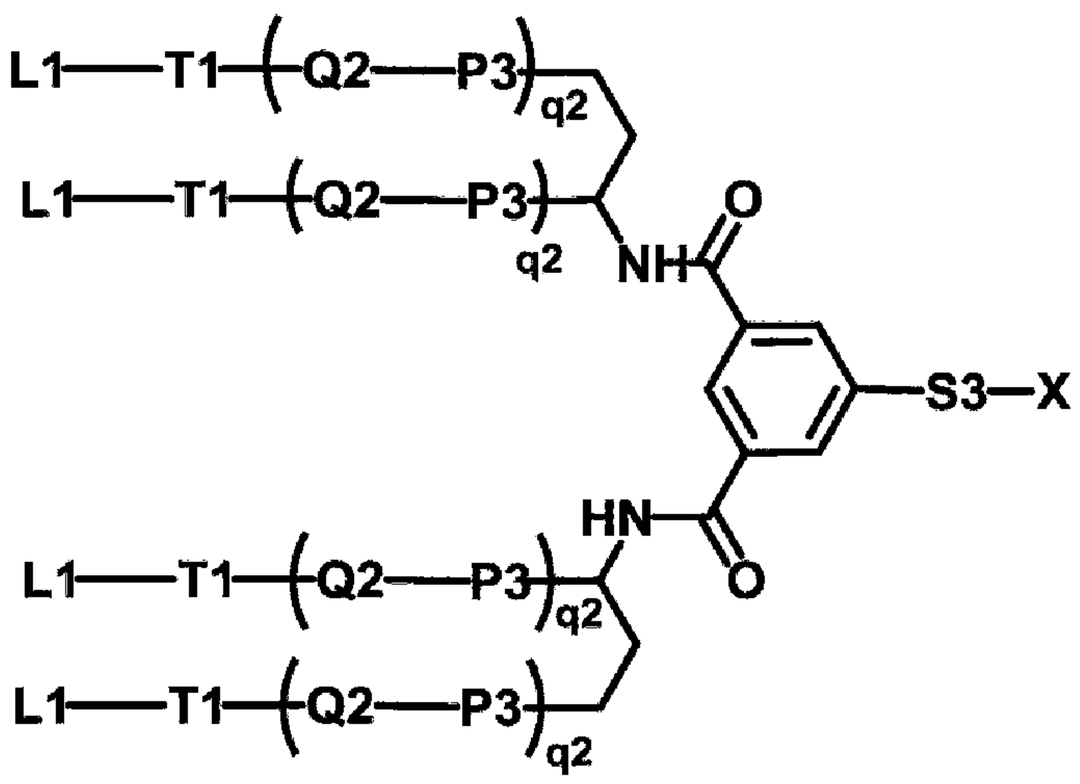
式５における－（Ｐ２－Ｑ１）$_{q1}$－は、存在しないか、または上記式３－１～式３－３で表されるいずれかの構造であることが好適である。

[0063] 本発明において、核酸複合体は、下記式６－１～６－９で表される構造を

有する核酸複合体であることが好適である。

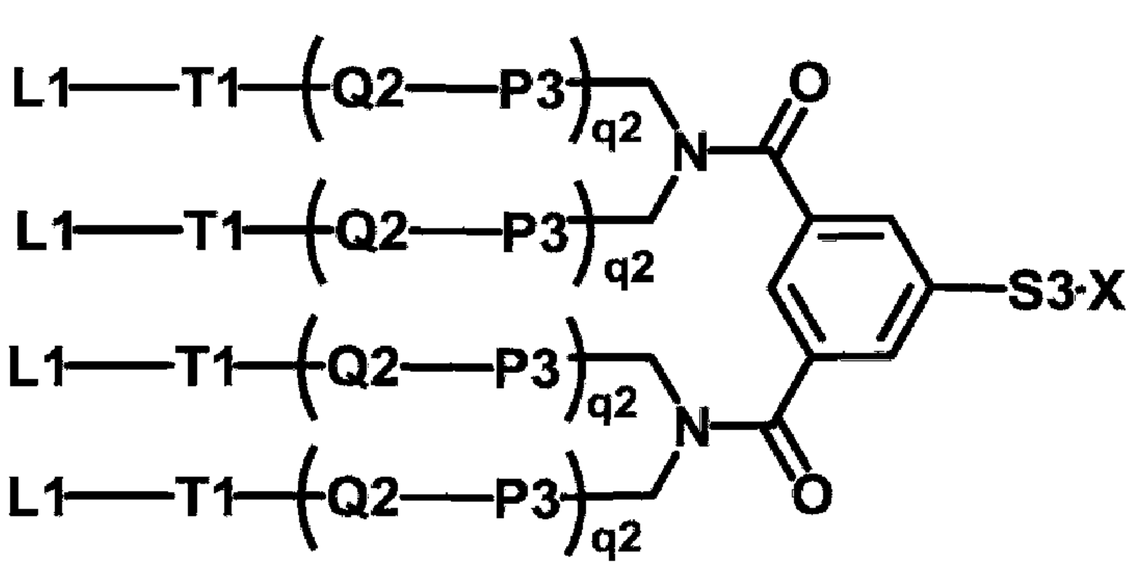
式６－１：

[0064] [化57]



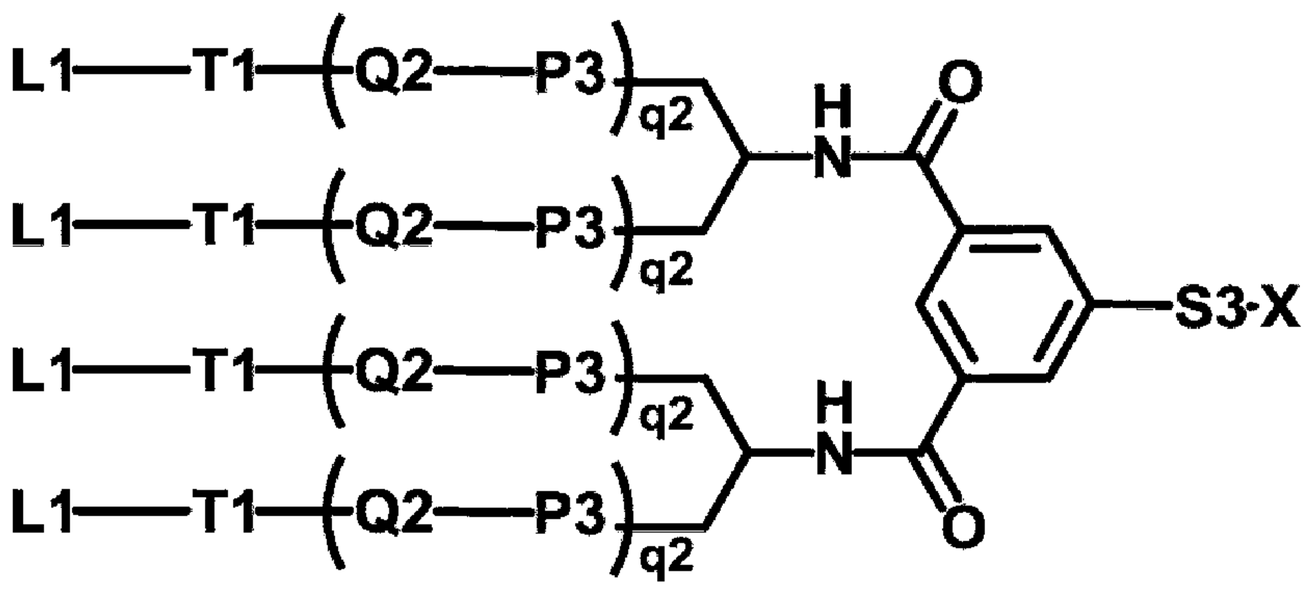
式６－２：

[0065] [化58]



式６－３：

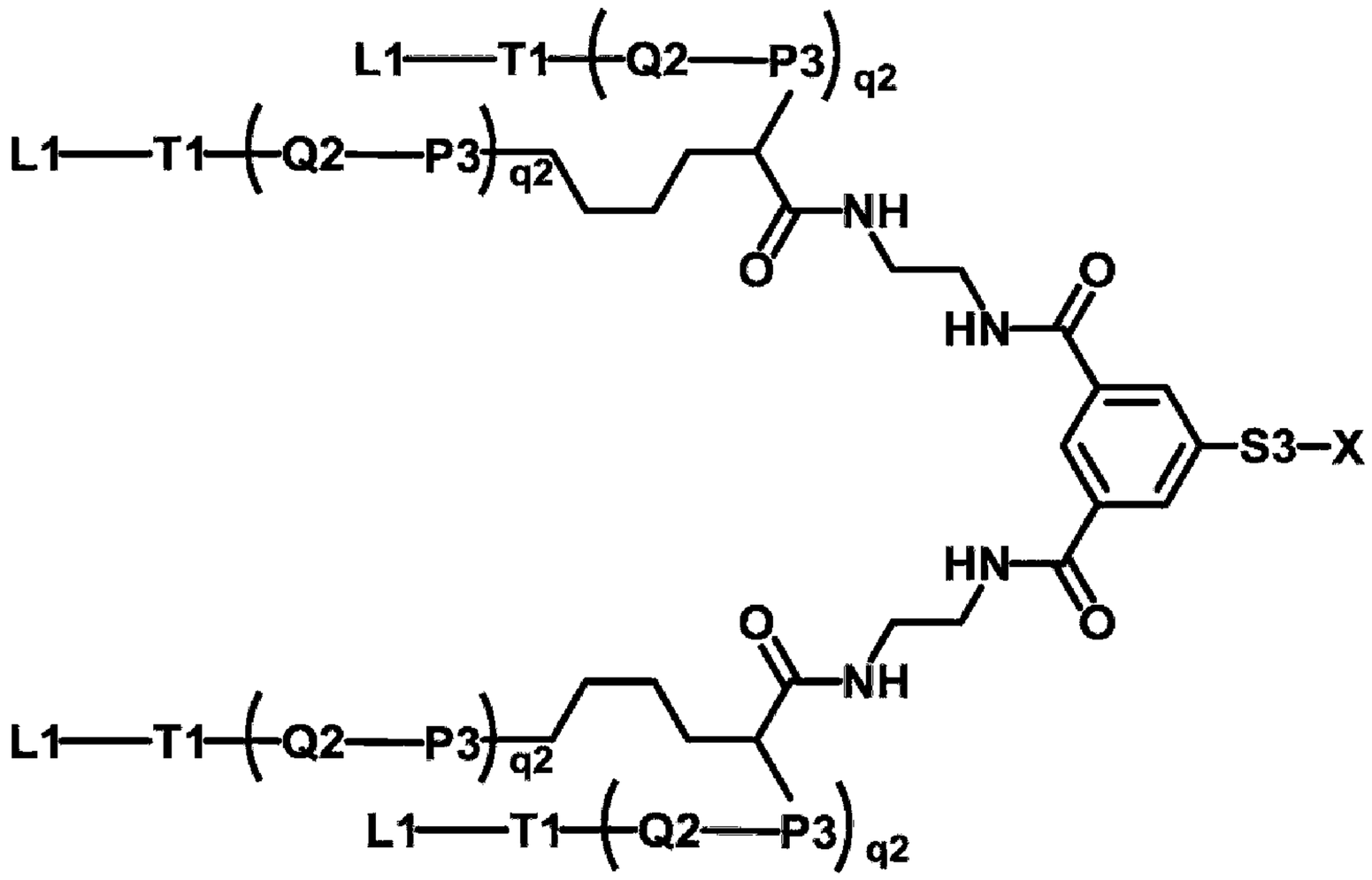
[0066] [化59]



式６－４：

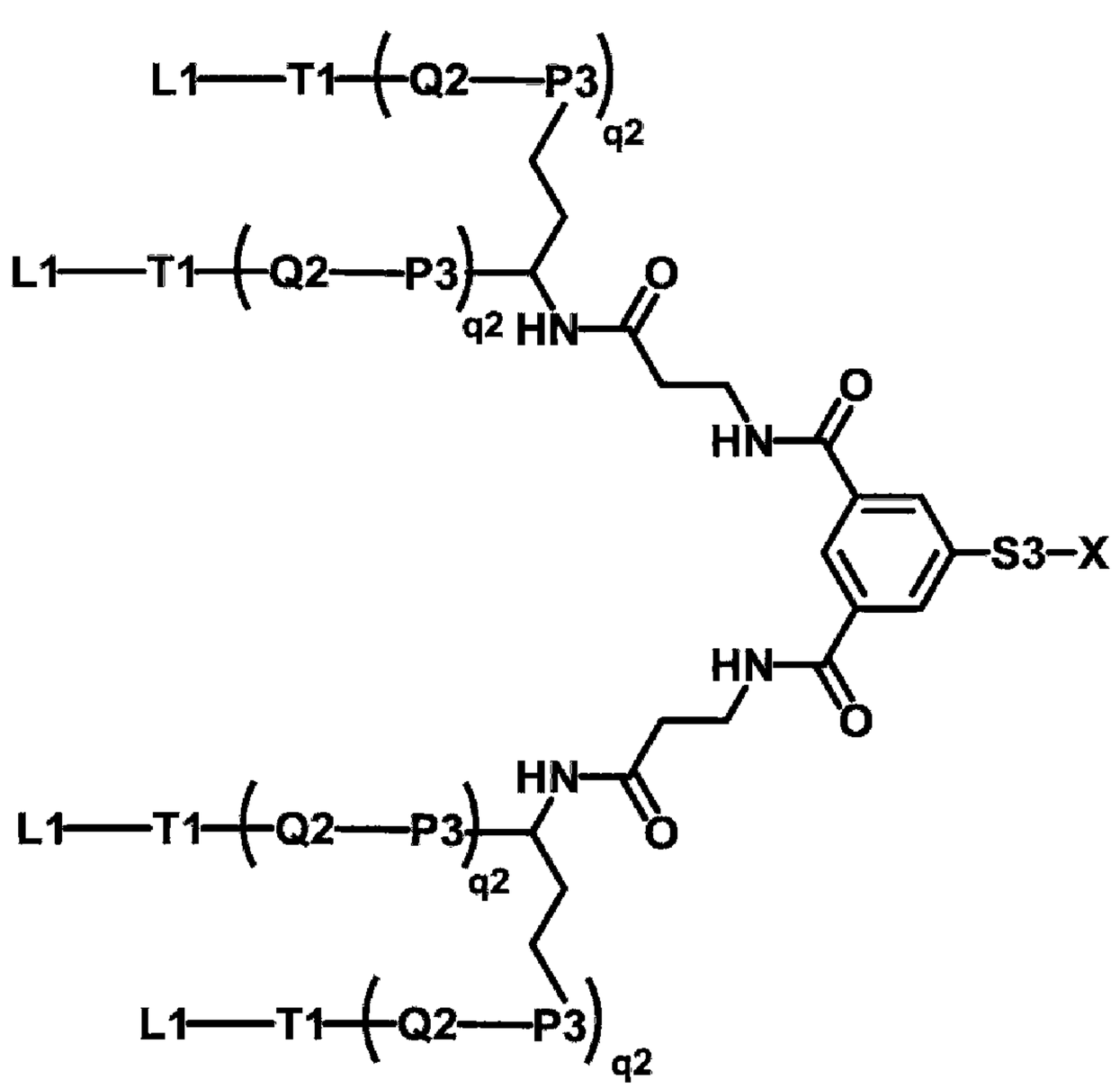
[0067]

[化60]



式６－５：

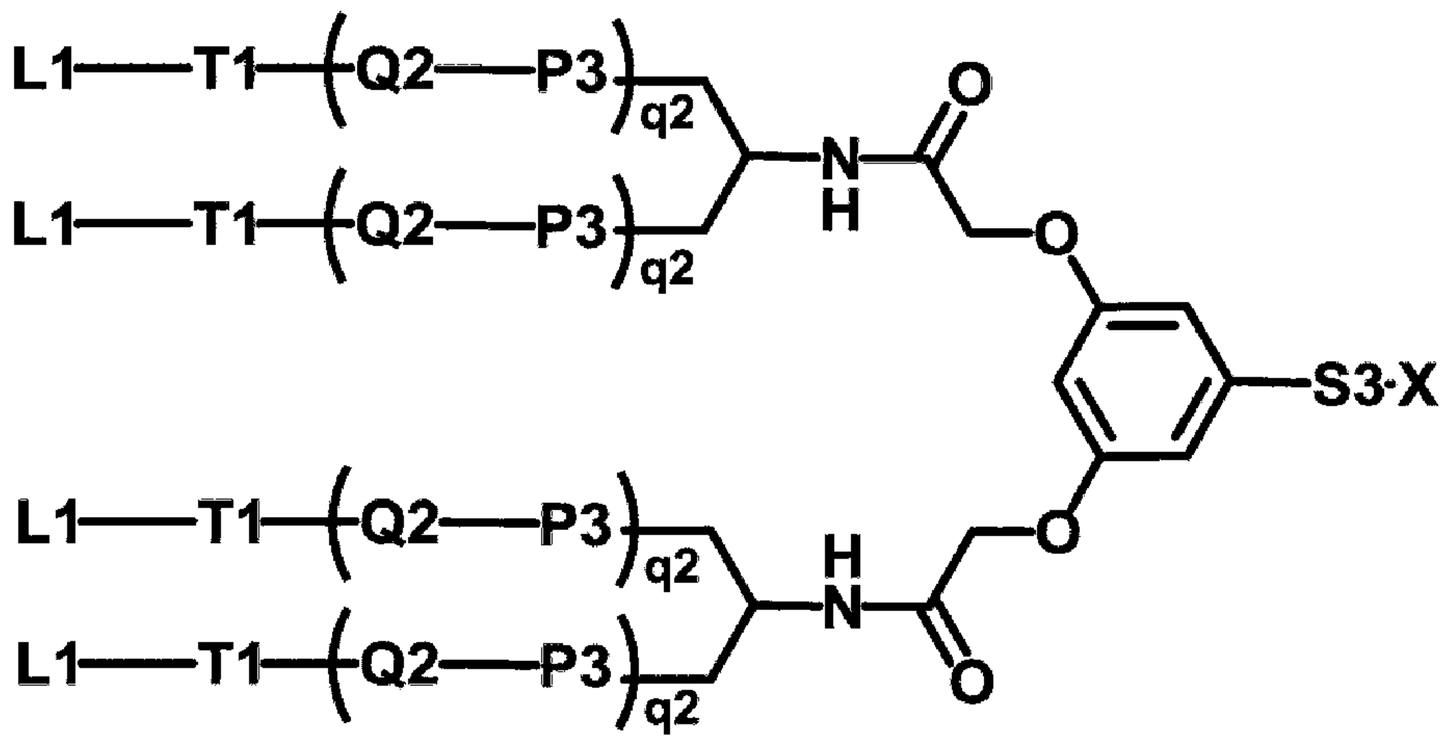
[0068] [化61]



式６－６：

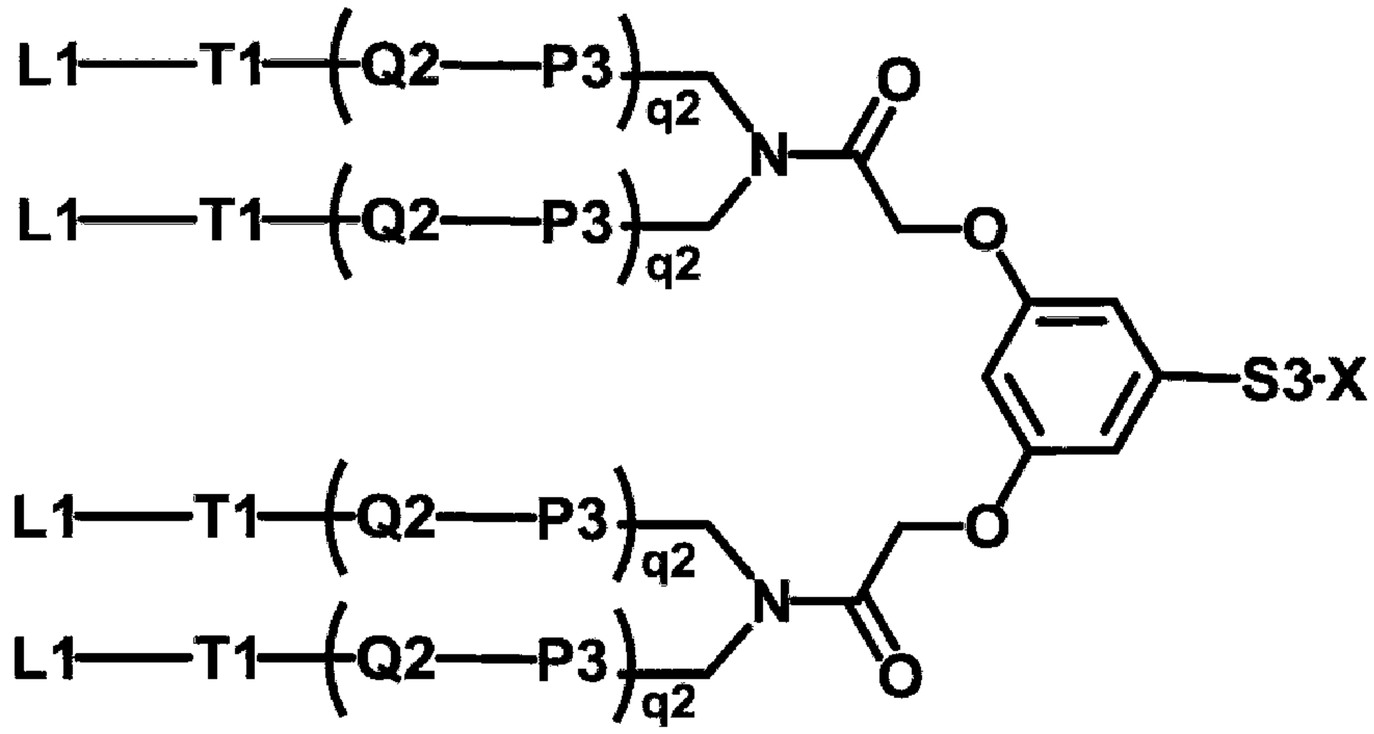
[0069]

[化62]



式６－７：

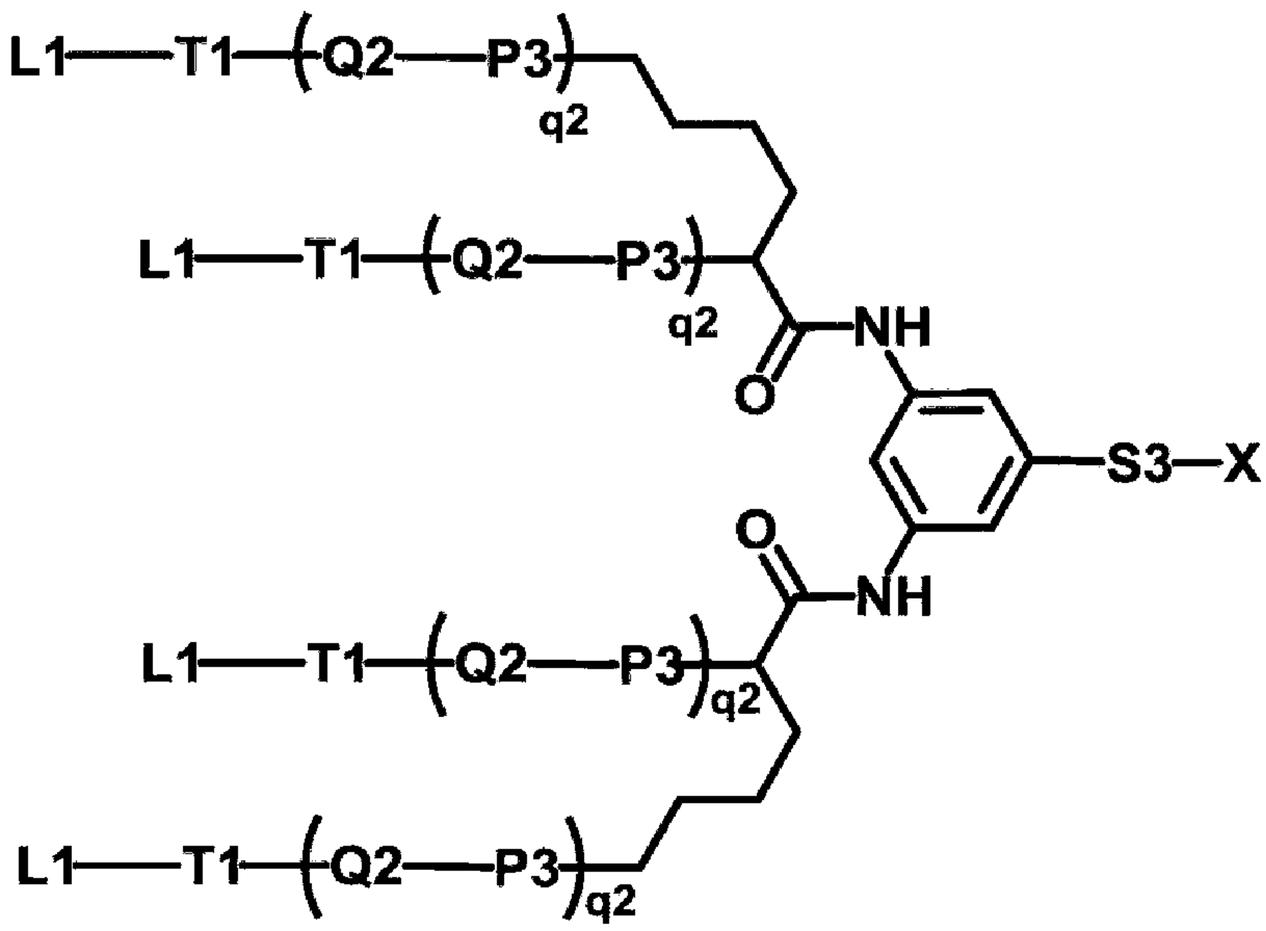
[0070] [化63]



式６－８：

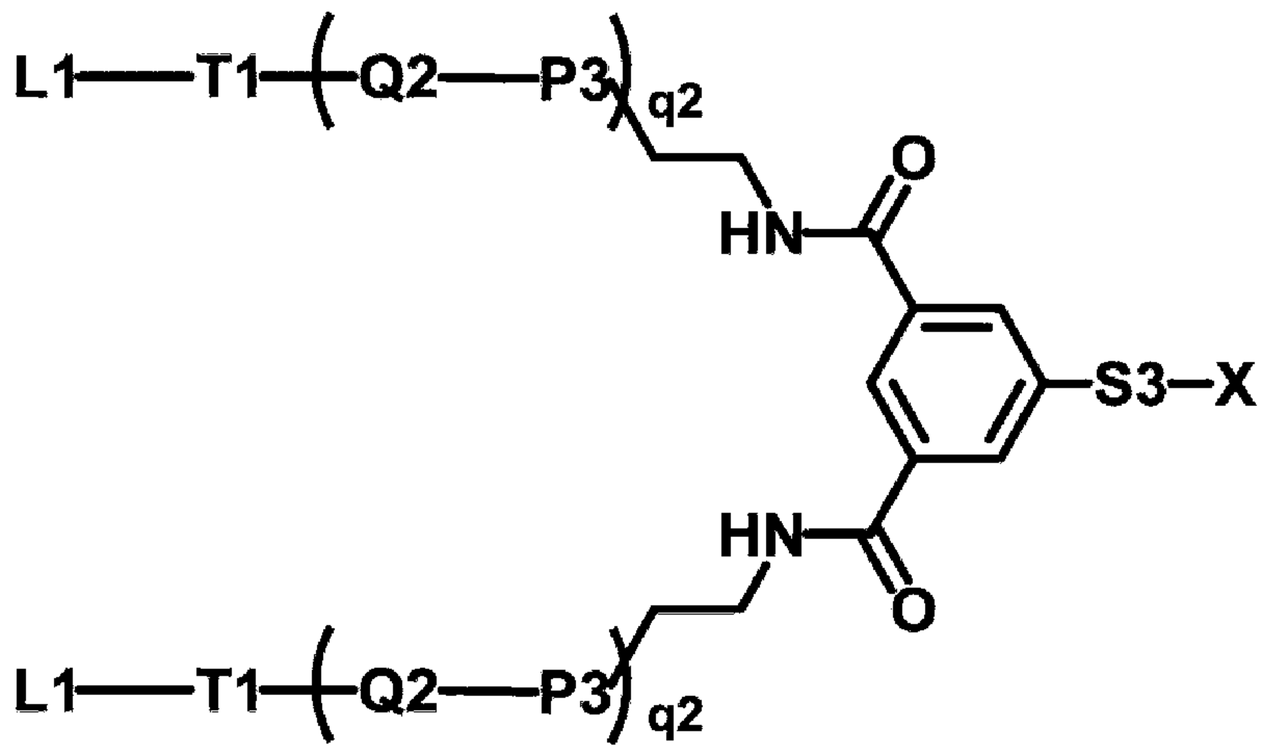
[0071]

[化64]



式６－９：

[0072] [化65]



[0073] 式６－１～式６－９中、

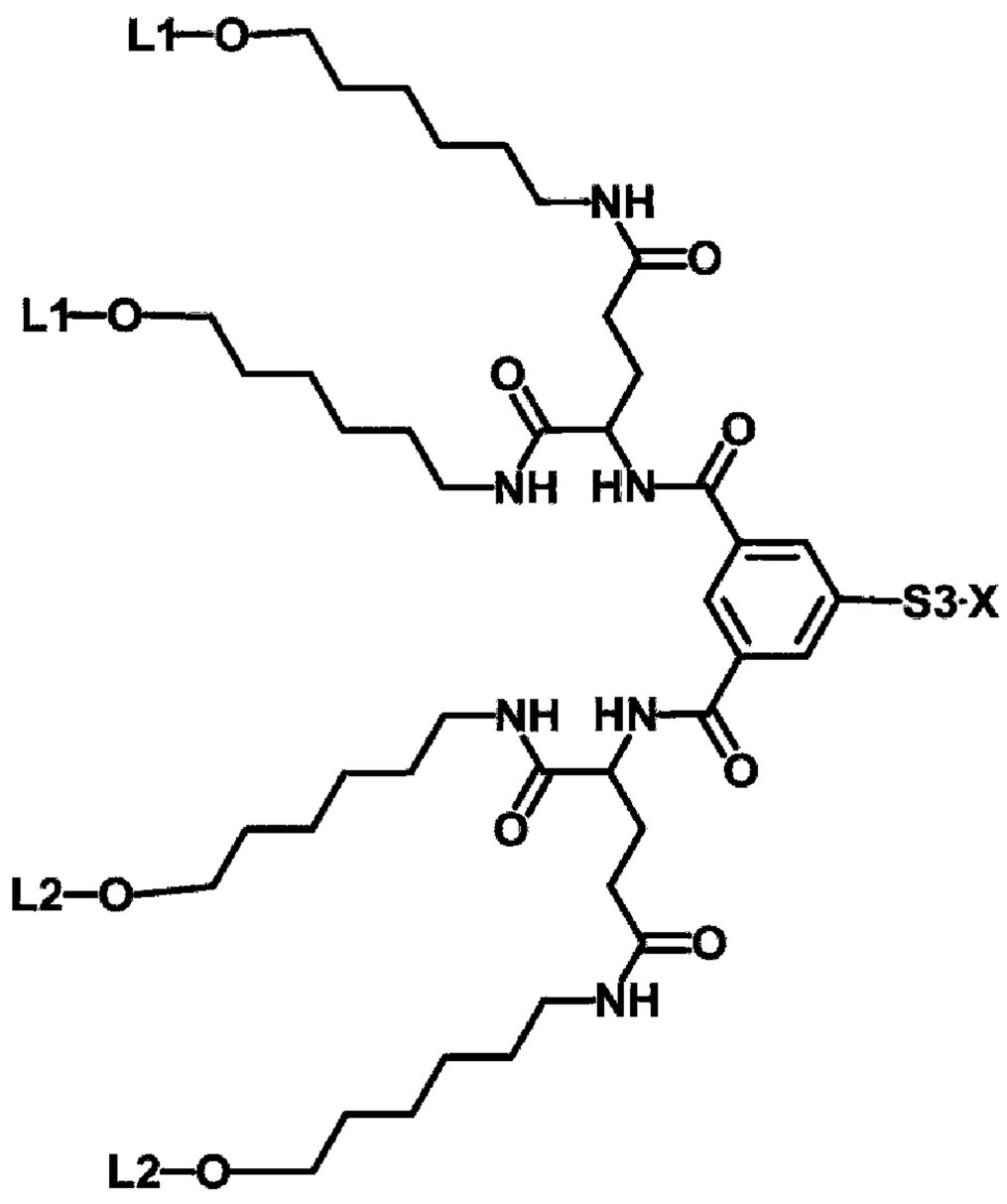
Ｘ、Ｓ３、Ｐ３、Ｑ２、Ｔ1、およびＬ１は、それぞれ前記と同義である。

[0074] 本発明において、核酸複合体は、下記式７－１～式７－９のいずれかで表される構造を有する核酸複合体であることが好適である。

式７－１：

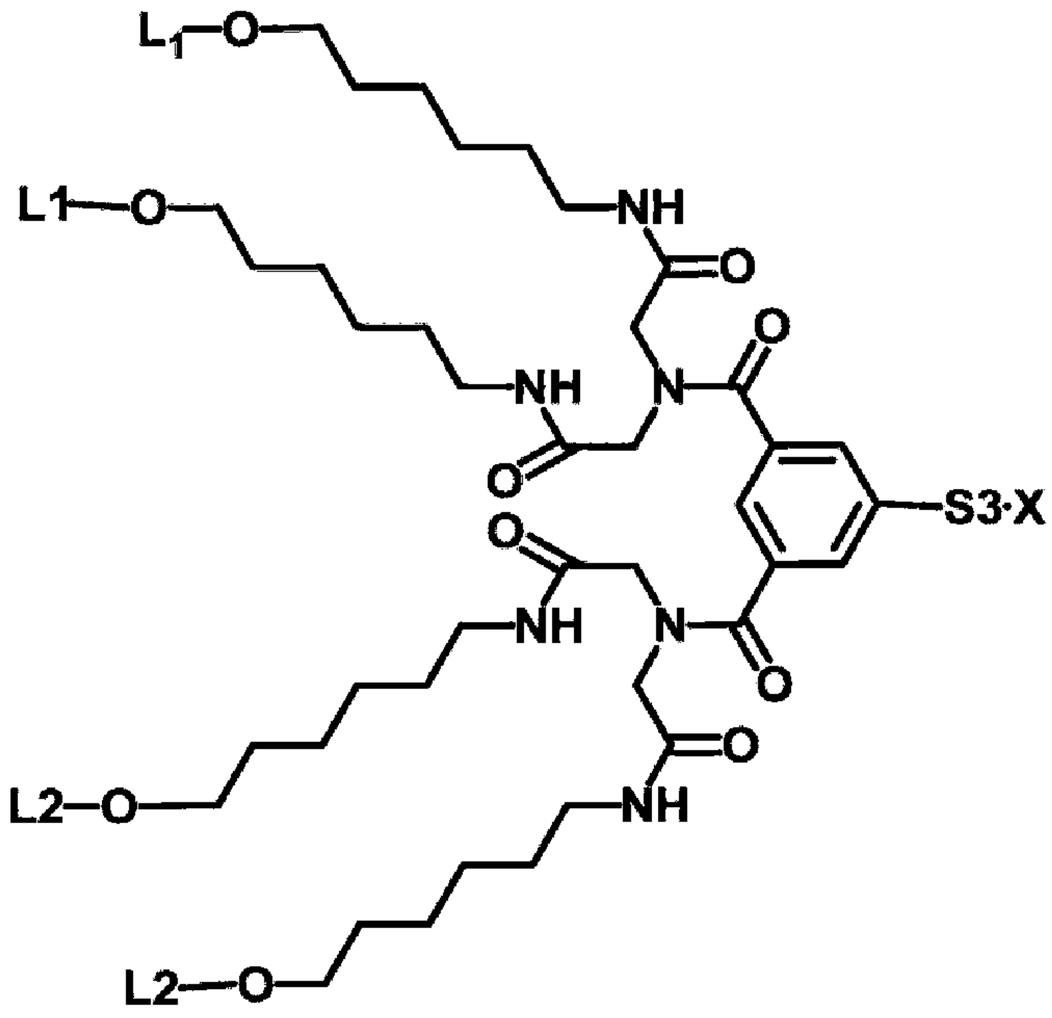
[0075]

[化66]



式７－２：

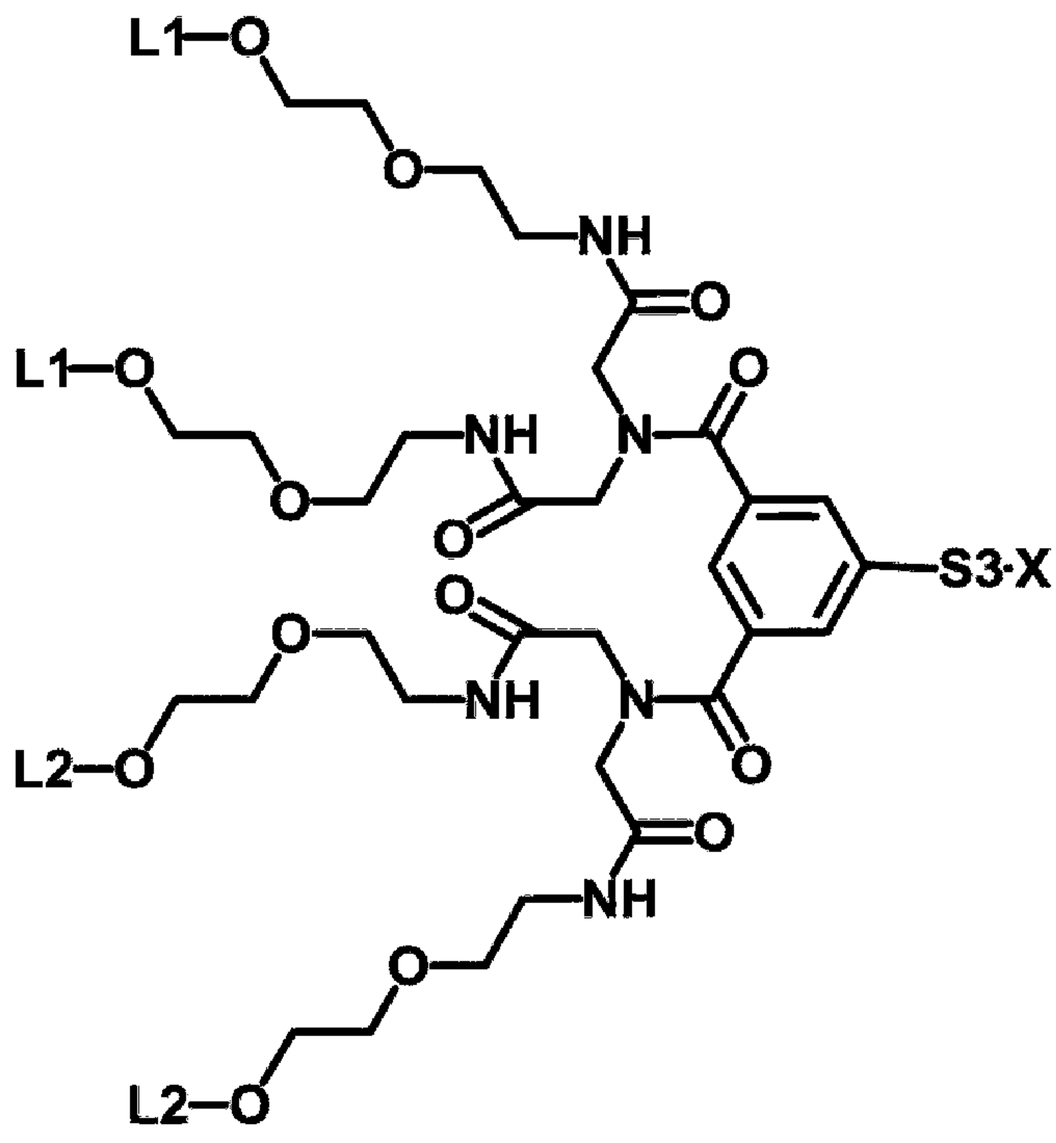
[0076] [化67]



式７－３：

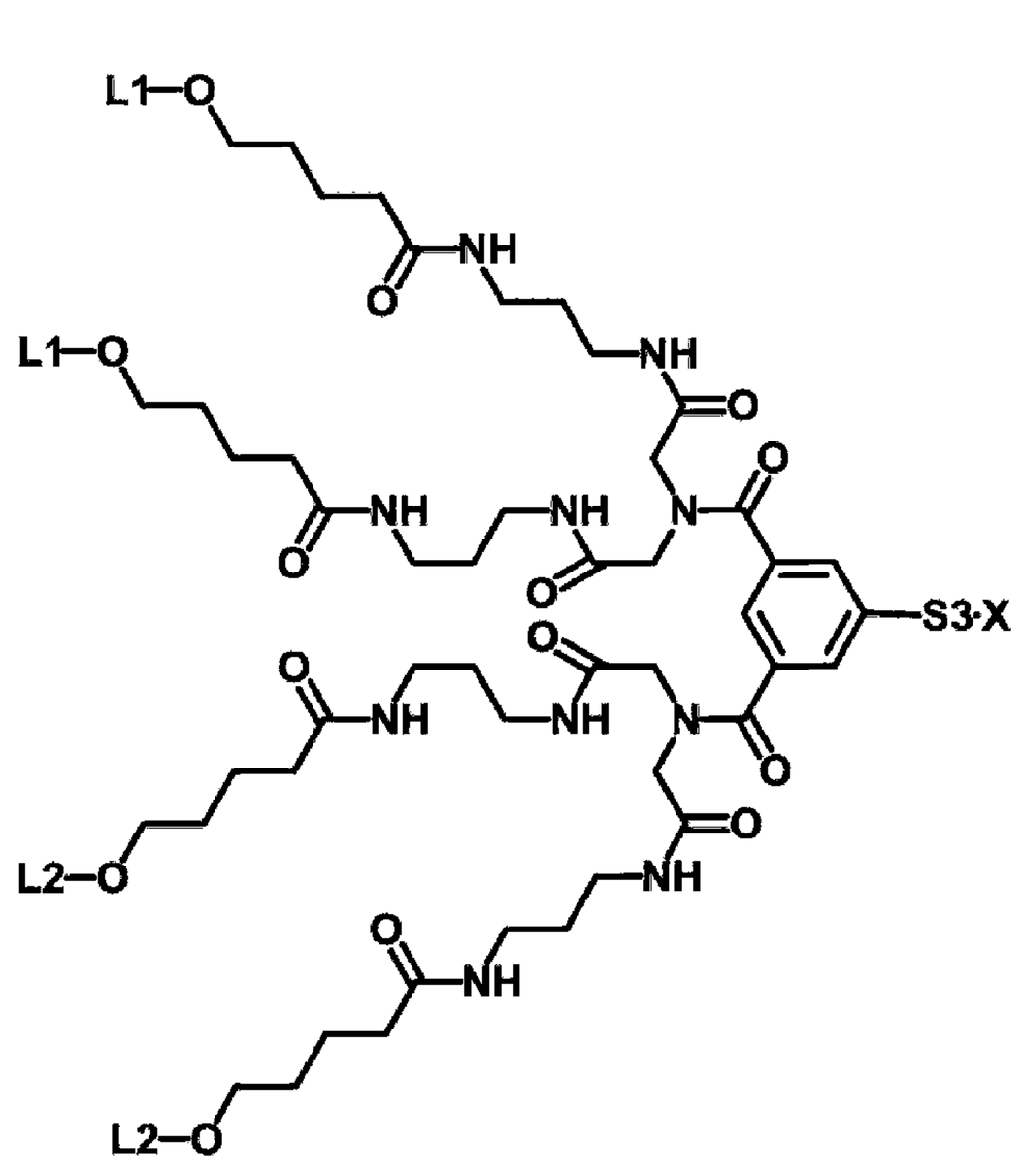
[0077]

[化68]



式７－４：

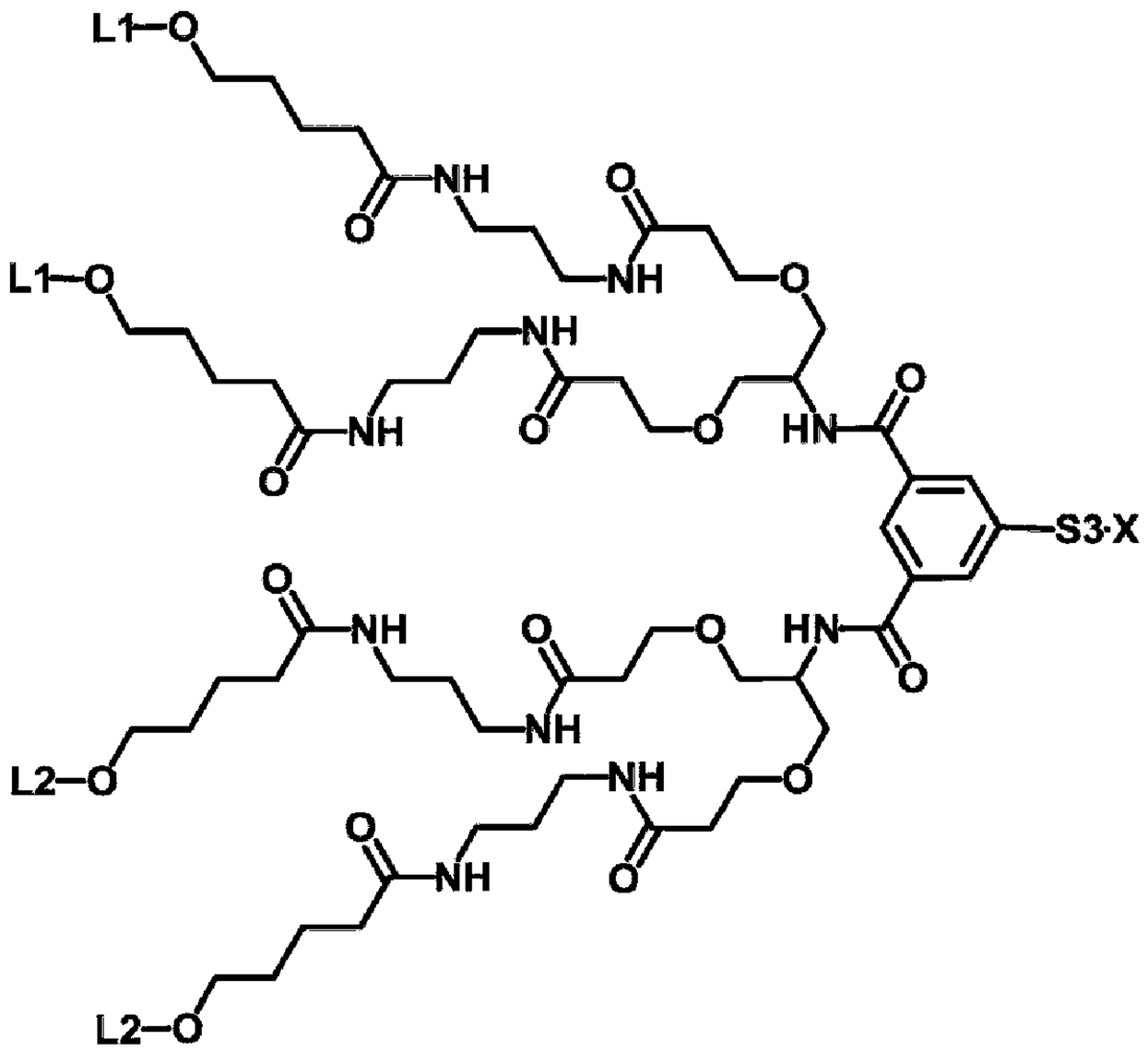
[0078] [化69]



式７－５：

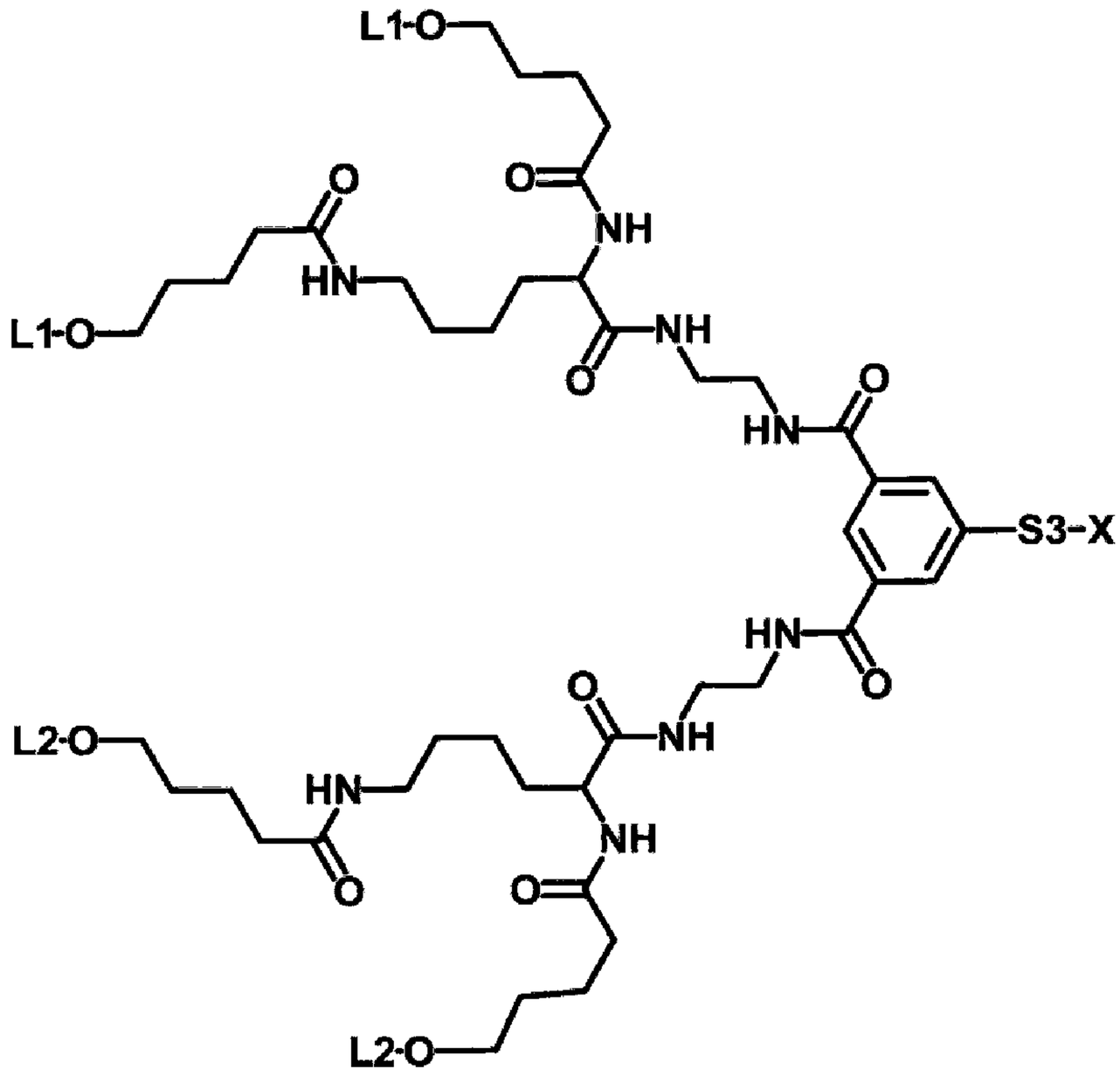
[0079]

[化70]



式７－６：

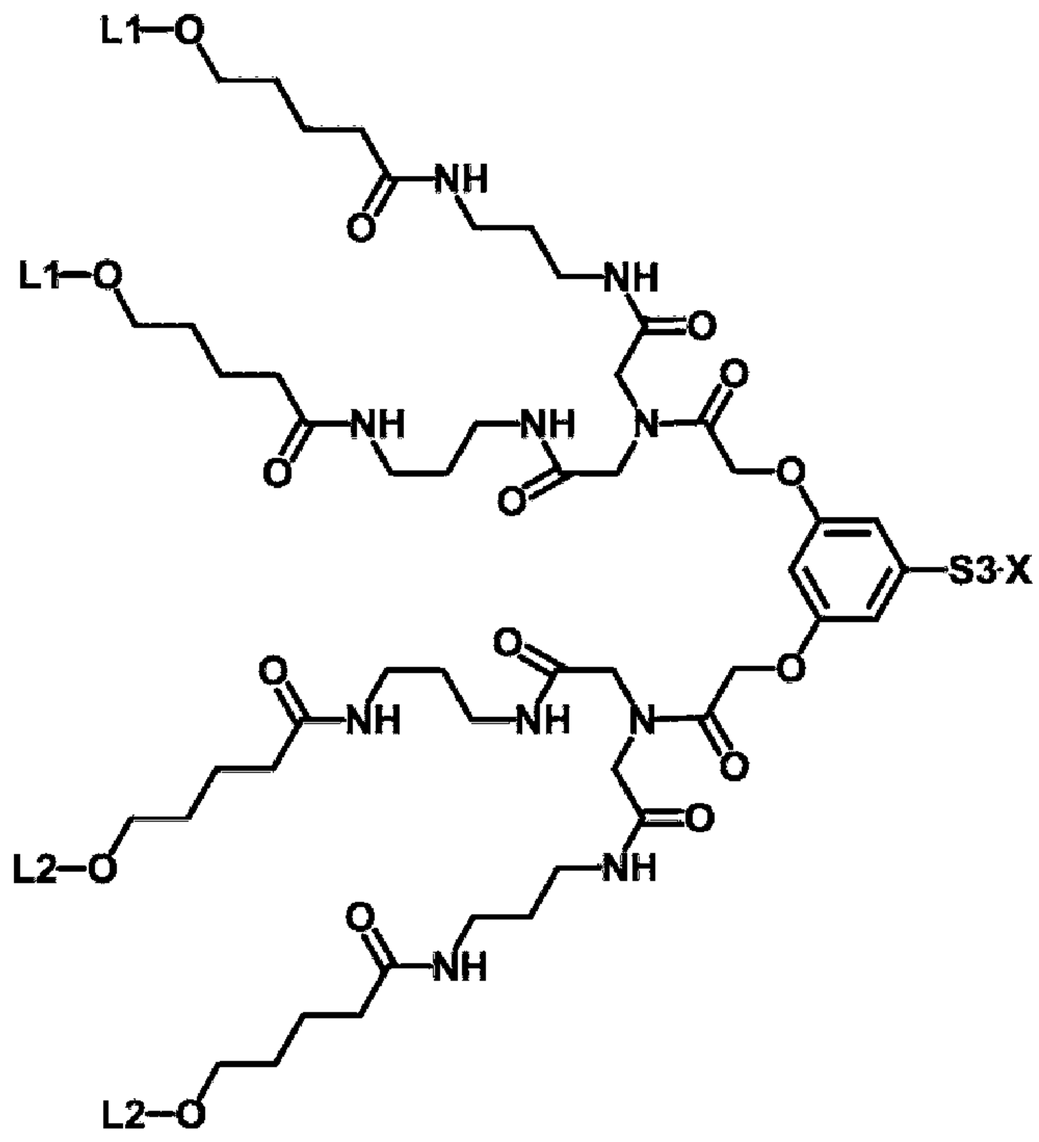
[0080] [化71]



式７－７：

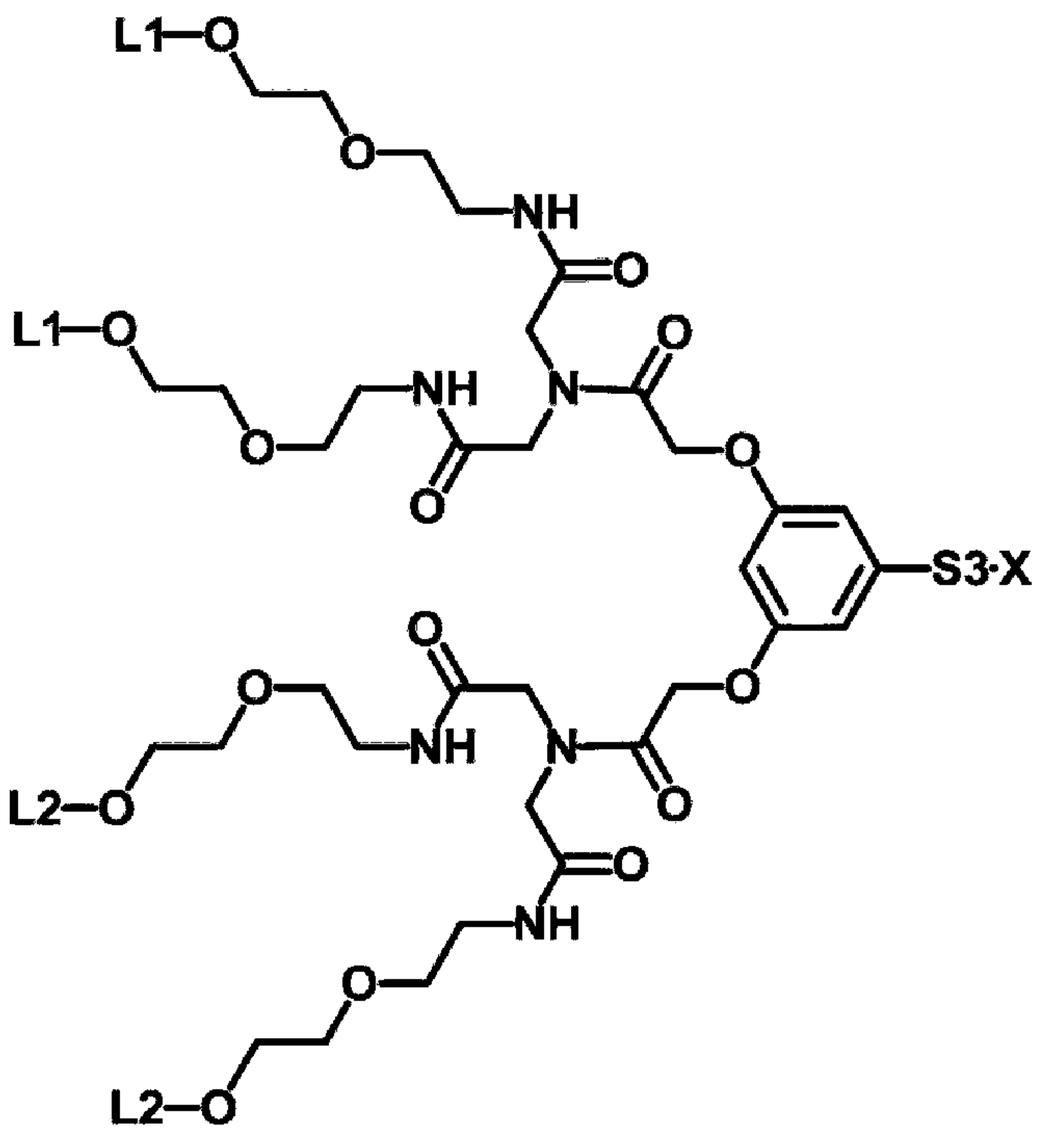
[0081]

[化72]



式７－８：

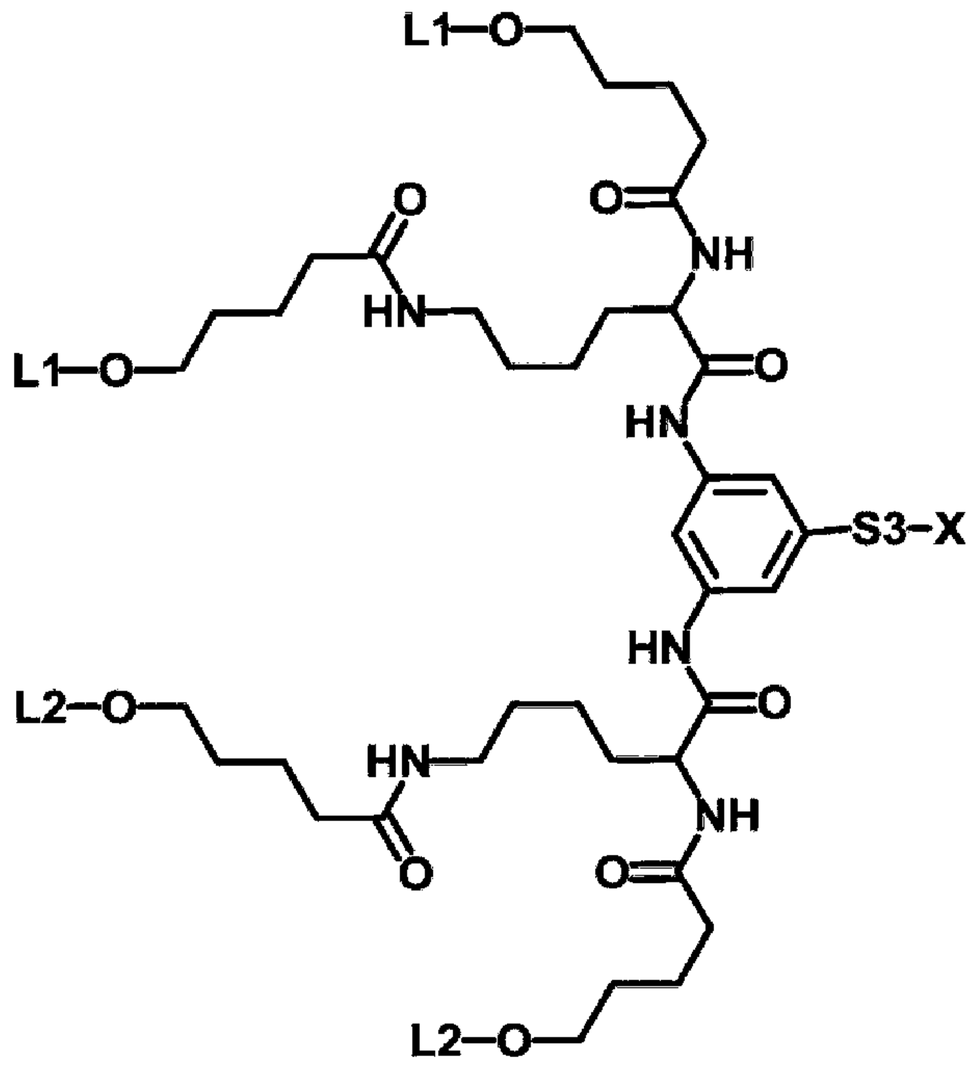
[0082] [化73]



式７－９：

[0083]

[化74]



[0084] 式７－１～式７－９中、

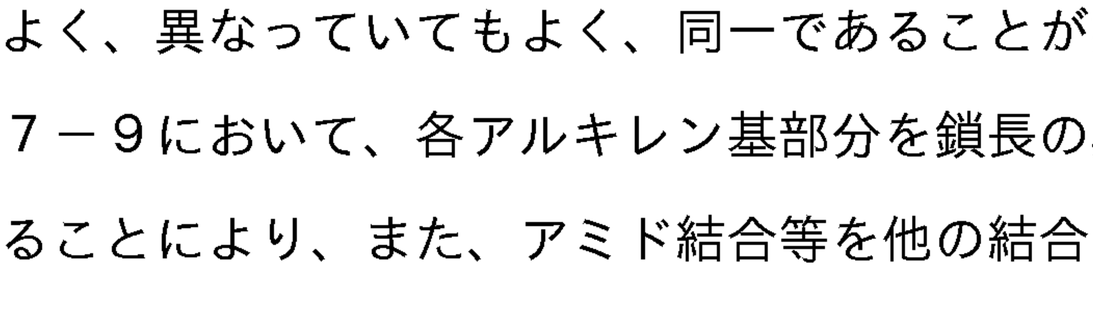
Ｘ、Ｌ１、Ｌ２およびＳ３は、それぞれ前記と同義である。Ｌ１とＬ２は同一であってもよく、異なっていてもよく、同一であることが好適である。

式７－１～式７－９において、各アルキレン基部分を鎖長の異なるアルキレン鎖を導入することにより、また、アミド結合等を他の結合に置換することにより、式７－１～式７－９で表される構造を有する核酸複合体以外の核酸誘導体を製造することもできる。

[0085] 本発明において、核酸複合体は、下記式１１で表される構造を有する核酸複合体であることが好適である。

式１１：

[0086] [化75]



[0087] 式１１中、

Ｌ１、Ｌ２、Ｓ１およびＳ２は、それぞれ前記と同義であり、

Ｐ７およびＰ８は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であり、

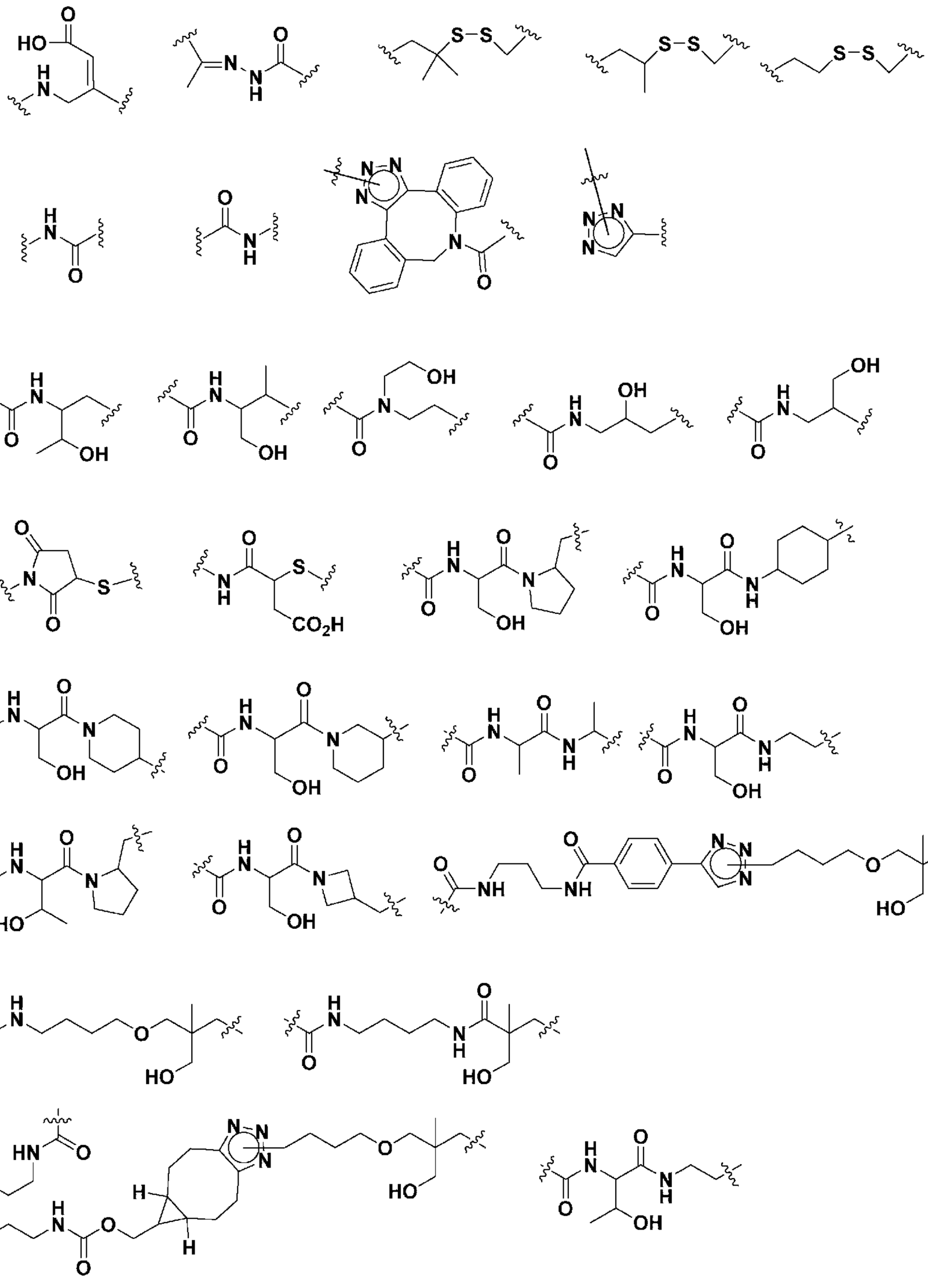
Ｑ５、Ｑ６およびＱ７は、それぞれ独立して、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_{n8}$－CH_2CH_2－であり、ｎ８は０～９９の整数であり、

Ｂ３は、本明細書中ではブランチャーユニットと呼ばれ、下記式１１－１で表されるいずれかの構造であり、破線において、それぞれ、Ｑ５およびＱ６との結合手を意味し、

式１１－１：

[0088]

[化76]



[0089] 式１１－１中、トリアゾール環を有する基における置換は、該トリアゾール環の1位および3位の窒素原子のいずれかである。

ｑ５およびｑ６は、それぞれ独立して、０～１０の整数である。

[0090] Ｐ７は、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であるが、－Ｏ－、－ＮＨ－ＣＯ－または-ＣＯ－

ＮＨ－であることが好ましく、－Ｏ－または－ＮＨ－ＣＯ－であることがより好ましい。。Ｐ７が、例えば、－Ｏ－である場合、ベンゼン環－Ｏ－という部分構造を有する。

[0091] Ｐ８は、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であるが、存在する場合、－ＣＯ－Ｏ－または－ＣＯ－ＮＨ－であることが好ましく、－ＣＯ－ＮＨ－であることがより好ましい。Ｐ８が、例えば、－ＣＯ－ＮＨ－である場合、Ｑ６－ＣＯ－ＮＨ－という部分構造を有する。

[0092] Ｑ５、Ｑ６およびＱ７は、それぞれ独立して、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_{n8}$－CH_2CH_2－であり、ｎ８は０～９９の整数であるが、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンであることが好ましく、無置換の炭素数１～１２のアルキレンであることがより好ましく、無置換の炭素数１～６のアルキレンであることがさらに好ましく、無置換の炭素数１～４のアルキレンであることがよりさらに好ましい。

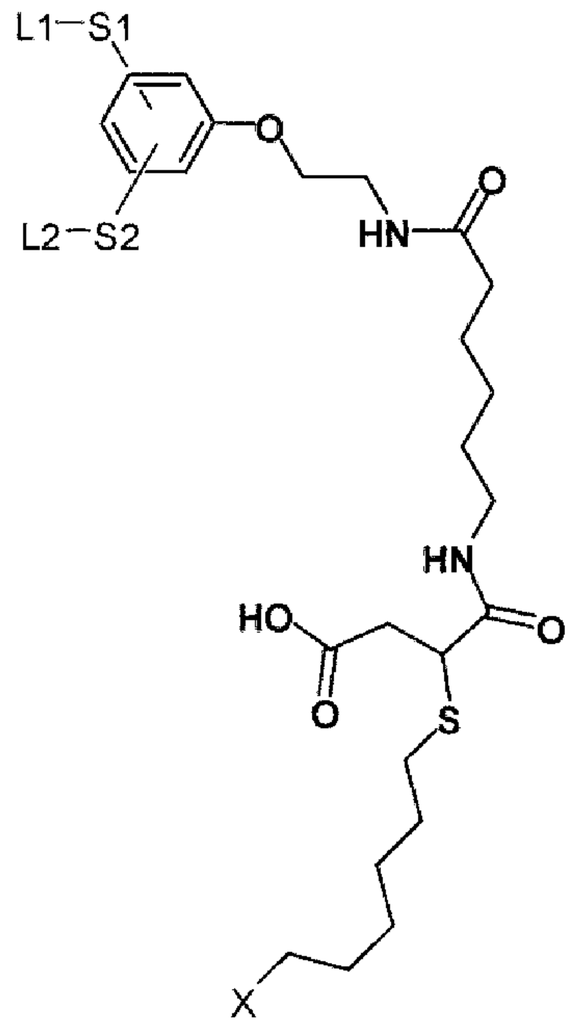
[0093] －（Ｐ７－Ｑ５）$_{q5}$－は、－Ｏ－（CH_2）$_{m15}$－ＮＨ－および－ＮＨ－ＣＯ－（CH_2）$_{m16}$－ＮＨであり、ｍ１５およびｍ１６は、それぞれ独立して、１～１０の整数であることが好適である。

[0094] 本発明において、核酸複合体は、下記式１２－１～式１２－１２のいずれかで表される構造を有する核酸複合体であることが好適である。

式１２－１：

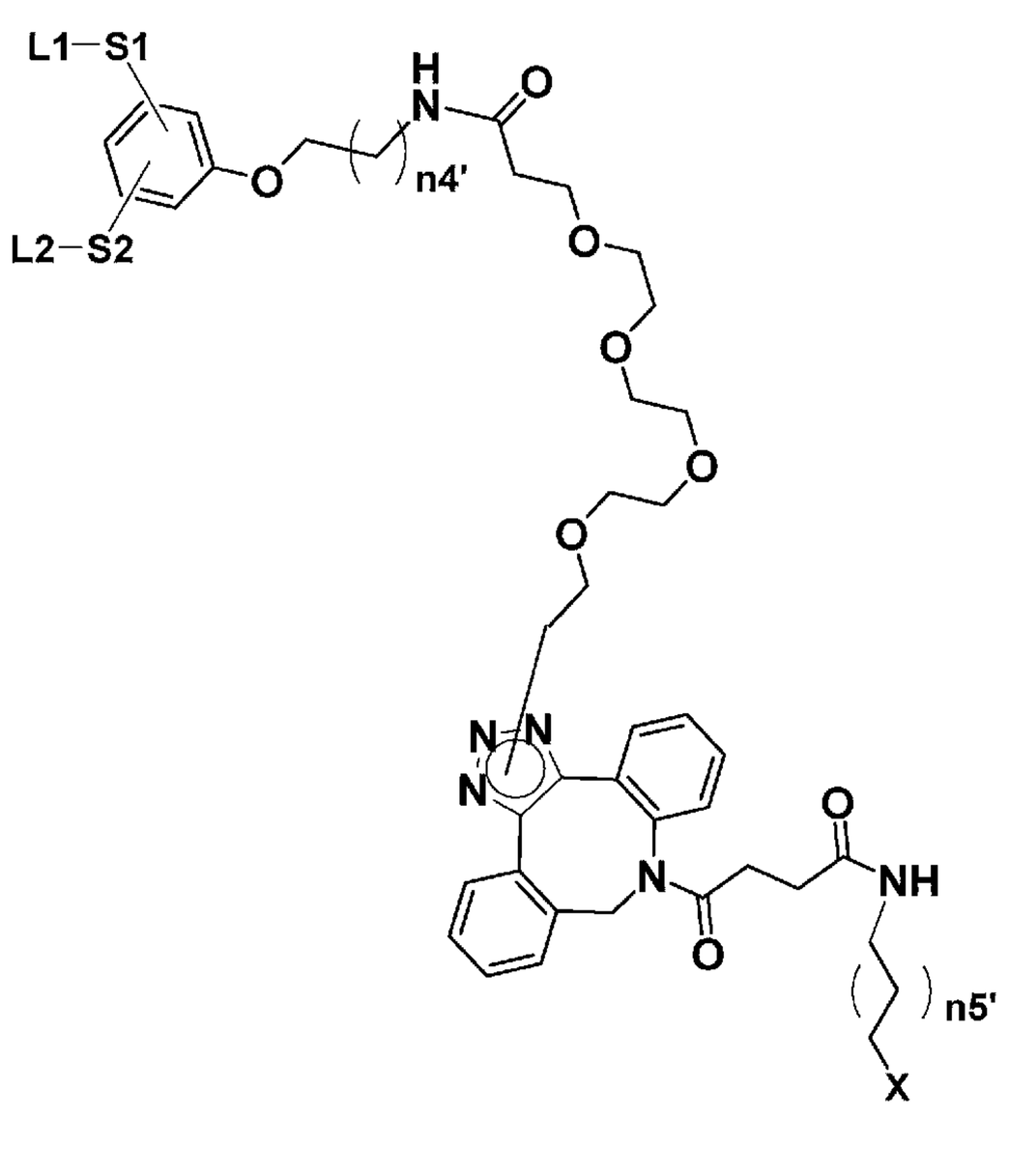
[0095]

[化77]



式１２－２：

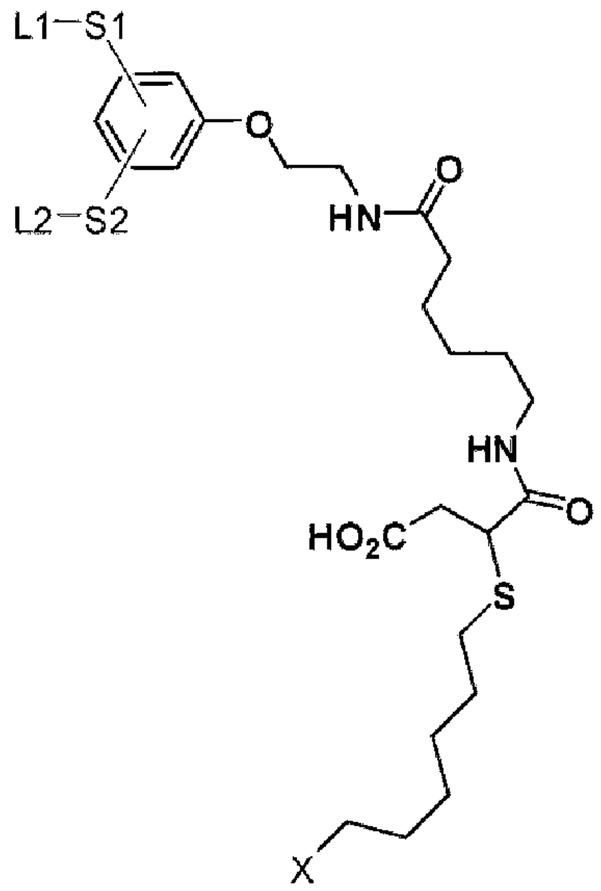
[0096] [化78]



式１２－３：

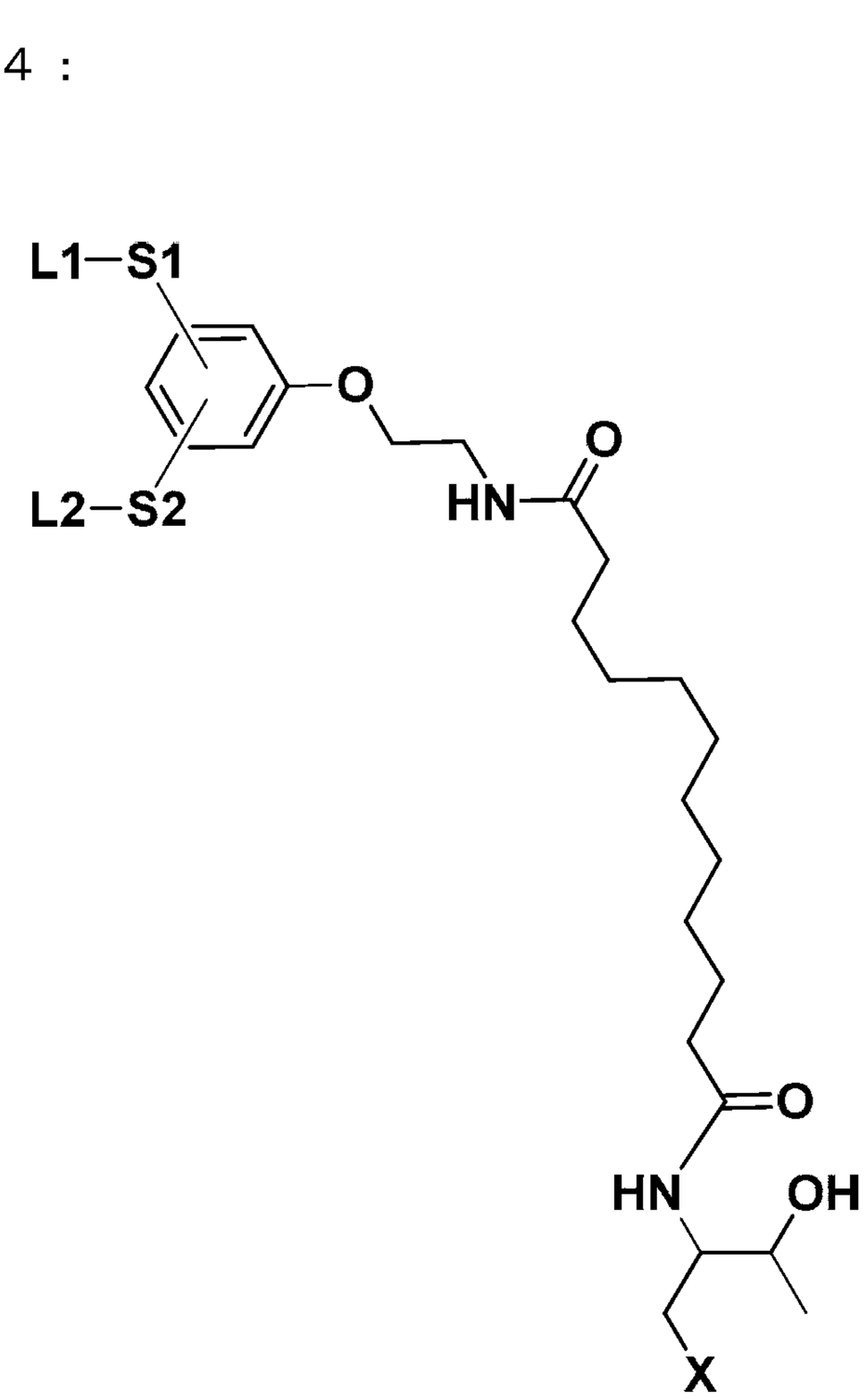
[0097]

[化79]



式１２－４：

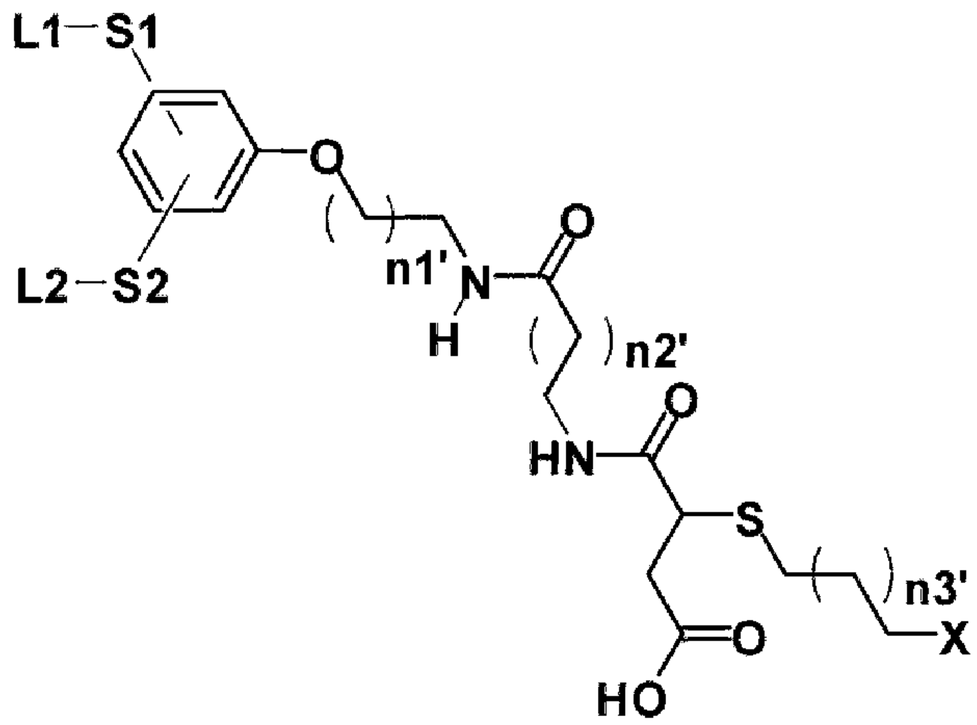
[0098] [化80]



式１２－５：

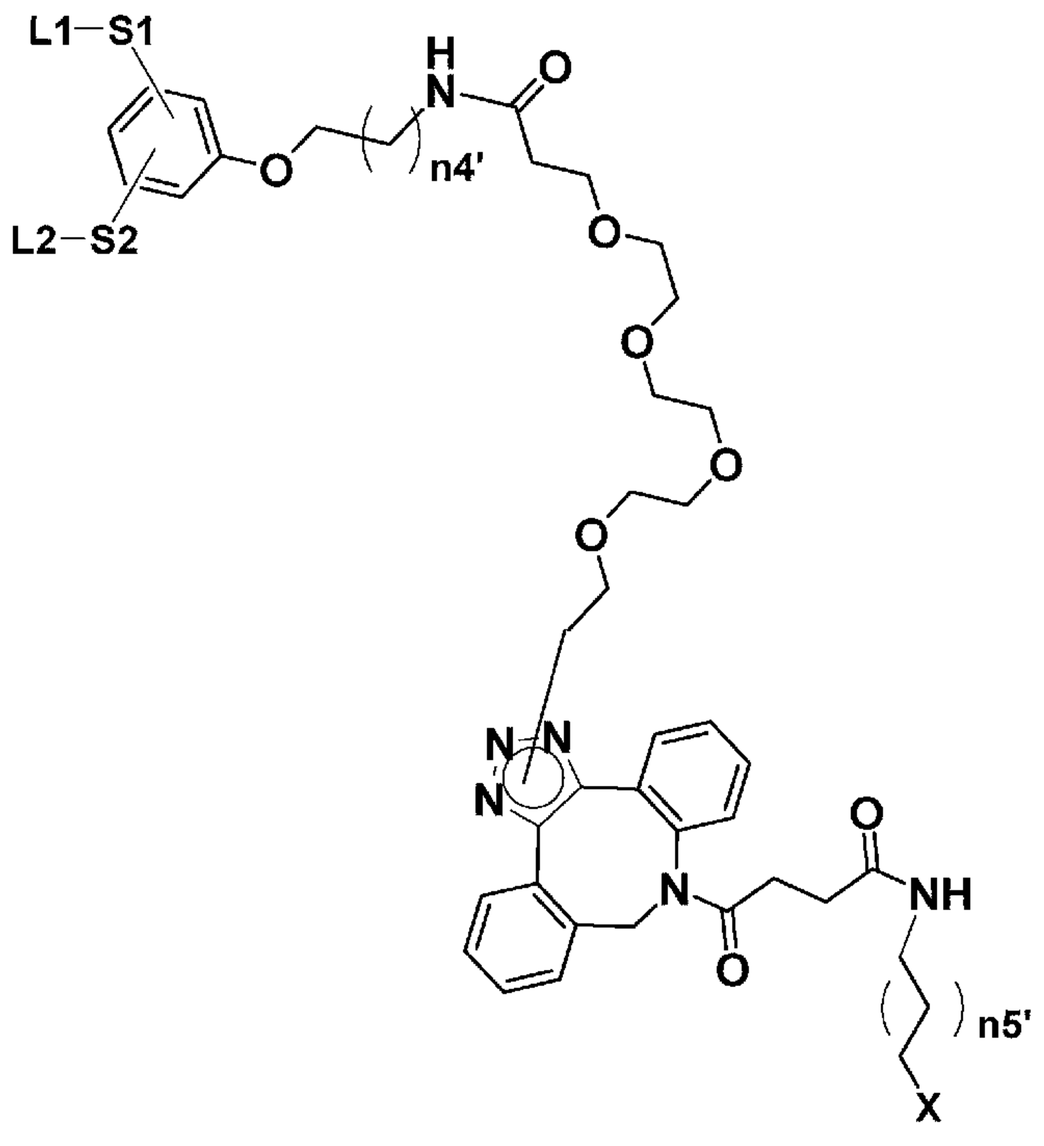
[0099]

[化81]



式１２－６：

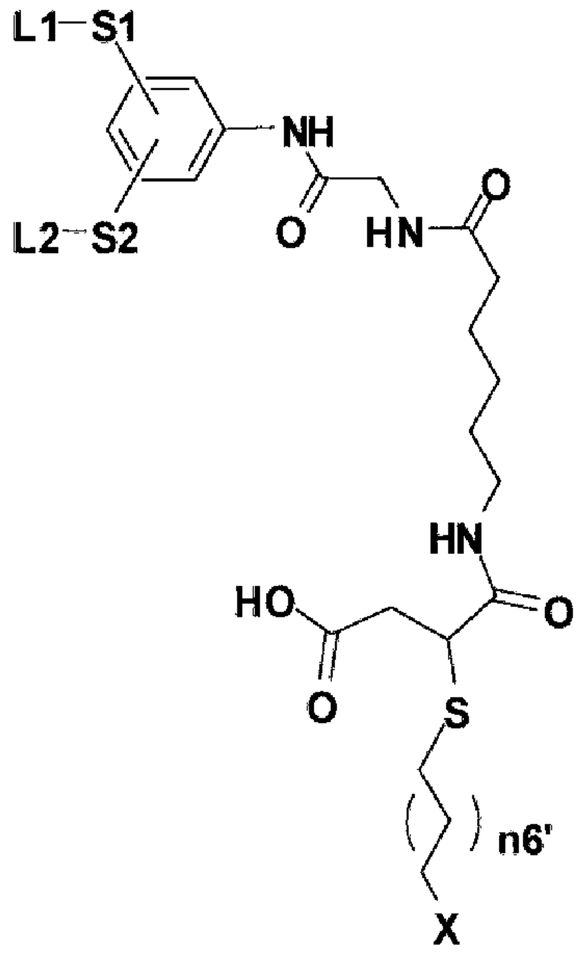
[0100] [化82]



式１２－７：

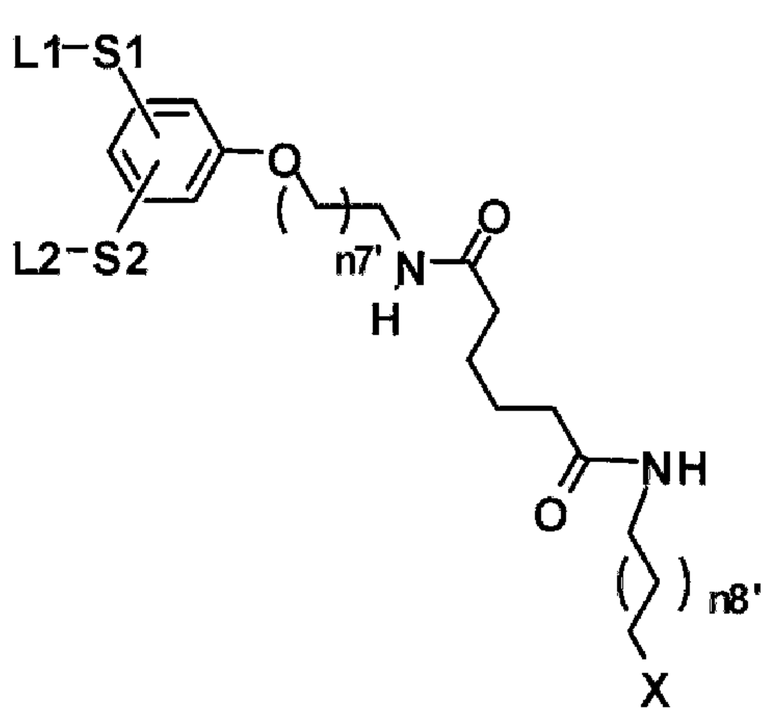
[0101]

[化83]



式１２－８：

[0102] [化84]



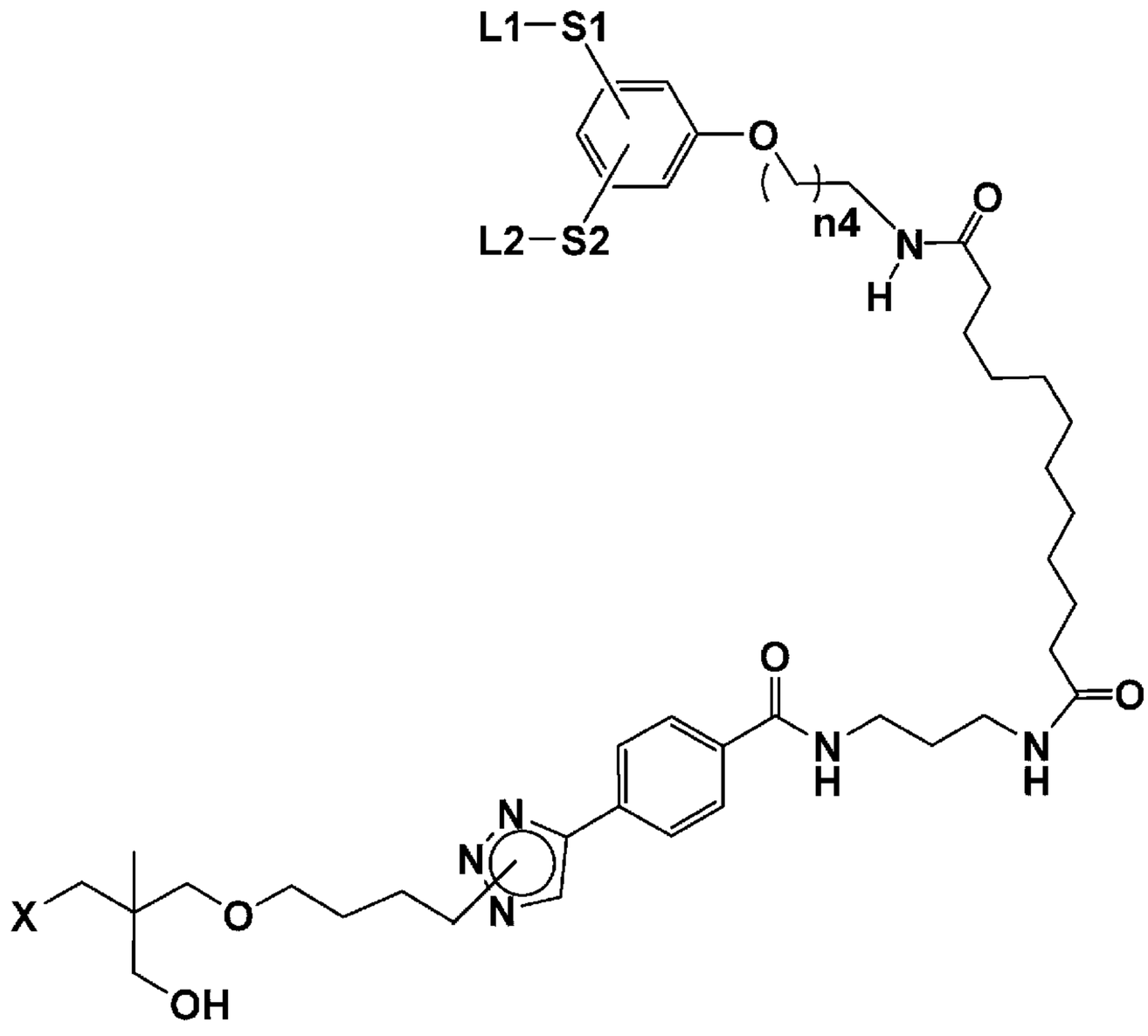
式１２－９：

[0103] [化85]

式１２－１０：

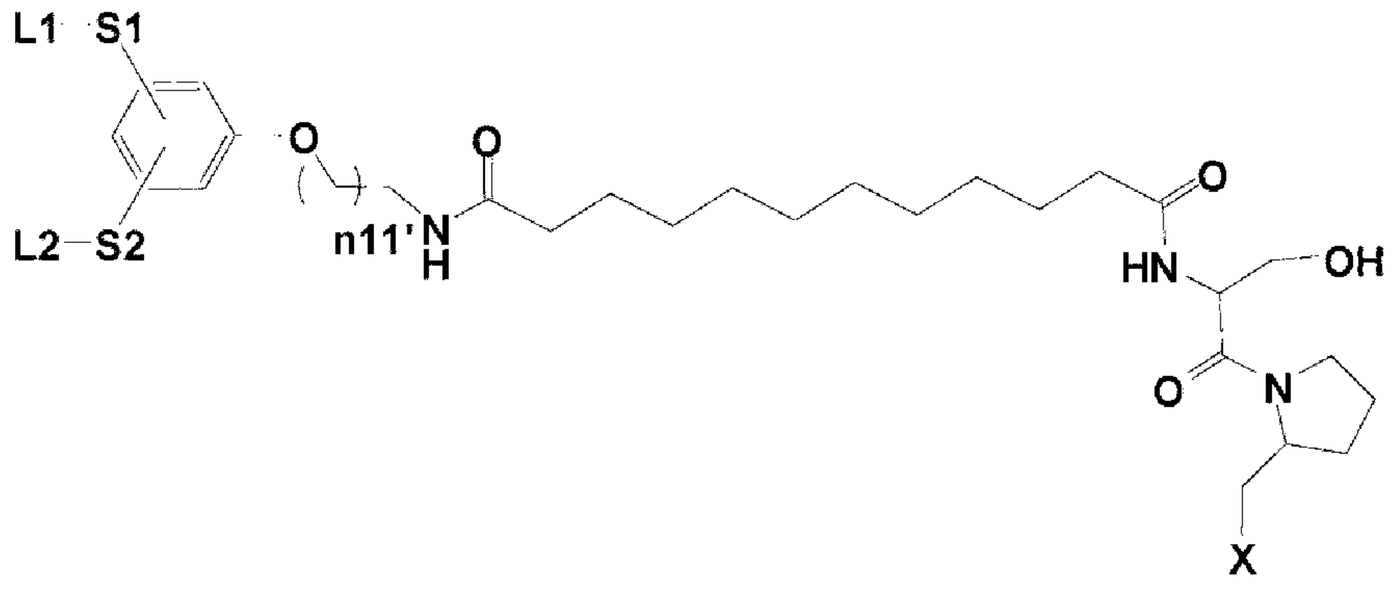
[0104]

[化86]



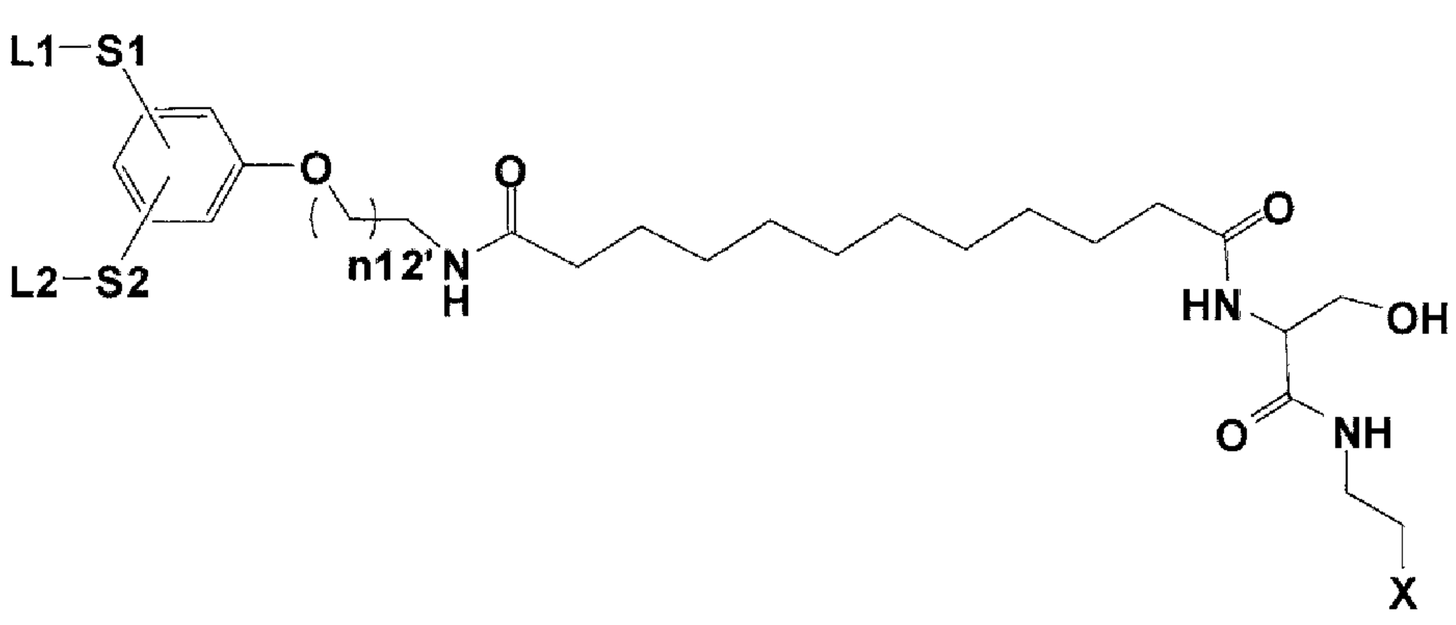
式１２－１１：

[0105] [化87]



式１２－１２：

[0106] [化88]



[0107] 式１２－１～１２－１２中、

Ｘ、Ｌ１、Ｌ２、Ｓ１およびＳ２は、それぞれ前記と同義であり、ｎ１’～ｎ１２’はそれぞれ独立して、１～１０の整数である。

[0108] 本発明の核酸複合体は、式１で表される核酸複合体において、Ｓ１およびＳ２に対応する式２に記載の構造と、Ｓ３に対応する式１１に記載の構造とを組み合わせた核酸複合体であることが好ましい。式２が、式４－１～式４－９であってもよく、式６－１～式６－９であってもよく、式７－１～式７－９であってもよく、式２が、式４－１～式４－９、式６－１～式６－９、あるいは式７－１～式７－９である場合に、式１１が、式１２－１～式１２－１２であってもよい。本発明の核酸複合体は、式１で表される核酸複合体において、Ｓ１およびＳ２に対応する式４－１～式４－９に記載のいずれか１つの構造、およびＳ３に対応する式１２－１～式１２－１２に記載のいずれか１つの構造とを組み合わせた核酸複合体、Ｓ１およびＳ２に対応する式６－１～式６－９に記載のいずれか１つの構造および、Ｓ３に対応する式１２－１～式１２－１２に記載のいずれか１つの構造とを組み合わせた核酸複合体、Ｓ１およびＳ２に対応する式７－１～式７－９に記載のいずれか１つの構造および、Ｓ３に対応する式１２－１～式１２－１２に記載のいずれか１つの構造を組み合わせた核酸複合体であることがより好適である。

[0109] 式1におけるＸは、センス鎖およびアンチセンス鎖からなり、少なくとも11個の塩基対の二重鎖領域を含む二本鎖核酸であり、該二本鎖核酸は、該アンチセンス鎖中の、17個～30個のヌクレオチドの鎖長のオリゴヌクレオチド鎖において、表1-1～表1-3に記載された標的CFBmRNA配列のいずれかと相補的である。センス鎖の3’末端または5’末端がＳ３に結合するため、式1において、Ｓ３と結合するＸは、二本鎖核酸を構成するセンス鎖であり、後述する表1-1～表1-3または表M1-1～表M1-3中のセンス鎖配列であらわされるセンス鎖である。

[0110] 本発明において、CFB mRNAに対して相補的な塩基配列を含む核酸をアンチセンス鎖核酸と称し、アンチセンス鎖核酸の塩基配列に対して相補的な塩基

配列を含む核酸をセンス鎖核酸とも称する。

[0111] 本発明で用いられる核酸複合体を構成する二本鎖核酸は、哺乳動物細胞に導入された場合、CFB遺伝子の発現を低下または停止させる能力を有する二本鎖核酸であって、センス鎖およびアンチセンス鎖を有する二本鎖核酸である。また、該センス鎖と該アンチセンス鎖とは少なくとも11個の塩基対を有し、該アンチセンス鎖中の、少なくとも17個のヌクレオチドかつ多くとも30個の、すなわち、17個～30個のヌクレオチドの鎖長のオリゴヌクレオチド鎖が、表1-1～表1-3に記載された群から選択される標的CFB mRNA配列と相補的である。

[0112] 本発明で用いられる核酸複合体を構成する二本鎖核酸としては、ヌクレオチドまたは該ヌクレオチドと同等の機能を有する分子が重合した分子であればいかなる分子であってもよく、例えばリボヌクレオチドの重合体であるRNA、デオキシリボヌクレオチドの重合体であるDNA、RNAとDNAとからなるキメラ核酸、およびこれらの核酸の少なくとも一つのヌクレオチドが該ヌクレオチドと同等の機能を有する分子で置換されたヌクレオチド重合体が挙げられる。また、これらの核酸内にヌクレオチドと同等の機能を有する分子を少なくとも一つ含む誘導体も、本発明で用いられる薬物としての二本鎖核酸に含まれる。またウラシル（U）は、チミン（T）に一義的に読み替えることができる。

[0113] ヌクレオチドと同等の機能を有する分子としては、例えばヌクレオチド誘導体等が挙げられる。ヌクレオチド誘導体としては、ヌクレオチドに修飾を施した分子であればいかなる分子であってもよいが、例えばRNAまたはDNAと比較して、ヌクレアーゼ耐性の向上もしくは安定化させるため、相補鎖核酸とのアフィニティーを上げるため、細胞透過性を上げるため、または可視化させるために、リボヌクレオチドまたはデオキシリボヌクレオチドに修飾を施した分子等が好適に用いられる。

[0114] ヌクレオチドに修飾を施した分子としては、例えば糖部修飾ヌクレオチド、リン酸ジエステル結合修飾ヌクレオチド、塩基修飾ヌクレオチド、ならび

に糖部、リン酸ジエステル結合および塩基の少なくとも一つが修飾されたヌクレオチド等が挙げられる。

[0115] 糖部修飾ヌクレオチドとしては、ヌクレオチドの糖の化学構造の一部あるいは全てに対し、任意の置換基で修飾もしくは置換したもの、または任意の原子で置換したものであればいかなるものでもよいが、2’-修飾ヌクレオチドが好ましく用いられる。

[0116] 2’-修飾ヌクレオチドとしては、例えばリボースの2’-OH基がH、OR、R、R’OR、SH、SR、NH_2、NHR、NR_2、N_3、CN、F、Cl、BrおよびIからなる群(Rはアルキルまたはアリール、好ましくは炭素数1～6のアルキルであり、R’はアルキレン、好ましくは炭素数1～6のアルキレンである)から選択される置換基で置換されたヌクレオチドであり、より好ましくは2’-OH基がH、Fまたはメトキシ基で置換されたヌクレオチドであり、さらに好ましくは2’-OH基がFまたはメトキシ基で置換されたヌクレオチドである。また、2’-OH基が2-(methoxy)ethoxy基、3-aminopropoxy基、2-[(N,N-dimethylamino)oxy]ethoxy基、3-(N,N-dimethylamino)propoxy基、2-[2-(N,N-dimethylamino)ethoxy]ethoxy基、2-(methylamino)-2-oxoethoxy基、2-(N-methylcarbamoyl)etoxy 基および2-cyanoetoxy 基からなる群から選択される置換基で置換されたヌクレオチド等も挙げられる。

二本鎖核酸領域内のヌクレオチドに対して、2’-修飾ヌクレオチドは、50～100%含まれることが好ましく、70～100%含まれることがより好ましく、90～100%含まれることがさらに好ましい。また、センス鎖のヌクレオチドに対して、2’-修飾ヌクレオチドは、20～100%含まれることが好ましく、40～100%含まれることがより好ましく、60%～100%含まれることがさらに好ましい。また、アンチセンス鎖のヌクレオチドに対して、2’-修飾ヌクレオチド修飾ヌクレオチドは、20～100%含まれることが好ましく、40～100%含まれることがより好ましく、60%～100%含まれることがさらに好ましい。

[0117] リン酸ジエステル結合修飾ヌクレオチドとしては、ヌクレオチドのリン酸ジエステル結合の化学構造の一部あるいは全てに対し、任意の置換基で修飾

もしくは置換したもの、または任意の原子で置換したものであればいかなるものでもよく、例えば、リン酸ジエステル結合がホスホロチオエート結合に置換されたヌクレオチド、リン酸ジエステル結合がホスホロジチオエート結合に置換されたヌクレオチド、リン酸ジエステル結合がアルキルホスホネート結合に置換されたヌクレオチド、リン酸ジエステル結合がホスホロアミデート結合に置換されたヌクレオチド等が挙げられる。

[0118] 塩基修飾ヌクレオチドとしては、ヌクレオチドの塩基の化学構造の一部あるいは全てに対し、任意の置換基で修飾もしくは置換したもの、または任意の原子で置換したものであればいかなるものでもよく、例えば、塩基内の酸素原子が硫黄原子で置換されたもの、水素原子が炭素数1～6のアルキル基、ハロゲン等で置換されたもの、メチル基が水素、ヒドロキシメチル、炭素数2～6のアルキル基等で置換されたもの、アミノ基が炭素数1～6のアルキル基、炭素数1～6のアルカノイル基、オキソ基、ヒドロキシ基等に置換されたものが挙げられる。

[0119] ヌクレオチド誘導体としては、ヌクレオチドまたは糖部、リン酸ジエステル結合もしくは塩基の少なくとも一つが修飾されたヌクレオチド誘導体に、ペプチド、蛋白質、糖、脂質、リン脂質、フェナジン、フォレート、フェナントリジン、アントラキノン、アクリジン、フルオレセイン、ローダミン、クマリン、色素等、別の化学物質を、直接またはリンカーを介して付加したものも挙げられ、具体的には、5’-ポリアミン付加ヌクレオチド誘導体、コレステロール付加ヌクレオチド誘導体、ステロイド付加ヌクレオチド誘導体、胆汁酸付加ヌクレオチド誘導体、ビタミン付加ヌクレオチド誘導体、Cy5付加ヌクレオチド誘導体、Cy3付加ヌクレオチド誘導体、6-FAM付加ヌクレオチド誘導体、およびビオチン付加ヌクレオチド誘導体等が挙げられる。

ヌクレオチド誘導体は、核酸内の他のヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体とアルキレン構造、ペプチド構造、ヌクレオチド構造、エーテル構造、エステル構造、およびこれらの少なくとも一つを組み合わせた構造等の架橋構造を形成してもよい。

[0120] 本明細書において「相補」とは、2つの塩基間で塩基対合をし得る関係を意味し、例えば、アデニンとチミンまたはウラシルとの関係、並びにグアニンとシトシンとの関係のように緩やかな水素結合を介して、二重鎖領域全体として2重螺旋構造をとるものをいう。

[0121] 本明細書において「相補的」とは、2つのヌクレオチド配列が完全に相補する場合だけでなく、該ヌクレオチド配列間で0～30%、0～20%または0～10%のミスマッチ塩基を有することができ、例えば、CFB mRNAに対して相補的なアンチセンス鎖は、該mRNAの部分塩基配列と完全に相補する塩基配列において、1つまたは複数の塩基の置換を含んでよいことを意味する。具体的には、アンチセンス鎖は、標的遺伝子の標的配列に対して1～8個、好ましくは1～6個、1～4個、1～3個、特に2個または1個のミスマッチ塩基を有していてもよい。例えば、アンチセンス鎖が21塩基長の場合には、標的遺伝子の標的配列に対して6個、5個、4個、3個、2個または1個のミスマッチ塩基を有してもよく、そのミスマッチの位置は、それぞれの配列の5’末端または3’末端であってもよい。

また、「相補的」とは、一方のヌクレオチド配列が、他方のヌクレオチド配列と完全に相補する塩基配列において、１つまたは複数の塩基が付加および／または欠失した配列である場合を包含する。例えば、CFB mRNAと本発明のアンチセンス鎖核酸とは、アンチセンス鎖における塩基の付加および／または欠失により、アンチセンス鎖および／または標的CFB mRNA領域に1個または2個のバルジ塩基を有してもよい。

[0122] 本発明で用いられる薬物としての二本鎖核酸は、CFB mRNAの一部の塩基配列に対して相補的な塩基配列を含む核酸および／または該核酸の塩基配列に対して相補的な塩基配列を含む核酸であれば、いずれのヌクレオチドまたはその誘導体から構成されていてもよい。本発明の二本鎖核酸は、標的CFB mRNA配列に対して相補的な塩基配列を含む核酸と、該核酸の塩基配列に対して相補的な塩基配列を含む核酸とが、少なくとも11個の塩基対の二重鎖を形成することができればいずれの長さでもよいが、二重鎖を形成できる配列の長さ

は、通常11～27塩基であり、15～25塩基が好ましく、15～23塩基がより好ましく、17～21塩基がさらに好ましい。

[0123] 本発明の核酸複合体のアンチセンス鎖としては、標的CFB mRNA配列に対して相補的な塩基配列を含む核酸が用いられるが、該核酸のうち1～3塩基、好ましくは1～2塩基、より好ましくは1塩基が欠失、置換または付加したものを用いてもよい。

[0124] CFBの発現を抑制する核酸としては、標的CFB mRNA配列に対して相補的な塩基配列を含む核酸であって、かつCFBの発現を抑制する一本鎖核酸、もしくは標的CFB mRNA配列に対して相補的な塩基配列を含む核酸と、該核酸の塩基配列に対して相補的な塩基配列を含む核酸とからなり、かつCFBの発現を抑制する二本鎖核酸が好適に用いられる。

[0125] 二本鎖核酸を構成する一本鎖のアンチセンス鎖核酸およびセンス鎖核酸は、それぞれ同一または異なって、通常11～30塩基からなるが、それぞれ同一または異なって17～27塩基からなることが好ましく、17～25塩基からなることがより好ましく、19～25塩基からなることがさらに好ましく、21～23塩基からなることがよりさらに好ましい。

[0126] 本発明で用いられる薬物としての二本鎖核酸において、二重鎖領域に続く3’側または5’側に二重鎖を形成しない追加のヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体を有する場合には、これを突出部(オーバーハング)と呼ぶ。突出部を有する場合には、突出部を構成するヌクレオチドはリボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチドまたはこれらの誘導体であってもよい。

[0127] 突出部を有する二本鎖核酸としては、少なくとも一方の鎖の3’末端または5’末端に1～6塩基、通常は1～3塩基からなる突出部を有するものが用いられるが、2塩基からなる突出部を有するものが好ましく用いられ、例えば、dTdT(dTはデオキシチミジンを表す)またはUU(Uはウリジンを表す)からなる突出部を有するものが挙げられる。突出部は、アンチセンス鎖のみ、センス鎖のみ、およびアンチセンス鎖とセンス鎖の両方に有することができるが、本発明において、アンチセンス鎖に突出部を有する二本鎖核酸が好ましく用いられ

る。なお、アンチセンス鎖は、二重鎖領域とそれに続く突出部とを含む、17個～30個のヌクレオチドからなるオリゴヌクレオチド鎖において、表1-1～表1-3に記載された標的CFB mRNA配列のいずれかと十分に相補的である。さらに、本発明の二本鎖核酸としては、例えばDicer等のリボヌクレアーゼの作用により二本鎖核酸を生成する核酸分子(WO2005/089287)や、3’末端や5’末端の突出部を有さず平滑末端を形成する二本鎖核酸、センス鎖のみが突出した二本鎖核酸（US2012/0040459）等を用いることもできる。

[0128] 本発明で用いられる核酸複合体を構成する二本鎖核酸としては、標的遺伝子の塩基配列またはその相補鎖の塩基配列と同一の配列からなる核酸を用いてもよいが、該核酸の少なくとも一方の鎖の5’末端または3’末端が1～4塩基削除された核酸と、該核酸の塩基配列に対して相補的な塩基配列を含む核酸とからなる二本鎖核酸を用いてもよい。

[0129] 本発明で用いられる核酸複合体を構成する二本鎖核酸は、RNA同士が二重鎖を形成した二本鎖RNA（dsRNA）、DNA同士が二重鎖を形成した二本鎖DNA（dsDNA）、またはRNAとDNAが二重鎖を形成したハイブリッド核酸であってもよい。あるいは、二本鎖のうちの一方もしくは両方の鎖がDNAとRNAとのキメラ核酸であってもよい。好ましくは二本鎖RNA（dsRNA）である。

[0130] 本発明の核酸複合体のアンチセンス鎖の5’末端から2番目のヌクレオチドは、標的CFB mRNA配列の3’末端から2番目のデオキシリボヌクレオチドと相補であることが好ましく、アンチセンス鎖の5’末端から2～7番目のヌクレオチドが、標的CFB mRNA配列の3’末端から2～7番目のデオキシリボヌクレオチドと完全に相補であることがより好ましく、アンチセンス鎖の5’末端から2～11番目のヌクレオチドが、標的CFB mRNA配列の3’末端から2～11番目のデオキシリボヌクレオチドと完全に相補であることがさらに好ましい。また、本発明の核酸におけるアンチセンス鎖の5’末端から11番目のヌクレオチドが、標的CFB mRNA配列の3’末端から11番目のデオキシリボヌクレオチドと相補であることが好ましく、アンチセンス鎖の5’末端から9～13番目のヌクレオチドが、標的CFB mRNA配列の3’末端から9～13番目のデオキシリボヌクレオ

チドと完全に相補であることがより好ましく、アンチセンス鎖の5’末端から7～15番目のヌクレオチドが、標的CFB mRNA配列の3’末端から7～15番目のデオキシリボヌクレオチドと完全に相補であることがさらに好ましい。

[0131] 本発明の核酸複合体のアンチセンス鎖およびセンス鎖は、例えば、Genbank Accession No.NM_000042として登録されているヒトCFBの完全長mRNAのcDNA（センス鎖）の塩基配列（配列番号3541)に基づいて設計することができる。

[0132] 二本鎖核酸は、CFB遺伝子配列内の標的配列と相互作用するように設計することができる。

[0133] 二本鎖核酸の1つの鎖の配列は、上記した標的部位配列に対して相補的である。二本鎖核酸は、本明細書に記述された方法を使用して、化学的に合成することができる。

[0134] RNAは、酵素的または部分/全有機合成によって生成してもよく、また修飾されたリボヌクレオチドは、インビトロで酵素的または有機合成によって導入することができる。一つの態様において、それぞれの鎖は、化学的に調製される。RNA分子を化学的に合成する方法は、当該技術分野において公知である[ヌクレイックアシッズリサーチ（Nucleic Acids Research）、1998年、第32巻、p.936-948参照]。一般に、二本鎖核酸は、固相オリゴヌクレオチド合成法を使用することによって合成することができる(たとえば、Usman et al.,米国特許第5,804,683号明細書;米国特許第5,831,071号明細書;米国特許第5,998,203号明細書;米国特許第6,117,657号明細書;米国特許第6,353,098号明細書;米国特許第6,362,323号明細書;米国特許第6,437,117号明細書;米国特許第6,469,158号明細書;Scaringe et al.,米国特許第6,111,086号明細書;米国特許第6,008,400号明細書;米国特許第6,111,086号明細書を参照)。

[0135] 一本鎖核酸は、固相ホスホロアミダイト法（ヌクレイックアシッズリサーチ（Nucleic Acids Research)、1993年、第30巻、p.2435-2443参照)を使用して合成され、脱保護され、およびNAP-5カラム(Amersham Pharmacia Biotech、Piscataway、NJ)上で脱塩される。オリゴマーは、15分工程のリニア勾配を使用するAmersham Source 15Qカラム-1.0cm。高さ.25 cm (Amersham Pharmac

ia Biotech、Piscataway、NJ)でのイオン交換高性能液体クロマトグラフィー(IE-HPLC)を使用して精製する。勾配は、90:10の緩衝液A:Bから52:48の緩衝液A:Bに変化し、緩衝液Aは100mmol/L Tris pH 8.5であり、および緩衝液Bは、100mmol/L Tris pH 8.5(1mol/LのNaCl)である。試料は、260nmにてモニターされ、全長オリゴヌクレオチド種に対応するピークは、収集され、プールされ、NAP-5カラムで脱塩され、および凍結乾燥される。

[0136] 各一本鎖核酸の純度は、Beckman PACE 5000(Beckman Coulter、Inc., Fullerton, Calif)でのキャピラリー電気泳動(CE)によって決定される。CEキャピラリーは、100μmの内径を有し、ssDNA 100R Gel(Beckman-Coulter)を含む。典型的には、約0.6nmoleのオリゴヌクレオチドをキャピラリーに注射して、444V/cmの電界において実行して、260nmにおけるUV吸光度によって検出される。変性トリス-ホウ酸-7mol/L-尿素泳動緩衝液は、Beckman-Coulterから購入する。以下に記述した実験に使用するための、CEによって評価すると少なくとも90%純粋である一本鎖核酸が得られる。化合物同一性は、製造業者の推奨プロトコルにしたがって、Voyager DE.TM.Biospectometryワークステーション(Applied Biosystems、Foster City,、Calif.)でのマトリックス支援レーザー脱離イオン化-飛行時間型(MALDI-TOF)質量分光法によって検証される。一本鎖核酸の相対的な分子質量は、予想される分子質量の0.2%以内で得ることができる。

[0137] 一本鎖核酸は、100mmol/L 酢酸カリウム、30mmol/L HEPES、pH 7.5からなる緩衝液中に100μmol/L濃度にて再懸濁させる。相補的センス鎖およびアンチセンス鎖を同等のモル量で混合して、50μmol/L二本鎖核酸の最終溶液を得る。試料を95℃まで5分間加熱して、使用前に室温に冷却させる。二本鎖核酸は、-20℃にて保存する。一本鎖核酸は、凍結乾燥させるか、またはヌクレアーゼフリー水中に、-80℃で貯蔵する。

[0138] 本発明におけるセンス鎖およびアンチセンス鎖からなり、少なくとも11個の塩基対の二重鎖領域を含み、該アンチセンス鎖中の、11個～30個のヌクレオチドの鎖長のオリゴヌクレオチド鎖において、表1-1～表1-3に記載された

群から選択される標的CFB mRNA配列と相補的な二本鎖核酸として、表1-1～表1-3に記載されたアンチセンス鎖からなる群から選択される配列を含む二本鎖核酸か、表M1-1～表M1-3、ならびに後述する表1-1～表1-3に記載されたセンス鎖からなる群から選択される配列を含む二本鎖核酸か、あるいは表M1-1～表M1-3、ならびに後述する表1-1～表1-3に記載のセンス鎖／アンチセンス鎖からなる群から選択される１対のセンス鎖／アンチセンス鎖の配列を含む二本鎖核酸を用いてよい。すなわち、本発明で用いられる核酸複合体を構成する二本鎖核酸の具体例は、表M1-1～表M1-3、ならびに後述する表1-1～表1-3中のセンス鎖およびアンチセンス鎖からなる二本鎖核酸である。なお、表M1-1～表M1-3中、N(M)は2’-O-メチル修飾RNA、N(F)は2’-フッ素修飾RNA、および ^ はホスホロチオエートを示す。また、表1-1～表1-3、および表M1-1～表M1-3に記載のアンチセンス鎖配列の5’末端ヌクレオチドは、5’末端においてリン酸化されていてもよく、リン酸化されていなくてもよいが、リン酸化されていることが好ましい。

後述する表1-1～表1-3に記載のセンス鎖／アンチセンス鎖の配列を含む二本鎖核酸は、0.1nM添加時のノックダウン活性の測定において、CFBの相対的発現量が0.40以下であるものが好ましい。

[0139]

[表1]

表M1-1

二本鎖核酸番号	配列番号	センス鎖配列 (5'--->3')	配列番号	アンチセンス鎖配列 (5'--->3')
EB0001	配列番号371	C(F)^U(M)^G(F)C(M)U(F)C(M)U(F)C(M)U(F)G(M)G(F)A(F)G(M)G(F)G(M)G(F)G(M)U(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号494	U(F)^C(M)^U(F)A(M)C(F)C(M)C(F)C(M)C(F)U(M)C(M)C(F)A(M)G(F)A(M)G(F)A(M)G(F)C(M)A(F)G(M)^G(F)^A(M)
EB0002	配列番号372	C(F)^U(M)^C(F)U(M)C(F)U(M)G(F)G(M)A(F)G(M)G(F)G(F)G(M)G(F)U(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)U(M)	配列番号495	A(F)^U(M)^C(F)U(M)C(F)U(M)A(F)C(M)C(F)C(M)C(M)C(F)U(M)C(F)C(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)G(M)^C(F)^A(M)
EB0003	配列番号373	U(F)^C(M)^U(F)G(M)G(F)A(M)G(F)G(M)G(F)G(M)G(F)U(F)A(M)G(F)A(M)G(F)A(M)U(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号496	U(F)^U(M)^G(F)A(M)U(F)C(M)U(F)C(M)U(F)A(M)C(M)C(F)C(M)C(F)C(M)U(F)C(M)C(F)A(M)G(F)A(M)^G(F)^A(M)
EB0004	配列番号374	C(F)^U(M)^G(F)G(M)A(F)G(M)G(F)G(M)G(F)G(M)U(F)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)A(M)	配列番号497	U(F)^U(M)^U(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)U(M)A(M)C(F)C(M)C(F)C(M)C(F)U(M)C(F)C(M)A(F)G(M)^A(F)^G(M)
EB0005	配列番号375	G(F)^G(M)^C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)C(M)G(F)A(F)C(M)U(F)U(M)C(F)U(M)C(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号498	U(F)^U(M)^G(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)G(F)U(M)C(M)G(F)G(M)A(F)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)C(F)C(M)^G(F)^C(M)
EB0006	配列番号376	C(F)^G(M)^U(F)G(M)U(F)G(M)U(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(F)U(M)G(F)G(M)C(F)U(M)U(F)C(M)U(F)A(M)	配列番号499	U(F)^A(M)^G(F)A(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)G(M)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)C(F)A(M)C(F)A(M)C(F)G(M)^U(F)^A(M)
EB0007	配列番号377	C(F)^U(M)^G(F)G(M)C(F)U(M)U(F)C(M)U(F)A(M)C(F)C(F)C(M)G(F)U(M)A(F)C(M)C(F)C(M)U(F)G(M)	配列番号500	C(F)^A(M)^G(F)G(M)G(F)U(M)A(F)C(M)G(F)G(M)G(M)U(F)A(M)G(F)A(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)G(M)^A(F)^A(M)
EB0008	配列番号378	U(F)^G(M)^G(F)C(M)U(F)U(M)C(F)U(M)A(F)C(M)C(F)C(F)G(M)U(F)A(M)C(F)C(M)C(F)U(M)G(F)U(M)	配列番号501	A(F)^C(M)^A(F)G(M)G(F)G(M)U(F)A(M)C(F)G(M)G(M)G(F)U(M)A(F)G(M)A(F)A(M)G(F)C(M)C(F)A(M)^G(F)^A(M)
EB0009	配列番号379	G(F)^A(M)^A(F)G(M)G(F)C(M)A(F)G(M)A(F)G(M)U(F)G(F)C(M)A(F)G(M)A(F)G(M)C(F)A(M)A(F)U(M)	配列番号502	A(F)^U(M)^U(F)G(M)C(F)U(M)C(F)U(M)G(F)C(M)A(M)C(F)U(M)C(F)U(M)G(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)^C(F)^U(M)
EB0010	配列番号380	G(F)^G(M)^C(F)C(M)C(F)C(M)G(F)G(M)U(F)C(M)U(F)C(F)C(M)C(F)U(M)A(F)C(M)U(F)A(M)C(F)A(M)	配列番号503	U(F)^G(M)^U(F)A(M)G(F)U(M)A(F)G(M)G(F)G(M)A(M)G(F)A(M)C(F)C(M)G(F)G(M)G(F)G(M)C(F)C(M)^A(F)^G(M)
EB0011	配列番号381	G(F)^C(M)^C(F)C(M)C(F)G(M)G(F)U(M)C(F)U(M)C(F)C(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)A(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号504	U(F)^U(M)^G(F)U(M)A(F)G(M)U(F)A(M)G(F)G(M)G(M)A(F)G(M)A(F)C(M)C(F)G(M)G(F)G(M)G(F)C(M)^C(F)^A(M)
EB0012	配列番号382	A(F)^A(M)^U(F)G(M)U(F)G(M)A(F)G(M)U(F)G(M)A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)U(M)	配列番号505	A(F)^G(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)A(M)U(M)C(F)A(M)C(F)U(M)C(F)A(M)C(F)A(M)U(F)U(M)^G(F)^U(M)
EB0013	配列番号383	A(F)^C(M)^G(F)G(M)U(F)U(M)A(F)C(M)A(F)C(M)U(F)C(F)U(M)C(F)C(M)G(F)G(M)G(F)G(M)C(F)U(M)	配列番号506	A(F)^G(M)^C(F)C(M)C(F)C(M)G(F)G(M)A(F)G(M)A(M)G(F)U(M)G(F)U(M)A(F)A(M)C(F)C(M)G(F)U(M)^C(F)^A(M)
EB0014	配列番号384	U(F)^C(M)^C(F)G(M)G(F)G(M)G(F)C(M)U(F)C(M)U(F)G(F)C(M)C(F)A(M)A(F)U(M)C(F)G(M)C(F)A(M)	配列番号507	U(F)^G(M)^C(F)G(M)A(F)U(M)U(F)G(M)G(F)C(M)A(M)G(F)A(M)G(F)C(M)C(F)C(M)C(F)G(M)G(F)A(M)^G(F)^A(M)
EB0015	配列番号385	C(F)^C(M)^G(F)G(M)G(F)G(M)C(F)U(M)C(F)U(M)G(F)C(F)C(M)A(F)A(M)U(F)C(M)G(F)C(M)A(F)C(M)	配列番号508	G(F)^U(M)^G(F)C(M)G(F)A(M)U(F)U(M)G(F)G(M)C(M)A(F)G(M)A(F)G(M)C(F)C(M)C(F)C(M)G(F)G(M)^A(F)^G(M)
EB0016	配列番号386	C(F)^C(M)^A(F)A(M)U(F)C(M)G(F)C(M)A(F)C(M)C(F)U(F)G(M)C(F)C(M)A(F)A(M)G(F)U(M)G(F)A(M)	配列番号509	U(F)^C(M)^A(F)C(M)U(F)U(M)G(F)G(M)C(F)A(M)G(M)G(F)U(M)G(F)C(M)G(F)A(M)U(F)U(M)G(F)G(M)^C(F)^A(M)
EB0017	配列番号387	C(F)^A(M)^A(F)U(M)C(F)G(M)C(F)A(M)C(F)C(M)U(F)G(F)C(M)C(F)A(M)A(F)G(M)U(F)G(M)A(F)A(M)	配列番号510	U(F)^U(M)^C(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)G(F)C(M)A(M)G(F)G(M)U(F)G(M)C(F)G(M)A(F)U(M)U(F)G(M)^G(F)^C(M)
EB0018	配列番号388	U(F)^G(M)^C(F)G(M)U(F)G(M)G(F)C(M)U(F)C(M)C(F)C(F)A(M)G(F)C(M)G(F)G(M)C(F)G(M)A(F)A(M)	配列番号511	U(F)^U(M)^C(F)G(M)C(F)C(M)G(F)C(M)U(F)G(M)G(M)G(F)A(M)G(F)C(M)C(F)A(M)C(F)G(M)C(F)A(M)^G(F)^G(M)
EB0019	配列番号389	C(F)^G(M)^G(F)G(M)A(F)C(M)G(F)G(M)A(F)G(M)C(F)C(F)U(M)U(F)C(M)C(F)U(M)G(F)C(M)C(F)A(M)	配列番号512	U(F)^G(M)^G(F)C(M)A(F)G(M)G(F)A(M)A(F)G(M)G(M)C(F)U(M)C(F)C(M)G(F)U(M)C(F)C(M)C(F)G(M)^C(F)^U(M)
EB0020	配列番号390	G(F)^G(M)^G(F)A(M)C(F)G(M)G(F)A(M)G(F)C(M)C(F)U(F)U(M)C(F)C(M)U(F)G(M)C(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号513	U(F)^U(M)^G(F)G(M)C(F)A(M)G(F)G(M)A(F)A(M)G(M)G(F)C(M)U(F)C(M)C(F)G(M)U(F)C(M)C(F)C(M)^G(F)^C(M)
EB0021	配列番号391	C(F)^G(M)^G(F)A(M)G(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)C(F)U(F)G(M)C(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)	配列番号514	A(F)^G(M)^U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)G(M)C(F)A(M)G(M)G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)C(M)U(F)C(M)C(F)G(M)^U(F)^C(M)
EB0022	配列番号392	A(F)^G(M)^C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)C(M)U(F)G(M)C(F)C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)C(M)U(F)G(M)C(F)U(M)	配列番号515	A(F)^G(M)^G(F)A(M)G(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)G(M)C(F)A(M)G(F)G(M)A(F)A(M)G(F)G(M)C(F)U(M)^C(F)^C(M)
EB0023	配列番号393	G(F)^C(M)^C(F)U(M)U(F)C(M)C(F)U(M)G(F)C(M)C(F)A(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(M)	配列番号516	A(F)^A(M)^G(F)G(M)A(F)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(M)G(F)C(M)A(F)G(M)G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)C(M)^U(F)^C(M)
EB0024	配列番号394	C(F)^U(M)^U(F)C(M)C(F)U(M)G(F)C(M)C(F)A(M)A(F)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)A(M)	配列番号517	U(F)^G(M)^A(F)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)U(F)C(M)U(M)U(F)G(M)G(F)C(M)A(F)G(M)G(F)A(M)A(F)G(M)^G(F)^C(M)
EB0025	配列番号395	U(F)^U(M)^C(F)C(M)U(F)G(M)C(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(F)C(M)U(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)A(F)U(M)	配列番号518	A(F)^U(M)^G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)G(F)U(M)C(M)U(F)U(M)G(F)G(M)C(F)A(M)G(F)G(M)A(F)A(M)^G(F)^G(M)
EB0026	配列番号396	C(F)^C(M)^U(F)G(M)C(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)	配列番号519	A(F)^C(M)^A(F)U(M)G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)G(M)C(F)A(M)G(F)G(M)^A(F)^A(M)
EB0027	配列番号397	C(F)^U(M)^G(F)C(M)C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)C(M)U(F)C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)A(M)U(F)G(M)U(F)A(M)	配列番号520	U(F)^A(M)^C(F)A(M)U(F)G(M)A(F)A(M)G(F)G(M)A(M)G(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)G(F)C(M)A(F)G(M)^G(F)^A(M)
EB0028	配列番号398	U(F)^G(M)^C(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(F)U(M)U(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)C(M)	配列番号521	G(F)^U(M)^A(F)C(M)A(F)U(M)G(F)A(M)A(F)G(M)G(M)A(F)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)G(M)C(F)A(M)^G(F)^G(M)
EB0029	配列番号399	C(F)^C(M)^A(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)C(M)G(F)A(M)	配列番号522	U(F)^C(M)^G(F)U(M)A(F)C(M)A(F)U(M)G(F)A(M)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)G(M)^C(F)^A(M)
EB0030	配列番号400	A(F)^A(M)^G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)C(M)G(F)A(M)C(F)A(M)	配列番号523	U(F)^G(M)^U(F)C(M)G(F)U(M)A(F)C(M)A(F)U(M)G(M)A(F)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)^G(F)^G(M)
EB0031	配列番号401	U(F)^C(M)^C(F)U(M)U(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)C(F)G(M)A(F)C(M)A(F)C(M)C(F)C(M)C(F)U(M)	配列番号524	A(F)^G(M)^G(F)G(M)G(F)U(M)G(F)U(M)C(F)G(M)U(M)A(F)C(M)A(F)U(M)G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)^G(F)^U(M)
EB0032	配列番号402	C(F)^A(M)^U(F)G(M)U(F)A(M)C(F)G(M)A(F)C(M)A(F)C(F)C(M)C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号525	U(F)^C(M)^U(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)G(F)G(M)U(M)G(F)U(M)C(F)G(M)U(F)A(M)C(F)A(M)U(F)G(M)^A(F)^A(M)
EB0033	配列番号403	C(F)^A(M)^C(F)C(M)C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(F)G(M)G(F)U(M)G(F)G(M)C(F)C(M)G(F)A(M)	配列番号526	U(F)^C(M)^G(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(F)U(M)C(M)U(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)G(F)G(M)U(F)G(M)^U(F)^C(M)
EB0034	配列番号404	C(F)^C(M)^C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)G(F)G(F)U(M)G(F)G(M)C(F)C(M)G(F)A(M)A(F)G(M)	配列番号527	C(F)^U(M)^U(F)C(M)G(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)C(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)G(F)G(M)^U(F)^G(M)
EB0035	配列番号405	C(F)^C(M)^C(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)G(F)U(F)G(M)G(F)C(M)C(F)G(M)A(F)A(M)G(F)C(M)	配列番号528	G(F)^C(M)^U(F)U(M)C(F)G(M)G(F)C(M)C(F)A(M)C(M)C(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)A(F)G(M)G(F)G(M)^G(F)^U(M)
EB0036	配列番号406	C(F)^U(M)^C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)G(M)G(F)U(M)G(F)G(F)C(M)C(F)G(M)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)U(M)	配列番号529	A(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)U(M)C(F)G(M)G(F)C(M)C(M)A(F)C(M)C(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)A(F)G(M)^G(F)^G(M)
EB0037	配列番号407	U(F)^C(M)^A(F)A(M)G(F)A(M)G(F)G(M)U(F)G(M)G(F)C(F)C(M)G(F)A(M)A(F)G(M)C(F)U(M)U(F)U(M)	配列番号530	A(F)^A(M)^A(F)G(M)C(F)U(M)U(F)C(M)G(F)G(M)C(M)C(F)A(M)C(F)C(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)A(M)^G(F)^G(M)
EB0038	配列番号408	A(F)^U(M)^C(F)U(M)A(F)C(M)C(F)U(M)G(F)G(M)U(F)G(F)C(M)U(F)A(M)G(F)A(M)U(F)G(M)G(F)A(M)	配列番号531	U(F)^C(M)^C(F)A(M)U(F)C(M)U(F)A(M)G(F)C(M)A(M)C(F)C(M)A(F)G(M)G(F)U(M)A(F)G(M)A(F)U(M)^G(F)^U(M)
EB0039	配列番号409	C(F)^U(M)^A(F)C(M)C(F)U(M)G(F)G(M)U(F)G(M)C(F)U(F)A(M)G(F)A(M)U(F)G(M)G(F)A(M)U(F)C(M)	配列番号532	G(F)^A(M)^U(F)C(M)C(F)A(M)U(F)C(M)U(F)A(M)G(M)C(F)A(M)C(F)C(M)A(F)G(M)G(F)U(M)A(F)G(M)^A(F)^U(M)
EB0040	配列番号410	U(F)^A(M)^C(F)C(M)U(F)G(M)G(F)U(M)G(F)C(M)U(F)A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(M)C(F)A(M)	配列番号533	U(F)^G(M)^A(F)U(M)C(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)A(M)G(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(M)G(F)G(M)U(F)A(M)^G(F)^A(M)
EB0041	配列番号411	A(F)^C(M)^C(F)U(M)G(F)G(M)U(F)G(M)C(F)U(M)A(F)G(F)A(M)U(F)G(M)G(F)A(M)U(F)C(M)A(F)G(M)	配列番号534	C(F)^U(M)^G(F)A(M)U(F)C(M)C(F)A(M)U(F)C(M)U(M)A(F)G(M)C(F)A(M)C(F)C(M)A(F)G(M)G(F)U(M)^A(F)^G(M)
EB0042	配列番号412	C(F)^C(M)^U(F)G(M)G(F)U(M)G(F)C(M)U(F)A(M)G(F)A(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(M)C(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号535	U(F)^C(M)^U(F)G(M)A(F)U(M)C(F)C(M)A(F)U(M)C(M)U(F)A(M)G(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(M)G(F)G(M)^U(F)^A(M)

[0140]

[表2]

表M1-2

二本鎖核酸番号	配列番号	センス鎖配列 (5'---->3')	配列番号	アンチセンス鎖配列 (5'---->3')
EB0043	配列番号413	C(F)^U(M)^G(F)G(M)U(F)G(M)C(F)U(M)A(F)G(M)A(F)U(F)G(M)G(F)A(M)U(F)C(M)A(F)G(M)A(F)C(M)	配列番号536	G(F)^U(M)^C(F)U(M)G(F)A(M)U(F)C(M)C(F)A(M)U(M)C(F)U(M)A(F)G(M)C(F)A(M)C(F)C(M)A(F)G(M)^G(F)^U(M)
EB0044	配列番号414	U(F)^G(M)^G(F)U(M)G(F)C(M)U(F)A(M)G(F)A(M)U(F)G(F)G(M)A(F)U(M)C(F)A(M)G(F)A(M)C(F)A(M)	配列番号537	U(F)^G(M)^U(F)C(M)U(F)G(M)A(F)U(M)C(F)C(M)A(M)U(F)C(M)U(F)A(M)G(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(M)^G(F)^G(M)
EB0045	配列番号415	G(F)^G(M)^U(F)G(M)C(F)U(M)A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)G(F)A(M)U(F)C(M)A(F)G(M)A(F)C(M)A(F)G(M)	配列番号538	C(F)^U(M)^G(F)U(M)C(F)U(M)G(F)A(M)U(F)C(M)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)A(F)G(M)C(F)A(M)C(F)C(M)^A(F)^G(M)
EB0046	配列番号416	U(F)^G(M)^C(F)U(M)A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(F)C(M)A(F)G(M)A(F)C(M)A(F)G(M)C(F)A(M)	配列番号539	U(F)^G(M)^C(F)U(M)G(F)U(M)C(F)U(M)G(F)A(M)U(M)C(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)A(F)G(M)C(F)A(M)^C(F)^C(M)
EB0047	配列番号417	A(F)^G(M)^G(F)A(M)G(F)C(M)C(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(F)G(M)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)A(M)G(F)U(M)	配列番号540	A(F)^C(M)^U(F)A(M)G(F)A(M)C(F)A(M)C(F)U(M)U(M)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)C(M)U(F)C(M)C(F)U(M)^G(F)^U(M)
EB0048	配列番号418	G(F)^G(M)^A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)A(M)A(F)A(M)A(F)G(F)U(M)G(F)U(M)C(F)U(M)A(F)G(M)U(F)C(M)	配列番号541	G(F)^A(M)^C(F)U(M)A(F)G(M)A(F)C(M)A(F)C(M)U(M)U(F)U(M)U(F)U(M)G(F)G(M)C(F)U(M)C(F)C(M)^U(F)^G(M)
EB0049	配列番号419	A(F)^A(M)^A(F)A(M)G(F)U(M)G(F)U(M)C(F)U(M)A(F)G(F)U(M)C(F)A(M)A(F)C(M)U(F)U(M)A(F)A(M)	配列番号542	U(F)^U(M)^A(F)A(M)G(F)U(M)U(F)G(M)A(F)C(M)U(M)A(F)G(M)A(F)C(M)A(F)C(M)U(F)U(M)U(F)U(M)^U(F)^G(M)
EB0050	配列番号420	G(F)^U(M)^G(F)U(M)C(F)U(M)A(F)G(M)U(F)C(M)A(F)A(F)C(M)U(F)U(M)A(F)A(M)U(F)U(M)G(F)A(M)	配列番号543	U(F)^C(M)^A(F)A(M)U(F)U(M)A(F)A(M)G(F)U(M)U(M)G(F)A(M)C(F)U(M)A(F)G(M)A(F)C(M)A(F)C(M)^U(F)^U(M)
EB0051	配列番号421	U(F)^U(M)^A(F)A(M)U(F)U(M)G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)G(F)G(M)U(F)G(M)G(F)C(M)A(F)A(M)G(F)U(M)	配列番号544	A(F)^C(M)^U(F)U(M)G(F)C(M)C(F)A(M)C(F)C(M)U(M)U(F)C(M)U(F)C(M)A(F)A(M)U(F)U(M)A(F)A(M)^G(F)^U(M)
EB0052	配列番号422	A(F)^U(M)^U(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)G(F)G(M)U(F)G(F)G(M)C(F)A(M)A(F)G(M)U(F)U(M)A(F)U(M)	配列番号545	A(F)^U(M)^A(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)C(F)C(M)A(M)C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)U(M)C(F)A(M)A(F)U(M)^U(F)^A(M)
EB0053	配列番号423	U(F)^U(M)^G(F)A(M)G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)U(M)G(F)G(F)C(M)A(F)A(M)G(F)U(M)U(F)A(M)U(F)G(M)	配列番号546	C(F)^A(M)^U(F)A(M)A(F)C(M)U(F)U(M)G(F)C(M)C(M)A(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)U(F)C(M)A(F)A(M)^U(F)^U(M)
EB0054	配列番号424	U(F)^G(M)^A(F)A(M)A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)U(M)U(F)A(F)U(M)G(F)A(M)A(F)G(M)A(F)C(M)C(F)A(M)	配列番号547	U(F)^G(M)^G(F)U(M)C(F)U(M)U(F)C(M)A(F)U(M)A(M)A(F)U(M)U(F)G(M)A(F)U(M)U(F)U(M)C(F)A(M)^U(F)^U(M)
EB0055	配列番号425	A(F)^A(M)^U(F)C(M)A(F)A(M)U(F)U(M)A(F)U(M)G(F)A(F)A(M)G(F)A(M)C(F)C(M)A(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号548	U(F)^U(M)^G(F)U(M)G(F)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)C(M)A(F)U(M)A(F)A(M)U(F)U(M)G(F)A(M)U(F)U(M)^U(F)^C(M)
EB0056	配列番号426	A(F)^U(M)^C(F)A(M)A(F)U(M)U(F)A(M)U(F)G(M)A(F)A(F)G(M)A(F)C(M)C(F)A(M)C(F)A(M)A(F)G(M)	配列番号549	C(F)^U(M)^U(F)G(M)U(F)G(M)G(F)U(M)C(F)U(M)U(M)C(F)A(M)U(F)A(M)A(F)U(M)U(F)G(M)A(F)U(M)^U(F)^U(M)
EB0057	配列番号427	A(F)^U(M)^U(F)A(M)U(F)G(M)A(F)A(M)G(F)A(M)C(F)C(F)A(M)C(F)A(M)A(F)G(M)U(F)U(M)G(F)A(M)	配列番号550	U(F)^C(M)^A(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)G(M)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)C(F)A(M)U(F)A(M)A(F)U(M)^U(F)^G(M)
EB0058	配列番号428	U(F)^U(M)^A(F)U(M)G(F)A(M)A(F)G(M)A(F)C(M)C(F)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)U(M)U(F)G(M)A(F)A(M)	配列番号551	U(F)^U(M)^C(F)A(M)A(F)C(M)U(F)U(M)G(F)U(M)G(M)G(F)U(M)C(F)U(M)U(F)C(M)A(F)U(M)A(F)A(M)^U(F)^U(M)
EB0059	配列番号429	G(F)^A(M)^A(F)G(M)A(F)C(M)C(F)A(M)C(F)A(M)A(F)G(F)U(M)U(F)G(M)A(F)A(M)G(F)U(M)C(F)A(M)	配列番号552	U(F)^G(M)^A(F)C(M)U(F)U(M)C(F)A(M)A(F)C(M)U(M)U(F)G(M)U(F)G(M)G(F)U(M)C(F)U(M)U(F)C(M)^A(F)^U(M)
EB0060	配列番号430	A(F)^A(M)^G(F)A(M)C(F)C(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)U(F)U(M)G(F)A(M)A(F)G(M)U(F)C(M)A(F)G(M)	配列番号553	C(F)^U(M)^G(F)A(M)C(F)U(M)U(F)C(M)A(F)A(M)C(M)U(F)U(M)G(F)U(M)G(F)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)^C(F)^A(M)
EB0061	配列番号431	A(F)^C(M)^C(F)A(M)C(F)A(M)A(F)G(M)U(F)U(M)G(F)A(F)A(M)G(F)U(M)C(F)A(M)G(F)G(M)G(F)A(M)	配列番号554	U(F)^C(M)^C(F)C(M)U(F)G(M)A(F)C(M)U(F)U(M)C(M)A(F)A(M)C(F)U(M)U(F)G(M)U(F)G(M)G(F)U(M)^C(F)^U(M)
EB0062	配列番号432	U(F)^G(M)^A(F)A(M)G(F)U(M)C(F)A(M)G(F)G(M)G(F)A(F)C(M)U(F)A(M)A(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(M)	配列番号555	U(F)^G(M)^G(F)U(M)G(F)U(M)U(F)A(M)G(F)U(M)C(M)C(F)C(M)U(F)G(M)A(F)C(M)U(F)U(M)C(F)A(M)^A(F)^C(M)
EB0063	配列番号433	G(F)^A(M)^A(F)G(M)U(F)C(M)A(F)G(M)G(F)G(M)A(F)C(F)U(M)A(F)A(M)C(F)A(M)C(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号556	U(F)^U(M)^G(F)G(M)U(F)G(M)U(F)U(M)A(F)G(M)U(M)C(F)C(M)C(F)U(M)G(F)A(M)C(F)U(M)U(F)C(M)^A(F)^A(M)
EB0064	配列番号434	A(F)^A(M)^G(F)U(M)C(F)A(M)G(F)G(M)G(F)A(M)C(F)U(F)A(M)A(F)C(M)A(F)C(M)C(F)A(M)A(F)G(M)	配列番号557	C(F)^U(M)^U(F)G(M)G(F)U(M)G(F)U(M)U(F)A(M)G(M)U(F)C(M)C(F)C(M)U(F)G(M)A(F)C(M)U(F)U(M)^C(F)^A(M)
EB0065	配列番号435	A(F)^G(M)^U(F)C(M)A(F)G(M)G(F)G(M)A(F)C(M)U(F)A(F)A(M)C(F)A(M)C(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号558	U(F)^C(M)^U(F)U(M)G(F)G(M)U(F)G(M)U(F)U(M)A(M)G(F)U(M)C(F)C(M)U(F)G(M)A(F)C(M)C(F)A(M)^G(F)^U(M)
EB0066	配列番号436	U(F)^C(M)^A(F)U(M)U(F)G(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)A(F)U(M)C(F)C(M)G(F)G(M)G(F)A(M)C(F)U(M)	配列番号559	A(F)^G(M)^U(F)C(M)C(F)C(M)G(F)G(M)A(F)U(M)C(M)U(F)C(M)A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)U(M)G(F)A(M)^C(F)^A(M)
EB0067	配列番号437	C(F)^U(M)^G(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)C(F)U(M)A(F)U(F)G(M)U(F)G(M)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)G(M)	配列番号560	C(F)^C(M)^C(F)A(M)A(F)A(M)C(F)A(M)C(F)A(M)U(M)A(F)G(M)A(F)C(M)A(F)U(M)C(F)C(M)A(F)G(M)^A(F)^U(M)
EB0068	配列番号438	A(F)^C(M)^A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)U(M)G(F)C(M)U(F)U(F)U(M)G(F)G(M)C(F)U(M)U(F)C(M)C(F)A(M)	配列番号561	U(F)^G(M)^G(F)A(M)A(F)G(M)C(F)C(M)A(F)A(M)A(M)G(F)C(M)A(F)U(M)U(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)^U(F)^C(M)
EB0069	配列番号439	C(F)^A(M)^U(F)C(M)A(F)A(M)U(F)G(M)C(F)U(M)U(F)U(F)G(M)G(F)C(M)U(F)U(M)C(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号562	U(F)^U(M)^G(F)U(M)G(F)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)C(M)A(F)U(M)A(F)A(M)U(F)U(M)G(F)A(M)U(F)U(M)^U(F)^C(M)
EB0070	配列番号440	A(F)^G(M)^A(F)C(M)A(F)A(M)U(F)G(M)A(F)G(M)C(F)A(F)A(M)C(F)A(M)U(F)G(M)U(F)G(M)U(F)U(M)	配列番号563	A(F)^A(M)^C(F)A(M)C(F)A(M)U(F)G(M)U(F)U(M)G(M)C(F)U(M)C(F)A(M)U(F)U(M)G(F)U(M)C(F)U(M)^U(F)^U(M)
EB0071	配列番号441	G(F)^A(M)^C(F)A(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)C(M)A(F)A(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)G(F)U(M)U(F)C(M)	配列番号564	G(F)^A(M)^A(F)C(M)A(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)U(M)G(F)C(M)U(F)C(M)A(F)U(M)U(F)G(M)U(F)C(M)A(F)U(M)^U(F)^G(M)
EB0072	配列番号442	U(F)^G(M)^A(F)G(M)C(F)A(M)A(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)A(M)A(F)A(M)G(F)U(M)	配列番号565	A(F)^C(M)^U(F)U(M)U(F)G(M)A(F)A(M)C(F)A(M)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)U(F)G(M)C(F)U(M)C(F)A(M)^U(F)^U(M)
EB0073	配列番号443	A(F)^C(M)^A(F)U(M)G(F)U(M)G(F)U(M)U(F)C(M)A(F)A(F)A(M)G(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)	配列番号566	U(F)^C(M)^C(F)U(M)U(F)G(M)A(F)C(M)U(F)U(M)U(M)G(F)A(M)A(F)C(M)A(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)^U(F)^G(M)
EB0074	配列番号444	C(F)^A(M)^U(F)G(M)U(F)G(M)U(F)U(M)C(F)A(M)A(F)A(F)G(M)U(F)C(M)A(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(M)	配列番号567	A(F)^U(M)^C(F)C(M)U(F)U(M)G(F)A(M)C(F)U(M)U(M)U(F)G(M)A(F)A(M)C(F)A(M)C(F)A(M)U(F)G(M)^U(F)^U(M)
EB0075	配列番号445	U(F)^U(M)^C(F)A(M)A(F)A(M)G(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(F)G(M)A(F)U(M)A(F)U(M)G(F)G(M)A(F)A(M)	配列番号568	U(F)^U(M)^C(F)C(M)A(F)U(M)A(F)U(M)C(F)C(M)U(M)U(F)G(M)A(F)C(M)U(F)U(M)U(F)G(M)A(F)A(M)^C(F)^A(M)
EB0076	配列番号446	A(F)^G(M)^U(F)C(M)U(F)C(M)U(F)G(M)A(F)G(M)U(F)C(F)U(M)G(F)U(M)G(F)G(M)C(F)A(M)	配列番号569	U(F)^G(M)^C(F)C(M)A(F)G(M)U(F)G(M)A(F)C(M)U(M)C(F)C(M)G(F)A(M)C(F)U(M)G(F)A(M)^G(F)^G(M)
EB0077	配列番号447	G(F)^U(M)^C(F)U(M)C(F)U(M)G(F)A(M)G(F)U(M)C(F)U(F)C(M)U(F)G(M)U(F)G(M)G(F)C(M)A(F)U(M)	配列番号570	A(F)^U(M)^G(F)C(M)C(F)A(M)C(F)A(M)G(F)A(M)G(M)A(F)C(M)U(F)C(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)C(M)^U(F)^G(M)
EB0078	配列番号448	U(F)^C(M)^U(F)C(M)U(F)G(M)U(F)G(M)G(F)C(M)A(F)U(F)G(M)G(F)U(M)U(F)U(M)G(F)G(M)G(F)A(M)	配列番号571	U(F)^C(M)^C(F)C(M)A(F)A(M)A(F)C(M)C(F)A(M)U(M)U(F)G(M)C(F)C(M)A(F)C(M)U(F)G(M)A(F)C(M)^C(F)^U(M)
EB0079	配列番号449	A(F)^C(M)^A(F)A(M)G(F)C(M)A(F)A(M)C(F)C(M)A(F)U(F)G(M)G(F)C(M)A(F)G(M)G(F)C(M)C(F)A(M)	配列番号572	U(F)^G(M)^G(F)C(M)C(F)U(M)G(F)C(M)C(F)A(M)U(M)G(F)G(M)U(F)U(M)G(F)C(M)U(F)U(M)G(F)U(M)^G(F)^G(M)
EB0080	配列番号450	A(F)^G(M)^C(F)A(M)A(F)C(M)C(F)A(M)U(F)G(M)G(F)C(F)A(M)G(F)G(M)C(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号573	U(F)^C(M)^U(F)U(M)G(F)G(M)C(F)C(M)U(F)G(M)C(M)C(F)A(M)U(F)U(M)G(F)G(M)U(F)U(M)C(F)A(M)^U(F)^G(M)
EB0081	配列番号451	A(F)^A(M)^C(F)C(M)A(F)U(M)G(F)G(M)C(F)A(M)G(F)G(F)C(M)C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)	配列番号574	A(F)^G(M)^A(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)G(F)C(M)C(M)U(F)G(M)C(F)C(M)A(F)U(M)G(F)G(M)U(F)U(M)^G(F)^C(M)
EB0082	配列番号452	C(F)^C(M)^A(F)U(M)G(F)G(M)C(F)A(M)G(F)G(M)C(F)C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)A(M)	配列番号575	U(F)^G(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)G(M)C(F)C(M)U(F)G(M)C(F)C(M)A(F)U(M)G(F)G(M)^U(F)^U(M)
EB0083	配列番号453	A(F)^U(M)^G(F)G(M)C(F)A(M)G(F)G(M)C(F)C(M)A(F)A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)A(M)G(F)U(M)	配列番号576	A(F)^C(M)^U(F)G(M)A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)U(M)G(F)G(M)C(F)C(M)U(F)G(M)C(F)C(M)A(F)U(M)^G(F)^G(M)
EB0084	配列番号454	G(F)^G(M)^G(F)C(M)U(F)G(M)U(F)G(M)G(F)U(M)G(F)U(F)C(M)U(F)G(M)A(F)G(M)U(F)A(M)C(F)U(M)	配列番号577	A(F)^G(M)^U(F)A(M)C(F)U(M)C(F)A(M)G(F)A(M)C(M)A(F)C(M)C(F)A(M)C(F)A(M)G(F)C(M)C(F)C(M)^C(F)^C(M)
EB0085	配列番号455	A(F)^A(M)^G(F)C(M)G(F)G(M)G(F)A(M)C(F)C(M)U(F)G(F)G(M)A(F)G(M)A(F)U(M)A(F)G(M)A(F)A(M)	配列番号578	U(F)^U(M)^C(F)U(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)C(M)A(M)G(F)G(M)U(F)C(M)C(F)C(M)G(F)C(M)U(F)C(M)^C(F)^U(M)

[0141]

[表3]

表M1-3

二本鎖核酸番号	配列番号	センス鎖配列 (5'--->3')	配列番号	アンチセンス鎖配列 (5'--->3')
EB0086	配列番号456	A(F)^A(M)^G(F)A(M)A(F)G(M)C(F)A(M)G(F)G(M)A(F)A(F)U(M)U(F)C(M)C(F)U(M)G(F)A(M)A(F)U(M)	配列番号579	A(F)^U(M)^U(F)C(M)A(F)G(M)G(F)A(M)A(F)U(M)U(M)C(F)C(M)U(F)G(M)C(F)U(M)U(F)C(M)U(F)U(M)^U(F)^U(M)
EB0087	配列番号457	G(F)^A(M)^A(F)U(M)U(F)C(M)C(F)U(M)G(F)A(M)A(F)U(F)U(M)U(F)U(M)A(F)U(M)G(F)A(M)C(F)U(M)	配列番号580	A(F)^G(M)^U(F)C(M)A(F)U(M)A(F)A(M)A(F)A(M)U(M)U(F)C(M)A(F)G(M)G(F)A(M)A(F)U(M)U(F)C(M)^C(F)^U(M)
EB0088	配列番号458	U(F)^U(M)^G(F)C(M)C(F)C(M)U(F)G(M)A(F)U(M)C(F)A(F)A(M)G(F)C(M)U(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号581	U(F)^C(M)^U(F)U(M)G(F)A(M)G(F)C(M)U(F)U(M)G(M)A(F)U(M)C(F)A(M)G(F)G(M)G(F)C(M)A(F)A(M)^C(F)^G(M)
EB0089	配列番号459	C(F)^A(M)^G(F)G(M)C(F)C(M)C(F)A(M)U(F)U(M)U(F)G(F)U(M)C(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)U(F)G(M)	配列番号582	C(F)^A(M)^G(F)G(M)G(F)G(M)A(F)G(M)A(F)C(M)A(M)A(F)A(M)U(F)G(M)G(F)G(M)C(F)C(M)U(F)G(M)^A(F)^U(M)
EB0090	配列番号460	C(F)^U(M)^C(F)G(M)G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)G(F)G(F)U(M)C(F)U(M)A(F)C(M)A(F)U(M)C(F)A(M)	配列番号583	U(F)^G(M)^A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)G(M)A(F)C(M)C(M)U(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)C(F)G(M)A(F)G(M)^U(F)^C(M)
EB0091	配列番号461	U(F)^C(M)^G(F)G(M)A(F)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)G(F)U(F)C(M)U(F)A(M)C(F)A(M)U(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号584	U(F)^U(M)^G(F)A(M)U(F)G(M)U(F)A(M)G(F)A(M)C(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)C(M)G(F)A(M)^G(F)^U(M)
EB0092	配列番号462	C(F)^G(M)^G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)G(F)G(M)U(F)C(F)U(M)A(F)C(M)A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(M)	配列番号585	C(F)^U(M)^U(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)G(M)A(M)C(F)C(M)U(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)C(F)G(M)^A(F)^G(M)
EB0093	配列番号463	G(F)^G(M)^A(F)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)G(F)U(M)C(F)U(F)A(M)C(F)A(M)U(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号586	U(F)^C(M)^U(F)U(M)G(F)A(M)U(F)G(M)U(F)A(M)G(M)A(F)C(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)C(M)^G(F)^A(M)
EB0094	配列番号464	G(F)^A(M)^A(F)G(M)G(F)A(M)G(F)G(M)U(F)C(M)U(F)A(F)C(M)A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)A(M)	配列番号587	U(F)^U(M)^C(F)U(M)U(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)A(M)G(F)A(M)C(F)C(M)U(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)^C(F)^G(M)
EB0095	配列番号465	A(F)^A(M)^G(F)G(M)A(F)G(M)G(F)U(M)C(F)U(M)A(F)C(F)A(M)U(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)U(M)	配列番号588	A(F)^U(M)^U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)A(M)U(F)G(M)U(M)A(F)G(M)A(F)C(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(M)^C(F)^C(M)
EB0096	配列番号466	C(F)^U(M)^A(F)C(M)A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)A(F)U(M)G(F)G(M)G(F)G(M)A(F)U(M)A(F)A(M)	配列番号589	U(F)^U(M)^A(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(F)U(M)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)G(M)^A(F)^C(M)
EB0097	配列番号467	U(F)^A(M)^C(F)A(M)U(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)U(F)G(M)G(F)G(M)G(F)A(M)U(F)A(M)A(F)G(M)	配列番号590	C(F)^U(M)^U(F)A(M)U(F)C(M)C(F)C(M)C(F)A(M)U(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)A(M)U(F)G(M)U(F)A(M)^G(F)^A(M)
EB0098	配列番号468	A(F)^C(M)^A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)A(M)U(F)G(F)G(M)G(F)G(M)A(F)U(M)A(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号591	U(F)^C(M)^U(F)U(M)A(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)^A(F)^G(M)
EB0099	配列番号469	C(F)^A(M)^U(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)U(M)G(F)G(F)G(M)G(F)A(M)U(F)A(M)A(F)G(M)A(F)A(M)	配列番号592	U(F)^U(M)^C(F)U(M)U(F)A(M)U(F)C(M)C(F)C(M)G(M)A(F)U(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)A(M)U(F)G(M)^U(F)^A(M)
EB0100	配列番号470	A(F)^U(M)^C(F)A(M)A(F)G(M)A(F)A(M)U(F)G(M)G(F)G(F)G(M)A(F)U(M)A(F)A(M)G(F)A(M)A(F)A(M)	配列番号593	U(F)^U(M)^U(F)C(M)U(F)U(M)A(F)U(M)C(F)C(M)C(M)C(F)A(M)U(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)A(F)U(M)^G(F)^U(M)
EB0101	配列番号471	G(F)^C(M)^A(F)G(M)C(F)U(M)G(F)U(M)G(F)A(M)G(F)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)C(M)U(F)C(M)	配列番号594	G(F)^A(M)^G(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)U(M)C(M)U(F)C(M)A(F)C(M)A(F)G(M)C(F)U(M)G(F)C(M)^C(F)^U(M)
EB0102	配列番号472	G(F)^C(M)^U(F)G(M)U(F)G(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)G(F)A(M)U(F)G(M)C(F)U(M)C(F)A(M)A(F)U(M)	配列番号595	A(F)^U(M)^U(F)G(M)A(F)G(M)C(F)A(M)U(F)C(M)U(M)C(F)U(M)C(F)A(M)C(F)A(M)G(F)C(M)^U(F)^G(M)
EB0103	配列番号473	G(F)^A(M)^G(F)U(M)C(F)C(M)C(F)U(M)A(F)U(M)G(F)C(F)U(M)G(F)A(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号596	U(F)^U(M)^G(F)G(M)G(F)G(M)U(F)C(M)A(F)G(M)C(M)A(F)U(M)A(F)G(M)G(F)G(M)A(F)C(M)U(F)C(M)^A(F)^C(M)
EB0104	配列番号474	A(F)^G(M)^U(F)C(M)C(F)C(M)U(F)A(M)U(F)G(M)C(F)U(F)G(M)A(F)C(M)C(F)C(M)C(F)A(M)A(F)U(M)	配列番号597	A(F)^U(M)^U(F)G(M)G(F)G(M)G(F)U(M)C(F)A(M)G(M)C(F)A(M)U(F)A(M)G(F)G(M)G(F)A(M)C(F)U(M)^C(F)^A(M)
EB0105	配列番号475	G(F)^U(M)^C(F)C(M)C(F)U(M)A(F)U(M)G(F)C(M)U(F)G(F)A(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(F)A(M)U(F)A(M)	配列番号598	U(F)^A(M)^U(F)U(M)G(F)G(M)G(F)G(M)U(F)C(M)A(M)G(F)C(M)A(F)U(M)A(F)G(M)G(F)G(M)A(F)C(M)^U(F)^C(M)
EB0106	配列番号476	G(F)^C(M)^C(F)C(M)C(F)U(M)U(F)G(M)A(F)U(M)A(F)G(F)U(M)U(F)C(M)A(F)C(M)A(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号599	U(F)^C(M)^U(F)U(M)G(F)U(M)G(F)A(M)A(F)C(M)U(M)A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(M)G(F)G(M)G(F)C(M)^C(F)^G(M)
EB0107	配列番号477	G(F)^A(M)^U(F)A(M)G(F)U(M)U(F)C(M)A(F)C(M)A(F)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)G(F)U(M)C(F)G(M)	配列番号600	C(F)^G(M)^A(F)C(M)U(F)U(M)C(F)U(M)C(F)U(M)U(M)G(F)U(M)G(F)A(M)A(F)C(M)U(F)A(M)U(F)C(M)^A(F)^A(M)
EB0108	配列番号478	U(F)^C(M)^G(F)U(M)U(F)U(M)C(F)A(M)U(F)U(M)C(F)A(F)A(M)G(F)U(M)U(F)G(M)G(F)U(M)G(F)U(M)	配列番号601	A(F)^C(M)^A(F)C(M)C(F)A(M)A(F)C(M)U(F)U(M)G(M)A(F)A(M)U(F)G(M)A(F)A(M)A(F)C(M)G(F)A(M)^C(F)^U(M)
EB0109	配列番号479	A(F)^U(M)^C(F)A(M)G(F)C(M)U(F)G(M)G(F)G(M)G(F)A(F)G(M)U(F)A(M)G(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(M)	配列番号602	A(F)^U(M)^C(F)C(M)A(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)C(M)U(F)C(M)C(F)A(M)G(F)C(M)U(F)G(M)A(F)U(M)^U(F)^A(M)
EB0110	配列番号480	C(F)^A(M)^G(F)C(M)U(F)G(M)G(F)G(M)G(F)A(M)G(F)U(F)A(M)G(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)	配列番号603	A(F)^C(M)^A(F)U(M)C(F)C(M)A(F)C(M)U(F)A(M)C(M)U(F)C(M)C(F)C(M)C(F)A(M)G(F)C(M)U(F)G(M)^A(F)^U(M)
EB0111	配列番号481	A(F)^G(M)^C(F)U(M)G(F)G(M)G(F)G(M)A(F)G(M)U(F)A(F)G(M)U(F)G(M)G(F)A(M)U(F)G(M)U(F)C(M)	配列番号604	G(F)^A(M)^C(F)A(M)U(F)C(M)C(F)A(M)C(F)U(M)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(F)G(M)C(F)U(M)^G(F)^A(M)
EB0112	配列番号482	G(F)^C(M)^U(F)G(M)G(F)G(M)G(F)A(M)G(F)U(M)A(F)G(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)C(F)U(M)	配列番号605	A(F)^G(M)^A(F)C(M)A(F)U(M)C(F)C(M)A(F)C(M)U(M)A(F)C(M)U(F)C(M)C(F)C(M)C(F)A(M)G(F)C(M)^U(F)^G(M)
EB0113	配列番号483	C(F)^U(M)^G(F)G(M)G(F)G(M)A(F)G(M)U(F)A(M)G(F)U(F)G(M)G(F)A(M)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)G(M)	配列番号606	C(F)^A(M)^G(F)A(M)C(F)A(M)U(F)C(M)C(F)A(M)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)A(F)G(M)^C(F)^U(M)
EB0114	配列番号484	U(F)^G(M)^G(F)G(M)G(F)A(M)G(F)U(M)A(F)G(M)U(F)G(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)C(F)U(M)G(F)C(M)	配列番号607	G(F)^C(M)^A(F)G(M)A(F)C(M)A(F)U(M)C(F)C(M)A(M)C(F)U(M)A(F)C(M)U(F)C(M)C(F)C(M)C(F)A(M)^G(F)^C(M)
EB0115	配列番号485	G(F)^G(M)^G(F)G(M)A(F)G(M)U(F)A(M)G(F)U(M)G(F)G(F)A(M)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)G(M)C(F)A(M)	配列番号608	U(F)^G(M)^C(F)A(M)G(F)A(M)C(F)A(M)U(F)C(M)G(M)A(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)C(F)C(M)^A(F)^G(M)
EB0116	配列番号486	G(F)^G(M)^G(F)A(M)G(F)U(M)A(F)G(M)U(F)G(M)G(F)A(F)U(M)G(F)U(M)C(F)U(M)G(F)C(M)A(F)A(M)	配列番号609	U(F)^U(M)^G(F)C(M)A(F)G(M)A(F)C(M)A(F)U(M)C(M)C(F)A(M)C(F)U(M)A(F)C(M)U(F)C(M)C(F)C(M)^C(F)^A(M)
EB0117	配列番号487	G(F)^G(M)^A(F)G(M)U(F)A(M)G(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)G(M)C(F)A(M)A(F)A(M)	配列番号610	U(F)^U(M)^U(F)G(M)C(F)A(M)G(F)A(M)C(F)A(M)U(M)C(F)C(M)A(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)^C(F)^C(M)
EB0118	配列番号488	U(F)^G(M)^C(F)U(M)G(F)C(M)C(F)C(M)U(F)G(M)G(F)C(F)U(M)G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)G(F)A(M)	配列番号611	U(F)^C(M)^U(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)A(F)G(M)C(M)C(F)A(M)G(F)G(M)G(F)C(M)A(F)G(M)C(F)A(M)^C(F)^U(M)
EB0119	配列番号489	G(F)^C(M)^U(F)G(M)C(F)C(M)C(F)U(M)G(F)G(M)C(F)U(F)G(M)A(F)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)A(F)A(M)	配列番号612	U(F)^U(M)^C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)A(M)G(M)C(F)C(M)A(F)G(M)C(F)A(M)G(F)C(M)^A(F)^C(M)
EB0120	配列番号490	C(F)^C(M)^A(F)A(M)G(F)A(M)U(F)G(M)A(F)G(M)G(F)A(F)U(M)U(F)U(M)G(F)G(M)G(F)U(M)U(F)U(M)	配列番号613	A(F)^A(M)^A(F)C(M)C(F)C(M)A(F)A(M)A(F)U(M)C(M)C(F)U(M)C(F)A(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)G(M)^A(F)^G(M)
EB0121	配列番号491	C(F)^A(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)G(M)U(F)U(M)U(F)U(M)	配列番号614	A(F)^A(M)^A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)A(F)A(M)U(M)C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)^G(F)^A(M)
EB0122	配列番号492	A(F)^A(M)^G(F)A(M)U(F)G(M)A(F)G(M)G(F)A(M)U(F)U(F)U(M)G(F)G(M)G(F)U(M)U(F)U(M)U(F)C(M)	配列番号615	G(F)^A(M)^A(F)A(M)A(F)C(M)C(F)C(M)A(F)A(M)A(M)U(F)C(M)C(F)U(M)C(F)A(M)U(F)C(M)U(F)U(M)^G(F)^G(M)
EB0123	配列番号493	A(F)^G(M)^A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(M)U(F)U(F)G(M)G(F)G(M)U(F)U(M)U(F)G(M)C(F)U(M)	配列番号616	A(F)^G(M)^A(F)A(M)A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)A(M)A(F)U(M)C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)U(M)^U(F)^G(M)

[0142] [表4]

二本鎖核酸番号	配列番号	センス鎖配列 (5'--->3')	配列番号	アンチセンス鎖配列 (5'--->3')
EB0124	配列番号617	A(M)^A(M)^U(M)G(M)U(M)G(M)A(F)G(M)U(F)G(M)A(F)U(F)G(M)A(M)G(M)A(M)U(M)C(M)U(M)C(M)U(M)	配列番号619	A(M)^G(F)^A(F)G(F)A(F)U(F)C(F)U(F)C(F)A(M)U(M)C(F)A(M)C(F)U(M)C(F)A(F)C(F)A(F)U(F)U(F)^G(F)^U(M)
EB0125	配列番号618	C(M)^A(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)G(M)U(M)U(M)U(M)U(M)	配列番号620	A(M)^A(F)^A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)A(F)A(M)U(M)C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)U(M)G(M)^G(M)^A(M)

[0143] 本発明の核酸複合体の製造法について説明する。なお、以下に示す製造法

において、定義した基が該製造法の条件下で変化するかまたは該製造法を実施するのに不適切な場合、有機合成化学で常用される保護基の導入および除去方法［例えば、プロテクティブ・グループス・イン・オーガニック・シンセシス第３版（Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ, ｔｈｉｒｄ ｅｄｉｔｉｏｎ）、グリーン（Ｔ．Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ）著、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ&Ｓｏｎｓ Ｉｎｃ．（１９９９年）等に記載の方法］等を用いることにより、目的化合物を製造することができる。また、必要に応じて置換基導入等の反応工程の順序を変えることもできる。

式１で表される核酸重合体は、固相合成によっても合成することができる。

[0144] 式１で表される核酸重合体は、核酸複合体として公知のリンカー構造の合成方法を参考にして合成することができる。

式１で表される核酸複合体における、Ｓ１をリンカーとしたＬ１－ベンゼン環ユニットやＳ２をリンカーとしたＬ２－ベンゼン環ユニットの合成は、例えば、式２で表される核酸複合体を例として説明する。

式２で表される核酸複合体におけるＬ１－ベンゼン環ユニットやＬ２－ベンゼン環ユニットは、Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３、Ｐ４、Ｐ５、およびＰ６ならびにＴ１およびＴ２により連結している。

Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３、Ｐ４、Ｐ５、およびＰ６ならびにＴ１およびＴ２の－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－または－ＣＯ－ＮＨ－結合は、例えば、第４版実験化学講座１９「有機化合物の合成Ｉ」丸善（１９９２年）、第４版実験化学講座２０「有機化合物の合成ＩＩ」、丸善（１９９２年））等に記載の結合反応の方法を参考にして、式２で表される構造を形成するのに適切な原料を選択することにより適宜合成することができる。

また、ベンゼン環から順次、Ｑ１を部分構造として有する化合物、Ｂ１を部分構造として有する化合物を結合させることで、Ｌ１－ベンゼン環ユニッ

トの部分構造を製造することができる。

Ｌ１とＱ２を部分構造として有する化合物を別途合成し、Ｌ１とＱ２を部分構造として有する化合物をベンゼン環、Ｑ１およびＢ１を部分構造として有するＬ１－ベンゼン環ユニットの部分構造を有する化合物と結合させることにより、Ｌ１－ベンゼン環ユニット構造を製造することができる。

Ｌ２－ベンゼン環ユニットについても同様に、ベンゼン環から順次、Ｑ３を部分構造として有する化合物、Ｂ２を部分構造として有する化合物を結合させることで、Ｌ２－ベンゼン環ユニットの部分構造を製造することができる。

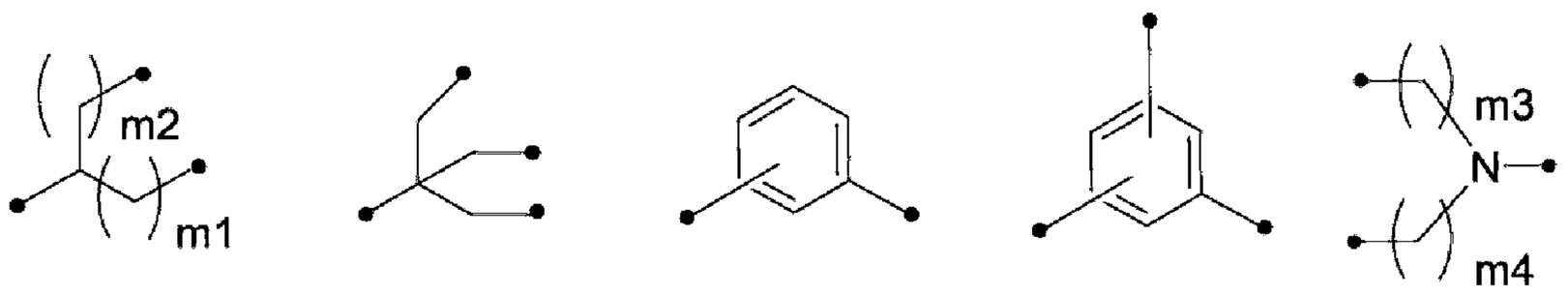
Ｌ２とＱ４を部分構造として有する化合物を別途合成し、Ｌ２とＱ４を部分構造として有する化合物をベンゼン環、Ｑ３およびＢ２を部分構造として有するＬ２－ベンゼン環ユニットの部分構造を有する化合物と結合させることにより、Ｌ２－ベンゼン環ユニット構造を製造することができる。

[0145] Ｑ１を部分構造として有する化合物、Ｑ３を部分構造として有する化合物としては、炭素数１～１０のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_n$－CH_2CH_2－の両末端に、水酸基、カルボキシル基、アミノ基、チオール基を有する化合物が挙げられる。

Ｂ１を部分構造として有する化合物、Ｂ２を部分構造として有する化合物としては、下記式２－１で表されるいずれかの構造を有し、各構造における末端の黒丸点において、それぞれ、水酸基、カルボキシル基、アミノ基、またはチオール基を有する化合物が挙げられる。

式２－１：

[0146] [化89]

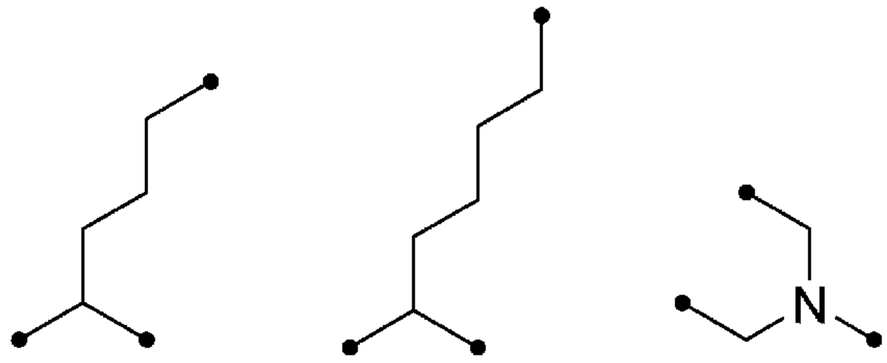


[0147] Ｂ１を部分構造として有する化合物、Ｂ２を部分構造として有する化合物の具体例としては、グリコール、グルタミン酸、アスパラギン酸、リジン、

Ｔｒｉｓ、イミノ二酢酸、２－アミノ－１，３－プロパンジオール等が挙げられ、グルタミン酸、アスパラギン酸、リジン、イミノ二酢酸が好ましい。

具体的には、Ｂ１およびＢ２は以下の構造が好ましい。

[0148] [化90]



[0149] Ｌ１、Ｑ２およびＢ１を部分構造として有する化合物を合成してから、Ｑ１とベンゼン環を有する化合物と結合することにより、Ｌ１－ベンゼン環ユニット構造を製造してもよい。

Ｌ２、Ｑ４およびＢ２を部分構造として有する化合物を合成してから、Ｑ３とベンゼン環を有する化合物と結合することにより、Ｌ２－ベンゼン環ユニット構造を製造してもよい。

本発明においては、［Ｌ１－Ｔ１－（Ｑ２－Ｐ３）$_{q2}$－］$_{p1}$－Ｂ１－（Ｐ２－Ｑ１）$_{q1}$－Ｐ１－である部分構造と、［Ｌ２－Ｔ２－（Ｑ３－Ｐ６）$_{q4}$－］$_{p2}$－Ｂ２－（Ｐ５－Ｑ３）$_{q3}$－Ｐ２－である部分構造とは同一または異なっていても良いが、同一であることが好ましい。

[0150] 糖リガンドのＬ１－Ｔ１－Ｑ２に相当するユニットとして、例えば、Ｌ３－Ｔ１－Ｑ２－ＣＯＯＨ、Ｌ３－Ｔ１－（Ｑ２－Ｐ３）$_{q2-1}$－Ｑ２－ＮＨ$_2$等が挙げられる。具体的には、Ｌ３－Ｏ－炭素数１～１２のアルキレン－ＣＯＯＨや、Ｌ３－炭素数１～１２のアルキレン－ＣＯ－ＮＨ－炭素数２～１２のアルキレン－ＮＨ$_2$等が挙げられる。

Ｌ３は、脱保護することにより、Ｌ１となる糖リガンド誘導体であれば特に限定されない。糖リガンドの置換基としては、糖質化学の分野で汎用される置換基であれば特に限定されないが、Ａｃ基が好ましい。

[0151] Ｓ１をリンカーとしたＬ１－ベンゼン環ユニットやＳ２をリンカーとしたＬ２－ベンゼン環ユニットの合成は、具体的には実施例に記載の方法を参考

にして、アルキレン鎖の炭素数を適宜増減し、また、末端アミノ基や末端カルボキシル基を、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－または－ＣＯ－ＮＨ－結合を形成し得る基に変換した化合物を用いることにより、合成することができる。また、Ｌ１の糖リガンドについても、実施例においては、マンノースまたはＮ－アセチルガラクトサミンを例示しているが、他の糖リガンドに変更して実施することができる。

[0152] 式１で表される核酸複合体における、Ｓ３をリンカーとしたＸ－ベンゼン環ユニットの合成は、例えば、式１２で表される核酸複合体を例として説明する。

式１２で表される核酸複合体におけるＸ－ベンゼン環ユニットは、オリゴヌクレオチドの結合以外に、Ｐ７およびＰ８により表される結合を有する。

Ｐ７およびＰ８の－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－または－ＣＯ－ＮＨ－結合は、例えば、第４版実験化学講座１９「有機化合物の合成Ｉ」丸善（１９９２年）、第４版実験化学講座２０「有機化合物の合成ＩＩ」、丸善（１９９２年））に記載の結合反応の方法を参考にして、式１２で表される構造を形成するのに適切な原料を選択することにより適宜合成することができる。

また、ベンゼン環から順次、Ｑ５を部分構造として有する化合物、Ｂ３を部分構造として有する化合物を結合させることで、Ｘ－ベンゼン環ユニットの部分構造を製造することができる。

[0153] ＸとＱ７を部分構造として有する化合物や、ＸとＱ６を部分構造として有する化合物を別途合成し、ＸとＱ７を部分構造として有する化合物やＸとＱ６を部分構造として有する化合物をベンゼン環およびＱ５を部分構造として有するＸ－ベンゼン環ユニットの部分構造を有する化合物と結合させて、Ｂ３部分を構築することにより、Ｘ－ベンゼン環ユニット構造を製造することができる。

具体的には、ベンゼン環およびＱ５を部分構造として有するＸ－ベンゼン環ユニットの部分構造を有する化合物の末端にアジド基を有する場合を例にとると、実施例に開示するような末端結合性官能基化したオリゴヌクレオチドを反応させることにより、環化付加させて、トリアゾール環を形成させて、Ｂ３部分を構築することにより、Ｘ－ベンゼン環ユニット構造を製造することができる。

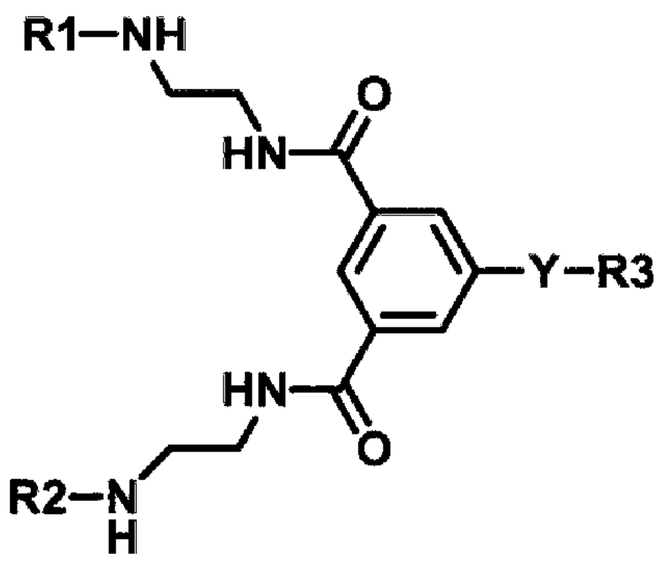
[0154] Ｑ５を部分構造として有する化合物、Ｑ６を部分構造として有する化合物、Ｑ７を部分構造として有する化合物としては、炭素数１～１０のアルキレンまたは－（$CH_2CH_2O)_{n8}$－CH_2CH_2－の両末端に、水酸基、カルボキシル基、アミノ基、チオール基を有する化合物が挙げられる。

[0155] Ｌ１－ベンゼン環ユニット構造、Ｌ２－ベンゼン環ユニット構造と、Ｘ－ベンゼン環ユニット構造とは、それぞれ順次製造していくことができるが、Ｌ１－ベンゼン環ユニット構造およびＬ２－ベンゼン環ユニット構造を合成してから、Ｘ－ベンゼン環ユニット構造を結合させることが好ましい。特に、オリゴヌクレオチド部分を有するＸについては、糖リガンド複合体合成の最終工程近くで化合物内に導入することが好ましい。

[0156] 本発明においては、下記式８～式１０で表される化合物が合成中間体として得られる。

式８：

[0157] [化91]



[0158] （式８中、

Ｒ１およびＲ２は、それぞれ独立して、水素原子、ｔ－ブトキシカルボニ

ル基（Ｂｏｃ基）、ベンジルオキシカルボニル基（Ｚ基）、９－フルオレニルメチルオキシカルボニル基（Ｆｍｏｃ基）、－ＣＯ－Ｒ４、または－ＣＯ－Ｂ４－［（Ｐ９－Ｑ８）$_{q7}$－Ｔ３－Ｌ３］$_{p3}$であり、

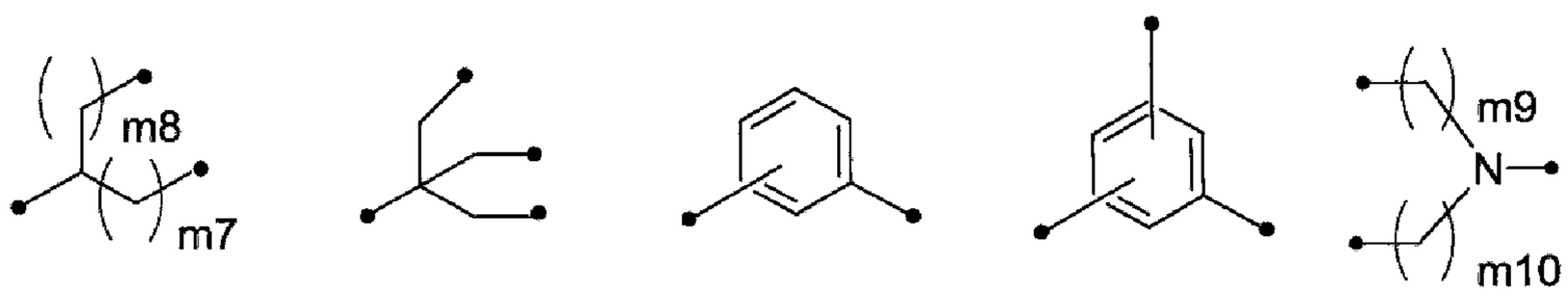
Ｐ９およびＴ３は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であり、

Ｑ８は、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｏ）$_{n1}$－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－であり、ｎ１は０～９９の整数であり、

Ｂ４は、それぞれ独立して、結合手であるか、または、下記式８－１で表されるいずれかの構造であり、各構造における末端の黒丸点は、それぞれ、カルボニル基またはＰ９との結合点であり、ｍ７、ｍ８、ｍ９およびｍ１０は、それぞれ独立して、０～１０の整数であり、

式８－１：

[0159] [化92]



[0160] ｐ３は、１、２または３の整数であり、

ｑ７は、０～１０の整数であり、

Ｌ３は、糖リガンドであり、

Ｙは-Ｏ－（ＣＨ$_2$）$_{m11}$－ＮＨ－および－ＮＨ－ＣＯ－（ＣＨ$_2$）$_{m12}$－ＮＨであり、ｍ１１およびｍ１２は、それぞれ独立して、１～１０の整数であり、

Ｒ３は、水素原子、ｔ－ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、９－フルオレニルメチルオキシカルボニル基、－ＣＯ－Ｒ４、－ＣＯ－（ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$Ｏ）$_{n2}$－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$－Ｎ$_3$、または－ＣＯ－Ｑ９－Ｂ５－（Ｑ１０－Ｐ１０）$_{q8}$－Ｘ１あり、ｎ２は０～９９の整数であり、

Ｐ１０は、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であり、

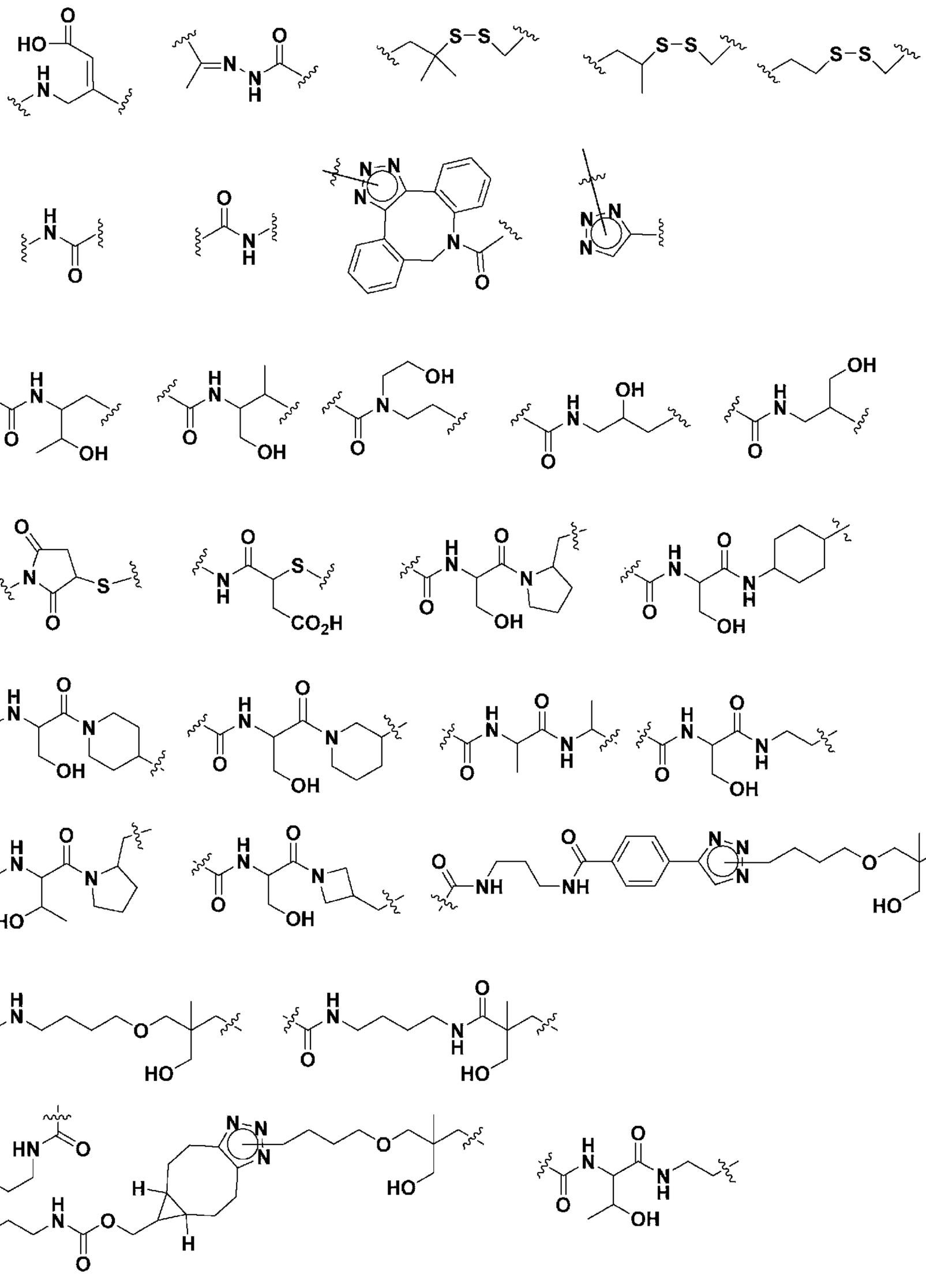
Ｑ９およびＱ１０は、それぞれ独立して、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_{n3}$－CH_2CH_2－であり、ｎ３は０～９９の整数であり、

Ｂ５は、下記式８－２で表されるいずれかの構造であり、破線において、それぞれ、Ｑ９およびＱ１０との結合手を意味し、

式８－２：

[0161]

[化93]



[0162] 式８－２中、トリアゾール環を有する基における置換は、該トリアゾール環の1位および3位の窒素原子のいずれかである。

ｑ８は、０～１０の整数であり、

Ｘ１は、水素原子または固相担体であり、

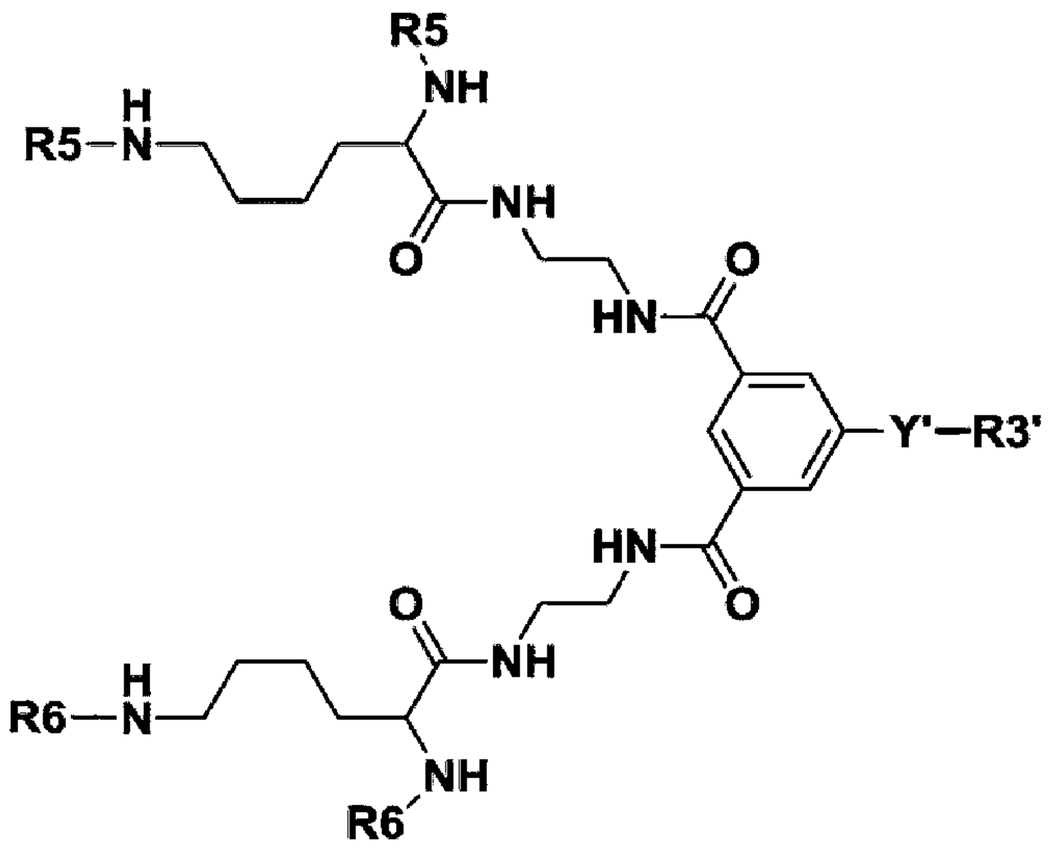
Ｒ４は、ｔ－ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、９－フルオレニルメチルオキシカルボニル基で置換もしくは無置換のアミノ基、

カルボキシ基、マレイミド基、およびアラルキルオキシカルボニル基からなる群から選択される１または２個の置換基で置換された炭素数２～１０のアルキル基である。）

[0163] 本発明においては、下記式９で表される化合物が合成中間体として得られる。

式９：

[0164] [化94]



[0165] （式９中、

Ｒ５およびＲ６は、それぞれ独立して、水素原子、ｔ－ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、９－フルオレニルメチルオキシカルボニル基、－ＣＯ－Ｒ４’、または－ＣＯ－Ｑ１１－（Ｐ１１－Ｑ１１’）$_{q9}$－Ｔ４－Ｌ４であり、

Ｐ１１およびＴ４は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であり、

Ｑ１１およびＱ１１’は、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_{n4}$－CH_2CH_2－であり、ｎ４は０～９９の整数であり、

ｑ９は、０～１０の整数であり、

Ｌ４は、糖リガンドであり、

Y’は-O－（CH_2）$_{m11'}$－NH－および－NH－CO－（CH_2）$_{m12'}$－NHであり、m11’およびm12’は、それぞれ独立して、1～10の整数であり、

R3’は、水素原子、t－ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、9－フルオレニルメチルオキシカルボニル基、－CO－R4’、－CO－（CH_2CH_2O）$_{n2'}$－CH_2CH_2－N_3、または－CO－Q9’－B5’－（Q10’－P10’）$_{q8'}$－X1’であり、n2’は0～99の整数であり、

P10’は、存在しないか、または、－CO－、－NH－、－O－、－S－、－O－CO－、－S－CO－、－NH－CO－、－CO－O－、－CO－S－もしくは－CO－NH－であり、

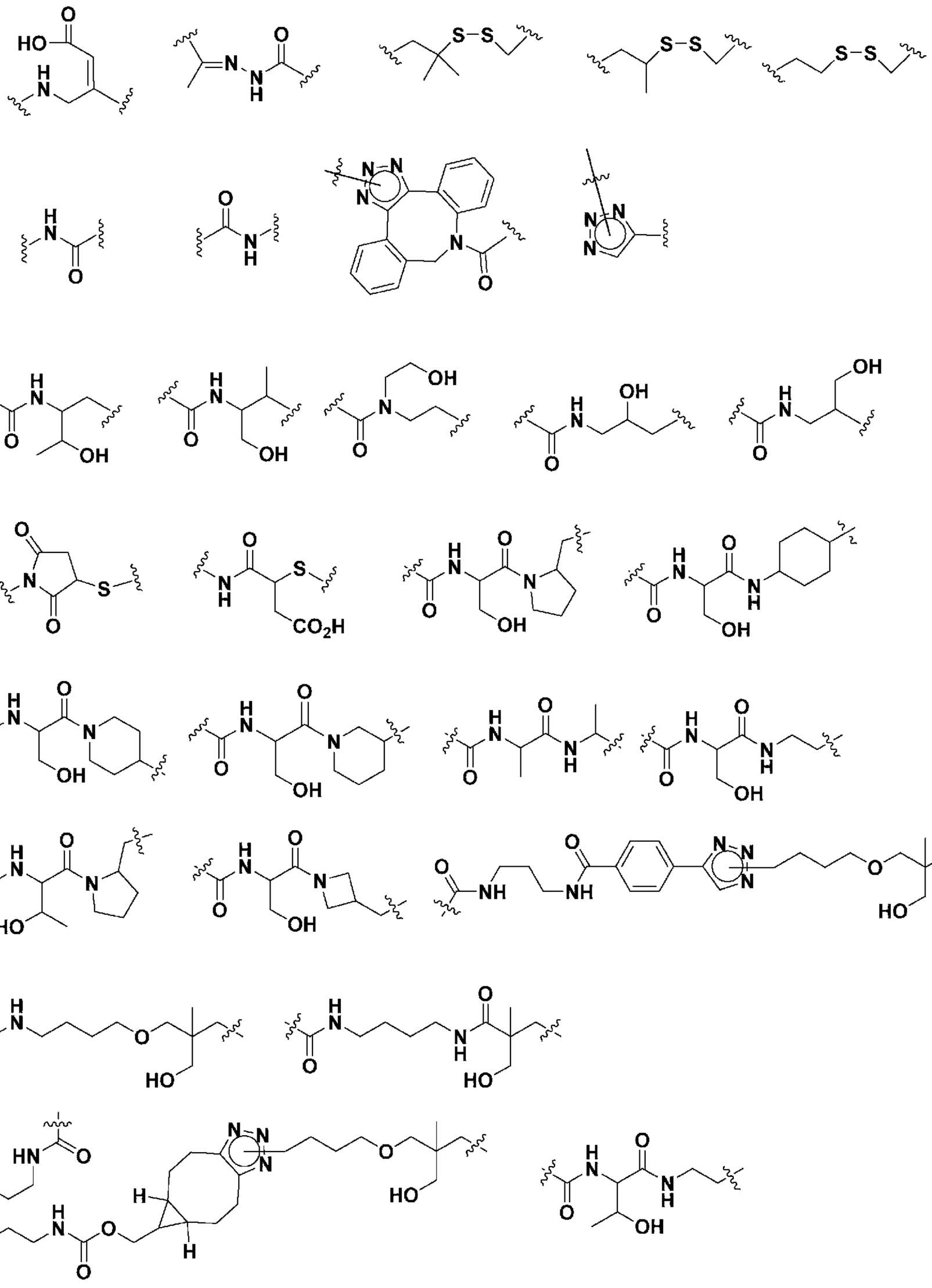
Q9’およびQ10’は、それぞれ独立して、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数1～12のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_{n3'}$－CH_2CH_2－であり、n3’は0～99の整数であり、

B5’は、下記式9－1で表されるいずれかの構造であり、破線において、それぞれ、Q9’およびQ10’との結合手を意味し、

式9－1：

[0166]

[化95]



[0167] 式９－１中、トリアゾール環を有する基における置換は、該トリアゾール環の1位および3位の窒素原子のいずれかである。

ｑ８’は、０～１０の整数であり、

Ｘ１’は、水素原子または固相担体であり、

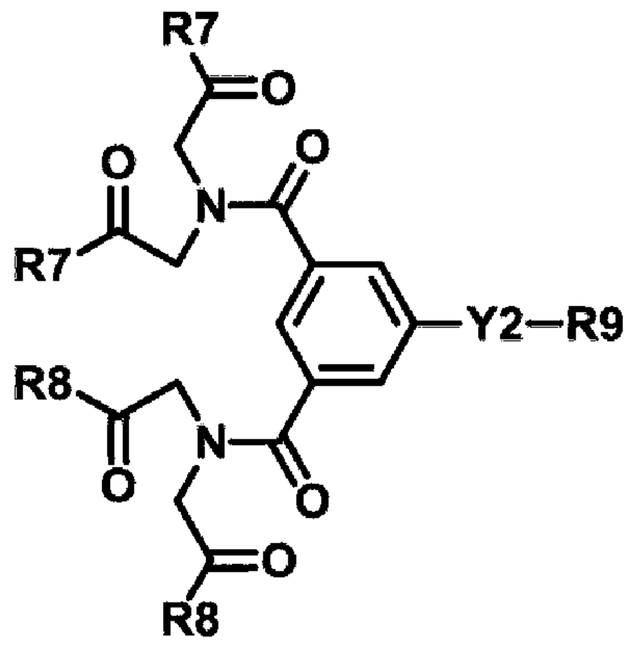
Ｒ４’は、ｔ－ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、９－フルオレニルメチルオキシカルボニル基で置換もしくは無置換のアミノ基、

カルボキシ基、マレイミド基、およびアラルキルオキシカルボニル基からなる群から選択される１または２個の置換基で置換された炭素数２～１０のアルキル基である。）

[0168] 本発明においては、下記式１０で表される化合物が合成中間体として得られる。

式１０：

[0169] [化96]



[0170] 式１０中、

Ｒ７およびＲ８は、それぞれ独立して、ヒドロキシ基、ｔ－ブトキシ基、ベンジルオキシ基、－ＮＨ－Ｒ１０、または－ＮＨ－Ｑ１２－（Ｐ１２－Ｑ１２’）$_{q10}$－Ｔ４－Ｌ４であり、

Ｐ１２およびＴ４は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であり、

Ｑ１２およびＱ１２’は、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）ｎ2－CH_2CH_2－であり、ｎ2は０～９９の整数であり、

Ｌ４は、糖リガンドであり、

Ｙ２は-Ｏ－（CH_2）ｍ９－ＮＨ－および－ＮＨ－ＣＯ－（CH_2）ｍ１０－ＮＨであり、ｍ９、ｍ１０は、それぞれ独立して、１～１０の整数であり、

ｑ１０は、０～１０の整数であり、

Ｒ９は、水素原子、ｔ－ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、９－フルオレニルメチルオキシカルボニル基、－ＣＯ－Ｒ１０、－ＣＯ－（CH_2CH_2O）$_{n6}$－CH_2CH_2－N_3、または－ＣＯ－Ｑ１３－Ｂ６－（Ｑ１４－Ｐ１３）$_{q11}$－Ｘ２であり、ｎ６は０～９９の整数であり、

Ｐ１３は、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であり、

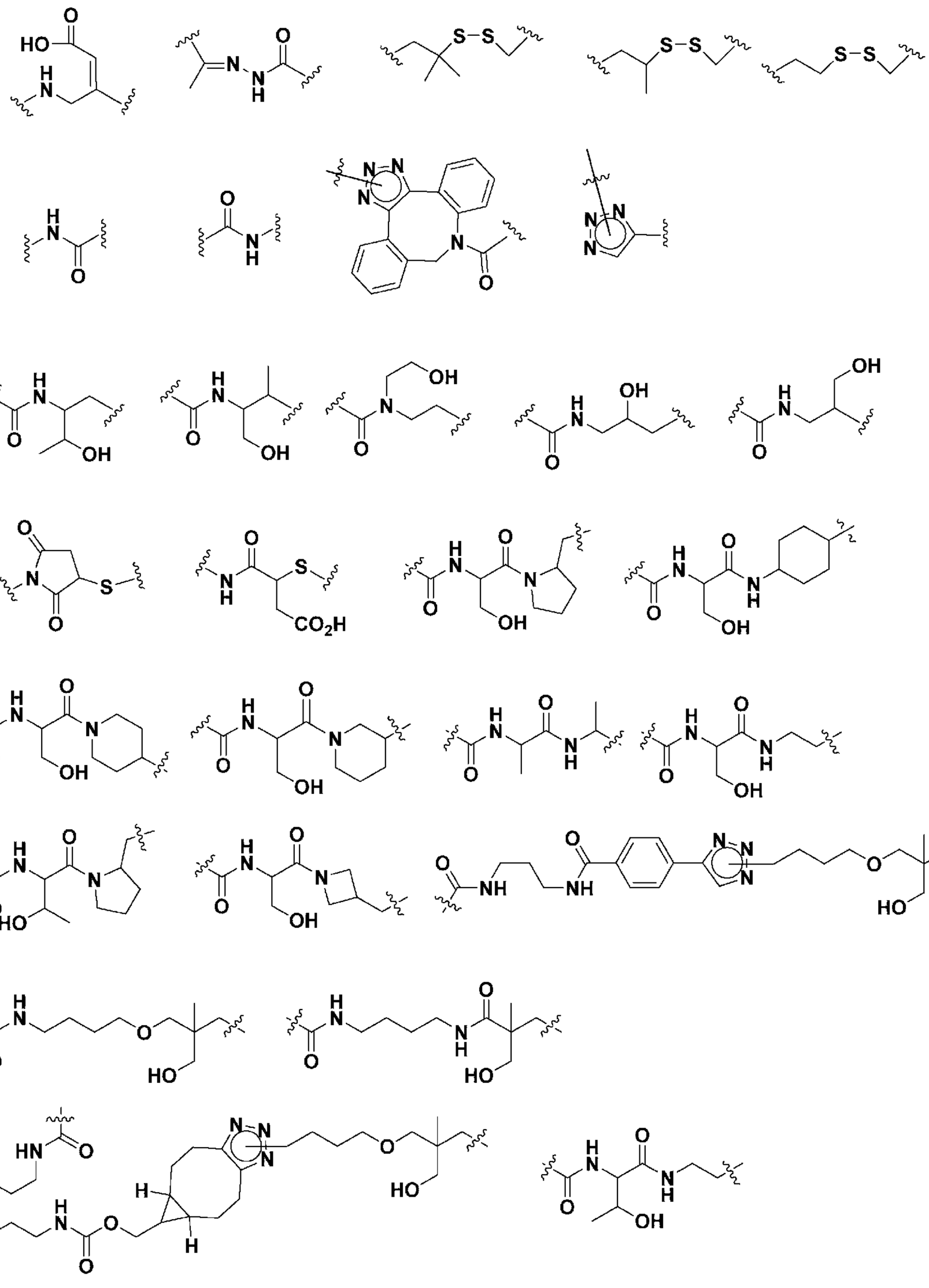
Ｑ１３およびＱ１４は、それぞれ独立して、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_{n7}$－CH_2CH_2－であり、ｎ７は０～９９の整数であり、

Ｂ６は、下記式１０－１で表されるいずれかの構造であり、破線において、それぞれ、Ｑ１３およびＱ１４との結合手を意味し、

式１０－１：

[0171]

[化97]



[0172] 式１０－１中、トリアゾール環を有する基における置換は、該トリアゾール環の1位および3位の窒素原子のいずれかである。

ｑ１１は、０～１０の整数であり、

Ｘ２は、水素原子または固相担体であり、

Ｒ１０は、ｔ－ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、９－フルオレニルメチルオキシカルボニル基で置換もしくは無置換のアミノ基

、カルボキシ基、マレイミド基、およびアラルキルオキシカルボニル基からなる群から選択される１または２個の置換基で置換された炭素数２～１０のアルキル基である。）

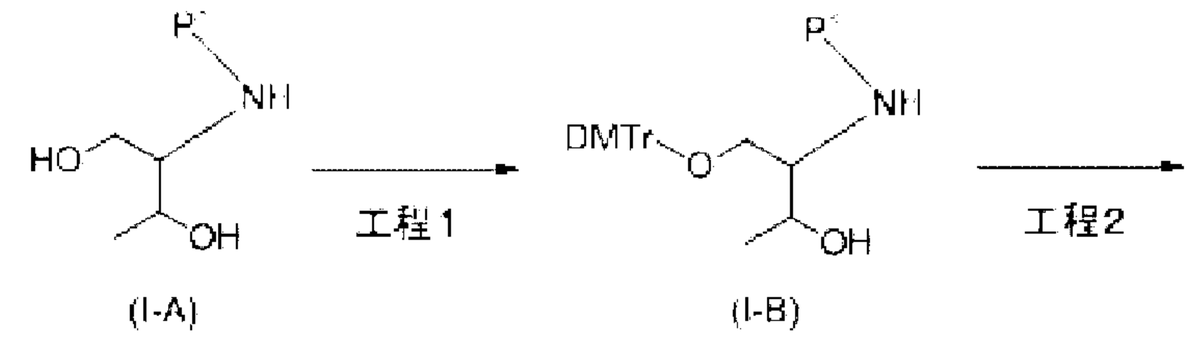
[0173] 以下、本発明に関連して、製造方法を一例として示す。なお、以下の製造方法１～製造方法１７に関する記載において、本発明の核酸誘導体等における式１～式１２で表される化合物とで、基を表す記号として同一の記号が用いられているものがあるが、両者は切り離して理解されるものであり、製造方法１～製造方法１２に対して記載される基の説明により、本発明が限定的に解釈されるものではない。また、本発明における核酸誘導体に関し、オリゴヌクレオチドを表すＸを、製造方法１～製造方法１７では、－Ｏ－Ｘとして記載する。

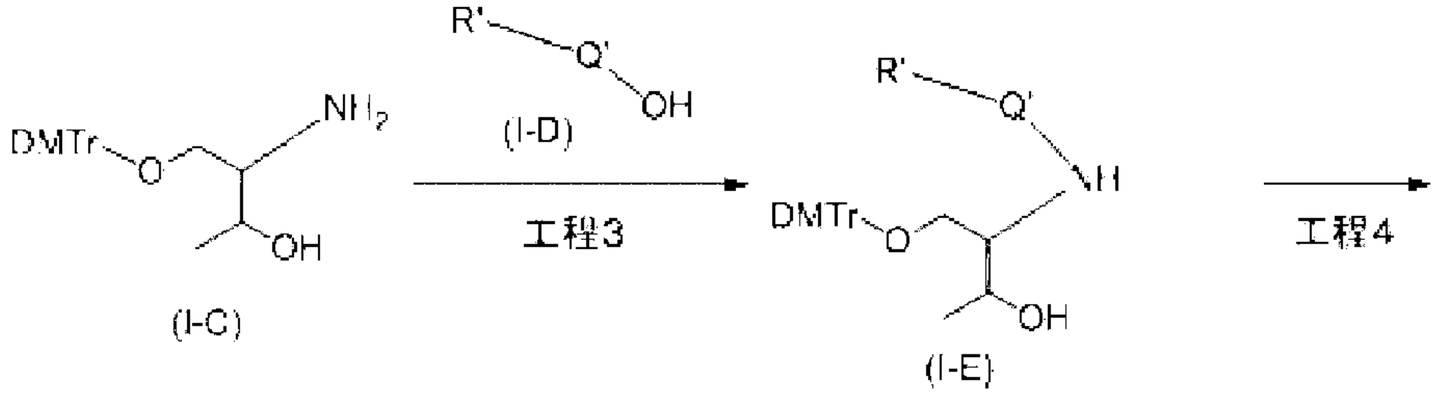
[0174] 製造方法１

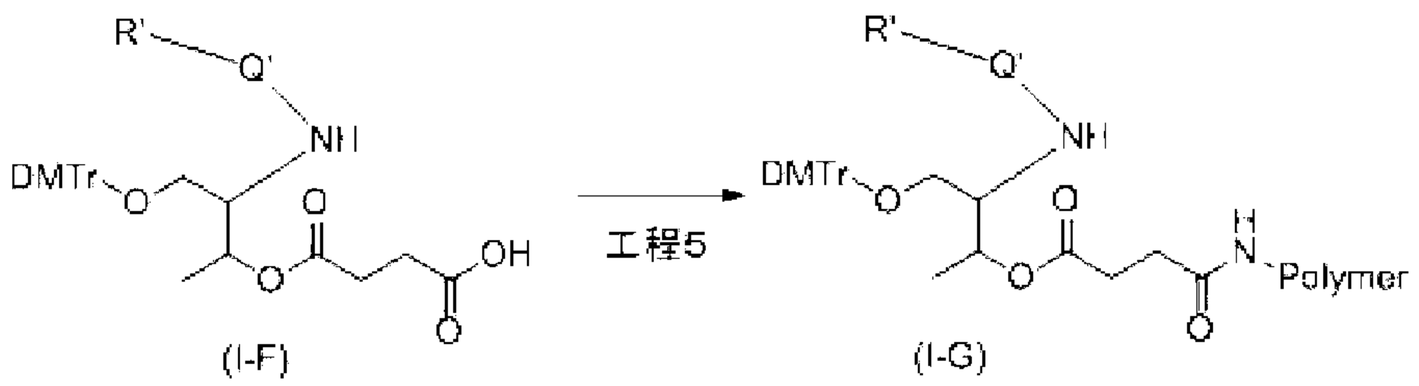
本発明における核酸誘導体は、式（Ｉ’）で表される部分構造を有する化合物の製造方法として、その製造方法を例示することができる。

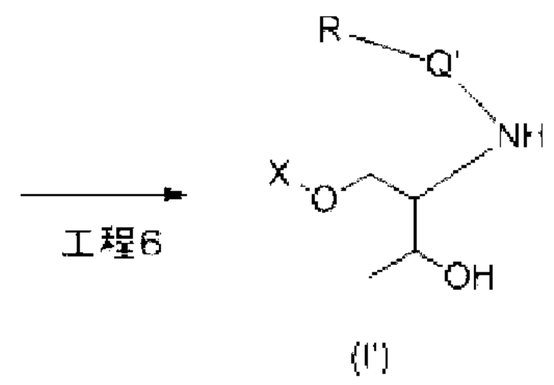
[0175]

[化98]









[0176] （式中、Ｐ１はＦｍｏｃ等の塩基により脱保護可能な保護基であり、ＤＭＴｒはｐ，ｐ’－ジメトキシトリチル基を表し、Ｒは糖リガンド-テザーユニットを表し、Ｒ’は、Ｒ中の糖リガンドの各水酸基がアセチル基等の塩基で脱保護可能な保護基で保護された基を表し、Ｐｏｌｙｍｅｒは固相担体を表し、Ｑ’は－ＣＯ－である。）

[0177] 工程１

化合物（Ｉ－Ｂ）は、化合物（Ｉ－Ａ）とｐ，ｐ’－ジメトキシトリチルクロリドを、ピリジン等の溶媒中、必要に応じて共溶媒の存在下、０℃と１００℃の間の温度で、５分間～１００時間反応させることにより製造するこ

とができる。

共溶媒としては、例えばメタノール、エタノール、ジクロロメタン、クロロホルム、１，２－ジクロロエタン、トルエン、酢酸エチル、アセトニトリル、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、１，２－ジメトキシエタン、ジオキサン、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）、Ｎ，Ｎ－ジメチルアセトアミド、Ｎ－メチルピロリドン、ピリジン、水等があげられ、これらは単独でまたは混合して用いられる。

[0178] 工程２

化合物（Ｉ－Ｃ）は、化合物（Ｉ－Ｂ）を、無溶媒でまたは溶媒中、１～１０００当量の２級アミン存在下、室温と２００℃の間の温度で、５分間～１００時間反応させることにより製造することができる。

溶媒としては、例えばメタノール、エタノール、ジクロロメタン、クロロホルム、１，２－ジクロロエタン、トルエン、酢酸エチル、アセトニトリル、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、１，２－ジメトキシエタン、ジオキサン、Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）、Ｎ，Ｎ－ジメチルアセトアミド、Ｎ－メチルピロリドン、ピリジン、水等があげられ、これらは単独でまたは混合して用いられる。

２級アミンとしては、例えばジエチルアミン、ピペリジン等が挙げられる。

[0179] 工程３

化合物（１－Ｅ）は、化合物（Ｉ－Ｃ）と化合物（Ｉ－Ｄ）を、無溶媒でまたは溶媒中、１～３０当量の塩基、縮合剤および必要に応じて０．０１～３０当量の添加剤の存在下、室温と２００　℃の間の温度で、５分間～１０時間反応させることにより製造することができる。

溶媒としては、工程２で例示したものが挙げられる。

塩基としては、例えば炭酸セシウム、炭酸カリウム、水酸化カリウム、水酸化ナトリウム、ナトリウムメトキシド、カリウム　ｔｅｒｔ－ブトキシド、トリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、Ｎ－メチルモルホリン

、ピリジン、１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］－７－ウンデセン（ＤＢＵ）、Ｎ，Ｎ－ジメチル－４－アミノピリジン（ＤＭＡＰ）等が挙げられる。

縮合剤としては、例えば１，３－ジシクロヘキサンカルボジイミド（DCC）、１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド・塩酸塩（ＥＤＣ）、カルボニルジイミダゾール、ベンゾトリアゾール－１－イルオキシトリス（ジメチルアミノ）ホスホニウムヘキサフルホロホスファート、（ベンゾトリアゾール－１－イルオキシ）トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスファート、Ｏ－（７－アザベンゾトリアゾール－１－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウム　ヘキサフルオロホスファート（ＨＡＴＵ）、Ｏ－（ベンゾトリアゾール－１－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウム　ヘキサフルオロホスファート（ＨＢＴＵ）、ヨウ化　２－クロロ－１－メチルピリジニウム等が挙げられる。

添加剤としては、例えば１－ヒドロキシベンゾトリアゾール（ＨＯＢｔ）、４－ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）等が挙げられる。

化合物（Ｉ－Ｄ）は、公知の方法（例えば、Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｓｏｃｉｅｔｙ，　１３６，　１６９５８，　（２０１４）を参照）もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0180] 工程４

化合物（Ｉ－Ｆ）は、化合物（Ｉ－Ｅ）とコハク酸無水物を、溶媒中、１～３０当量の塩基存在下、室温と２００℃の間の温度で、５分間～１００時間反応させることにより製造することができる。

[0181]　溶媒としては、工程２で例示したものが挙げられる。

[0182]　塩基としては、工程３で例示したものが挙げられる。

[0183] 工程５

化合物（Ｉ－Ｇ）は、化合物（Ｉ－Ｆ）と末端がアミノ化された固相担体とを、無溶媒でまたは溶媒中、１～３０当量の塩基、縮合剤および必要に応

じて０．０１～３０当量の添加剤の存在下、室温と２００℃の間の温度で、５分間～１００時間反応した後、無水酢酸／ピリジン溶液と室温と２００℃の間の温度で５分間～１００時間反応させることにより製造することができる。

溶媒としては、工程２で例示したものが挙げられる。

塩基、縮合剤および添加剤としては、それぞれ工程３で例示したものがあげられる。

アミノ化された固相担体としては、例えば長鎖アルキルアミン細孔性ガラス（ＬＣＡＡ－ＣＰＧ）等　があげられ、これらは市販品として得ることができる。

[0184] 工程６

式（Ｉ’）で表される糖リガンド－テザー－ブランチャーユニットを有する核酸複合体は、化合物（Ｉ－Ｇ）を用い、公知のオリゴヌクレオチド化学合成法で対応するヌクレオチド鎖を伸長した後に、固相からの脱離、保護基の脱保護および精製を行うことで製造することができる。

[0185] 公知のオリゴヌクレオチド化学合成法としては、ホスホロアミダイト法、ホスホロチオエート法、ホスホトリエステル法、ＣＥＭ法　（Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，　３５，　３２８７　（２００７）を参照）等をあげることができ、例えば、ＡＢＩ３９００ハイスループット核酸合成機（アプライドバイオシステムズ社製）により合成することができる。

[0186] 固相からの脱離、脱保護は、オリゴヌクレオチド化学合成後、溶媒または無溶媒中、－８０　℃から２００　℃の間の温度で、１０秒間から７２時間塩基で処理することにより製造することができる。

[0187] 塩基としては、例えばアンモニア、メチルアミン、ジメチルアミン、エチルアミン、ジエチルアミン、イソプロピルアミン、ジイソプロピルアミン、ピペリジン、トリエチルアミン、エチレンジアミン、１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］－７－ウンデセン（ＤＢＵ）、炭酸カリウム等が挙げられ

る。

[0188] 溶媒としては、水、メタノール、エタノール、ＴＨＦ等が挙げられる。

[0189] オリゴヌクレオチドの精製は、Ｃ１８逆相カラムあるいは陰イオン交換カラム、好ましくは前述２つの手法を組み合わせにより可能である。精製後の核酸複合体純度は、９０％以上、好ましくは９５％以上とするのが望ましい。

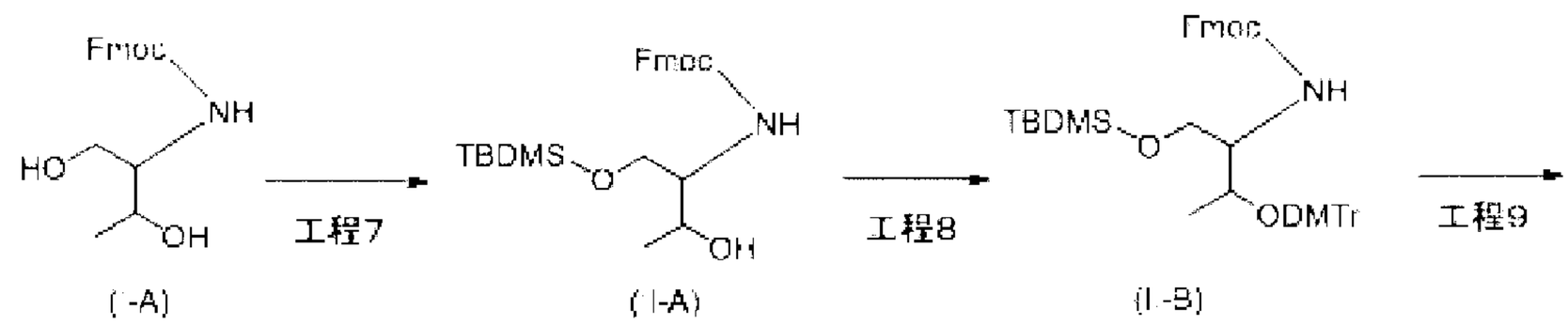
[0190] また、上記工程３において、必要により、化合物（Ｉ－Ｄ）を二つのユニットに分割し、２段階に分けて化合物（Ｉ－Ｃ）と縮合することで行うこともできる。具体的には、例えばＲ－Ｑ’がＲ－ＮＨ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－である場合（Ｑ４’は置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンである）、工程３において、化合物（Ｉ－Ｃ）と、CH_3CH_2－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）とを、工程３と同様の方法で縮合させ、得られた化合物のエチルエステルをエタノールや水等の溶媒中、水酸化リチウム等の塩基で加水分解した後に、さらにＲ’－NH_2（Ｒ’は前記と同義）と縮合させることで目的とする化合物を得ることができる。なお、CH_3CH_2－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）およびＲ’－NH_2（Ｒ’は前記と同義）は、公知の方法（例えば、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｓｏｃｉｅｔｙ，１３６，１６９５８（２０１４）を参照）もしくはそれに準じた方法で得ることができる。ここで、Ｑ４’において、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンにおける置換基およびアルキレン部分は上記と同様である。

[0191] Ｑが－ＣＯ－である場合を例示して示しているが、Ｑが－ＣＯ－でない場合の化合物についても、Ｑの構造を適宜変更することにより、上記と同様の方法、公知の方法またはこれらを組み合わせ、適宜反応条件を変更することにより調製することができる。

[0192] 製造方法２

本発明における核酸誘導体は、式（ＩＩ’）で表される部分構造を有する化合物の製造方法として、その製造方法を例示することができる。

[0193] [化99]



[0194] （式中、ＤＭＴｒ、Ｒ、Ｒ’、Ｘ、Ｑ’、およびＰｏｌｙｍｅｒは前記と同義。ＴＢＤＭＳはｔ－ブチルジメチルシリル基、Ｆｍｏｃは９－フルオレニルメチルオキシカルボニル基を表す）

[0195] 工程７

化合物（ＩＩ－Ａ）は、化合物（Ｉ－Ａ）、ｔ－ブチルジメチルシリルクロリドおよびジメチルアミノピリジンをＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）等の溶媒中、好ましくは２等量の塩基の存在下、０℃～１００℃の間の温度で、５分間～１００時間反応させることにより製造することができる。

塩基としては、製造方法１の工程３で例示したものが挙げられる。

[0196] 工程８

化合物（ＩＩ－Ｂ）は、化合物（ＩＩ－Ａ）を用い、製造方法１の工程１と同様の条件にて製造することができる。

[0197] 工程９

化合物（ＩＩ－Ｃ）は、化合物（ＩＩ－Ｂ）とフッ化ｎ－テトラブチルアンモニウム（ＴＢＡＦ）を、溶媒中、室温と２００℃の間の温度で、５分間～１００時間反応させることにより製造することができる。

溶媒としては、工程２で例示したものが挙げられる。

[0198] 工程１０

化合物（ＩＩ－Ｄ）は、化合物（ＩＩ－Ｃ）を用い、製造方法１の工程２と同様の条件にて製造することができる。

[0199] 工程１１

化合物（ＩＩ－Ｅ）は、化合物（ＩＩ－Ｄ）および化合物（Ｉ－Ｄ）を用い、製造方法１の工程３と同様の条件にて製造することができる。

[0200] 工程１２～１４

化合物（ＩＩ’）は、化合物（ＩＩ－Ｅ）を用い、製造方法１の工程４～工程６と同様の条件にて製造することができる。

[0201] また、上記工程１１において、必要により、化合物（Ｉ－Ｄ）を二つのユニットに分割し、２段階に分けて化合物（ＩＩ－Ｃ）と縮合することで行うこともできる。具体的には、例えばＲ－Ｑ’が－ＮＨ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－である場合（Ｑ４’は置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレン）、工程１１において、化合物（ＩＩ－Ｃ）と、$ＣＨ_3ＣＨ_2$－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）とを、工程１１と同様の方法で縮合させ、得られた化合物のエチルエステルをエタノールや水等の溶媒中、水酸化リチウム等の塩基で加水分解した後に、さらにＲ’－$ＮＨ_2$（Ｒ’は前記と同義）と縮合させることで目的とする化合物を得ることができる。なお、$ＣＨ_3ＣＨ_2$－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）および

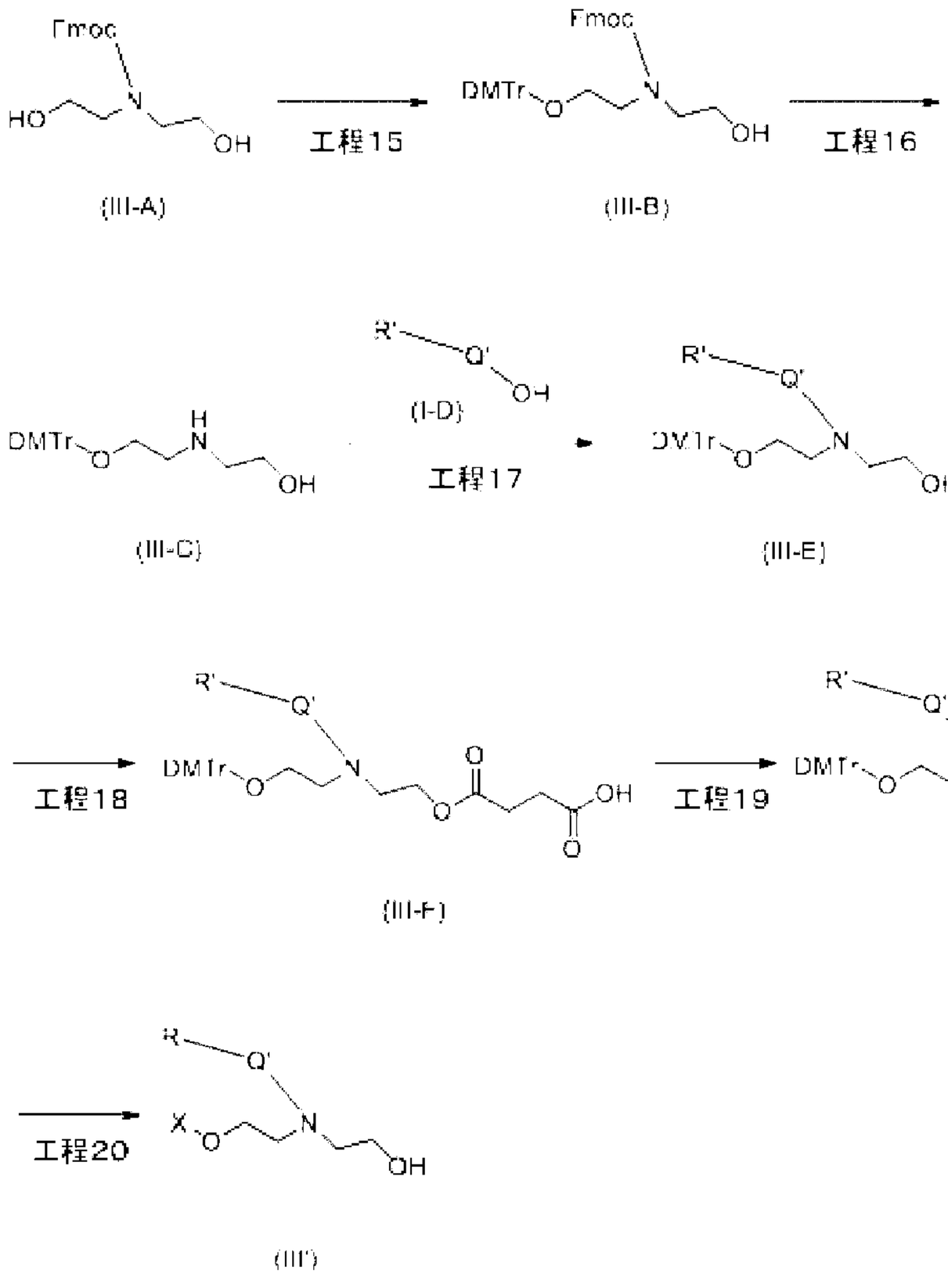
R’－NH_2（R’は前記と同義）は、公知の方法（例えば、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｓｏｃｉｅｔｙ，１３６，１６９５８（２０１４）を参照）もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0202] Ｑが－ＣＯ－である場合を例示して示しているが、Ｑが－ＣＯ－でない場合の化合物についても、Ｑの構造を適宜変更することにより、上記と同様の方法、公知の方法またはこれらを組み合わせ、適宜反応条件を変更することにより調製することができる。

[0203] 製造方法３

本発明における核酸誘導体は、式（ＩＩＩ’）で表される部分構造を有する化合物の製造方法として、その製造方法を例示することができる。

[0204] [化100]



[0205] （式中、ＤＭＴｒ、Ｆｍｏｃ、Ｒ、Ｒ’、Ｑ’、ＸおよびＰｏｌｙｍｅｒは前記と同義である。）

[0206] 化合物（ＩＩＩ’）は、化合物（ＩＩＩ－Ａ）を用い、製造方法１の工程１から工程６と同様の条件にて製造することができる。なお、化合物（ＩＩＩ－Ａ）は市販品として得ることができる。

[0207] 工程１５

化合物（ＩＩＩ－Ｂ）は、化合物（ＩＩＩ－Ａ）を用い、製造法１の工程１と同様の条件にて製造することができる。

化合物（ＩＩＩ－Ａ）は市販品として購入することができる。

[0208] 工程１６

化合物（ＩＩＩ－Ｃ）は、化合物（ＩＩＩ－Ｂ）を用い、製造法１の工程２と同様の条件にて製造することができる。

[0209] 工程１７

化合物（ＩＩＩ－Ｅ）は、化合物（ＩＩＩ－Ｃ）を用い、製造法１の工程３と同様の条件にて製造することができる。

[0210] 工程１８～２０

化合物（ＩＩＩ’）は、化合物（ＩＩＩ－Ｅ）を用い、製造方法１の工程４～工程６と同様の条件にて製造することができる。

[0211] また、上記工程１７において、必要により、化合物（Ｉ－Ｄ）を二つのユニットに分割し、２段階に分けて化合物（ＩＩＩ－Ｃ）と縮合することで行うこともできる。具体的には、例えばＲ－Ｑ’が－ＮＨ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－である場合（Ｑ４’は置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレン）、工程１７において、化合物（ＩＩＩ－Ｃ）と、$ＣＨ_3ＣＨ_2$－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）とを、工程１７と同様の方法で縮合させ、得られた化合物のエチルエステルをエタノールや水等の溶媒中、水酸化リチウム等の塩基で加水分解した後に、さらにＲ’－$ＮＨ_2$（Ｒ’は前記と同義）と縮合させることで目的とする化合物を得ることができる。なお、$ＣＨ_3ＣＨ_2$－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）お

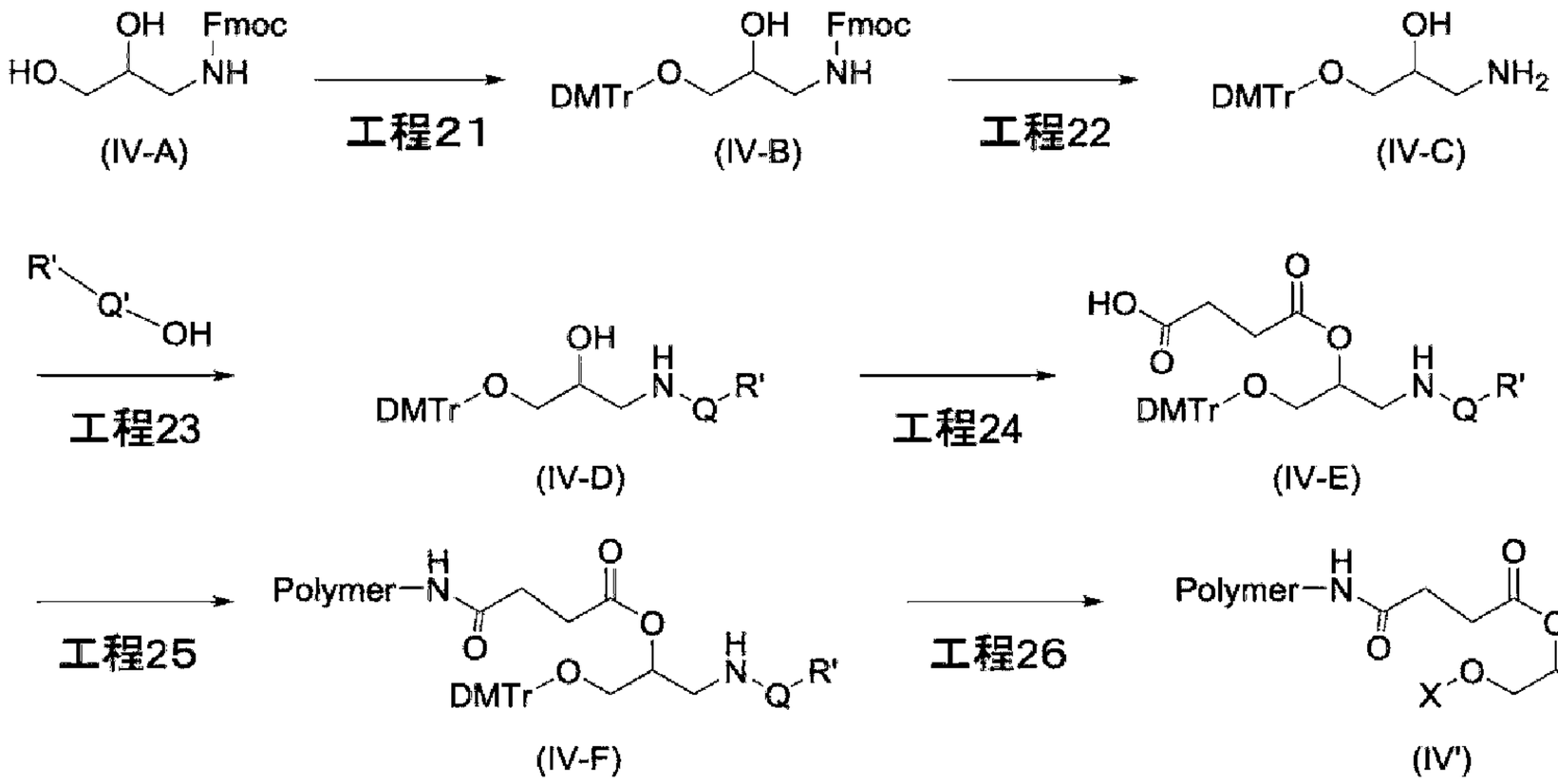
よびR’－NH_2（R’は前記と同義）は、公知の方法（例えば、Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｓｏｃｉｅｔｙ，１３６，　１６９５８　（２０１４）を参照）もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0212] Ｑが－ＣＯ－である場合を例示して示しているが、Ｑが－ＣＯ－でない場合の化合物についても、Ｑの構造を適宜変更することにより、上記と同様の方法、公知の方法またはこれらを組み合わせ、適宜反応条件を変更することにより調製することができる。

[0213] 製造方法４

本発明における核酸誘導体は、式（ＩＶ’）で表される部分構造を有する化合物の製造方法として、その製造方法を例示することができる。

[0214] [化101]



[0215] （式中、ＤＭＴｒ、Ｆｍｏｃ、Ｒ、Ｒ’、Ｑ’、ＸおよびＰｏｌｙｍｅｒは前記と同義である。）

[0216] 化合物（ＩＶ’）は、化合物（ＩＶ－Ａ）を用い、製造方法１の工程１から工程６と同様の条件にて製造することができる。なお、化合物（ＩＶ－Ａ）は市販品として得ることができる。

[0217] また、上記工程２３において、必要により、化合物（Ｉ－Ｄ）を二つのユニットに分割し、２段階に分けて化合物（ＩＶ－Ｃ）と縮合することで行うこともできる。具体的には、例えばＲ’－Ｑ’が－ＮＨ－ＣＯ－Ｑ４’－Ｃ

Ｏ－である場合（Ｑ４’は置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンである）、工程２３において、化合物（ＩＶ－Ｃ）と、CH_3CH_2－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）とを、工程２３と同様の方法で縮合させ、得られた化合物のエチルエステルをエタノールや水等の溶媒中、水酸化リチウム等の塩基で加水分解した後に、さらにＲ’－NH_2（Ｒ’は前記と同義）と縮合させることで目的とする化合物を得ることができる。なお、CH_3CH_2－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）およびＲ’－ＮＨ２（Ｒ’は前記と同義）は、公知の方法（例えば、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｓｏｃｉｅｔｙ，１３６，１６９５８（２０１４）を参照）もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

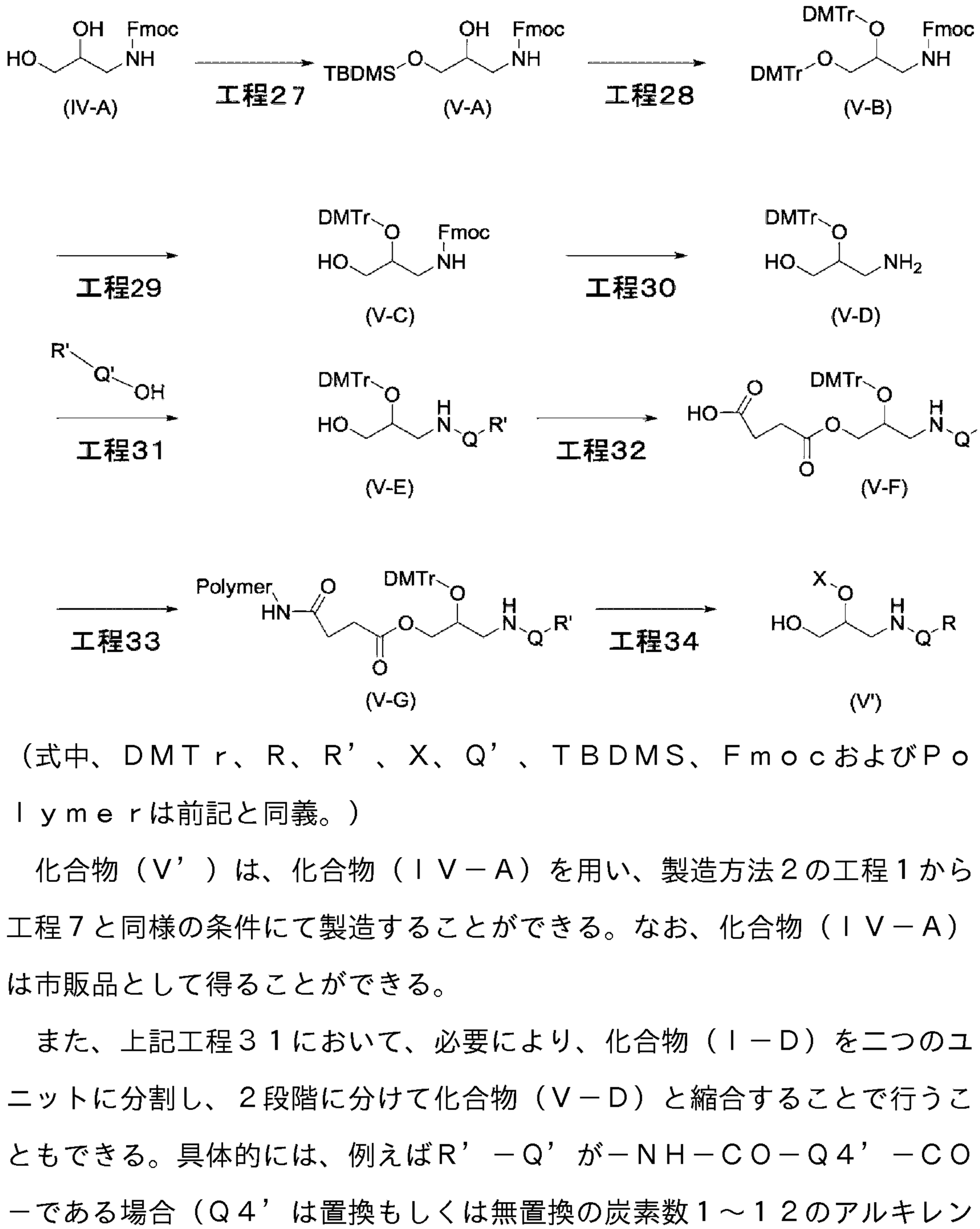
[0218] Ｑが－ＣＯ－である場合を例示して示しているが、Ｑが－ＣＯ－でない場合の化合物についても、Ｑの構造を適宜変更することにより、上記と同様の方法、公知の方法またはこれらを組み合わせ、適宜反応条件を変更することにより調製することができる。

[0219] 製造方法５

本発明における核酸誘導体は、式（Ｖ’）で表される部分構造を有する化合物の製造方法として、その製造方法を例示することができる。

[0220]

[化102]



[0221] （式中、ＤＭＴｒ、Ｒ、Ｒ’、Ｘ、Ｑ’、ＴＢＤＭＳ、ＦｍｏｃおよびＰｏｌｙｍｅｒは前記と同義。）

[0222] 化合物（Ｖ’）は、化合物（ＩＶ－Ａ）を用い、製造方法２の工程１から工程７と同様の条件にて製造することができる。なお、化合物（ＩＶ－Ａ）は市販品として得ることができる。

[0223] また、上記工程３１において、必要により、化合物（Ｉ－Ｄ）を二つのユニットに分割し、２段階に分けて化合物（Ｖ－Ｄ）と縮合することで行うこともできる。具体的には、例えばＲ’－Ｑ’が－ＮＨ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－である場合（Ｑ４’は置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンである）、工程３１において、化合物（Ｖ－Ｄ）と、$ＣＨ_3ＣＨ_2$－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）とを、工程３１と同様の方法で縮合させ、得られた化合物のエチルエステルをエタノールや水等の溶媒中、水酸化リチウム等の塩基で加水分解した後に、さらに$Ｒ’－ＮＨ_2$（Ｒ’は前記と同義）と縮合させることで目的とする化合物を得ることができる。な

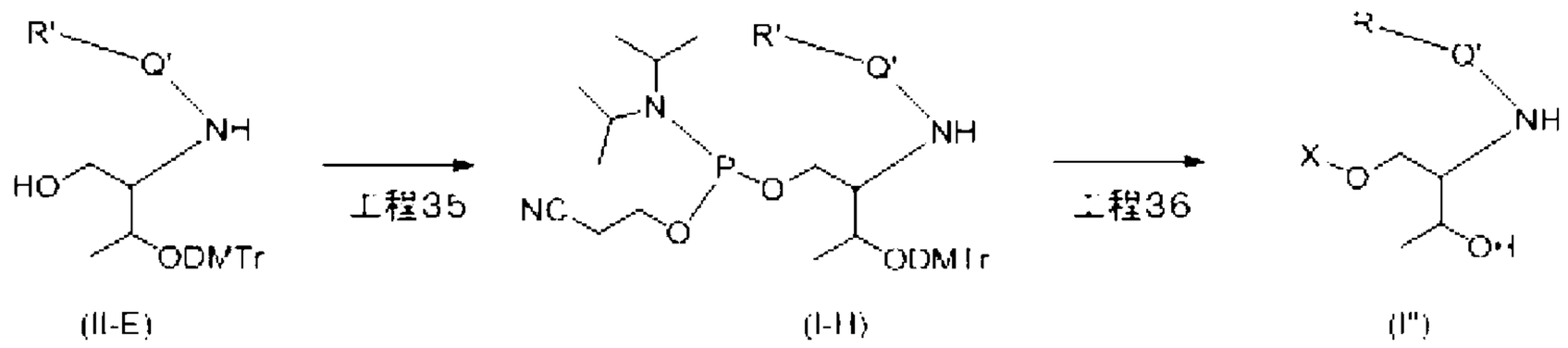
お、CH_3CH_2－Ｏ－ＣＯ－Ｑ４’－ＣＯ－ＯＨ（Ｑ４’は前記と同義）およびR’－NH_2（R’は前記と同義）は、公知の方法（例えば、Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｓｏｃｉｅｔｙ，　１３６，　１６９５８　（２０１４）を参照）もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0224] Ｑが－ＣＯ－である場合を例示して示しているが、Ｑが－ＣＯ－でない場合の化合物についても、Ｑ－ＯＨの構造を適宜変更することにより、上記と同様の方法、公知の方法またはこれらを組み合わせ、適宜反応条件を変更することにより調製することができる。

[0225] 製造方法６

オリゴヌクレオチドの５’末端に糖リガンド－テザー－ブランチャーユニットが結合した、本発明の核酸複合体の製造方法を以下に例示する。

[0226] [化103]



（式中、Ｒ、Ｒ’、Ｑ’、ＤＭＴｒおよびＸは前記と同義である）

[0227] 工程３５

化合物（Ｉ－Ｈ）は、化合物（ＩＩ－Ｅ）と２－シアノエチル－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトライソプロピルホスホジアミダイトを、無溶媒でまたは溶媒中、塩基および反応促進剤共存下、室温と２００℃の間の温度で、５分間～１００時間反応させることにより製造することができる。

溶媒としては、製造方法１の工程２で例示したものがあげられる。

塩基としては、製造方法１の工程３で例示したものがあげられる。

反応促進剤としては、例えば、１Ｈ－テトラゾール、４，５－ジシアノイミダゾール、５－エチルチオテトラゾール、５－ベンジルチオテトラゾール等があげられ、市販品として購入できる。

[0228] 工程３６

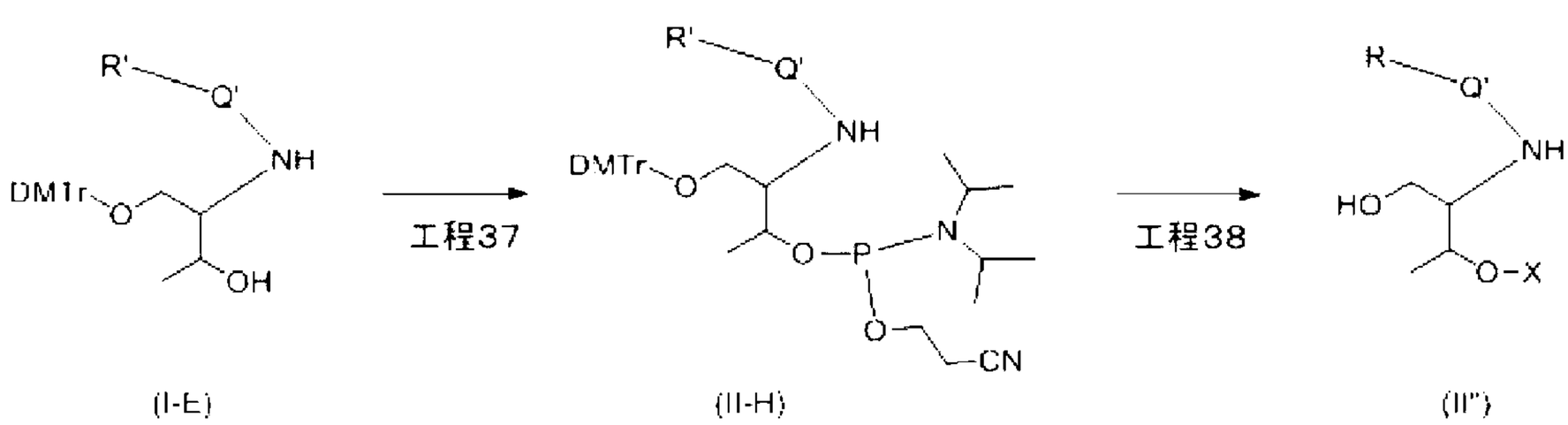
オリゴヌクレオチド鎖を伸長し、最後に化合物（Ｉ－Ｈ）を用い、オリゴヌクレオチドの５’末端を糖リガンド－テザー－ブランチャーユニットで修飾した後、固相からの脱離、保護基の脱保護および精製を行うことにより、化合物(I’’)を製造することができる。ここで、固相からの脱離、保護基の脱保護および精製は、それぞれ製造方法１の工程７と同様にして製造できる。

[0229] 製造方法７

オリゴヌクレオチドの５’末端に糖リガンド－テザー－ブランチャーユニットが結合した、本発明の核酸複合体の製造方法を以下に例示する。

[0230] 製造方法６の工程３５および３６と同様の条件にて製造することができる。

[0231] [化104]



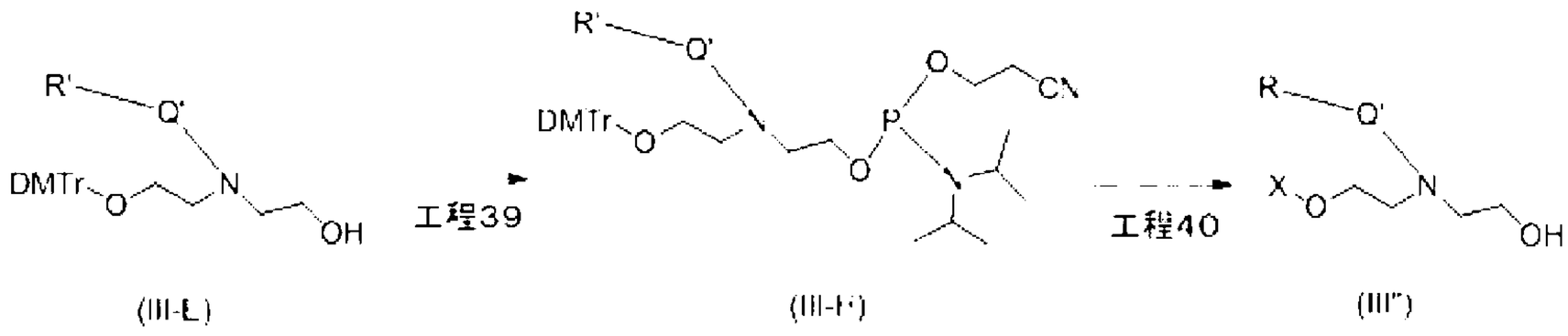
[0232] （式中、Ｒ、Ｒ’、Ｑ’、ＤＭＴｒおよびＸは前記と同義である）

[0233] 製造方法８

オリゴヌクレオチドの５’末端に糖リガンド－テザー－ブランチャーユニットが結合した、本発明の核酸複合体の製造方法を以下に例示する。

[0234] 製造方法６の工程３５および３６と同様の条件にて製造することができる。

[0235] [化105]



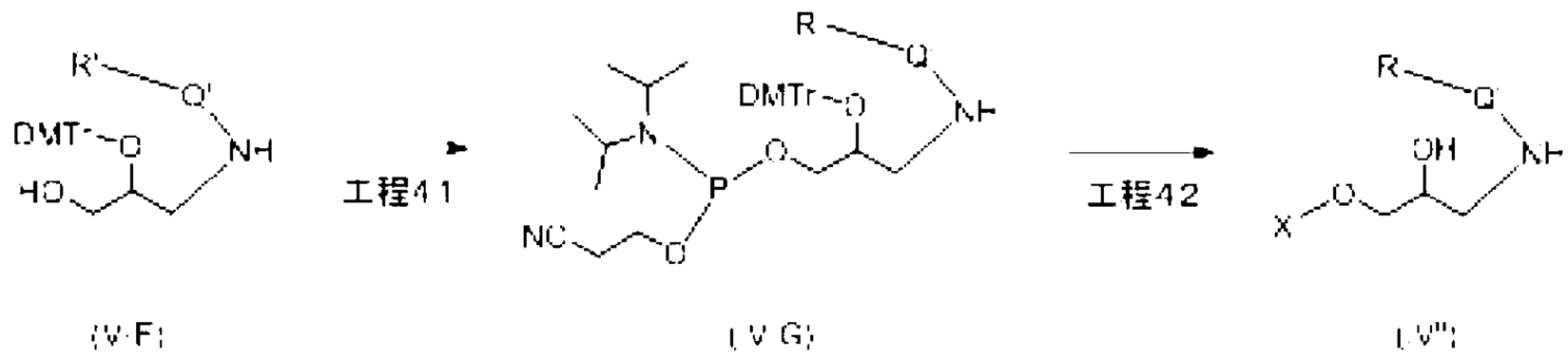
[0236] （式中、Ｒ、Ｒ’、Ｑ’、ＤＭＴｒおよびＸは前記と同義である）

[0237] 製造方法９

オリゴヌクレオチドの５’末端に糖リガンド－テザー－ブランチャーユニットが結合した、本発明の核酸複合体の製造方法を以下に例示する。

[0238] 製造方法６の工程３５および３６と同様の条件にて製造することができる。

[0239] [化106]



(V-F) (V-G) (V")

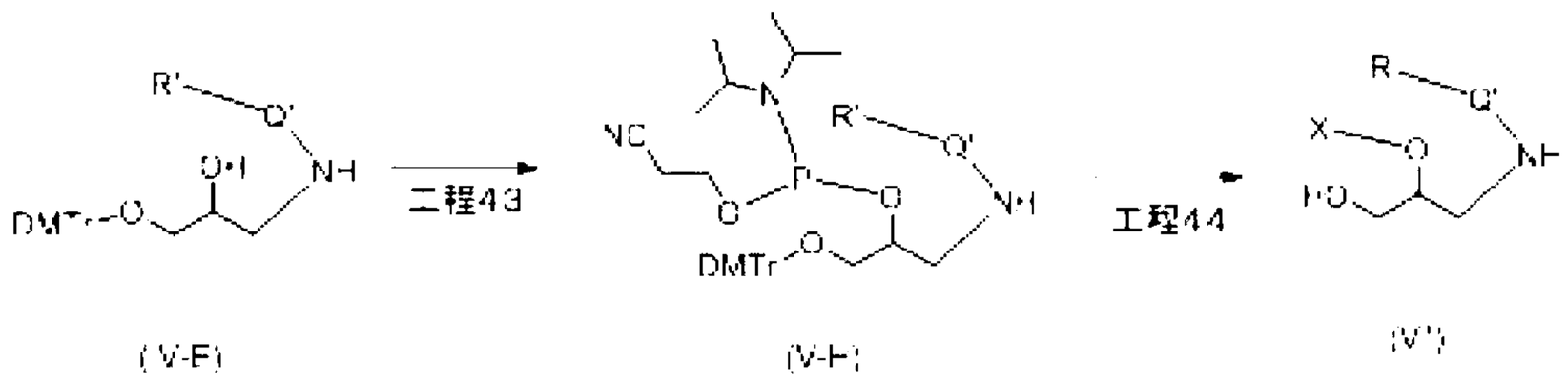
[0240] （式中、Ｒ、Ｒ’、Ｑ’、ＤＭＴｒおよびＸは前記と同義である）

[0241] 製造方法１０

オリゴヌクレオチドの５’末端に糖リガンド－テザー－ブランチャーユニットが結合した、本発明の核酸複合体の製造方法を以下に例示する。

[0242] 製造方法６の工程３５および３６と同様の条件にて製造することができる。

[0243] [化107]



(V-F) (V-H) (V")

[0244] （式中、Ｒ、Ｒ’、Ｑ’、ＤＭＴｒおよびＸは前記と同義である）

[0245] 製造方法１１

二本鎖核酸を構成するセンス鎖の３末端’または５’末端に糖リガンド－テザー－ブランチャーユニットを有するセンス鎖と、二本鎖核酸を構成するアンチセンス鎖とを、水または適当な緩衝液にそれぞれ溶解し、混合することにより二本鎖核酸を有する核酸複合体を得ることができる。

緩衝液としては、例えば酢酸緩衝液、トリス緩衝液、クエン酸緩衝液、リン酸緩衝液、水等が挙げられ、これらを単独または混合して用いられる。

[0246] センス鎖とアンチセンス鎖の混合比としては、センス鎖１当量に対してアンチセンス鎖が０．５～２当量が好ましく、０．９～１．１当量がより好ましく、０．９５当量～１．０５当量がさらに好ましい。

[0247] また、該センス鎖と該アンチセンス鎖を混合後、適宜アニーリング処理を行ってもよい。アニーリング処理は、センス鎖とアンチセンス鎖の混合物を、好ましくは５０～１００℃、より好ましくは６０～１００℃、さらに好ましくは８０～１００℃に加熱した後に、室温まで徐冷することにより行うことができる。

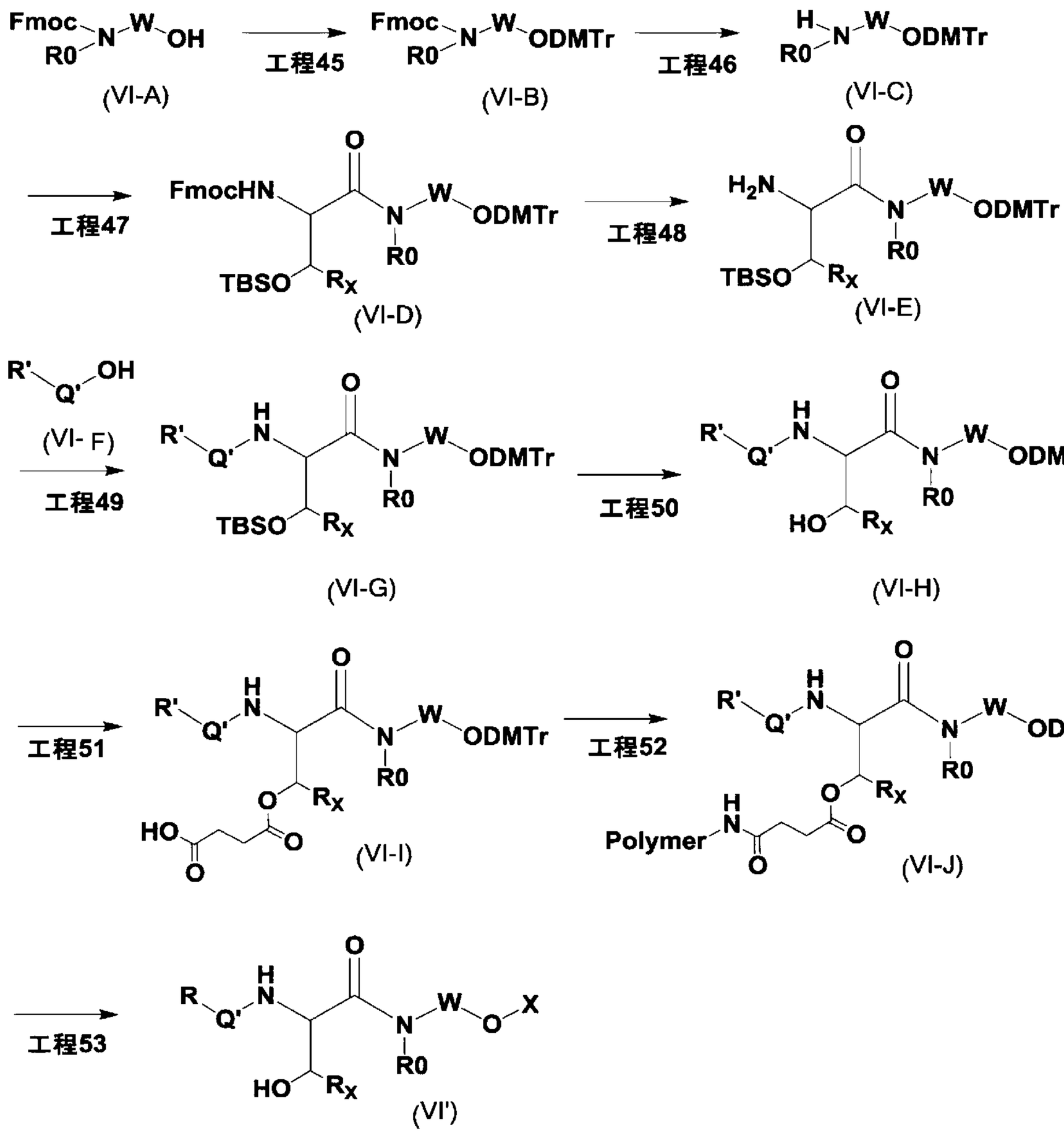
[0248] アンチセンス鎖は、上記の公知オリゴヌクレオチド合成法に準じて得ることができる。

[0249] 製造方法１２

本発明における核酸誘導体は、式（ＶＩ’）で表される部分構造を有する化合物の製造方法として、その製造方法を例示することができる。

[0250]

[化108]



[0251] (式中、ＤＭＴｒ、Ｒ、Ｒ’、Ｘ、Ｑ’、Ｐｏｌｙｍｅｒ、およびＦｍｏｃは前記と同義であり、ＴＢＳはｔ－ブチルジメチルシリル基を表し、Ｒ０およびＲｘは、同一または異なって、水素原子、Ｃ１～Ｃ１０のアルキレンまたはＣ３－Ｃ８のシクロアルキレンを表し、WはＣ１～Ｃ１０のアルキレン、Ｃ３－Ｃ８のシクロアルキレンであるか、Ｒ０と一緒になって、Ｃ４－Ｃ８の含窒素複素環を形成してもよい。)

[0252] 工程４５

化合物（ＶＩ－Ｂ）は化合物（ＶＩ－Ａ）を用い、製造方法１の工程１と同様の条件にて製造することができる。

化合物（ＶＩ－Ａ）は市販品として、または公知の方法（例えばバイオオーガニック・アンド・メディシナル・ケミストリー・レターズ，第１１巻，３８３－３８６頁）もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0253] 工程４６

化合物（ＶＩ－Ｃ）は化合物（ＶＩ－Ｂ）を用い、製造方法１の工程２と同様の条件にて製造することができる。

[0254] 工程４７

化合物（ＶＩ－Ｄ）は化合物（ＶＩ－Ｃ）を用い、製造方法１の工程３と同様の条件にて製造することができる。

[0255] 工程４８

化合物（ＶＩ－Ｅ）は化合物（ＶＩ－Ｄ）を用い、製造方法１の工程２と同様の条件にて製造することができる。

[0256] 工程４９

化合物（ＶＩ－Ｇ）は化合物（ＶＩ－Ｅ）と化合物（ＶＩ－Ｆ）とを用い、製造方法１の工程３と同様の条件にて製造することができる。

[0257] 工程５０

化合物（ＶＩ－Ｈ）は化合物（ＶＩ－Ｇ）を用い、製造方法２の工程９と同様の条件にて製造することができる。

[0258] 工程５１～５３

化合物（ＶＩ’）は化合物（ＶＩ－Ｈ）、化合物（ＶＩ－Ｉ）および化合物（ＶＩ－Ｊ）を用い、製造方法１の工程４～６と同様の条件にて製造することができる。

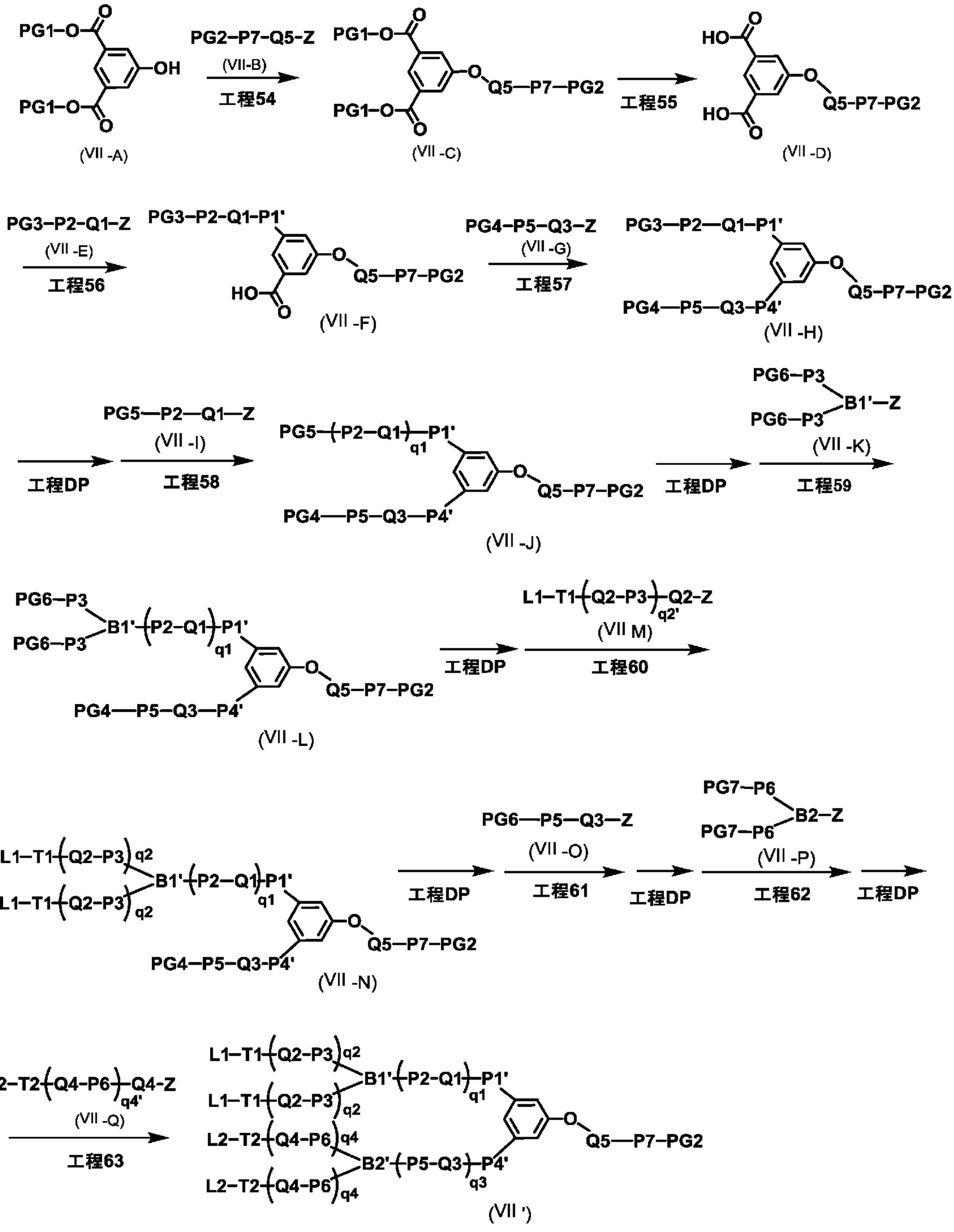
[0259] 工程４５～５３は公知の方法（例えば国際公開第２０１５／１０５０８３号記載の方法）、またはそれに準じた方法でも実施することができる。

化合物（ＶＩ－Ｆ）は公知の方法（例えば、ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティ（Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｓｏｃｉｅｔｙ），　１３６巻，　１６９５８頁，　２０１４年記載の方法）、またはそれに準じた方法で得ることができる。

[0260] 製造方法１３

式２においてＰ１およびＰ４が－ＮＨ－ＣＯ－、－Ｏ－ＣＯ－または－Ｓ－ＣＯ－である、糖リガンド－テザー－ユニットは以下の方法で製造することができる。

[0261] [化109]

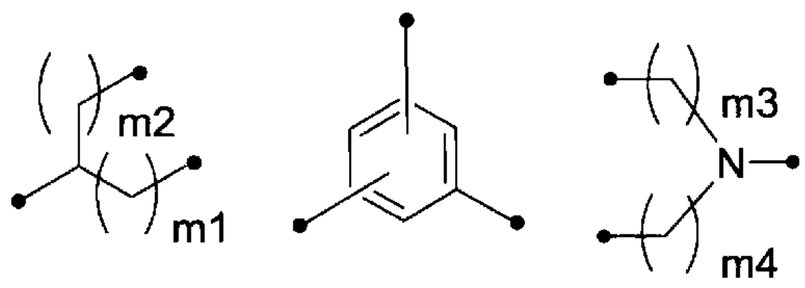


[0262] （式中、Ｑ１、Ｑ２、Ｑ３、Ｑ４、Ｑ５、Ｐ２、Ｐ３、Ｐ５、Ｐ６、Ｐ７、

Ｔ１、Ｔ２、Ｌ１、Ｌ２、ｑ１、ｑ２、ｑ３およびｑ４はそれぞれ前記と同義であり、ｑ２’はｑ２より１小さい整数を表し、ｑ４’はｑ４より１小さい整数を表し、Ｐ１’およびＰ４’は、それぞれ独立して、－ＮＨ－ＣＯ－、－Ｏ－ＣＯ－または－Ｓ－ＣＯ－を表し、ＺはＨ、ＯＨ、NH_2、ＳＨ、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子、メタンスルホニルオキシ、p-トルエンスルホニルオキシまたはカルボン酸を表し、Ｂ１’およびＢ２’は下記式の構造体のいずれか１つを表し、ＰＧ１、ＰＧ２、ＰＧ３、ＰＧ４、ＰＧ５、ＰＧ６およびＰＧ７はそれぞれ適切な保護基を表す。）

式：

[0263] [化110]



[0264] ｍ１、ｍ２、ｍ３またはｍ４はそれぞれ独立して、０～１０の整数を表す。

[0265] 工程５４

化合物（ＶＩＩ－Ｃ）は、化合物（ＶＩＩ－Ａ）と化合物（ＶＩＩ－Ｂ）を、テトロヒドロフラン等の溶媒中、トリフェニルホスフィンポリマー担持体を加え、氷冷下、ジイソプロピルアゾジカルボキシレートトルエン溶液を反応させることにより製造することができる。

溶媒としては製造工程１の工程２で例示したものが挙げられる。

化合物（ＶＩＩ－Ａ）は市販品として得ることができる。

[0266] 工程５５

化合物（ＶＩＩ－Ｄ）は化合物（ＶＩＩ－Ｃ）を用い、メタノール等の溶媒中、氷冷下、塩基の存在下、反応させることにより製造することができる。

溶媒としては、製造工程１の工程２で例示したものが挙げられる。

塩基としては、製造工程１の工程３で例示したものが挙げられる。

[0267] 工程５６

化合物（ＶＩＩ－Ｆ）は化合物（ＶＩＩ－Ｄ）および化合物（ＶＩＩ－Ｅ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

[0268] 工程５７

化合物（ＶＩＩ－Ｈ）は化合物（ＶＩＩ－Ｆ）および化合物（ＶＩＩ－Ｇ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

[0269] 工程５８

化合物（ＶＩＩ－Ｊ）は化合物（ＶＩＩ－Ｈ）および化合物（ＶＩＩ－Ｉ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

また、ＤＰ工程と工程５８を繰り返し行うことで、望みのｑ１の値をもつ化合物（ＶＩＩ－Ｊ）を製造することができる。

[0270] 工程５９

化合物（ＶＩＩ－Ｌ）は化合物（ＶＩＩ－Ｊ）および化合物（ＶＩＩ－Ｋ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

[0271] 工程６０

化合物（ＶＩＩ－Ｎ）は化合物（ＶＩＩ－Ｌ）および化合物（ＶＩＩ－Ｍ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

[0272] 工程６１～６３

化合物（ＶＩＩ’）は化合物（ＶＩＩ－Ｏ）、化合物（ＶＩＩ－Ｐ）および化合物　（ＶＩＩ－Ｑ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

また、ＤＰ工程と工程６１を繰り返し行うことで、望みのｑ3の値をもつ化合物（ＶＩＩ’）を製造することができる。

[0273] 工程ＤＰ

有機合成化学で常用される方法［例えば、プロテクティブ・グループス・イン・オーガニック・シンセシス第３版（Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ, ｔｈｉｒｄ ｅｄｉｔｉｏｎ）、グリーン（Ｔ．Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ）著、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ Ｉｎｃ．（１９９９年）等に記載の方法等］を適切に用いるこ

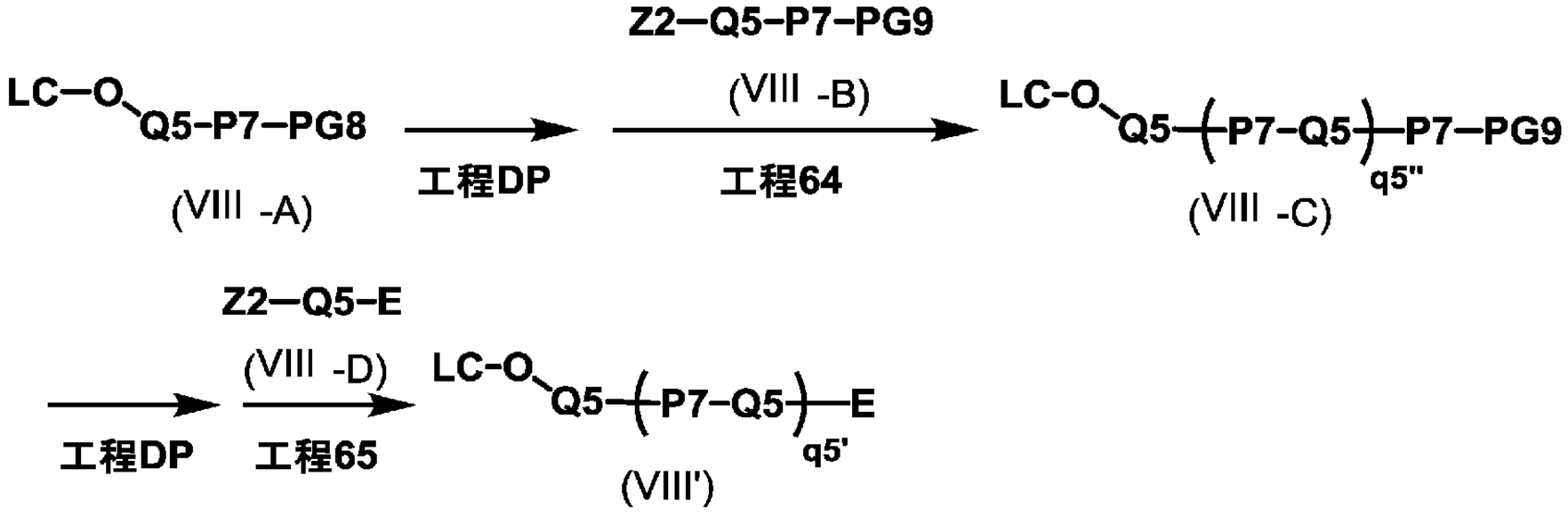
とで製造することができる。

化合物（ＶＩＩ－Ｂ）、化合物（ＶＩＩ－Ｅ）、化合物（ＶＩＩ－Ｇ）、化合物（ＶＩＩ－Ｉ）、化合物（ＶＩＩ－Ｋ）、化合物（ＶＩＩ－Ｍ）、化合物（ＶＩＩ－Ｏ）、化合物（ＶＩＩ－Ｐ）および化合物（ＶＩＩ－Ｑ）は市販品として、または「実験化学講座第４版　有機合成、ｐ．　２５８、丸善（１９９２年）」、「Ｍａｒｃｈ’ｓ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：　Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ，　Ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ，　ａｎｄ　Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，　７ｔｈ　Ｅｄｉｔｉｏｎ」に記載の方法を組み合わせること、もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0274] 製造方法１４

式４においてＰ７が－Ｏ－である、ユニットは以下の方法で製造することができる。

[0275] [化111]



[0276] （式中、Ｑ５、Ｐ７、ｑ５はそれぞれ前記と同義であり、ｑ５’’はｑ５より２小さい整数を表し、ｑ５’はｑ５より１小さい整数を表し、Ｚ２はＨ、ＯＨ、NH_2またはＳＨを表し、ＰＧ８およびＰＧ９はそれぞれ適切な保護基を表し、ＬＣは糖リガンド－テザーユニットを表し、Ｅはカルボン酸またはマレイミドを表す。）

[0277] 工程６４

化合物（ＶＩＩＩ－Ｃ）は化合物（ＶＩＩＩ－Ａ）および化合物（ＶＩＩＩ－Ｂ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

また、ＤＰ工程と工程６４を繰り返し行うことで、望みのｑ5’’の値をもつ化合物（ＶＩＩＩ－Ｃ）を製造することができる。　化合物（ＶＩＩＩ－Ｂ）は市販品として、または「実験化学講座第４版　有機合成、ｐ．　２５８、丸善（１９９２年）」、「Ｍａｒｃｈ’ｓ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：　Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ，　Ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ，　ａｎｄ　Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，　7th　Ｅｄｉｔｉｏｎ」に記載の方法を組み合わせること、もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0278] 工程６５

化合物（ＶＩＩＩ’）は化合物（ＶＩＩＩ－Ｃ）および化合物（ＶＩＩＩ－Ｄ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

化合物（ＶＩＩＩ－Ｄ）は市販品として、または「実験化学講座第４版　有機合成、ｐ．　２５８、丸善（１９９２年）」、「Ｍａｒｃｈ’ｓ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：　Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ，　Ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ，　ａｎｄ　Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，　7th　Ｅｄｉｔｉｏｎ」に記載の方法を組み合わせること、もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0279] 工程ＤＰ

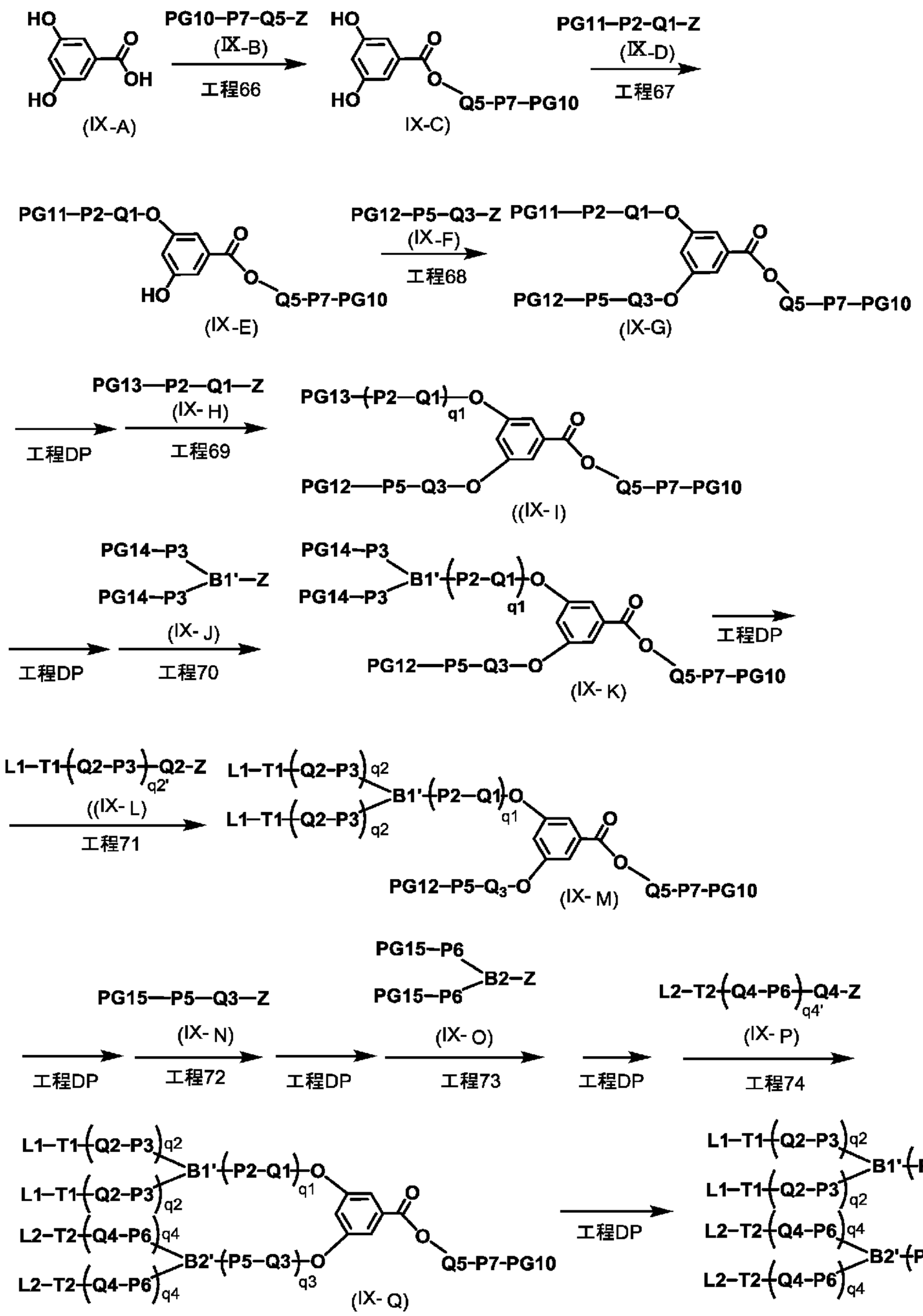
有機合成化学で常用される方法［例えば、プロテクティブ・グループス・イン・オーガニック・シンセシス第３版（Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ　Ｇｒｏｕｐｓ　ｉｎ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，　ｔｈｉｒｄ　ｅｄｉｔｉｏｎ）、グリーン（Ｔ．Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ）著、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆Ｓｏｎｓ　Ｉｎｃ．（１９９９年）等に記載の方法等］を適切に用いることで製造することができる。

[0280] 製造方法１５

式２においてＰ１およびＰ４が－Ｏ－である、糖リガンド－テザーユニットは以下の方法で製造することができる。

[0281]

[化112]

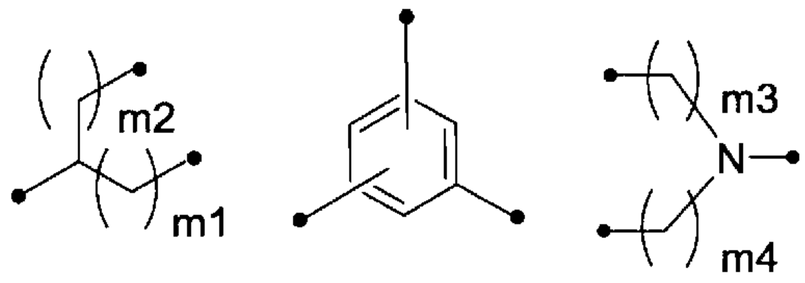


[0282] （式中、Ｑ１、Ｑ２、Ｑ３、Ｑ４、Ｐ２、Ｐ３、Ｐ５、Ｐ６、Ｔ１、Ｔ２、Ｌ１、Ｌ２、ｑ１、ｑ２、ｑ３、ｑ４、ｑ２’、ｑ４’　、Ｚ、Ｂ１’、Ｂ２’はそれぞれ前記と同義であり、ＰＧ１０、ＰＧ１１、ＰＧ１２、ＰＧ１３、ＰＧ１４およびＰＧ１５はそれぞれ適切な保護基を表す）

式：

[0283]

[化113]



[0284] ｍ１、ｍ２、ｍ３およびｍ４は前記と同義である。

[0285] 工程６６

化合物（ＩＸ－Ｃ）は化合物（ＩＸ－Ａ）と化合物（ＩＸ－Ｂ）をＮ，Ｎ’－ジメチルホルムアミドな等の溶媒に溶解し、炭酸水素カリウム等の塩基を加えて、室温～２００℃にて５分間～１００時間反応させることにより製造することができる。

溶媒としては、製造工程１の工程２に例示したものが挙げられる。

塩基としては、製造工程１の工程３で例示したものが挙げられる。

[0286] 工程６７

化合物（ＩＸ－Ｅ）は化合物化合物（ＩＸ－Ｃ）と化合物（ＩＸ－Ｄ）をＮ，　Ｎ’－ジメチルホルムアミド等の溶媒に溶解し、炭酸水素カリウム等の塩基を加えて、室温～２００℃で５分間～１００時間反応させることにより製造することができる。

溶媒としては、製造工程１の工程２で例示したものが挙げられる。

塩基としては、製造工程１の工程３で例示したものが挙げられる。

化合物（ＩＸ－Ａ）は市販品として得ることができる。

[0287] 工程６８

化合物（ＩＸ－Ｇ）は化合物（ＩＸ－Ｅ）および化合物（ＩＸ－Ｆ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

[0288] 工程６９

化合物（ＩＸ－Ｉ）は化合物（ＩＸ－Ｇ）および化合物（ＩＸ－Ｈ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

また、ＤＰ工程と工程６９を繰り返し行うことで、望みのｑ１の値をもつ化合物（ＶＩＩ－Ｊ）を製造することができる。

[0289] 工程７０

化合物（ＩＸ－Ｋ）は化合物（ＩＸ－Ｉ）および化合物（ＩＸ－Ｊ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

[0290] 工程７１

化合物（ＩＸ－Ｍ）は化合物（ＩＸ－Ｋ）および化合物（ＩＸ－Ｌ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

[0291] 工程７２－７４

化合物（ＩＸ’）は化合物（ＩＸ－Ｍ），　化合物（ＩＸ－Ｎ），　化合物（ＩＸ－Ｏ）および化合物（ＩＸ－Ｐ）を用い、製造工程１の工程３と同様の条件で製造することができる。

また、ＤＰ工程と工程７２を繰り返し行うことで、望みのｑ３の値をもつ化合物（ＩＸ’）を製造することができる。

[0292] 工程ＤＰ

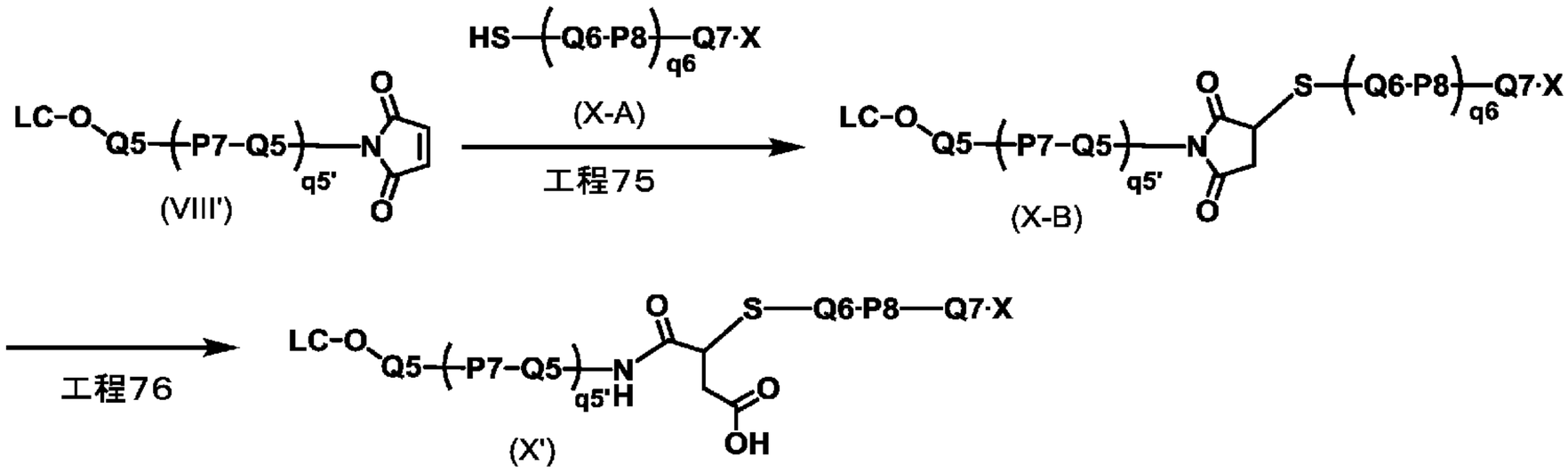
有機合成化学で常用される方法［例えば、プロテクティブ・グループス・イン・オーガニック・シンセシス第３版（Ｐｒｏｔｅｃｔｉｖｅ　Ｇｒｏｕｐｓ　ｉｎ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ，　ｔｈｉｒｄ　ｅｄｉｔｉｏｎ）、グリーン（Ｔ．Ｗ．Ｇｒｅｅｎｅ）著、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆Ｓｏｎｓ　Ｉｎｃ．（１９９９年）等に記載の方法等］を適切に用いることで製造することができる。

[0293] 化合物（ＩＸ’－Ｂ），　化合物（ＩＸ’－Ｄ），　化合物（ＩＸ’－Ｆ），　化合物（ＩＸ’－Ｈ），　化合物（ＩＸ’－Ｊ），　化合物（ＩＸ’－Ｌ），　化合物（ＩＸ’－Ｎ），　化合物（ＩＸ’－Ｏ）および化合物（ＩＸ’－Ｐ）は市販品として、または「実験化学講座第４版　有機合成、ｐ．　２５８、丸善（１９９２年）」、「Ｍａｒｃｈ’ｓ　Ａｄｖａｎｃｅｄ　Ｏｒｇａｎｉｃ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：　Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ，　Ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ，　ａｎｄ　Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ，　７ｔｈ　Ｅｄｉｔｉｏｎ」に記載の方法を組み合わせること、もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0294] 製造方法１６

式１～式８の核酸複合体の製造方法として、以下の方法も用いることができる。

[0295] [化114]



[0296] （式中、ＬＣ、Ｑ５、Ｑ６、Ｑ７、Ｐ７、Ｐ８、ｑ５’、ｑ６およびＸは前記と同義である。）

[0297] 工程７５

化合物（Ｘ－Ｂ）は化合物（ＸＩＩＩ’’）と化合物（Ｘ－Ａ）を溶媒中、０℃～１００℃で１０秒間～１００時間反応させることにより製造することができる。

溶媒としては水、リン酸緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液、ジメチルスルホキシド等があげられ、これらは単独でまたは混合して用いられる。

化合物（ＶＩＩＩ’）は製造法１４を用いることで、得ることができる。

[0298] 化合物（Ｘ－Ａ）は公知の方法（例えばバイオコンジュゲート・ケミストリー（Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ），　第２１巻，１８７－２０２頁，　２０１０年、またはカレント・プロトコールズ・イン・ヌクレイック・アシッド・ケミストリー　（Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ），　２０１０年，　９月；　ＣＨＡＰＴＥＲ：　Ｕｎｉｔ　４．４１）もしくはそれに準じた方法で得ることができる。

[0299] 工程７６

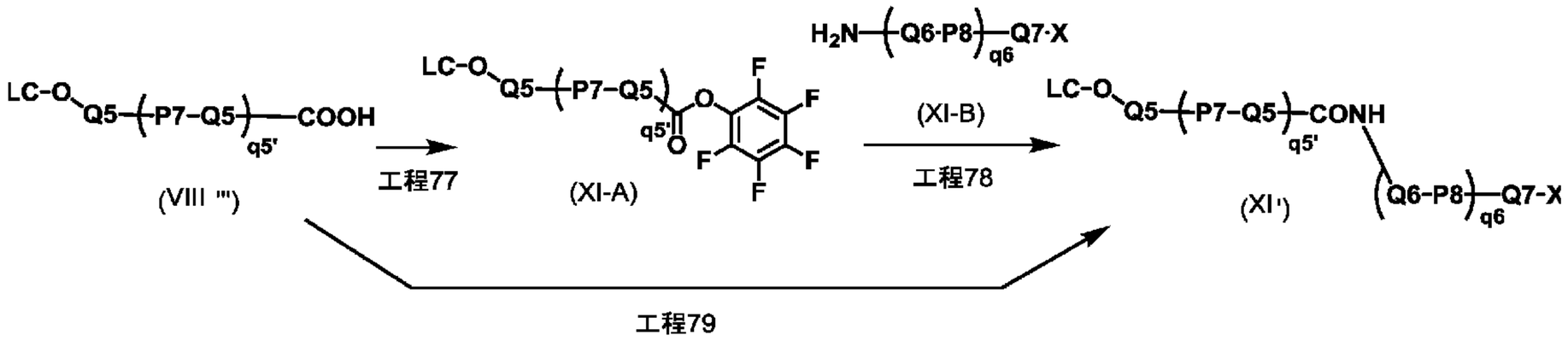
化合物（Ｘ’）は化合物（Ｘ－Ｂ）を用いて炭酸ナトリウム水溶液またはアンモニア水中等ｐＨ８以上の条件下、室温と２００℃の間の温度で、５分

間～１００時間反応させることにより製造することができる。

[0300] 製造方法１７

式１～式８の核酸複合体の製造方法として、以下の方法も用いることができる。

[0301] [化115]



[0302] （式中、ＬＣ、Ｑ５、Ｑ６、Ｑ７、Ｐ７、Ｐ８、ｑ５’、ｑ６およびＸは前記と同義である。）

[0303] 工程７７

化合物（ＸＩ－Ａ）は化合物（ＶＩＩＩ’’）を用いて、公知の方法（例えばバイオコンジュゲート・ケミストリー（Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ），第２６巻，１４５１－１４５５頁，２０１５年に記載の方法）またはそれに準じた方法で得ることができる。

化合物（ＶＩＩＩ’’’）は製造法１４を用いることで、得ることができる。

[0304] 工程７８

化合物（ＸＩ’）は化合物（ＸＩ－Ａ）と化合物（ＸＩ－Ｂ）を用いて、公知の方法（例えばバイオコンジュゲート・ケミストリー（Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ），第２６巻，１４５１－１４５５頁，２０１５年に記載の方法）またははそれに準じた方法で得ることができる。

化合物（ＸＩ－Ｂ）はバイオコンジュゲート・ケミストリー（Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ），第２６巻，１４５１－１４５５頁，２０１５年に記載の方法）またははそれに準じた方法で得ることができる。

[0305] 工程７９

また別の方法として、化合物（ＸＩ’）は、公知の方法（例えばバイオコンジュゲートケミストリー（Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ），　第２２巻，１７２３－１７２８頁，　２０１１年を参照）あるいはそれに準じた方法で、化合物（ＸＩ－Ａ）から直接得ることができる。

[0306] 本明細書における核酸複合体は、例えば酸付加塩、金属塩、アンモニウム塩、有機アミン付加塩、アミノ酸付加塩等の塩として得ることも可能である。

[0307] 酸付加塩としては、例えば塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩等の無機酸塩、酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩等の有機酸塩が挙げられ、金属塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩、マグネシウム塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、亜鉛塩等が挙げられ、アンモニウム塩としては、例えばアンモニウム、テトラメチルアンモニウム等の塩が挙げられ、有機アミン付加塩としては、例えば、モルホリン、ピペリジン等の付加塩が挙げられ、アミノ酸付加塩としては、例えば、リジン、グリシン、フェニルアラニン等の付加塩が挙げられる。

[0308] 本明細書の核酸複合体の塩を調製したい場合には、該複合体が所望の塩の形で得られるときはそのまま精製すればよく、また、遊離の形で得られるときは、該複合体を適当な溶媒に溶解または懸濁し、対応する酸または塩基を加え、単離・精製すればよい。また、該複合体塩を形成する対イオンを異なる対イオンに変換する際には、該複合体塩を適当な溶媒に溶解または懸濁した後、酸、塩基および／または塩（塩化ナトリウム、塩化アンモニウム等の無機塩等）を数当量～大過剰量加えて単離、精製すればよい。

[0309] 本明細書の核酸複合体の中には、幾何異性体、光学異性体等の立体異性体、互変異性体等が存在し得るものもあるが、全ての可能な異性体およびそれらの混合物も本発明に包含される。

[0310] また、本明細書の核酸複合体は、水または各種溶媒との付加物の形で存在することもああり、これらの付加物も本発明に包含される。

[0311] さらに、本発明の核酸複合体は、分子中の一部あるいは全部の原子が質量数の異なる原子（同位体）（例えば、重水素原子等）で置換されたものも包含される。

[0312] 本発明の医薬組成物は、式１で表される核酸複合体を含む。本発明の核酸複合体は、Ｌ１およびＬ２の糖リガンドを有することにより、標的細胞に認識され、細胞内に導入される。

本発明の核酸複合体は、哺乳動物に投与して、生体内において、標的遺伝子の発現を低下または停止させることで抑制し、標的遺伝子に関連する疾患の治療に用いることができる。

本発明の核酸複合体を治療剤または予防剤として使用する場合、投与経路としては、治療に際し最も効果的な投与経路を使用するのが望ましく、特に限定されるものではないが、例えば、静脈内投与、皮下投与および筋肉内投与等が挙げられ、好ましくは皮下投与である。

投与量は、投与対象の病状や年齢、投与経路等によって異なるが、例えば二本鎖のオリゴヌクレオチドに換算した1日投与量が0.1μg～1000 mgとなるように投与すればよく、1日投与量が1～100 mgとなるように投与することがより好ましい。

[0313] 静脈内投与または筋肉内投与に適当な製剤としては、例えば注射剤があげられ、調製した液剤をそのまま例えば注射剤等の形態として用いることも可能であるが、該液剤から例えば濾過、遠心分離等によって溶媒を除去して使用することも、該液剤を凍結乾燥して使用する、および/または例えばマンニトール、ラクトース、トレハロース、マルトースもしくはグリシン等の賦形剤を加えた液剤を凍結乾燥して使用することもできる。

注射剤の場合、液剤または溶媒を除去または凍結乾燥した組成物に、例えば水、酸、アルカリ、種々の緩衝液、生理食塩水またはアミノ酸輸液等を混合して注射剤を調製することが好ましい。また、例えばクエン酸、アスコルビン酸、システインもしくはEDTA等の抗酸化剤、またはグリセリン、ブドウ糖もしくは塩化ナトリウム等の等張化剤等を添加して注射剤を調製すること

も可能である。また、例えばグリセリン等の凍結保存剤を加えて凍結保存することもできる。

[0314] 本発明の組成物を、哺乳動物の細胞に投与することで、本発明の組成物中の二本鎖核酸を細胞内に導入することができる。

[0315] インビボにおける本発明の核酸複合体の哺乳動物の細胞への導入方法は、インビボにおいて行うことのできる公知のトランスフェクションの手順に従って行えばよい。本発明の組成物を、人を含む哺乳動物に静脈内投与することで、肝臓へ送達され、肝臓または肝細胞内に本発明の組成物中の二本鎖核酸を導入することができる。

[0316] 肝臓または肝細胞内に本発明の組成物中の二本鎖核酸が導入されると、その肝細胞内のCFB遺伝子の発現を低下させ、補体第二経路の異常により媒介される障害を治療あるいは予防することができる。CFB関連疾患としては、非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、加齢黄斑変性症（AMD）、膜性増殖性糸球体腎炎（MPGN）、C3腎炎、膜性腎症、喘息、自己免疫疾患（例えば、全身性エリテマトーデス(SLE)、乾癬、視神経脊髄炎、重症筋無力症等）等が挙げられる。投与対象は、哺乳動物であり、ヒトであることが好ましい。

[0317] 投与量は、投与対象の病状や年齢、投与経路等によって異なるが、例えば二本鎖核酸に換算した1日投与量が0.1μg～1000 mgとなるように投与すればよく、1日投与量が1～100 mgとなるように投与することが好ましい。

[0318] また、本発明は、疾患の治療に使用するための核酸複合体；疾患の治療に使用するための医薬組成物；疾患を治療するための核酸複合体の使用；疾患の治療用医薬の製造における核酸複合体の使用；疾患の治療用医薬の製造に使用するための核酸複合体；有効量の核酸複合体を、その必要のある対象に投与することを含む、疾患の治療または予防方法；を提供する。

実施例

[0319] 次に、参考例、実施例および試験例により、本発明を具体的に説明する。ただし、本発明はこれら実施例および試験例に限定されるものではない。な

お、実施例および参考例に示されたプロトン核磁気共鳴スペクトル(¹H NMR)は、270MHz、300MHzまたは400MHzで測定されたものであり、化合物および測定条件によっては交換性プロトンが明瞭には観測されないことがある。また、シグナルの多重度の表記としては通常用いられるものを用いているが、brとはbroadを意味し、見かけ上幅広いシグナルであることを表す。

UPLC分析は以下の条件を用いた。

移動相A： 0.1%ギ酸含有水溶液、B： アセトニトリル溶液

グラジエント： 移動相Bが10%-90%のリニアグラジエント（3分間）

カラム： Waters社製ACQUITY UPLC BEH C18 (1.7 μm、内経 2.1 x 50 mm)

流速： 0.8 mL/min

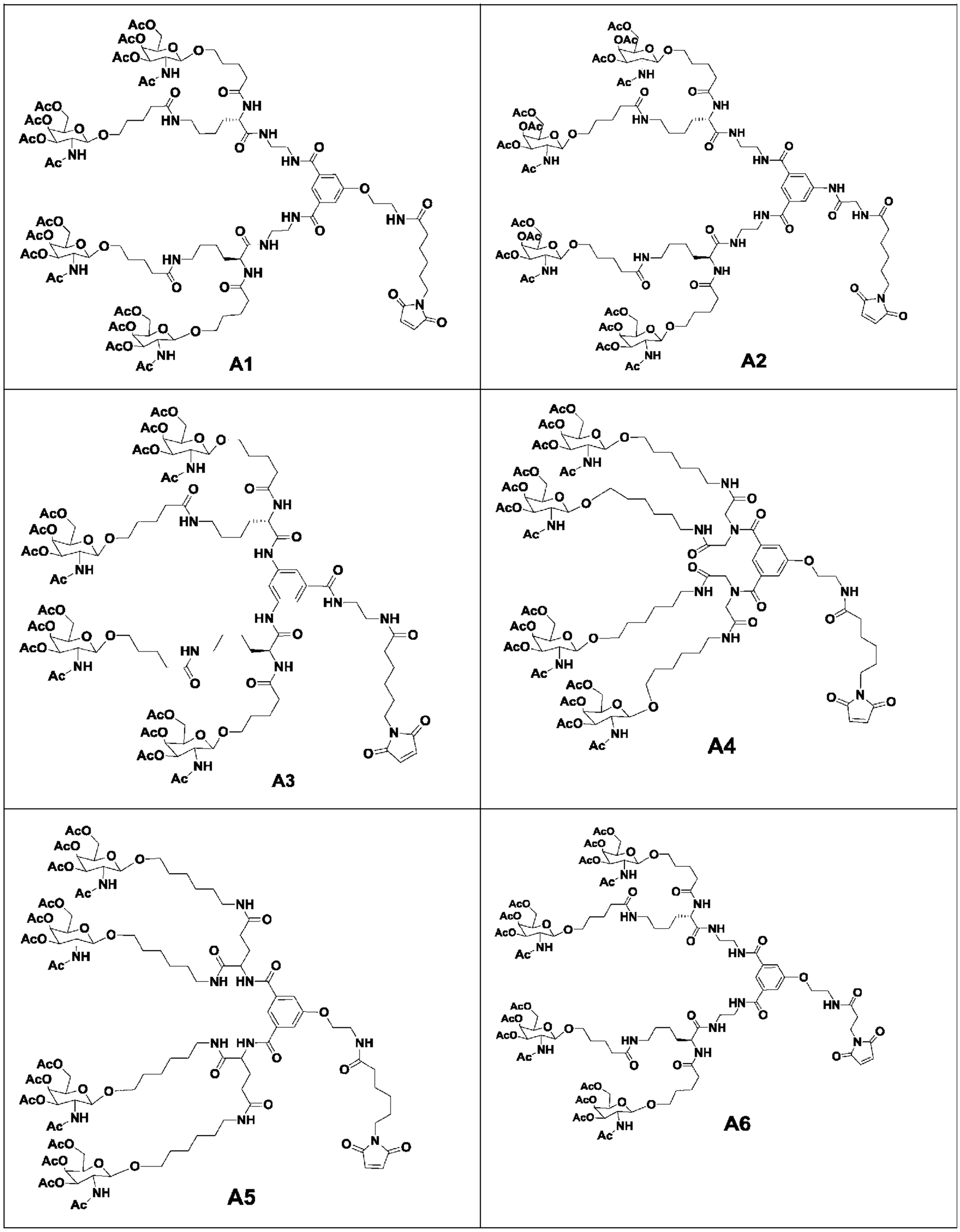
PDA検出波長： 254 nm (検出範囲190-800 nm)

[0320] 表X-1～表X-4に参考例化合物を示す。

[0321]

[表5]

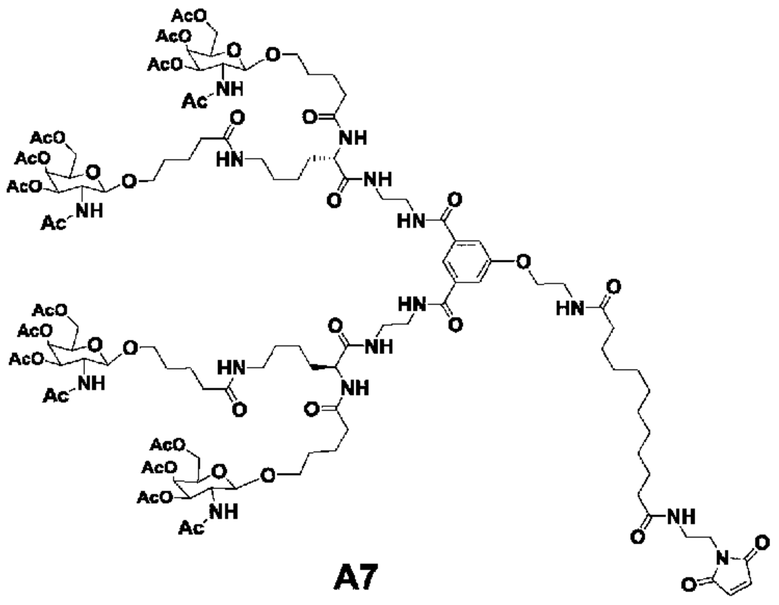
表 X-1：化合物Ａ１～Ａ７



[0322]

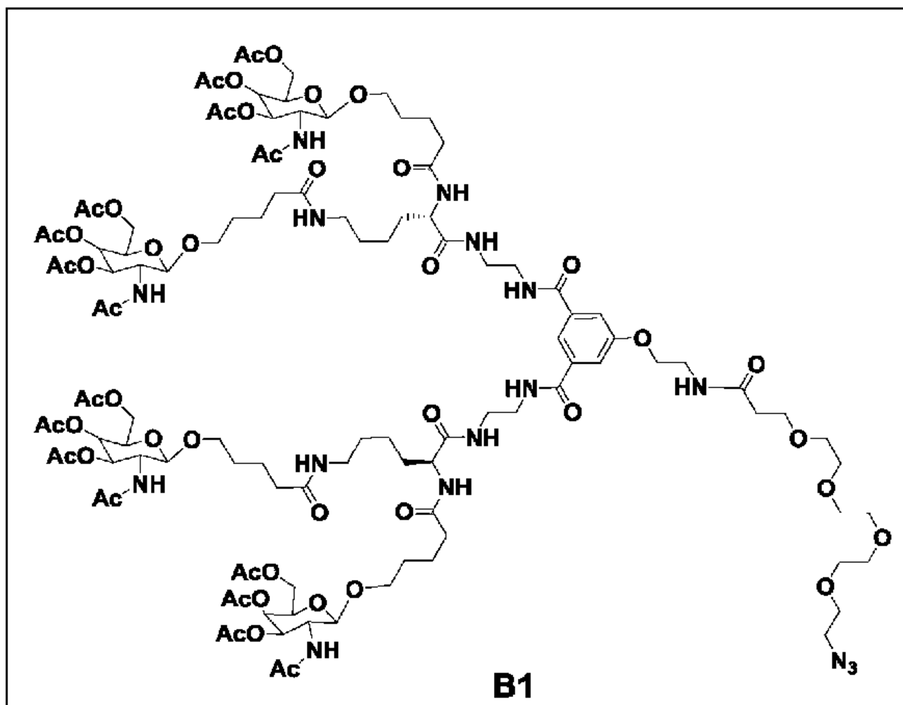
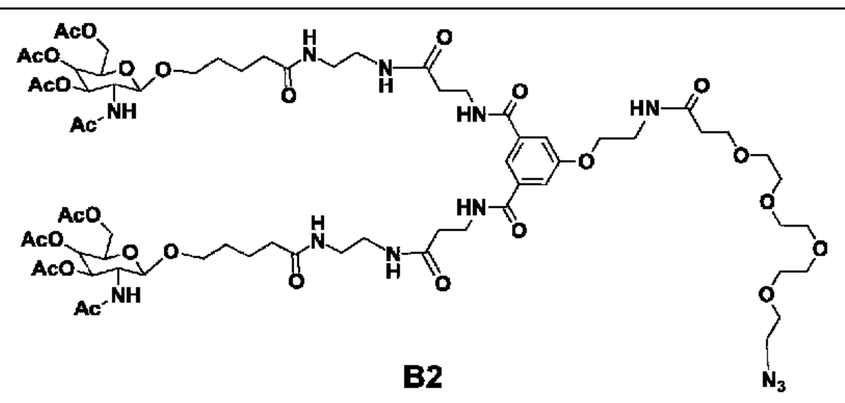
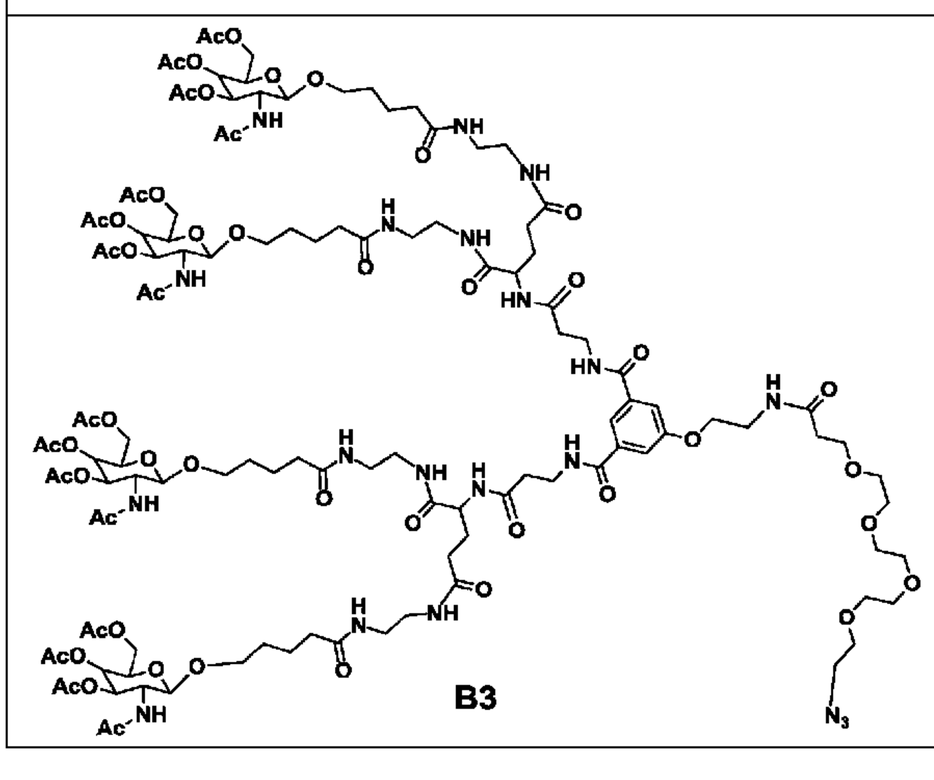
[表6]

表 X-1 の続き

 A7	

[0323] [表7]

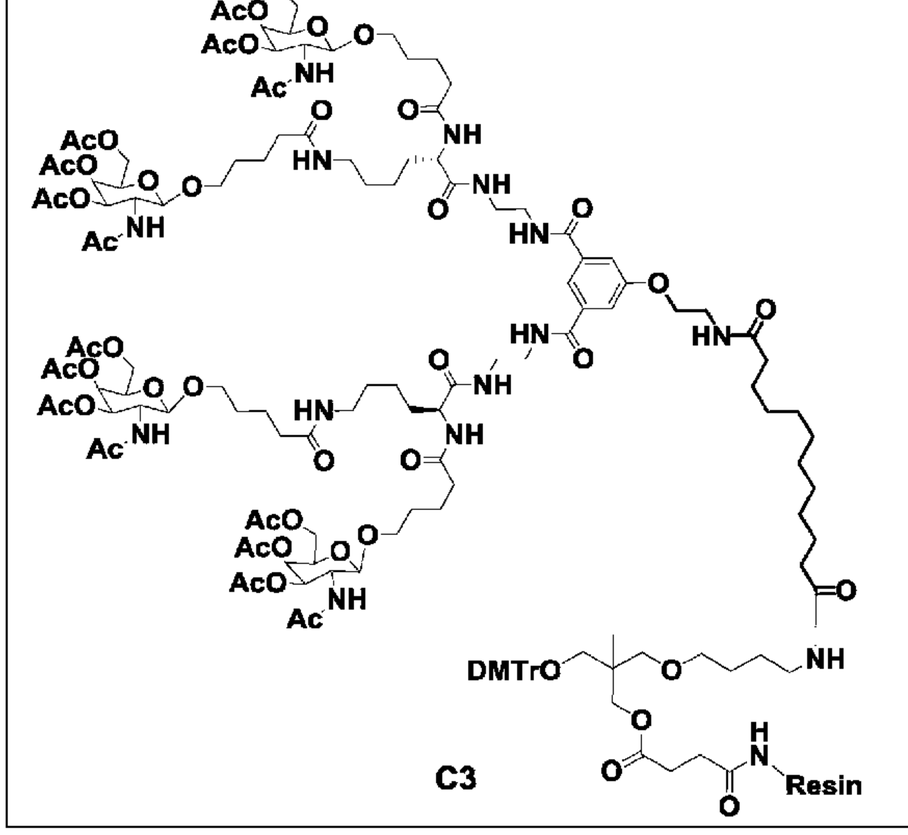
表 X-2:化合物Ｂ１～Ｂ３

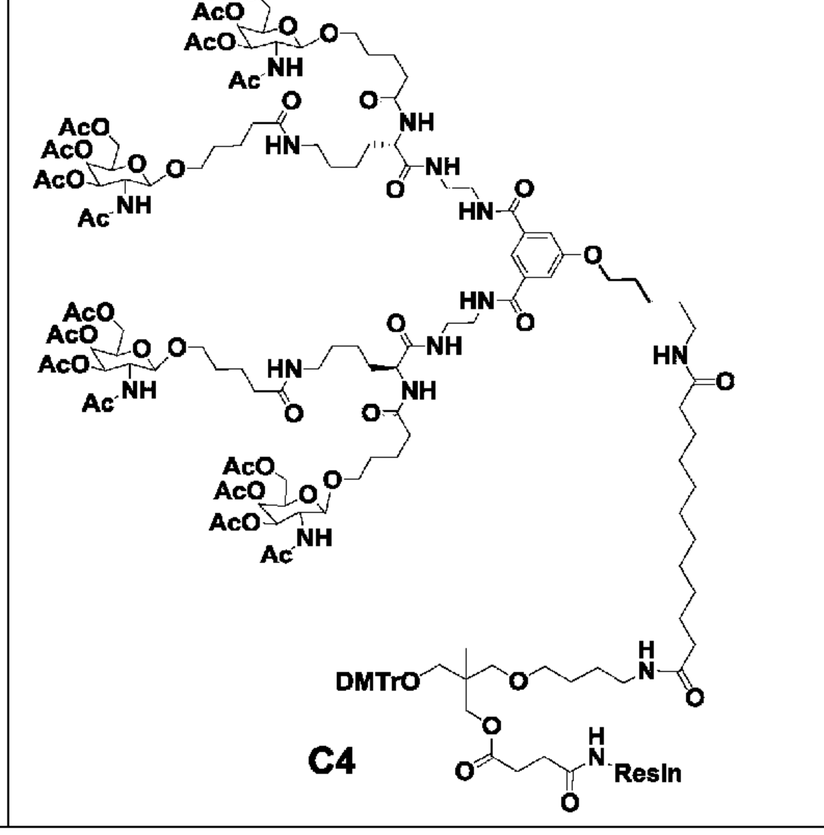
 B1	 B2
 B3	

[0324]

[表8]

表 X-3：化合物Ｃ１～Ｃ１７

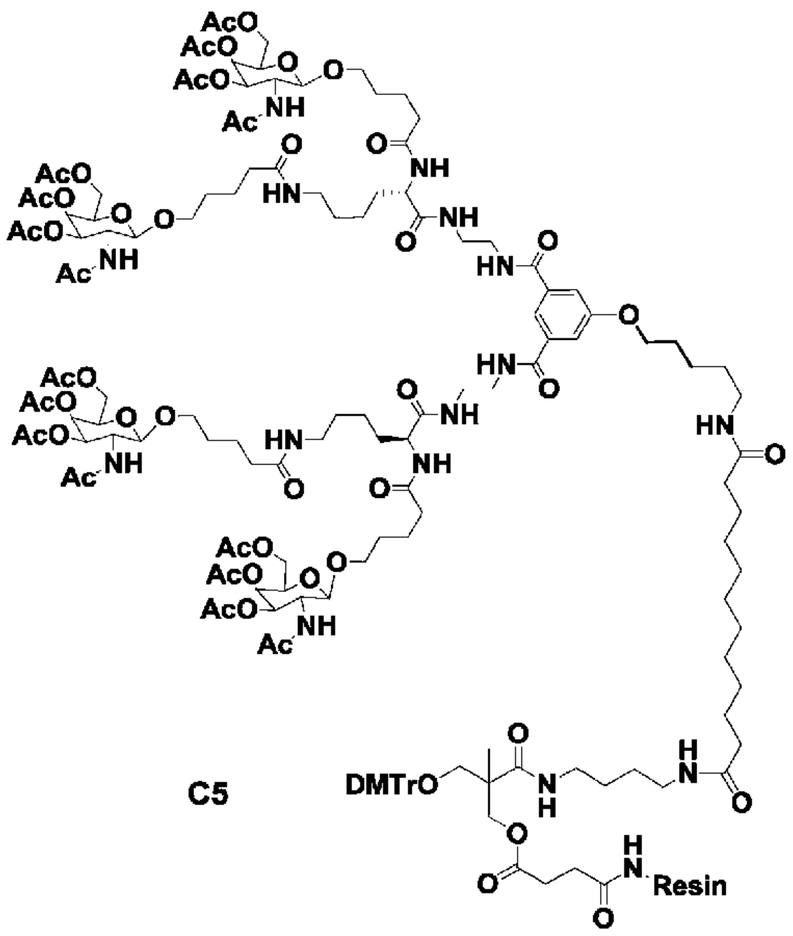
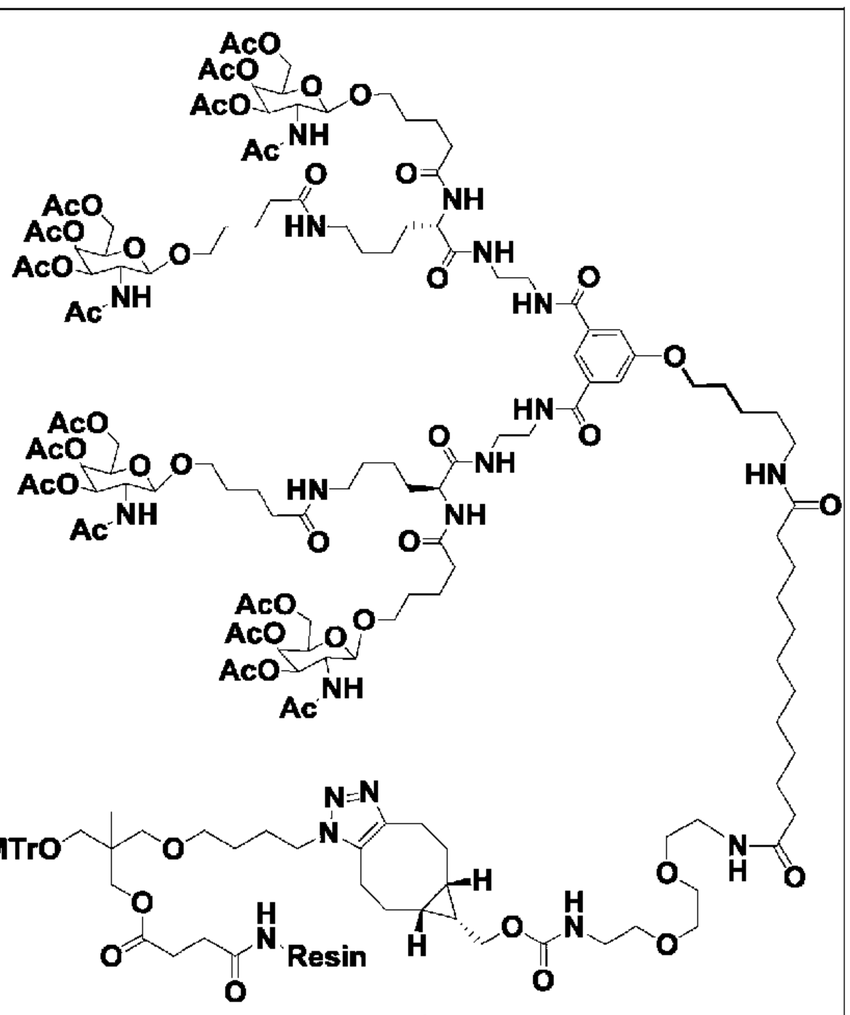
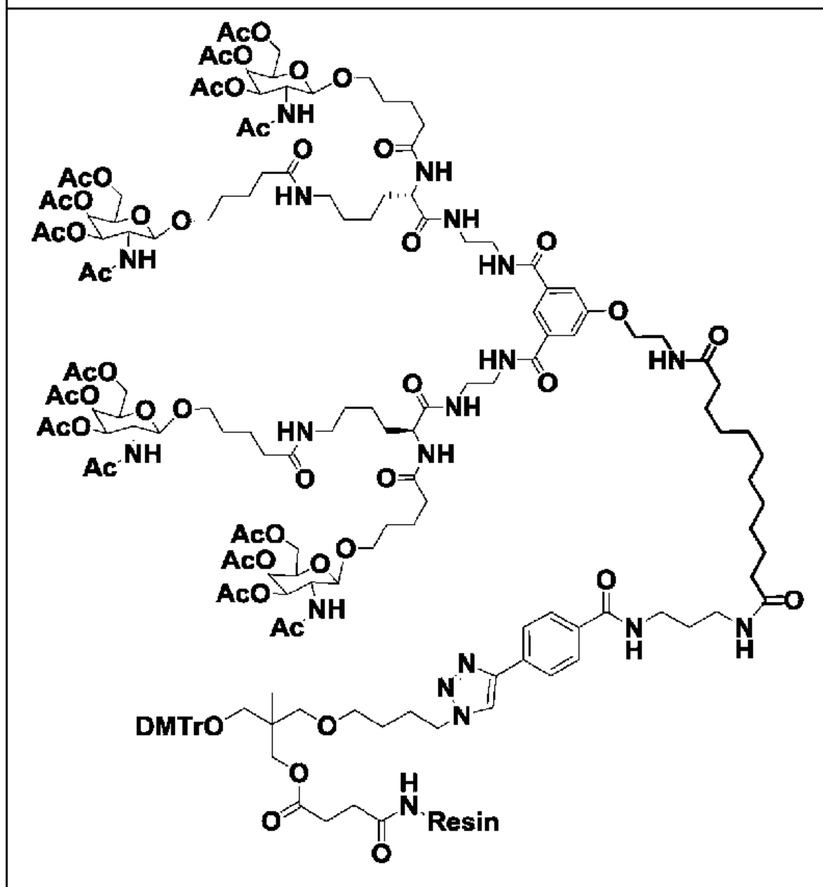
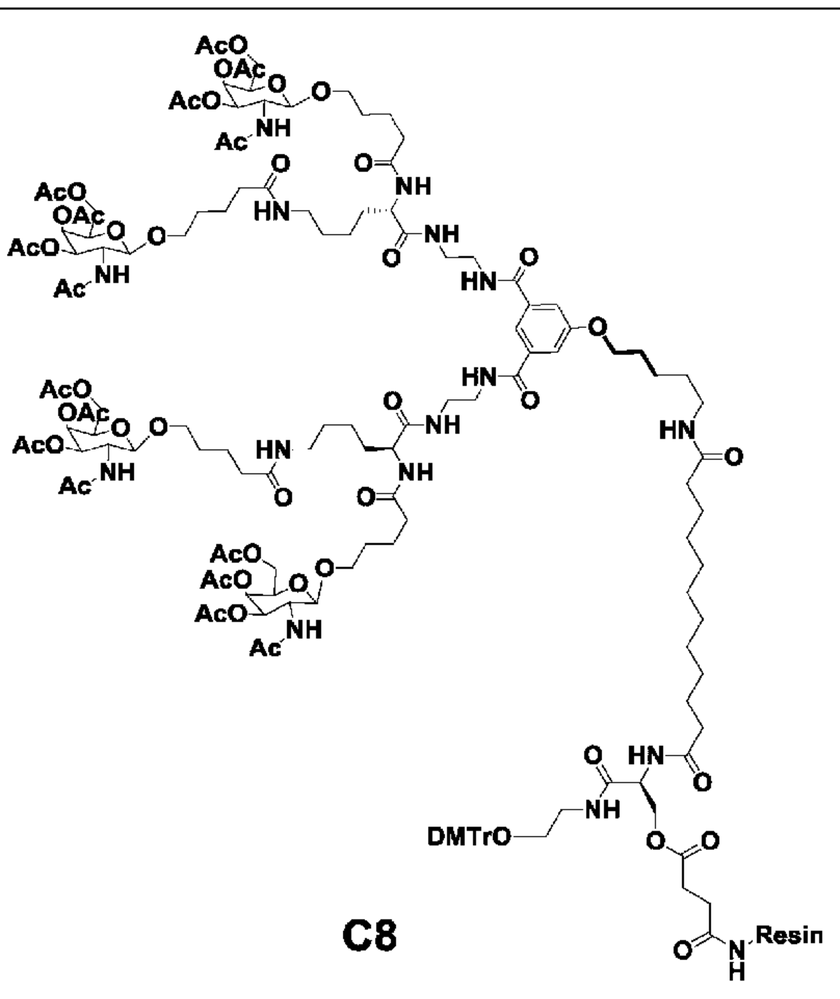




[0325]

[表9]

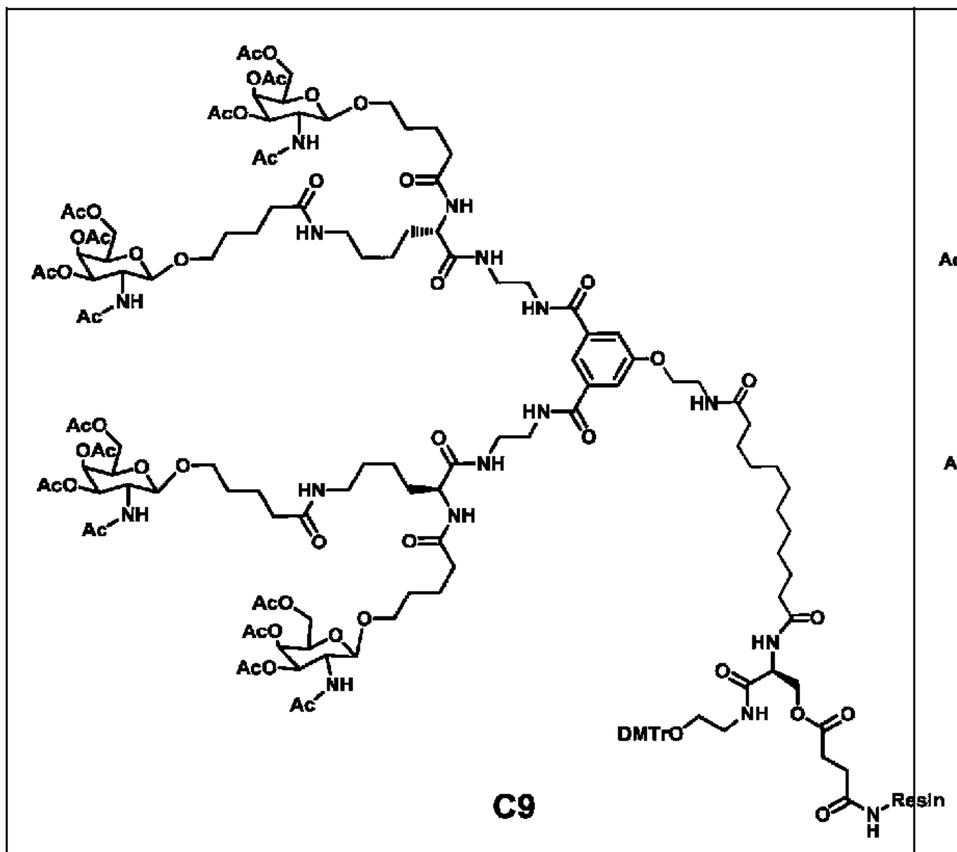
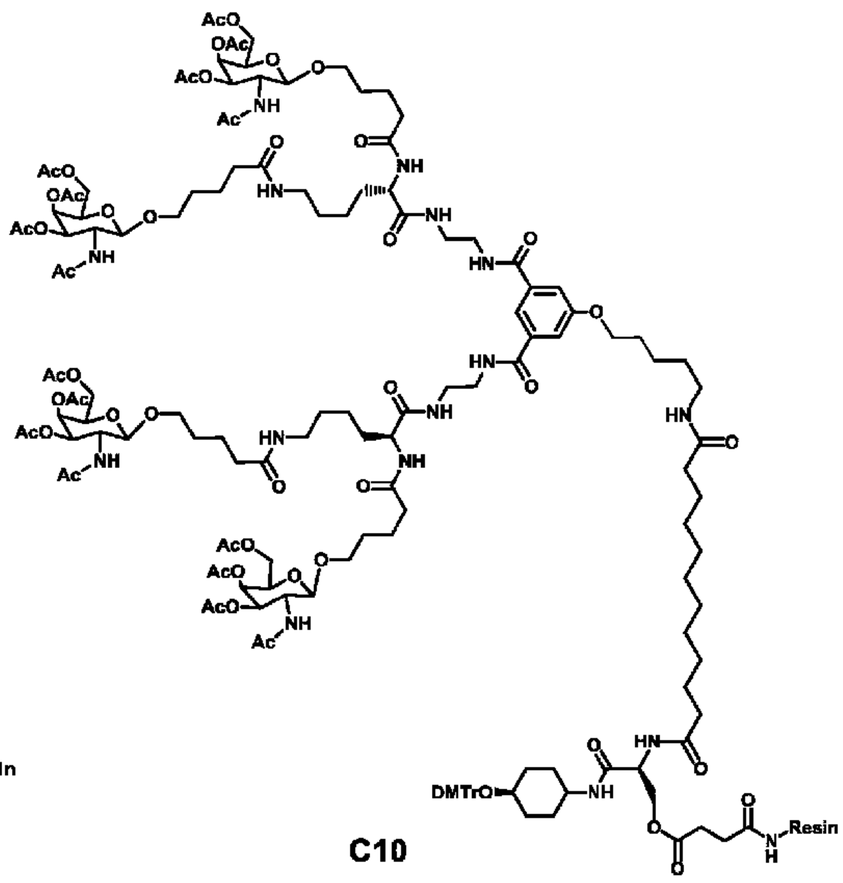
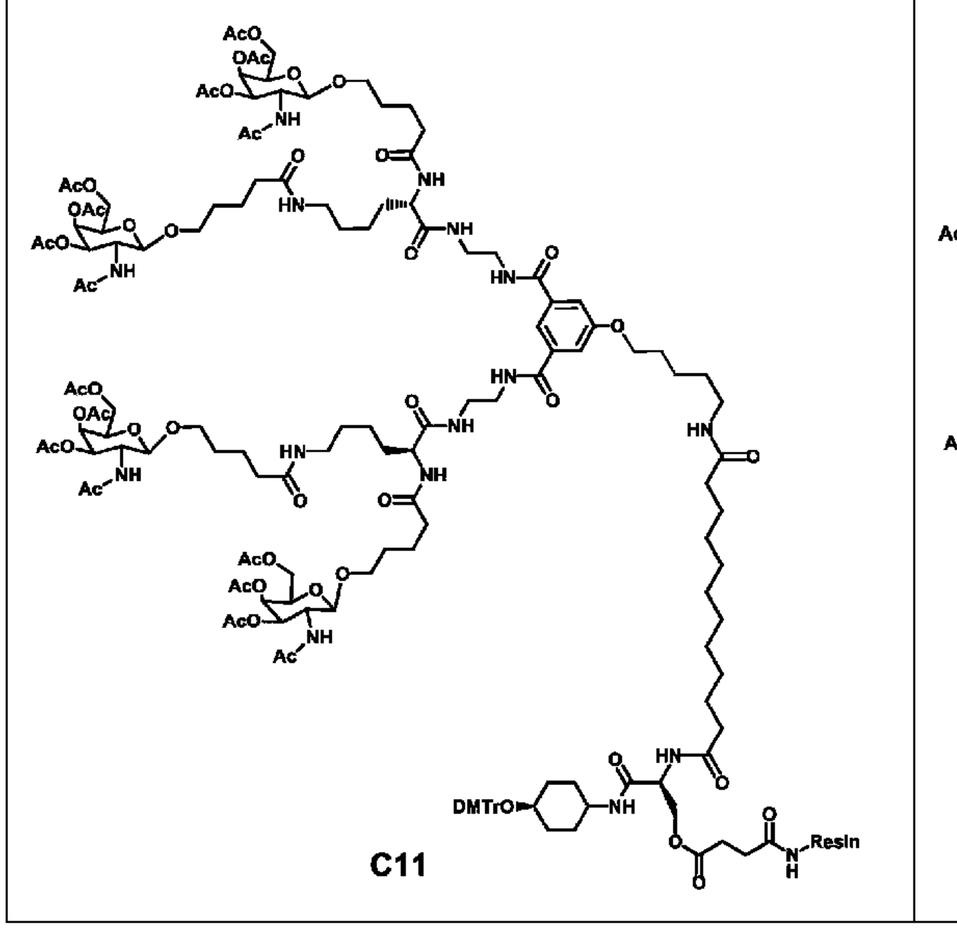
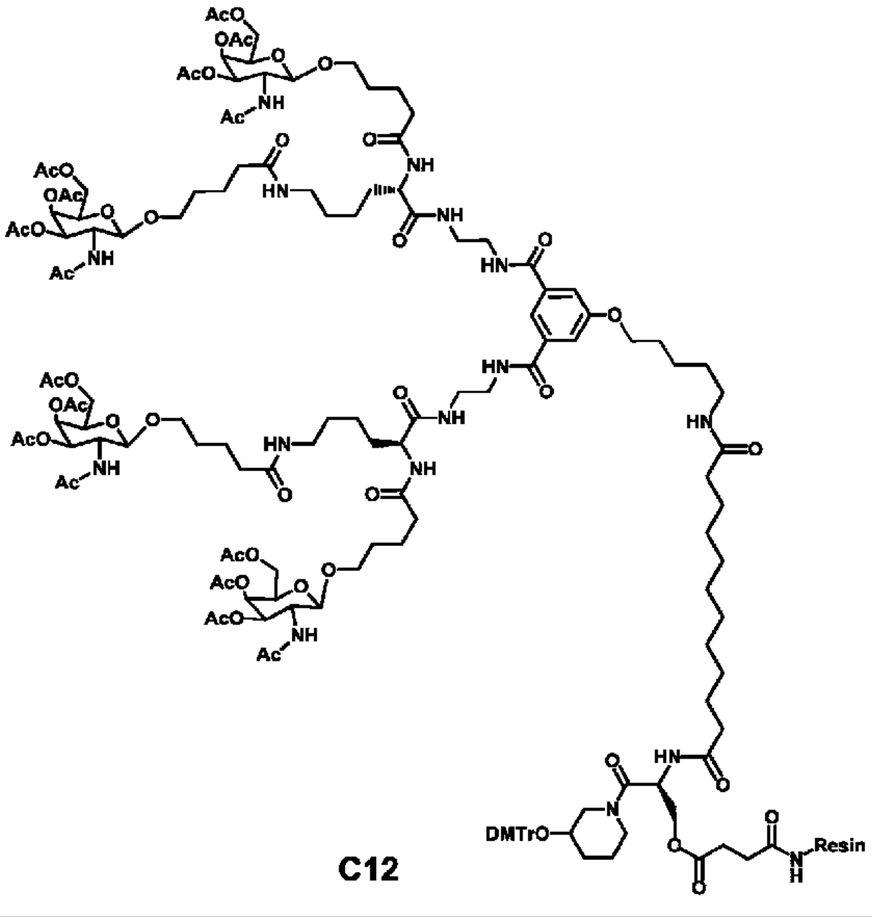
表 X-3 の続き

 C5	 C6
 C7	 C8

[0326]

[表10]

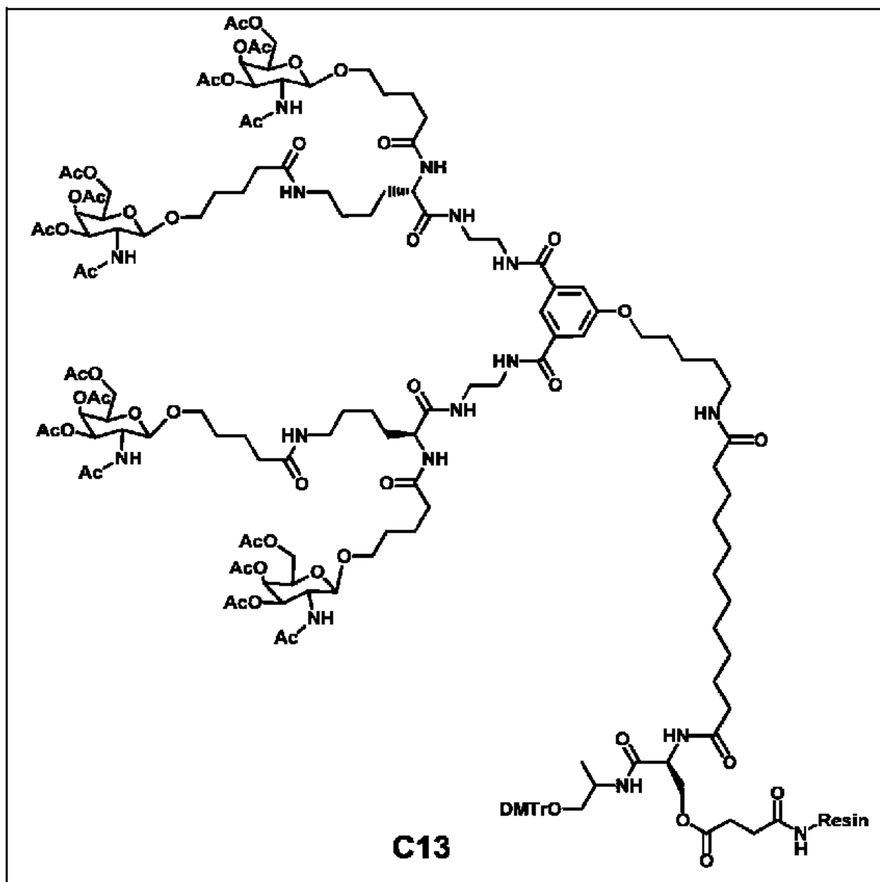
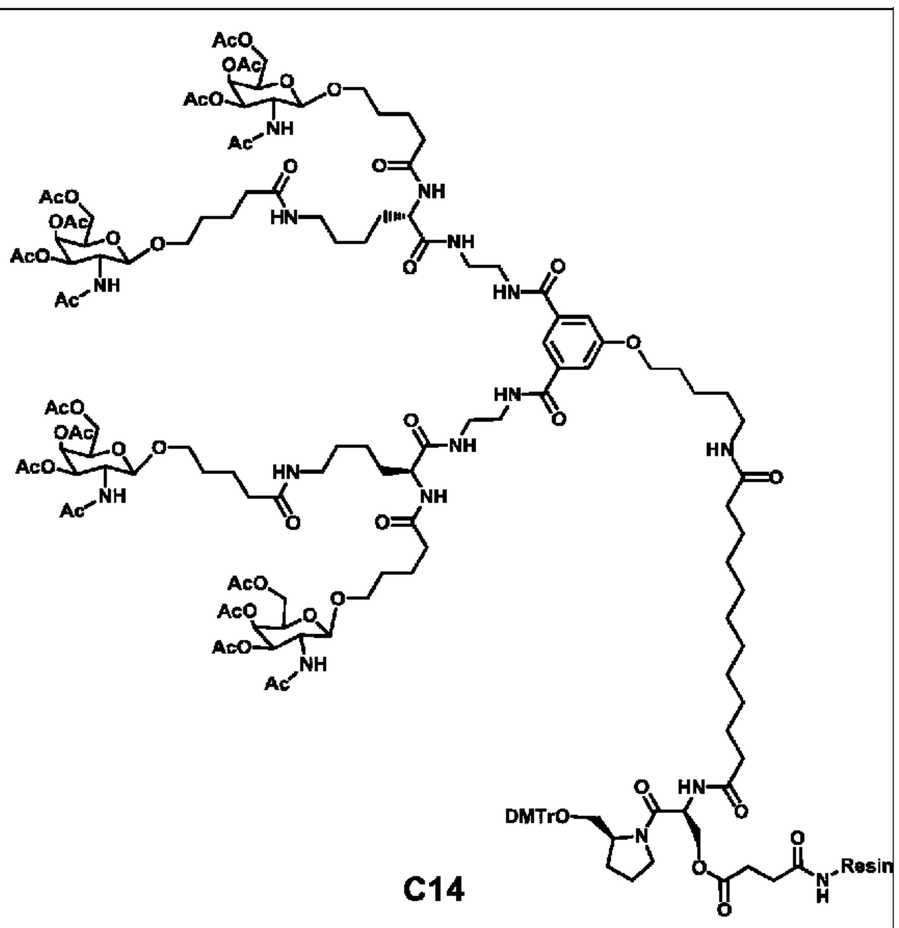
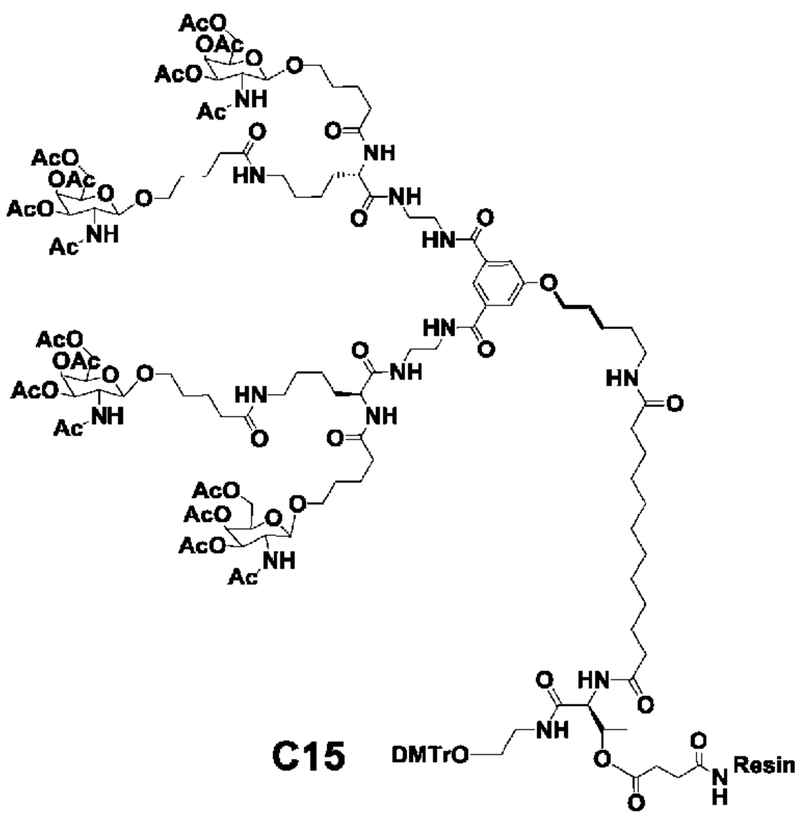
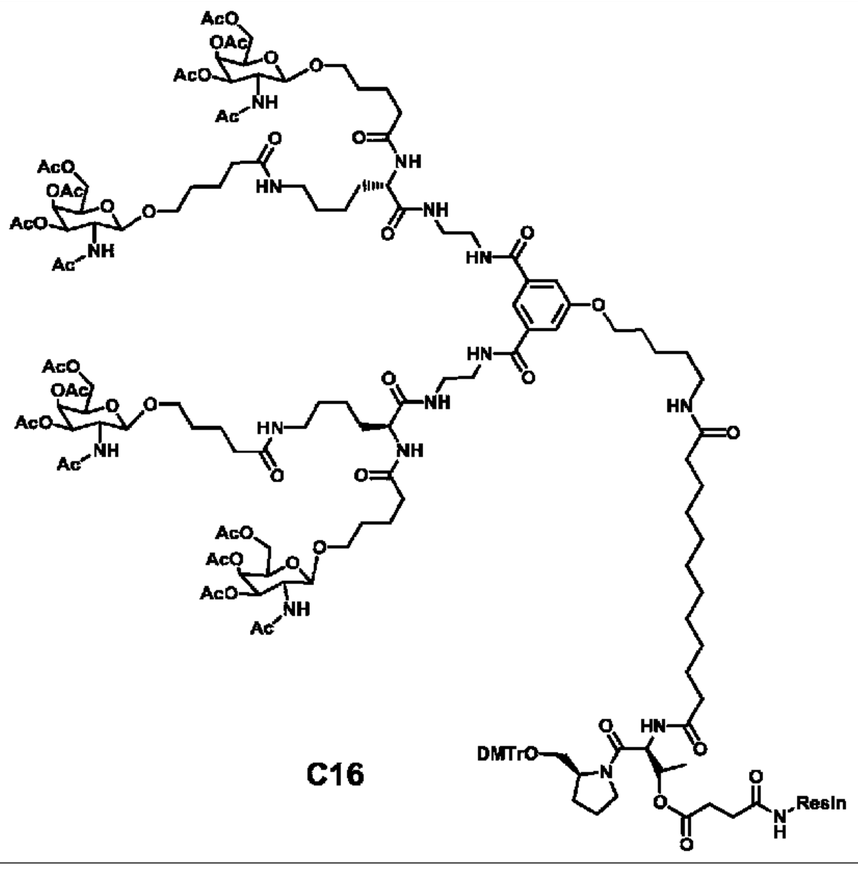
表 X-3 の続き

 C9	 C10
 C11	 C12

[0327]

[表11]

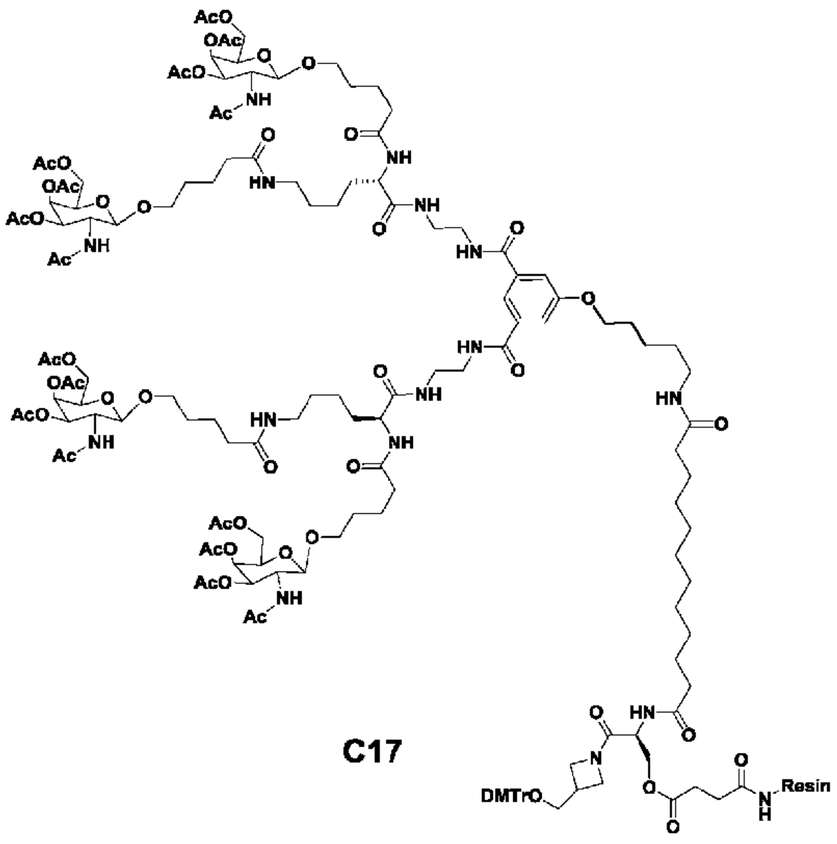
表 X-3 の続き

 C13	 C14
 C15	 C16

[0328]

[表12]

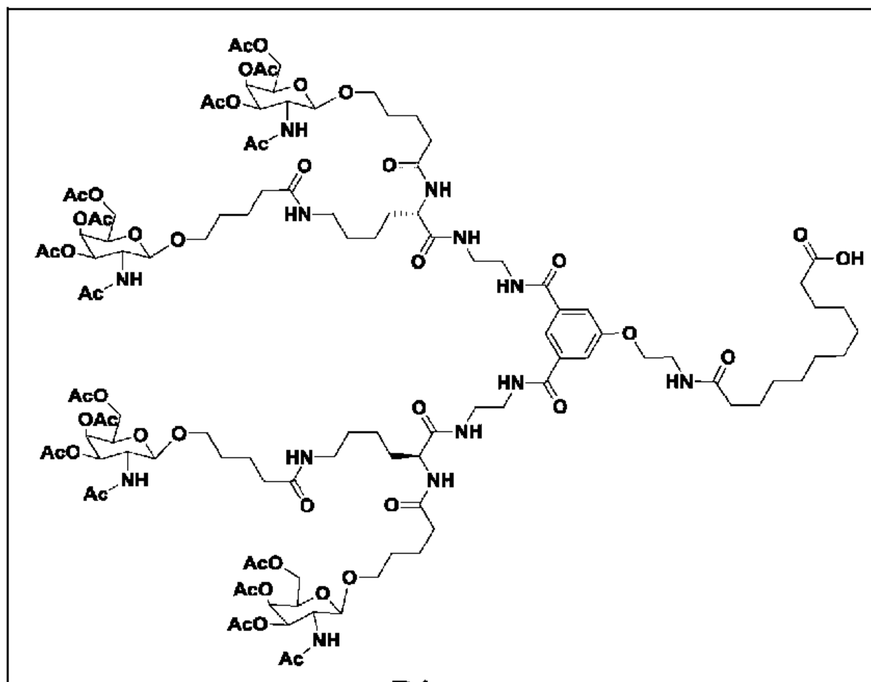
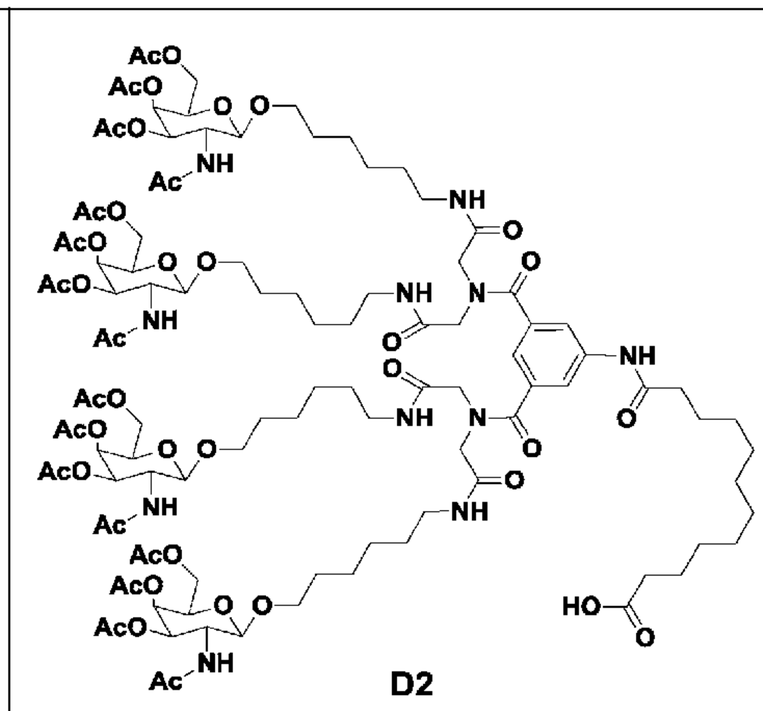
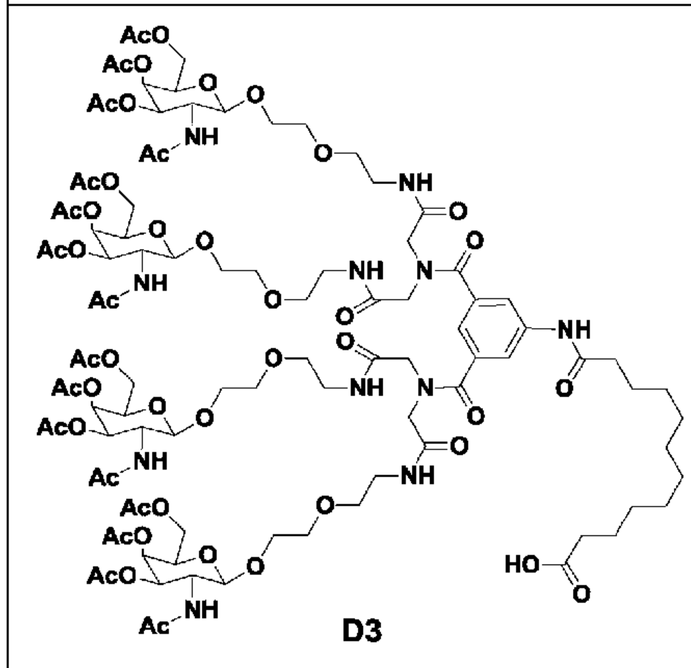
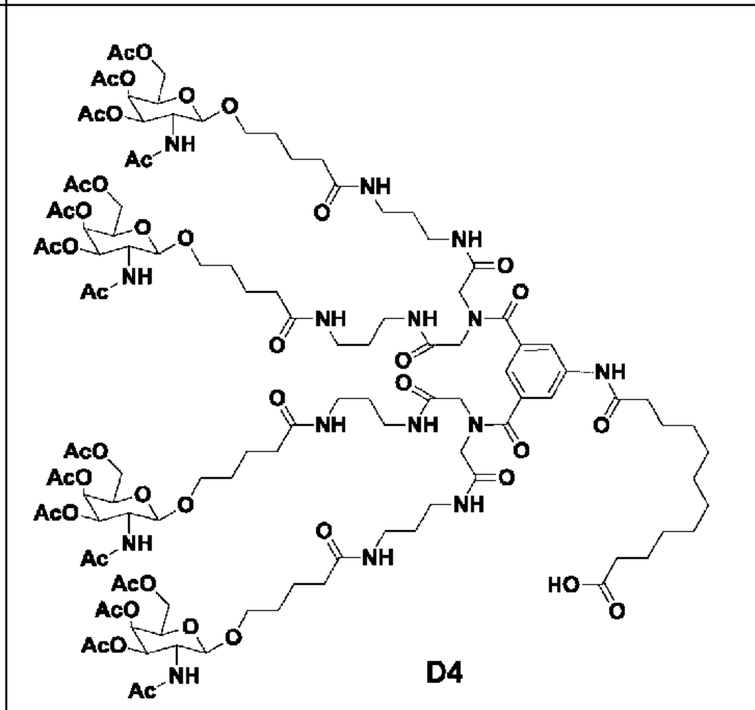
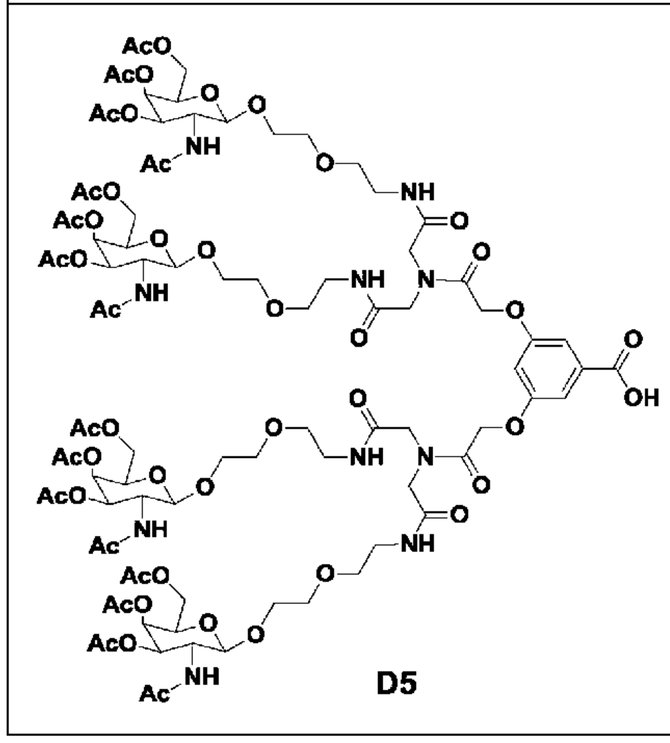
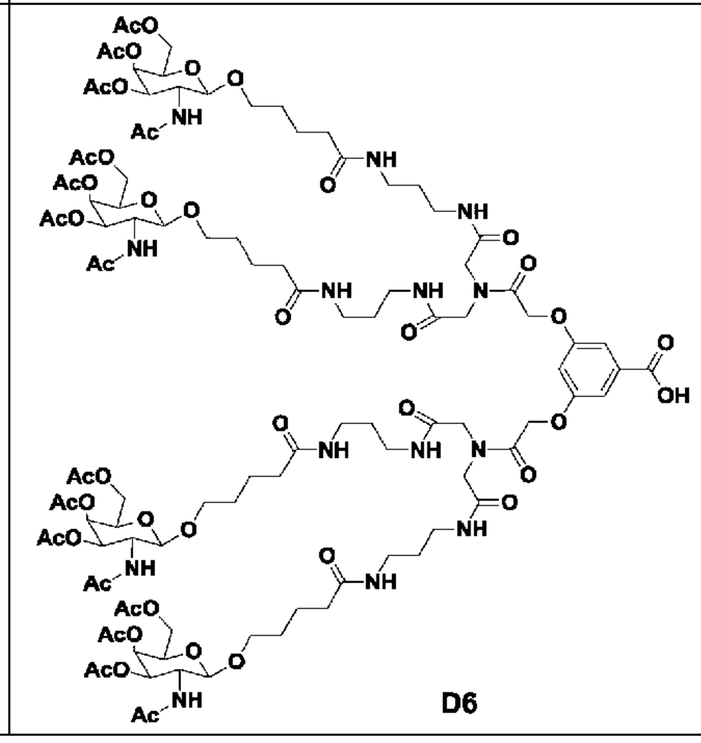
表 X-3 の続き

 C17	

[0329]

[表13]

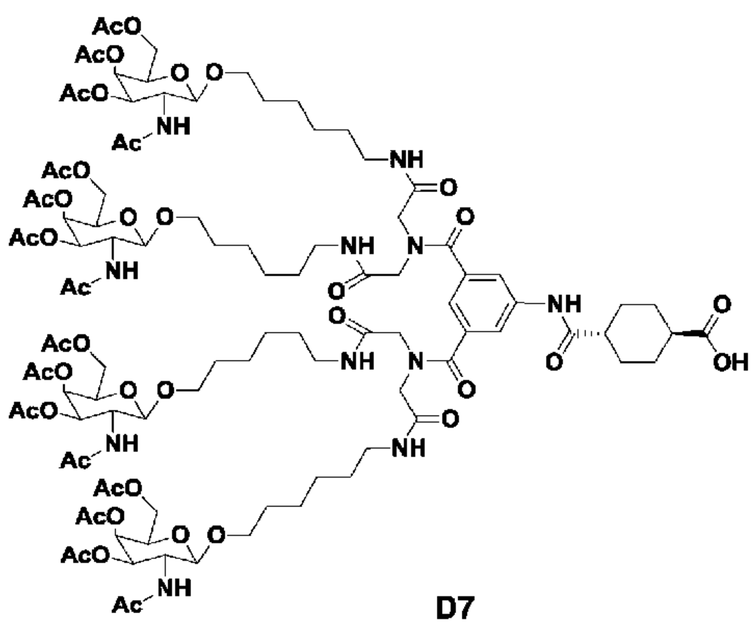
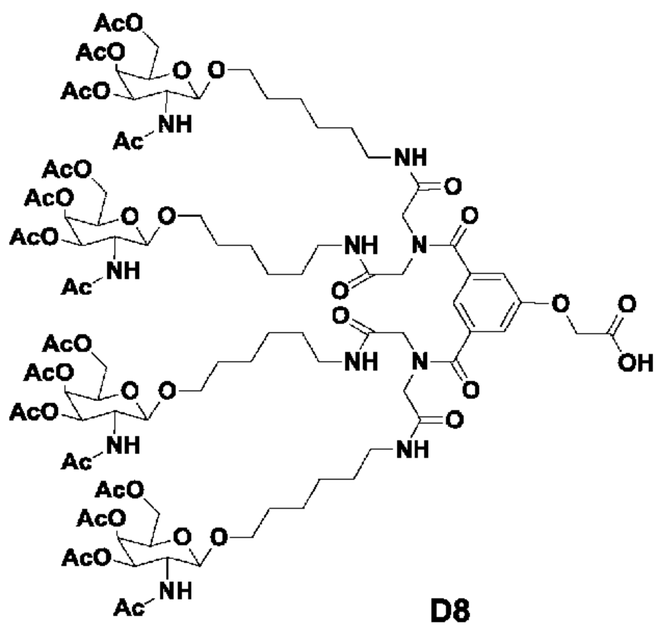
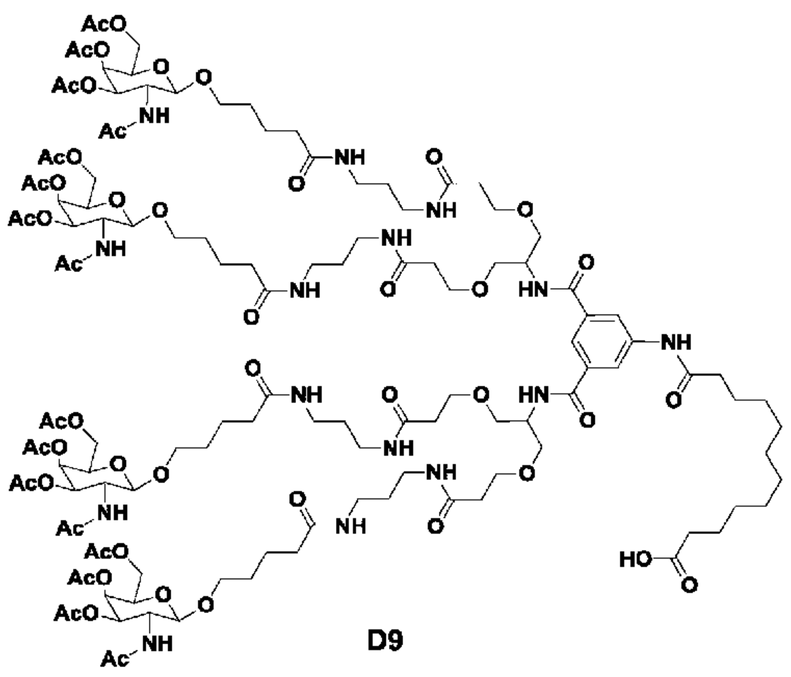
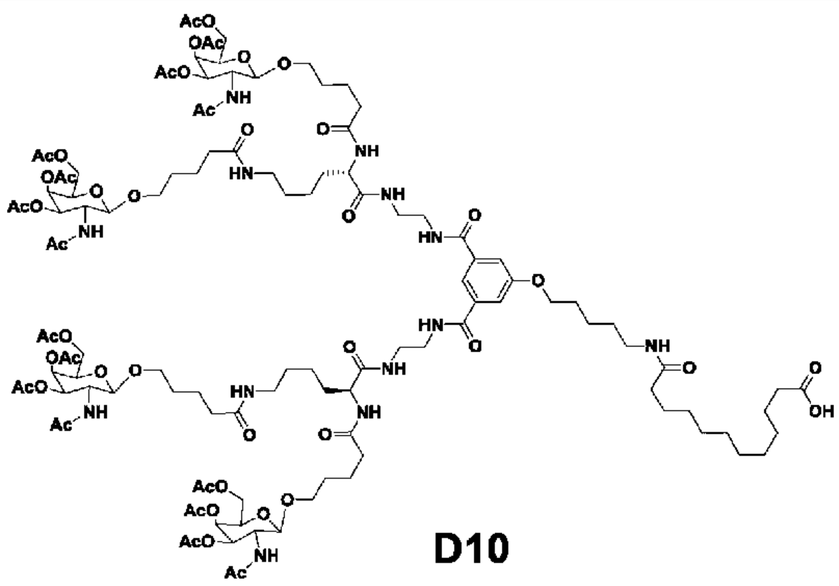
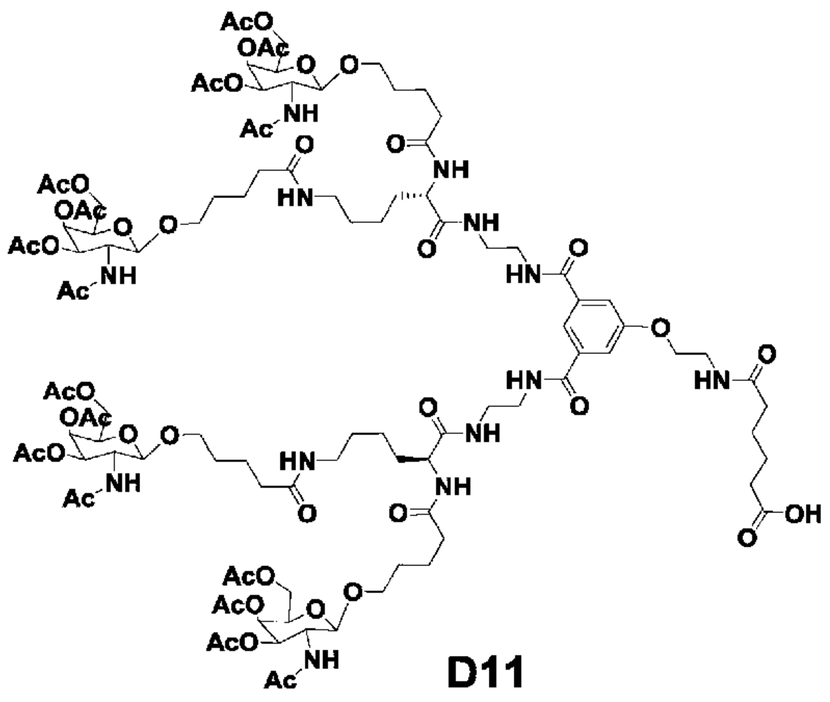
表 X-4:化合物Ｄ１～Ｄ１１

 D1	 D2
 D3	 D4
 D5	 D6

[0330]

[表14]

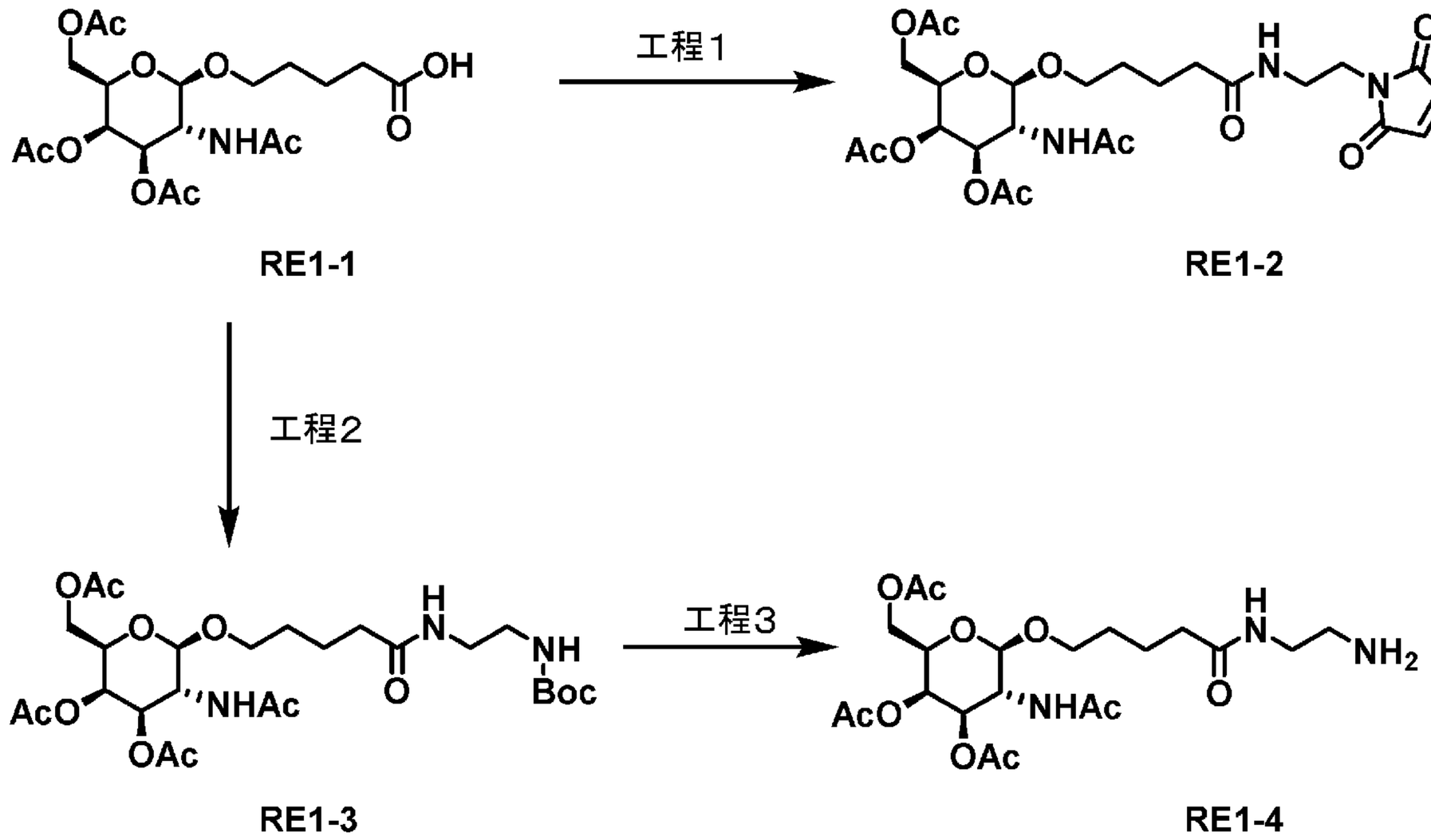
表 X-4 の続き

 D7	 D8
 D9	 D10
 D11	

[0331] 参考例 1

[0332]

[化116]



RE1-1 RE1-2

RE1-3 RE1-4

[0333] 化合物RE1-2の合成

ジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティー（Journal of American Chemical Society), 第136巻, 16958-16961頁, 2014年に記載された方法で合成した化合物RE1-1（0.8755g, 1.9567 mmol)をテトラヒドロフラン（10 mL)に溶解し、1, 3－ジシクロヘキサンカルボジイミド（DCC, 0.4247 g, 2.0584 mmol)とN-ヒドロキシスクシミド（0.2412 g, 2.0958 mmol)を室温にて一晩撹拌した。反応混合物から析出した固体を除き、減圧下、溶媒を留去した。得られた混合物をN, N’-ジメチルホルムアミド（DMF)に溶解し、2-アミノエチルマレイミド臭酸塩（0.6479 g, 2.5491 mmol)とジイソプロピルエチルアミン（1.7 mL, 9.7835 mmol)を加えた後、室温で一晩撹拌した。減圧下、反応液の溶媒を留去し、逆相カラムクロマトグラフィー（水/メタノール=80/20)で溶出させることにより、化合物RE1-2（0.8502 g, 収率76%)を得た。

ESI-MS m/z: 570 $(M + H)^+$;

^{1}H-NMR (DMSO-D_6) δ: 1.45-1.56 (4H, m), 1.78 (3H, s), 1.90 (3H, s), 1.97 (2H, t, J= 7.0 Hz), 2.00 (3H, s), 2.11 (3H, s), 3.18-3.19 (2H, m), 3.38-3.45 (3H, m), 3.64-3.71 (1H, m), 3.85-3.89 (1H, m), 4.01-4.04 (

3H, m), 4.48 (1H, d, J= 8.6 Hz), 4.95-4.98 (1H, m), 5.21 (1H, d, J = 3.5 Hz), 6.99 (2H, s), 7.81-7.87 (2H, m).

[0334] 化合物RE1-4の合成

工程1

化合物RE1-1 (0.9602 g, 2.1460 mmol)をN,N'-ジメチルホルムアミド (10 mL)に溶解し、N-Boc-エチレンジアミン (シグマアルドリッチ社製, 0.6877 g, 4.292 mmol) 、ジイソプロピルエチルアミン (1.90 mL, 10.87 mmol)、および2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロリン酸塩 (和光純薬工業社製, 1.6437 g, 4.3229 mmol)を加えて、室温にて終夜攪拌した。反応液に水を加え、クロロホルムで2回抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、化合物RE1-3の粗精製物を得た。

ESI-MS m/z: 590 $(M + H)^+$

[0335] 工程2

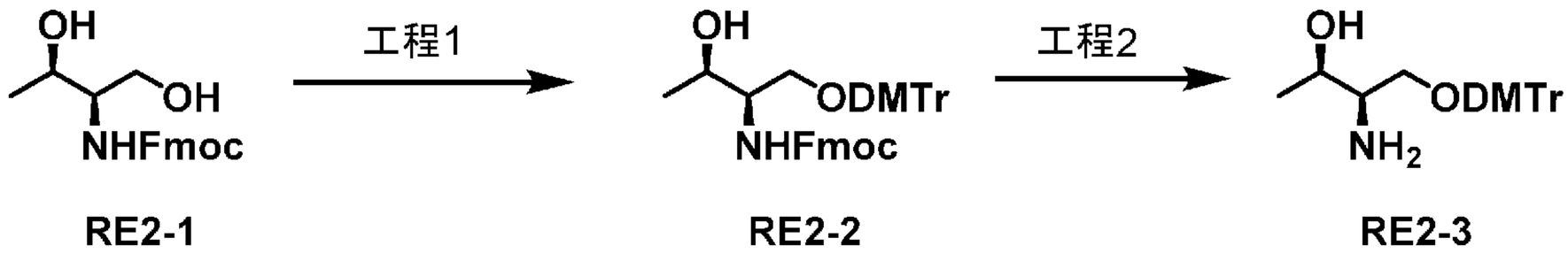
化合物RE1-4の合成工程1で合成した化合物RE1-3 (1.2654 g, 2.1460mmol)をジクロロメタン (15 mL)に溶解し、トリフルオロ酢酸 (4 mL)を加えて、室温にて一晩攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、逆相カラムクロマトグラフィー (水/メタノール=80/20)で溶出させることにより、化合物RE1-4 (0.3879 g, 収率37 %)を得た。

ESI-MS m/z: 490 $(M + H)^+$;

^{1}H-NMR ($DMSO-D_6$) δ: 1.46-1.52 (4H, m), 1.78 (3H, s), 1.90 (3H, s), 2.00 (3H, s), 2.08 (2H, t, J = 7.4 Hz), 2.11 (3H, s), 2.85 (2H, t, J = 6.3 Hz), 3.27 (2H, dd, J = 12.3, 6.2 Hz), 3.67-3.69 (1H, m), 3.68-3.73 (1H, m), 3.86-3.90 (1H, m), 4.01-4.04 (3H, m), 4.49 (1H, d, J = 8.4 Hz), 4.97 (1H, dd, J = 11.3, 3.4 Hz), 5.22 (1H, d, J = 3.5 Hz), 7.86 (1H, d, J = 9.1 Hz), 7.95-8.02 (1H, m).

[0336] 参考例2

[0337] [化117]



RE2-1 RE2-2 RE2-3

[0338] 参考例2工程 1

(9H-フルオレン-9-イル)メチル((2R,3R)-1,3-ジヒドロキシブタン-2-イル)カルバマート (化合物RE2-1, Chem-Impex International, Inc社製, 1.50 g, 4.58 mmol)をピリジン (20 mL)に溶解し、氷冷下、4,4'-ジメトキシトリチルクロライド (東京化成工業社製, 1.71 g, 5.04 mmol)を加えた後、室温にて2時間攪拌した。反応液を氷冷し、10%クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン/酢酸エチル=90/10)で精製することにより、化合物RE2-2 (1.07 g, 収率37%)を得た。

ESI-MS m/z: 630 $(M + H)^+$

[0339] 参考例2工程2

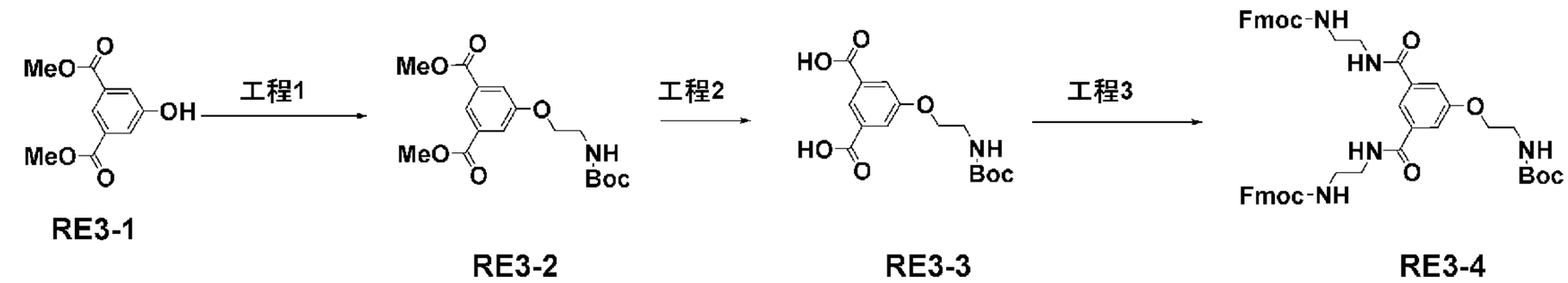
参考例2の工程1で合成した化合物RE2-2 (1.07 g, 1.699 mmol)をN,N-ジメチルホルムアミド (10 mL)に溶解し、室温にてピペリジン (0.336 mL, 3.40 mmol)を加えて3時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=90/10)で精製することにより、化合物RE2-3 (0.59 g, 収率85 %)を得た。

ESI-MS m/z: 408 $(M + H)^+$

[0340] 参考例3

[0341]

[化118]



[0342] 参考例3工程1

5-ヒドロキシイソフタル酸ジメチル(化合物RE3-1，和光純薬工業社製，5.0443 g，24 mmol)をテトラヒドロフラン（和光純薬工業社製25 mL)に溶解し、2-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-1-エタノール（東京化成工業社製，4.0343 g，25.03 mmol）、およびトリフェニルホスフィン ポリマー担持体 （シグマアルドリッチ社製，6.61 g，25.2 mmol）を加えた後、氷冷下、40%ジイソプロピルアゾジカルボキシレート(DIAD)トルエン溶液（東京化成工業社製，13.26 mL，25.2 mmol)を加え、室温にて一晩攪拌した。反応液をろ過し、減圧下、ろ液を留去した後、残渣をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘキサン/酢酸エチル=95/5～80/20)で精製することにより、化合物RE3-2 (5.3071 g，収率63%)を得た。

ESI-MS m/z: 254 $(M + H)^+$，脱Boc体として検出

[0343] 参考例3工程2

参考例3工程1で合成した化合物RE3-2 (5.3071g，15.02 mmol)をメタノール(25 mL)に溶解し、氷冷下、2mol/L水酸化ナトリウム水溶液（和光純薬工業

社製，13 mL)を加え、室温にて4時間攪拌した。反応液を氷冷し、10%クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE3-3を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 324 $(M - H)^-$

[0344] 参考例3工程3

参考例3工程2で合成した化合物RE3-3 (1.9296 g，5.93 mmol)をN，N'-ジメチルホルムアミド (70 mL)に溶解し、N-1-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル)-エチレンジアミン塩酸塩 (3.3493 g，11.86mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (5.18 mL，29.7 mmol)、および2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸塩 (4.5168 g， 11.88 mmol)を加えて、室温にて4時間攪拌した。反応液を氷冷し、10%クエン酸水溶液を加え、クロロホルムで抽出した後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール)で精製することにより、化合物RE3-4 (3.4407 g，収率68%)を得た。

ESI-MS m/z: 898 $(M + HCOO)^-$

[0345] 参考例3工程4

参考例3工程3で合成した化合物RE3-4 (1.6087 g，1.884mmol)をジクロロメタン (20 mL)に溶解し、氷冷下、トリフルオロ酢酸 (5mL，64.9 mmol)を加えて、室温にて4時間攪拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE3-5 (2.4079 g)を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 798$(M + HCOO)^-$

[0346] 参考例3工程5

参考例3工程4で合成した化合物RE3-5 (386 mg，0.512 mmol)をテトラヒドロフラン (10 mL)に溶解し、氷冷下、塩化ベンゾイル (175 mg，1.024mmol)を加えて、室温にて1時間攪拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去し、残渣を

シリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール)で精製することにより、化合物RE3-6 (373 mg, 収率82%)を得た。

ESI-MS m/z: 888(M + H)$^+$

[0347] 参考例3工程6

参考例3工程5で合成した化合物RE3-6 (108 mg, 0.122 mmol)をジクロロメタン (5 mL)に溶解し、室温にてジエチルアミン (0.5 mL,4.8 mmol)を加えて1時間攪拌した。減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE3-7 (54.9 mg)を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 444(M + H)$^+$

[0348] 参考例3工程7

参考例3工程6で合成した化合物RE3-7 (180 mg, 0.406mmol)、Nα,Nε-ビス(tert-ブトキシカルボニル)-L-リジン (ノババイオケム社製, 295 mg, 0.852 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (0.354 mL,2.029 mmol)、および2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸塩 (324 mg, 0.852 mmol)を加えて、室温にて終夜攪拌した。反応液を氷冷し、10%クエン酸水溶液を加え、クロロホルムで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール)で精製することにより、化合物RE3-8 (450 mg)を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 1101(M + H)$^+$

[0349] 参考例3工程8

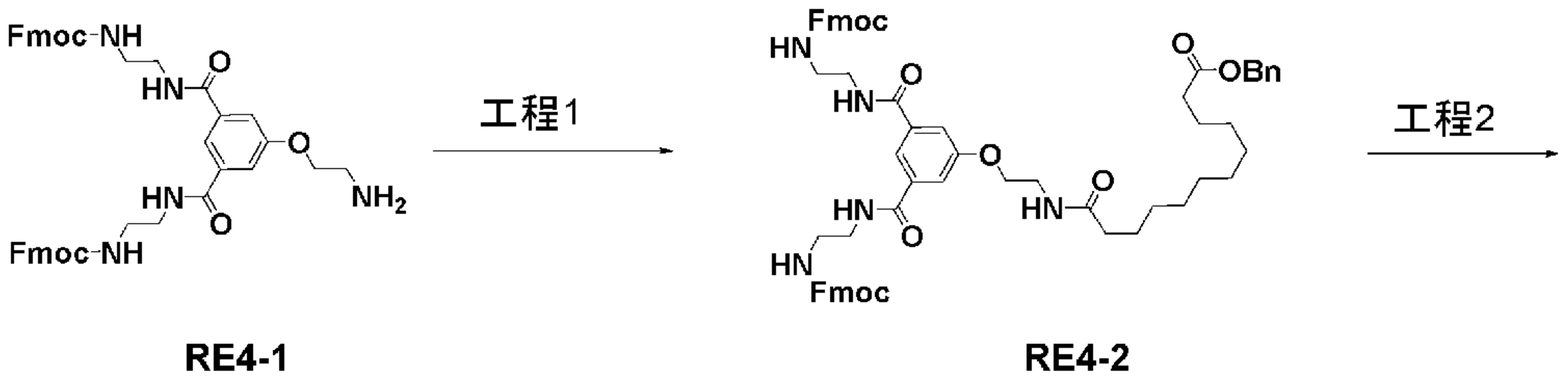
参考例3工程7で合成した化合物RE3-8 (2.1558 g, 1.9593 mmol)をジクロロメタン(20 mL)に溶解し、氷冷下、トリフルオロ酢酸 (5 mL)を加えて、室温にて4時間攪拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE3-9を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 700(M + H)$^+$

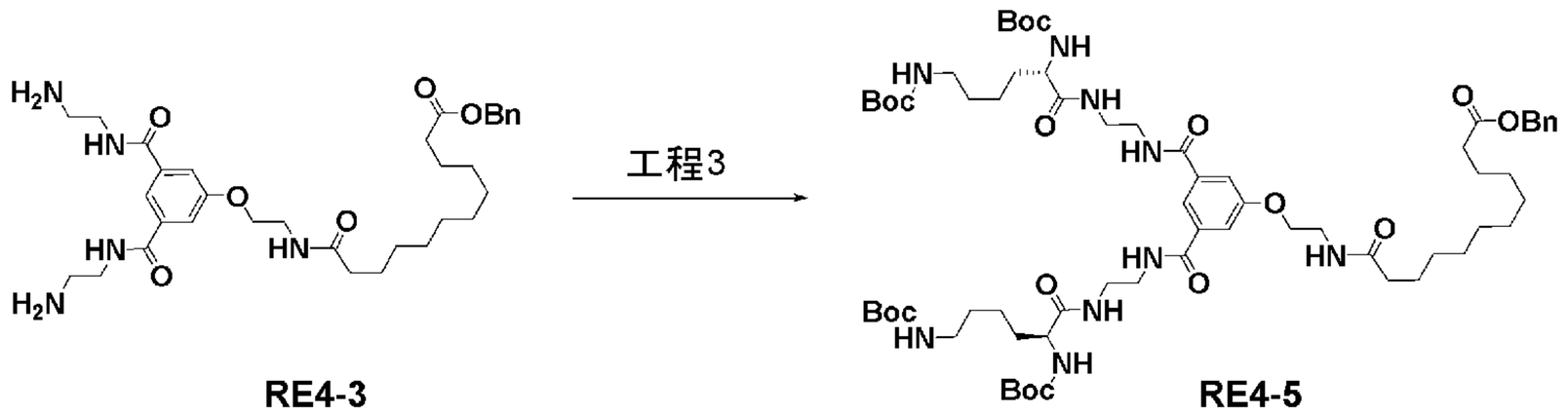
[0350] 参考例４

[0351]

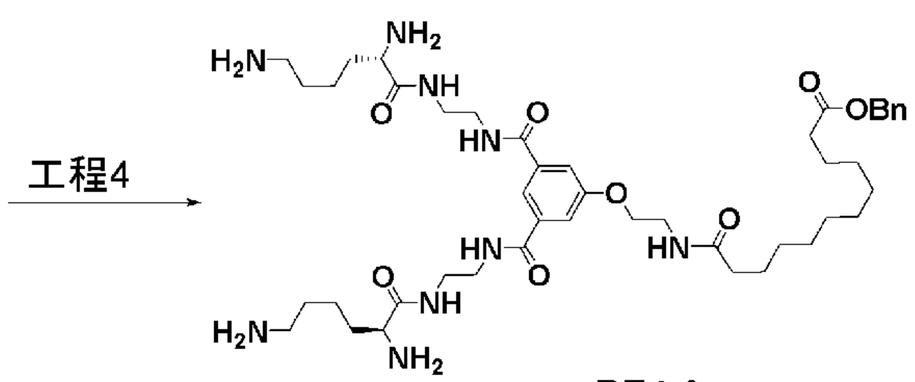
[化119]



RE4-1 RE4-2



RE4-3 RE4-5



RE4-6

（図中、Bnはベンジル基を表す。）

[0352] 参考例4工程1

参考例3に記載の方法で合成した化合物RE4-1(参考例3における化合物RE3-5, 0.5716 g, 0.7582 mmol)、バイオコンジュゲート・ケミストリー (Bioconjugate Chemistry), 第22巻, 690-699頁, 2011年に記載された方法で合成したドデカン酸モノベンジルエステル (0.4859g, 1.5164 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (0.662 mL, 3.79 mmol)、および2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸塩 (0.5766 g, 1.516 mmol)をN,Nジメチルホルムアミド(12 mL)に溶解し、室温にて1時間攪拌した。反応液を氷冷し、飽和クエン酸水溶液を加え、クロロホルムで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール)で精製することにより、化合物RE4-2 (0.88 g, 収率84%)を得た。

ESI-MS m/z: 1057(M + H)$^+$

[0353] 参考例4工程2

参考例4工程1で合成した化合物RE4-2 (0.7545 g, 0.714 mmol)をジクロロメタンテトラヒドロフラン (20 mL)に溶解し、室温にてジエチルアミン (5 mL,47.9 mmol)を加えて終夜攪拌した。減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE4-3を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 612(M + H)$^+$

[0354] 参考例4工程3

参考例4工程2で合成した化合物RE4-3 (0.437 g, 0.7143 mmol)、Nα,Nε-ビス(tert-ブトキシカルボニル)-L-リジン (ノババイオケム社製, 0.5483 g, 1.583 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (0.624 mL, 3.57 mmol)、2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸塩 (0.5703 g, 1.5 mmol)を加えて、室温にて2時間攪拌した。反応液に10%クエン酸水溶液を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE4-4の粗生成物を得た。

ESI-MS m/z: 1269(M + H)$^+$

[0355] 参考例4工程4

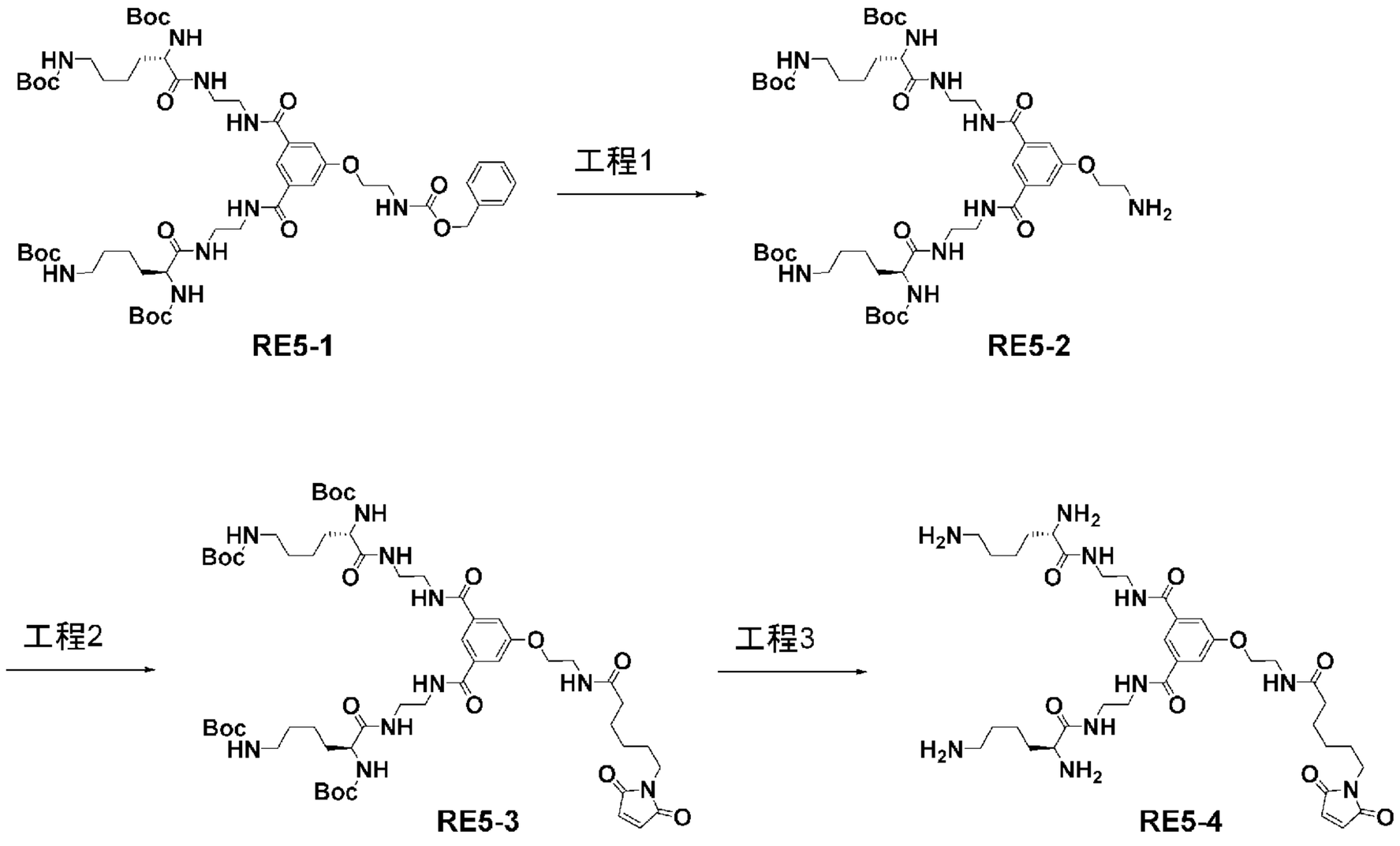
参考例4工程3で合成した化合物RE4-4 (0.906 g, 0.7143 mmol)をジクロロメタン (12 mL)に溶解し、氷冷下、トリフルオロ酢酸 (3mL, 38.9 mmol)を加えて、室温にて4時間攪拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE4-5の粗生成物を得た。

ESI-MS m/z: 869(M + H)$^+$

[0356] 参考例５

[0357]

[化120]



[0358] 参考例5工程1

参考例3に記載の方法で合成した化合物RE5-1（参考例3におけるRE3-8，100 mg，0.091 mmol)をメタノール（3 mL)に溶解し、酢酸（2 μL)を添加した後、パラジウム/炭素による接触水素還元を行った。得られた溶液留分を減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE5-2を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 967 $(M + H)^+$

[0359] 参考例5工程2

化合物RE5-2（50 mg，0.052 mmol)およびN-(6-マレイミドカプロイルオキシ)スクシミド（48 mg，0.155 mmol)をテトラヒドロフラン（2 mL)に溶解し、ジイソプロピルエチルアミン（0.045 mL，0.259 mmol)を加えて、室温にて終夜攪拌した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム/メタノール)で精製することにより、化合物RE5-3（18 mg，収率30%)を得た。

ESI-MS m/z: 1160 $(M + H)^+$

[0360] 参考例5工程3

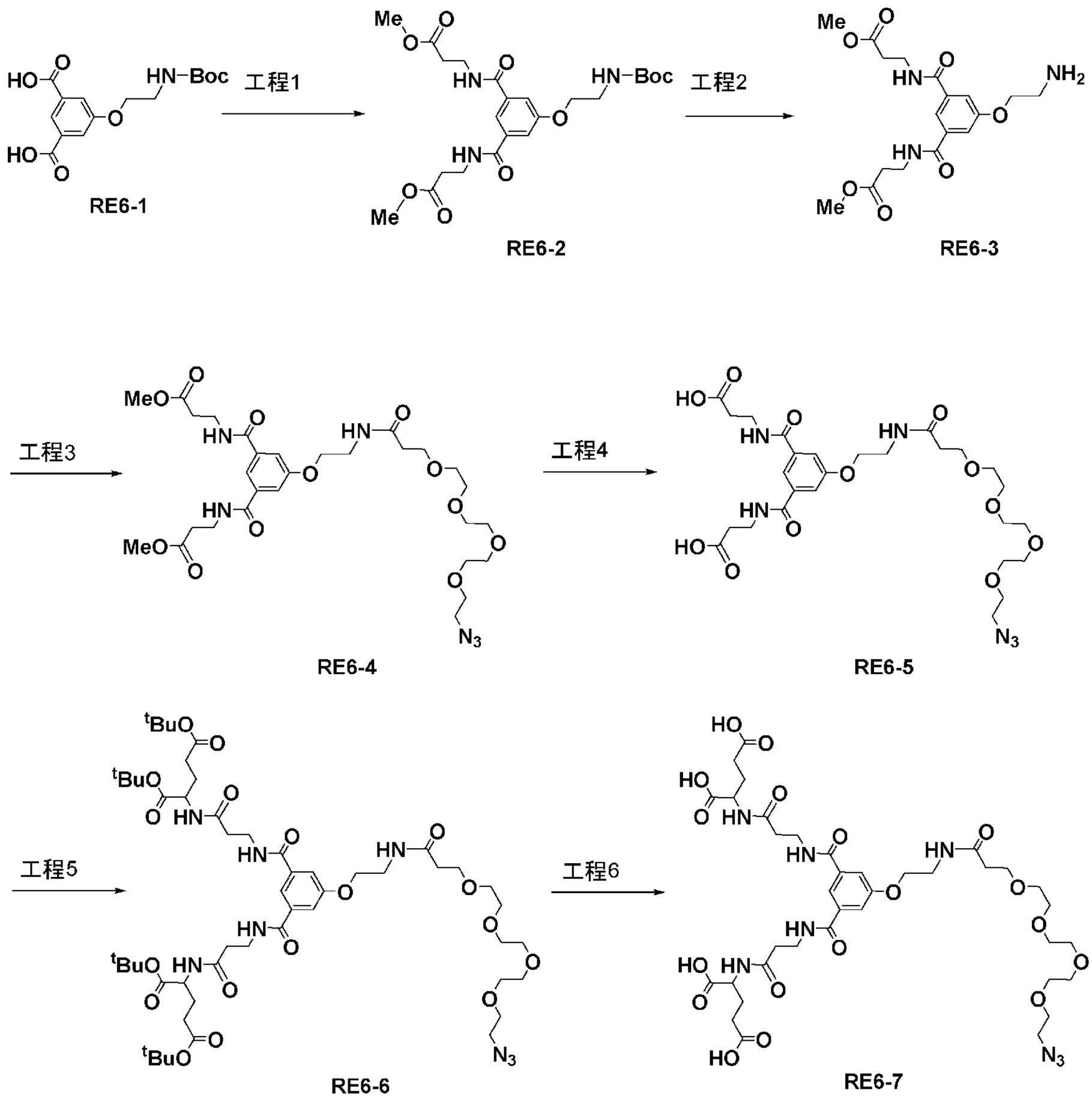
参考例5工程2で合成した化合物RE5-3（18 mg，0.016 mmol)をジクロロメタン（2 mL)に溶解し、氷冷下、トリフルオロ酢酸（0.2 mL，2.6 mmol)を加え

て、室温にて終夜攪拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去し、ジエチルエーテルにて晶析した後、化合物RE5-4 (7.5 mg, 収率64%)を白色固体として得た。

ESI-MS m/z: 759 $(M + H)^+$

[0361] 参考例6

[0362] [化121]



[0363] 参考例6工程1

参考例3に記載の方法で合成した化合物RE6-1 (参考例3における化合物RE3-2, 0.9372 g, 2.8809 mmol)、β-アラニンメチルエステル塩酸塩 (東京化成工業株式会社製, 0.8082 g, 5.7902 mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の

方法で化合物RE6-2を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 495 (M + H)$^+$

[0364] 参考例6工程2

参考例6工程1で合成した化合物RE6-2 (0.9622 g, 1.952 mmol)を用い、参考例3の工程4と同様の方法で化合物RE6-3を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 396 (M + H)$^+$

[0365] 参考例6工程3

参考例6工程2で合成した化合物RE6-3 (0.1146 g, 0.290 mmol)およびN-スクシンイミジル15-アジド-4,7,10,13-テトラオキサペンタデカン酸(N3-PEG4-NHS, 東京化成工業株式会社製, 0.0750 g, 0.1931 mmol)を用い、参考例5の工程2と同様の方法で化合物RE6-4を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 669 (M + H)$^+$

[0366] 参考例6工程4

参考例6工程3で合成した化合物RE6-4 (0.1291 g, 0.193 mmol)を用い、参考例3の工程2と同様の方法で化合物RE6-5を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 641 (M + H)$^+$

[0367] 参考例6工程5

参考例6工程4で合成した化合物RE6-5 (0.1252 g, 0.193 mmol)およびL-グルタミン酸 ジ-tert-ブチルエステル(渡辺化学株式会社製, 0.1180 g, 0.399 mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の方法で化合物RE6-6 (0.0521 g, 収率24%)を得た。

ESI-MS m/z: 1124 (M + H)$^+$

[0368] 参考例6工程6

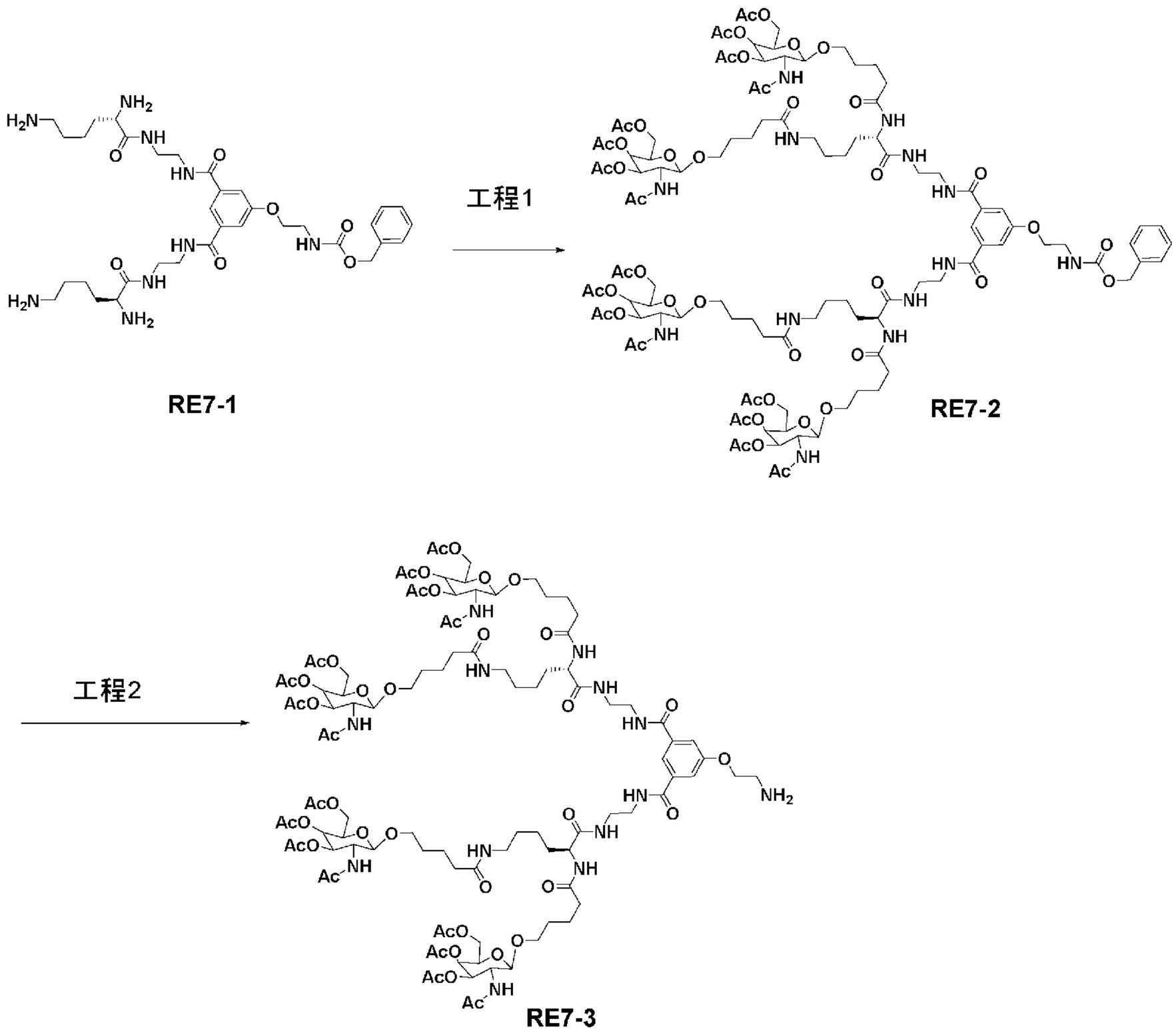
参考例6工程5で合成した化合物RE6-6 (0.0521 g, 0.0464 mmol)を用い 、参考例3の工程4と同様の方法で化合物RE6-7 (36 mg, 収率86%)を得た。

ESI-MS m/z: 899 (M + H)$^+$

[0369] 参考例 7

[0370]

[化122]



[0371] 参考例7工程1

参考例3に記載の方法で合成した化合物RE7-1（参考例3におけるRE3-9，0.2586 g，0.3695 mmol)とジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティー（Journal of American Chemical Society)，第136巻，16958-16961頁，2014年に記載された方法で合成した参考例1に記載の化合物RE-1（0.8559 g，1.7927mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の方法で化合物RE7-2（0.5272 g，収率61%)を得た。

ESI-MS m/z: 2418 $(M + H)^+$

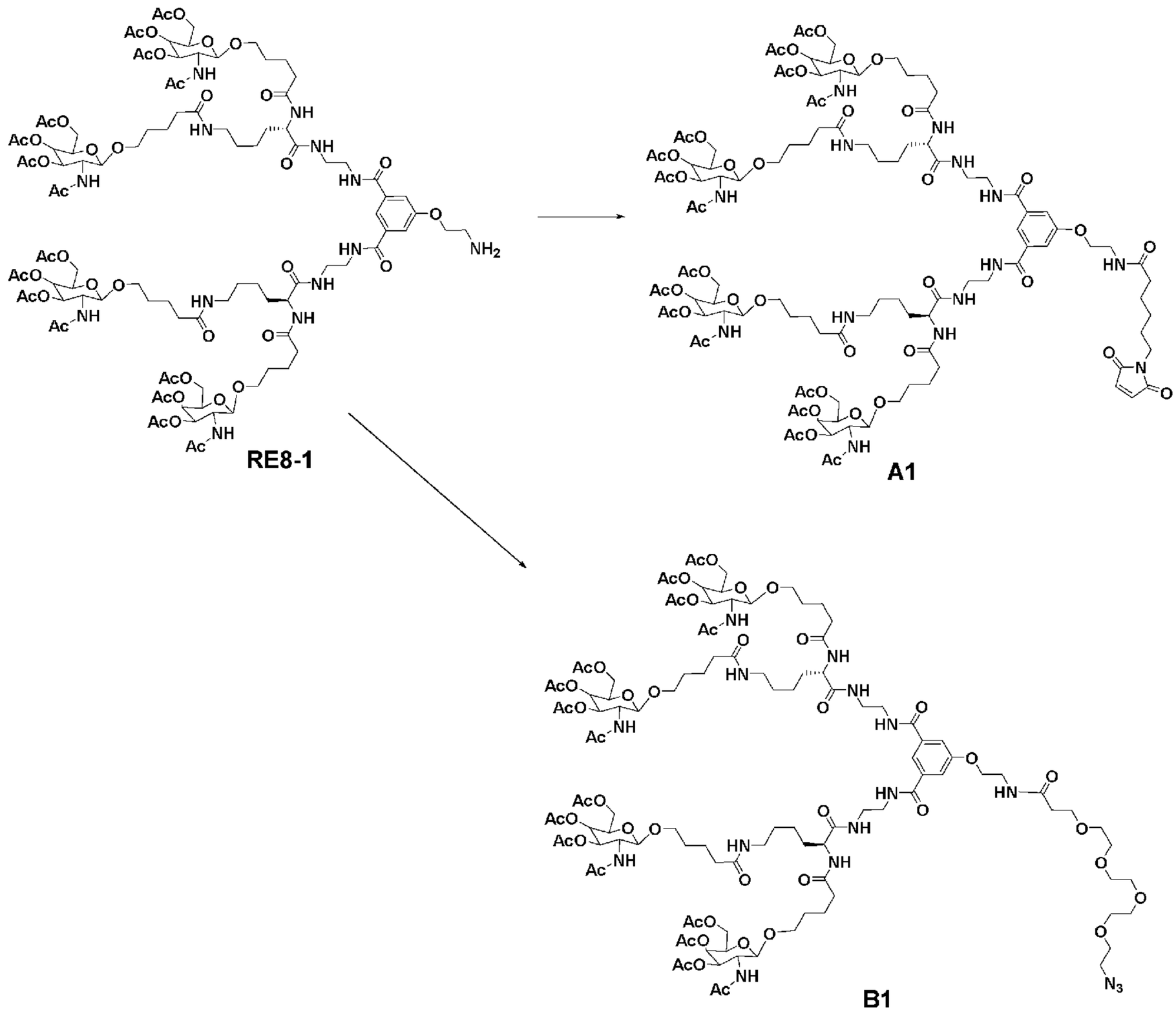
[0372] 参考例7工程2

参考例7工程1で合成した化合物RE7-2（0.2653 g，0.1097 mmol)を用い、参考例5の工程1と同様の方法で化合物RE7-3（0.1524 g，収率61%)を得た。

ESI-MS m/z: 2284 $(M + H)^+$

[0373] 参考例8:化合物A1およびB1の合成

[0374] [化123]



[0375] 化合物A1の合成

参考例7に記載の方法で合成した化合物RE8-1（参考例7における化合物RE7-3, 0.0152 g, 0.006657 mmol)を用い、参考例5の工程2と同様の方法で化合物A1 (0.0077 g, 収率47%)を得た。

ESI-MS m/z: 1239(M + 2H)$^{2+}$

^{1}H-NMR (DMSO-D_6) δ: 1.11-1.66 (34H, m), 1.77 (12H, d, J = 1.5 Hz), 1.89 (12H, s), 2.01-2.14 (10H, m), 2.01 (12H, s), 2.10 (12H, s), 2.92-2.99 (4H, m), 3.16-3.54 (14H, m), 3.65-3.74 (4H, m), 3.81-3.91 (4H, m), 3.98-4.08 (14H, m), 4.11-4.24 (4H, m), 4.48 (4H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz), 4.93-5.00 (4H, m), 5.21 (4H, d, J = 3.5 Hz), 6.99 (2H, s), 7.52 (2H, s), 7.66-7.75 (2H, m), 7.78-7.87 (6H, m), 7.91 (1H, br s), 8.01-8

.08 (3H, br m), 8.54-8.60 (2H, br m).

[0376] 化合物B1の合成

化合物RE8-1（参考例7における化合物RE7-3, 0.0150 g, 0.00657mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の方法で化合物B1（0.0062 g, 収率37%)を得た。

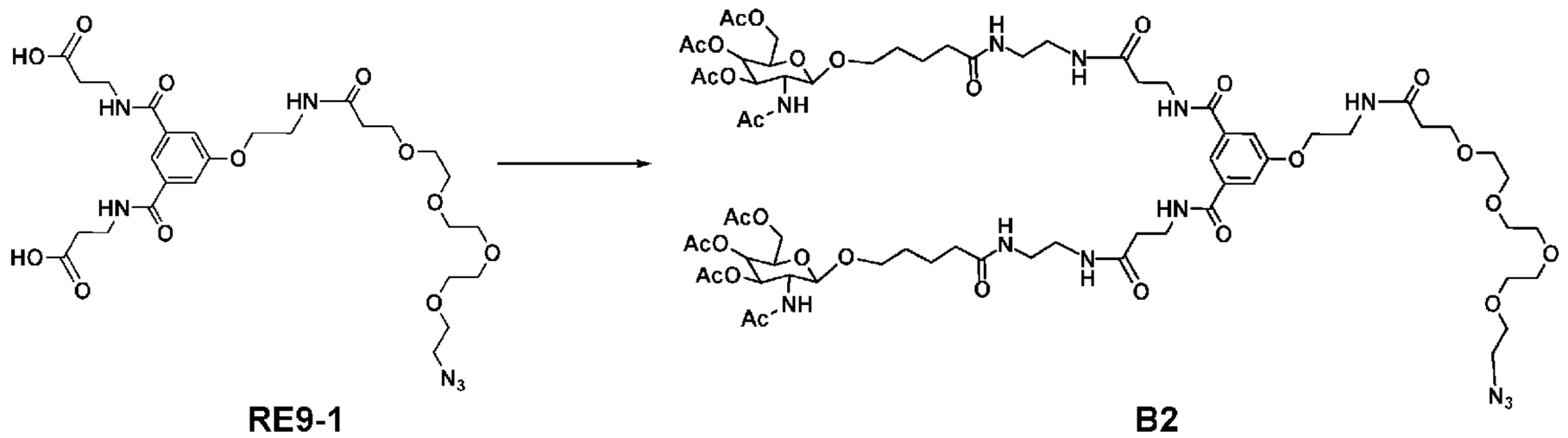
ESI-MS m/z: 1279$(M + 2H)^{2+}$

^{1}H-NMR (DMSO-D_6) δ: 1.11-1.66 (30H, m), 1.77 (12H, s), 1.89 (12H, s), 2.01-2.14 (8H, m), 2.01 (12H, s), 2.10 (12H, s), 2.33-2.38 (2H, m), 2.92-2.99 (4H, m), 3.16-3.54 (14H, m), 3.58-3.63 (16H, m), 3.65-3.74 (4H, m), 3.81-3.91 (4H, m), 3.98-4.08 (12H, m), 4.11-4.24 (4H, m), 4.48 (4H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz), 4.93-5.00 (4H, m), 5.21 (4H, d, J = 3.5 Hz), 7.52 (2H, s), 7.66-7.75 (2H, m), 7.78-7.87 (6H, m), 7.91 (1H, br s), 8.01-8.08 (3H, br m), 8.54-8.60 (2H, br m).

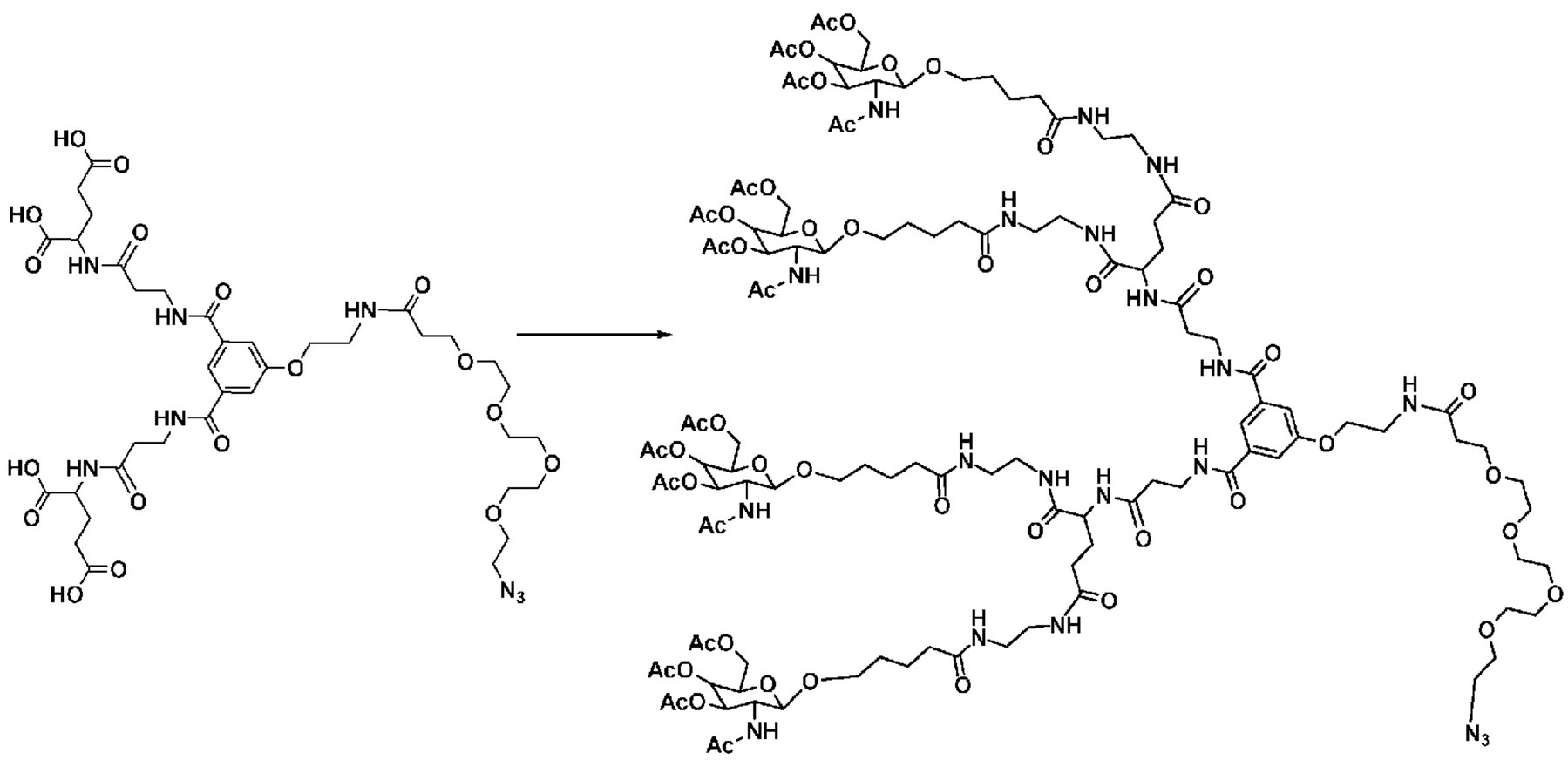
[0377] 参考例9:化合物B2およびB3の合成

[0378]

[化124]



RE9-1 B2



RE9-2 B2

[0379] 化合物B2の合成

参考例6に記載の方法で合成した化合物RE9-1（参考例6における化合物RE6-5, 0.00436 g, 0.00681 mmol)および参考例1の化合物RE1-4 (0.010 g, 0.020 mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の方法で化合物B2の粗生成物を得た。

ESI-MS m/z: 1584$(M + H)^{+}$

[0380] 化合物B3の合成

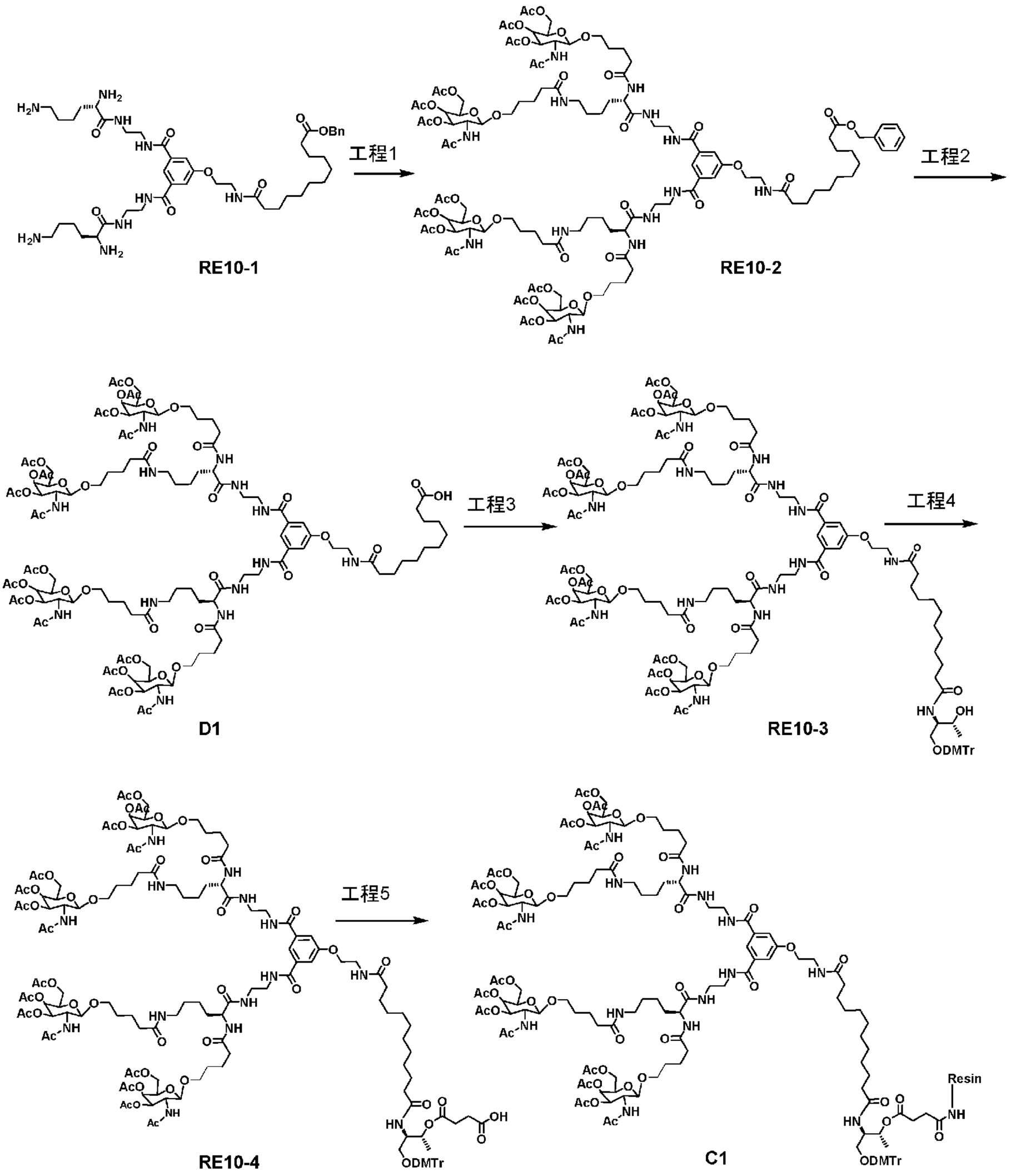
参考例6に記載の方法で合成した化合物RE9-2（参考例6における化合物RE6-7, 0.0100 g, 0.01112 mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の方法で化合物B3 (0.0223 g, 収率72%)を得た。

ESI-MS m/z: 1393$(M + 2H)^{2+}$

[0381] 参考例10：化合物C1およびD1の合成

[0382]

[化125]



[0383] 参考例10工程1

参考例4に記載の方法で合成した化合物RE10-1（参考例4における化合物RE4-5, 0.1952 g, 0.225 mmol)とジャーナル・オブ・アメリカン・ケミカル・ソサイエティー (Journal of American Chemical Society), 第136巻, 16958-16961頁、2014年に記載された方法で合成した参考例1の化合物RE1-1（0.4162 g, 0.93 mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の方法で化合物RE10-2（334.8

mg, 収率58%)を得た。

ESI-MS m/z: 1294 $(M + 2H)^{2+}$

[0384] 参考例10工程2

参考例10工程1で合成した化合物RE10-2 (0.1459 g, 0.056 mmol)を用い、参考例5の工程1と同様の方法で化合物D1 (112 mg, 収率80%)を得た。

ESI-MS m/z: 1249 $(M + 2H)^{2+}$

^{1}H-NMR (DMSO-D_6) δ: 1.11-1.66 (44H, m), 1.77 (12H, d, J = 1.5 Hz), 1.89 (12H, s), 2.01-2.20 (12H, m), 2.01 (12H, s), 2.10 (12H, s), 2.92-2.99 (4H, m), 3.16-3.54 (10H, m), 3.58-3.64 (4H, m), 3.65-3.74 (4H, m), 3.81-3.91 (4H, m), 3.98-4.08 (12H, m), 4.11-4.24 (4H, m), 4.48 (4H, dd, J = 8.4, 1.8 Hz), 4.93-5.00 (4H, m), 5.21 (4H, d, J = 3.5 Hz), 6.99 (2H, s), 7.52 (2H, s), 7.66-7.75 (2H, m), 7.78-7.87 (6H, m), 7.91 (1H, br s), 8.01-8.08 (3H, br m), 8.54-8.60 (2H, br m).

[0385] 参考例10工程3

参考例10工程2で合成した化合物D1 (0.1091 g, 0.044 mmol)および参考例2の化合物RE2-3 (0.0748 g, 0.184 mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の方法で化合物RE10-3を粗生成物として得た。

ESI-MS m/z: 1292 $(M + 2H)^{2+}$, 脱DMTr体として検出

[0386] 参考例10工程4

参考例10工程3で合成した化合物RE10-3 (0.161 g, 0.05586 mmol)をジクロロメタン (5 mL)に溶解し、コハク酸無水物 (東京化成工業社製, 0.1182 g, 1.181 mmol) 、N,N-ジメチルアミノピリジン (0.0224 g,0.183 mmol)、およびトリエチルアミン(0.55 mL, 3.95 mmol)を加えて、室温にて一晩攪拌した。反応液を氷冷し、水を加え、酢酸エチルで2回抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE10-4の粗生成物を得た。

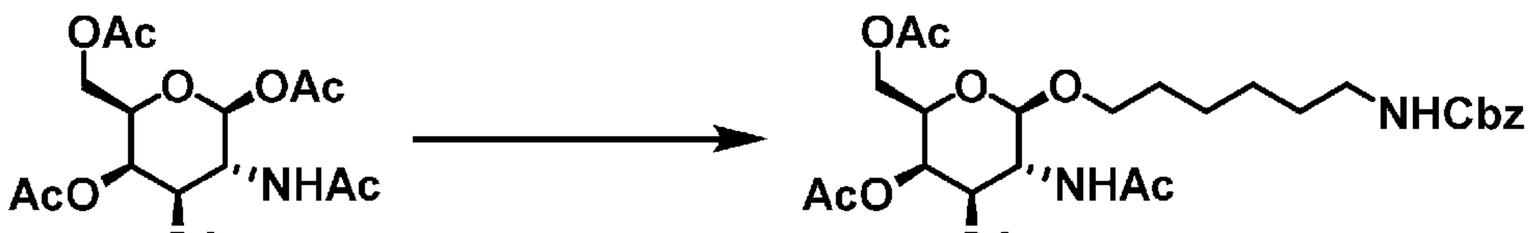
ESI-MS m/z: 1342$(M + 2H)^{2+}$, 脱DMTr体として検出

[0387] 参考例10工程5

参考例10工程4で合成した化合物RE10-4 (0.0816 g, 0.02734 mmol)、O-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロリン酸塩 (0.0221 g, 0.05827 mmol)、およびジイソプロピルエチルアミン (0.02 mL, 0.1094 mmol) をN,N-ジメチルホルムアミド(4 mL)に溶解し、LCAA-CPG (Chem Gene社製, 0.4882 g)を加え、室温にて終夜攪拌した。混合物を濾別し、ジクロロメタン、10%メタノールジクロロメタン溶液、およびジエチルエーテルで順次洗浄した後、無水酢酸/ピリジン溶液と作用させることにより、化合物C1 (49.5 μmol/g, 収率89%) を得た。なお、収率は1%トリフルオロ酢酸/ジクロロメタン溶液を固相担持体に添加し、DMTr基に由来する吸収から計算できる固相担体への導入率より算出した。

[0388] 参考例11

[0389] [化126]

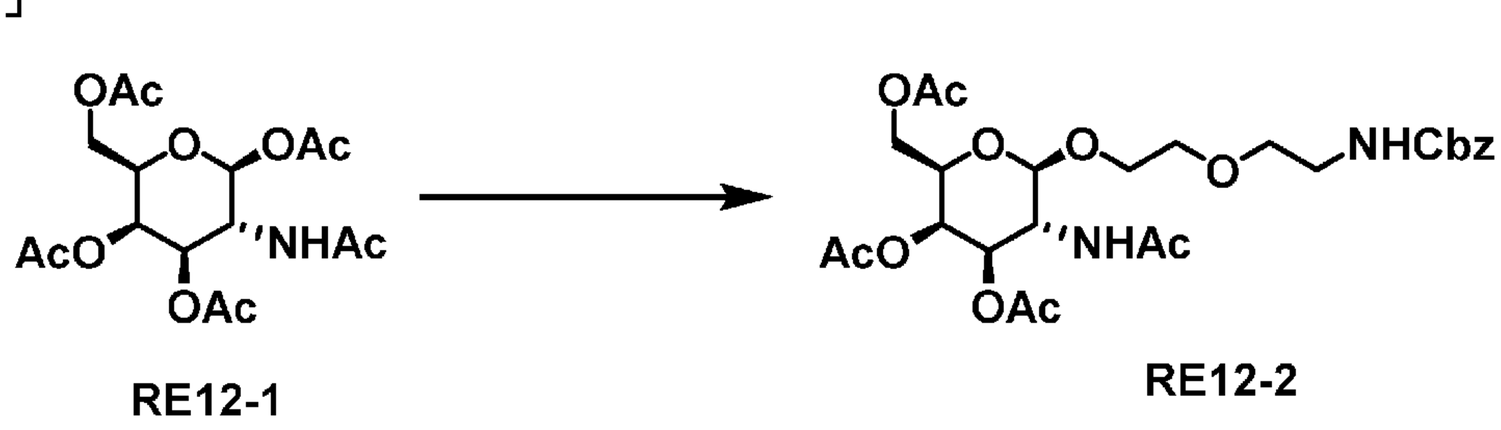


[0390] 化合物RE11-1 (1.200 g, 3.640 mmol) から、ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー (Journal of Medicinal Chemistry), 第59巻, 2718-2733頁, 2016年に記載された方法で化合物RE11-2 (1.050 g, 収率50%) を合成した。

ESI-MS m/z: 582 $(M + H)^+$

[0391] 参考例12

[0392] [化127]



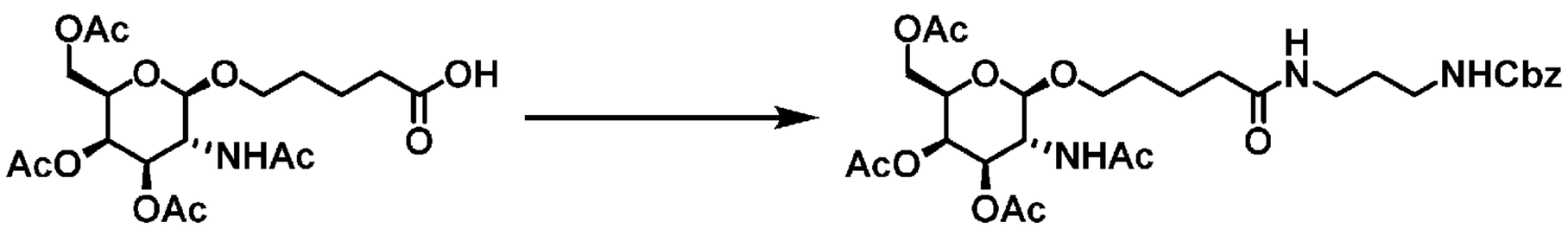
[0393] 化合物RE12-1 (4.000g, 10.27 mmol) をジクロロメタン (60 mL) に溶解し

、ベンジル-2-(2-ヒドロキシエトキシ)エチルカーバメイト（2.700 g, 11.30 mmol）、およびトリフルオロメタンスルホン酸（0.1360 mL, 1.541 mmol）を加えて、還流条件下で終夜攪拌した。反応液に10 wt% 炭酸カリウム水溶液を加え、ジクロロメタンと分液した後、有機相を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、2-メチルテトラヒドロフランへと置換濃縮した。残渣をヘプタンに滴下し、得られた結晶をろ過することにより、化合物RE12-2（5.130 g, 収率88%）を得た。

ESI-MS m/z: 570 $(M + H)^+$

[0394] 参考例13

[0395] [化128]



RE13-1 RE13-2

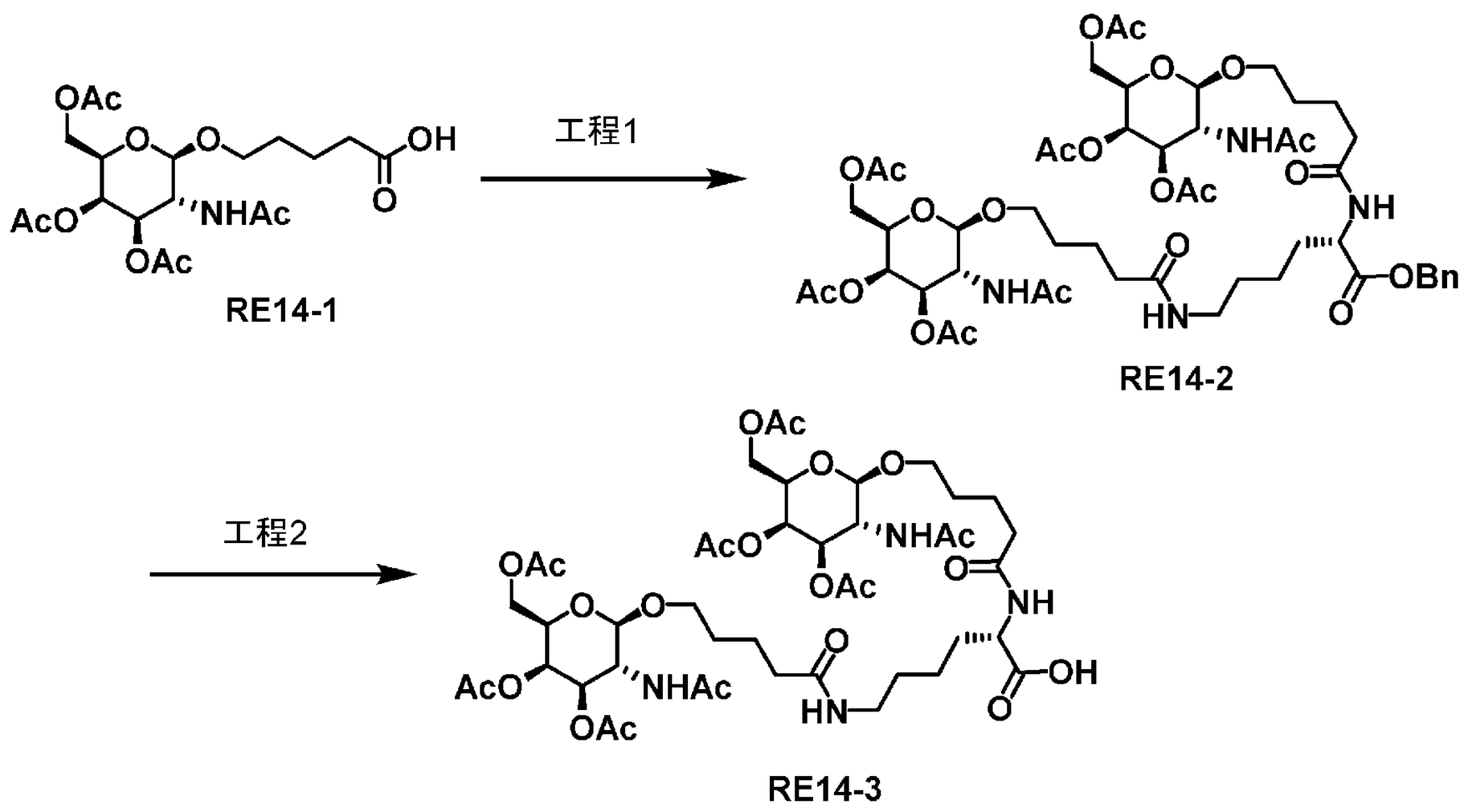
[0396] 化合物RE13-1（参考例1における化合物RE1-1, 898.0 mg, 2.007 mmol）をジクロロメタン（15 mL）に溶解し、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物（338.0 mg, 2.208 mmol）、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（343 mg, 2.208 mmol）、およびN-1-Z-1, 3-ジアミノプロパン塩酸塩（0.4910 mL, 2.208 mmol）を加え、室温で3時間攪拌した。反応液に水を加え、ジクロロメタンで分液した後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム/メタノール=90/10）で精製することにより、化合物RE13-2（873.0 mg, 収率68%）を得た。

ESI-MS m/z: 639 $(M + H)^+$

[0397] 参考例14

[0398]

[化129]



[0399] 参考例14工程1

化合物RE14-1 (参考例1における化合物RE1-1, 3.00 g, 6.70 mmol)をジクロロメタン (60 mL)に溶解し、室温にてL-リジンベンジルエステル二p-トルエンスルホン酸塩 (1.75 g, 3.02 mmol)、トリエチルアミン(0.935 mL, 6.70 mmol), 1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (1.29 g, 6.70 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール1水和物 (103 mg, 0.670 mmol)を加えて2.5時間撹拌した。反応液を水と飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=90/10)で精製することにより、化合物RE14-2を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 1096 $(M + H)^+$

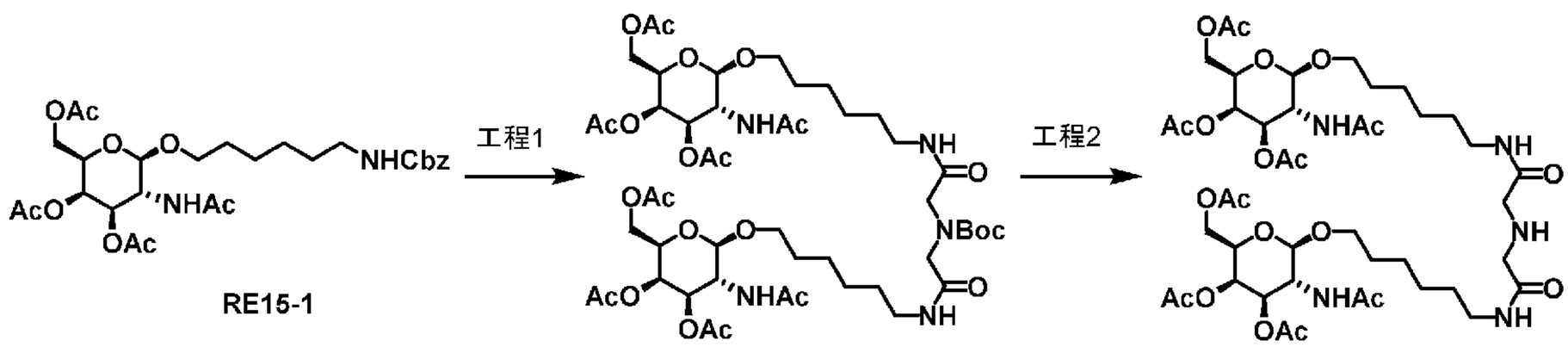
[0400] 参考例14工程2

化合物RE14-2 (2.30 g, 2.10 mmol)をテトラヒドロフラン (46 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末 (含水品, 54.29%; 424 mg)を加え、水素雰囲気下で終夜撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE14-3を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 1006 $(M + H)^+$

[0401] 参考例15

[0402] [化130]



[0403] 参考例15工程1

イミノ二酢酸（東京化成工業社製，1.5 g，6.43 mmol,)を塩化メチレン(30 mL)に溶解し、ペンタフルオロトリフルオロ酢酸(東京化成工業社製，2.75 mL，16.08 mmol)、トリエチルアミン(4.48 mL，32.2 mmol)を加えて4時間撹拌した。反応液に10%クエン酸水溶液を加え、クロロホルムで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。そこに、参考例11に記載の方法で合成した化合物RE15-1（参考例11における化合物RE11-2，2 g，3.45 mmol)を酢酸エチル(10 mL)とアセトニトリル(10 mL)との混合液に溶解し、パラジウム/炭素による接触水素還元を行った。得られた溶液部分を減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE15-2の粗製生物を得た。

ESI-MS m/z: 1091$(M+H)^+$

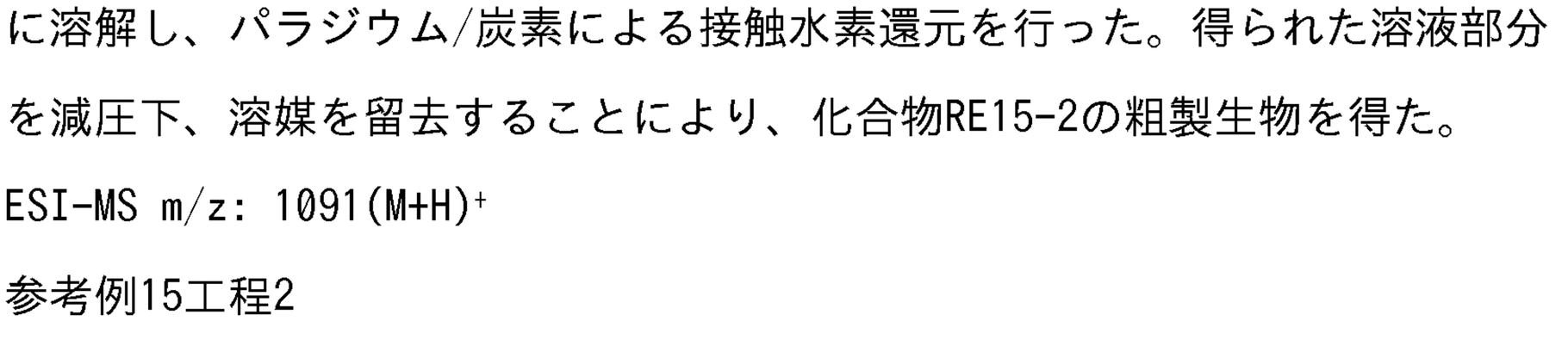
[0404] 参考例15工程2

化合物RE15-2（1.5 g,1.37 mmol)を用い、参考例1化合物RE1-4の合成の工程2と同様の方法で化合物RE15-3を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 990$(M+H)^+$

[0405] 参考例16

[0406] [化131]



[0407] 参考例16工程1

N-(t-ブトキシカルボニル)-L-グルタミン酸（東京化成工業社製)を用いて、参考例11に記載の方法で合成した化合物RE16-1（1.855 g, 3.19 mmol)を用い、参考例15の工程1と同様の方法で化合物RE16-2の粗精製物を得た。

ESI-MS m/z: 1105(M+H)$^+$

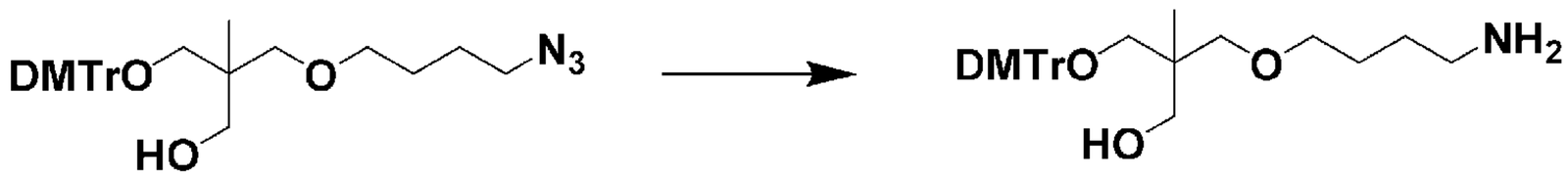
[0408] 参考例16工程2

化合物RE16-2(1.421 g, 1.2866 mmol)を用い、参考例1化合物RE1-4の合成の工程2と同様の方法で化合物RE16-3を定量的に得た。

ESI-MS m/z: 1004(M+H)$^+$

[0409] 参考例17

[0410] [化132]



RE17-1 RE17-2

[0411] ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー（Journal of Organic Chemistry），第74巻，6837-6842頁，2009年に記載された方法で合成した化合物RE17-1（90 mg, 0.173 mmol）をテトラヒドロフラン（1 mL）に溶解し、トリフェニルホスフィン、ポリマー担持（シグマアルドリッチ社製，63 mg, 0.189 mmol）を加えて、加熱環流下3時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去することにより、化合物RE17-2（70 mg, 収率82%)を得た。

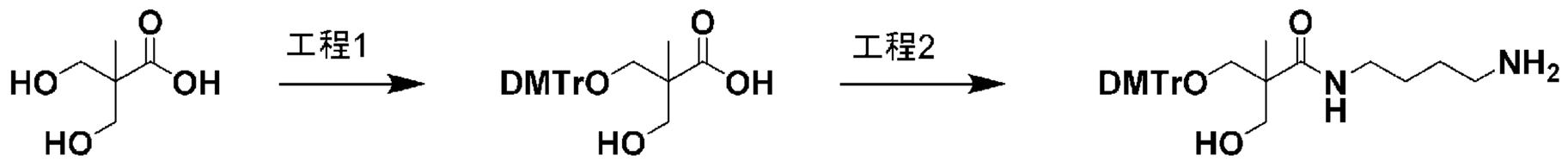
ESI-MS m/z: 516 (M+Na)$^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.89 (3H, s), 1.42-1.48 (2H, m), 1.52-1.61 (2H, m), 1.85 (1H, br s), 2.68 (2H, t, J= 7.2 Hz), 3.06-3.07 (2H, m), 3.39-3.44 (3H, m), 3.51-3.55 (3H, m), 3.78 (6H, s), 6.80-6.85 (4H, m), 7.17-7.23 (1H, m), 7.27-7.33 (6H, m), 7.41-7.43 (2H, m).

[0412] 参考例18

[0413]

[化133]



RE18-1 RE18-2 RE18-3

[0414] 参考例18工程1

化合物RE18-1（東京化成工業社製，0.500 g，3.73 mmoL)を用いて参考例2の工程1と同様の方法で化合物RE18-2の粗生成物（1.5 g）を得た。

ESI-MS m/z: 435 $(M-H)^-$

[0415] 参考例18工程2

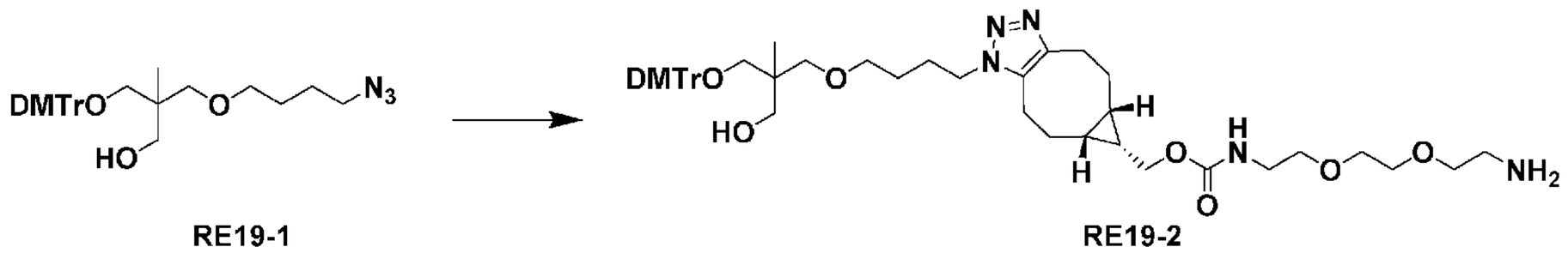
化合物RE18-2の粗生成物（1.5 g）と1,4-Diaminobutane（東京化成工業社製，3.29 g，37.3 mmol)を用いて参考例3の工程3と同様の方法で化合物RE18-3（0.18 g，2 段階収率10%)を得た。

ESI-MS m/z: 551 $(M+HCOO)^-$

^{1}H-NMR (400 MHz, MeOD) : δ 1.09 (3H, s), 1.45-1.52 (4H, m), 2.80 (2H, t, J = 7.2 Hz), 2.91 (2H, s), 3.05 (1H, d, J = 8.8 Hz), 3.12-3.16 (4H, m), 3.24 (1H, s), 3.43 (1H, d, J = 10.8 Hz), 3.62-3.66 (7H, m), 6.71-6.76 (4H, m), 7.05-7.11 (1H, m), 7.12-7.20 (6H, m), 7.28-7.32 (2H, m).

[0416] 参考例19

[0417] [化134]



RE19-1 RE19-2

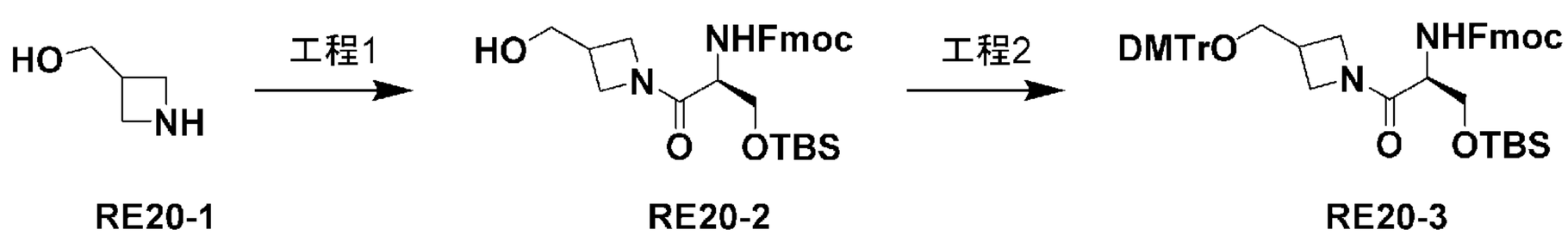
[0418] ジャーナル・オブ・オーガニック・ケミストリー（Journal of Organic Chemistry），第74巻，6837-6842頁，2009年に記載された方法で合成した化合物RE19-1（110 mg，0.212 mmol）をテトラヒドロフラン（2 mL）に溶解し、N-(1R,8S,9s)-Bicyclo[6.1.0]non-4-yn-9-ylmethyloxycarbonyl-1,8-diamino-3,6-dioxaoctane（東京化成工業社製，72 mg，0.222 mmol）を加えて、室温

にて1時間撹拌した。反応液に水を加え、クロロホルムで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム/メタノール=90/10)で精製することにより、化合物RE19-2 (160 mg, 収率90 %)を得た。ESI-MS m/z: 845 $(M+H)^+$

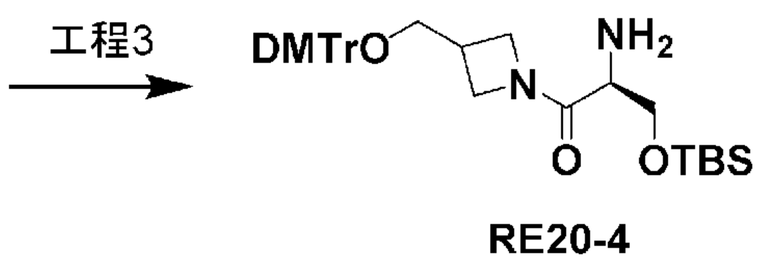
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : δ 0.88 (3H, s), 0.91-1.09 (3H, m), 1.20-1.25 (1H, m), 1.52-1.59 (4H, m), 1.80-1.85 (2H, m), 2.19-2.25 (4H, m), 2.59-2.68 (1H, m), 2.84-2.90 (4H, m), 3.02-3.11 (3H, m), 3.35-3.44 (5H, m), 3.49-3.53 (5H, m), 3.54-3.58 (2H, m), 3.62 (5H, s), 3.78 (6H, s), 4.13 (2H, d, J = 6.4 Hz), 4.21 (2H, t, J = 7.2 Hz), 6.79-6.84 (4H, m), 7.18-7.21 (1H, m), 7.24-7.27 (2H, m), 7.28-7.32 (4H, m), 7.39-7.44 (2H, m).

[0419] 参考例20

[0420] [化135]



RE20-1 RE20-2 RE20-3



RE20-4

[0421] 参考例20工程1

化合物RE20-1 (AstaTech社製, 100 mg, 1.148 mmol)およびFmoc-Ser(tBuMe2Si)-OH (渡辺化学工業社製, 532 mg, 1.205 mmol)を用いて参考例3の工程3と同様の方法で化合物RE20-2 (410 mg, 収率70%)を得た。

ESI-MS m/z: 511 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : δ 0.06 (6H, s), 0.90 (9H, s), 2.76-2.85 (1H, m), 3.65-3.86 (5H, m), 4.02-4.23 (3H, m), 4.32-4.40 (4H, m), 5.55 (1

H, d, J = 8.0 Hz), 7.31 (2H, t, J = 7.6 Hz), 7.40 (2H, t, J= 7.6 Hz), 7.59 (2H, d, J = 7.6 Hz), 7.76 (2H, d, J = 7.6 Hz).

[0422] 参考例20工程2

化合物RE20-2 (410 mg, 0.803 mmol)を用いて参考例2の工程1と同様の方法で化合物RE20-3の粗生成物(680 mg)を得た。

ESI-MS m/z: 814 $(M+H)^+$

[0423] 参考例20工程3

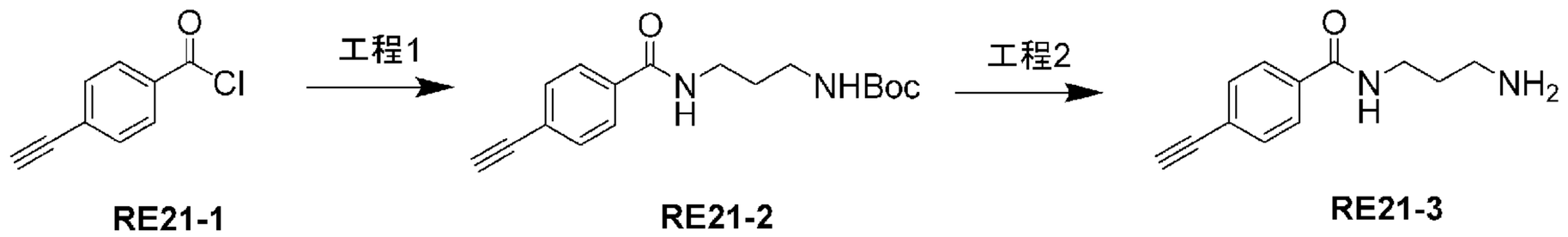
化合物RE20-3の粗生成物 (680 mg)を用いて参考例2の工程5と同様の方法で化合物RE20-4 (330 mg, 2段階収率70%)を得た。

ESI-MS m/z: 519 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : δ 0.02-0.09 (6H, m), 0.89 (9H, d, J = 28.8 Hz), 2.84-2.94 (1H, m), 3.24-3.30 (2H, m), 3.46 (1H, t, J = 7.2 Hz), 3.52-3.68 (2H, m), 3.75-3.80 (1H, m), 3.82 (6H, d, J= 2.4 Hz), 3.89-3.96 (1H, m), 4.05-4.17 (1H, m), 4.27-4.37 (1H, m), 6.82-6.89 (4H, m), 7.22-7.27 (1H, m), 7.29-7.34 (6H, m), 7.41-7.45 (2H, m)

[0424] 参考例21

[0425] [化136]



RE21-1 RE21-2 RE21-3

[0426] 参考例21工程1

N-(Tert-ブトキシカルボニル)-1,3-ジアミノプロパン (東京化成工業社製, 1.788 g, 10.26 mmol) をジクロロメタン (22.8 mL) に溶解し、トリエチルアミン (1.907 mL, 13.68 mmol)を加え、室温で15分撹拌した。反応液に、オーガニックレター (Organic Letter), 第16巻, 6318-6321頁, 2014年に記載された方法で合成した化合物RE21-1 (1.126 g, 6.84 mmol) のジクロロメタン溶液 (5 mL)を滴下し、室温で2時間撹拌した。反応液に水を加え、クロロホルムで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウ

ムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘプタン/酢酸エチル＝35/65）で精製することにより、化合物RE21-2（1.65 g，収率80%）を得た。

ESI-MS m/z: 303 $(M+H)^+$

[0427] 参考例21工程2

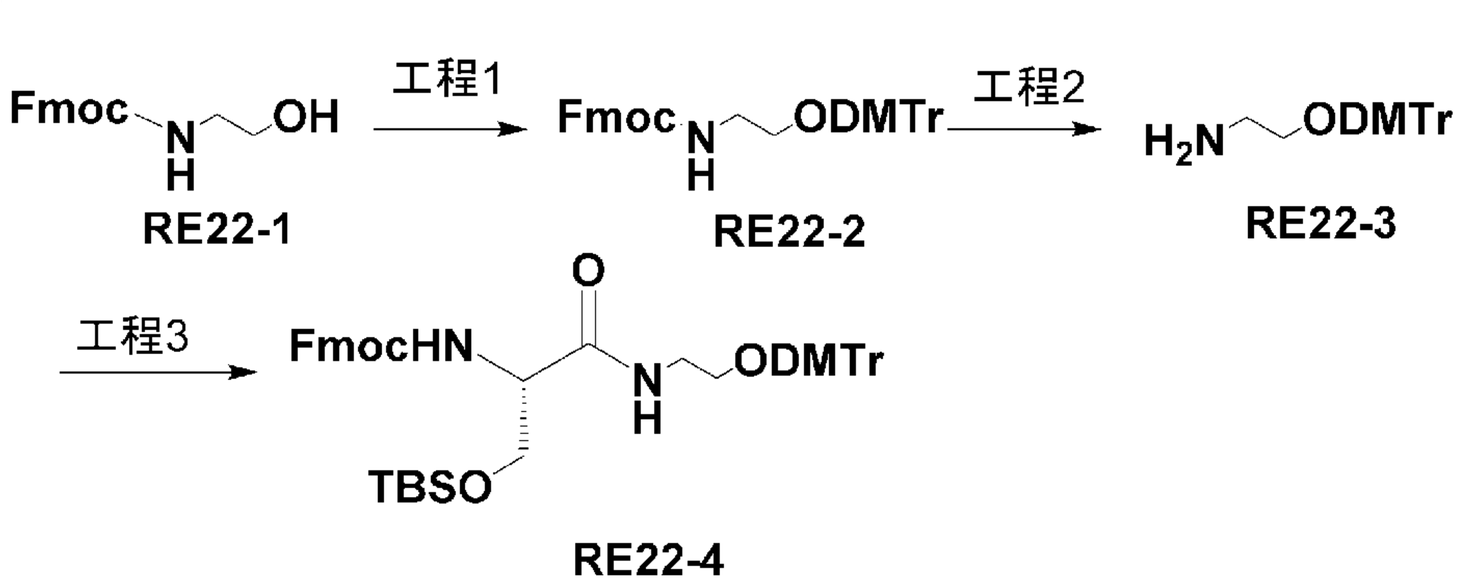
化合物RE21-2（1.65 g，5.46 mmol)を用いて参考例1化合物RE1-4の合成の工程2と同様の方法で化合物RE21-3（1.10 g，収率100%)を得た。

ESI-MS m/z: 203 $(M+H)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : δ 1.74 (2H, dt, J = 12.0, 6.0 Hz), 2.95 (2H, t, J = 6.0 Hz), 3.18 (1H, s), 3.60 (2H, td, J= 6.0, 5.2 Hz), 7.54 (2H, dt, J = 8.4, 1.8 Hz), 7.76 (2H, dt, J = 8.4, 1.8 Hz), 7.97 (1H, br s).

[0428] 参考例22

[0429] [化137]



[0430] 参考例22工程1

化合物RE22-1（東京化成社製，1.2 g，4.24mmol)を用いて参考例2の工程1と同様の方法で化合物RE22-2の粗製生物を得た。

ESI-MS m/z: 608$(M+Na)^+$

[0431] 参考例22工程2

化合物RE22-2の粗生成物を用いて参考例2の工程5もしくは実施例1の工程11に記載された方法で化合物R22-3（1.34 g，2段階収率52%）を得た。

ESI-MS m/z: 386$(M+Na)^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) : δ 3.34 (2H, t, J = 6.4 Hz), 3.47 (2H, t, J =

6.4 Hz), 3.79 (6H, s), 6.78-6.84 (4H, m), 7.17-7.21 (1H, m), 7.27-7.35 (6H, m), 7.42-7.46 (2H, m).

[0432] 参考例22工程3

化合物RE22-3 (1.15 g,3.16 mmol)およびFmoc-Ser(tBuMe2Si)-OH(渡辺化学工業社製, 1.677 g, 3.8 mmol)を用いて参考例3の工程3と同様の方法で化合物RE22-4 (560 mg, 収率31%)を得た。

1H-NMR (400 MHz, $CDCl^3$) δ: 0.00-0.07 (6H, m), 0.83-0.89 (9H, m), 3.18-3.26 (2H, m), 3.39-3.46 (2H, m), 3.61-3.68 (1H, m), 3.76 (6H, s), 3.89 (1H, dd, J= 10.0, 4.0 Hz), 4.03 (1H, dd, J = 10.0, 4.0 Hz), 4.15-4.20 (1H, m), 4.22-4.28 (1H, m), 4.32-4.40 (2H, m), 5.65-5.88 (1H, m), 6.76-6.85 (4H, m), 7.16-7.23 (1H, m), 7.25-7.34 (8H, m), 7.36-7.44 (4H, m), 7.50-7.64 (2H, m), 7.72-7.79 (2H, m).

[0433] 参考例23

第Y-1表に記載された化合物RE23-1～RE23-5およびFmoc-Ser(tBuMe$_2$Si)-OHを用いて、参考例22と同様の方法により、第Y-2表に記載された化合物RE23-6～RE23-10を得た。

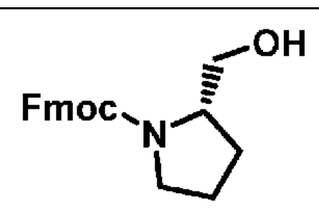
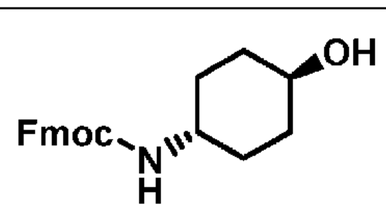
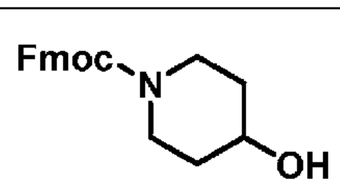
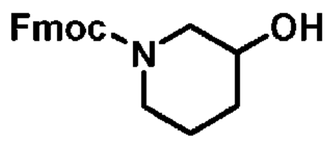
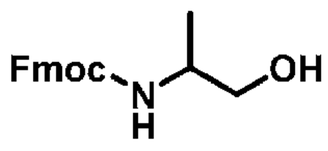
参考例22の化合物RE22-3とFmoc-Thr(tBuMe$_2$Si)-OHを用いて、参考例22と同様の方法により第Y-2表に記載した化合物RE23-11を得た。

第Y-1表に記載された化合物RE23-1とFmoc-Thr(tBuMe$_2$Si)-OHを用いて、参考例22と同様の方法により第Y-2表に記載した化合物RE23-12を得た。

本実施例により合成した化合物のNMR分析データを第Y-3表に示す。

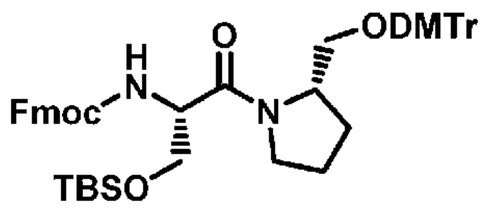
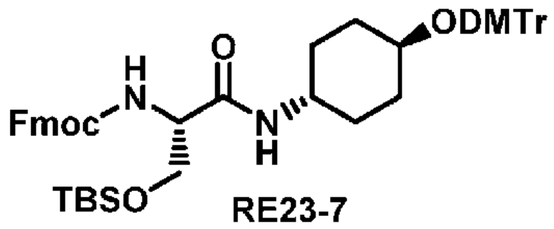
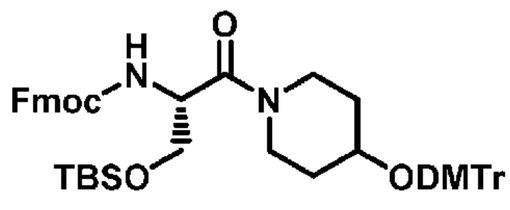
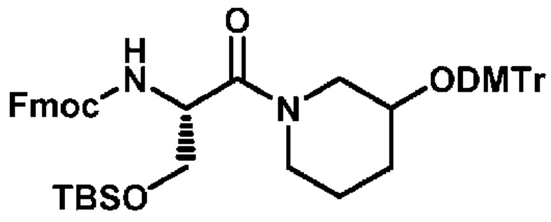
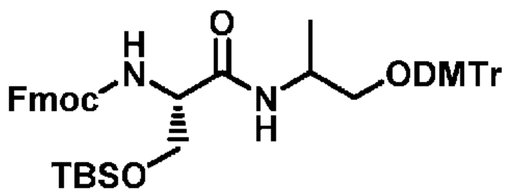
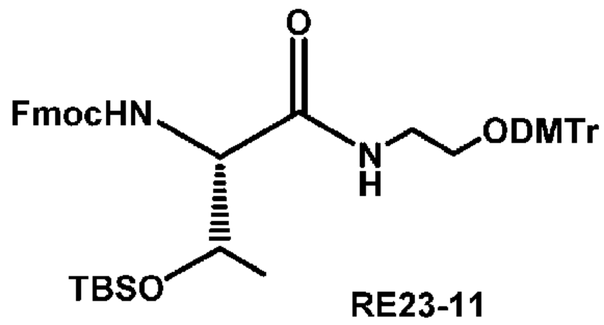
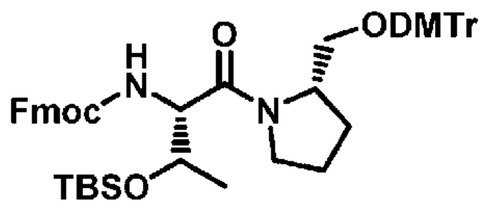
[0434] [表15]

第Y-1表

 RE23-1	 RE23-2	 RE23-3
 RE23-4	 RE23-5	

[0435] [表16]

第Y-2表

 RE23-6	 RE23-7	 RE23-8
 RE23-9	 RE23-10	 RE23-11
 RE23-12		

[0436]

[表17]

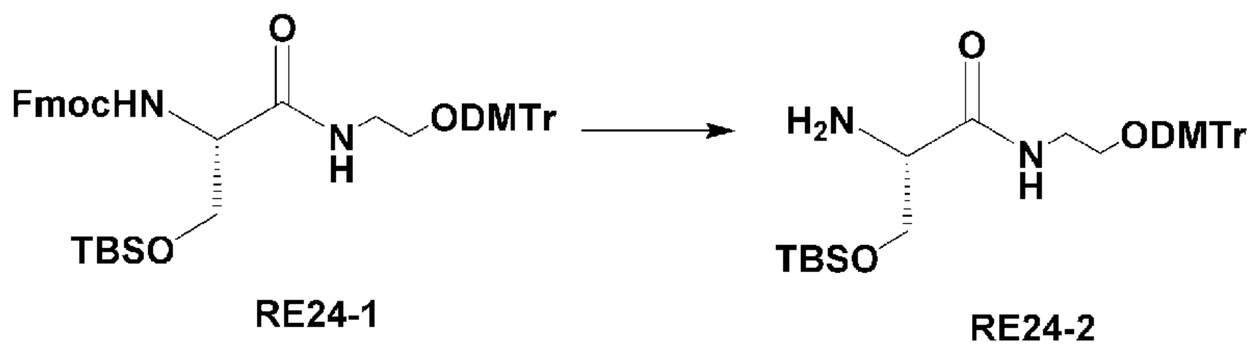
第 Y-3 表

参考例 23 化合物	NMR スペクトル
RE23-6	^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.07-0.03 (6H, m), 0.89-0.87 (9H, m H), 2.04-1.65 (4H, m), 3.86-3.58 (11H, m), 4.37-4.18 (4H, m), 4.69-4.68 (1H, m), 5.67-5.65 (1H, m), 6.84-6.80 (4H, m), 7.18-7.16 (3H, m), 7.33-7.25 (7H, m), 7.42-7.38 (3H, m), 7.60-7.58 (2H, m), 7.78-7.75 (2H, m).
RE23-7	^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.11-0.05 (6H, m), 0.91-0.87 (9H, m), 1.43-1.19 (4H, m), 2.00-1.80 (3H, m), 3.74-3.36 (2H, m), 3.81-3.75 (6H, m), 4.41-3.96 (5H, m), 5.71-5.64 (1H, m), 6.37-6.36 (1H, m), 6.84-6.80 (4H, m), 7.20-7.16 (2H, m), 7.42-7.25 (10H, m), 7.59-7.48 (3H, m), 7.78-7.75 (2H, m).
RE23-8	^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.08-0.03 (6H, m), 0.98-0.81 (9H, m), 1.20-1.07 (2H, m), 1.39-1.30 (2H, m), 1.42-1.40 (1H, m), 1.71-1.50 (2H, m), 3.36-3.14 (1H, m), 3.73-3.60 (3H, m), 3.80-3.77 (6H, m), 4.33-4.18 (1H, m), 4.35-4.34 (2H, m), 4.78-4.77 (1H, m), 5.75-5.74 (1H, m), 6.83-6.81 (4H, m), 7.35-7.26 (5H, m), 7.39-7.37 (6H, m), 7.50-7.48 (2H, m), 7.61-7.57 (2H, m), 7.77-7.74 (2H, m)
RE23-9	^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.04-0.00 (6H, m), 0.87-0.80 (9H, m), 1.47-1.11 (3H, m), 1.92-1.61 (1H, m), 4.83-2.99 (16H, m), 5.88-5.72 (1H, m), 6.89-6.82 (4H, m), 7.21-7.14 (1H, m), 7.49-7.28 (12H, m), 7.62-7.59 (2H, m), 7.77-7.75 (2H, m)
RE23-10	^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.01-0.05 (6H, m), 0.66-0.92 (9H, m), 1.11-1.12 (3H, m), 3.02-3.06 (1H, m), 3.55-3.62 (1H, m), 3.69-3.75 (6H, m), 3.91-4.35 (6H, m), 5.62 (1H, s), 6.74-6.78 (4H, m), 7.10-7.12 (2H, m), 7.14-7.27 (7H, m), 7.30-7.36 (4H, m), 7.43-7.53(2H, m), 7.68-7.71 (2H, m).
RE23-11	^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 0.14-0.08 (6H, m), 1.10-0.87 (9H, m), 1.56-1.55 (3H, m), 3.48-3.41 (2H, m), 3.81-3.73 (7H, m), 4.25-4.14 (2H, m), 4.45-4.39 (3H, m), 5.77-5.76 (1H, m), 6.84-6.79 (4H, m), 7.18-7.16 (3H, m), 7.42-7.26 (10H, m), 7.61-7.56 (2H, m), 7.78-7.74 (2H, m).
RE23-12	^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ -0.10-0.00 (6H, m), 0.81-0.72 (9H, m), 1.12-1.11 (3H, m), 1.47-1.54 (1H, m), 1.83-1.77 (3H, m), 3.71-3.47 (9H, m), 4.39-4.00 (6H, m), 5.55-5.53 (1H, m), 6.74-6.71 (4H, m), 7.08-7.06 (3H, m), 7.32-7.16 (10H, m), 7.52-7.48 (2H, m), 7.67-7.65 (2H, m).

[0437] 参考例24

[0438]

[化138]



[0439] 参考例22に記載の方法で合成した化合物RE24-1（参考例22における化合物RE22-4, 2.487 g, 3.16 mmol)を用いて参考例2工程2と同様の方法で化合物RE24-2を得た(1.2 g, 収率67%)。

ESI-MS m/z: 587(M+Na)$^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ -0.01-0.07 (6H, m), 0.86-0.90 (9H, m), 3.15-3.21 (2H, m), 3.41-3.48 (3H, m), 3.72 (1H, dd, J= 10.0, 6.4 Hz), 3.79 (6H, s), 3.84 (1H, dd, J = 10.0, 4.8 Hz), 6.79-6.84 (4H, m), 7.18-7.23 (1H, m), 7.27-7.33 (6H, m), 7.40-7.44 (2H, m), 7.72-7.75 (1H, br m).

[0440] 参考例25

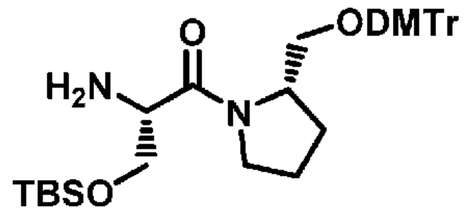
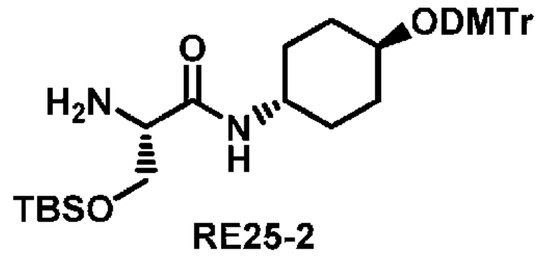
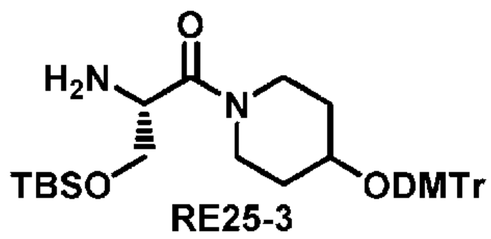
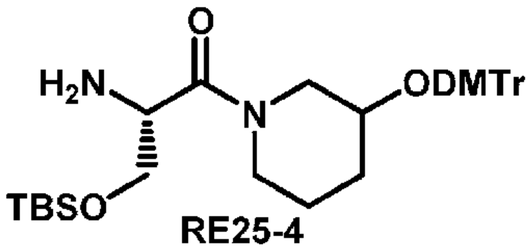
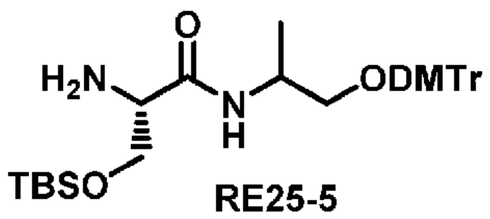
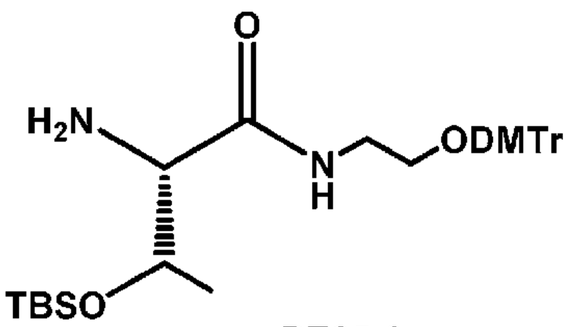
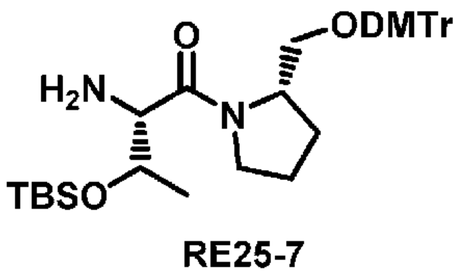
第Y-2表に記載した化合物RE23-6～RE23-12を用いて参考例24と同様の方法により第Z-1表に記載した化合物RE25-1～RE25-7を得た。

本実施例により合成した化合物の質量分析結果を第Z-2表に示す。

[0441]

[表18]

第Z-1表

 RE25-1	 RE25-2	 RE25-3
 RE25-4	 RE25-5	 RE25-6
 RE25-7		

[0442] [表19]

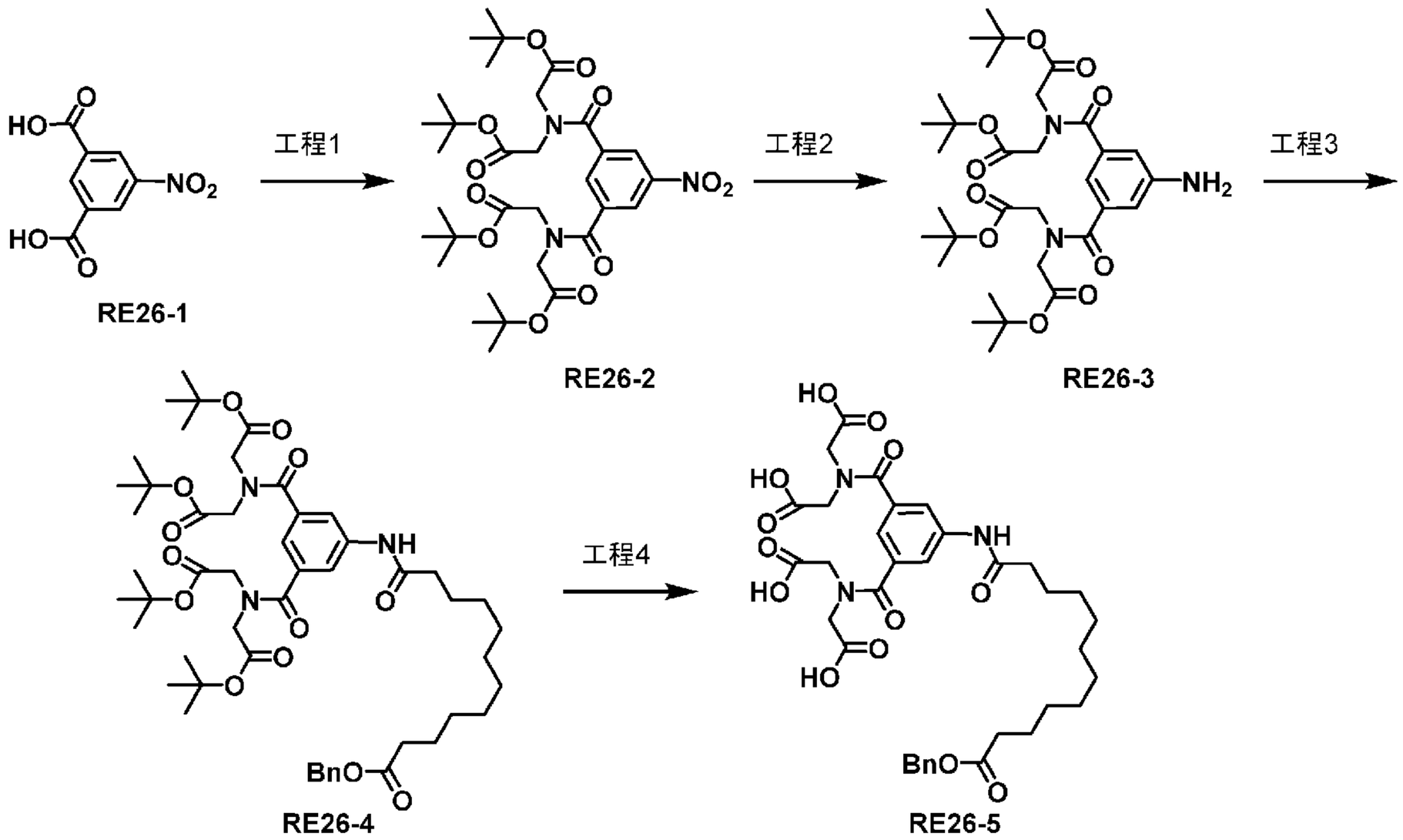
第Z-2表

参考例 25 化合物	ESI-MS m/z
RE25-1	605(M+H)+
RE25-2	619(M+H)+
RE25-3	303(M+H)+, 脱 DMTr 体として検出
RE25-4	649(M+HCOO)-
RE25-5	577(M-H)-
RE25-6	623(M+HCOO)-
RE25-7	317(M+H)+, 脱 DMTr 体として検出

[0443] 参考例26

[0444]

[化139]



[0445] 参考例26工程1

化合物RE26-1 (2.00 g, 9.47 mmol)をN, N'-ジメチルホルムアミド (40 mL)に溶解し、室温にてイミノ二酢酸ジ-tert-ブチルエステル (5.11 g, 20.84 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (4.00 g, 20.84 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール1水和物 (145 mg, 0.947 mmol)を加えて2時間撹拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘプタン/酢酸エチル=50/50)で精製した。さらにメタノールでスラリー精製することにより、化合物RE26-2 (4.07 g, 収率65 %)を得た。

ESI-MS m/z: 664 $(M - H)^-$

[0446] 参考例26工程2

化合物RE26-2 (2.66 g, 4.00 mmol)をテトラヒドロフラン (53 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末 (含水品, 54.29%; 490 mg)を加え、水素雰囲気下で3時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去する

ことにより、化合物RE26-3（2.86 g，収率113%）を得た。

ESI-MS m/z: 634 $(M - H)^-$

[0447] 参考例26工程3

化合物RE26-3（871.0 mg，1.370 mmol）をN，N’-ジメチルホルムアミド（17 mL）に溶解し、O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イン)-N,N,N’,N’-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸塩（625.0 mg，1.644 mmol）、ジイソプロピルエチルアミン（0.5730 mL，3.290 mmol）、およびドデカン二酸モノベンジルエステル（527.0 mg，1.644 mmol）を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘプタン/酢酸エチル=60/40）で精製することにより、化合物RE26-4（1.030 g，収率80%）を得た。

ESI-MS m/z: 939 $(M + H)^+$

[0448] 参考例26工程4

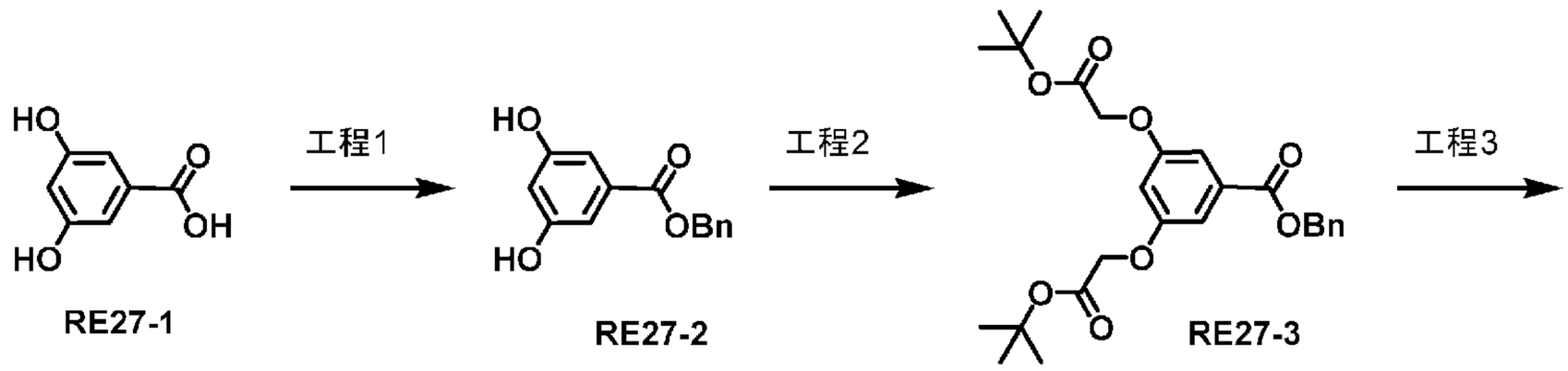
化合物RE26-4（1.030 g，1.098 mmol）をジクロロメタン（10 mL）に溶解し、トリフルオロ酢酸（10.00 mL，130.0 mmol）を加え、室温で1時間攪拌した。減圧下、溶媒を留去し、化合物RE26-5の粗生成物を得た。

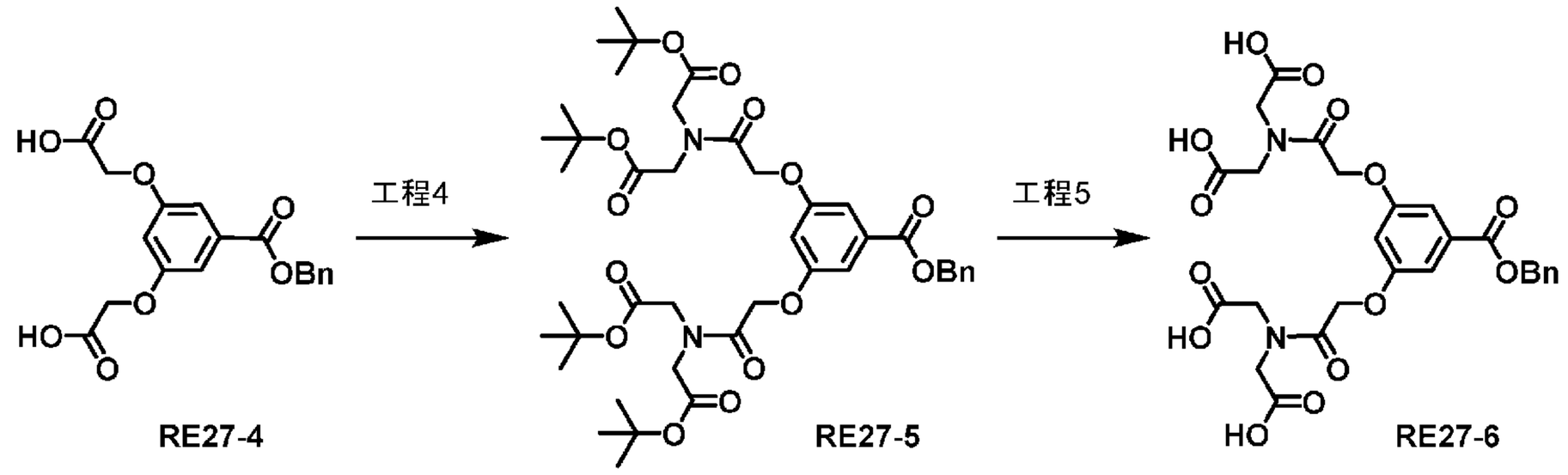
ESI-MS m/z: 713 $(M - H)^-$

[0449] 参考例27

[0450]

[化140]





[0451] 参考例27工程1

化合物RE27-1（2.000 g, 12.98 mmol）をN, N'-ジメチルホルムアミド（30 mL）に溶解し、炭酸水素カリウム（1.559 g, 15.57 mmol）および塩化ベンジル（2.328 mL, 19.47 mmol）を加えて、室温にて4時間攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウムを加え、ジクロロメタンで抽出した後、有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘプタン/酢酸エチル=50/50）で精製することにより、化合物RE27-2（2.850 g, 収率90%）を得た。

ESI-MS m/z: 243 $(M - H)^-$

[0452] 参考例27工程2

化合物RE27-2（2.500 g, 10.24 mmol）をN, N'-ジメチルホルムアミド（30 mL）に溶解し、炭酸カリウム（5.660 g, 40.90 mmol）およびtert-ブチルブロモ酢酸（3.300 mL, 22.52 mmol）を加え、90℃で4時間攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウムを加え、ジクロロメタンで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘプタン/酢酸エチル=75/25）で精製することにより、化合物RE27-3（4.300 g, 収率89%）を得た。

ESI-MS m/z: 472 (M - H)$^-$

[0453] 参考例27工程3

化合物RE27-3（1.000 g, 2.116 mmol）をジクロロメタン（10 mL）に溶解し、トリフルオロ酢酸（10.00 mL, 130.0 mmol）を加え、室温で6時間攪拌した。減圧下、溶媒を留去し、化合物RE27-4の粗生成物を得た。

ESI-MS m/z: 359 (M - H)$^-$

[0454] 参考例27工程4

化合物RE27-4（350.0 mg, 0.9710 mmol）をN, N'-ジメチルホルムアミド（7 mL）に溶解し、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物（327.0 mg, 2.137 mmol）、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（410.0 mg, 2.137 mmol）、およびイミノジ酢酸ジ-tert-ブチルエステル（524.0 mg, 2.137 mmol）を加え、室温で5時間攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘプタン/酢酸エチル=60/40）で精製することにより、化合物RE27-5（617.0 mg, 収率78%）を得た。

ESI-MS m/z: 814 (M - H)$^-$

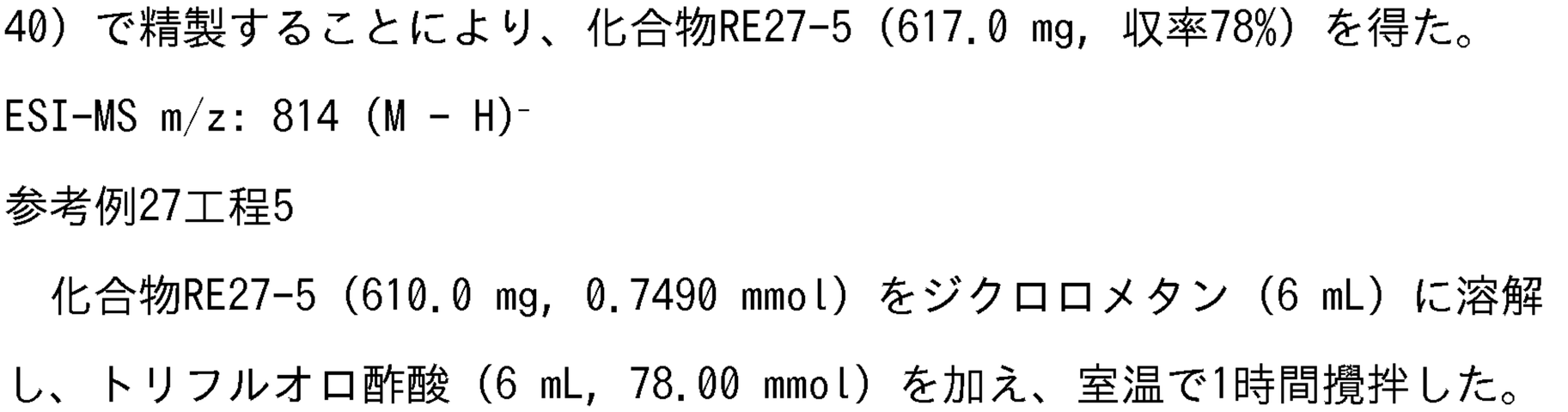
[0455] 参考例27工程5

化合物RE27-5（610.0 mg, 0.7490 mmol）をジクロロメタン（6 mL）に溶解し、トリフルオロ酢酸（6 mL, 78.00 mmol）を加え、室温で1時間攪拌した。減圧下、溶媒を留去し、化合物RE27-6の粗生成物を得た。

ESI-MS m/z: 590 (M + H)$^+$

[0456] 参考例28

[0457] [化141]



[0458] 参考例28工程1

参考例26に記載に方法で合成した化合物RE28-1（参考例26における化合物RE26-3, 474 mg, 0.744 mmol)をN, N'-ジメチルホルムアミド（10 mL)に溶解し、室温にてジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー（Journal of Medicinal Chemistry), 第54巻, 2433-2446頁, 2011年に記載された方法で合成したtrans-シクロヘキサン-1,4-ジカルボン酸モノベンジルエステル（0.234 mg, 0.893 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン（0.312 mL, 1.79 mmol)、O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート（339 mg, 0.893 mmol)を加えて6時間撹拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（ヘプタン/酢酸エチル=50/50)で精製することにより、化合物RE28-2（448 mg, 収率68 %)を得た。

ESI-MS m/z: 879 $(M - H)^-$

[0459] 参考例28工程2

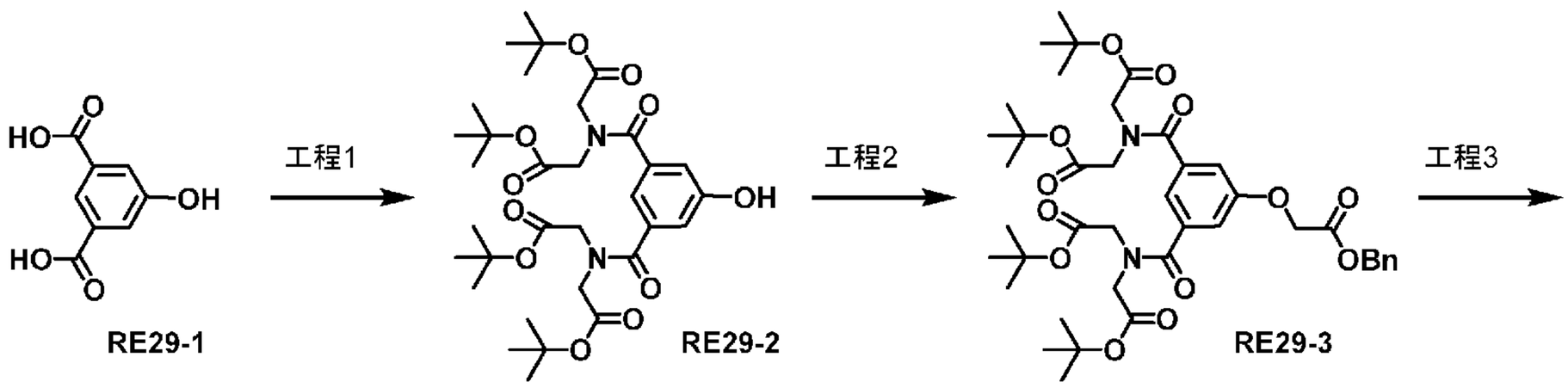
化合物RE28-2（341 mg, 0.387 mmol)をジクロロメタン（3.4 mL)に溶解し、室温にてトリフルオロ酢酸（3.4 mL)を加えて終夜撹拌した。反応液を減圧濃縮し、酢酸エチルで共沸し、ヘプタンでスラリー精製することにより、化合物RE28-3（254 mg, 収率100%)を得た。

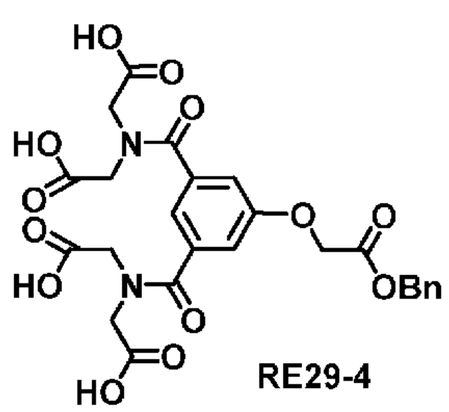
ESI-MS m/z: 656 $(M + H)^+$

[0460] 参考例29

[0461]

[化142]





[0462] 参考例29工程1

化合物RE29-1 (500 mg, 2.75 mmol)をN, N'-ジメチルホルムアミド (10 mL)に溶解し、室温にてイミノジ酢酸ジ-tert-ブチルエステル (1.48 g, 6.04 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (1.16 g, 6.04 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール1水和物 (42.0 mg, 0.275 mmol)を加えて4時間撹拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘプタン/酢酸エチル=50/50)で精製することにより、化合物RE29-2 (329 mg, 収率19 %)を得た。

ESI-MS m/z: 635 $(M - H)^-$

[0463] 参考例29工程2

化合物RE29-2 (323 mg, 0.507 mmol)をN, N'-ジメチルホルムアミド (6v5 mL)に溶解し、室温にて炭酸カリウム (84.0 mg, 0.609 mmol)、ブロモ酢酸ベンジル (139 mg, 0.609 mmol)を加えて3時間撹拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘプタン/酢酸エチル=50/50)で精製することにより、化合物RE29-3 (313 mg, 収率79 %)を得た。

ESI-MS m/z: 783 $(M - H)^-$

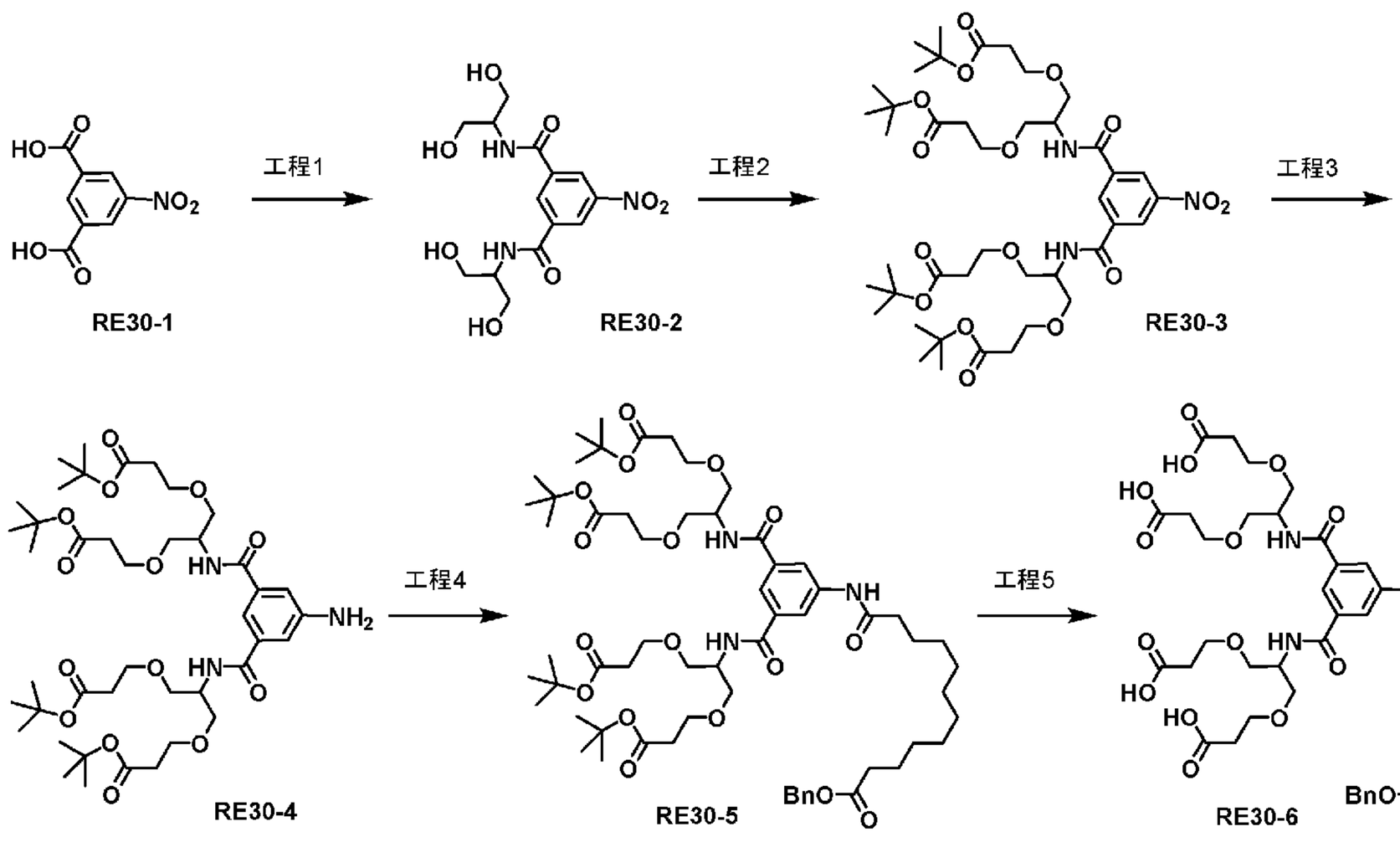
[0464] 参考例29工程3

化合物RE29-3 (312 mg, 0.398 mmol)をジクロロメタン (3.1 mL)に溶解し、室温にてトリフルオロ酢酸 (3.1 mL)を加えて終夜撹拌した。反応液を減圧濃縮し、酢酸エチルで共沸することにより、化合物RE29-4 (252 mg, 定量的)を得た。

ESI-MS m/z: 561 $(M + H)^+$

[0465] 参考例30

[0466] [化143]



[0467] 参考例30工程1

化合物RE30-1 (2.00 g, 9.47 mmol)をN, N'-ジメチルホルムアミド (40 mL)に溶解し、室温にて2-アミノ-1,3-プロパンジオール (1.90 g, 20.84 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (4.00 g, 20.84 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール1水和物 (145 mg, 0.947 mmol)を加えて2時間撹拌した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (酢酸エチル/メタノール=70/30)で精製した。さらに酢酸エチルでスラリー精製することにより、化合物RE30-2 (2.68 g, 収率79%)を得た。

ESI-MS m/z: 356 $(M - H)^-$

[0468] 参考例30工程2

化合物RE30-2 (500 mg, 1.40 mmol)をアセトニトリル (10 mL)に懸濁し、室温にてアクリル酸tert-ブチルエステル (3.59 g, 28.0 mmol)、ベンジルトリメチルアンモニウムヒドロキシド (40%水溶液; 1.76 mL, 702 mmol)を加えて終夜撹拌した。減圧下、溶媒を留去し、水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘプタン/酢酸エチル=50/50)で精製することにより、化合物RE30-3 (300 mg, 収率24 %)を得た。

ESI-MS m/z: 871 $(M + H)^+$

[0469] 参考例30工程3

化合物RE30-3 (340 mg, 0391 mmol)をテトラヒドロフラン (6.8 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末 (含水品, 54.29%; 31.3 mg)を加え、水素雰囲気下で6時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘプタン/酢酸エチル=30/70)で精製することにより、化合物RE30-4 (235 mg, 収率72 %)を得た。

ESI-MS m/z: 841 $(M + H)^+$

[0470] 参考例30工程4

化合物RE30-4 (232 mg, 0.276 mmol)をN, N'-ジメチルホルムアミド (4.6 mL)に溶解し、室温にてドデカン酸モノベンジルエステル (0.133 mg, 0.414 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン (0.145 mL, 0.829 mmol)、O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート (158 mg, 0.414 mmol)を加えて終夜撹拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘプタン/酢酸エチル=30/70)で精製することにより、化合物RE30-5 (274 mg, 収率87 %)を得た。

ESI-MS m/z: 1141 $(M - H)^-$

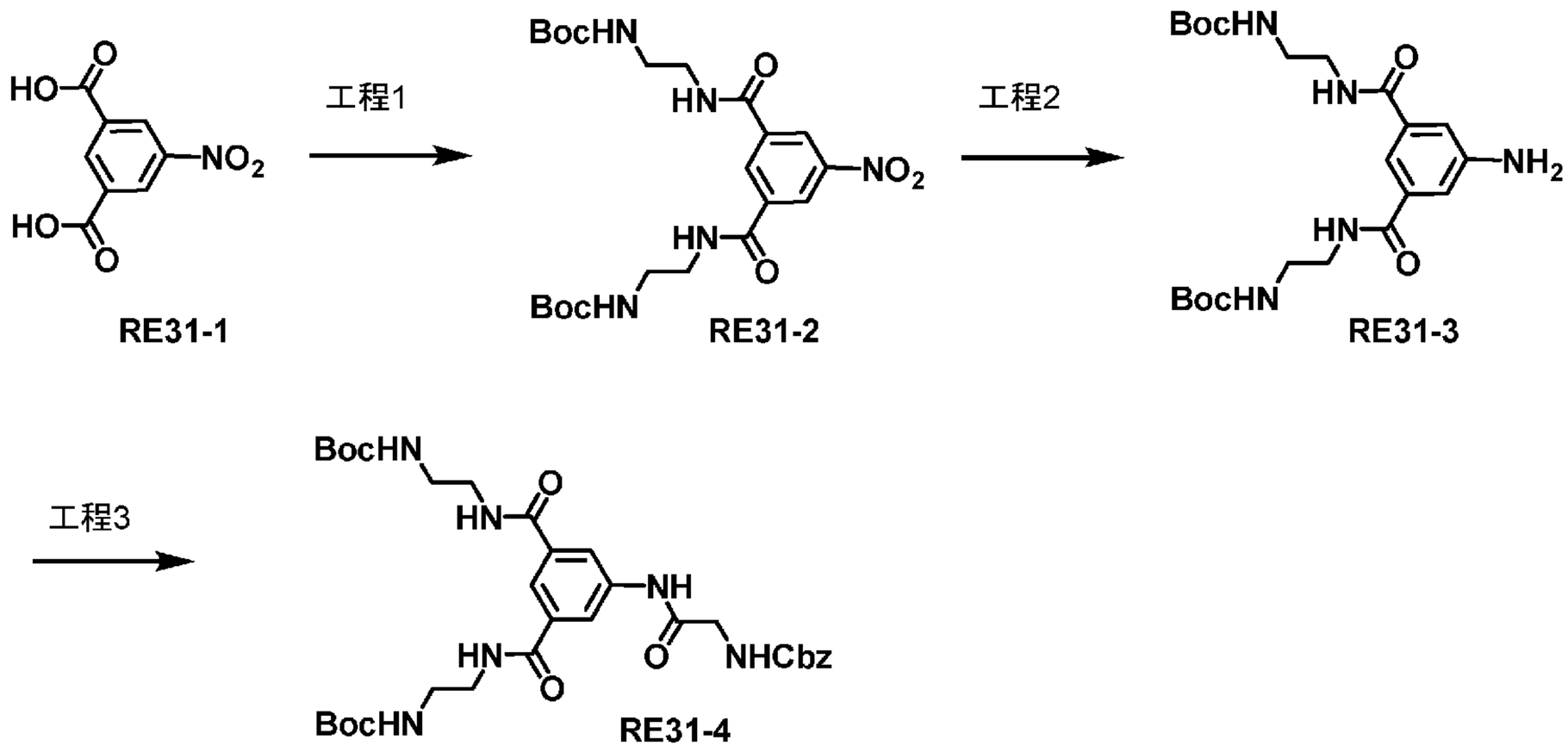
[0471] 参考例30工程5

化合物RE30-5 (273 mg, 0.239 mmol)をジクロロメタン (2.7 mL)に溶解し、室温にてトリフルオロ酢酸 (2.7 mL)を加えて終夜撹拌した。反応液を減圧濃縮し、酢酸エチルで共沸することにより、化合物RE30-6 (231 mg, 定量的)を得た。

ESI-MS m/z: 919 $(M + H)^+$

[0472] 参考例31

[0473] [化144]



[0474] 参考例31工程1

4-ニトロイソフタル酸RE31-1 (500 mg, 2.37 mmol)およびN-Boc-エチレンジアミン (808 mg, 5.21 mmol)をN, N'-ジメチルホルムアミド (10 mL)に溶解し、室温にてトリエチルアミン (0.90 mL, 7.11 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物 (703 mg, 5.21 mmol) および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (1.36 g, 7.11 mmol) を加えて16時間撹拌した。反応液を後処理し、粗体をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより、化合物RE31-2 (650 mg, 収率55 %)を得た。

[0475] 参考例31工程2

化合物RE31-2 (500 mg, 1.01 mmol)および亜鉛末 (330 mg, 5.05 mmol)を

メタノール（3.5 mL)およびテトラヒドロフラン（3.5 mL)に懸濁し、0℃にて塩化アンモニウム（378 mg, 7.07 mmol)の水溶液を滴下し、室温にて24時間撹拌した。反応液を後処理し、粗体をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより、化合物RE31-3（160 mg, 収率34 %)を得た。

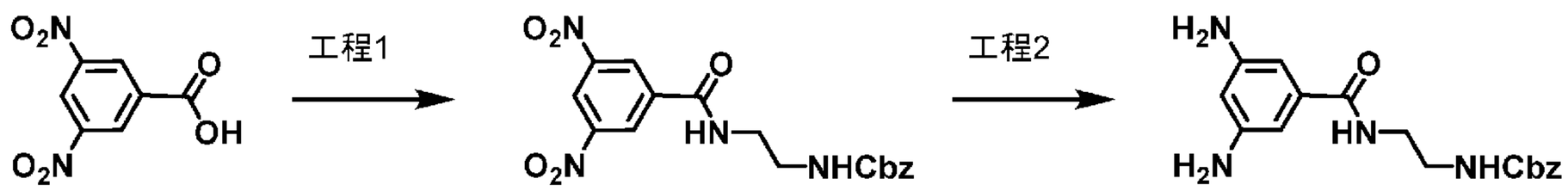
[0476] 参考例31工程3

化合物RE31-3（200 mg, 0.430 mmol)およびN-ベンジルオキシカルボニル-グリシン（ベンジルオキシカルボニルを、Cbzとも記載する。）（90.0 mg, 0.430 mmol)をN, N’-ジメチルホルムアミド（2.0 mL)に溶解し、室温にてジイソプロピルエチルアミン（0.220 mL, 1.29 mmol)、O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N’,N’-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート（245 mg, 0.645 mmol)を加えて16時間撹拌した。反応液を後処理し、粗体をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより、化合物RE31-4（180 mg, 収率64 %)を得た。

ESI-MS m/z: 657 $(M + H)^+$

[0477] 参考例32

[0478] [化145]



RE32-1 RE32-2 RE32-3

[0479] 参考例32工程1

3,5-ジニトロ安息香酸RE32-1（500 mg, 2.36 mmol)およびN-Cbz-エチレンジアミン（588 mg, 2.83 mmol)をN, N’-ジメチルホルムアミド（5.0 mL)に溶解し、室温にてトリエチルアミン（0.65 mL, 4.72 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物（380 mg, 2.83 mmol）および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（675 mg, 3.54 mmol）を加えて16時間撹拌した。反応液を後処理し、粗体をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより、化合物RE32-2（445 mg, 収率48 %)を得た。

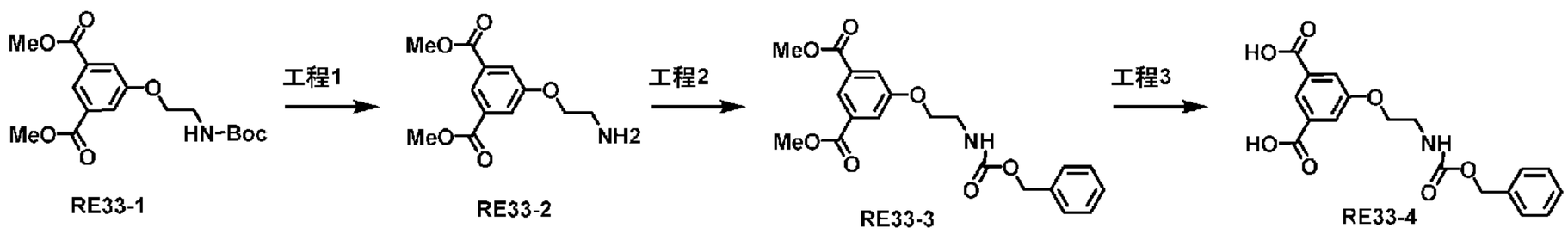
[0480] 参考例32工程2

化合物RE32-2 (200 mg, 0.515 mmol)をエタノール (5.0 mL)に溶解し、室温にて塩化スズ(II) (584 mg, 3.09 mmol)および濃塩酸 (0.2 mL)を加え、80℃で16時間撹拌した。反応液を後処理し、化合物RE32-3 (180 mg,定量的)を得た。

ESI-MS m/z: 329 $(M + H)^+$

[0481] 参考例33

[0482] [化146]



[0483] 参考例33工程1

参考例3に記載の方法で合成した化合物RE33-1 (参考例3における化合物RE3-2, 8.17 g, 23.12 mmol)を用いて参考例3の工程4と同様の方法で化合物RE33-2 (3.7 g, 収率63%)を得た。

ESI-MS m/z: 254$(M+H)^+$

[0484] 参考例33工程2

化合物RE33-2 (3.7 g, 14.63 mmol)を用いて参考例3の工程5と同様の方法で化合物RE33-3 (3.82 g, 収率67%)を得た。

ESI-MS m/z: 432$(M+HCOO)^-$

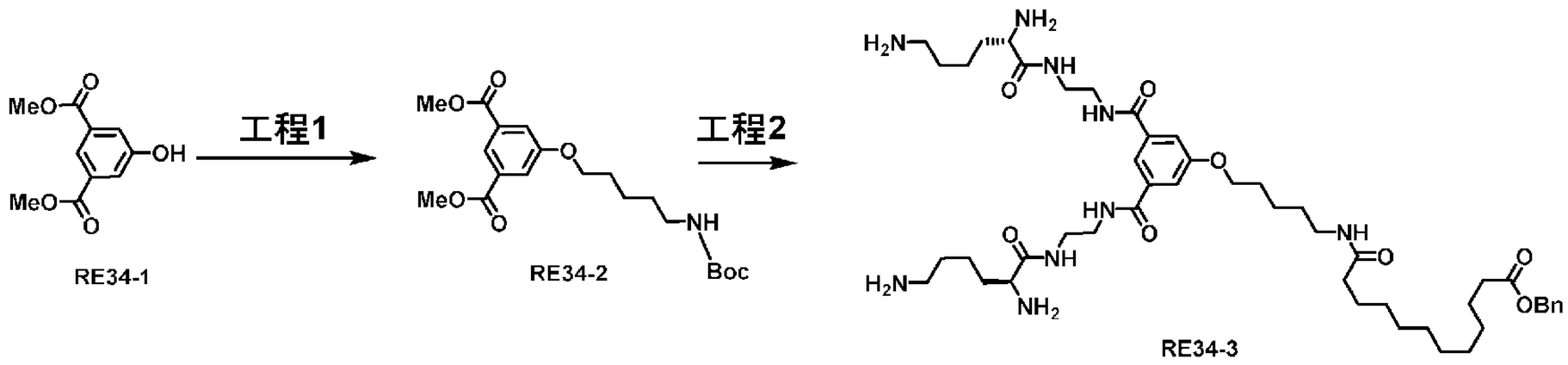
[0485] 参考例33工程3

化合物RE33-3 (3.82 g, 9.86 mmol)を用いて参考例1の工程2と同様の方法で化合物RE33-4(3.08 g, 収率87%)を得た。

ESI-MS m/z: 360$(M+H)^+$

[0486] 参考例34

[化147]



[0487] 参考例34工程1

化合物RE34-1 (2g, 9.53mmol)とtert-ブトキシカルボニルアミノ)-1-ペンタノール (東京化成社製, 2g,10mmol)を用い、参考例3の工程1と同様の方法で化合物RE34-2 (2.40 g, 収率63%)を得た。

ESI-MS m/z: 296(M+H)+, 脱Boc体として検出

[0488] 参考例34工程2

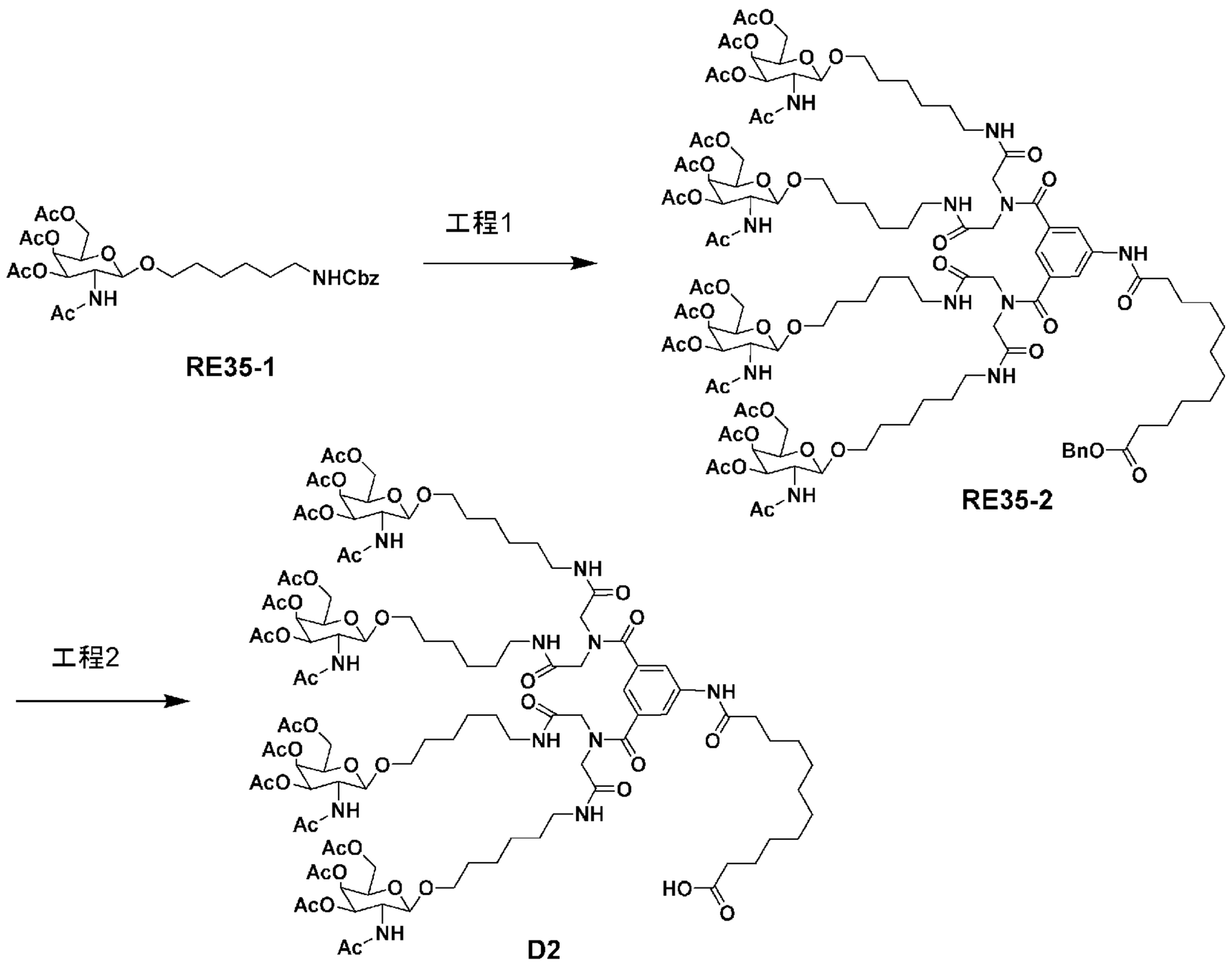
化合物RE34-2を用いて、参考例3の工程2～4および参考例4の工程1～4と同様の方法で化合物RE34-3 (1.579g,収率21%)を得た。

ESI-MS m/z: 910 (M+H)+

[0489] 参考例35:化合物D2の合成

[0490]

[化148]



[0491] 参考例35工程1

参考例11に記載の方法で合成した化合物RE35-1（参考例11における化合物RE11-2, 1.015 g, 1.748 mmol)をN, N’-ジメチルホルムアミド（12 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品, 54.29%; 187 mg)を加え、水素雰囲気下で6時間撹拌した。反応液をろ過した。ろ液に参考例26で合成した化合物RE26-5（250.0 mg, 0.350 mmol），1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物（26.80 mg, 0.1750 mmol）、および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（402.0 mg, 2.099 mmol）を加え、室温で終夜攪拌した。反応液に水を加え、酢酸エチルで抽出した後、有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液および飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム/メタノール=87/13）で精製することにより、化合物RE35-2（617.0 mg, 収率88%）を得た。

ESI-MS m/z: 1215 (M + 2H) $^{2+}$

[0492] 参考例35工程2

化合物RE35-2 (0.7380 g, 0.3040 mmol)をテトラヒドロフラン (7 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末 (含水品, 54.29%; 135.90 mg)を加え、水素雰囲気下で終夜撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム/メタノール=87/13) で精製することにより、化合物D2 (581 mg, 収率82%) を得た。

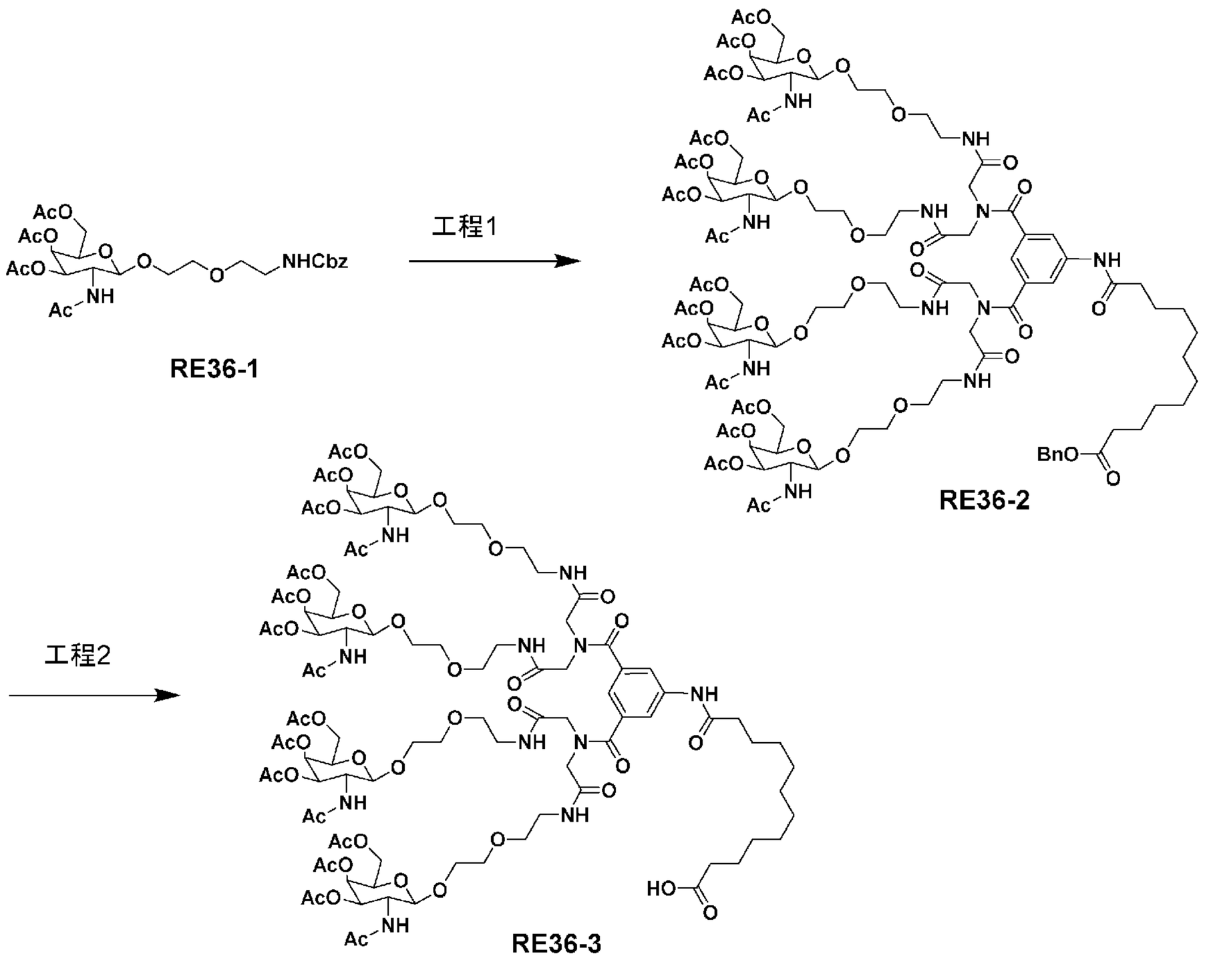
ESI-MS m/z: 1170 (M + 2H) $^{2+}$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ): 1.12-2.36 (106H, m), 2.91-3.19 (8H, m), 3.23-3.55 (14H, m), 3.60-3.76 (4H, m), 3.78-3.94 (8H, m), 3.95-4.10 (16H, m), 4.47 (4H, d, J = 8.8 Hz), 4.92-5.01 (4H, m), 5.17-5.24 (4H, m), 6.98 (1H, s), 7.64 (2H, s), 7.81-7.95 (4H, m), 8.28-8.38 (2H, m), 8.44-8.56 (2H, m), 10.13 (1H, s)

[0493] 参考例36:化合物D3の合成

[0494]

[化149]



[0495] 参考例36工程1

参考例12に記載の方法で合成した化合物RE36-1（参考例12における化合物RE12-2，500 mg，0.879 mmol)をN，N’-ジメチルホルムアミド（6.5 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品，54.29%；94 mg)を加え、水素雰囲気下で4時間撹拌した。反応液をろ過した。ろ液に参考例26における化合物RE26-5（126.0 mg，0.176 mmol），1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物（13.47 mg，0.088 mmol）、および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（202.0 mg，1.055 mmol）を加え、室温で終夜攪拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去し、残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水/アセトニトリル）で精製することにより、化合物RE36-2（249.7 mg，収率60%）を得た。

ESI-MS m/z: 1191 $(M + 2H)^{2+}$

[0496] 参考例36工程2

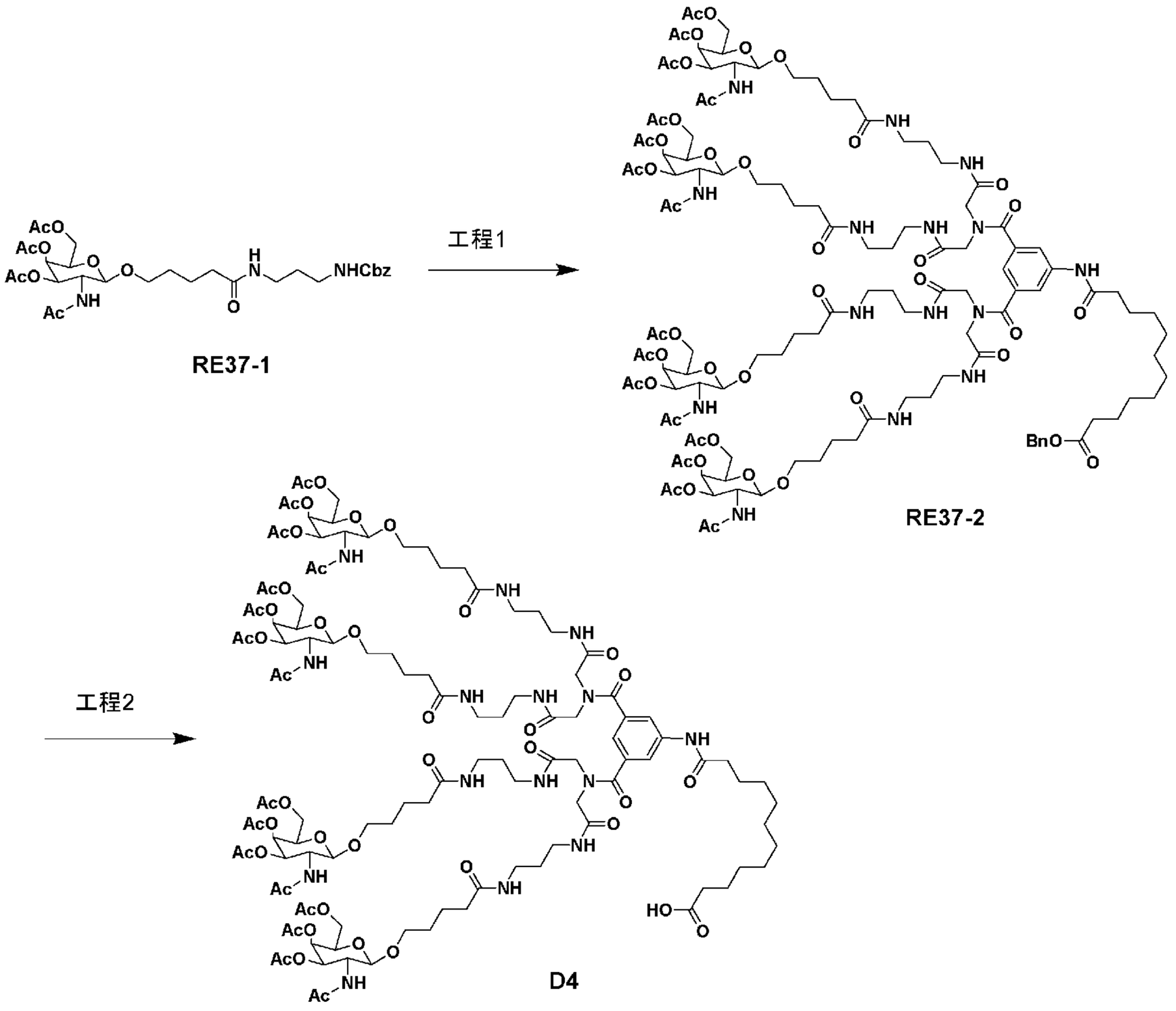
化合物RE36-2（0.242 g，0.102 mmol)をテトラヒドロフラン（3.6 mL)および水（1.2 mL）に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品，54.29%；45 mg)を加え、水素雰囲気下で4時間攪拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、化合物D3（216 mg，収率93%）を得た。

ESI-MS m/z: 1146 (M + 2H) 2+

1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ): 1.15-1.65 (20H, m), 1.68-2.15 (52H, m), 3.13-3.29 (6H, m), 3.40-3.67 (16H, m), 3.71-3.96 (11H, m), 3.98-4.14 (16H, m), 4.55 (4H, t, J = 8.8 Hz), 4.93-5.06 (4H, m), 5.12-5.28 (4H, m), 6.56 (1H, s), 6.98 (1H. s), 7.64 (2H, s), 7.77-7.93 (4H, m), 8.26-8.49 (3H, m), 10.10 (1H, s)

[0497] 参考例37:化合物D4の合成

[0498] [化150]



[0499] 参考例37工程1

参考例13に記載の方法で合成した化合物RE37-1（参考例13における化合物RE13-2, 430 mg, 0.674 mmol)をN, N’-ジメチルホルムアミド（6 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品, 54.29%; 79 mg)を加え、水素雰囲気下で4時間撹拌した。反応液をろ過した。ろ液に参考例26における化合物RE26-5（105.0 mg, 0.148 mmol），1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物（11.31 mg, 0.074 mmol）、および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（170.0.0 mg, 0.887 mmol）を加え、室温で終夜撹拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去し、残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水/アセトニトリル）で精製することにより、化合物RE37-2（218.1 mg, 収率56%）を得た。

ESI-MS m/z: 1329 (M + 2H) $^{2+}$

[0500] 参考例37工程2

化合物RE37-2（0.210 g, 0.079 mmol)をテトラヒドロフラン（3.1 mL)および水（1.0 mL）に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品, 54.29%; 39 mg)を加え、水素雰囲気下で4時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、化合物D4 （192.7 mg, 収率95%）を得た。

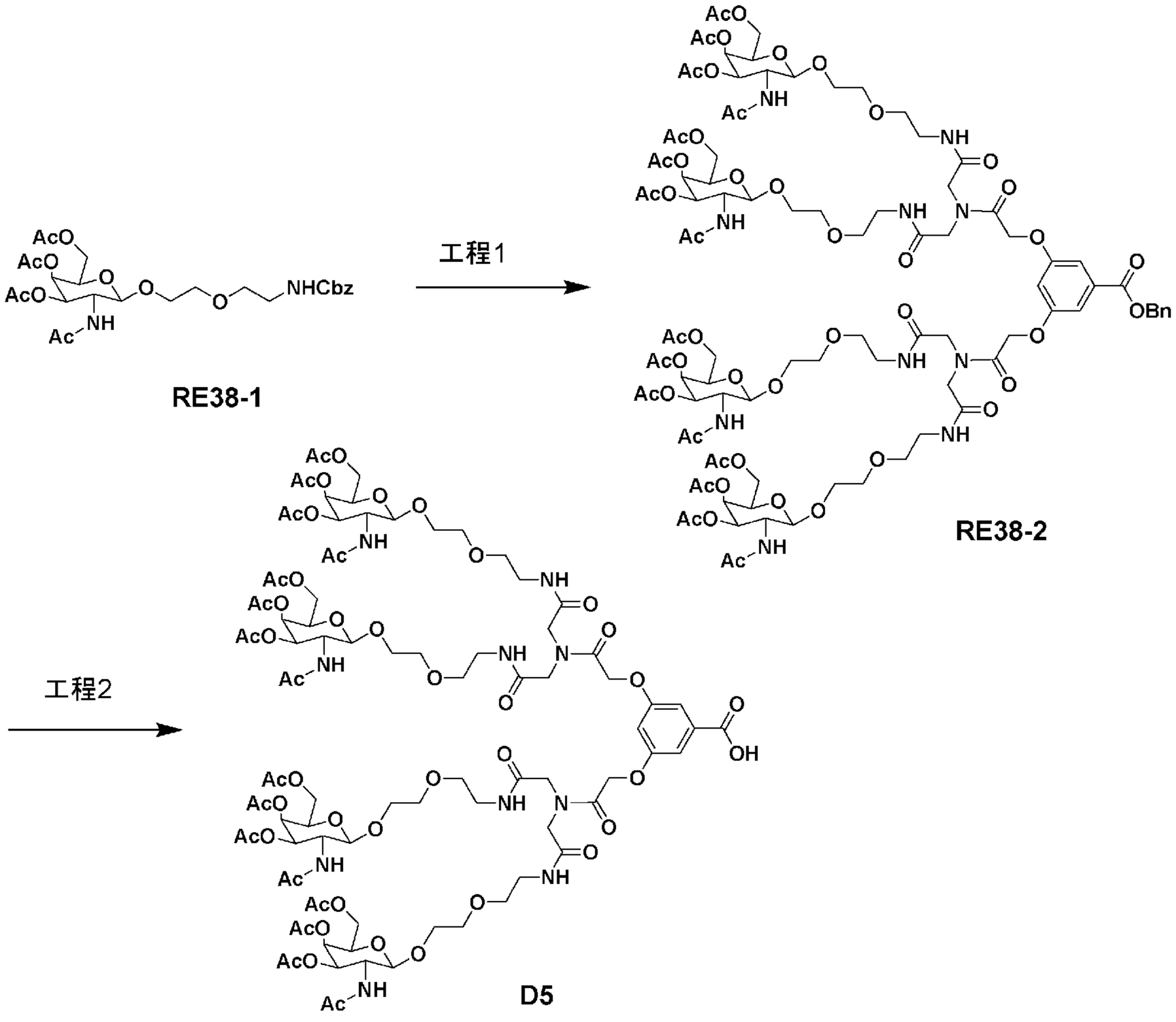
ESI-MS m/z: 1284 (M + 2H) 2+

1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ): 1.17-1.65 (42H, m), 1.69-2.13 (61H, m), 2.95-3.17 (16H, m), 3.65-3.77 (3H, m), 3.79-3.94 (6H, m), 3.96-4.10 (16H, m), 4.48 (4H, d, J = 8.4 Hz), 4.96 (4H, dd, J = 2.4, 11.2 Hz), 5.21 (4H, d, J = 3.2 Hz), 7.01 (1H, s), 7.64-7.92 (11H, m), 8.26-8.48 (4H, m), 10.14 (1H, s)

[0501] 参考例38：化合物D5の合成

[0502]

[化151]



[0503] 参考例38工程1

参考例12に記載の方法で合成した化合物RE38-1（参考例12における化合物RE12-2, 450 mg, 0.791 mmol)をN, N’-ジメチルホルムアミド（6 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品, 54.29%; 85 mg)を加え、水素雰囲気下で5時間撹拌した。反応液をろ過した。ろ液に参考例27における化合物RE27-6（94 mg, 0.158 mmol），1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物（133.0 mg, 0.871 mmol）、および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（182.0 mg, 0.950 mmol）を加え、室温で終夜撹拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去し、残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水/アセトニトリル）で精製することにより、化合物RE38-2（99 mg, 収率28%）を得た。

ESI-MS m/z: 1129 $(M + 2H)^{2+}$

[0504] 参考例38工程2

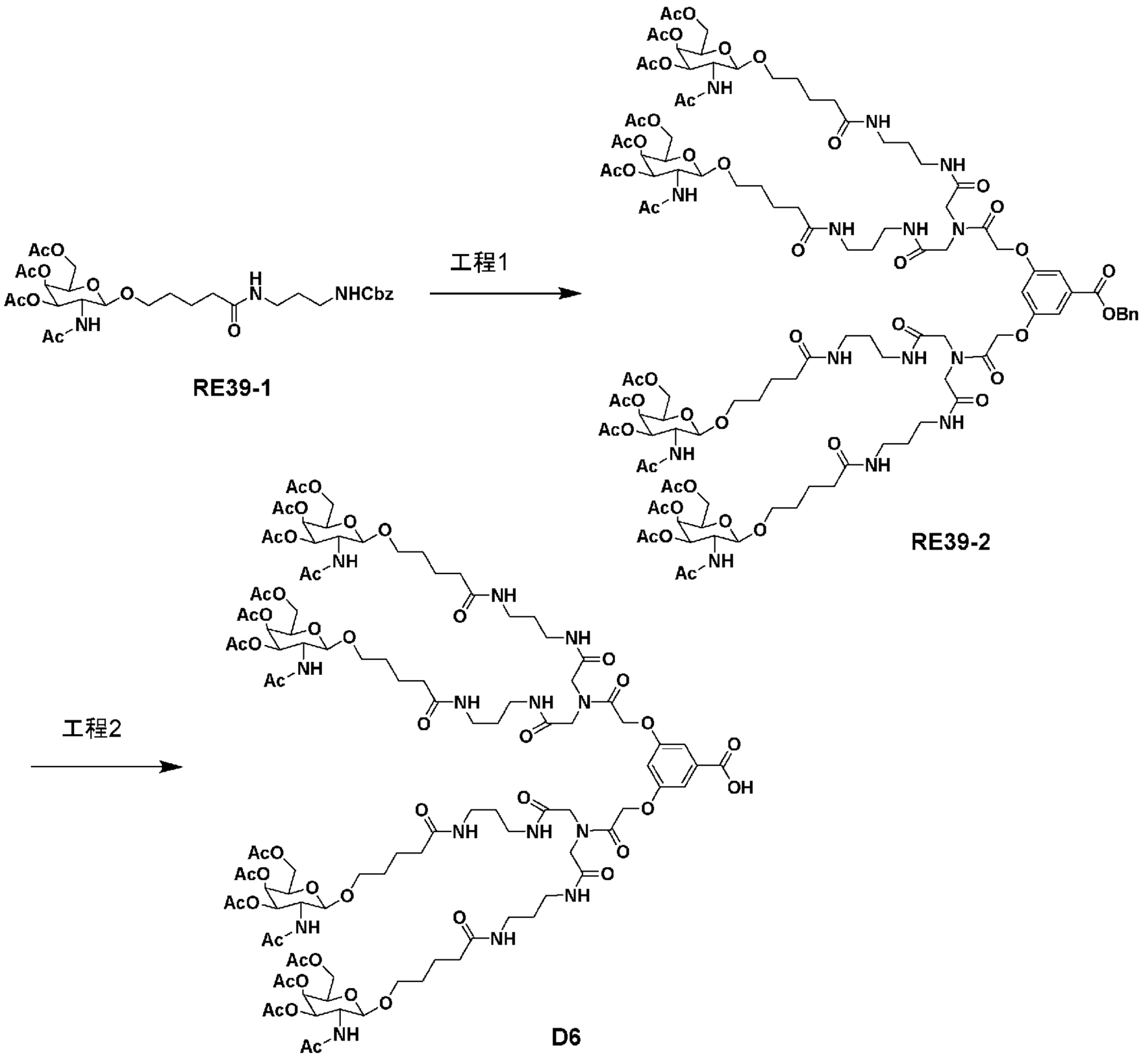
化合物RE38-2 (80 mg, 0.035 mmol)をテトラヒドロフラン (1.7 mL)および水 (0.85 mL) に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末 (含水品, 54.29%; 26 mg)を加え、水素雰囲気下で2時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、化合物D5 (57.5 mg, 収率75%) を得た。

ESI-MS m/z: 1084 (M + 2H) $^{2+}$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ): 1.69-2.21 (46H, m), 3.14-3.65 (28H, m), 3.67-4.22 (27H, m), 4.43-4.66 (4H, m), 4.69-4.88 (4H, m), 4.89-5.08 (4H, m), 5.12-5.32 (4H, m), 6.54-6.68 (1H, br), 7.01 (2H, s), 7.78-8.09 (3H, m), 8.13-8.31 (2H, m), 8.58-8.75 (2H, m)

[0505] 参考例39：化合物D6の合成

[0506] [化152]



[0507] 参考例39工程1

参考例13に記載の方法で合成した化合物RE39-1（参考例13における化合物RE13-2，418 mg，0.655 mmol)をN，N’-ジメチルホルムアミド（6 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品，54.29%；77 mg)を加え、水素雰囲気下で5時間撹拌した。反応液をろ過した。ろ液に参考例27で合成した化合物RE27-6（85 mg，0.144 mmol），1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物（121.0 mg，0.791 mmol）、および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（165.0 mg，0.863 mmol）を加え、室温で終夜攪拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去し、残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水/アセトニトリル）で精製することにより、化合物RE39-2（99 mg，収率28%）を得た。

ESI-MS m/z: 1268 $(M + 2H)^{2+}$

[0508] 参考例39工程2

化合物RE39-2（186 mg，0.073 mmol)をテトラヒドロフラン（2.8 mL)および水（0.93 mL）に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品，54.29%；40 mg)を加え、水素雰囲気下で2時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、化合物D6（156.7 mg，収率87%）を得た。

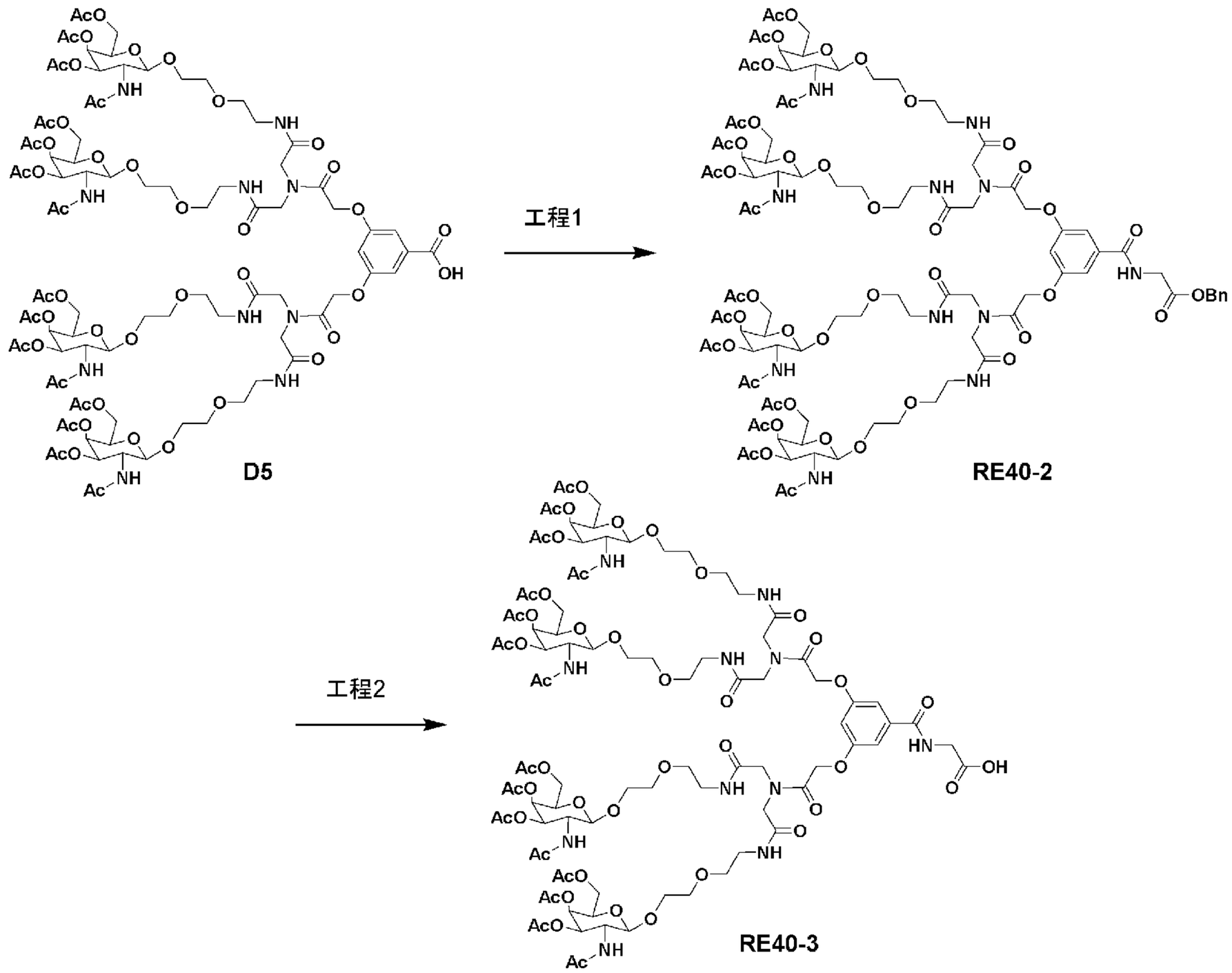
ESI-MS m/z: 1222 $(M + 2H)^{2+}$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ): 1.36-1.62 (27H, m), 1.67-2.17 (64H, m), 2.92-3.21 (15H, m), 3.58-3.77 (2H, m), 3.80-3.95 (7H, m), 3.97-4.13 (15H, m), 4.47 (4H, d, J = 8.8 Hz), 4.88-5.02 (7H, m), 5.10-5.24 (3H, m), 6.95-7.00 (1H, m), 7.26-7.31 (2H, m), 7.72-7.88 (8H, m), 8.10-8.20 (2H, m), 8.51-8.60 (2H, m)

[0509] 参考例40

[0510]

[化153]



[0511] 参考例40工程1

参考例38に記載の方法で合成した化合物D5（171 mg, 0.079 mmol)をN, N'-ジメチルホルムアミド（3.4 mL)に溶解し、グリシンベンジル p-トルエンスルホン酸塩（32.0 mg, 0.095 mmol）、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール一水和物（12.09 mg, 0.079 mmol）、および1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（18.16 mg, 0.095 mmol）を加え、室温で終夜攪拌した。反応液を減圧下、溶媒を留去し、残渣を逆相カラムクロマトグラフィー（水/アセトニトリル）で精製することにより、化合物RE40-2（55.7 mg, 収率31%）を得た。

ESI-MS m/z: 1158 (M + 2H) 2+

[0512] 参考例40工程2

化合物RE40-2（54 mg, 0.023 mmol)をテトラヒドロフラン（0.83 mL)および水（0.28 mL）に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品, 5

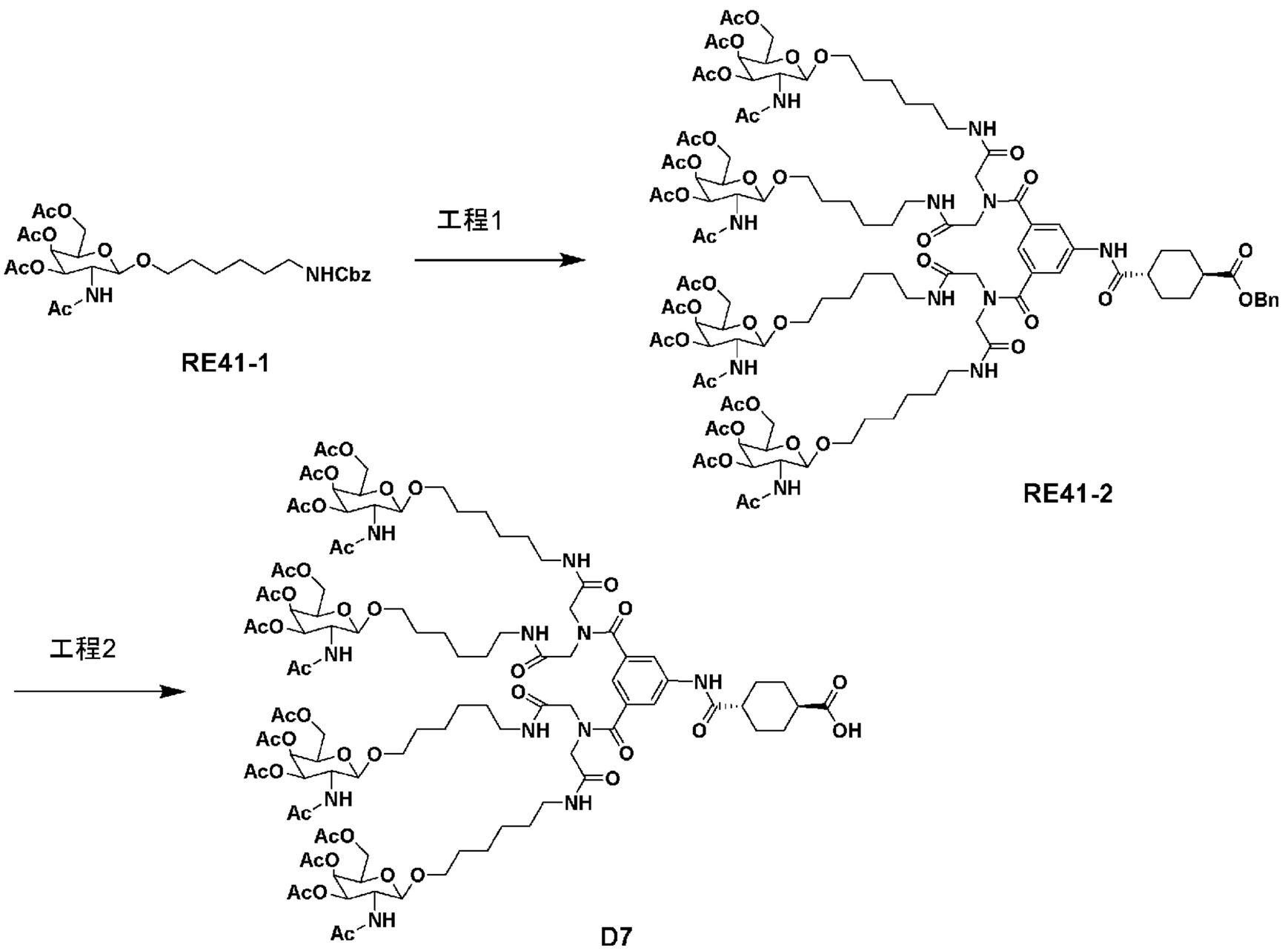
4.29%; 18 mg)を加え、水素雰囲気下で2時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、化合物RE40-3（50.1 mg，収率97%）を得た。

ESI-MS m/z: 1112 (M + 2H) 2+

1H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ): 0.96-1.06 (3H, m), 1.71-2.20 (54H, m), 3.41-3.64 (15H, m), 3.68-4.20 (32H), 4.55 (4H, d, J = 8.4 Hz), 4.81 (4H, s), 4.94-5.02 (4H, m), 5.17-5.25 (4H, m), 6.63-6.76 (2H, m), 6.93-7.02 (2H, m), 7.84-8.00 (3H, m), 8.17-8.30 (2H, m), 8.58-8.70 (2H, m)

[0513] 参考例41:化合物D7の合成

[0514] [化154]



[0515] 参考例41工程1

化合物RE41-1（500 mg，0.861 mmol)をN，N’-ジメチルホルムアミド（10 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品，54.29%; 92.1 mg)を加え、水素雰囲気下で2時間撹拌した。アルゴン雰囲気下、室温にて参考例27で合成した化合物RE27-3（113 mg，0.172 mmol)、1-(3-ジメチルアミ

ノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（198 mg, 1.03 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール１水和物（13.2 mg, 0.086 mmol)を加えて終夜撹拌した。反応液をセライトでろ過し、減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム/メタノール=90/10)で精製し、さらに逆相分取HPLC（アセトニトリル/水)で精製することにより、化合物RE41-2（195 mg, 収率48%)を得た。

ESI-MS m/z: 1186 (M + 2H) $^{2+}$

[0516] 参考例41工程2

化合物RE41-2（194 mg, 0.082 mmol)をテトラヒドロフラン（2.9 mg)および水（1.0 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品, 54.29%; 35.7 mg)を加え、水素雰囲気下で8時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、化合物D7（183 mg, 収率98%）を得た。

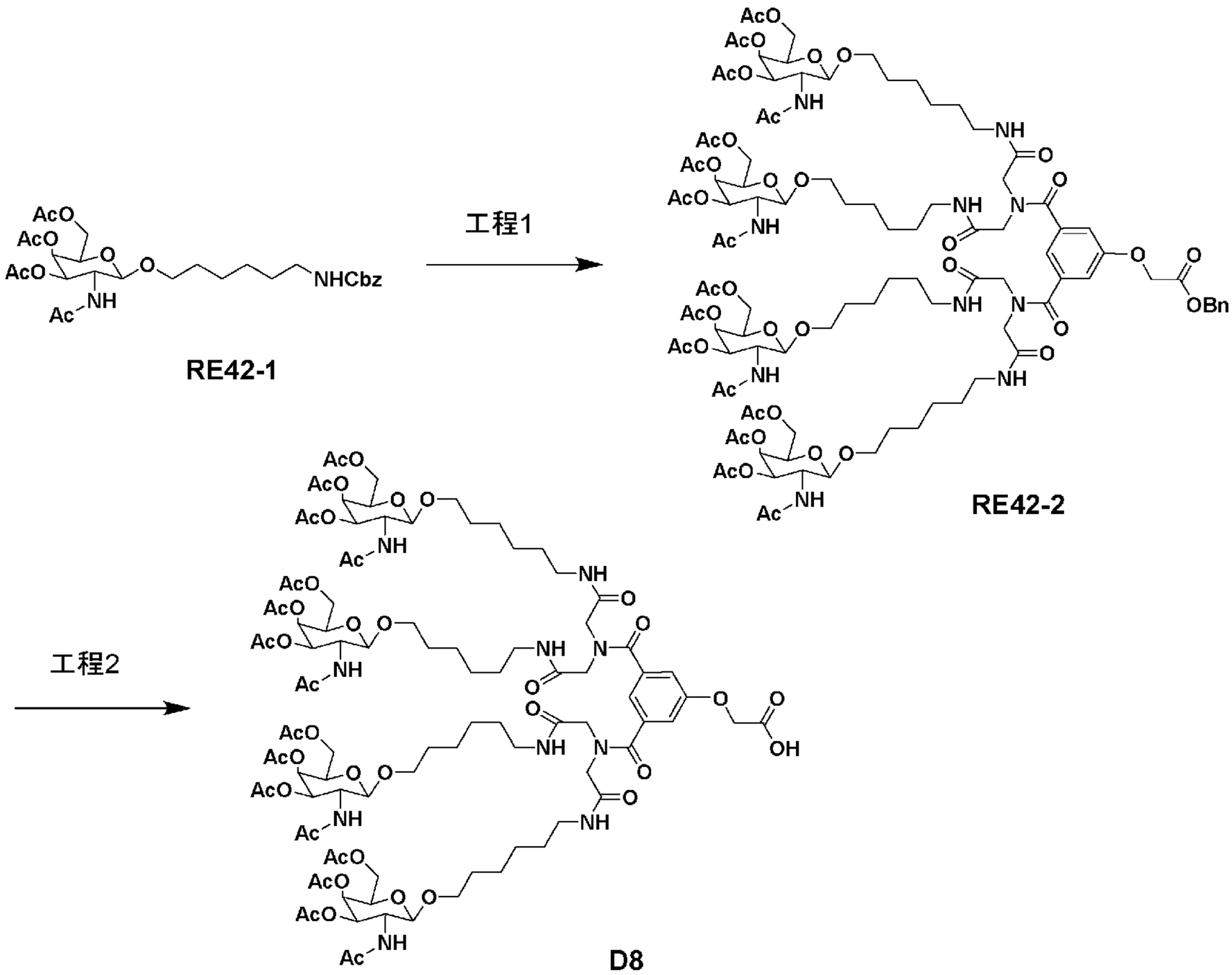
ESI-MS m/z: 1141 (M + 2H) $^{2+}$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ): 1.21-1.45 (m, 40H), 1.76-2.18 (m, 50H), 3.00-3.09 (m, 8H), 3.40-4.20 (m, 32H), 4.47 (d, J = 8.5 Hz, 4H), 4.96 (dd, J = 3.1, 11.2 Hz, 4H), 5.21 (d, J = 3.1 Hz, 4H), 6.98 (s, 1H), 7.65 (s, 2H), 7.84 (d, J = 9.0 Hz, 4H), 8.31 (brs, 1H), 8.44 (brs, 1H), 10.11 (s, 1H).

[0517] 参考例42：化合物D8の合成

[0518]

[化155]



[0519] 参考例42工程1

参考例11に記載の方法で合成した化合物RE42-1（参考例11における化合物RE11-2，500 mg，0.861 mmol)をN，N’-ジメチルホルムアミド（10 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品，54.29%；92.1 mg)を加え、水素雰囲気下で2時間撹拌した。アルゴン雰囲気下、室温にて参考例29で合成した化合物RE29-4（97.0 mg，0.172 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（198 mg，1.03 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール１水和物（13.2 mg，0.086 mmol)を加えて終夜撹拌した。反応液をセライトでろ過し、減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム/メタノール=85/15)で精製し、さらに逆相分取HPLC（アセトニトリル/水)で精製することにより、化合物RE42-2（179 mg，収率46%)を得た。

ESI-MS m/z: 1138 $(M + 2H)^{2+}$

[0520] 参考例42工程2

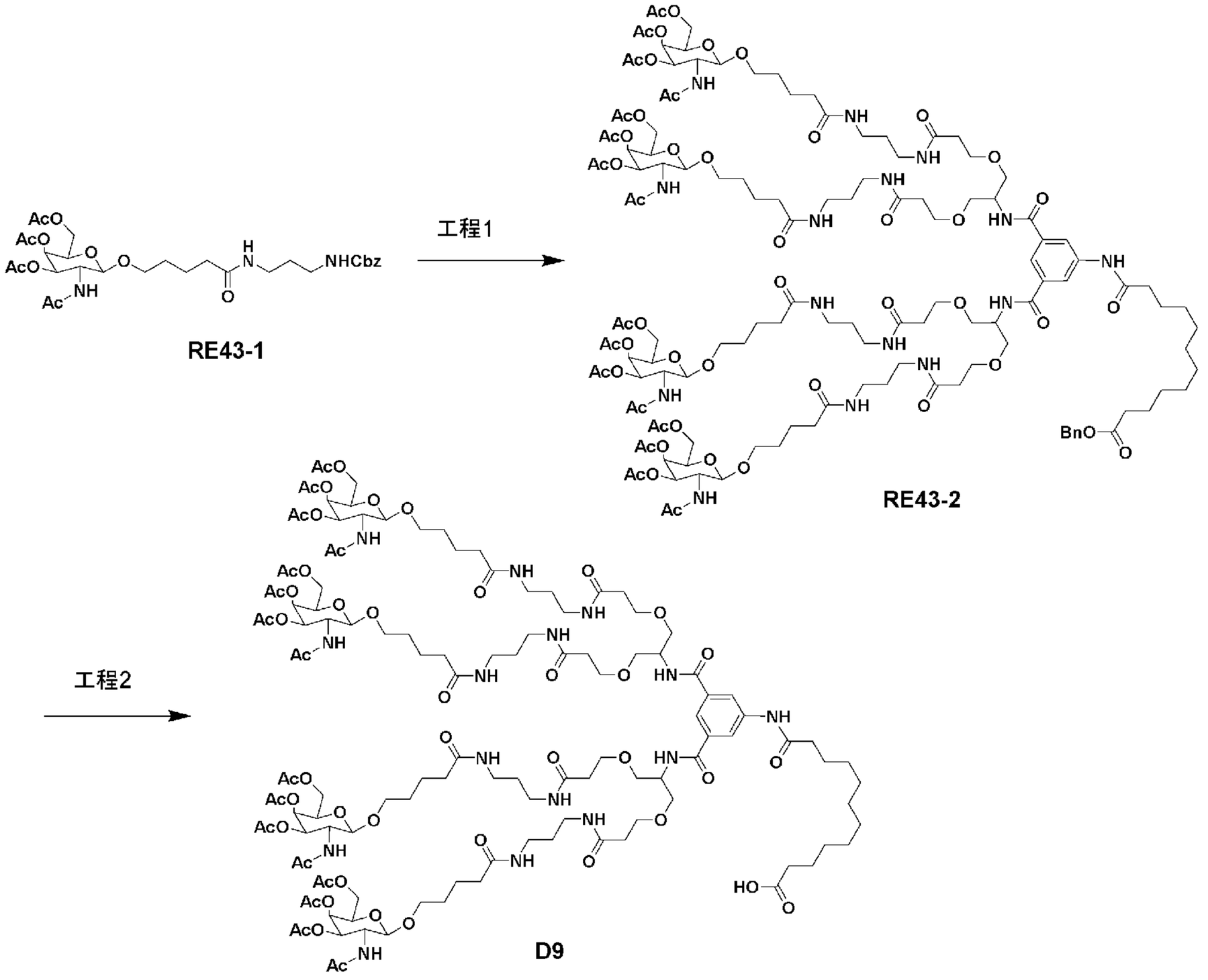
化合物RE42-2 (175 mg, 0.077 mmol)をテトラヒドロフラン (2.6 mg)および水 (0.9 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末 (含水品, 54.29%; 32.4 mg)を加え、水素雰囲気下で1時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、化合物D8 (160 mg, 収率95%) を得た。

ESI-MS m/z: 1093 $(M + 2H)^{2+}$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ): 1.23-1.45 (m, 32H), 1.77 (s, 12H), 1.89 (s, 12H), 1.99 (s, 12H), 2.10 (s, 12H), 3.01-3.11 (m, 8H), 3.69-4.02 (m, 34H), 4.47-4.50 (m, 4H), 4.94-4.98 (m, 4H), 5.21 (d, J = 3.1 Hz, 4H), 6.92 (s, 1H), 6.94 (s, 2H), 7.87 (d, J = 9.4 Hz, 2H), 7.92 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 8.33 (brs, 2H), 8.50 (brs, 2H).

[0521] 参考例43:化合物D9の合成

[0522] [化156]



[0523] 参考例43工程1

参考例13に記載の方法で合成した化合物RE43-1（参考例13における化合物RE13-2，500 mg，0.784 mmol)をN，N’-ジメチルホルムアミド（10 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品，54.29%；92.1 mg)を加え、水素雰囲気下で2時間撹拌した。アルゴン雰囲気下、室温にて参考例30で合成した化合物RE30-6（144 mg，0.157 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（180 mg，0.941 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール１水和物（12.0 mg，0.078 mmol)を加えて終夜撹拌した。反応液をセライトでろ過し、減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム/メタノール=80/20)で精製し、さらに逆相分取HPLC（アセトニトリル/水)で精製することにより、化合物RE43-2（191 mg，収率43%)を得た。

ESI-MS m/z: 1431 $(M + 2H)^{2+}$

[0524] 参考例43工程2

化合物RE43-2（186 mg，0.065 mmol)をテトラヒドロフラン（2.8 mg)および水（0.9 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末（含水品，54.29%；34.3 mg)を加え、水素雰囲気下で1時間撹拌した。反応液をろ過し、減圧下、溶媒を留去し、化合物D9（174 mg，収率97%）を得た。

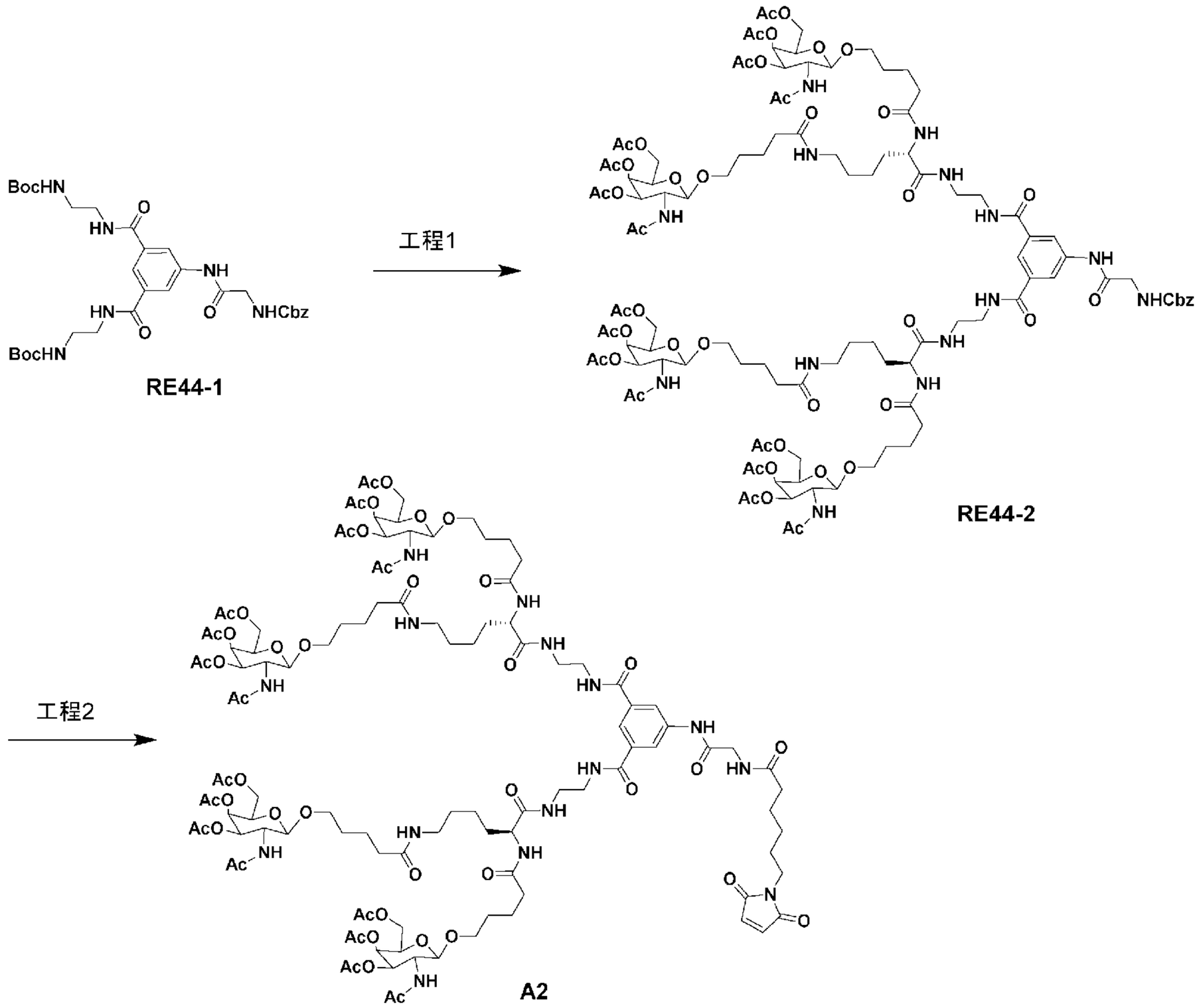
ESI-MS m/z: 1386 $(M + 2H)^{2+}$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ):1.25-4.02 (m, 164H), 4.18-4.26 (m, 2H), 4.47 (d, J= 8.1 Hz, 4H), 4.96 (dd, J = 3.1, 11.2 Hz, 4H), 5.21 (d, J = 3.6 Hz, 4H), 7.74-7.91 (m, 13H), 8.18 (s, 2H), 8.36 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 10.27 (brs, 1H).

[0525] 参考例44：化合物A2の合成

[0526]

[化157]



[0527] 参考例44工程1

参考例31に記載の方法で合成した化合物RE44-1（参考例31における化合物RE31-4, 150 mg, 0.228 mmol)をジクロロメタン（1.5 mL)に溶解し、室温にてトリフルオロ酢酸（1.5 mL)を加えて4時間撹拌した。反応液を減圧濃縮し、酢酸エチルで共沸するした。残渣をN, N'-ジメチルホルムアミド（3 mL)に溶解し、室温にて参考例14の化合物RE14-3（574 mg, 0.571 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩（109 mg, 0.571 mmol)、トリエチルアミン（0.159 mL, 1.14 mmol)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール1水和物(3.50 mg, 0.023 mmol)を加えて終夜撹拌した。反応液を減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム/メタノール=90/10)で精製し、さらに逆相分取HPLC（アセトニトリル/水)で精製することにより、化合物RE44-2（242 mg, 収率44%)を得た。

ESI-MS m/z: 1216 (M + 2H) $^{2+}$

[0528] 参考例44工程2

化合物RE44-2 (242 mg, 0.100 mmol)を テトラヒドロフラン/水 (4/1; 12 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末 (含水品, 54.29%; 44.6 mg)を加え、水素雰囲気下で2時間撹拌した。アルゴン雰囲気下、室温にて6-マレイミドヘキサン酸 (23.2 mg, 0.110 mmol)、4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド (55.2 mg, 0.199 mmol)を加えて終夜撹拌した。反応液をセライトでろ過し、減圧下、溶媒を留去し、残渣をHP20レジン (アセトン/水)で精製することにより、化合物A2 (97.4 mg, 収率39%)を得た。

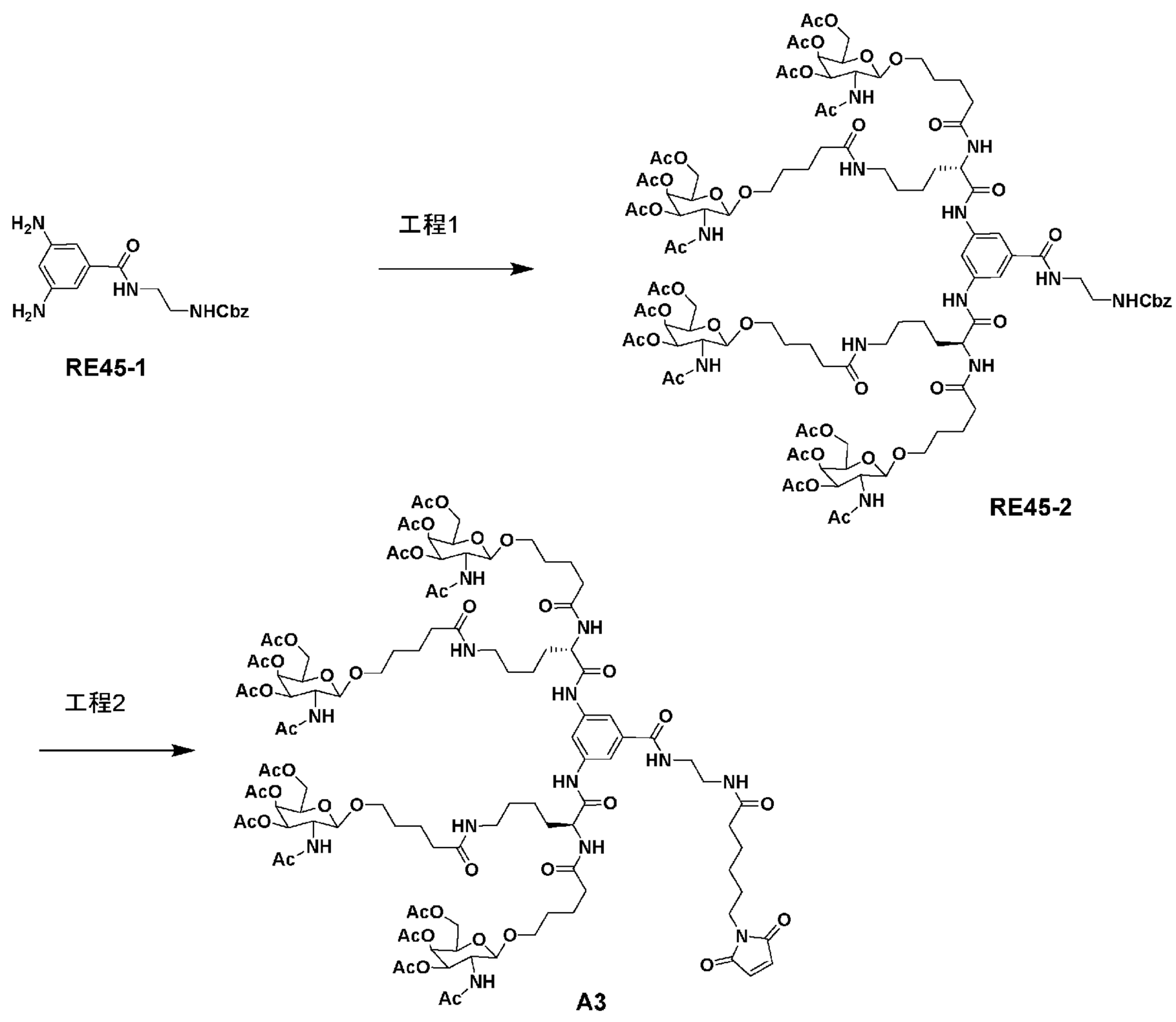
ESI-MS m/z: 1245 (M + 2H) $^{2+}$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6, δ):1.14-2.16 (100H, m), 2.96-2.98 (4H, m), 3.24-3.41 (18H, m), 3.69-3.73 (4H, m), 3.83-3.91 (6H, m), 4.14-4.16 (2H, m), 4.47 (4H, d, J= 8.6 Hz), 4.96 (4H, dd, J = 3.6, 11.3 Hz), 5.21 (4H, d, J = 3.2 Hz), 7.01 (2H, s), 7.73-7.75 (2H, m), 7.83-7.94 (7H, m), 8.05-8.08 (2H, m), 8.14-8.20 (3H, m), 8.55-8.56 (2H, m), 10.24 (1H, brs).

[0529] 参考例45：化合物A3の合成

[0530]

[化158]



[0531] 参考例45工程1

参考例32に記載の方法で合成した化合物RE45-1（参考例32における化合物RE32-3, 75.0 mg, 0.228 mmol)をN, N'-ジメチルホルムアミド（3.0 mL)に溶解し、室温にて参考例14の化合物RE14-3（574 mg, 0.571 mmol)、ジイソプロピルエチルアミン（0.199 mL, 1.14 mmol)、O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート（217 mg, 0.571 mmol)を加えて終夜撹拌した。減圧下、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム/メタノール=90/10)で精製し、さらに逆相分取HPLC（アセトニトリル/水)で精製することにより、化合物RE45-2（202 mg, 収率38%)を得た。

ESI-MS m/z: 1152 $(M + 2H)^{2+}$

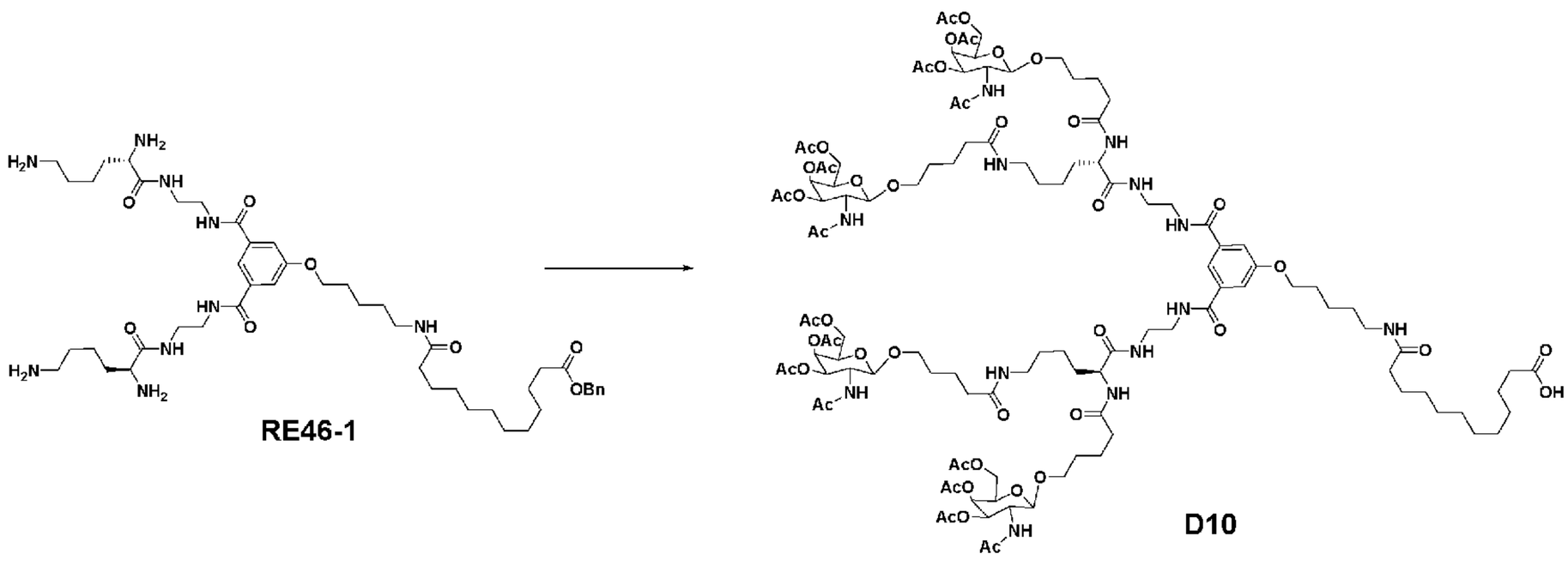
[0532] 参考例45工程2

化合物RE45-2 (196 mg, 0.085 mmol)を テトラヒドロフラン/水 (4/1; 10 mL)に溶解し、室温にて10%パラジウムカーボン粉末 (含水品, 54.29%; 36.1 mg)を加え、水素雰囲気下で2時間撹拌した。アルゴン雰囲気下、室温にて6-マレイミドヘキサン酸 (19.8 mg, 0.094 mmol)、4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド (47.0 mg, 0.170 mmol)を加えて終夜撹拌した。反応液をセライトでろ過し、減圧下、溶媒を留去し、残渣をHP20レジン (アセトン/水)で精製することにより、化合物A3 (42.4 mg, 収率21%)を得た。

ESI-MS m/z: 1182 $(M + 2H)^{2+}$

[0533] 参考例46:化合物D10

[0534] [化159]



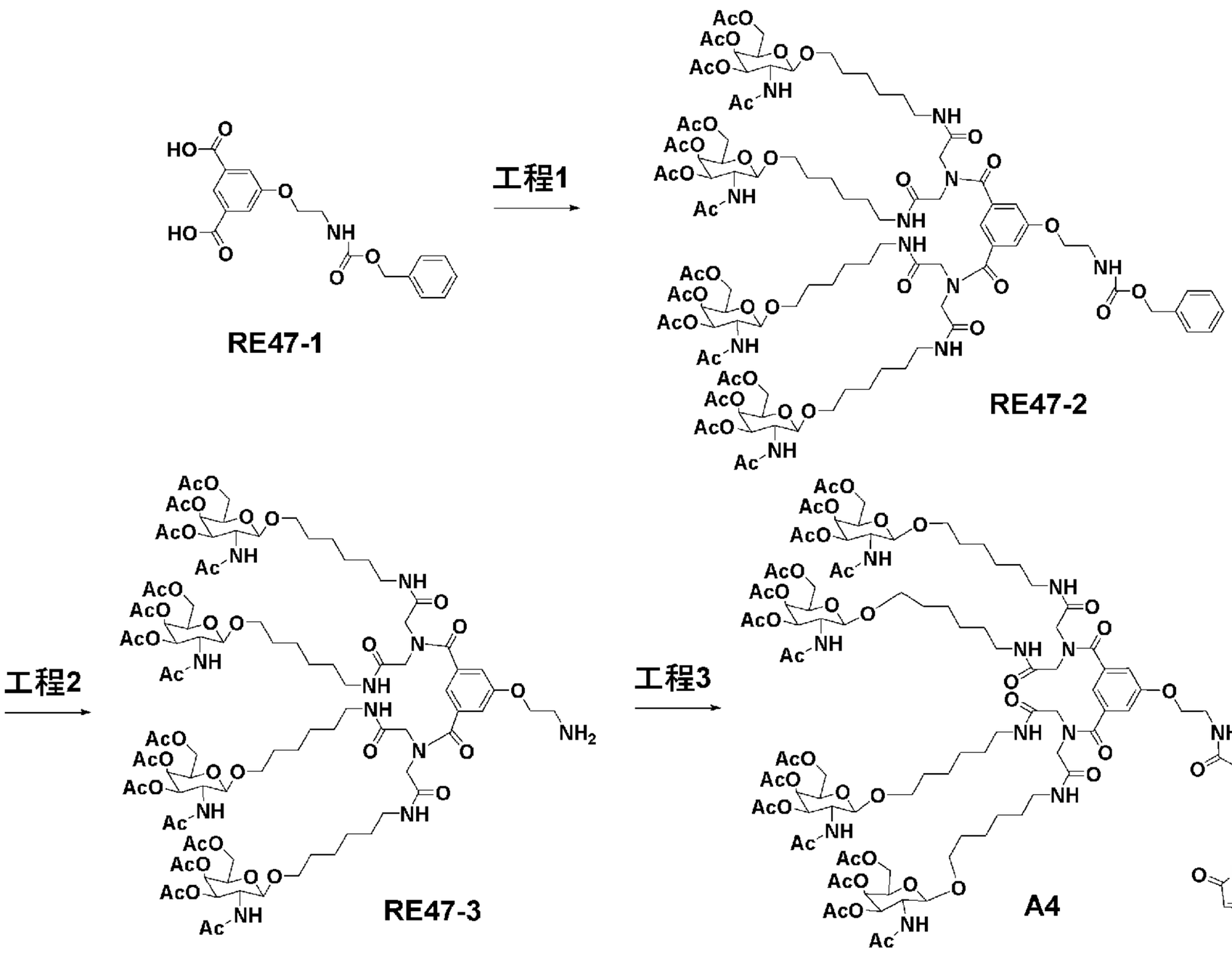
[0535] 参考例34に記載の方法で合成した化合物RE46-1 (参考例34における化合物RE34-3) を用い、参考例10の工程1および2と同様の方法で化合物D10 (2.2 g, 収率58%)を得た。

ESI-MS m/z: 2437$(M+H)^+$

[0536] 参考例47 : 化合物A4の合成

[0537]

[化160]



[0538] 参考例47工程1

参考例33に記載の方法で合成した化合物RE47-1（参考例33における化合物RE33-4, 0.101 g, 0.282 mmol)を用いて、参考例15の化合物RE15-2（0.607 g, 0.613 mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の方法によって化合物RE47-2（0.25 g, 収率39%)を得た。

ESI-MS m/z: 2304$(M+H)^+$

[0539] 参考例47工程2

化合物RE47-2（0.255 g, 0.111 mmol)を用いて、参考例3の工程2と同様の方法によって化合物RE47-3（0.15 g, 収率63%)を得た。

ESI-MS m/z: 2170$(M+H)^+$

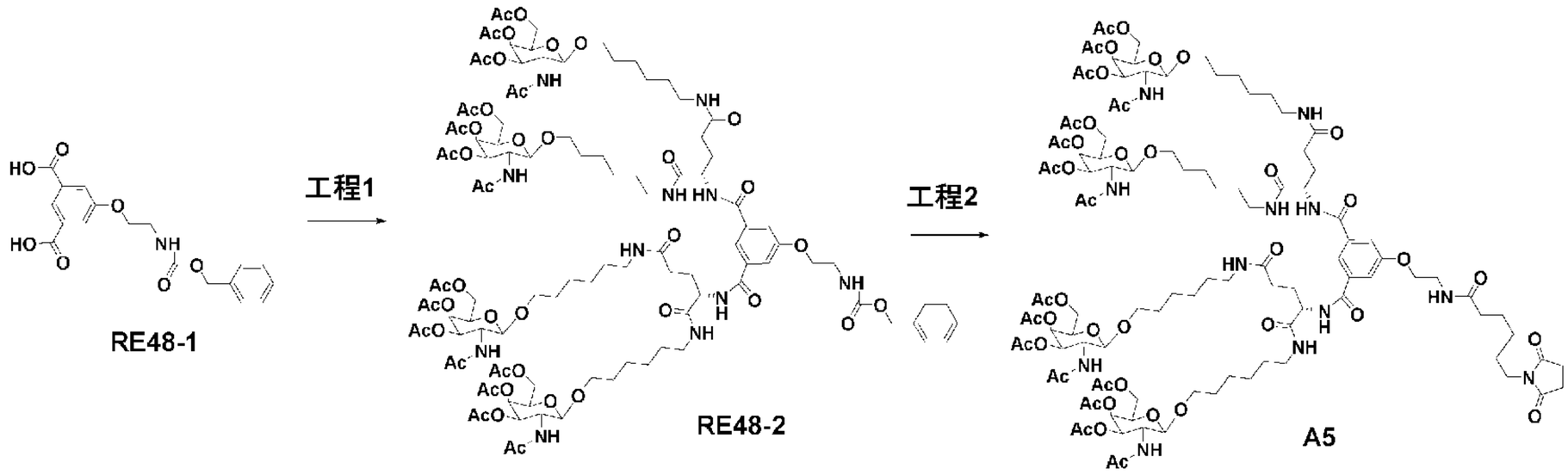
[0540] 参考例47工程3

化合物RE47-3（20.8 mg, 9.59 μmol)を用いて、参考例5の工程2と同様の方法によって化合物A4（5.5 mg, 収率24%)を得た。

ESI-MS m/z: 1182$(M+2H)^{2+}$

[0541] 参考例48：化合物A5の合成

[0542] [化161]



[0543] 参考例48工程1

参考例33に記載の方法で合成した化合物RE48-1（参考例33における化合物RE33-4, 0.099g, 0.277 mmol)を用いて、参考例16の工程2で合成した化合物RE16-3 (0.618 g, 0.615 mmol)を用い、参考例3の工程3と同様の方法によって化合物RE48-2 (0.343 g, 収率53%)を得た。

ESI-MS m/z: 2333(M+H)$^+$

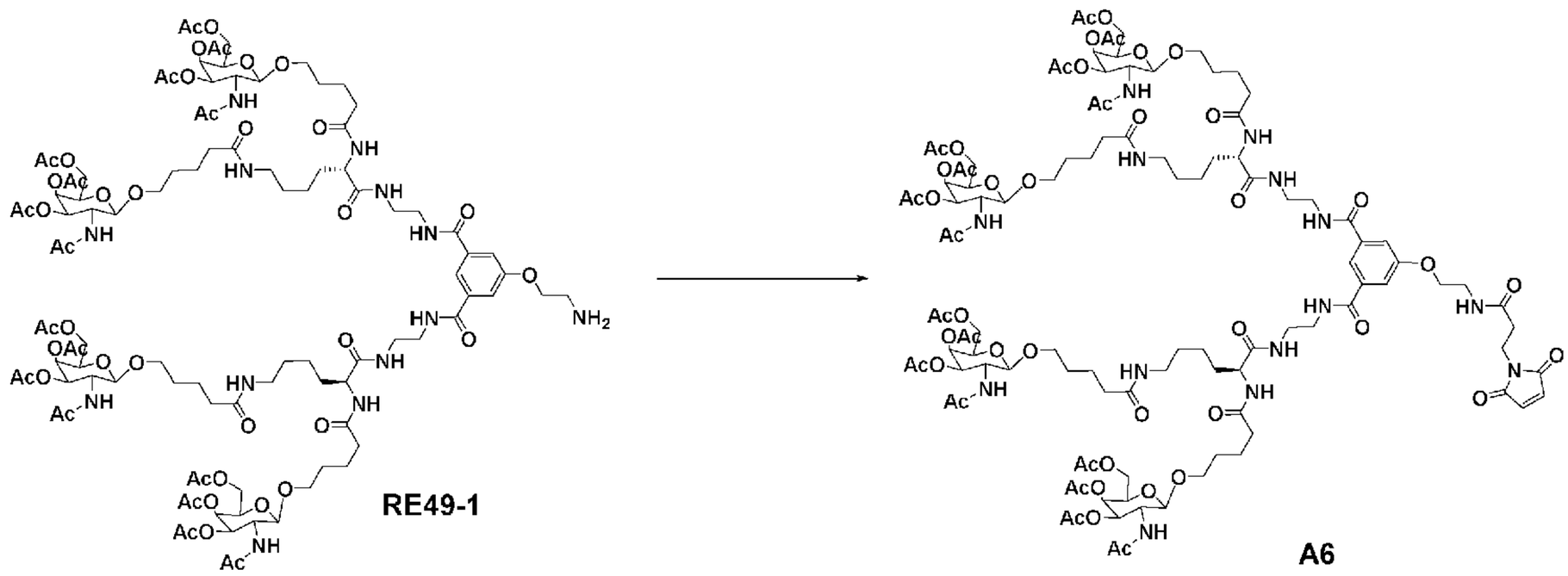
[0544] 参考例48工程2

化合物RE48-2を用いて、参考例10の工程1および2と同様の方法で化合物A5 (6.9 mg, 収率28%)を得た。

ESI-MS m/z: 2392(M+H)$^+$

[0545] 参考例49：化合物A6の合成

[0546] [化162]



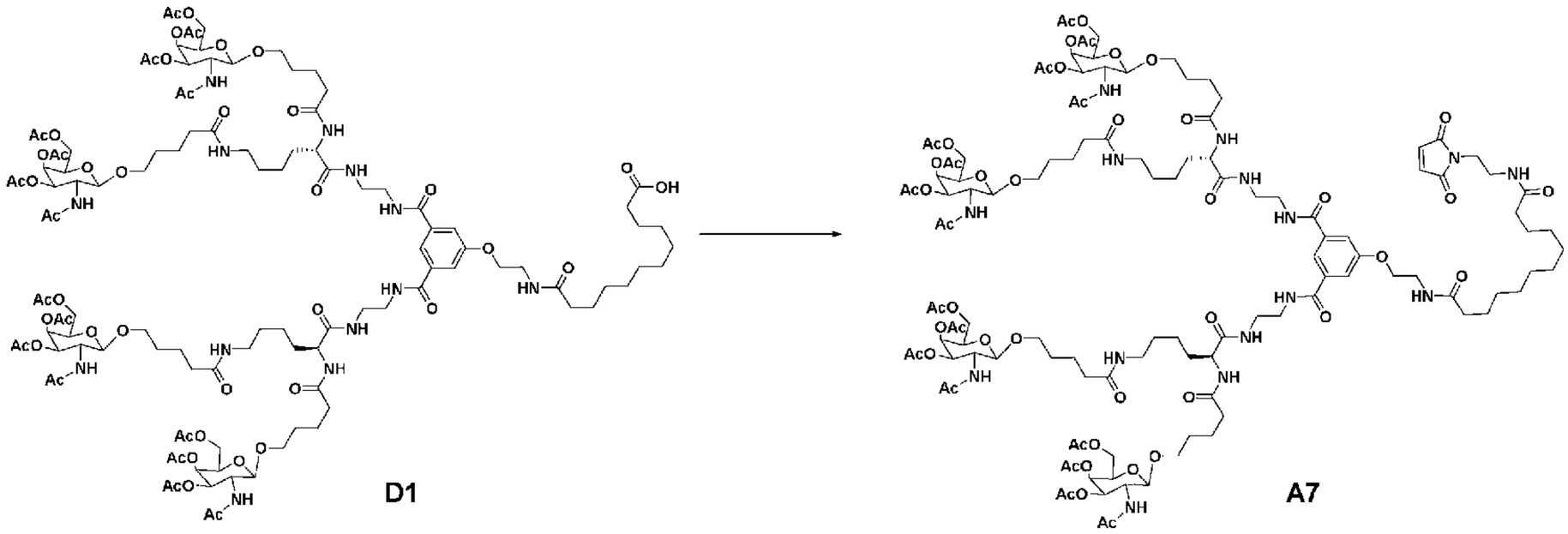
[0547] 化合物RE49-1 (0.048 g, 0.021 mmol)と3-マレイミドプロピオン酸 N-スクシンイミジル（東京化成社製, 0.017 g, 0.064 mmol)を用いて参考例8の化合

物A1の合成と同様の方法で化合物A6（0.040 g，収率78%)を得た。

ESI-MS m/z: 2480(M+HCOO)$^-$

[0548] 参考例50：化合物A7の合成

[0549] [化163]



[0550] 工程131

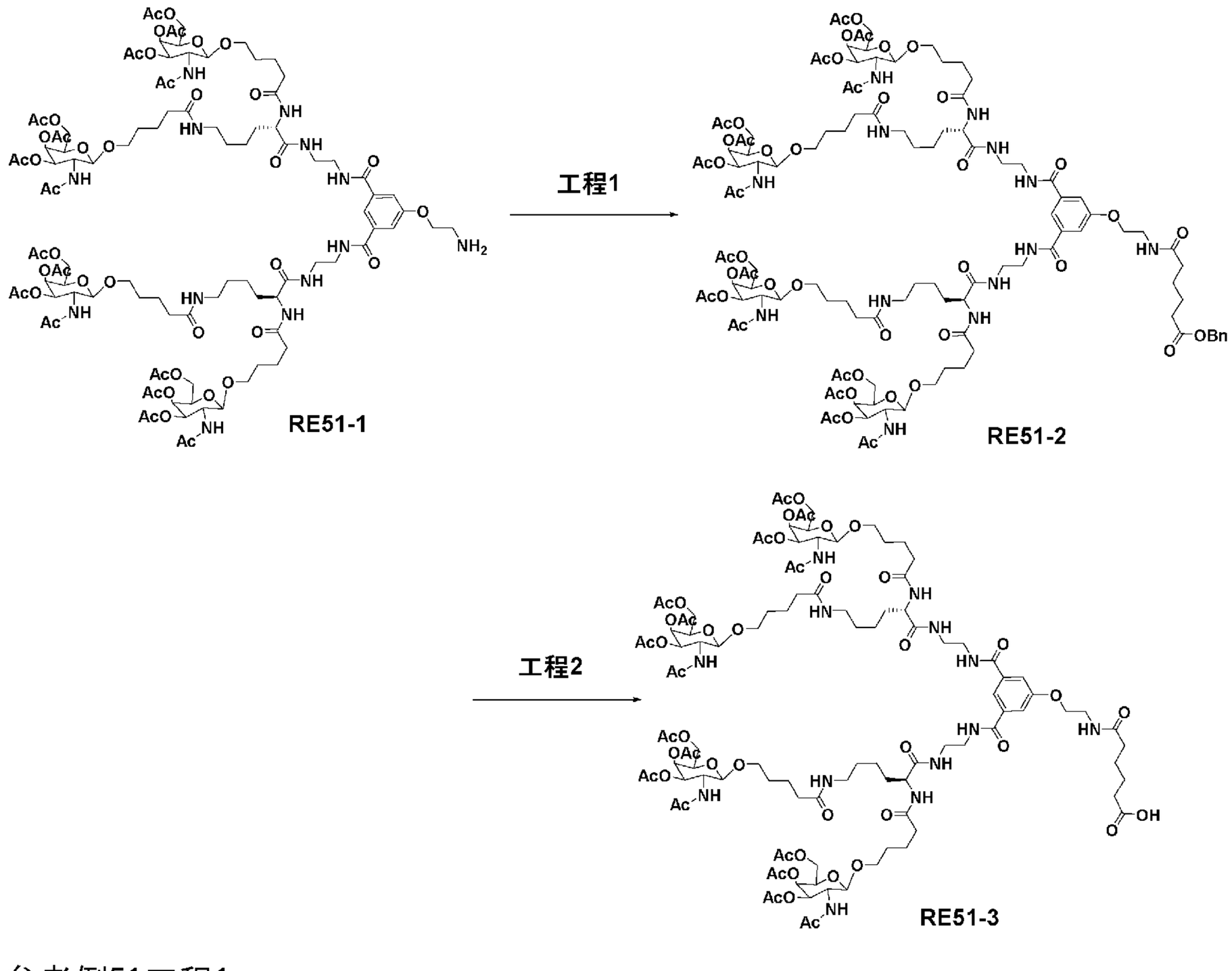
参考例10に記載の方法で合成した化合物D1（23.6 mg，9.46 μmol)とN-(2-アミノエチル)マレイミド トリフルオロ酢酸塩（シグマアルドリッチ社製，7.21 mg，0.028 μmol)を用いて参考例3の工程3と同様の方法で化合物A7（9.1 mg，収率36%)を得た。

ESI-MS m/z: 1310(M+2H)$^{2+}$

[0551] 参考例51

[0552]

[化164]



[0553] 参考例51工程1

参考例7に記載の方法で合成した化合物RE51-1 (0.122 g, 0.054 mmol)と、バイオコンジュゲート・ケミストリー (Bioconjugate Chemistry), 第22巻, 690-699頁, 2011年に記載された方法と同様の方法を用いて合成したヘキサン酸モノベンジルエステルを用い、参考例4工程1と同様にして、化合物RE51-2 (0.076 g, 収率56%)を得た。

ESI-MS m/z: 2503(M+H)$^+$

[0554] 参考例51工程2

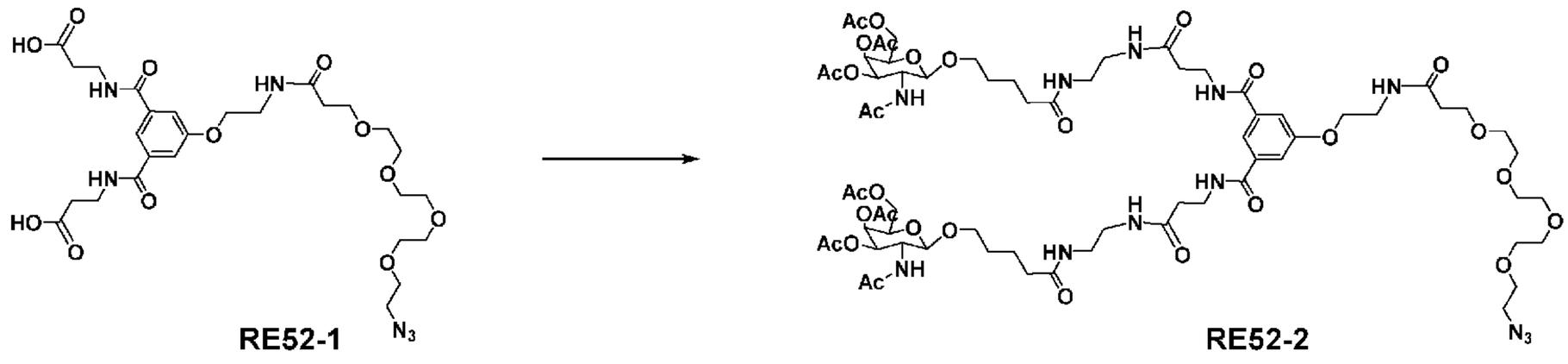
化合物RE51-2 (0.076 g, 0.03 mmol)を用いて参考例3の工程1と同様の方法にて化合物RE51-3 (0.030 g, 収率40%)を得た。

ESI-MS m/z: 2412(M+H)$^+$

[0555] 参考例52

[0556]

[化165]

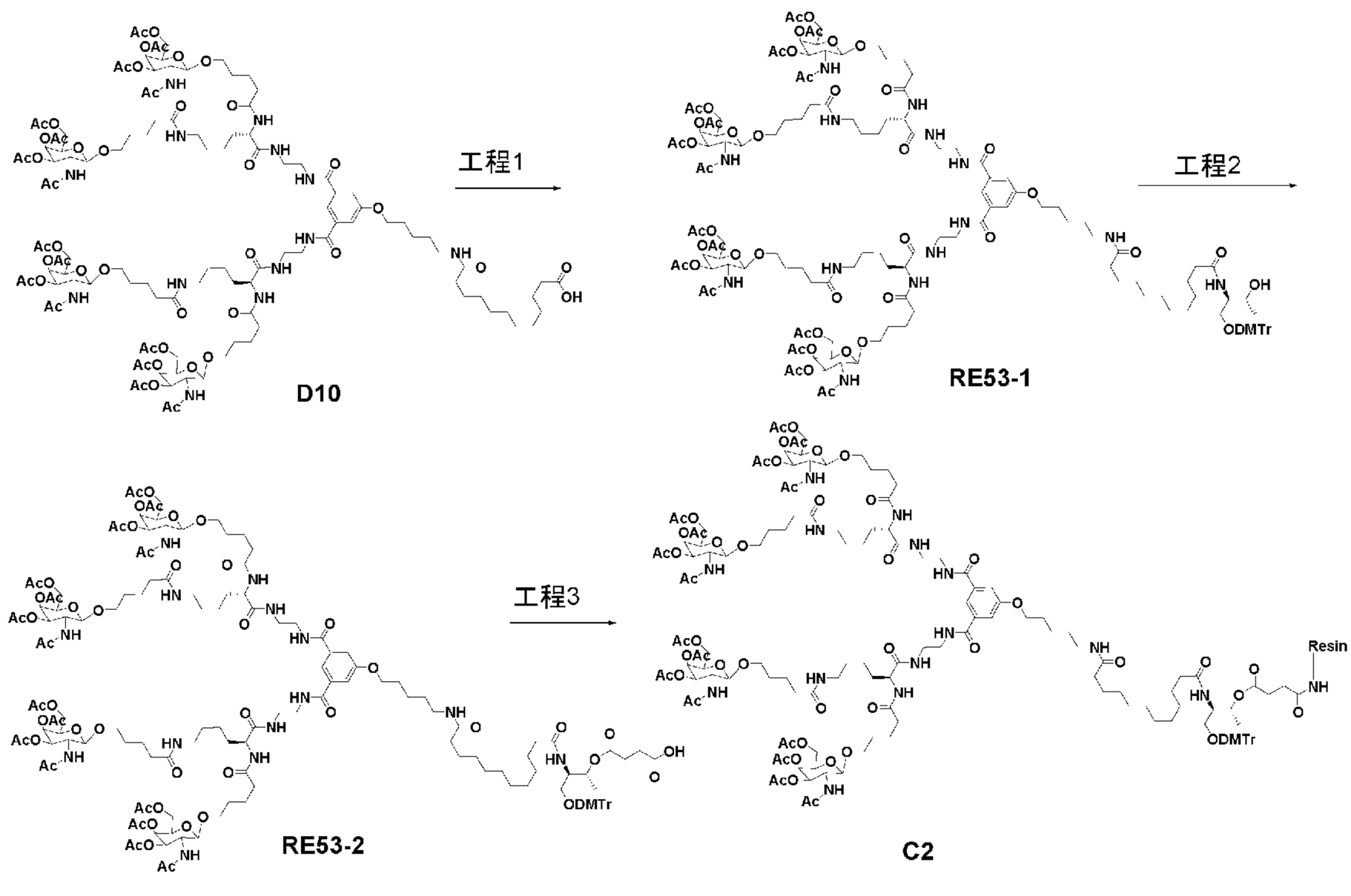


[0557] 参考例6に記載の方法で合成した化合物RE52-1（参考例6における化合物RE6-5, 4.36 mg, 0.006 mmol)と参考例1の化合物RE1-4（10 mg, 0.02 mmol）を用い、参考例3の工程7と同様の方法で化合物RE52-2（7 mg, 収率65%)を得た。

ESI-MS m/z: 1581 $(M - H)^-$

[0558] 参考例53：化合物C2の合成

[0559] [化166]



[0560] 参考例53工程1

参考例46に記載の方法で合成した化合物D10（0.2011 g, 0.079 mmol)を用いて、参考例10の工程3を用いて化合物RE53-1（0.129 g, 収率55%)を得た。

ESI-MS m/z: 2972 $(M+HCOO)^-$

[0561] 参考例53工程2

化合物RE53-1(0.129 g, 0.044 mmol)を用いて、参考例10の工程4を用いて化合物RE53-2の粗製生物を得た。

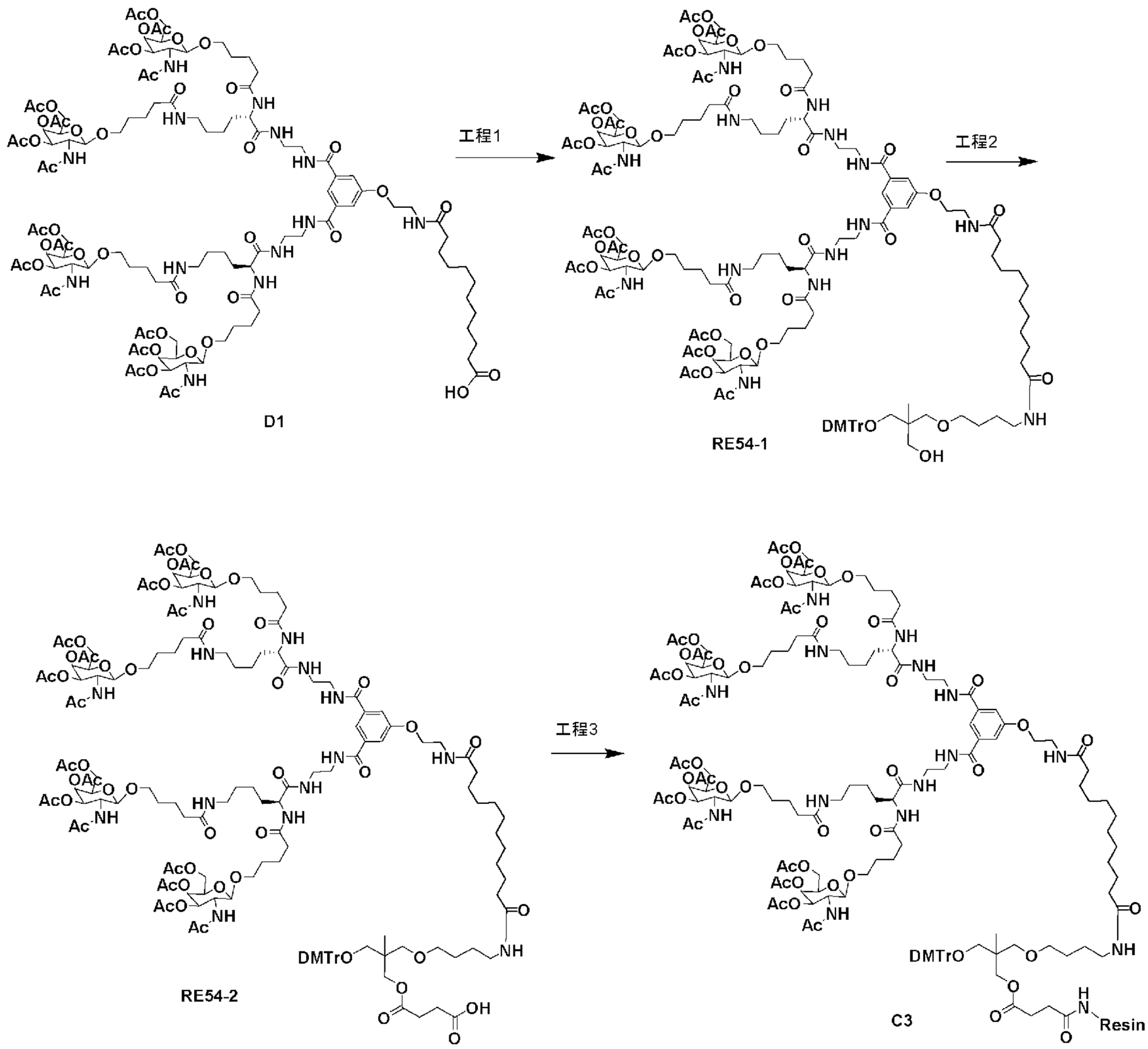
ESI-MS m/z: 1535 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$

[0562] 参考例53工程3

化合物RE53-2 (0.0467 g, 0.013 mmol)を用いて、参考例10の工程5を用いて、化合物C2(19.4 μmol/g, 収率35%)を得た。

[0563] 参考例54:化合物C3の合成

[0564] [化167]



[0565] 参考例54工程1

参考例10に記載の方法で合成した化合物D1 (100 mg, 0.040mmol) および参考例17の化合物RE17-2を用い、参考例10の工程3と同様の方法で化合物RE54-1

（90 mg，収率76%）を得た。

ESI-MS m/z: 1335 $(M-DMTr+2H)^{2+}$

[0566] 参考例54工程2

化合物RE54-1（90 mg，0.030 mmol）を用い、参考例10の工程4と同様の方法で化合物RE54-2の粗生成物を得た。

ESI-MS m/z: 1558 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$

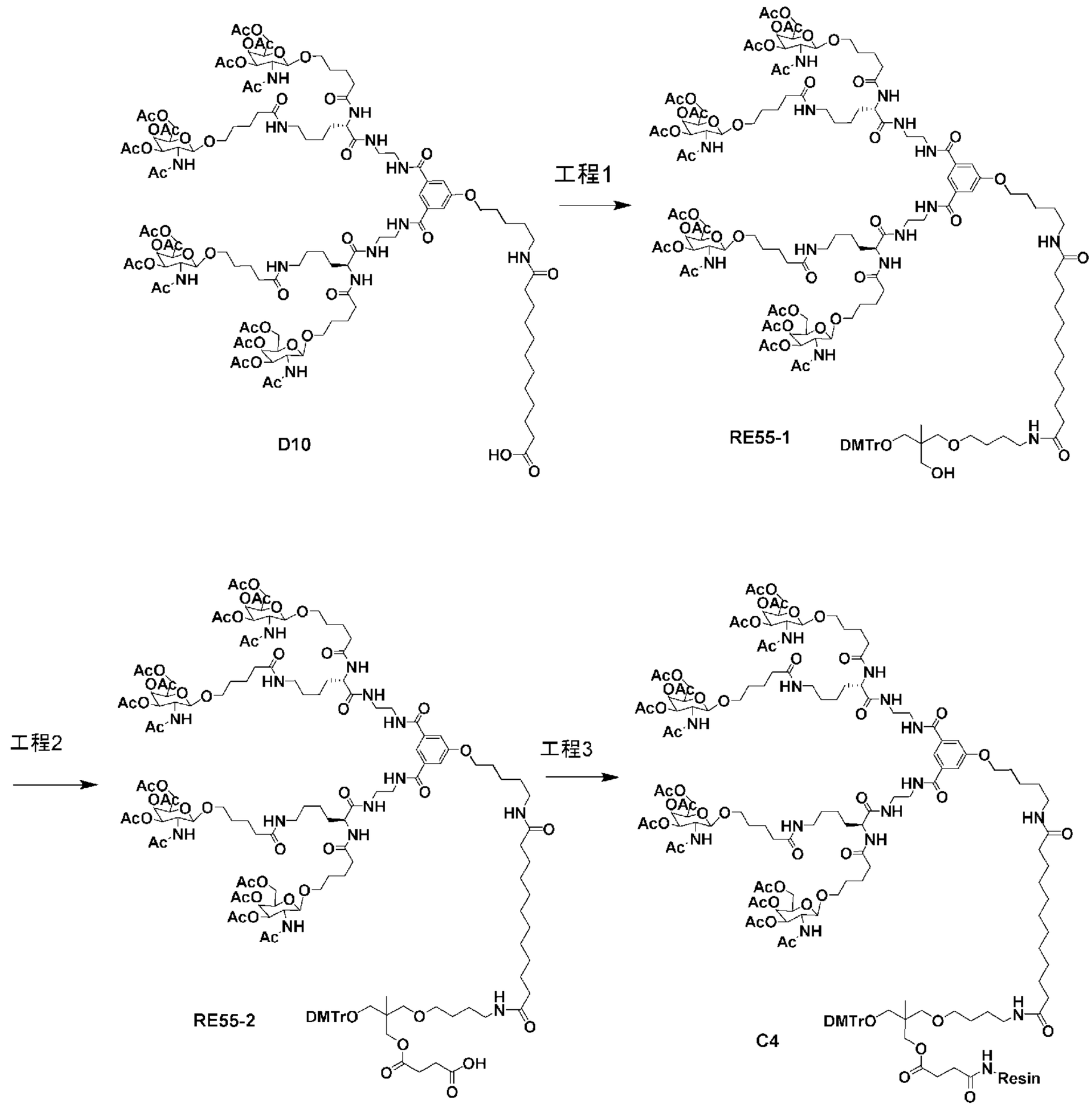
[0567] 参考例54工程3

化合物RE54-2の粗生成物を用い、参考例10の工程5と同様の方法で化合物C3（21.5 μmol/g，2段階収率32%）を得た。

[0568] 参考例55：化合物C4の合成

[0569]

[化168]



[0570] 参考例55工程1

参考例46に記載の方法で合成した化合物D10（100 mg, 0.039 mmol）および参考例17で合成した化合物RE17-2を用い、参考例10の工程3と同様の方法で化合物RE55-1（90 mg, 収率76%）を得た。

ESI-MS m/z: 1356 $(M+2H)^{2+}$ 脱DMTr体として検出

[0571] 参考例55工程2

化合物RE55-1（90 mg, 0.030 mmol）を用い、参考例10の工程4と同様の方法で化合物RE55-2の粗生成物を得た。

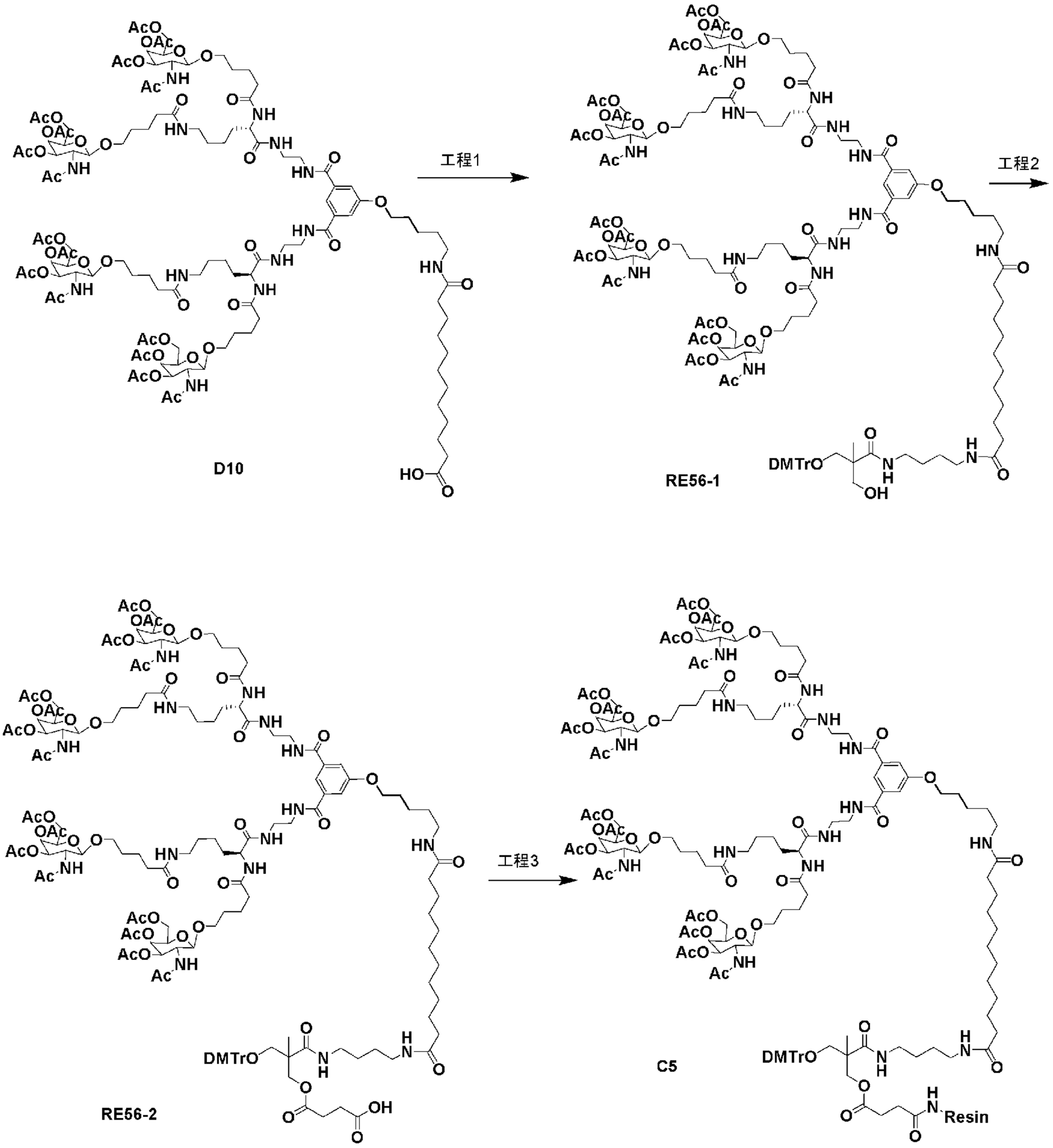
ESI-MS m/z: 1579 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$

[0572] 参考例55工程3

化合物RE55-2の粗生成物を用い、参考例10の工程5と同様の方法で化合物C4（17.0 μmol/g, 2段階収率26%）を得た。

[0573] 参考例56：化合物C5の合成

[0574] [化169]



[0575] 参考例56工程1

参考例46に記載の方法で合成した化合物D10（100 mg, 0.039 mmol）および参考例18の工程2で合成した化合物RE18-3を用い、参考例10の工程3と同様の方法で化合物RE56-1（50 mg, 収率42%）を得た。

ESI-MS m/z: 1363 $(M+2H)^{2+}$ 脱DMTr体として検出

[0576] 参考例56工程2

化合物RE56-1（50 mg, 0.017 mmol）を用い、参考例10の工程4と同様の方法で化合物RE56-2の粗生成物を得た。

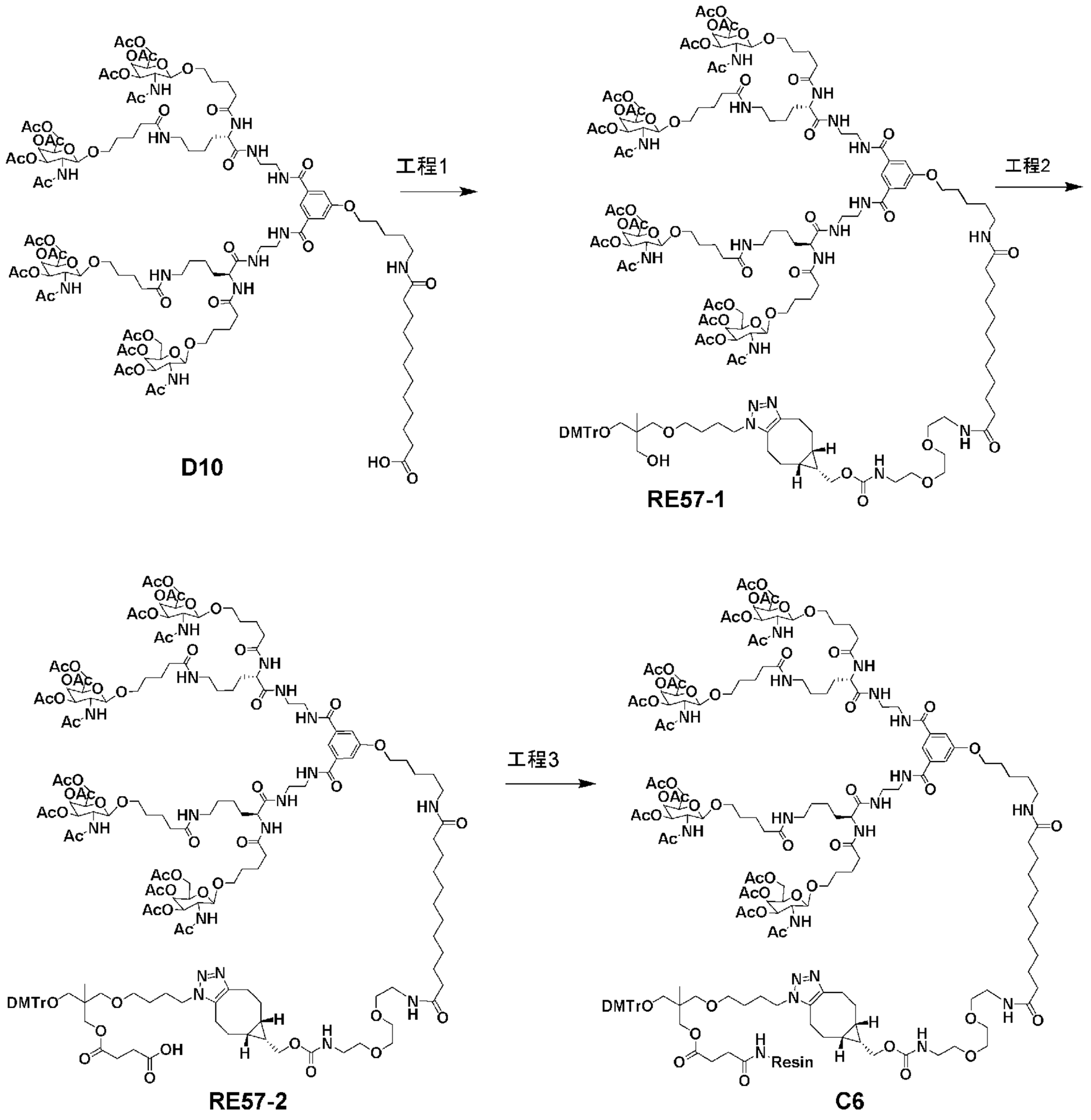
ESI-MS m/z: 1587 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$

[0577] 参考例56工程3

化合物RE56-2の粗生成物を用い、参考例10の工程5と同様の方法で化合物C5（0.5 μmol/g, 2段階収率1%）を得た。

[0578] 参考例57：化合物C6の合成

[0579] [化170]



[0580] 参考例57工程1

参考例46に記載の方法で合成した化合物D10（100 mg, 0.039 mmol）および参考例19の化合物RE19-2を用い、参考例10の工程3と同様の方法で化合物RE57-1（40 mg, 収率30%）を得た。

ESI-MS m/z: 1532 $(M+2H)^{2+}$ 脱DMTr体として検出

[0581] 参考例57工程2

化合物RE57-1(40 mg, 0.012 mmol)を用い、参考例10の工程4と同様の方法で化合物RE57-2の粗生成物を得た。

ESI-MS m/z: 1582 $(M+2H)^{2+}$

脱DMTr体として検出

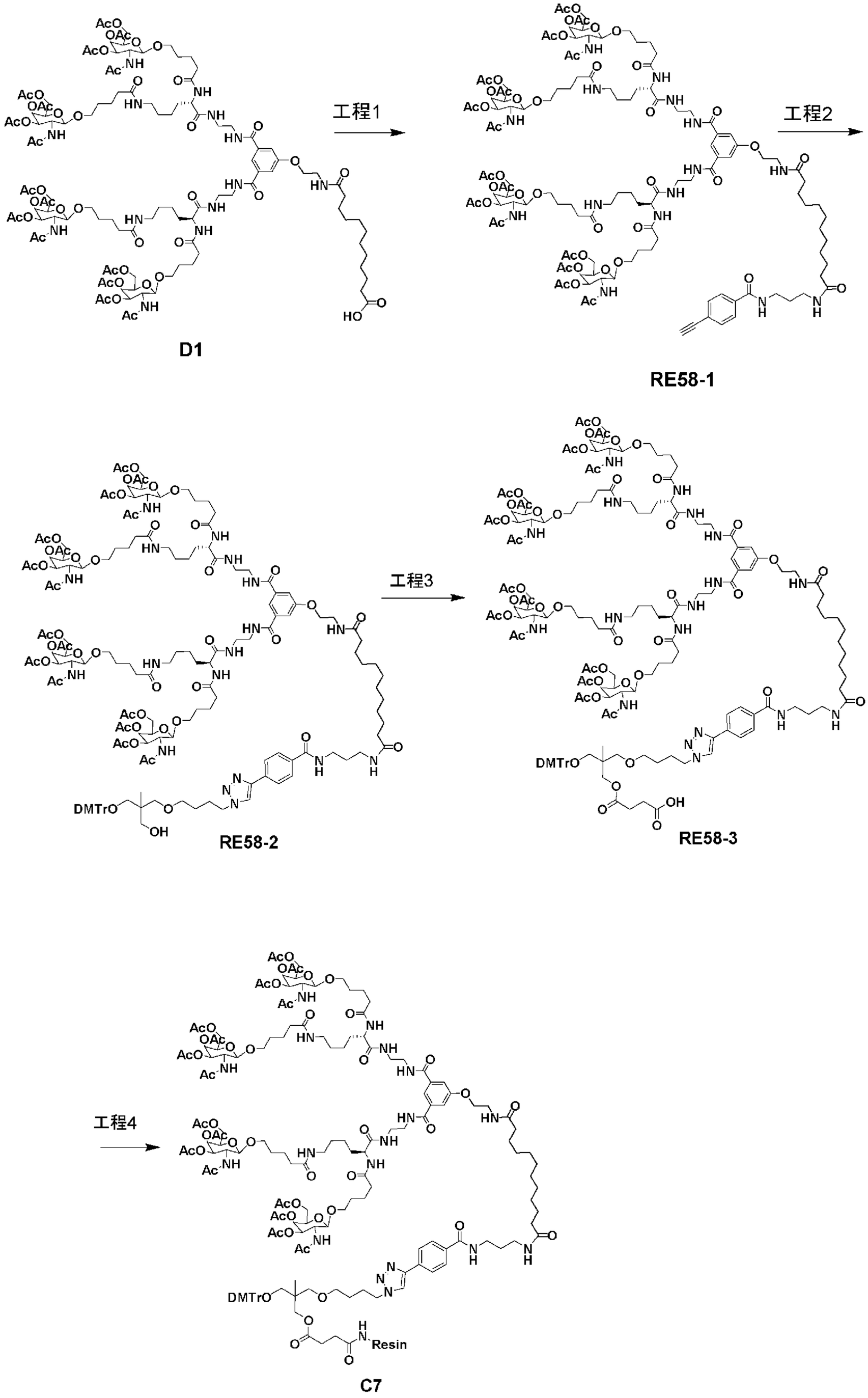
[0582] 参考例57工程3

化合物RE57-2の粗生成物を用い、参考例10の工程5と同様の方法で化合物C6（0.2 μmol/g, 2段階収率1%）を得た。

[0583] 参考例58：化合物C7の合成

[0584]

[化171]



[0585] 参考例58工程1

参考例10に記載の方法で合成したD1（70 mg，0.028 mmol）および参考例21の化合物RE21-3を用い、参考例10の工程3と同様の方法で化合物RE58-1（58 mg，収率77%）を得た。

ESI-MS m/z: 1341 $(M+2H)^{2+}$

[0586] 参考例58工程2

化合物RE58-1（58 mg，0.022 mmol）をメタノール（0.15 mL）に溶解し、ジャーナルオブオーガニックケミストリー（Journal of Organic Chemistry），第74巻，6837-6842頁，2009年に記載された方法で合成した参考例17の化合物RE17-1（16.9 mg，0.032 mmol)、1 mol /L SODIUM L-ASCORBATE水溶液（0.022 mL，0.022 mmol)、20 mmol/L 硫酸銅(II)水溶液（0.011 mL，0.22 μmol)、及び10 mmol/L Tris(2-benzimidazolylmethyl)amine / DMSO溶液（0.022 mL，0.22μmol)を加え、室温にて3時間撹拌した。反応液をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム／メタノール=80/20）にて精製し、化合物RE58-2（7 mg，収率10%）を得た。

ESI-MS m/z: 1450 $(M+2H)^{2+}$ 脱DMTr体として検出

[0587] 参考例58工程3

化合物RE58-2（10 mg，3.13 μmol）を用い、参考例10の工程4と同様の方法で化合物RE58-3の粗生成物を得た。

ESI-MS m/z: 1500 $(M+2H)^{2+}$ 脱DMTr体として検出

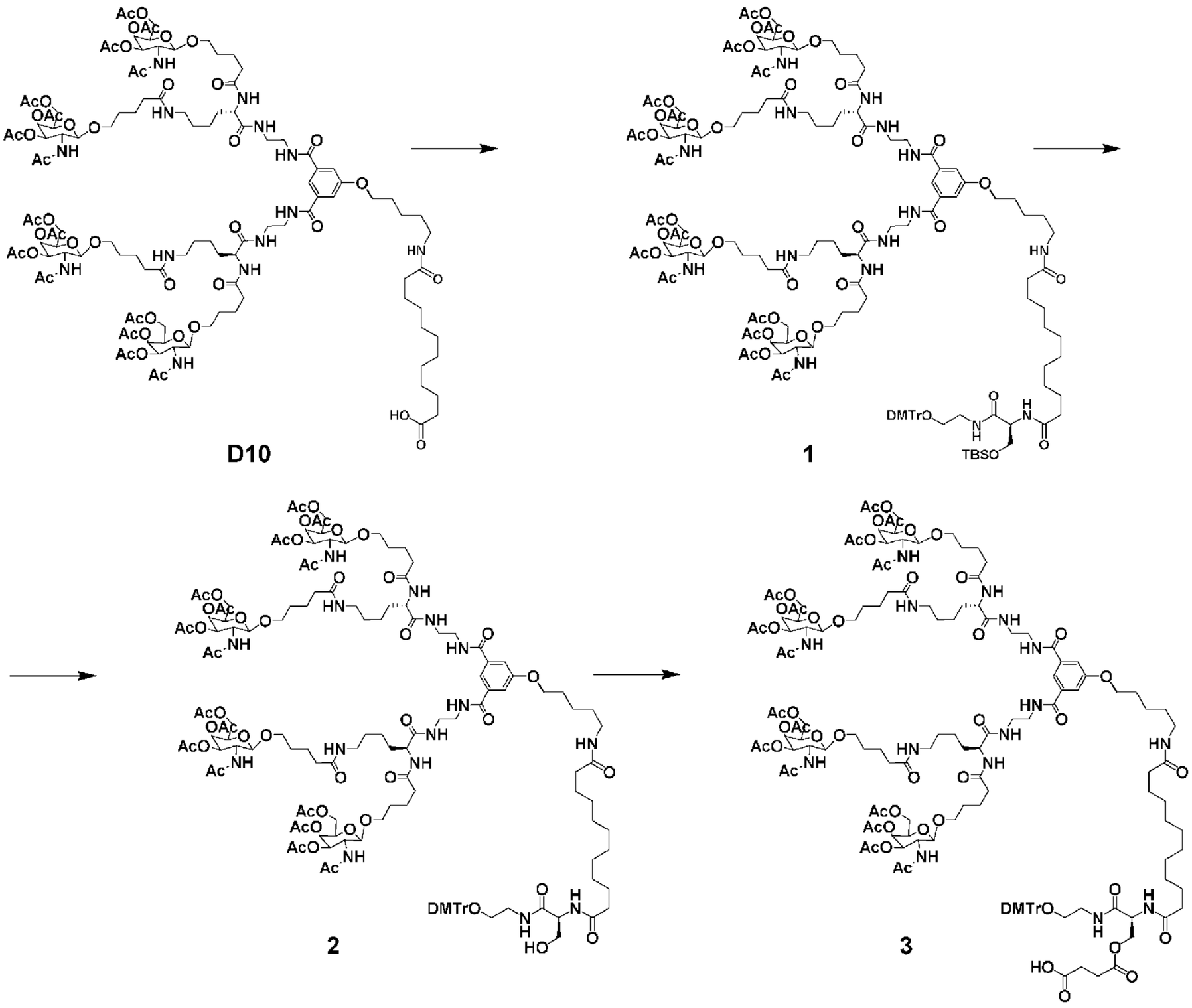
[0588] 参考例58工程4

化合物RE58-3の粗生成物を用い、参考例10の工程5と同様の方法で化合物C7（8.4 μmol/g,収率27%）を得た。

[0589] 参考例59

[0590]

[化172]



[0591] 参考例59工程1

参考例46に記載の方法で合成した化合物D10 (74.1 mg, 0.029 mmol)と参考例22の化合物RE22-2 (15 mg, 0.027 mmol)を用いて、参考例3の工程3と同様の方法、またはバイオコンジュゲートケミストリー, 第26巻,1451-1455頁, 2015年に記載の方法にて化合物RE59-1の粗製生物を得た。

ESI-MS m/z: 1392(M +H)$^+$, 脱DMTr体として検出

[0592] 参考例59工程2

化合物RE59-1 (0.083 g, 0.027 mmol)を用いて、国際公開公報2015105083号に記載の方法により化合物RE59-2の粗製生物を得た。

ESI-MS m/z: 2669(M+H)$^+$, 脱DMTr体として検出

[0593] 参考例59工程3

化合物RE59-2 (0.08 g, 0.027 mmol)を用いて、参考例10の工程4と同様の

方法で化合物RE59-3の粗製生物を得た。

ESI-MS m/z: 1556(M+HOOH-2H)$^{2-}$

^{1}H-NMR (400 MHz, MeOD) : δ 1.45-1.86 (48H, m), 1.93 (12H, s), 1.94 (12H, s), 2.02 (12H, s), 2.13 (12H, s), 2.16-2.28 (17H, m), 2.48 (4H, s), 3.10-3.16 (6H, m), 3.36-3.56 (19H, m), 3.77 (6H, s), 3.80-3.89 (6H, m), 3.98-4.35 (30H, m), 4.53-4.59 (4H, m), 4.66-4.72 (1H, m), 5.04-5.10 (4H, m), 5.31-5.36 (4H, m), 6.81-6.88 (4H, m), 7.17-7.23 (1H, m), 7.26-7.32 (6H, m), 7.38-7.44 (2H, m), 7.54 (2H, br s), 7.90 (1H, br s).

[0594] 参考例60

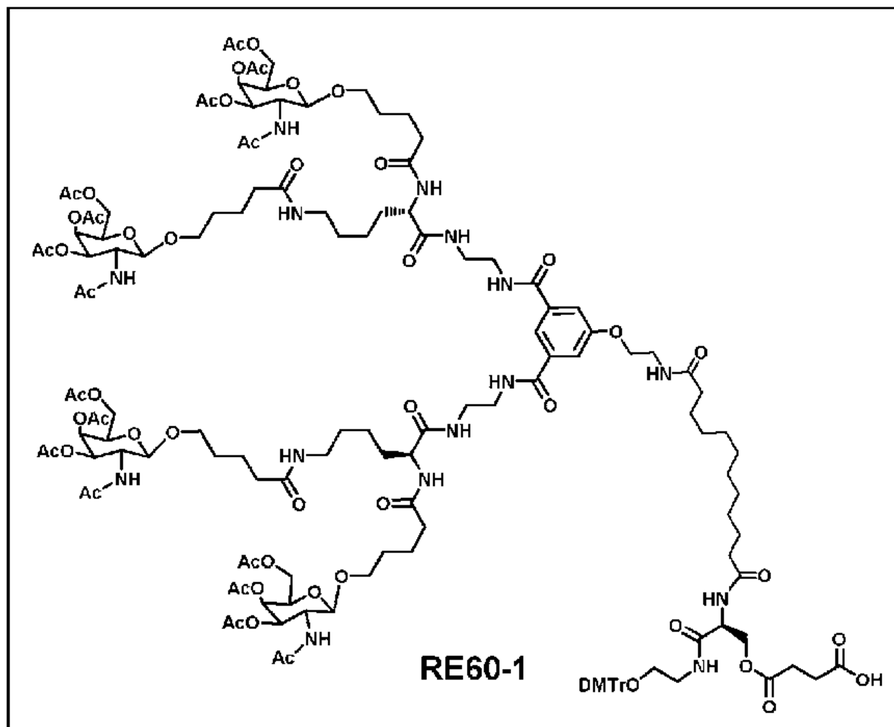
化合物D1、および第Z-1表記載の構造または参考例20の化合物RE20-4を用い、参考例59工程1および工程2と同様の方法にて、第P-1表および第P-2表に記載した化合物を得た。

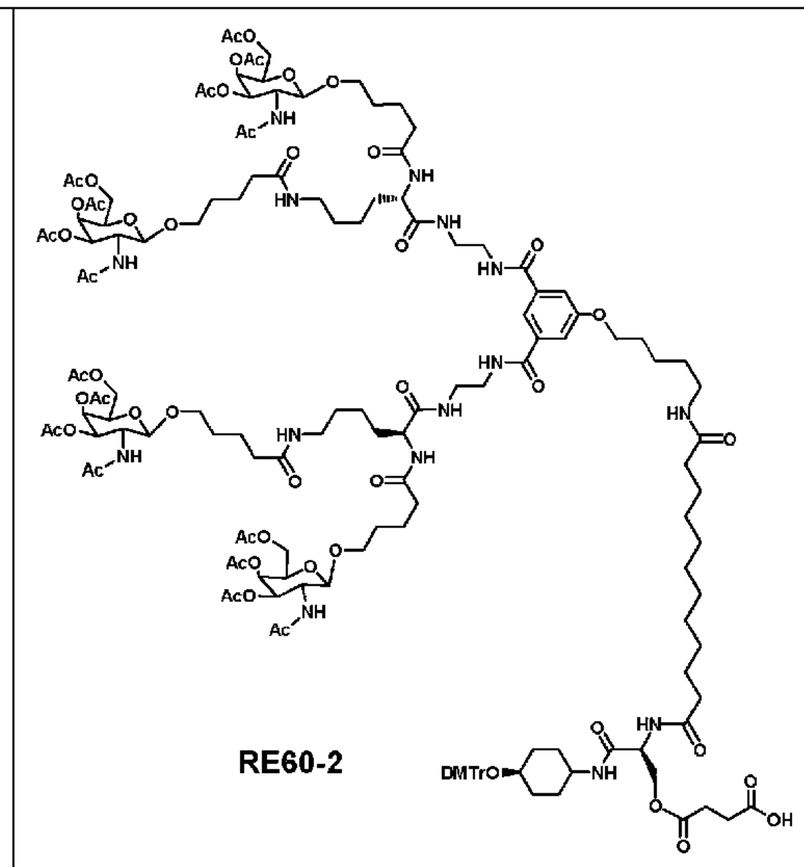
本実施例により合成した化合物の質量分析結果を第P-3表に示す。

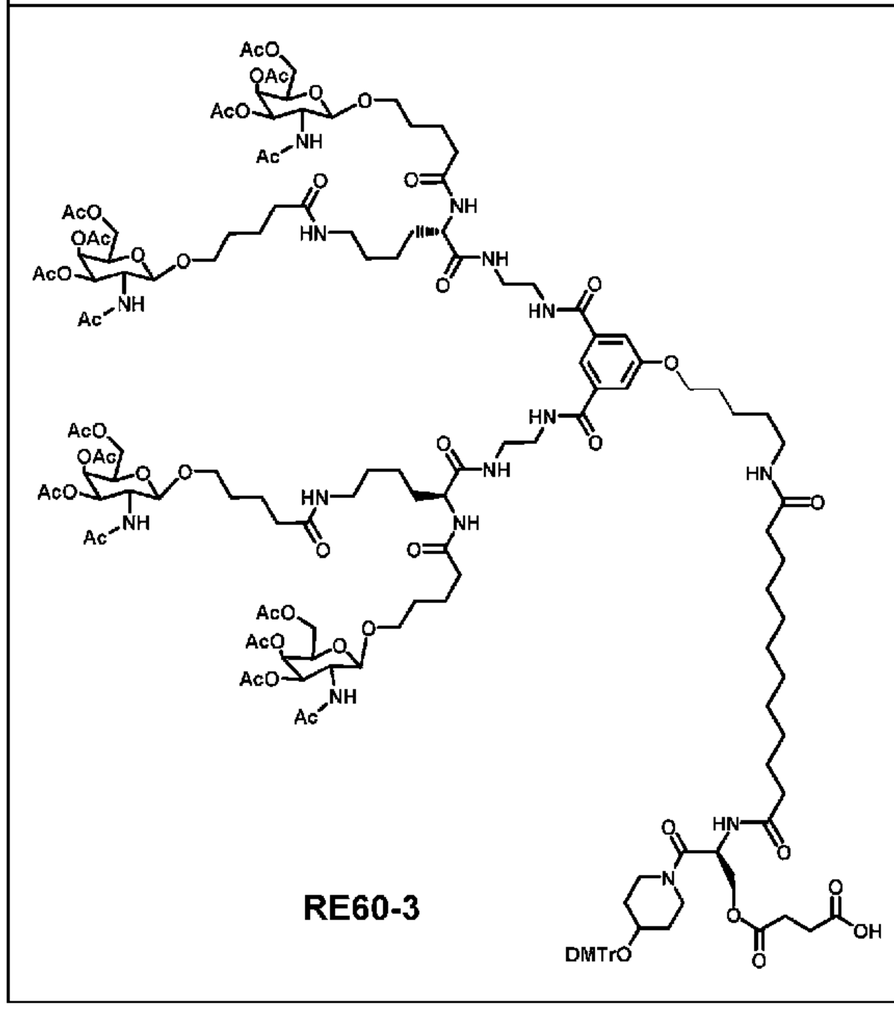
[0595]

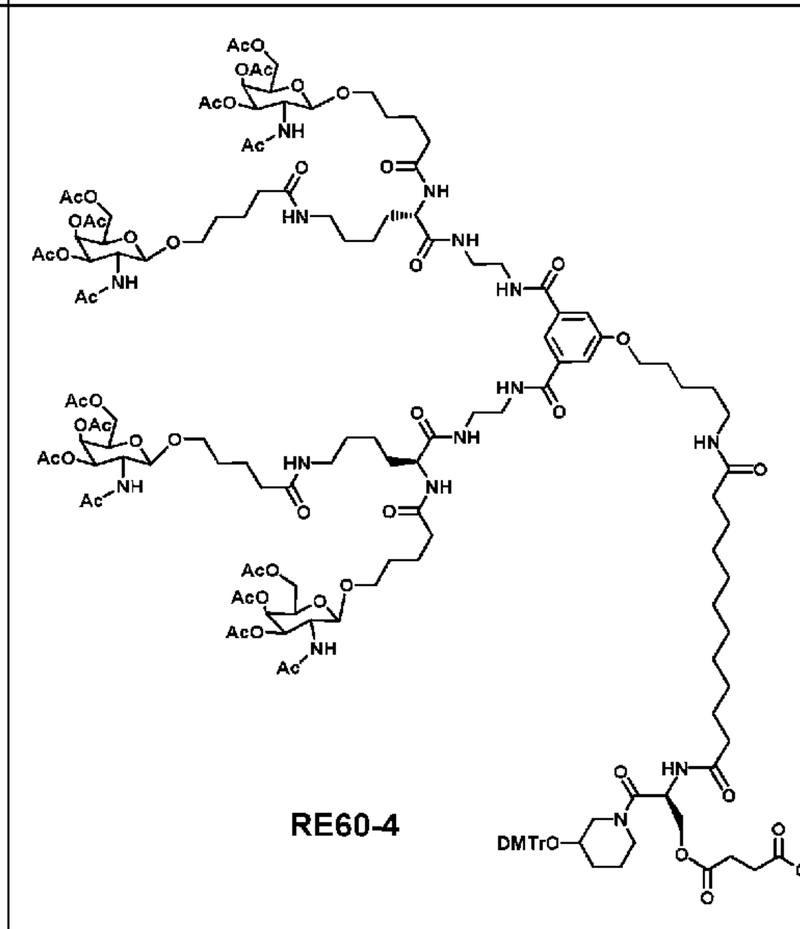
[表20]

第P-1表


RE60-1


RE60-2

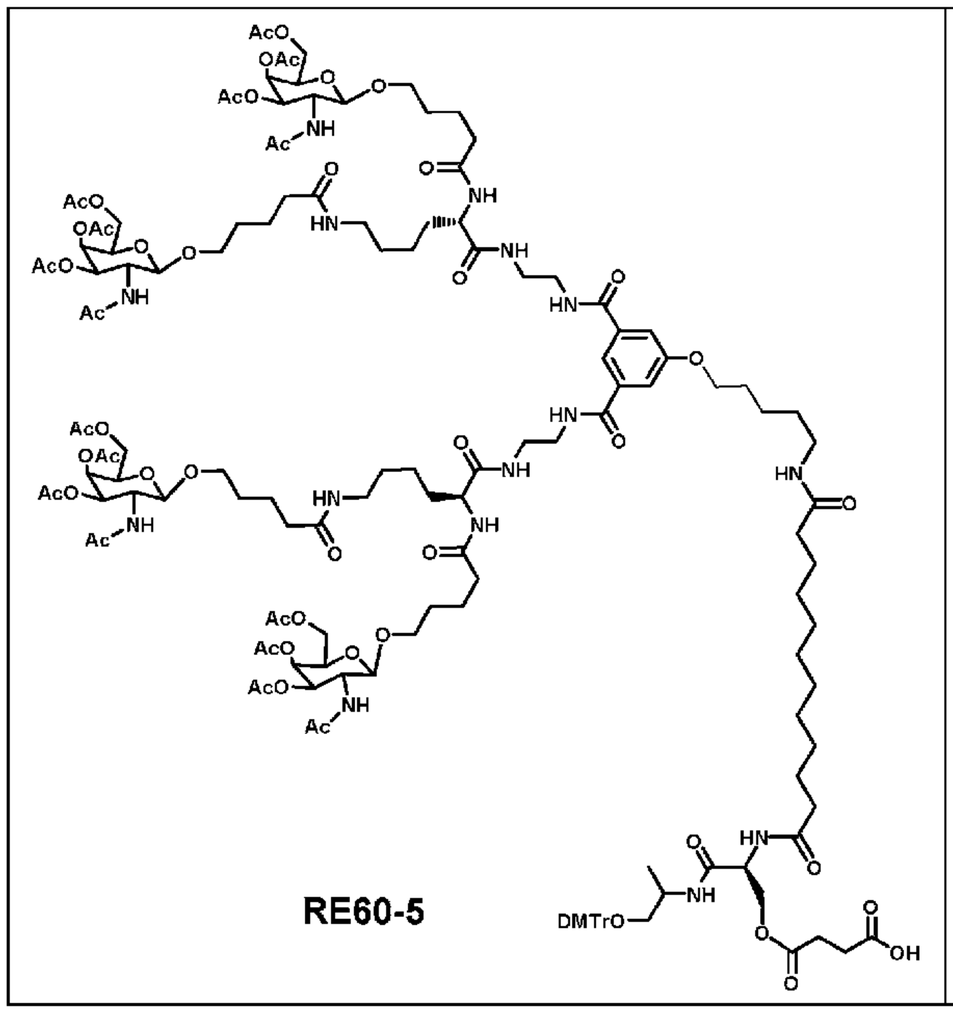

RE60-3


RE60-4

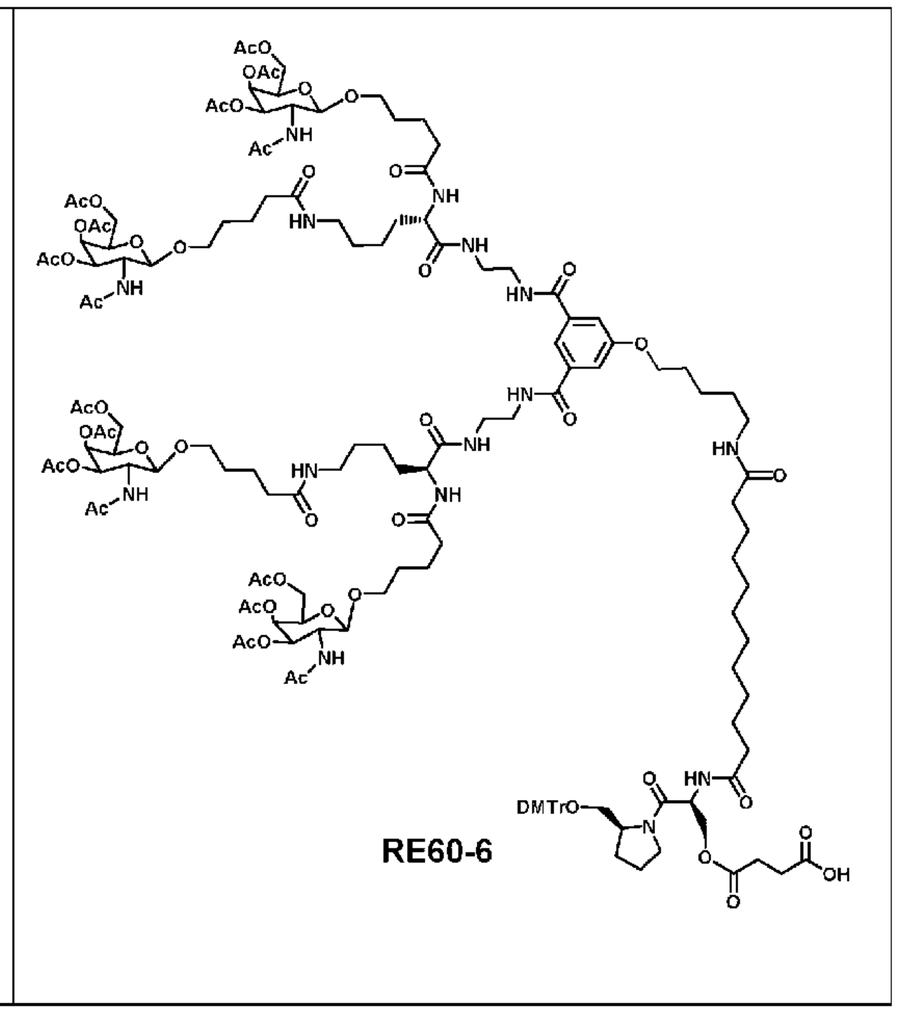
[0596]

[表21]

第P-1表の続き



RE60-5

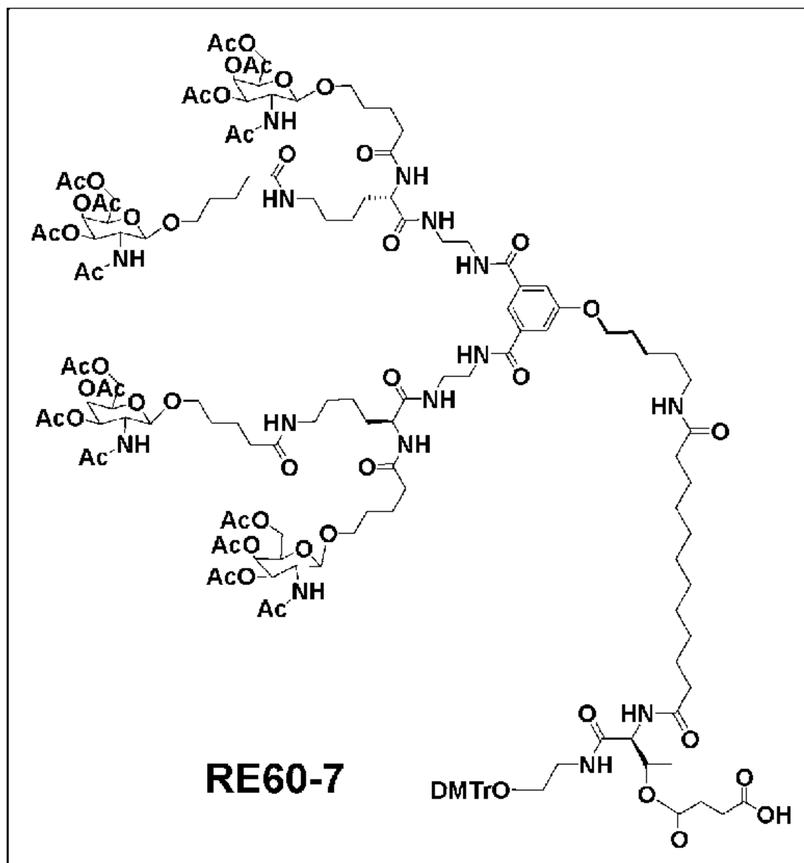


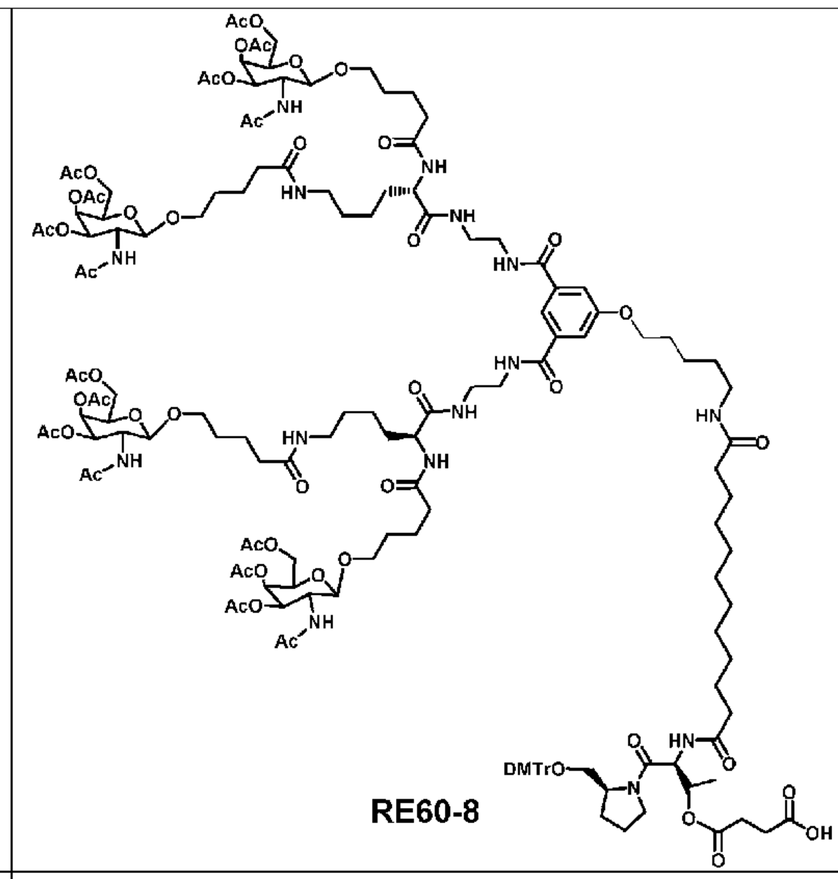
RE60-6

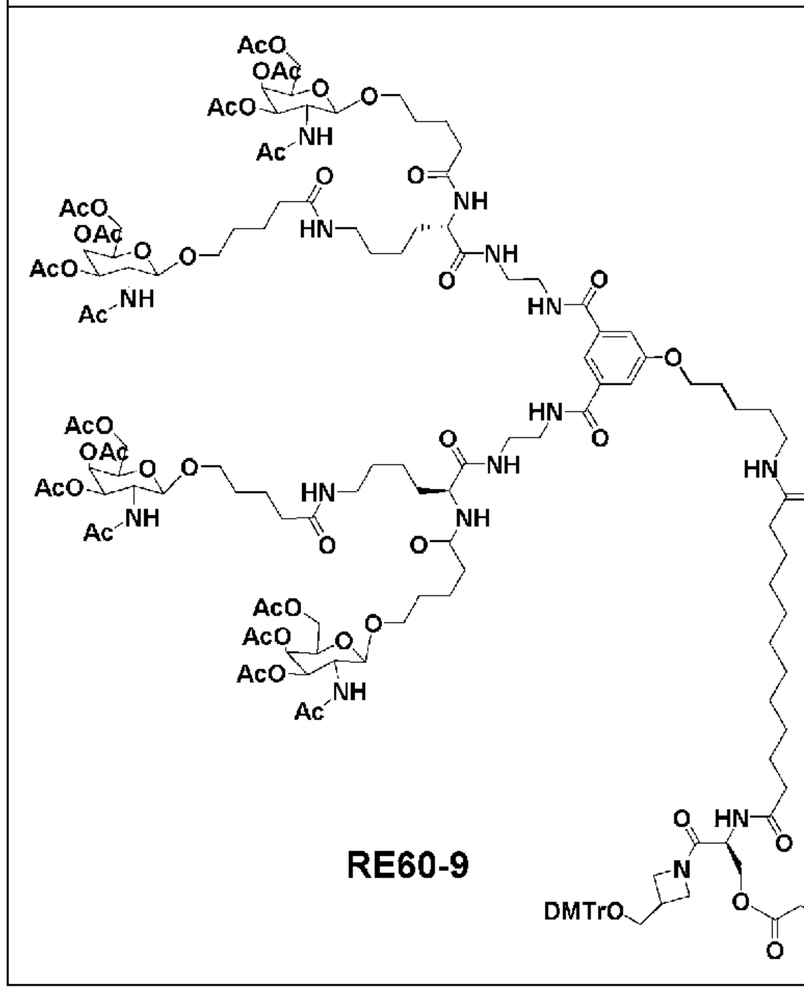
[0597]

[表22]

第P-2表







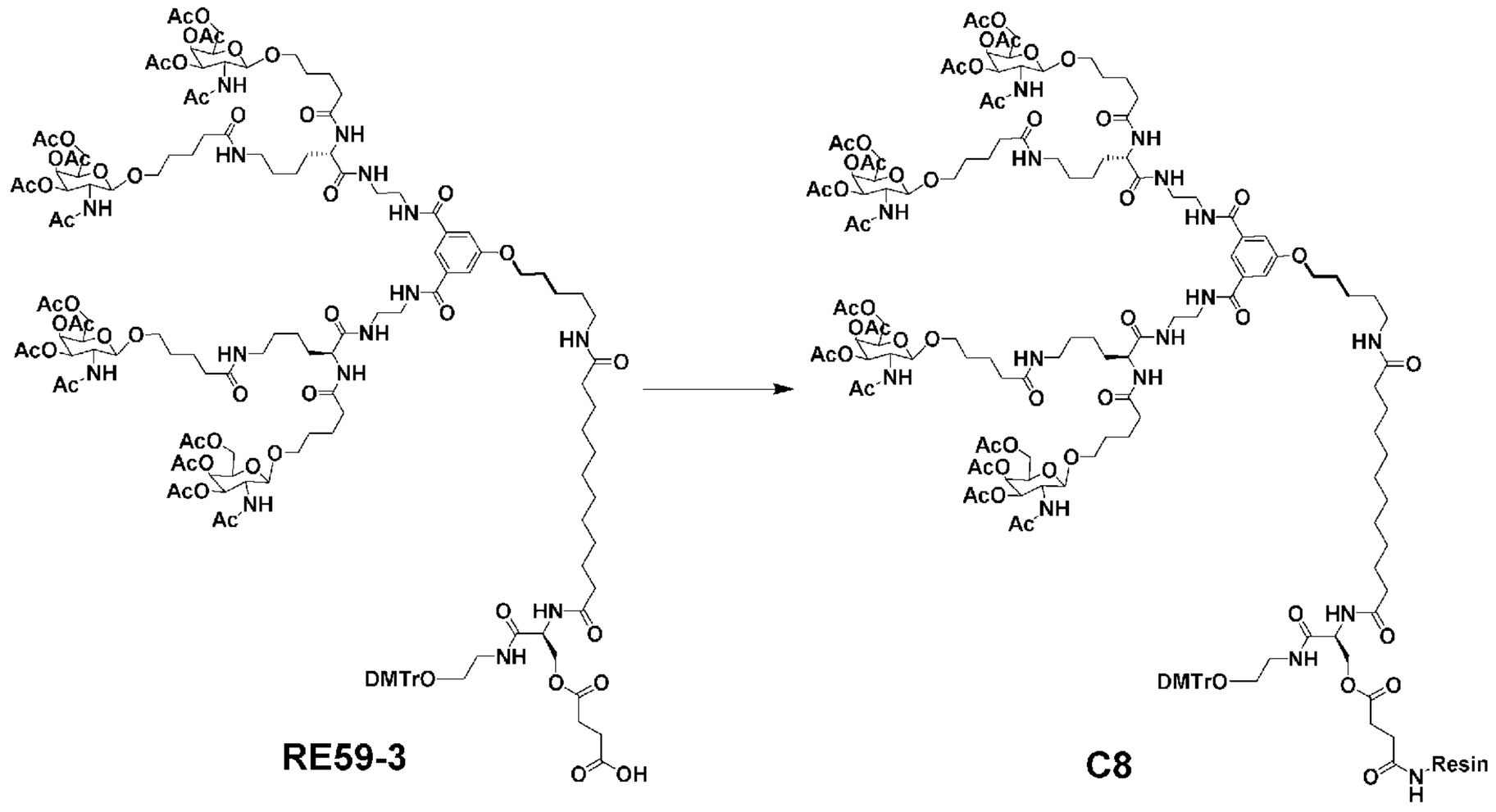
[0598] [表23]

第P-3表

参考例 60 化合物	ESI-MS m/z
RE60-1	1537 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$
RE60-2	1584 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$
RE60-3	1577 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$
RE60-4	1577 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$
RE60-5	1564 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$
RE60-6	1578 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$
RE60-7	1564 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$
RE60-8	1584 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$
RE60-9	1570 $(M+HCOOH-2H)^{2-}$

[0599] 参考例61：化合物C8の合成

[0600] [化173]



[0601] 参考例59に記載の化合物RE59-3を用いて、参考例10の工程5と同様の方法で化合物C8（10.0 μmol/g）を得た。

[0602] 参考例62：C9～C17の合成

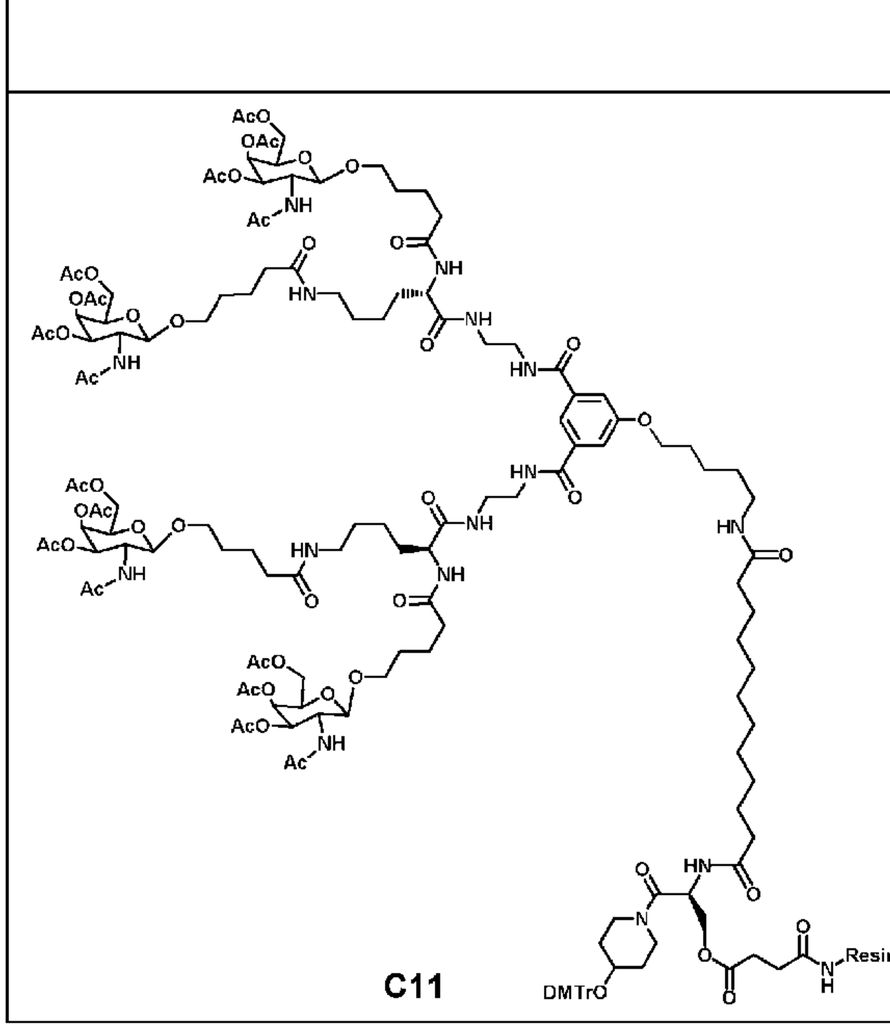
第P-1表および第P-2表に記載した化合物を用いて、参考例61と同様の方法で第Q-1表および第Q-2表記載の化合物を得た。

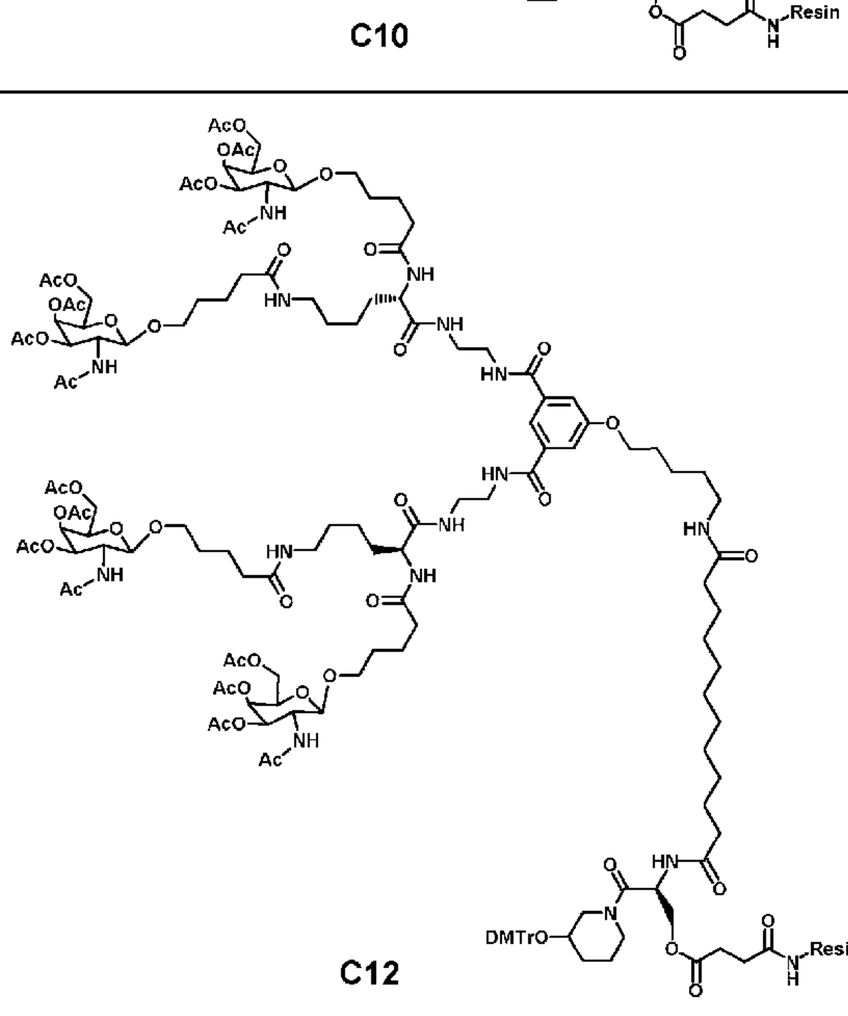
本実施例により合成した化合物の担持量を第Q-3表に示す。

[0603]

[表24]

第Q-1表

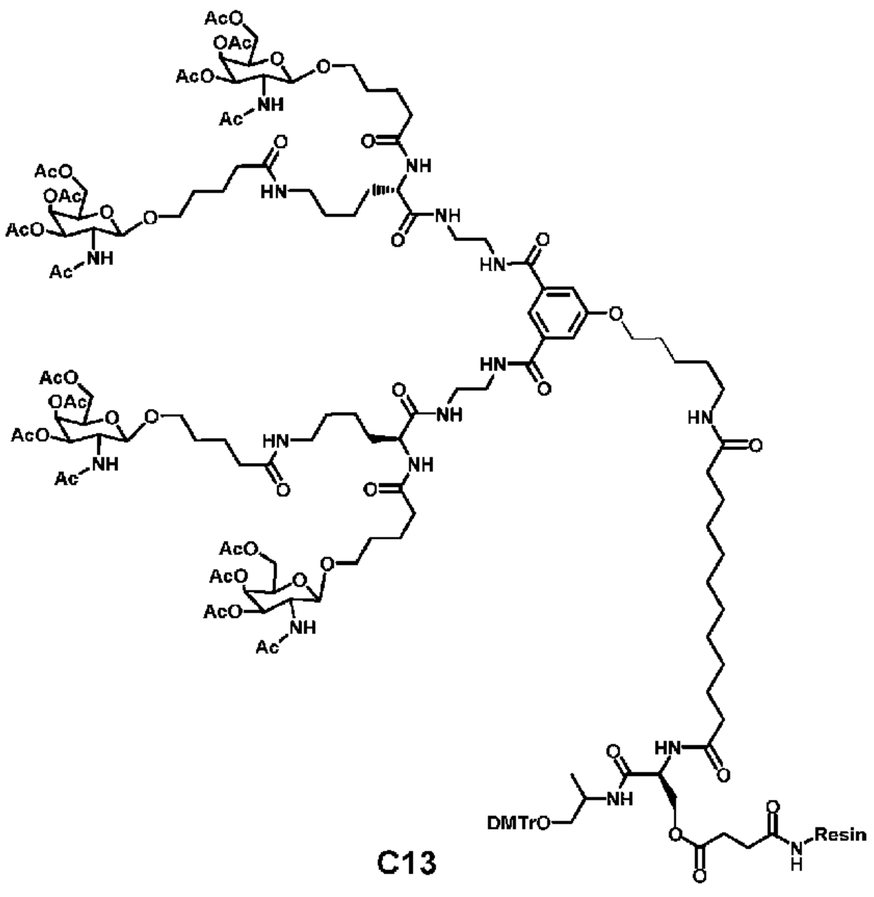
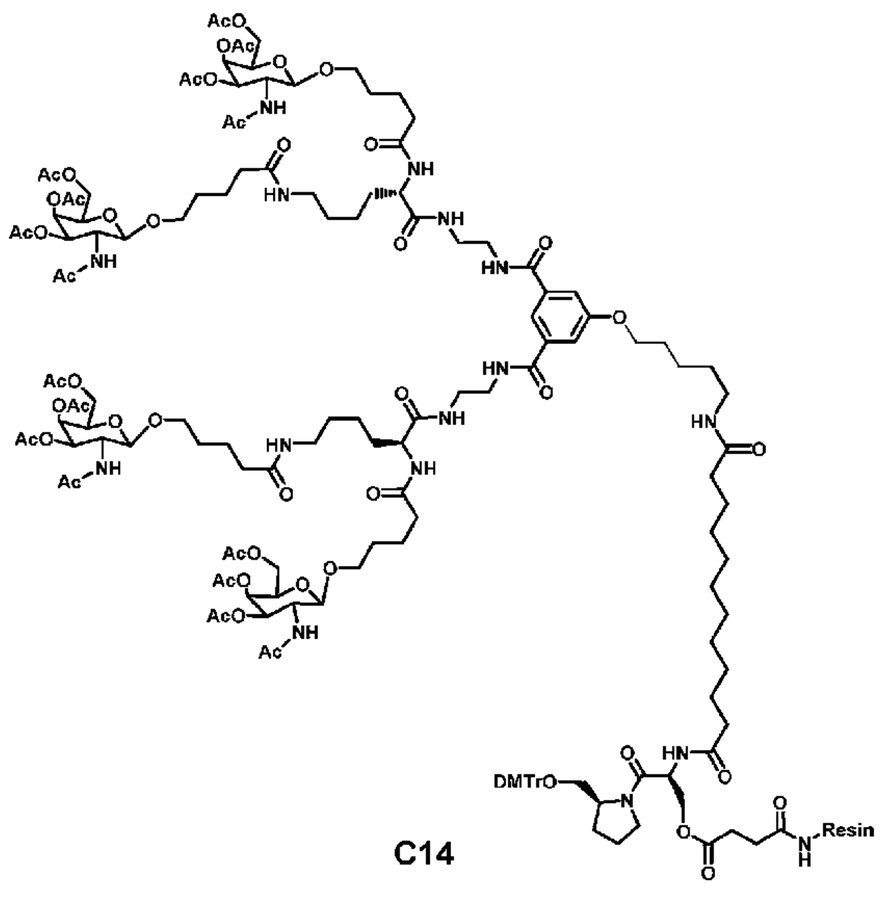




[0604]

[表25]

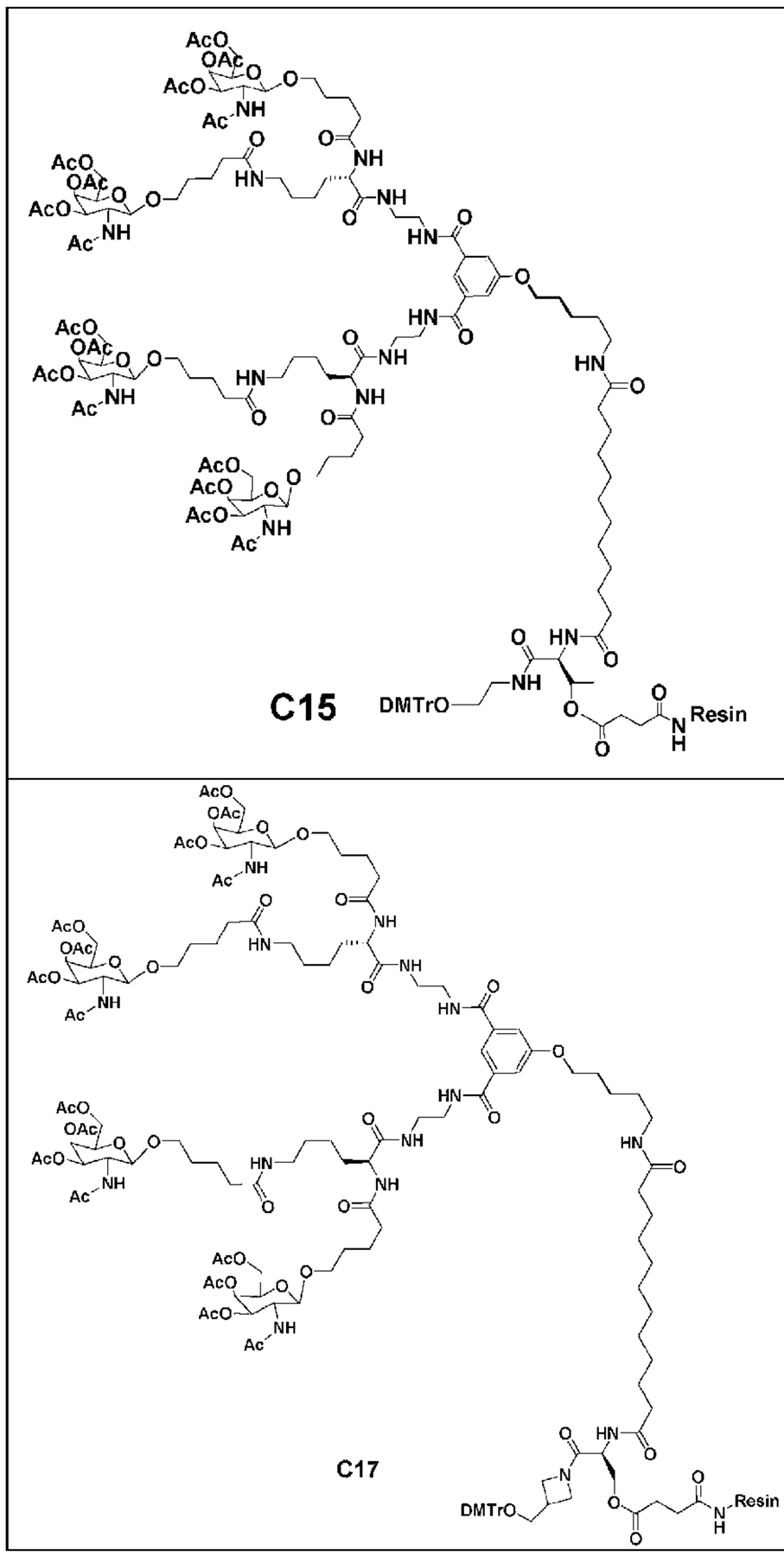
第Q-1表の続き

 C13	 C14

[0605]

[表26]

第Q-2表



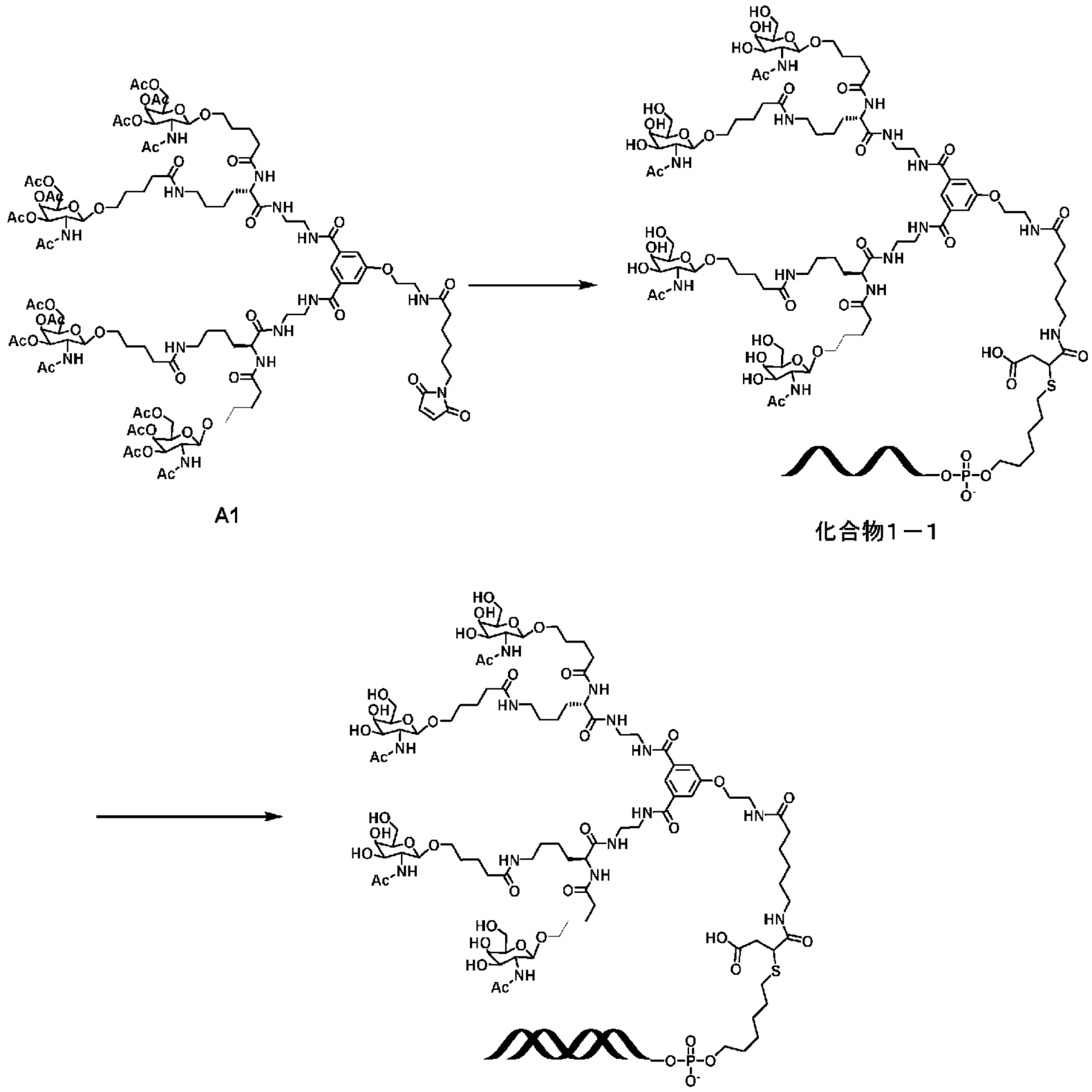
[0606] [表27]

第Q-3表

化合物	担持量(μmol/g)
C9	2.6
C10	23.1
C11	22.2
C12	32.7
C13	30.5
C14	18.1
C15	20.4
C16	12.7
C17	2.2

[0607] 実施例１：化合物１－１および１－２の合成

[0608] [化174]



[0609] 工程１

参考例化合物Ａ１と、モレキュールズ（Molecules), 第17巻, 13825-13843頁, 2012年に記載された方法で合成した末端チオール化されたオリゴヌクレオチドを加えて、室温にて4時間静置した。反応混合物に炭酸ナトリウムを加え、4℃で一晩静置した。陰イオン交換クロマトグラフィー（GE Healthcare, MonoQ 5/50GL, 10μm, 5.0 mm x 50 mm、A液： 10 mmol/L Tris緩衝液/30%アセトニトリル, B液: 10 mmol/L Tris緩衝液/30%アセトニトリル/1mol/L NaBrによるグラジエント)あるいは逆相液体クロマトグラフィー（ウォーターズ, X BridgeC18, 5μm, 4.6 mmx250 mm、0.1 mol/L酢酸トリエチルアンモニウム緩衝液, B液:アセトニトリルによるグラジエント)のいずれかの方法で精製

することにより化合物１－１を得た。

[0610] 工程２

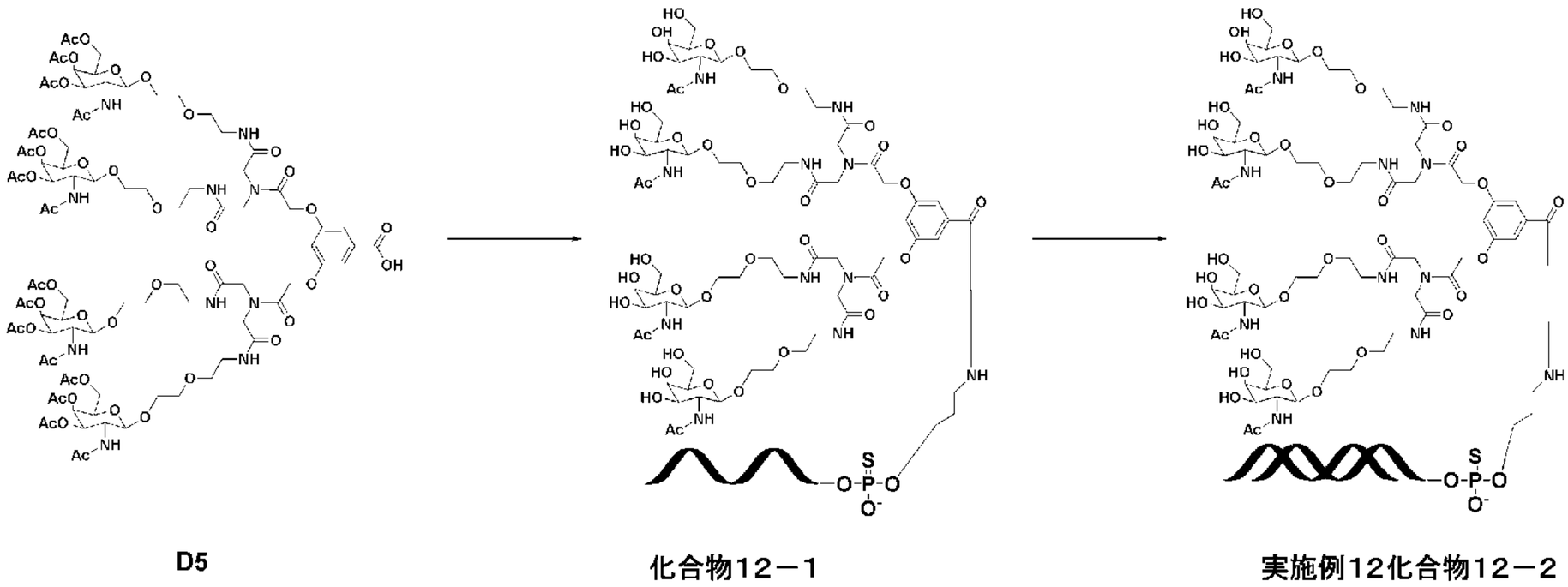
工程１で合成した化合物１－１（3’-CFB-ssRNA）を、混合緩衝液（100 mmol/L酢酸カリウム、30 mmol/L 2-[4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-イル]エタンスルホン酸、HEPES)-KOH(pH 7.4)、2 mmol/L酢酸マグネシウム）にて濃度調整（50 μmol/L）した。前述センス鎖とアンチセンス鎖（50 μmol/L）を各々等量混合し、80 ℃で10分間静置した。アンチセンス鎖配列は、第R-2表に記載されているとおりである。徐々に温度を下げ、37 ℃で1時間静置し、2本鎖の化合物１－２を得た。

[0611] 実施例２～１１：化合物２－１～１１－１および化合物２－２～１１－２の合成

実施例1とは塩基配列の異なるオリゴヌクレオチドを用い、実施例１と同様にして、化合物２－１～１１－１、および化合物２－２～１１－２を合成した。

[0612] 実施例１２：化合物１２－１、および化合物１２－２の合成

[0613] [化175]



[0614] 工程1

参考例化合物Ｄ5を用いて、モレキュールズ(Molecules)、第17巻、13825-13843頁、2012年に記載された方法で合成した末端がアミノ基で修飾されたオリゴヌクレオチドを加えて、バイオコンジュゲートケミストリー，第22巻,1723-1728頁，2011年もしくはバイオコンジュゲートケミストリー，第26巻,145

1-1455頁，2015年に記載の方法にて反応させた。実施例1に記載した方法で精製することにより、化合物12-1を得た。

[0615] 工程２

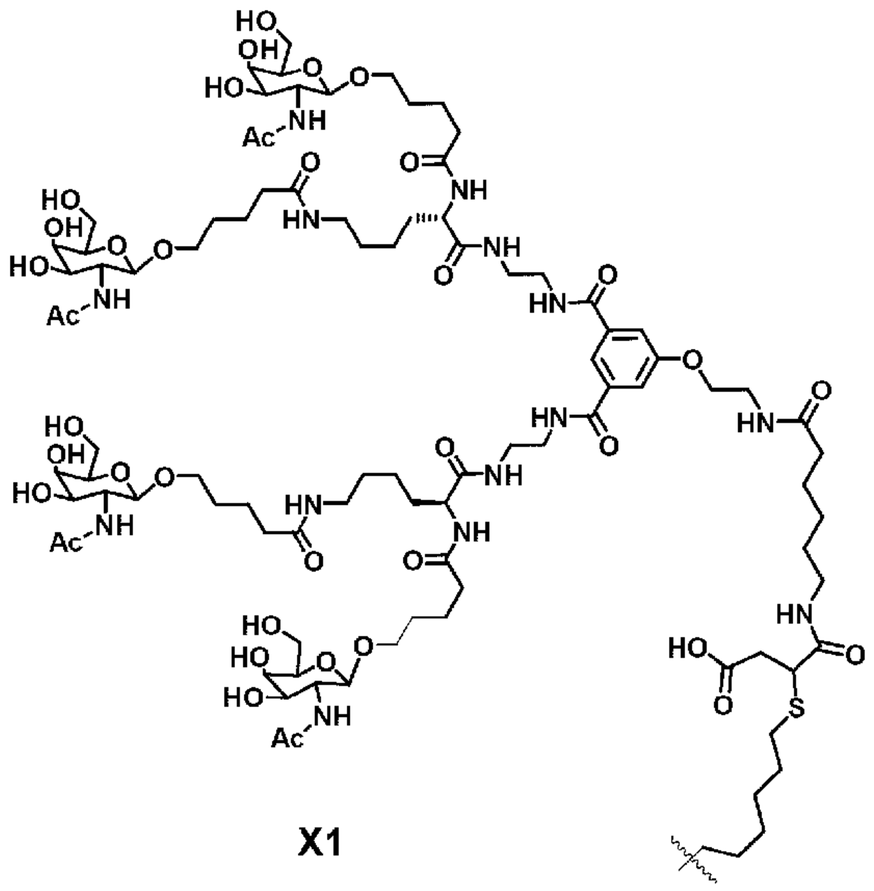
実施例1の工程２と同様の方法にて、化合物12-2を得た。

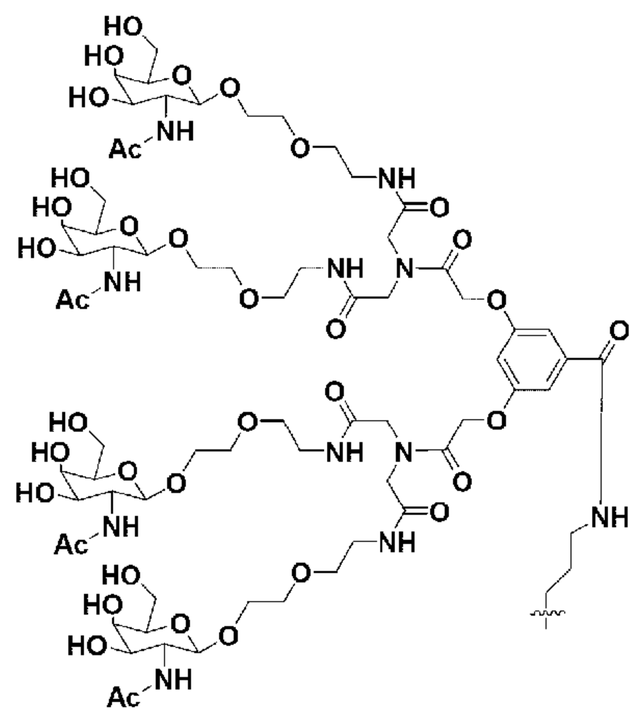
[0616] 実施例１３～１５：化合物１３－１～１５－１、および化合物１３－２～１５－２の合成

実施例1とは塩基配列の異なるオリゴヌクレオチドを用い、実施例１と同様にして、化合物１３－１～１５－１、および化合物13-2～15-2のを合成した。

[0617] 本実施例により合成した化合物のリガンドーリンカー構造を以下に示す。

[0618] [化176]





[0619] 本実施例により合成した核酸複合体の配列（センス鎖）および質量分析結果を第R-1表に示す。なお、第R-1表中、N(M)は2’-O-メチル修飾RNA、N(F)は2’-フッ素修飾RNA、および ^ はホスホロチオエートを示す。

[0620]

[表28]

表R-1

化合物	配列（5'→3'） （センス鎖）	理論値	実測値
1－1	A(F)^A(M)^U(F)G(M)U(F)G(M)A(F)G(M)U(F)G(M)A(F)U(F)G(M)A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)U(M)X1	9121	9120
2－1	C(F)^C(M)^A(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)C(M)G(F)A(M)X1	8999	8997
3－1	U(F)^C(M)^A(F)A(M)G(F)A(M)G(F)G(M)U(F)G(M)G(F)C(F)C(M)G(F)A(M)A(F)G(M)C(F)U(M)U(F)U(M)X1	9135	9134
4－1	A(F)^G(M)^G(F)A(M)G(F)C(M)C(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(F)G(M)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)A(M)G(F)U(M)X1	9166	9165
5－1	G(F)^U(M)^C(F)U(M)C(F)U(M)G(F)A(M)G(F)U(M)C(F)U(F)C(M)U(F)G(M)U(F)G(M)G(F)C(M)A(F)U(M)X1	9026	9027
6－1	C(F)^G(M)^G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)G(F)G(M)U(F)C(F)U(M)A(F)C(M)A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(M)X1	9181	9180
7－1	U(F)^C(M)^G(F)U(M)U(F)U(M)C(F)A(M)U(F)U(M)C(F)A(F)A(M)G(F)U(M)U(F)G(M)G(F)U(M)G(F)U(M)X1	9012	9010
8－1	A(F)^G(M)^A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(M)U(F)U(F)G(M)G(F)G(M)U(F)U(M)U(F)U(M)C(F)U(M)X1	9115	9113
9－1	G(F)^G(M)^A(F)G(M)U(F)A(M)G(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)G(M)C(F)A(M)A(F)A(M)X1	9199	9197
10－1	C(F)^A(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)G(M)U(F)U(M)U(F)U(M)X1	9138	9135
11－1	U(F)^C(M)^G(F)G(M)A(F)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)G(F)U(F)C(M)U(F)A(M)C(F)A(M)U(F)C(M)A(F)A(M)X1	9142	9140
12－1	A(M)^A(M)^U(M)G(M)U(M)G(M)A(F)G(M)U(F)G(M)A(F)U(F)G(M)A(M)G(M)A(M)U(M)C(M)U(M)C(M)U(M)^X2	8815	8815
13－1	G(F)^G(M)^A(F)G(M)U(F)A(M)G(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)G(M)C(F)A(M)A(F)A(M)^X2	8809	8806
14－1	C(F)^A(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)G(M)U(F)U(M)U(F)U(M)^X2	8747	8747
15－1	C(M)^A(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)G(M)U(M)U(M)U(M)U(M)^X2	8784	8783

[0621] 本実施例により合成した核酸複合体の配列をR-2表に示す。なお、第R-2表中、N(M)は2’-O-メチル修飾RNA、N(F)は2’-フッ素修飾RNA、pは5’末端におけるリン酸化、および^はホスホロチオエートを示す。

[0622]

[表29]

表R-2

化合物	上段:センス鎖 下段:アンチセンス鎖	配列(5'→3')
1－2	1－1	A(F)^A(M)^U(F)G(M)U(F)G(M)A(F)G(M)U(F)G(M)A(F)U(F)G(M)A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)U(M)X1
	1as	pA(F)^G(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)C(F)U(M)C(F)A(M)U(M)C(F)A(M)C(F)U(M)C(F)A(M)C(F)A(M)U(F)U(M)^G(F)^U(M)
2－2	2－1	C(F)^C(M)^A(F)A(M)G(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(F)C(M)A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)C(M)G(F)A(M)X1
	2as	pU(F)^C(M)^G(F)U(M)A(F)C(M)A(F)U(M)G(F)A(M)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)G(M)^C(F)^A(M)
3－2	3－1	U(F)^C(M)^A(F)A(M)G(F)A(M)G(F)G(M)U(F)G(M)G(F)C(F)C(M)G(F)A(M)A(F)G(M)C(F)U(M)U(F)U(M)X1
	3as	pA(F)^A(M)^A(F)G(M)C(F)U(M)U(F)C(M)G(F)G(M)C(M)C(F)A(M)C(F)C(M)U(F)C(M)U(F)U(M)G(F)A(M)^G(F)^G(M)
4－2	4－1	A(F)^G(M)^G(F)A(M)G(F)C(M)C(F)A(M)A(F)A(M)A(F)A(F)G(M)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)A(M)G(F)U(M)X1
	4as	pA(F)^C(M)^U(F)A(M)G(F)A(M)C(F)A(M)C(F)U(M)U(M)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)C(M)U(F)C(M)C(F)U(M)^G(F)^U(M)
5－2	5－1	G(F)^U(M)^C(F)U(M)C(F)U(M)G(F)A(M)G(F)U(M)C(F)U(F)C(M)U(F)G(M)U(F)G(M)G(F)C(M)A(F)U(M)X1
	5as	pA(F)^U(M)^G(F)C(M)C(F)A(M)C(F)A(M)G(F)A(M)G(M)A(F)C(M)U(F)C(M)A(F)G(M)A(F)G(M)A(F)C(M)^U(F)^G(M)
6－2	6－1	C(F)^G(M)^G(F)A(M)A(F)G(M)G(F)A(M)G(F)G(M)U(F)C(F)U(M)A(F)C(M)A(F)U(M)C(F)A(M)A(F)G(M)X1
	6as	pC(F)^U(M)^U(F)G(M)A(F)U(M)G(F)U(M)A(F)G(M)A(M)C(F)C(M)U(F)C(M)C(F)U(M)U(F)C(M)C(F)G(M)^A(F)^G(M)
7－2	7－1	U(F)^C(M)^G(F)U(M)U(F)U(M)C(F)A(M)U(F)U(M)C(F)A(F)A(M)G(F)U(M)U(F)G(M)G(F)U(M)G(F)U(M)X1
	7as	pA(F)^C(M)^A(F)C(M)C(F)A(M)A(F)C(M)U(F)U(M)G(M)A(F)A(M)U(F)G(M)A(F)A(M)A(F)C(M)G(F)A(M)^C(F)^U(M)

[0623]

[表30]

表 R-2 の続き

8－2	8－1	A(F)^G(M)^A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(M)U(F)U(F)G(M)G(F)G(M)U(F)U(M)U(F)U(M)C(F)U(M)X1
	8as	pA(F)^G(M)^A(F)A(M)A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)A(M)A(F)U(M)C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)^U(F)^G(M)
9－2	9－1	G(F)^G(M)^A(F)G(M)U(F)A(M)G(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)G(M)C(F)A(M)A(F)A(M)X1
	9as	pU(F)^U(M)^U(F)G(M)C(F)A(M)G(F)A(M)C(F)A(M)U(M)C(F)C(M)A(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)^C(F)^C(M)
10－2	10－1	C(F)^A(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)G(M)U(F)U(M)U(F)U(M)X1
	10as	pA(F)^A(M)^A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)A(F)A(M)U(M)C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)^G(F)^A(M)
11－2	11－1	U(F)^C(M)^G(F)G(M)A(F)A(M)G(F)G(M)A(F)G(M)G(F)U(F)C(M)U(F)A(M)C(F)A(M)U(F)C(M)A(F)A(M)X1
	11as	pU(F)^U(M)^G(F)A(M)U(F)G(M)U(F)A(M)G(F)A(M)C(M)C(F)U(M)C(F)C(M)U(F)U(M)C(F)C(M)G(F)A(M)^G(F)^U(M)
12－2	12－1	A(M)^A(M)^U(M)G(M)U(M)G(M)A(F)G(M)U(F)G(M)A(F)U(F)G(M)A(M)G(M)A(M)U(M)C(M)U(M)C(M)U(M)^X2
	12as	pA(M)^G(F)^A(F)G(F)A(F)U(F)C(F)U(F)C(F)A(M)U(M)C(F)A(M)C(F)U(M)C(F)A(F)C(F)A(F)U(F)U(F)^G(F)^U(M)
13－2	13－1	G(F)^G(M)^A(F)G(M)U(F)A(M)G(F)U(M)G(F)G(M)A(F)U(F)G(M)U(F)C(M)U(F)G(M)C(F)A(M)A(F)A(M)^X2
	13as	pU(F)^U(M)^U(F)G(M)C(F)A(M)G(F)A(M)C(F)A(M)U(M)C(F)C(M)A(F)C(M)U(F)A(M)C(F)U(M)C(F)C(M)^C(F)^C(M)
14－2	14－1	C(F)^A(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)G(M)U(F)U(M)U(F)U(M)^X2
	14as	pA(F)^A(M)^A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)A(F)A(M)U(M)C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)U(F)G(M)^G(F)^A(M)
15－2	15－1	C(M)^A(M)^A(F)G(M)A(F)U(M)G(F)A(M)G(F)G(M)A(F)U(F)U(M)U(F)G(M)G(F)G(M)U(M)U(M)U(M)U(M)^X2
	15as	pA(M)^A(F)^A(F)A(M)C(F)C(M)C(F)A(M)A(F)A(M)U(M)C(F)C(M)U(F)C(M)A(F)U(M)C(F)U(M)U(M)G(M)^G(M)^A(M)

[0624] 参考試験例1: ヒト細胞におけるCFB mRNAのノックダウン活性の測定

96ウェルの培養プレートにヒト肝臓癌由来の細胞株であるHuh7細胞（国立研究開発法人　医薬基盤・健康・栄養研究所　JCRB細胞バンクより入手）を、10,000細胞/80μL/ウェルとなるよう播種した。培地は、10%ウシ胎仔血清(FBS)を含むDMEM培地(ライフテクノロジー社製、カタログ番号08458-16)を用

いた。二本鎖核酸は、表１－１～表１－３に記載のものをジーンデザインにて合成して利用した。具体的には配列番号２～１２４に示すリボヌクレオチドからなるセンス鎖、配列番号１２５～２４７に示すリボヌクレオチドからなるアンチセンス鎖をアニーリングさせた二本鎖核酸で構成される（配列番号ｎ（ｎ＝２～１２４）に示すセンス鎖と配列番号［ｎ＋１２３］に示すアンチセンス鎖とが対をなす）。この表１－１～表１－３に記載の二本鎖核酸とRNAiMaxトランスフェクション試薬(ライフテクノロジー社製、カタログ番号:1401251)をOpti-MEM 培地(ライフテクノロジー社製、カタログ番号11058-021)で希釈して、二本鎖核酸の終濃度が1 nMあるいは0.1 nMとなるように20 μLのsiRNA/RNAiMax混合液を各々96ウェルの培養プレートに添加し、37℃、5 %CO_2条件下で24時間培養した。その後、細胞をPBS (Phosphate buffered saline) で洗浄し、各々のプレートからSuperPrep Cell Lysis & RT Kit for qPCRキット（東洋紡社製、カタログ番号: SCQ-101）を用いて製品に添付された説明書に記載された方法に従いcDNAを合成した。このcDNA 5μLをMicroAmpOptical 96ウェルプレート（アプライドバイオシステムズ社製、カタログ番号4326659）に加え、更に10μLのTaqMan Gene Expression Master Mix（アプライドバイオシステムズ社製、カタログ番号4369016）、3μLのUltraPure Distilled Water（ライフテクノロジーズ社製、カタログ番号:10977-015）、1μLのhumanCFBプローブ、1μLのhumanβ-actinプローブを添加した。QuantStudio™ 12K Flexリアルタイム PCRシステムを用いて、human CFB遺伝子およびhumanβ-actinのリアルタイムPCRをおこなった。β-actinは構成的発現遺伝子であり内部対照として測定し、CFB発現量を補正した。siRNAを添加せずにトランスフェクション試薬だけでHuh7細胞を処理した時のCFB mRNA量を1.0として、各二本鎖核酸を導入した時のCFB mRNA相対発現量を算出した。本実験を複数回おこない、CFB mRNA相対発現量の平均値を表１－１～表１－３に示した。

[0625]

[0626]

[表31]

表1-1

二本鎖核酸番号	配列番号	センス鎖配列 (5'---->3')	配列番号	アンチセンス鎖配列 (5'---->3')	配列番号	標的CFB mRNA配列	相対発現量 1nM	相対発現量 0.1nM
CB0001	配列番号2	GCUCUCUGGAGGGGGUAGAGA	配列番号125	UCUACCCCCUCCAGAGAGCAG	配列番号248	GCUCUCUGGAGGGGGUAGA	0.221	0.597
CB0002	配列番号3	CUCUGGAGGGGGUAGAGAUCA	配列番号126	AUCUCUACCCCCUCCAGAGAG	配列番号249	CUCUGGAGGGGGUAGAGAU	0.169	0.319
CB0003	配列番号4	UGGAGGGGGUAGAGAUCAAAG	配列番号127	UUGAUCUCUACCCCCUCCAGA	配列番号250	UGGAGGGGGUAGAGAUCAA	0.234	0.499
CB0004	配列番号5	GGAGGGGGUAGAGAUCAAAGG	配列番号128	UUUGAUCUCUACCCCCUCCAG	配列番号251	GGAGGGGGUAGAGAUCAAA	0.344	0.499
CB0005	配列番号6	CUCCUUCCGACUUCUCCAAGA	配列番号129	UUGGAGAAGUCGGAAGGAGCC	配列番号252	CUCCUUCCGACUUCUCCAA	0.203	0.364
CB0006	配列番号7	UGUGUCCUUCUGGCUUCUACC	配列番号130	UAGAAGCCAGAAGGACACACG	配列番号253	UGUGUCCUUCUGGCUUCUA	0.334	0.412
CB0007	配列番号8	GGCUUCUACCCGUACCCUGUG	配列番号131	CAGGGUACGGGUAGAAGCCAG	配列番号254	GGCUUCUACCCGUACCCUG	0.150	0.302
CB0008	配列番号9	GCUUCUACCCGUACCCUGUGC	配列番号132	ACAGGGUACGGGUAGAAGCCA	配列番号255	GCUUCUACCCGUACCCUGU	0.137	0.244
CB0009	配列番号10	AGGCAGAGUGCAGAGCAAUCC	配列番号133	AUUGCUCUGCACUCUGCCUUC	配列番号256	AGGCAGAGUGCAGAGCAAU	0.166	0.178
CB0010	配列番号11	CCCCGGUCUCCCUACUACAAU	配列番号134	UGUAGUAGGGAGACCGGGGCC	配列番号257	CCCCGGUCUCCCUACUACA	0.253	0.300
CB0011	配列番号12	CCCGGUCUCCCUACUACAAUG	配列番号135	UUGUAGUAGGGAGACCGGGGC	配列番号258	CCCGGUCUCCCUACUACAA	0.365	0.658
CB0012	配列番号13	UGUGAGUGAUGAGAUCUCUUU	配列番号136	AGAGAUCUCAUCACUCACAUU	配列番号259	UGUGAGUGAUGAGAUCUCU	0.375	0.370
CB0013	配列番号14	GGUUACACUCUCCGGGGCUCU	配列番号137	AGCCCCGGAGAGUGUAACCGU	配列番号260	GGUUACACUCUCCGGGGCU	0.154	0.410
CB0014	配列番号15	CGGGGCUCUGCCAAUCGCACC	配列番号138	UGCGAUUGGCAGAGCCCCGGA	配列番号261	CGGGGCUCUGCCAAUCGCA	0.301	0.704
CB0015	配列番号16	GGGGCUCUGCCAAUCGCACCU	配列番号139	GUGCGAUUGGCAGAGCCCCGG	配列番号262	GGGGCUCUGCCAAUCGCAC	0.237	0.656
CB0016	配列番号17	AAUCGCACCUGCCAAGUGAAU	配列番号140	UCACUUGGCAGGUGCGAUUGG	配列番号263	AAUCGCACCUGCCAAGUGA	0.256	0.511
CB0017	配列番号18	AUCGCACCUGCCAAGUGAAUG	配列番号141	UUCACUUGGCAGGUGCGAUUG	配列番号264	AUCGCACCUGCCAAGUGAA	0.379	0.776
CB0018	配列番号19	CGUGGCUCCCAGCGGCGAACG	配列番号142	UUCGCCGCUGGGAGCCACGCA	配列番号265	CGUGGCUCCCAGCGGCGAA	0.361	0.920
CB0019	配列番号20	GGACGGAGCCUUCCUGCCAAG	配列番号143	UGGCAGGAAGGCUCCGUCCCG	配列番号266	GGACGGAGCCUUCCUGCCA	0.245	0.685
CB0020	配列番号21	GACGGAGCCUUCCUGCCAAGA	配列番号144	UUGGCAGGAAGGCUCCGUCCC	配列番号267	GACGGAGCCUUCCUGCCAA	0.421	0.683
CB0021	配列番号22	GAGCCUUCCUGCCAAGACUCC	配列番号145	AGUCUUGGCAGGAAGGCUCCG	配列番号268	GAGCCUUCCUGCCAAGACU	0.135	0.515
CB0022	配列番号23	CCUUCCUGCCAAGACUCCUUC	配列番号146	AGGAGUCUUGGCAGGAAGGCU	配列番号269	CCUUCCUGCCAAGACUCCU	0.185	0.598
CB0023	配列番号24	CUUCCUGCCAAGACUCCUUCA	配列番号147	AAGGAGUCUUGGCAGGAAGGC	配列番号270	CUUCCUGCCAAGACUCCUU	0.159	0.282
CB0024	配列番号25	UCCUGCCAAGACUCCUUCAUG	配列番号148	UGAAGGAGUCUUGGCAGGAAG	配列番号271	UCCUGCCAAGACUCCUUCA	0.434	0.806
CB0025	配列番号26	CCUGCCAAGACUCCUUCAUGU	配列番号149	AUGAAGGAGUCUUGGCAGGAA	配列番号272	CCUGCCAAGACUCCUUCAU	0.435	0.534
CB0026	配列番号27	UGCCAAGACUCCUUCAUGUAC	配列番号150	ACAUGAAGGAGUCUUGGCAGG	配列番号273	UGCCAAGACUCCUUCAUGU	0.221	0.648
CB0027	配列番号28	GCCAAGACUCCUUCAUGUACG	配列番号151	UACAUGAAGGAGUCUUGGCAG	配列番号274	GCCAAGACUCCUUCAUGUA	0.195	0.313
CB0028	配列番号29	CCAAGACUCCUUCAUGUACGA	配列番号152	GUACAUGAAGGAGUCUUGGCA	配列番号275	CCAAGACUCCUUCAUGUAC	0.370	0.778
CB0029	配列番号30	AAGACUCCUUCAUGUACGACA	配列番号153	UCGUACAUGAAGGAGUCUUGG	配列番号276	AAGACUCCUUCAUGUACGA	0.103	0.227
CB0030	配列番号31	GACUCCUUCAUGUACGACACC	配列番号154	UGUCGUACAUGAAGGAGUCUU	配列番号277	GACUCCUUCAUGUACGACA	0.399	0.661
CB0031	配列番号32	CUUCAUGUACGACACCCCUCA	配列番号155	AGGGGUGUCGUACAUGAAGGA	配列番号278	CUUCAUGUACGACACCCCU	0.308	0.502
CB0032	配列番号33	UGUACGACACCCCUCAAGAGG	配列番号156	UCUUGAGGGGUGUCGUACAUG	配列番号279	UGUACGACACCCCUCAAGA	0.407	0.888
CB0033	配列番号34	CCCCUCAAGAGGUGGCCGAAG	配列番号157	UCGGCCACCUCUUGAGGGGUG	配列番号280	CCCCUCAAGAGGUGGCCGA	0.278	0.339
CB0034	配列番号35	CCUCAAGAGGUGGCCGAAGCU	配列番号158	CUUCGGCCACCUCUUGAGGGG	配列番号281	CCUCAAGAGGUGGCCGAAG	0.462	0.965
CB0035	配列番号36	CUCAAGAGGUGGCCGAAGCUU	配列番号159	GCUUCGGCCACCUCUUGAGGG	配列番号282	CUCAAGAGGUGGCCGAAGC	0.258	0.562
CB0036	配列番号37	CAAGAGGUGGCCGAAGCUUUC	配列番号160	AAGCUUCGGCCACCUCUUGAG	配列番号283	CAAGAGGUGGCCGAAGCUU	0.415	0.686
CB0037	配列番号38	AAGAGGUGGCCGAAGCUUUCC	配列番号161	AAAGCUUCGGCCACCUCUUGA	配列番号284	AAGAGGUGGCCGAAGCUUU	0.165	0.231
CB0038	配列番号39	CUACCUGGUGCUAGAUGGAUC	配列番号162	UCCAUCUAGCACCAGGUAGAU	配列番号285	CUACCUGGUGCUAGAUGGA	0.149	0.358
CB0039	配列番号40	ACCUGGUGCUAGAUGGAUCAG	配列番号163	GAUCCAUCUAGCACCAGGUAG	配列番号286	ACCUGGUGCUAGAUGGAUC	0.440	1.132
CB0040	配列番号41	CCUGGUGCUAGAUGGAUCAGA	配列番号164	UGAUCCAUCUAGCACCAGGUA	配列番号287	CCUGGUGCUAGAUGGAUCA	0.211	0.245
CB0041	配列番号42	CUGGUGCUAGAUGGAUCAGAC	配列番号165	CUGAUCCAUCUAGCACCAGGU	配列番号288	CUGGUGCUAGAUGGAUCAG	0.421	0.838
CB0042	配列番号43	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACA	配列番号166	UCUGAUCCAUCUAGCACCAGG	配列番号289	UGGUGCUAGAUGGAUCAGA	0.313	0.542

[0627]

[表32]

表1-2

二本鎖核酸番号	配列番号	センス鎖配列 (5'--->3')	配列番号	アンチセンス鎖配列 (5'--->3')	配列番号	標的CFB mRNA配列	相対発現量 1nM	相対発現量 0.1nM
CB0043	配列番号44	GGUGCUAGAUGGAUCAGACAG	配列番号167	GUCUGAUCCAUCUAGCACCAG	配列番号290	GGUGCUAGAUGGAUCAGAC	0.138	0.298
CB0044	配列番号45	GUGCUAGAUGGAUCAGACAGC	配列番号168	UGUCUGAUCCAUCUAGCACCA	配列番号291	GUGCUAGAUGGAUCAGACA	0.167	0.308
CB0045	配列番号46	UGCUAGAUGGAUCAGACAGCA	配列番号169	CUGUCUGAUCCAUCUAGCACC	配列番号292	UGCUAGAUGGAUCAGACAG	0.473	0.710
CB0046	配列番号47	CUAGAUGGAUCAGACAGCAUU	配列番号170	UGCUGUCUGAUCCAUCUAGCA	配列番号293	CUAGAUGGAUCAGACAGCA	0.215	0.325
CB0047	配列番号48	GAGCCAAAAAGUGUCUAGUCA	配列番号171	ACUAGACACUUUUUGGCUCCU	配列番号294	GAGCCAAAAAGUGUCUAGU	0.105	0.391
CB0048	配列番号49	AGCCAAAAAGUGUCUAGUCAA	配列番号172	GACUAGACACUUUUUGGCUCC	配列番号295	AGCCAAAAAGUGUCUAGUC	0.146	0.490
CB0049	配列番号50	AAGUGUCUAGUCAACUUAAUU	配列番号173	UUAAGUUGACUAGACACUUUU	配列番号296	AAGUGUCUAGUCAACUUAA	0.131	0.282
CB0050	配列番号51	GUCUAGUCAACUUAAUUGAGA	配列番号174	UCAAUUAAGUUGACUAGACAC	配列番号297	GUCUAGUCAACUUAAUUGA	0.165	0.290
CB0051	配列番号52	AAUUGAGAAGGUGGCAAGUUA	配列番号175	ACUUGCCACCUUCUCAAUUAA	配列番号298	AAUUGAGAAGGUGGCAAGU	0.289	0.501
CB0052	配列番号53	UGAGAAGGUGGCAAGUUAUGG	配列番号176	AUAACUUGCCACCUUCUCAAU	配列番号299	UGAGAAGGUGGCAAGUUAU	0.136	0.218
CB0053	配列番号54	GAGAAGGUGGCAAGUUAUGGU	配列番号177	CAUAACUUGCCACCUUCUCAA	配列番号300	GAGAAGGUGGCAAGUUAUG	0.409	0.744
CB0054	配列番号55	AAAUCAAUUAUGAAGACCACA	配列番号178	UGGUCUUCAUAAUUGAUUUCA	配列番号301	AAAUCAAUUAUGAAGACCA	0.378	1.051
CB0055	配列番号56	UCAAUUAUGAAGACCACAAGU	配列番号179	UUGUGGUCUUCAUAAUUGAUU	配列番号302	UCAAUUAUGAAGACCACAA	0.424	0.834
CB0056	配列番号57	CAAUUAUGAAGACCACAAGUU	配列番号180	CUUGUGGUCUUCAUAAUUGAU	配列番号303	CAAUUAUGAAGACCACAAG	0.344	0.587
CB0057	配列番号58	UAUGAAGACCACAAGUUGAAG	配列番号181	UCAACUUGUGGUCUUCAUAAU	配列番号304	UAUGAAGACCACAAGUUGA	0.208	0.292
CB0058	配列番号59	AUGAAGACCACAAGUUGAAGU	配列番号182	UUCAACUUGUGGUCUUCAUAA	配列番号305	AUGAAGACCACAAGUUGAA	0.120	0.276
CB0059	配列番号60	AGACCACAAGUUGAAGUCAGG	配列番号183	UGACUUCAACUUGUGGUCUUC	配列番号306	AGACCACAAGUUGAAGUCA	0.149	0.426
CB0060	配列番号61	GACCACAAGUUGAAGUCAGGG	配列番号184	CUGACUUCAACUUGUGGUCUU	配列番号307	GACCACAAGUUGAAGUCAG	0.172	0.468
CB0061	配列番号62	CACAAGUUGAAGUCAGGGACU	配列番号185	UCCCUGACUUCAACUUGUGGU	配列番号308	CACAAGUUGAAGUCAGGGA	0.218	0.380
CB0062	配列番号63	AAGUCAGGGACUAACACCAAG	配列番号186	UGGUGUUAGUCCCUGACUUCA	配列番号309	AAGUCAGGGACUAACACCA	0.205	0.387
CB0063	配列番号64	AGUCAGGGACUAACACCAAGA	配列番号187	UUGGUGUUAGUCCCUGACUUC	配列番号310	AGUCAGGGACUAACACCAA	0.214	0.585
CB0064	配列番号65	GUCAGGGACUAACACCAAGAA	配列番号188	CUUGGUGUUAGUCCCUGACUU	配列番号311	GUCAGGGACUAACACCAAG	0.177	0.546
CB0065	配列番号66	UCAGGGACUAACACCAAGAAG	配列番号189	UCUUGGUGUUAGUCCCUGACU	配列番号312	UCAGGGACUAACACCAAGA	0.130	0.294
CB0066	配列番号67	AUUGAUGAGAUCCGGGACUUG	配列番号190	AGUCCCGGAUCUCAUCAAUGA	配列番号313	AUUGAUGAGAUCCGGGACU	0.329	0.676
CB0067	配列番号68	GGAUGUCUAUGUGUUUGGGGU	配列番号191	CCCAAACACAUAGACAUCCAG	配列番号314	GGAUGUCUAUGUGUUUGGG	0.297	0.730
CB0068	配列番号69	AUCAAUGCUUUGGCUUCCAAG	配列番号192	UGGAAGCCAAAGCAUUGAUGU	配列番号315	AUCAAUGCUUUGGCUUCCA	0.271	0.680
CB0069	配列番号70	UCAAUGCUUUGGCUUCCAAGA	配列番号193	UUGGAAGCCAAAGCAUUGAUG	配列番号316	UCAAUGCUUUGGCUUCCAA	0.238	0.936
CB0070	配列番号71	ACAAUGAGCAACAUGUGUUCA	配列番号194	AACACAUGUUGCUCAUUGUCU	配列番号317	ACAAUGAGCAACAUGUGUU	0.130	0.214
CB0071	配列番号72	CAAUGAGCAACAUGUGUUCAA	配列番号195	GAACACAUGUUGCUCAUUGUC	配列番号318	CAAUGAGCAACAUGUGUUC	0.151	0.347
CB0072	配列番号73	AGCAACAUGUGUUCAAAGUCA	配列番号196	ACUUUGAACACAUGUUGCUCA	配列番号319	AGCAACAUGUGUUCAAAGU	0.209	0.380
CB0073	配列番号74	AUGUGUUCAAAGUCAAGGAUA	配列番号197	UCCUUGACUUUGAACACAUGU	配列番号320	AUGUGUUCAAAGUCAAGGA	0.234	0.374
CB0074	配列番号75	UGUGUUCAAAGUCAAGGAUAU	配列番号198	AUCCUUGACUUUGAACACAUG	配列番号321	UGUGUUCAAAGUCAAGGAU	0.208	0.245
CB0075	配列番号76	CAAAGUCAAGGAUAUGGAAAA	配列番号199	UUCCAUAUCCUUGACUUUGAA	配列番号322	CAAAGUCAAGGAUAUGGAA	0.177	0.248
CB0076	配列番号77	UCUCUGAGUCUCUGUGGCAUG	配列番号200	UGCCACAGAGACUCAGAGACU	配列番号323	UCUCUGAGUCUCUGUGGCA	0.112	0.349
CB0077	配列番号78	CUCUGAGUCUCUGUGGCAUGG	配列番号201	AUGCCACAGAGACUCAGAGAC	配列番号324	CUCUGAGUCUCUGUGGCAU	0.141	0.183
CB0078	配列番号79	UCUGUGGCAUGGUUUGGGAAC	配列番号202	UCCCAAACCAUGCCACAGAGA	配列番号325	UCUGUGGCAUGGUUUGGGA	0.428	0.414
CB0079	配列番号80	AAGCAACCAUGGCAGGCCAAG	配列番号203	UGGCCUGCCAUGGUUGCUUGU	配列番号326	AAGCAACCAUGGCAGGCCA	0.377	0.509
CB0080	配列番号81	CAACCAUGGCAGGCCAAGAUC	配列番号204	UCUUGGCCUGCCAUGGUUGCU	配列番号327	CAACCAUGGCAGGCCAAGA	0.345	0.382
CB0081	配列番号82	CCAUGGCAGGCCAAGAUCUCA	配列番号205	AGAUCUUGGCCUGCCAUGGUU	配列番号328	CCAUGGCAGGCCAAGAUCU	0.213	0.311
CB0082	配列番号83	AUGGCAGGCCAAGAUCUCAGU	配列番号206	UGAGAUCUUGGCCUGCCAUGG	配列番号329	AUGGCAGGCCAAGAUCUCA	0.083	0.186
CB0083	配列番号84	GGCAGGCCAAGAUCUCAGUCA	配列番号207	ACUGAGAUCUUGGCCUGCCAU	配列番号330	GGCAGGCCAAGAUCUCAGU	0.318	0.602
CB0084	配列番号85	GCUGUGGUGUCUGAGUACUUU	配列番号208	AGUACUCAGACACCACAGCCC	配列番号331	GCUGUGGUGUCUGAGUACU	0.079	0.220
CB0085	配列番号86	GCGGGACCUGGAGAUAGAAGU	配列番号209	UUCUAUCUCCAGGUCCCGCUU	配列番号332	GCGGGACCUGGAGAUAGAA	0.301	0.649

[表33]

表1-3

二本鎖核酸番号	配列番号	センス鎖配列 (5'---->3')	配列番号	標的CFB mRNA配列	配列番号	アンチセンス鎖配列 (5'---->3')	配列番号	相対発現量 1nM	相対発現量 0.1nM
CB0086	配列番号87	GAAGCAGGAAUUCCUGAAUUU	配列番号210	GAAGCAGGAAUUCCUGAAU	配列番号333	AUUCAGGAAUUCCUGCUUCUU	配列番号333	0.114	0.265
CB0087	配列番号88	AUUCCUGAAUUUUAUGACUAU	配列番号211	AUUCCUGAAUUUUAUGACU	配列番号334	AGUCAUAAAAUUCAGGAAUUC	配列番号334	0.307	0.503
CB0088	配列番号89	GCCCUGAUCAAGCUCAAGAAU	配列番号212	GCCCUGAUCAAGCUCAAGA	配列番号335	UCUUGAGCUUGAUCAGGGCAA	配列番号335	0.377	0.300
CB0089	配列番号90	GGCCCAUUUGUCUCCCCUGCA	配列番号213	GGCCCAUUUGUCUCCCCUG	配列番号336	CAGGGGAGACAAAUGGGCCUG	配列番号336	0.229	0.430
CB0090	配列番号91	CGGAAGGAGGUCUACAUCAAG	配列番号214	CGGAAGGAGGUCUACAUCA	配列番号337	UGAUGUAGACCUCCUUCCGAG	配列番号337	0.224	0.704
CB0091	配列番号92	GGAAGGAGGUCUACAUCAAGA	配列番号215	GGAAGGAGGUCUACAUCAA	配列番号338	UUGAUGUAGACCUCCUUCCGA	配列番号338	0.091	0.178
CB0092	配列番号93	GAAGGAGGUCUACAUCAAGAA	配列番号216	GAAGGAGGUCUACAUCAAG	配列番号339	CUUGAUGUAGACCUCCUUCCG	配列番号339	0.108	0.171
CB0093	配列番号94	AAGGAGGUCUACAUCAAGAAU	配列番号217	AAGGAGGUCUACAUCAAGA	配列番号340	UCUUGAUGUAGACCUCCUUCC	配列番号340	0.269	0.537
CB0094	配列番号95	AGGAGGUCUACAUCAAGAAUG	配列番号218	AGGAGGUCUACAUCAAGAA	配列番号341	UUCUUGAUGUAGACCUCCUUC	配列番号341	0.148	0.316
CB0095	配列番号96	GGAGGUCUACAUCAAGAAUGG	配列番号219	GGAGGUCUACAUCAAGAAU	配列番号342	AUUCUUGAUGUAGACCUCCUU	配列番号342	0.359	0.571
CB0096	配列番号97	ACAUCAAGAAUGGGGAUAAGA	配列番号220	ACAUCAAGAAUGGGGAUAAG	配列番号343	UUAUCCCCAUUCUUGAUGUAG	配列番号343	0.185	1.956
CB0097	配列番号98	CAUCAAGAAUGGGGAUAAGAA	配列番号221	CAUCAAGAAUGGGGAUAAGA	配列番号344	CUUAUCCCCAUUCUUGAUGUA	配列番号344	0.168	0.435
CB0098	配列番号99	AUCAAGAAUGGGGAUAAGAAA	配列番号222	AUCAAGAAUGGGGAUAAGAA	配列番号345	UCUUAUCCCCAUUCUUGAUGU	配列番号345	0.230	0.289
CB0099	配列番号100	UCAAGAAUGGGGAUAAGAAAG	配列番号223	UCAAGAAUGGGGAUAAGAAA	配列番号346	UUCUUAUCCCCAUUCUUGAUG	配列番号346	0.243	0.724
CB0100	配列番号101	CAAGAAUGGGGAUAAGAAAGG	配列番号224	CAAGAAUGGGGAUAAGAAA	配列番号347	UUUCUUAUCCCCAUUCUUGAU	配列番号347	0.290	0.661
CB0101	配列番号102	AGCUGUGAGAGAUGCUCAAGC	配列番号225	AGCUGUGAGAGAUGCUCAA	配列番号348	GAGCAUCUCUCUCACAGCUGC	配列番号348	0.310	0.336
CB0102	配列番号103	UGUGAGAGAUGCUCAAUAUG	配列番号226	UGUGAGAGAUGCUCAAUAU	配列番号349	AUUGAGCAUCUCUCUCACAGC	配列番号349	0.276	0.352
CB0103	配列番号104	GUCCCUAUGCUGACCCCAAUA	配列番号227	GUCCCUAUGCUGACCCCAAU	配列番号350	UUGGGGUCAGCAUAGGGACUC	配列番号350	0.374	0.430
CB0104	配列番号105	UCCCUAUGCUGACCCCAAUAC	配列番号228	UCCCUAUGCUGACCCCAAUA	配列番号351	AUUGGGGUCAGCAUAGGGACU	配列番号351	0.255	0.272
CB0105	配列番号106	CCCUAUGCUGACCCCAAUACU	配列番号229	CCCUAUGCUGACCCCAAUAC	配列番号352	UAUUGGGGUCAGCAUAGGGAC	配列番号352	0.170	0.329
CB0106	配列番号107	CCCUUGAUAGUUCACAAGAGA	配列番号230	CCCUUGAUAGUUCACAAGA	配列番号353	UCUUGUGAACUAUCAAGGGGC	配列番号353	0.265	0.331
CB0107	配列番号108	UAGUUCACAAGAGAAGUCGUU	配列番号231	UAGUUCACAAGAGAAGUCG	配列番号354	CGACUUCUCUUGUGAACUAUC	配列番号354	0.435	0.817
CB0108	配列番号109	GUUUCAUUCAAGUUGGUGUAA	配列番号232	GUUUCAUUCAAGUUGGUGU	配列番号355	ACACCAACUUGAAUGAAACGA	配列番号355	0.130	0.268
CB0109	配列番号110	CAGCUGGGGAGUAGUGGAUGU	配列番号233	CAGCUGGGGAGUAGUGGAU	配列番号356	AUCCACUACUCCCCAGCUGAU	配列番号356	0.449	0.940
CB0110	配列番号111	GCUGGGGAGUAGUGGAUGUCU	配列番号234	GCUGGGGAGUAGUGGAUGU	配列番号357	ACAUCCACUACUCCCCAGCUG	配列番号357	0.389	1.004
CB0111	配列番号112	CUGGGGAGUAGUGGAUGUCUG	配列番号235	CUGGGGAGUAGUGGAUGUC	配列番号358	GACAUCCACUACUCCCCAGCU	配列番号358	0.362	0.400
CB0112	配列番号113	UGGGGAGUAGUGGAUGUCUGC	配列番号236	UGGGGAGUAGUGGAUGUCU	配列番号359	AGACAUCCACUACUCCCCAGC	配列番号359	0.398	0.637
CB0113	配列番号114	GGGGAGUAGUGGAUGUCUGCA	配列番号237	GGGGAGUAGUGGAUGUCUG	配列番号360	CAGACAUCCACUACUCCCCAG	配列番号360	0.088	0.278
CB0114	配列番号115	GGGAGUAGUGGAUGUCUGCAA	配列番号238	GGGAGUAGUGGAUGUCUGC	配列番号361	GCAGACAUCCACUACUCCCCA	配列番号361	0.099	0.251
CB0115	配列番号116	GGAGUAGUGGAUGUCUGCAAA	配列番号239	GGAGUAGUGGAUGUCUGCA	配列番号362	UGCAGACAUCCACUACUCCCC	配列番号362	0.157	0.148
CB0116	配列番号117	GAGUAGUGGAUGUCUGCAAAA	配列番号240	GAGUAGUGGAUGUCUGCAA	配列番号363	UUGCAGACAUCCACUACUCCC	配列番号363	0.146	0.178
CB0117	配列番号118	AGUAGUGGAUGUCUGCAAAAA	配列番号241	AGUAGUGGAUGUCUGCAAA	配列番号364	UUUGCAGACAUCCACUACUCC	配列番号364	0.155	0.305
CB0118	配列番号119	CUGCCCUGGCUGAAGGAGAAA	配列番号242	CUGCCCUGGCUGAAGGAGA	配列番号365	UCUCCUUCAGCCAGGGCAGCA	配列番号365	0.294	0.434
CB0119	配列番号120	UGCCCUGGCUGAAGGAGAAAC	配列番号243	UGCCCUGGCUGAAGGAGAA	配列番号366	UUCUCCUUCAGCCAGGGCAGC	配列番号366	0.201	0.380
CB0120	配列番号121	AAGAUGAGGAUUUGGGUUUUC	配列番号244	AAGAUGAGGAUUUGGGUUU	配列番号367	AAACCCAAAUGCUCAUCUUGG	配列番号367	0.173	0.411
CB0121	配列番号122	AGAUGAGGAUUUGGGUUUUCU	配列番号245	AGAUGAGGAUUUGGGUUUU	配列番号368	AAAACCCAAAUCCUCAUCUUG	配列番号368	0.092	0.228
CB0122	配列番号123	GAUGAGGAUUUGGGUUUUCUA	配列番号246	GAUGAGGAUUUGGGUUUUC	配列番号369	GAAAACCCAAAUCCUCAUCUU	配列番号369	0.294	0.502
CB0123	配列番号124	AUGAGGAUUUGGGUUUUCUAU	配列番号247	AUGAGGAUUUGGGUUUUCU	配列番号370	AGAAAACCCAAAUCCUCAUCU	配列番号370	0.106	0.187

[0628] 実施例1～10、および12～15で得られた各核酸複合体について、ヒト初代肝細胞におけるin vitroノックダウン活性を測定した。最終濃度が10または30 nmol/Lとなるように、オプティメム (Opti-MEM)(サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号31985)で希釈した各核酸複合体を、96ウェルの培養プレートに、20 μLずつ分注した後、プレーティングメディウム

(バイオプレディックインターナショナル社製、カタログ番号 LV0304-2)に懸濁させたヒト初代肝細胞(バイオプレディックインターナショナル社製、カタログ番号HEP187)を、細胞数10000 cells/80μL/ウェルとなるように播種し、37℃、5%CO_2条件下で6時間培養したのちに、培養上清を注意深く除去し、インキュベーションメディウム（バイオプレディックインターナショナル社製、カタログ番号LV0304-2)を添加して、各核酸複合体をヒト初代肝細胞に供した。また陰性対照の群として何も処理しない細胞を播種した。各核酸複合体を添加した細胞を37℃の5% CO_2インキュベーター内で18時間培養し、氷冷したリン酸緩衝化生理食塩水(DPBS)(ナカライテスク社製)で洗浄し、スーパープレップセルリシスアンドアールティーキットフォーキューピーシーアール(東洋紡社製、カタログ番号 SCQ-201)を用いて、製品に添付された説明書に記載された方法に従い、全RNAの回収と、得られた全RNAを鋳型とする逆転写反応によるcDNAの作製を行った。得られたcDNAを鋳型とし、タックマン（登録商標）ジーンエクスプレッションアッセイズプローブ（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)をプローブとして、クオントスタジオ12ケーフレックスリアルタイムピーシーアールシステム（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)を用い、添付された使用説明書に記載された方法に従ってPCR反応させることにより、CFB遺伝子および構成的発現遺伝子であるグリセルアルデヒド3-リン酸脱水素酵素（D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase、以下gapdhと表す)遺伝子をPCR反応させてmRNA増幅量をそれぞれ測定し、gapdhのmRNA増幅量を内部対照として、CFBのmRNAの準定量値を算出した。同様に測定した陰性対照におけるCFBのmRNAの準定量値を1として、CFBのmRNAの準定量値から、CFBのmRNAの発現率を求めた。得られたCFBのmRNAの発現率の結果を表S1に示す。

表S1から明らかなように、各核酸複合体は、ヒト初代肝細胞に添加後のCFB遺伝子のmRNAの発現を抑制した。

[0629]

[表34]

表S1： CFB mRNA 発現率

化合物番号	30 nmol/L	10nmol/L
1-2	0.121	0.195
2-2	0.283	0.419
3-2	0.480	0.613
4-2	0.482	0.542
5-2	0.399	0.574
6-2	0.480	0.652
7-2	0.182	0.245
8-2	0.285	0.330
9-2	0.173	0.288
10-2	0.183	0.302
12-2	0.084	0.141
13-2	0.445	0.500
14-2	0.371	0.441
15-2	0.139	0.229

[0630] 試験例2　核酸複合体のマウス初代肝細胞に対するin vitroノックダウン試験

実施例10、11、14、および15で得られた各核酸複合体について、マウス初代肝細胞におけるin vitroノックダウン活性を測定した。最終濃度が30, 10, 3または1 nmol/Lとなるように、オプティメム (Opti-MEM)(サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号 31985)で希釈した各核酸複合体を、96ウェルの培養プレートに、20μLずつ分注した後、プライマリヘパトサイトゾウイングアンドプレーティングサプリメント (Primary Hepatocyte Thawing and Plating Supplements) (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号CM3000)を含むウィリアムズイーメディウム (William's E Medium) (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号A12176-01)に懸濁させたシーディーワン(CD-1)由来マウス初代肝細胞(サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号MSCP10)を、細胞数10000cells/80μL/ウェルとなるように播種し、37℃、5%CO_2条件下で6時間

培養したのちに、培養上清を注意深く除去し、プライマリヘパトサイトメンテナンスサプリメント （Primary Hepatocyte Maintenance Supplements）（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号 CM4000)を含むウィリアムズイーメディウムを添加して、各核酸複合体をマウス初代肝細胞に供した。また陰性対照の群として何も処理しない細胞を播種した。各核酸複合体を添加した細胞を37℃の5%CO_2インキュベーター内で18時間培養し、氷冷したリン酸緩衝化生理食塩水(DPBS)(ナカライテスク社製)で洗浄し、スーパープレップセルリシスアンドアールティーキットフォーキューピーシーアール(東洋紡社製、カタログ番号 SCQ-201)を用いて、製品に添付された説明書に記載された方法に従い、全RNAの回収と、得られた全RNAを鋳型とする逆転写反応によるcDNAの作製を行った。得られたcDNAを鋳型とし、タックマン（登録商標)ジーンエクスプレッションアッセイズプローブ（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)をプローブとして 、クオントスタジオ12ケーフレックスリアルタイムピーシーアールシステム（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)を用い、添付された使用説明書に記載された方法に従ってPCR反応させることにより、CFB遺伝子および構成的発現遺伝子であるグリセルアルデヒド3-リン酸脱水素酵素（D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase、以下gapdhと表す)遺伝子をPCR反応させてmRNA増幅量をそれぞれ測定し、gapdhのmRNA増幅量を内部対照として、CFBのmRNAの準定量値を算出した。同様に測定した陰性対照におけるCFBのmRNAの準定量値を1として、CFBのmRNAの準定量値から、CFBのmRNAの発現率を求めた。得られたCFBのmRNAの発現率を表S2に示す。

[0631] [表35]

表S2： CFB mRNA発現率

化合物番号	30 nmol/L	10 nmol/L	3 nmol/L	1 nmol/L
10-2	0.087	0.263	0.795	0.928
11-2	0.315	0.526	0.945	0.977
14-2	0.101	0.182	0.338	0.608
15-2	0.020	0.036	0.104	0.306

[0632] 表S2から明らかなように、各核酸複合体は、マウス初代肝細胞に添加後のC

FB遺伝子のmRNAの発現を抑制した。

[0633] 試験例3　核酸複合体のマウスにおけるin vivoノックダウン試験

表S3の各核酸複合体について、それぞれ以下の方法によりマウスin vivoノックダウン試験を実施した。なお、各核酸複合体は、試験に合わせてリン酸緩衝化生理食塩水(DPBS)(ナカライテスク社製)で希釈して用いた。マウス（BALB/cA、日本クレアより入手)を馴化飼育後、各核酸複合体を30mg/kg、10 mg/kg、3mg/kgまたは0.3mg/kgずつマウスに皮下注投与した。また、コントロール群としてはDPBSのみをマウスに皮下注投与した。投与から3日後に安楽死させ、肝臓を採取し液体窒素で凍結保存した。肝臓凍結サンプルをトリゾール(登録商標)アールエヌエーアイソレーションリージェンツ（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号15596026)およびマグナピュア96（MagNA Pure 96)（ロシュ・ライフサイエンス社製)を用い、製品に添付された説明書に記載された方法に従い、全RNAの回収を行った。さらにトランスクリプターファーストストランドシーディーエヌエーシンセシスキット（ロシュ・ライフサイエンス社製、カタログ番号 04897030001)を用いて、製品に添付された説明書に記載された方法に従い、得られた全RNAを鋳型とする逆転写反応によるcDNAの作製を行った。得られたcDNAを鋳型とし、タックマン(登録商標)ジーンエクスプレッションアッセイズプローブ（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)をプローブとして、クオントスタジオ12ケーフレックスリアルタイムピーシーアールシステム(サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)を用い、添付された使用説明書に記載された方法に従ってPCR反応させることにより、CFB遺伝子およびgapdh遺伝子をPCR反応させてmRNA増幅量をそれぞれ測定し、gapdhのmRNA増幅量を内部対照として、CFBのmRNAの準定量値を算出した。同様に測定したPBS投与群におけるCFBのmRNAの準定量値を1として、CFBのmRNAの発現率を求めた。得られたCFBのmRNAの発現率を表S3に示す。

[0634]

[表36]

表 S3： CFB mRNA 発現率 (対 PBS 投与群)

化合物番号	10 mg/kg	3 mg/kg	1 mg/kg	0.3 mg/kg
10-2	0.177	0.432	0.673	N.T.
11-2	0.363	0.432	0.694	N.T.
14-2	N.T.	0.420	0.652	0.933
15-2	N.T.	0.067	0.265	0.549

[0635] 表中、N.T.は評価しなかったことを表す。

[0636] 表S3から明らかなように、本発明の核酸複合体をマウスに投与して、肝臓中のCFB遺伝子の発現を低下させることが明らかになった。

[0637] 試験例4 核酸複合体のラット初代肝細胞に対するin vitroノックダウン試験

表S4に示した各核酸複合体について、ラット初代肝細胞におけるin vitroノックダウン活性を測定した。

最終濃度が30, 10, 3または1 nmol/Lとなるように、オプティメム(Opti-MEM)(サーモフィッシャーサイエンティフィック社、カタログ番号 31985)で希釈した各核酸複合体を、96ウェルの培養プレートに20μLずつ分注した後、プライマリヘパトサイトゾウイングアンドプレーティングサプリメント (Primary Hepatocyte Thawing and Plating Suppl ements) (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号 CM3000)を含むウィリアムズイーメディウム (William’s E Medium) (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号 A12176-01)に懸濁させたラット初代肝細胞(サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号：RTCP10)を、細胞数10000 cells/80μL/ ウェルとなるように播種し、37℃、5%CO_2条件下で6時間培養したのちに、培養上清を注意深く除去し、プライマリヘパトサイトメンテナンスサプリメント (Primary Hepatocyte Maintenance Supplements) (サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号 CM4000)を含むウィリアムズイーメディウムを添加して、各核酸複合体をラット初代肝細胞に供した。また陰性対照の群として何も処理しない細胞を播種した。各核酸複合体を添加した細胞を37℃の5%CO_2インキュベーター内で18時間培養し、氷冷したリン酸緩衝化生理食塩水(DPBS)(ナカライテスク社製)で洗浄し、スー

パープレップセルリシスアンドアールティーキットフォーキューピーシーアール(東洋紡社製、カタログ番号 SCQ-201)を用いて、製品に添付された説明書に記載された方法に従い、全RNAの回収と、得られた全RNAを鋳型とする逆転写反応によるcDNAの作製を行った。得られたcDNAを鋳型とし、タックマン(登録商標)ジーンエクスプレッションアッセイズプローブ（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)をプローブとして、クオントスタジオ12ケーフレックスリアルタイムピーシーアールシステム（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)を用い、添付された使用説明書に記載された方法に従ってPCR反応させることにより、CFB遺伝子および構成的発現遺伝子であるグリセルアルデヒド3-リン酸脱水素酵素（D-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase、以下gapdhと表す)遺伝子をPCR反応させてmRNA増幅量をそれぞれ測定し、gapdhのmRNA増幅量を内部対照として、CFBのmRNAの準定量値を算出した。同様に測定した陰性対照におけるCFBのmRNAの準定量値を1として、CFBのmRNAの発現率を求めた。得られたCFBのmRNAの発現率の結果を表S4に示す。

表S4から明らかなように、各核酸複合体は、ラット初代肝細胞に添加後のCFB遺伝子のmRNAの発現を抑制した。

[0638] [表37]

表 S4： CFB mRNA 発現率

化合物番号	30 nmol/L	10 nmol/L	3 nmol/L	1 nmol/L
9-2	0.00627	0.00920	0.0783	0.245
11-2	0.236	0.337	0.702	0.800
13-2	0.012	0.011	0.023	0.077

[0639] 試験例5　核酸複合体のラットにおけるin vivo活性

表S5の各核酸複合体について、それぞれ以下の方法によりラットin vivoノックダウン試験を実施した。なお、各核酸複合体は、試験に合わせてリン酸緩衝化生理食塩水（DPBS)(ナカライテスク社製)で希釈して用いた。ラット（WKY、日本チャールズリバーより入手)を馴化飼育後、各核酸複合体を10 mg/kgずつラットに皮下注投与した。また、コントロール群としてはDPBSのみをラットに皮下注投与した。投与から3日後に安楽死させ、肝臓を採取し液体窒素で凍結保存した。肝臓凍結サンプルをトリゾール(登録商標)アールエヌエー

アイソレーションリージェンツ（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製、カタログ番号15596026)およびマグナピュア96（MagNA Pure 96）（ロシュ・ライフサイエンス社製)を用い、製品に添付された説明書に記載された方法に従い、全RNAの回収を行った。さらにトランスクリプターファーストストランドシーディーエヌエーシンセシスキット（ロシュ・ライフサイエンス社製、カタログ番号04897030001)を用いて、製品に添付された説明書に記載された方法に従い、得られた全RNAを鋳型とする逆転写反応によるcDNAの作製を行った。得られたcDNAを鋳型とし、タックマン(登録商標)ジーンエクスプレッションアッセイズプローブ（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)をプローブとして、クオントスタジオ12ケーフレックスリアルタイムピーシーアールシステム（サーモフィッシャーサイエンティフィック社製)を用い、添付された使用説明書に記載された方法に従ってPCR反応させることにより、CFB遺伝子およびgapdh遺伝子をPCR反応させてmRNA増幅量をそれぞれ測定し、CFBのmRNA増幅量を内部対照として、CFBのmRNAの準定量値を算出した。同様に測定したPBS投与群におけるCFBのmRNAの準定量値を1として、CFBのmRNAの準定量値から、CFBのmRNAの発現率を求めた。得られたCFBのmRNAの発現率を表S5に示す。

[0640] [表38]

表 S5： CFB mRNA 発現率

化合物番号	10 mg/kg
9-2	0.071
11-2	0.361

[0641] 表S5から明らかなように、本発明の核酸複合体をラットに投与して、肝臓中のCFB遺伝子の発現を低下させることが明らかになった。

産業上の利用可能性

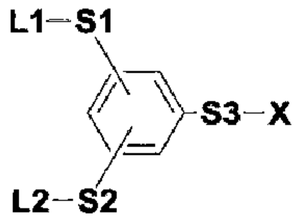
[0642] 本発明の核酸複合体は、哺乳動物に投与して、生体内において、CFB関連疾患を治療するために用いることができる。

請求の範囲

[請求項1] 下記式１で表される核酸複合体。

式１：

[化1]



（式１中、

Ｘは、センス鎖およびアンチセンス鎖からなり、少なくとも11個の塩基対の二重鎖領域を含む二本鎖核酸であり、

該二本鎖核酸は、該アンチセンス鎖中の、17個～30個のヌクレオチドの鎖長のオリゴヌクレオチド鎖において、表1-1～表1-3に記載された標的CFB mRNA配列のいずれかと相補的であり、

該センス鎖の3’末端または5’末端はＳ３に結合し、

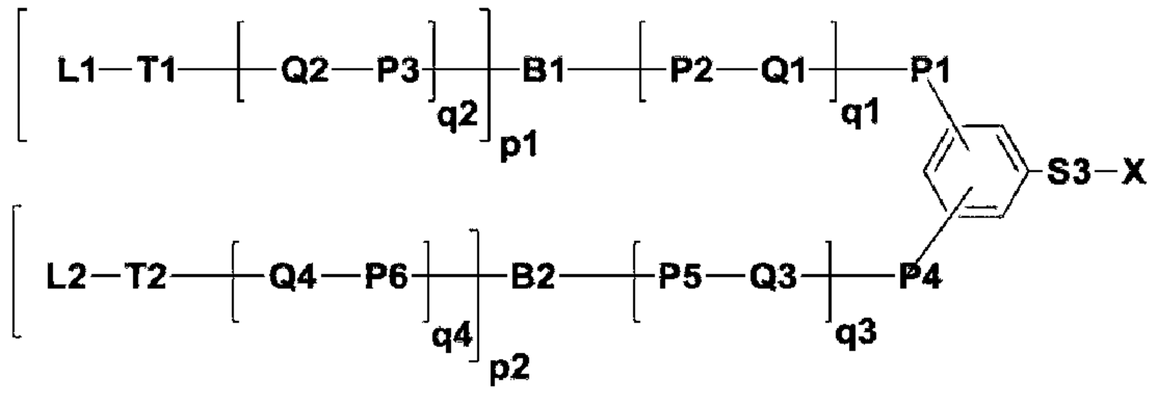
Ｌ１およびＬ２は、それぞれ独立して、糖リガンドであり、

Ｓ１、Ｓ２およびＳ３は、それぞれ独立して、リンカーである。）

[請求項2] 下記式２で表される構造を有する、請求項１に記載の核酸複合体。

式２：

[化2]



（式２中、

Ｘ、Ｌ１、Ｌ２およびＳ３は、それぞれ前記と同義であり、

Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３、Ｐ４、Ｐ５およびＰ６、ならびにＴ１およびＴ２は、それぞれ独立して、存在しないか、または、－ＣＯ－、－ＮＨ－、－Ｏ－、－Ｓ－、－Ｏ－ＣＯ－、－Ｓ－ＣＯ－、－ＮＨ－ＣＯ－

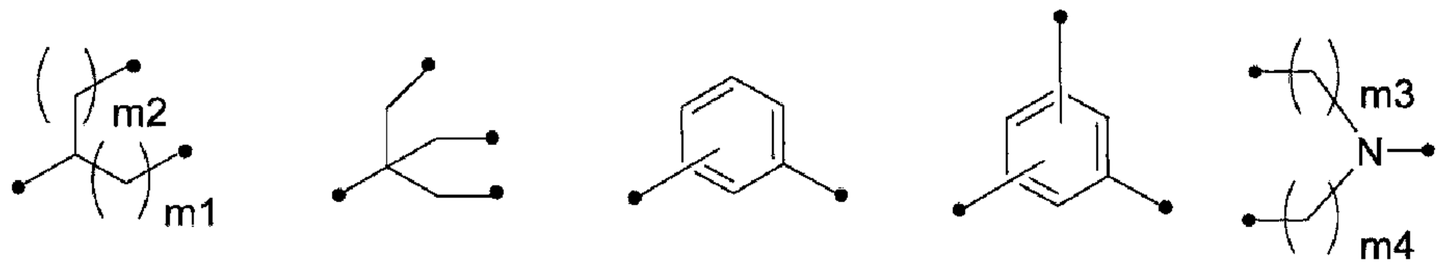
、－ＣＯ－Ｏ－、－ＣＯ－Ｓ－もしくは－ＣＯ－ＮＨ－であり、

Ｑ１、Ｑ２、Ｑ３およびＱ４は、それぞれ独立して、存在しないか、または、置換もしくは無置換の炭素数１～１２のアルキレンまたは－（CH_2CH_2O）$_n$－CH_2CH_2－であり、ｎは０～９９の整数であり、

Ｂ１およびＢ２は、それぞれ独立して、結合手であるか、または、下記式２－１で表されるいずれかの構造であり、各構造における末端の黒丸点は、それぞれ、Ｐ２またはＰ３あるいはＰ５またはＰ６との結合点であり、ｍ１、ｍ２、ｍ３およびｍ４は、それぞれ独立して、０～１０の整数であり、

式２－１：

[化3]



ｐ１およびｐ２は、それぞれ独立して、１、２または３の整数であり、

ｑ１、ｑ２、ｑ３およびｑ４は、それぞれ独立して、０～１０の整数であり、

ただし、ｐ１およびｐ２がそれぞれ２または３の整数であるとき、それぞれのＰ３およびＰ６、Ｑ２およびＱ４、Ｔ１およびＴ２ならびにＬ１およびＬ２は、同一または異なっていてもよく、ｑ１～ｑ４が２～１０のとき、それぞれの－［Ｐ２－Ｑ１］－，－［Ｑ２－Ｐ３］－，－［Ｐ５－Ｑ３］－，－［Ｑ４－Ｐ６］－の組み合わせは同一または異なっていてもよい。）

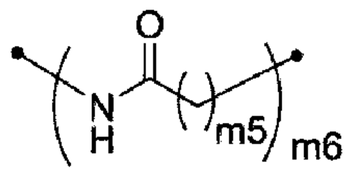
[請求項3] Ｐ１およびＰ４が、それぞれ独立して、－ＣＯ－ＮＨ－、－ＮＨ－ＣＯ－または－Ｏ－である請求項２に記載の核酸複合体。

[請求項4] －［Ｐ２－Ｑ１］$_{q1}$－および－［Ｐ５－Ｑ３］$_{q3}$－がそれぞれ独立し

て、存在しないか、または下記式３－１～式３－３で表されるいずれかの構造である、請求項２または３に記載の核酸複合体。

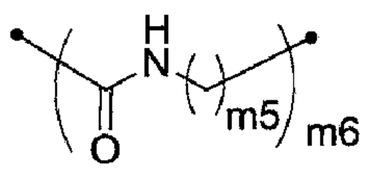
式３－１：

[化4]



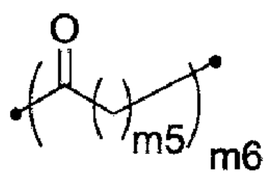
式３－２：

[化5]



式３－３：

[化6]



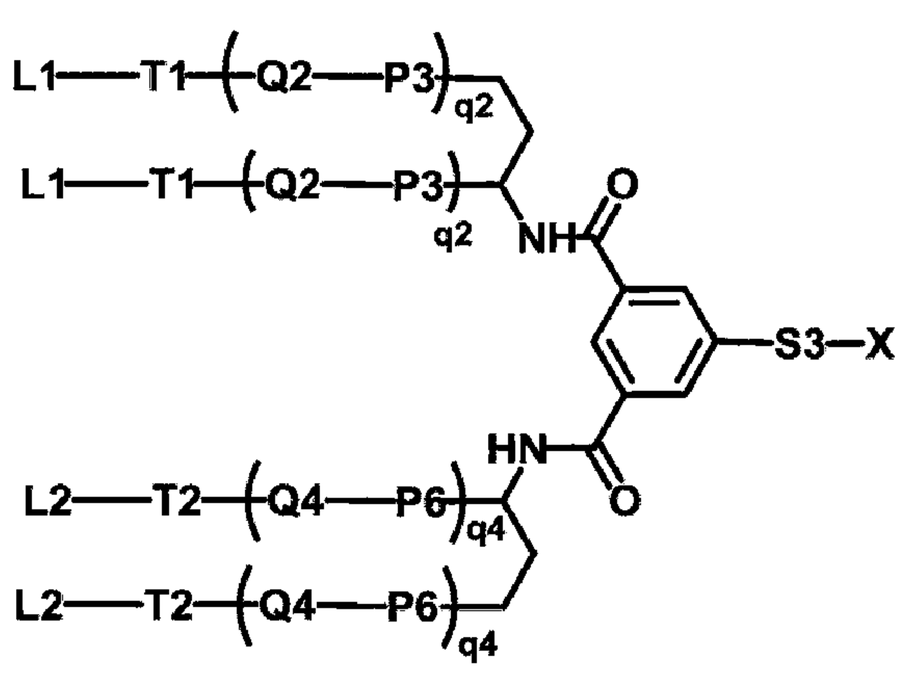
（式３－１～式３－３中、

ｍ５およびｍ６は、それぞれ独立して、０～１０の整数であり、式３－１～式３－３の構造における末端の黒丸点は、それぞれ、Ｂ１またはＢ２あるいはＰ１またはＰ４との結合点である。）

[請求項5] 下記式４－１～式４－９で表されるいずれかの構造を有する、請求項２～４のいずれか１項に記載の核酸複合体。

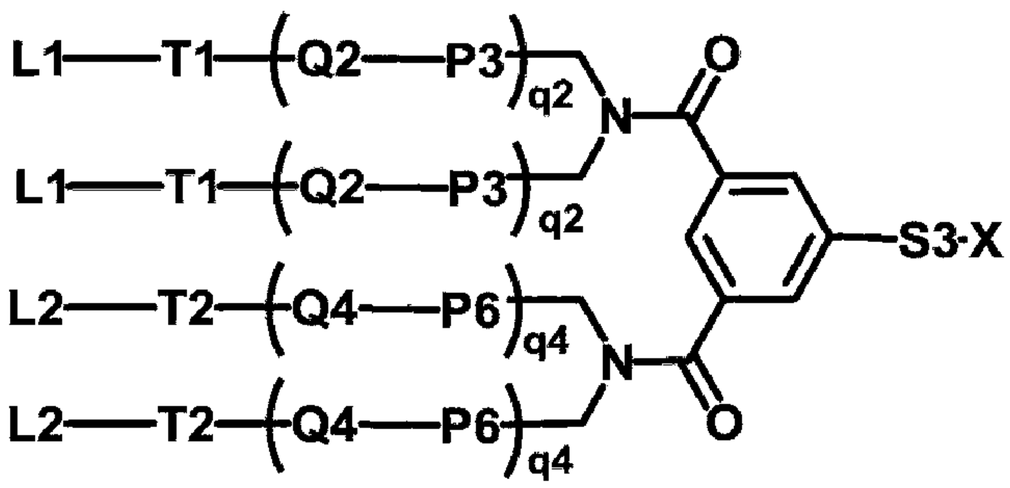
式４－１：

[化7]



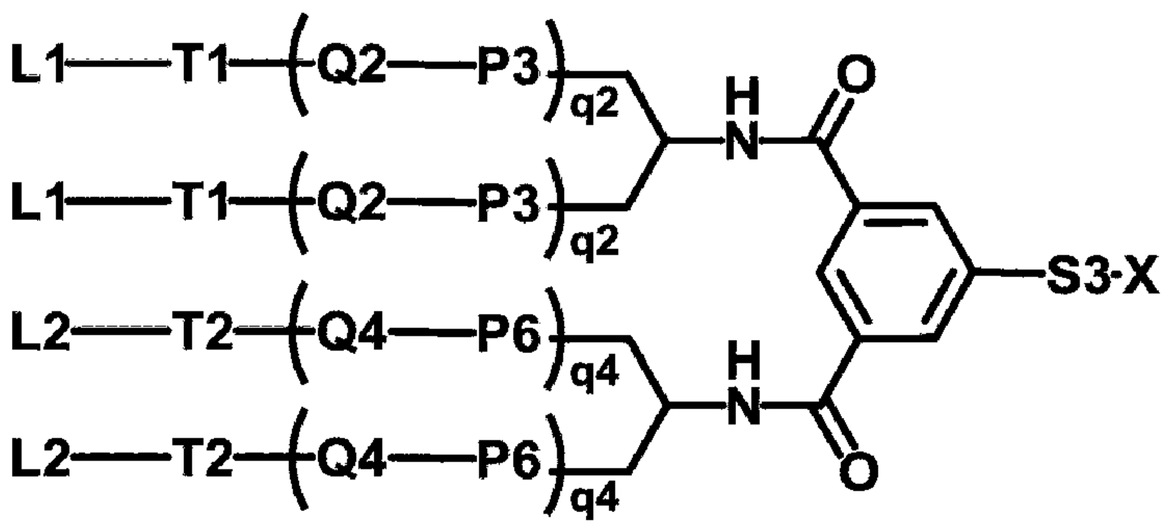
式４－２：

[化8]



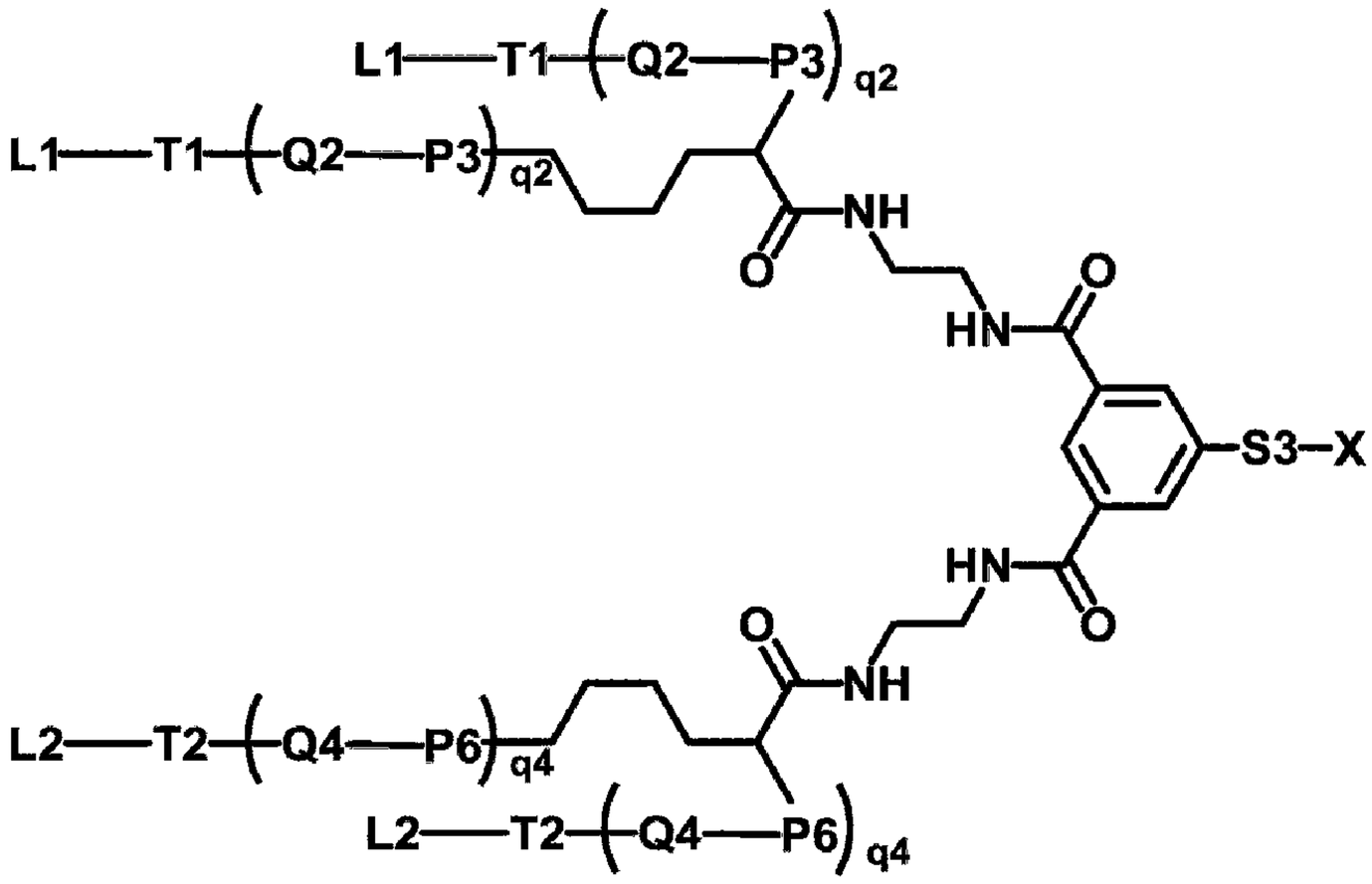
式４－３：

[化9]



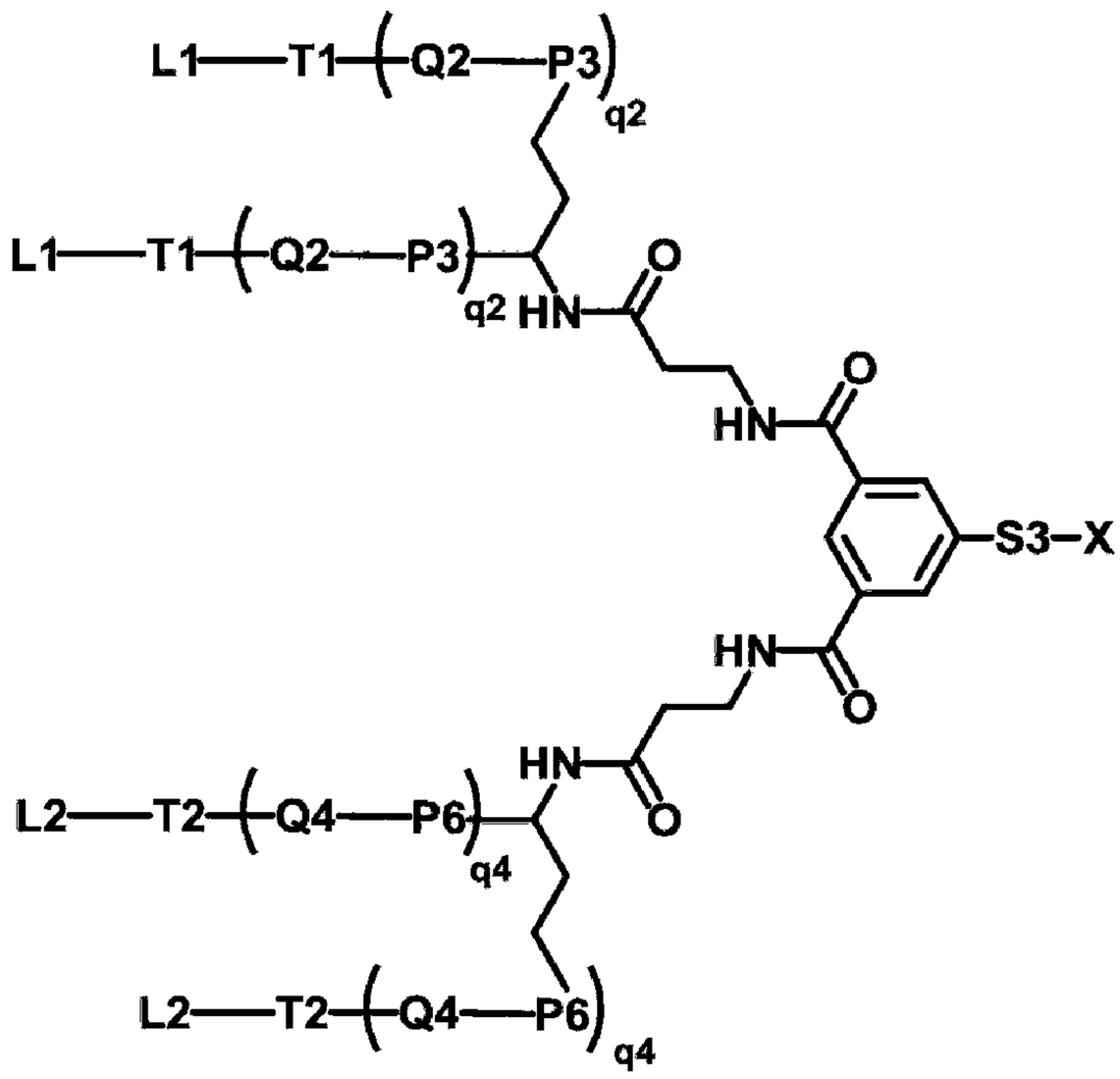
式４－４：

[化10]



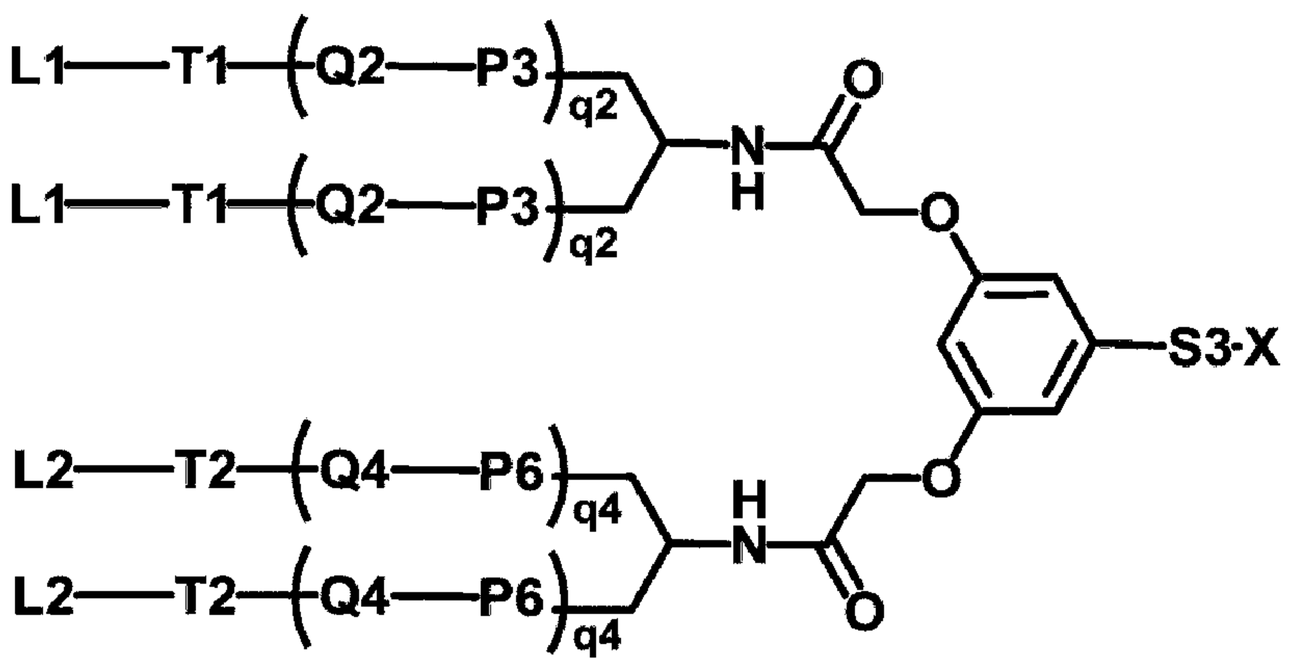
式４－５：

[化11]



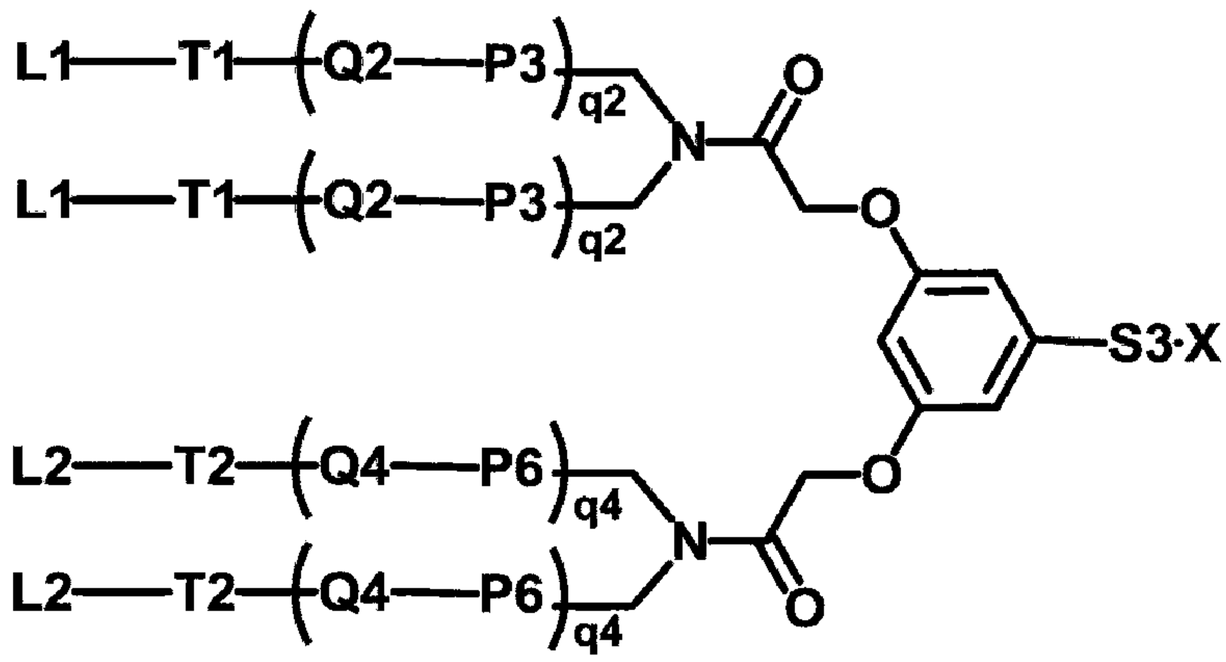
式４－６：

[化12]



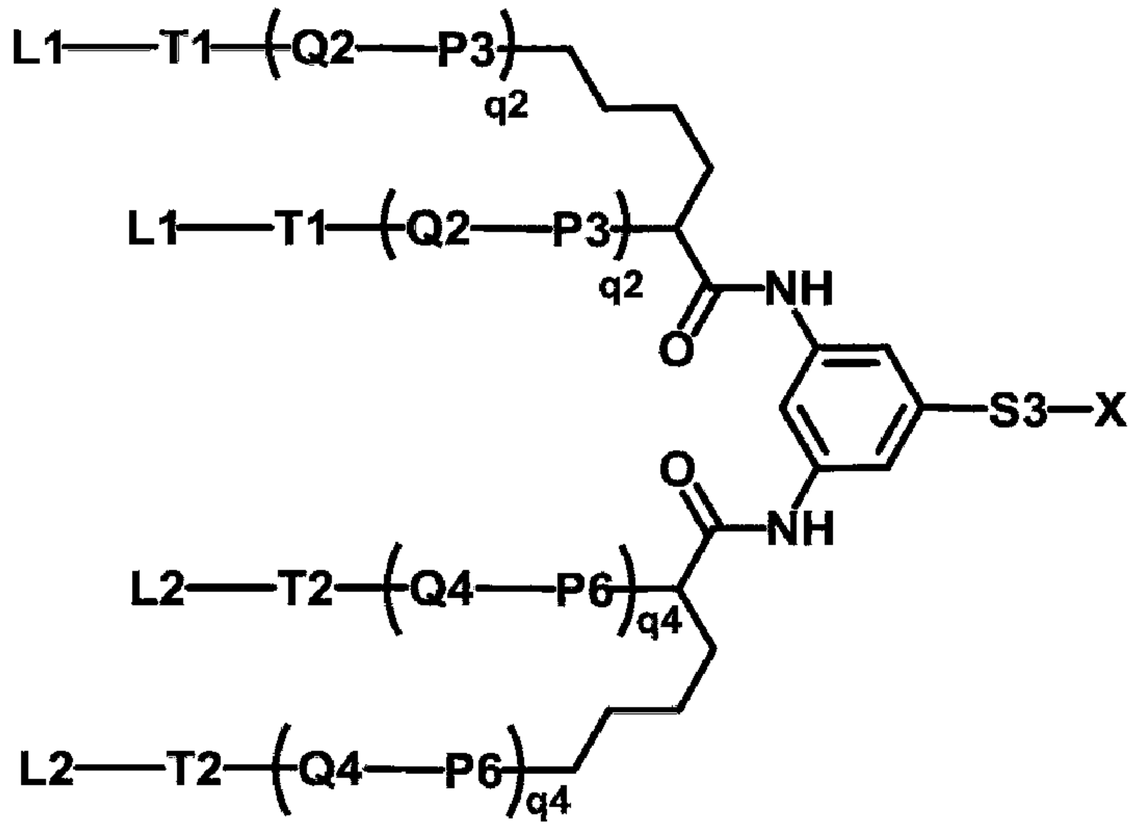
式４－７：

[化13]



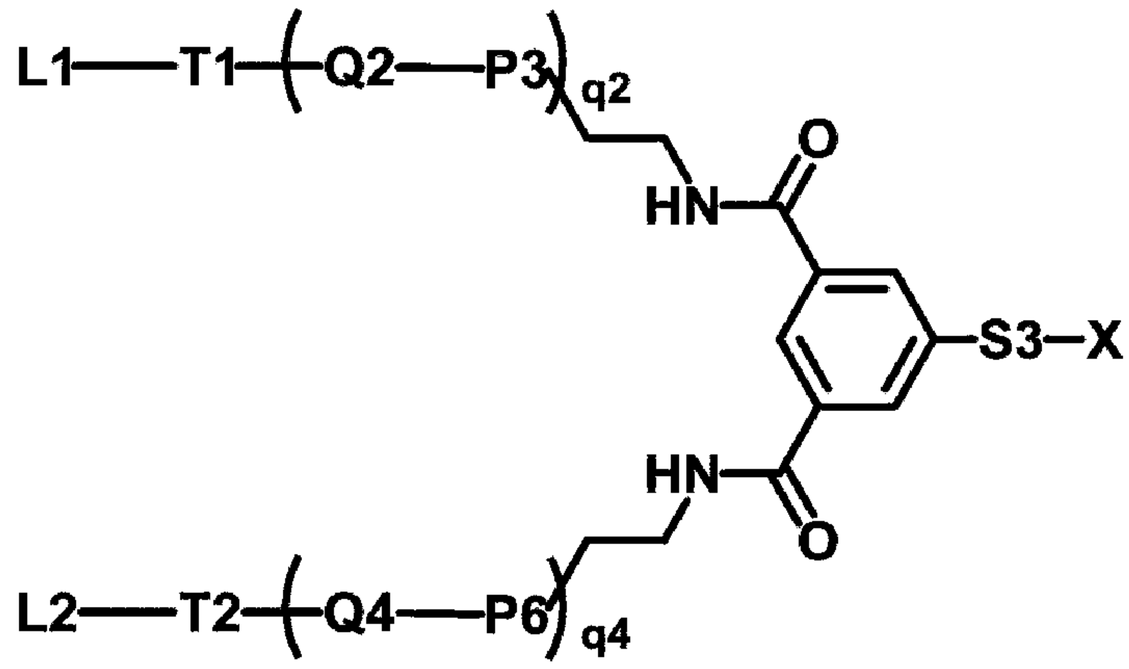
式４－８：

[化14]



式４－９：

[化15]



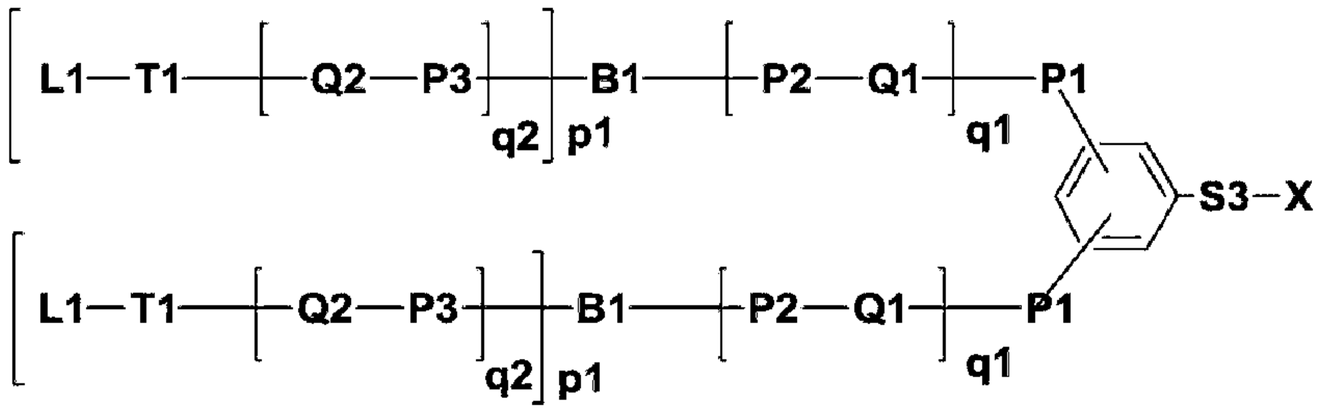
（式４－１～４－９中、

Ｘ、Ｌ１、Ｌ２、Ｓ３、Ｐ３、Ｐ６、Ｔ１、Ｔ２、Ｑ２、Ｑ４、ｑ２およびｑ４はそれぞれ前記と同義である。）

[請求項6] 下記式５で表される構造を有する、請求項１に記載の核酸複合体。

式５：

[化16]



（式５中、

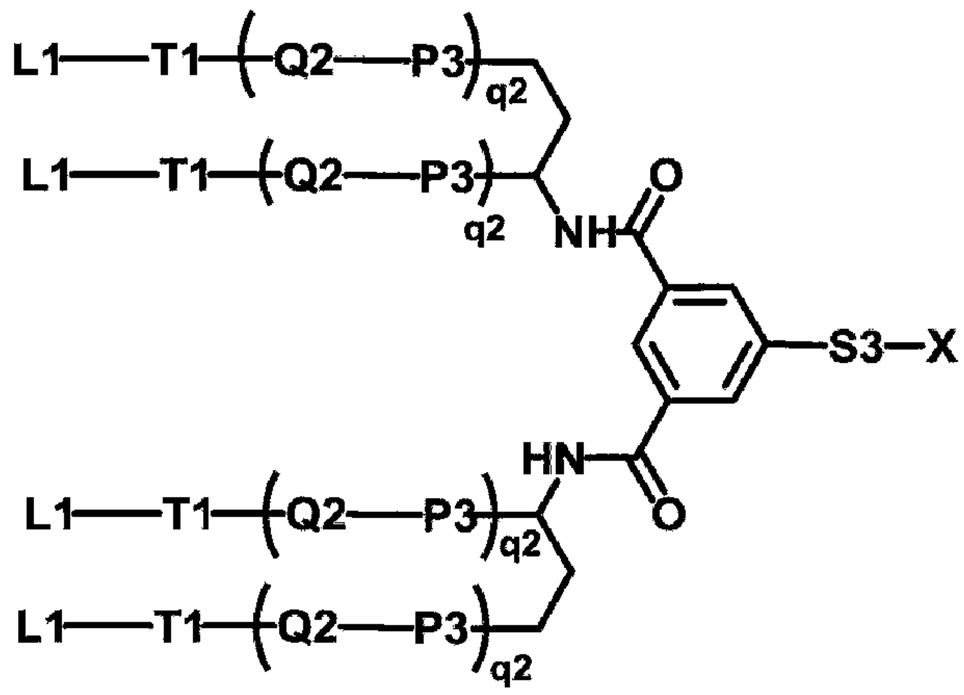
Ｘ、Ｓ３、Ｐ１、Ｐ２、Ｐ３、Ｑ１、Ｑ２、Ｂ１、Ｔ１、Ｌ１、ｐ１、ｑ１およびｑ２はそれぞれ前記と同義である。）

[請求項7] Ｐ１が－ＣＯ－ＮＨ－、－ＮＨ－ＣＯ－または－Ｏ－である請求項６に記載の核酸複合体。

[請求項8] 下記式６－１～式６－９で表されるいずれかの構造を有する、請求項６または７に記載の核酸複合体。

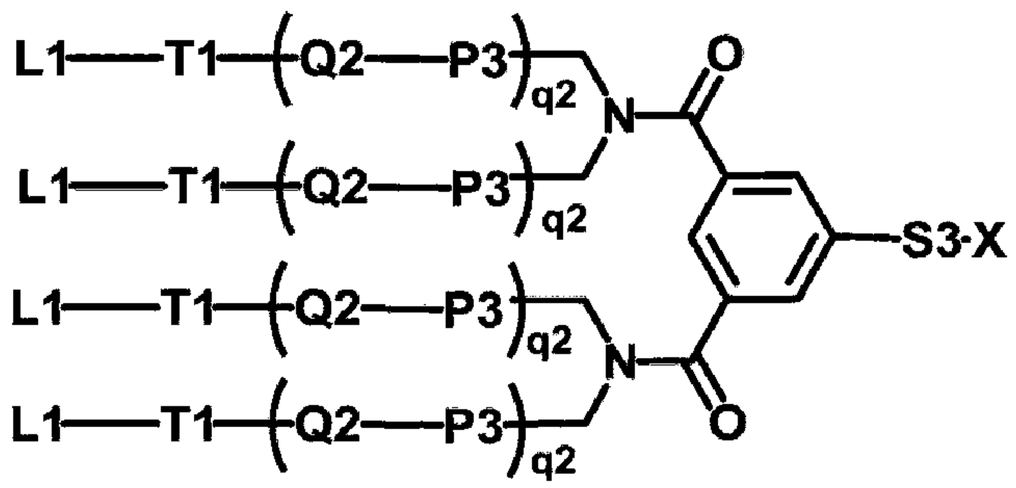
式６－１：

[化17]



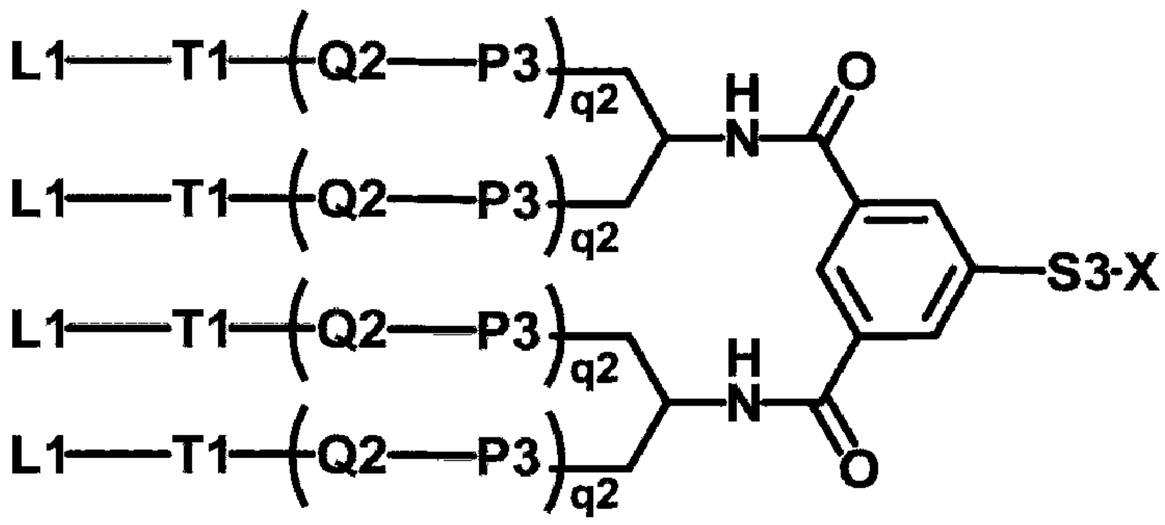
式６－２：

[化18]



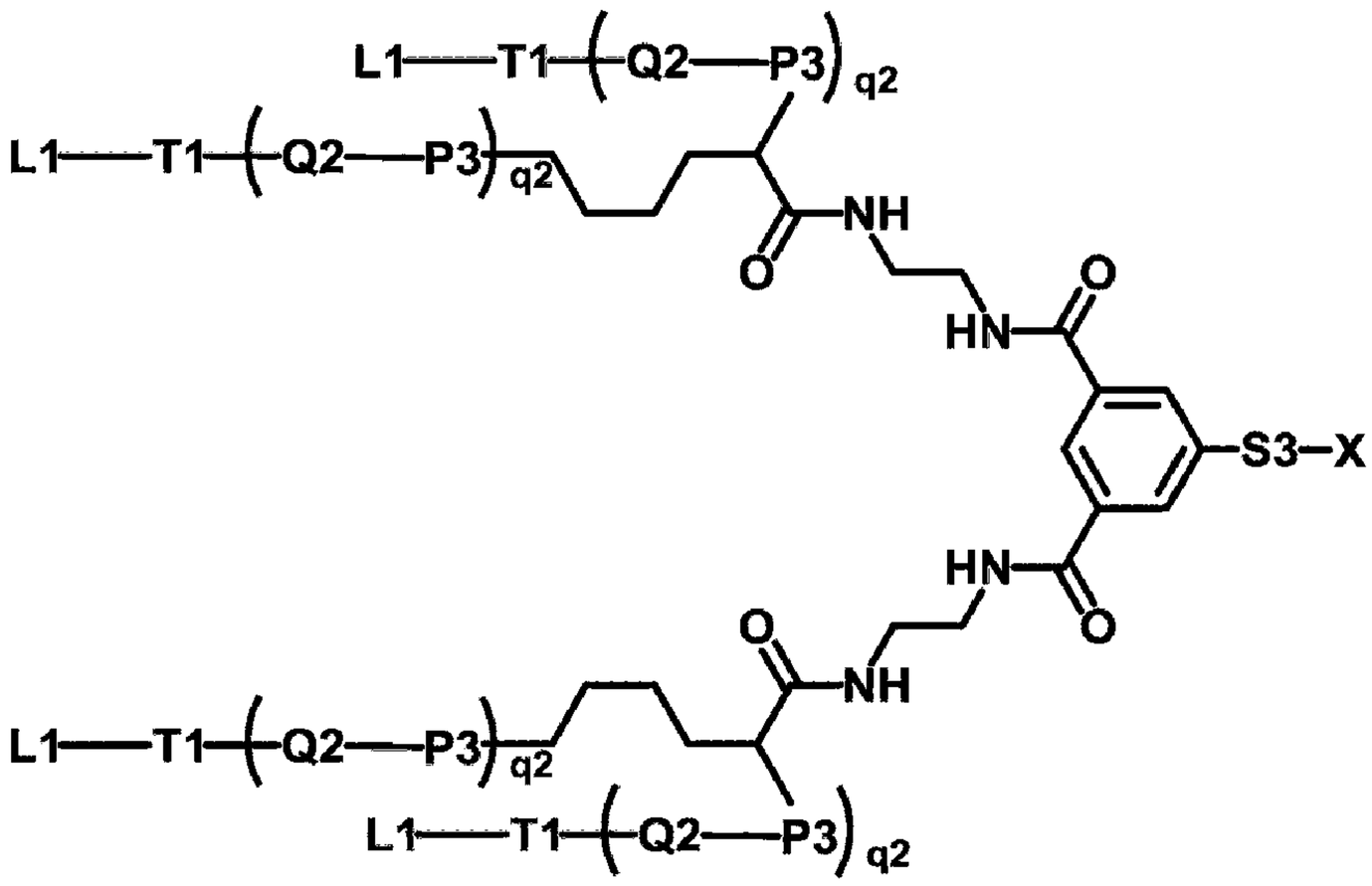
式６－３：

[化19]



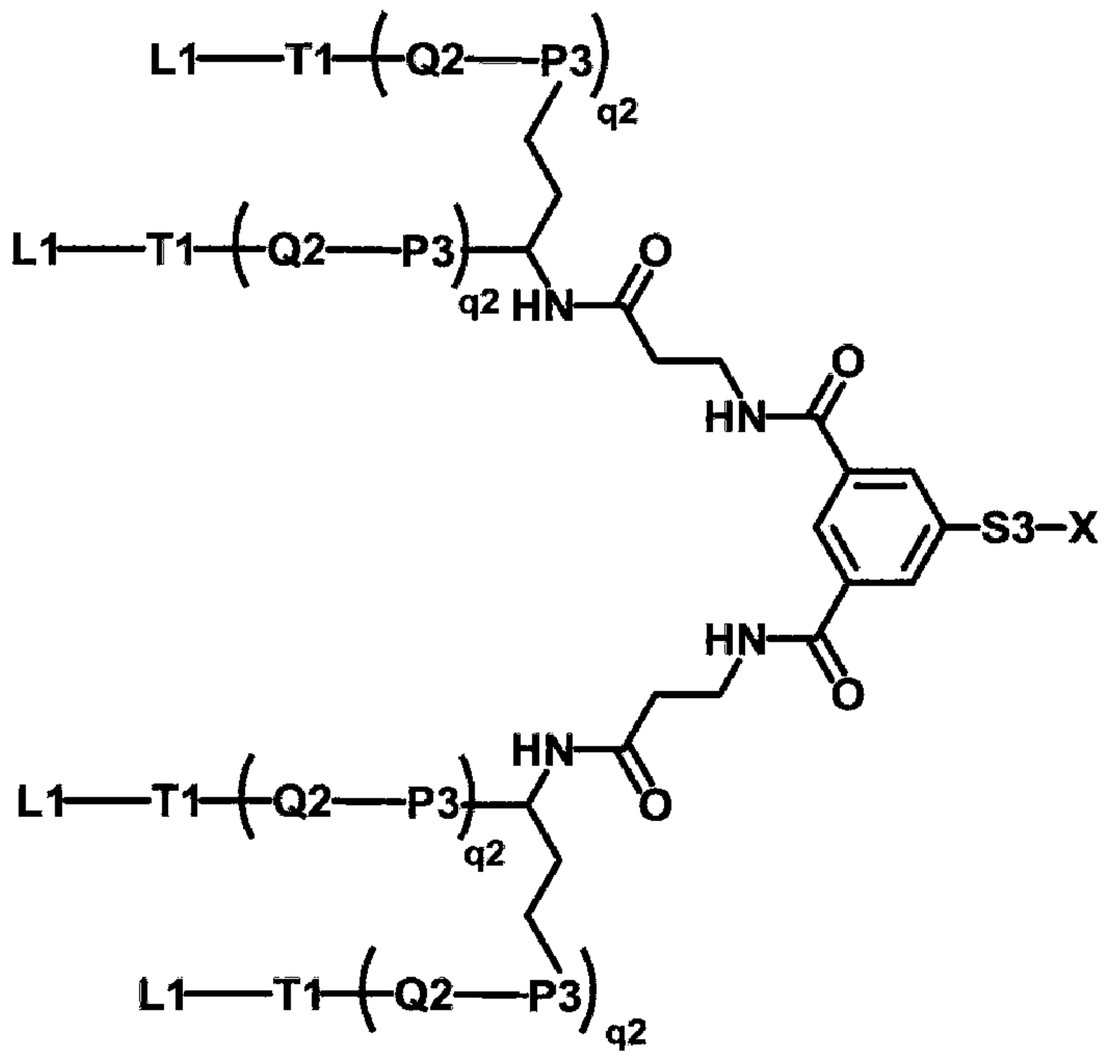
式６－４：

[化20]



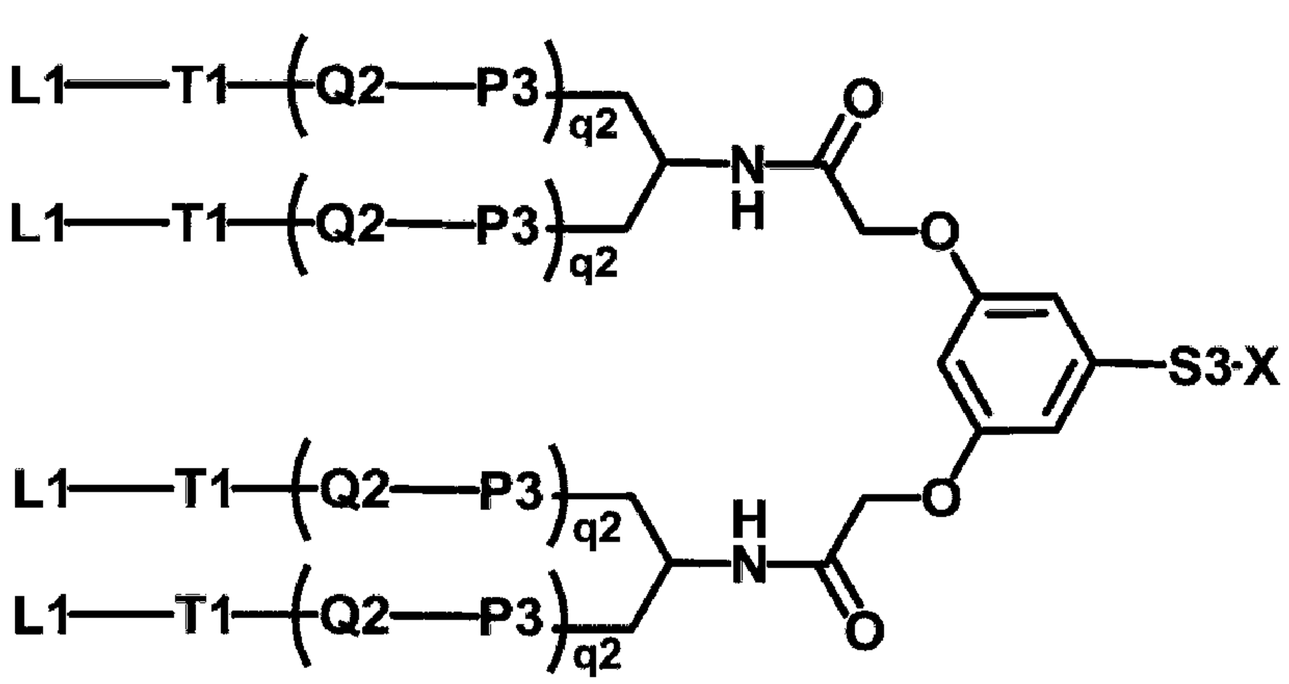
式６－５：

[化21]



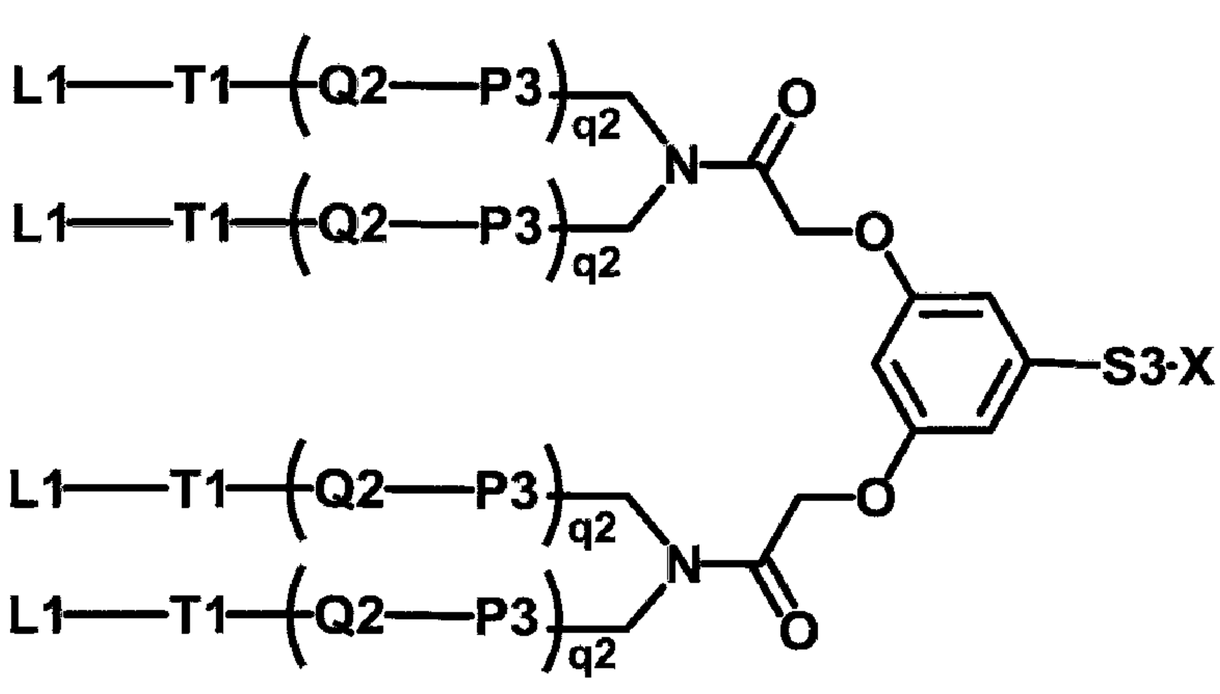
式６－６：

[化22]



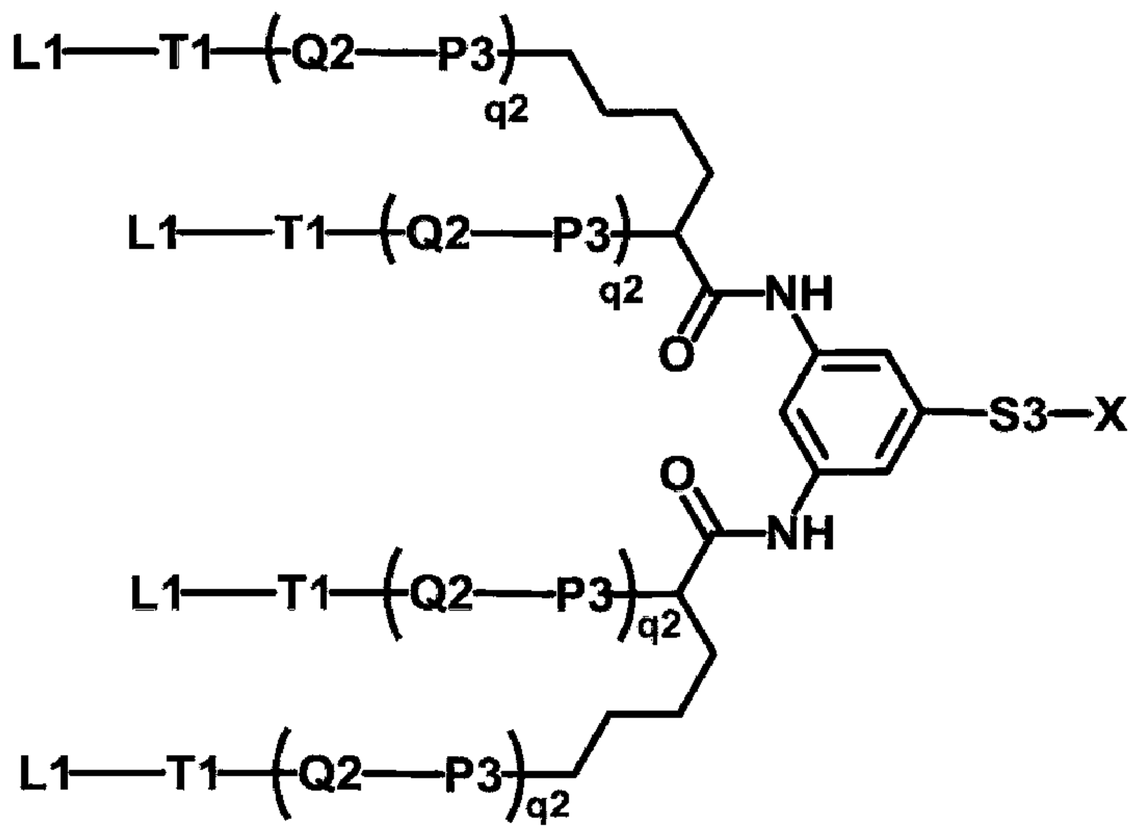
式６－７：

[化23]



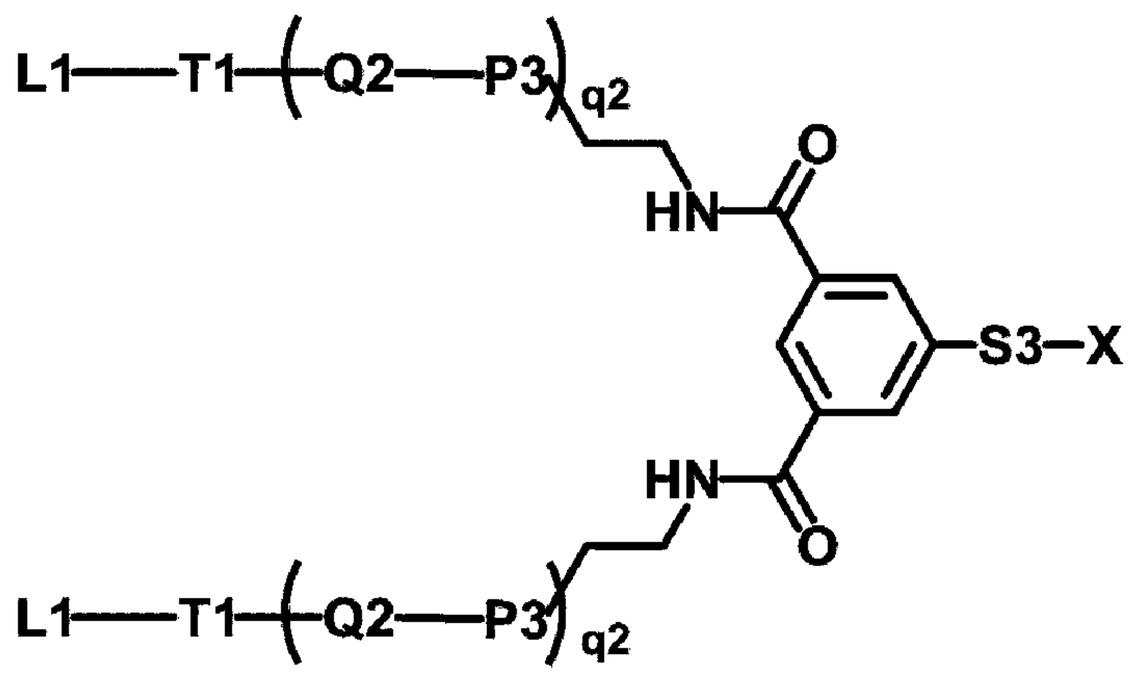
式６－８：

[化24]



式６－９：

[化25]



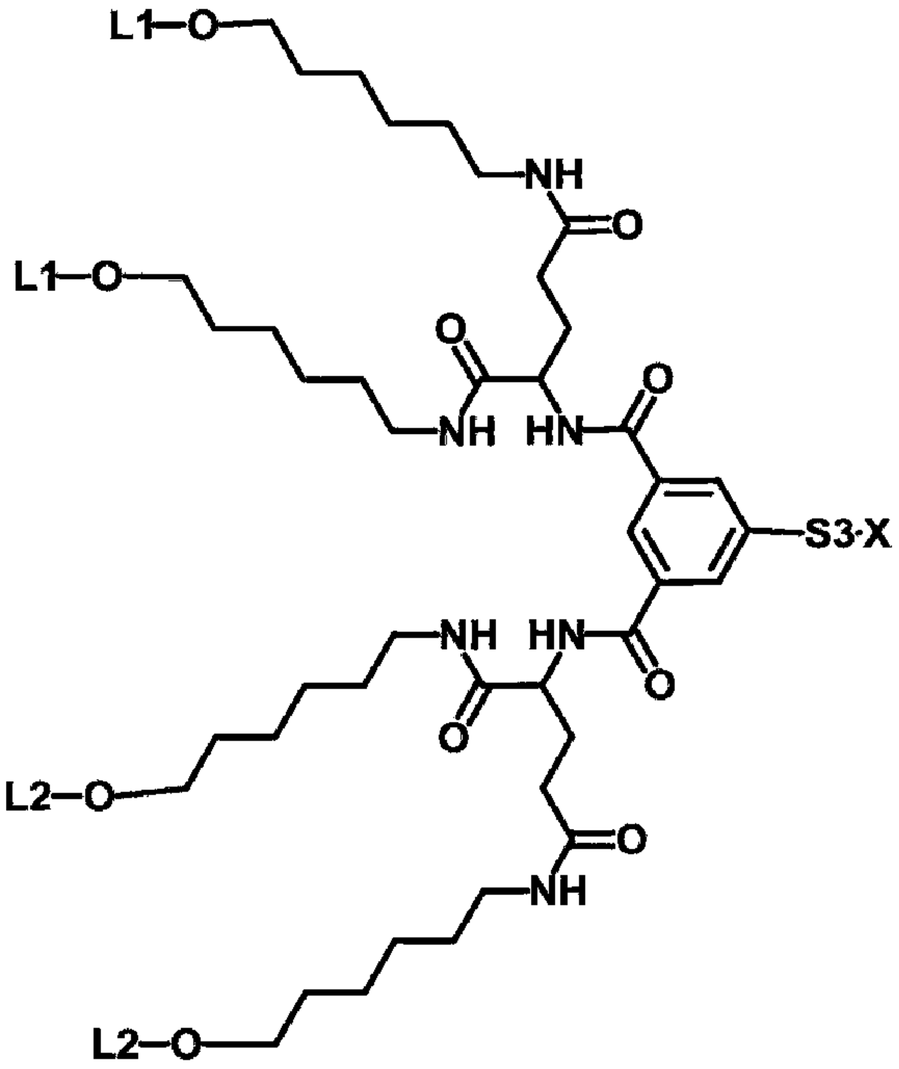
（式６－１～６－９中、

Ｘ、Ｓ３、Ｐ３、Ｑ２、Ｔ1、Ｌ１およびｑ２は、それぞれ前記と同義である。）

[請求項9] 下記式７－１～式７－９で表されるいずれかの構造を有する、請求項２～５のいずれか１項に記載の核酸複合体。

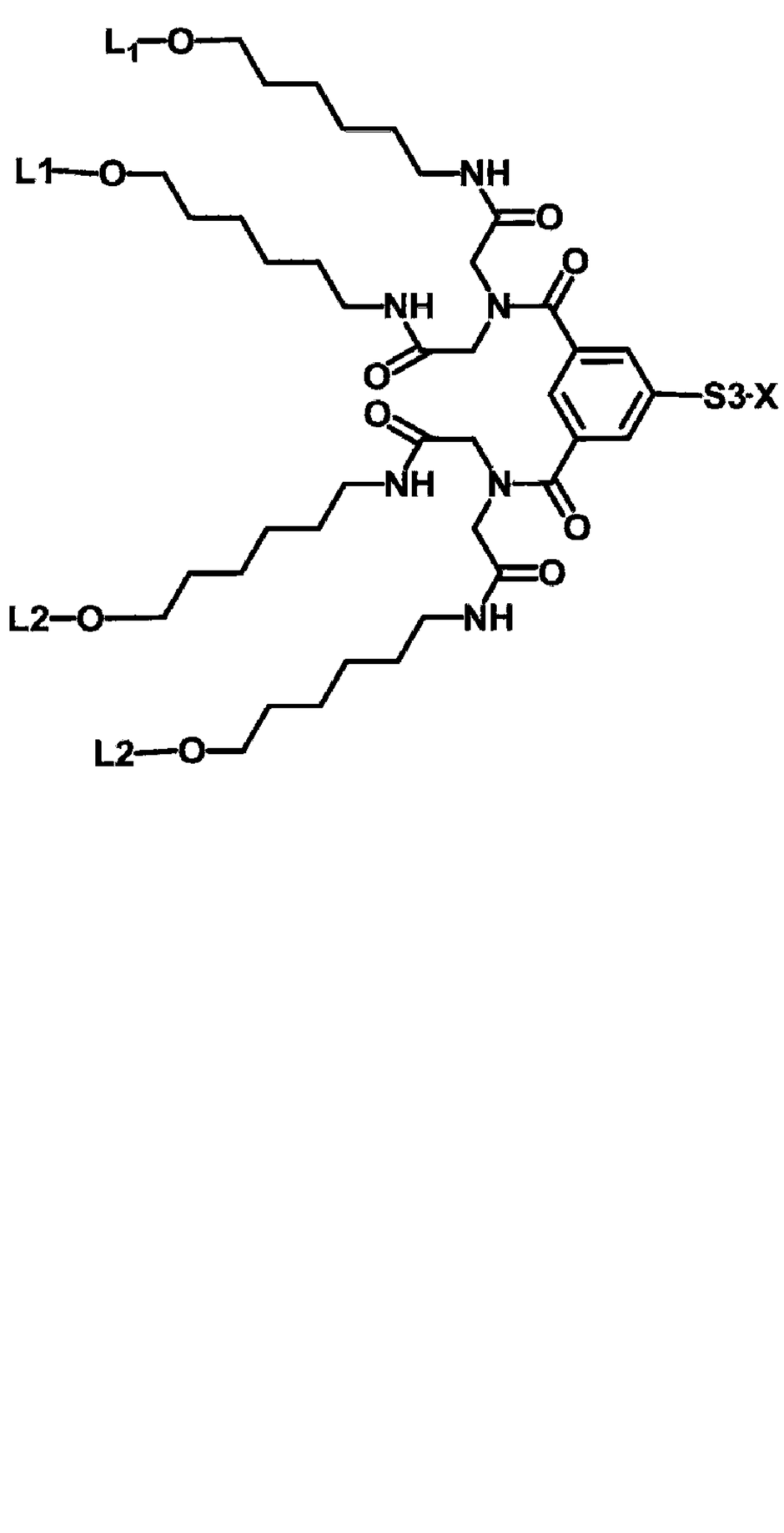
式７－１：

[化26]



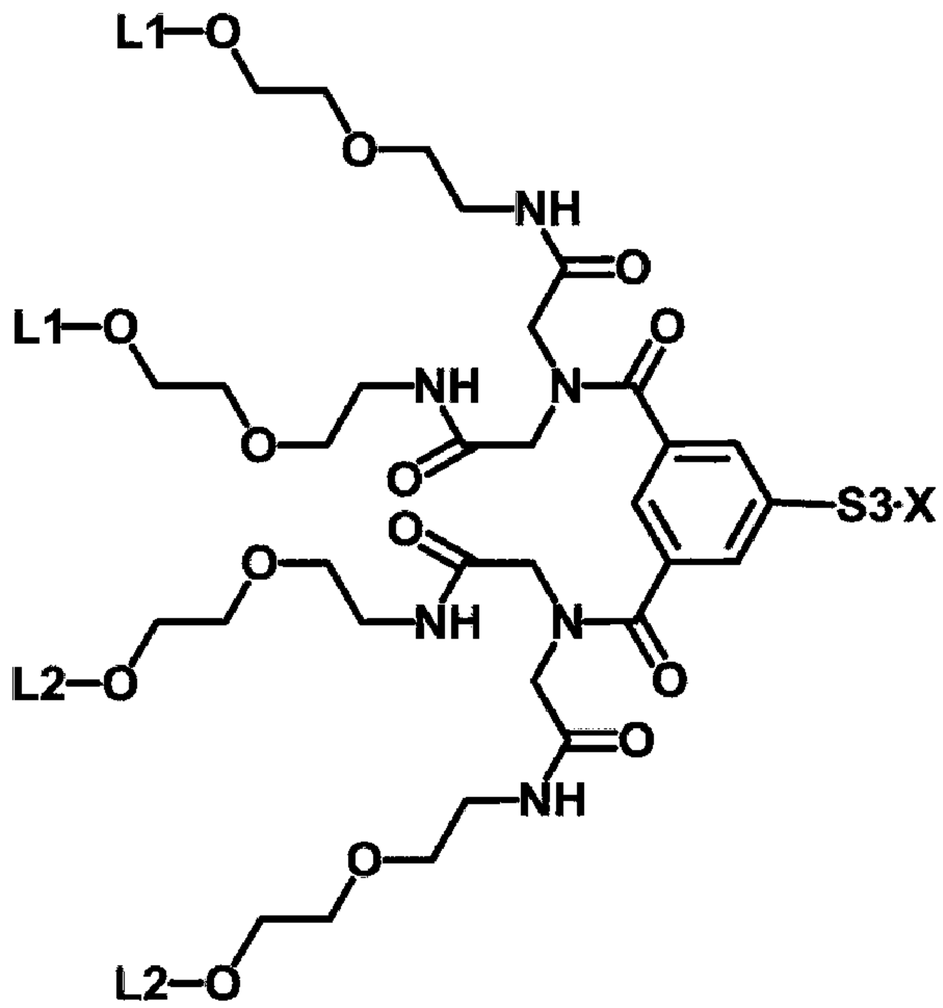
式７－２：

[化27]



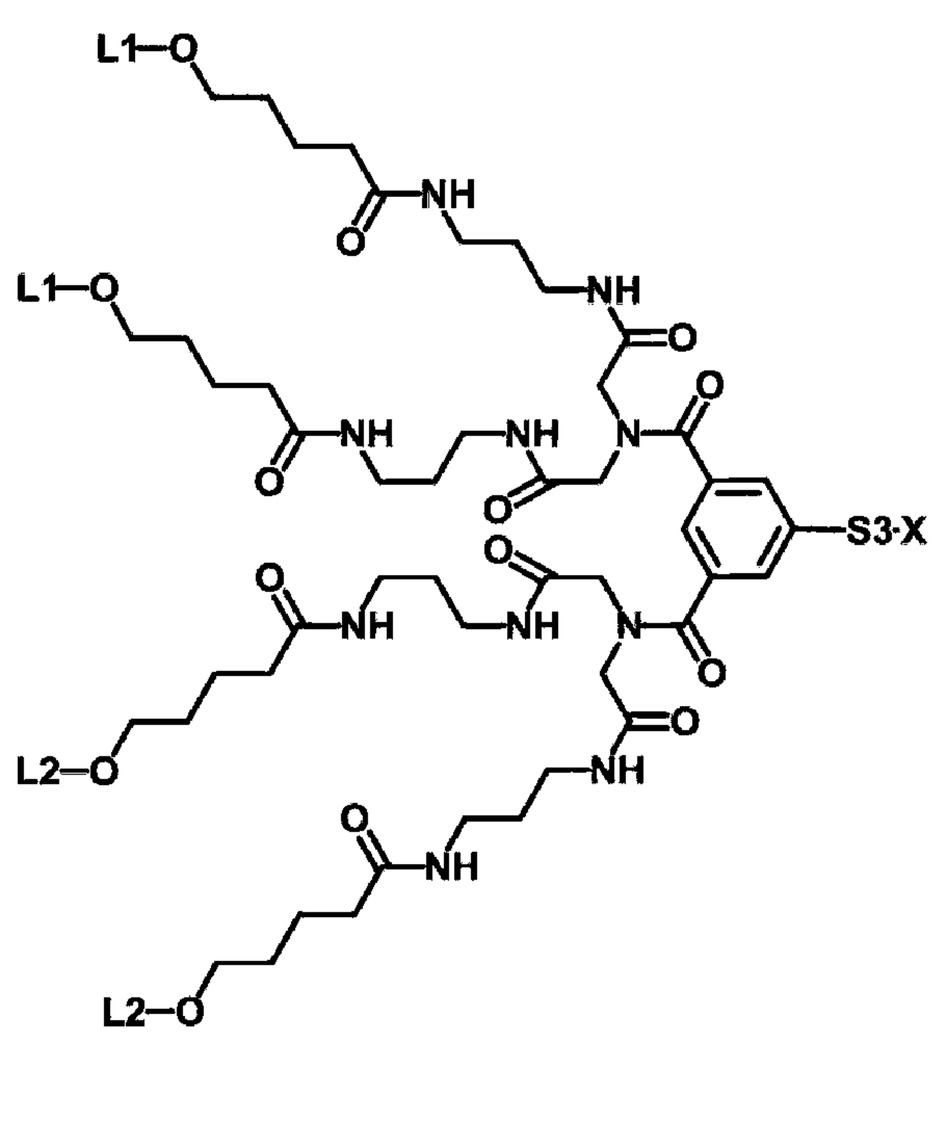
式７－３：

[化28]



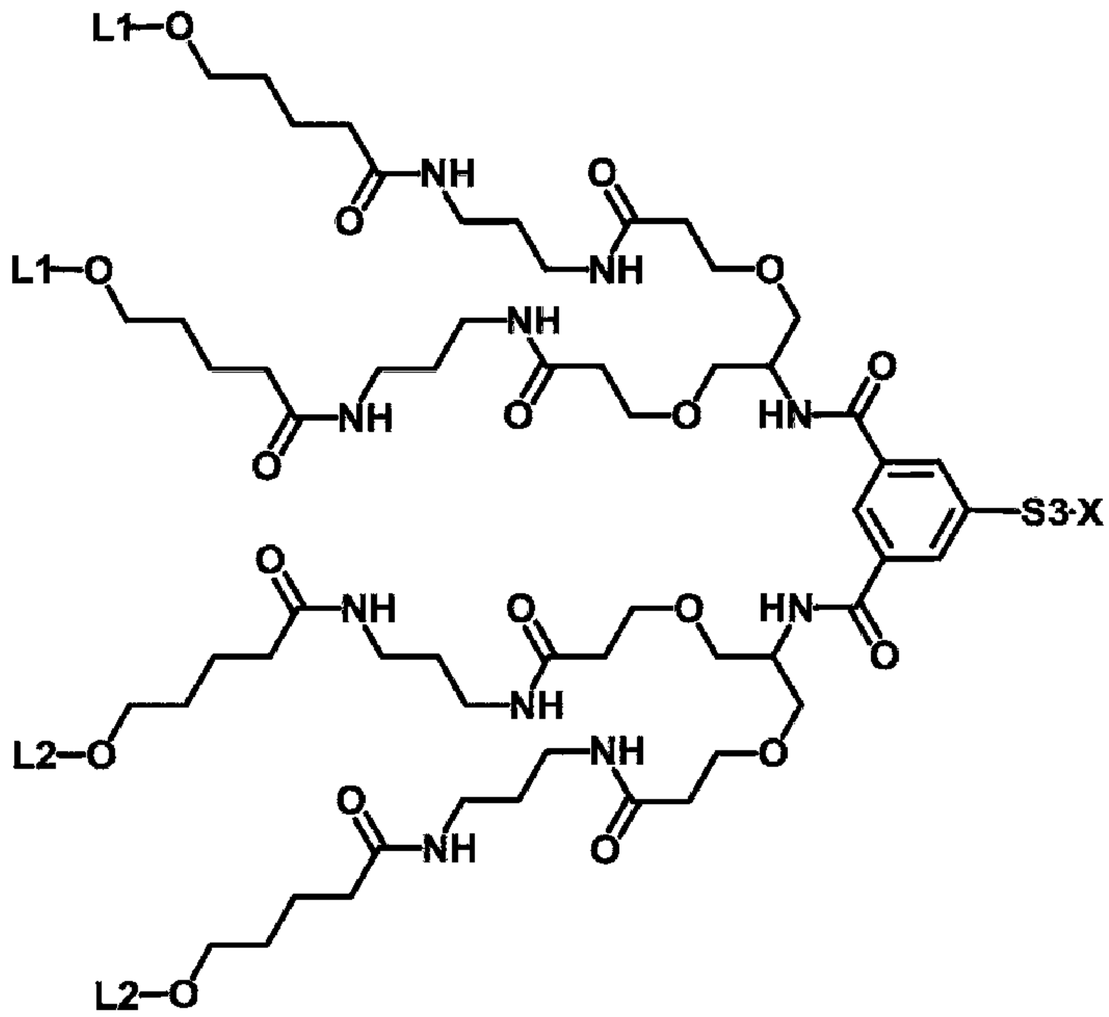
式７－４：

[化29]



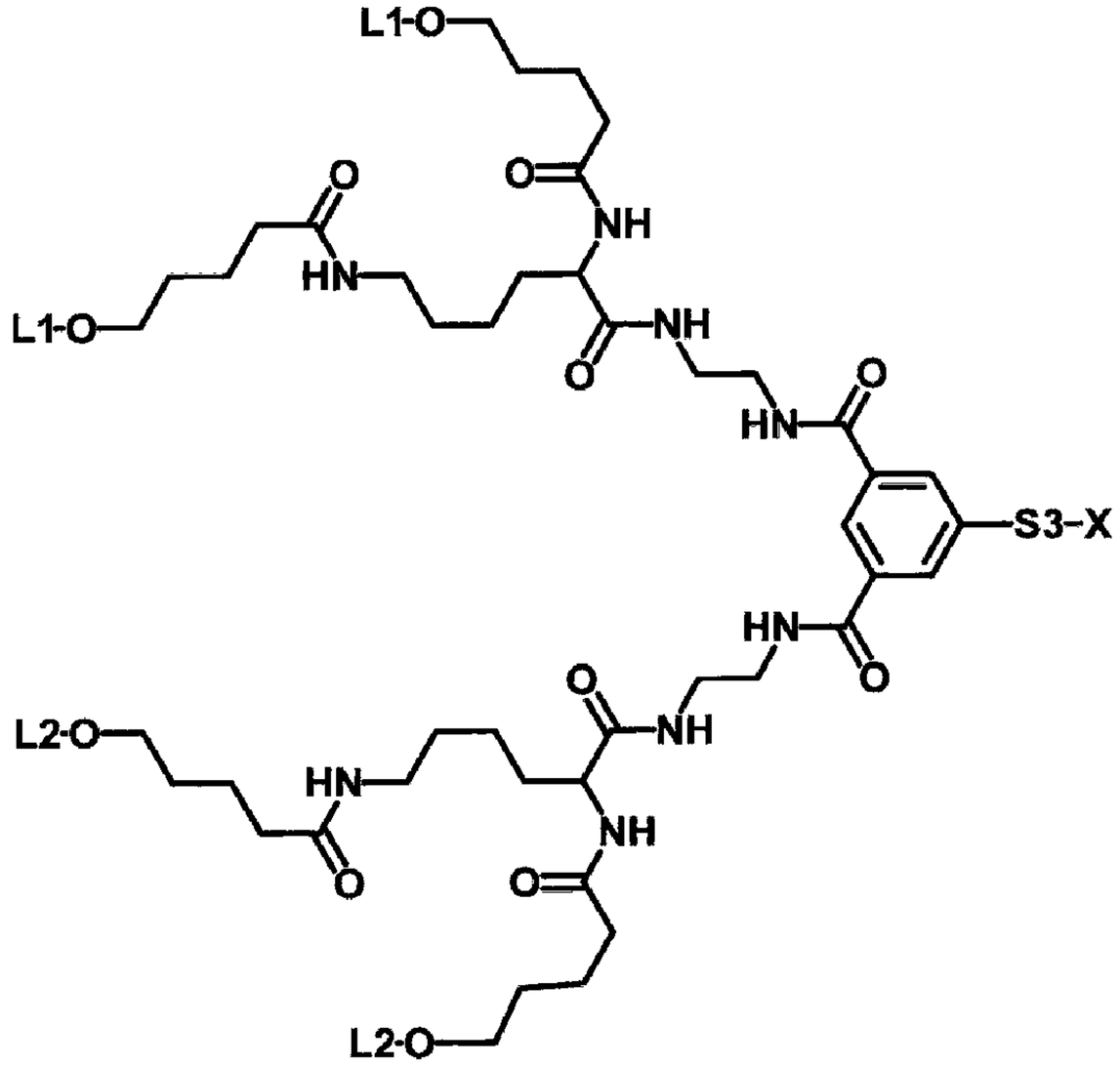
式７－５：

[化30]



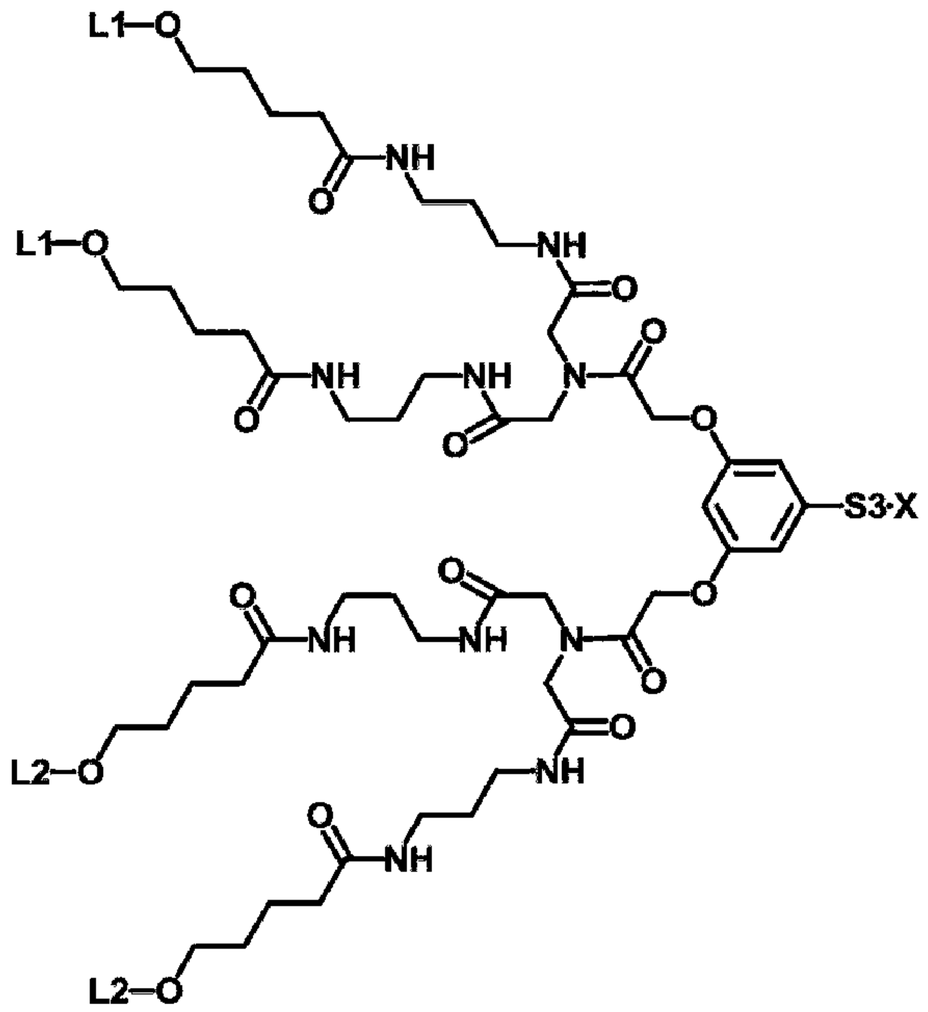
式７－６：

[化31]



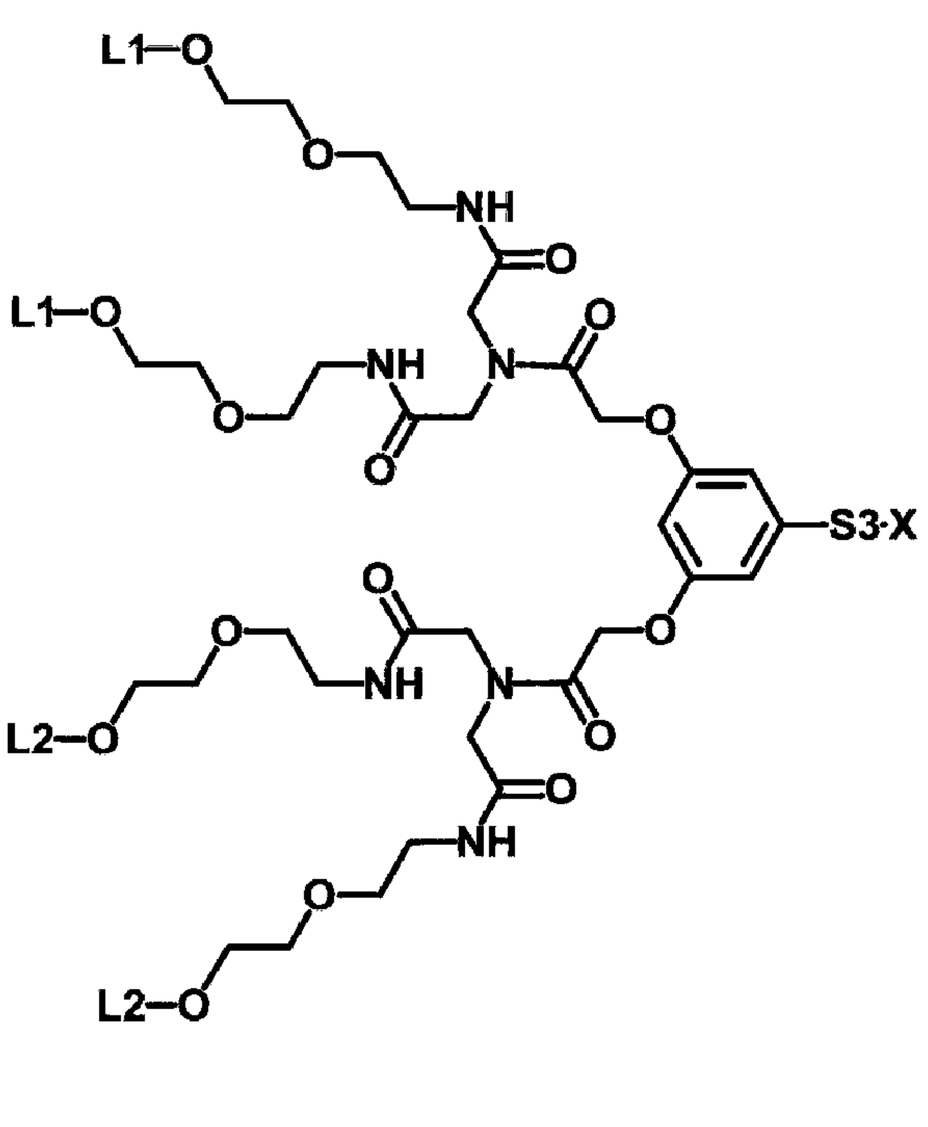
式７－７：

[化32]



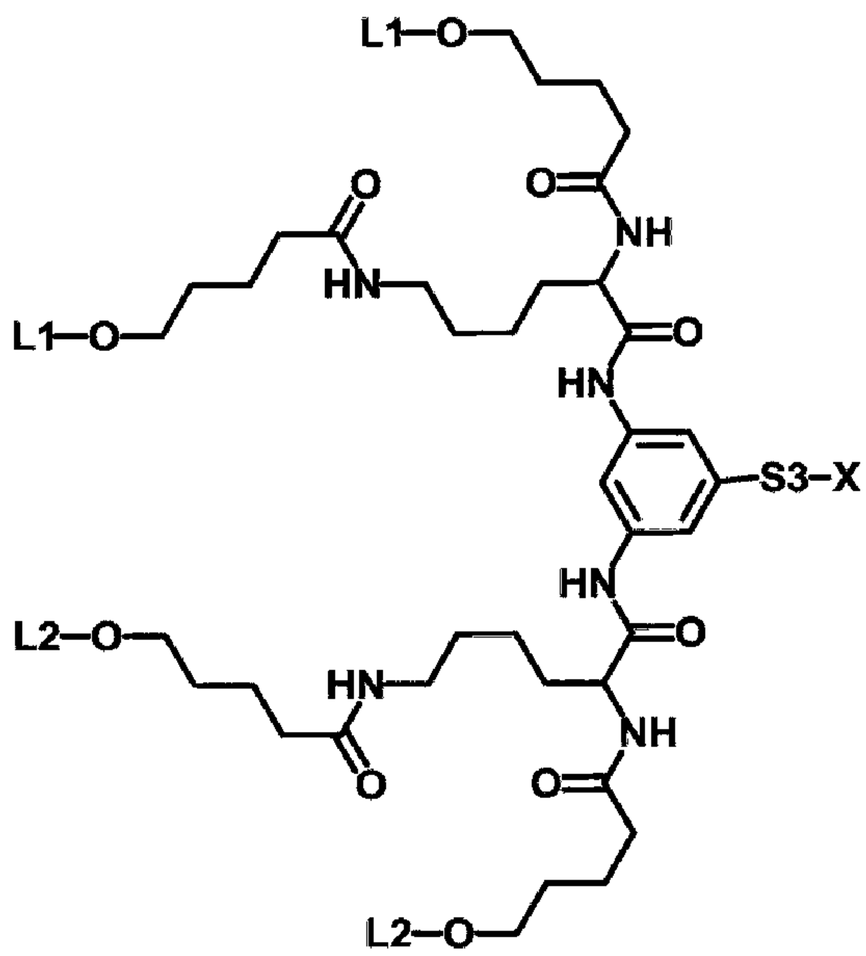
式７－８：

[化33]



式７－９：

[化34]



（式７－１～７－９中、

Ｘ、Ｓ３、Ｌ１およびＬ２は、それぞれ前記と同義である。）

[請求項10] 前記糖リガンドが、Ｎ－アセチルガラクトサミンである、請求項１～９のいずれか１項に記載の核酸複合体。

[請求項11] 前記二本鎖核酸が、修飾ヌクレオチドを含む、請求項１～１０のいずれか１項に記載の核酸複合体。

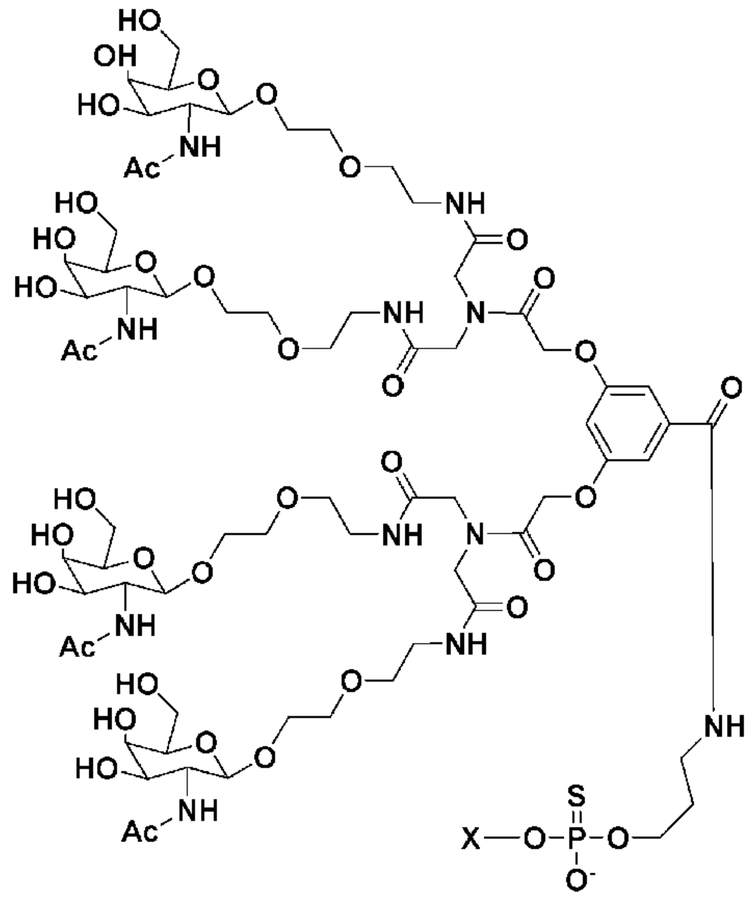
[請求項12] センス鎖の3’末端およびアンチセンス鎖の5’末端は、平滑末端を形成する、請求項１～１１のいずれか１項に記載の核酸複合体。

[請求項13] 前記二本鎖核酸が、糖部修飾ヌクレオチドを含む、請求項１１に記載の核酸複合体。

[請求項14] 下記式７－８－１で表される構造を有する、請求項１～１３のいずれか１項に記載の核酸複合体。

式７－８－１：

[化35]



（式７－８－１中、Ｘは前記と同義である。）

[請求項15] Ｘが、表1-1～表1-3に記載のセンス鎖／アンチセンス鎖からなる群から選択される1対のセンス鎖／アンチセンス鎖である、請求項１～１４のいずれか１項に記載の核酸複合体。

[請求項16] Ｘが、表M1-1～表M1-3に記載のセンス鎖／アンチセンス鎖からなる群から選択される1対のセンス鎖／アンチセンス鎖である、請求項１～１４のいずれか１項に記載の核酸複合体。

[請求項17] Ｘが、表M1-4に記載のセンス鎖／アンチセンス鎖からなる群から選択される1対のセンス鎖／アンチセンス鎖である、請求項１～１４のいずれか１項に記載の核酸複合体。

[請求項18] Ｘが、表M1-4に記載のEB0125で表される1対のセンス鎖／アンチセンス鎖である、請求項１７に記載の核酸複合体。

[請求項19] 請求項１～１８のいずれか１項に記載の核酸複合体を含む、医薬組成物。

[請求項20] 細胞内に導入するための、請求項１９に記載の医薬組成物。

[請求項21] 静脈内投与または皮下投与される、請求項１９または２０に記載の医薬組成物。

[請求項22] 請求項１～１８のいずれか１項に記載の核酸複合体または請求項１

９～２１のいずれか１項に記載の医薬組成物を、それを必要とする患者に投与することを含む、疾患の治療または予防方法。

[請求項23] 請求項１～１８のいずれか１項に記載の核酸複合体または請求項１９～２１のいずれか１項に記載の医薬組成物を用いて二本鎖核酸を細胞内に導入することを含む、CFB遺伝子の発現を抑制する方法。

[請求項24] 請求項１～１８のいずれか１項に記載の核酸複合体または請求項１９～２１のいずれか１項に記載の医薬組成物を哺乳動物に投与することを含む、CFB関連疾患の治療方法。

[請求項25] 請求項１～１８のいずれか１項に記載の核酸複合体または請求項１９～２１のいずれか１項に記載の医薬組成物を含む、CFB関連疾患の治療に用いるための医薬。

[請求項26] 請求項１～１８のいずれか１項に記載の核酸複合体または請求項１９～２１のいずれか１項に記載の医薬組成物を含む、CFB関連疾患の治療剤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2018/029113

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl. C12N15/113(2010.01)i, A61K31/713(2006.01)i, A61K47/54(2017.01)i, A61K48/00(2006.01)i, A61P37/02(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl. C12N15/113, A61K31/713, A61K47/54, A61K48/00, A61P37/02, A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2018
Registered utility model specifications of Japan 1996-2018
Published registered utility model applications of Japan 1994-2018

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII),
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS/WPIX (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	WO 2015/089368 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 18 June 2015, claims 1-137 & JP 2017-500031 A & US 2016/0298124 A1 & EP 3080270 A2 & CN 105814205 A & KR 10-2016-0097307 A	1-8, 10-13, 15-26 9, 14
Y A	WO 2015/038939 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 19 March 2015, claims 1-94 & JP 2016-533765 A & US 2016/0222389 A1 & EP 3043827 A2 & KR 10-2016-0054595 A & CN 105744959 A	1-8, 10-13, 15-26 9, 14
Y A	WO 2014/179629 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 06 November 2014, claims 87-94, 128, 129, 148, 153 & JP 2016-523515 A & US 2016/0076032 A1 & EP 2992097 A2 & KR 10-2016-0002974 A & CN 105377887 A	1-8, 10-13, 15-26 9, 14

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

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
19 October 2018 (19.10.2018)	30 October 2018 (30.10.2018)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2018/029113

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	WO 2014/179627 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 06 November 2014, claims 55-62, 96, 97, 116-121 & JP 2016-522683 A & US 2015/0176007 A1 & EP 2992098 A2 & KR 10-2016-0002974 A & CN 105378085 A	1-8, 10-13, 15-26 9, 14
Y A	WO 2009/073809 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 11 June 2009, fig. 13-30 & JP 2011-505425 A & US 2009/0239814 A1 & EP 2229186 A2 & CN 102006890 A	1-8, 10-13, 15-26 9, 14
Y A	WO 2013/075035 A1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 23 May 2013, example 1 & JP 2014-534244 A & US 2014/0315835 A1 & EP 2780353 A1 & CN 104080794 A & KR 10-2014-0092921 A	1-8, 10-13, 15-26 9, 14
Y A	WO 2015/105083 A1 (SHIONOGI & CO., LTD.) 16 July 2015, claims 1-9 (Family: none)	1-8, 10-13, 15-26 9, 14
Y A	WO 2014/179620 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 06 November 2014, claims 1, 32, 63, 158-162 & JP 2016-526018 A & US 2014/0343123 A1 & EP 2991661 A1 & KR 10-2016-0003723 A & CN 108064162 A	1-8, 10-13, 15-26 9, 14
Y A	WO 2015/006740 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 15 January 2015, claims 1-13 & JP 2016-529230 A & US 2016/0376585 A1 & EP 3019200 A2	1-8, 10-13, 15-26 9, 14
P, A	WO 2017/131236 A1 (KYOWA HAKKO KIRIN COMPANY, LIMITED) 03 August 2017, claims 1-19 & TW 201730200 A	1-26
P, A	WO 2018/004004 A1 (KYOWA HAKKO KIRIN COMPANY, LIMITED) 04 January 2018, claims 1-20 & TW 201803572 A	1-26
P, A	WO 2017/135397 A1 (KYOWA HAKKO KIRIN COMPANY, LIMITED) 10 August 2017, claims 1-13 & TW 201730341 A	1-26

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１８／０２９１１３

A.　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12N15/113(2010.01)i, A61K31/713(2006.01)i, A61K47/54(2017.01)i, A61K48/00(2006.01)i, A61P37/02(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

B.　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12N15/113, A61K31/713, A61K47/54, A61K48/00, A61P37/02, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１８年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１８年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１８年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII), CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS/WPIX (STN)

C.　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y/A	WO 2015/089368 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.06.18, claims 1-137 & JP 2017-500031 A & US 2016/0298124 A1 & EP 3080270 A2 & CN 105814205 A & KR 10-2016-0097307 A	1-8,10-13,15-26/9,14
Y/A	WO 2015/038939 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.03.19, claims 1-94 & JP 2016-533765 A & US 2016/0222389 A1 & EP 3043827 A2 & KR 10-2016-0054595 A & CN 105744959 A	1-8,10-13,15-26/9,14

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 １９．１０．２０１８	国際調査報告の発送日 ３０．１０．２０１８
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ） 郵便番号１００－８９１５ 東京都千代田区霞が関三丁目４番３号	特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｂ　４０４５ 鳥居　敬司 電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４４８

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y/A	WO 2014/179629 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2014.11.06, claims 87-94,128,129,148,153 & JP 2016-523515 A & US 2016/0076032 A1 & EP 2992097 A2 & KR 10-2016-0002974 A & CN 105377887 A	1-8,10-13,15-26/9,14
Y/A	WO 2014/179627 A2 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2014.11.06, claims 55-62,96,97,116-121 & JP 2016-522683 A & US 2015/0176007 A1 & EP 2992098 A2 & KR 10-2016-0002974 A & CN 105378085 A	1-8,10-13,15-26/9,14
Y/A	WO 2009/073809 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 2009.06.11, Figs.13-30 & JP 2011-505425 A & US 2009/0239814 A1 & EP 2229186 A2 & CN 102006890 A	1-8,10-13,15-26/9,14
Y/A	WO 2013/075035 A1 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 2013.05.23, Example 1 & JP 2014-534244 A & US 2014/0315835 A1 & EP 2780353 A1 & CN 104080794 A & KR 10-2014-0092921 A	1-8,10-13,15-26/9,14
Y/A	WO 2015/105083 A1 (塩野義製薬株式会社) 2015.07.16, 請求項１～９（ファミリーなし）	1-8,10-13,15-26/9,14
Y/A	WO 2014/179620 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2014.11.06, claims 1,32,63,158-162 & JP 2016-526018 A & US 2014/0343123 A1 & EP 2991661 A1 & KR 10-2016-0003723 A & CN 108064162 A	1-8,10-13,15-26/9,14
Y/A	WO 2015/006740 A2 (ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.) 2015.01.15, claims 1-13 & JP 2016-529230 A & US 2016/0376585 A1 & EP 3019200 A2	1-8,10-13,15-26/9,14
P, A	WO 2017/131236 A1 (協和発酵キリン株式会社) 2017.08.03, 請求項１～１９ & TW 201730200 A	1-26
P, A	WO 2018/004004 A1 (協和発酵キリン株式会社) 2018.01.04, 請求項１～２０ & TW 201803572 A	1-26
P, A	WO 2017/135397 A1 (協和発酵キリン株式会社) 2017.08.10, 請求項１～１３ & TW 201730341 A	1-26