

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-524330
(P2024-524330A)

(43)公表日 令和6年7月5日(2024.7.5)

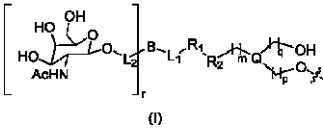
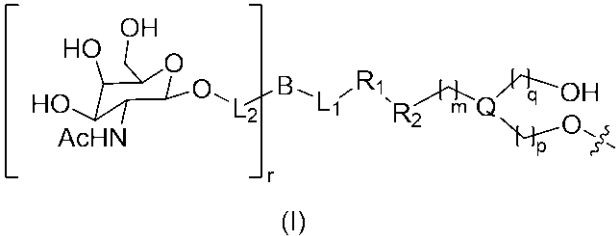
(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113	Z Z N A	4 C 0 5 7
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54		4 C 0 7 6
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00		4 C 0 8 4
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16		
C 0 7 H	15/04 (2006.01)	C 0 7 H	15/04	D C S P	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全200頁)

(21)出願番号	特願2023-579725(P2023-579725)	(71)出願人	521218294
(86)(22)出願日	令和4年7月1日(2022.7.1)		上海拓界生物医薬科技有限公司
(85)翻訳文提出日	令和5年12月26日(2023.12.26)		TUOJIE BIOTECH (SHA
(86)国際出願番号	PCT/CN2022/103275		NGHAI) CO., LTD.
(87)国際公開番号	WO2023/274395		中華人民共和國201203上海市浦東
(87)国際公開日	令和5年1月5日(2023.1.5)		新区自由貿易試験区金科路3728号1
(31)優先権主張番号	202110753225.4		4幢103室
(32)優先日	令和3年7月2日(2021.7.2)		Room 103, No. 14 Bui
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		lding, No. 3728 Jink
			e Road, Free Trade P
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		ilot Zone, Pudong N
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		ew Area, Shanghai 2
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A		01203, China
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR	(74)代理人	100145403
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,		弁理士 山尾 憲人
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 核酸リガンド及びその複合体、その調製方法と用途

(57)【要約】

核酸リガンド及びその複合体、その調製方法と用途である。具体的に、式（I）で示される構造を有するリガンドを提供し、提供されるリガンドは、核酸と複合することにより、優れた発現抑制効果が達成される。

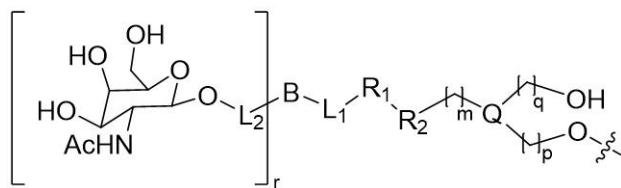


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) で示される構造を有するリガンドであって、

【化 1】



(I)

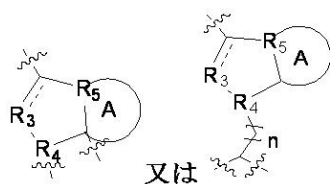
10

そのうち、 L_1 は $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、或いは 1 つ若しくは複数の酸素、硫黄、窒素原子又は $C=O$ で中断された $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、

R_1 と R_2 は独立的に化学結合、 $-NR_6-$ 、 $-C(=O)-$ 又は $-OC(=O)-$ であり、

Q は

【化 2】



又は

20

であり、

【化 3】



は単結合又は二重結合であり、且つ

【化 4】



30

が単結合である場合、 R_3 は独立的に CR_7R_8 、 NR_6 、 O 又は S であり、

【化 5】



が二重結合である場合、 R_3 は独立的に CR_9 又は N であり、

R_4 は独立的に CR_9 又は N であり、

環 A は存在しないか、又はシクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基若しくはヘテロアリール基であり、且つ環 A が存在する場合、 R_5 は独立的に CR_9 又は N であり、環 A が存在しない場合、 R_5 は独立的に CR_7R_8 、 NR_6 又は O であり、

40

R_6 と R_9 は独立的に水素、重水素、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基、ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'$ (R' 、 R'')、 NR' (R' 、 R'')、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ 又は $C(=O)NR'$ (R' 、 R'') であり、前記アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基は任意選択的にハロゲン、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_1-6 アルキル基、 C_1-6 アルコキシ基、 C_3-7 シクロアルキル基、3~12 員ヘテロシクリル基、5~12 員アリール基、5~12 員ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'$ (R' 、 R'')、 NR' (R' 、 R'')、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ と $C(=O)NR'$ (R' 、 R'') が選ばれる 1 つ又は複数の基で置換され、

50

R_7 と R_8 は独立的に水素、重水素、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基、ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'$ (R'')、 NR' (R'')、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ 又は $C(=O)NR'$ (R'')であり、前記アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基は任意選択的にハロゲン、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{3-7} シクロアルキル基、3～12員ヘテロシクリル基、5～12員アリール基、5～12員ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'$ (R'')、 NR' (R'')、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ と $C(=O)NR'$ (R'')から選ばれる1つ又は複数の基で置換され、

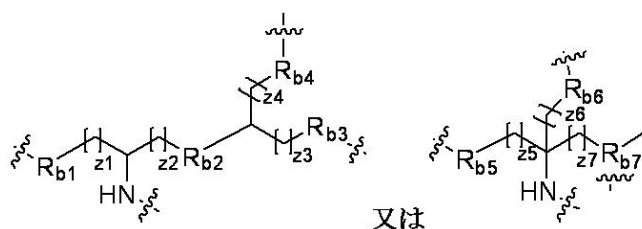
10

R' と R'' は独立的に水素、重水素、ヒドロキシ基、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基であり、前記アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基は任意選択的にハロゲン、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基とシアノ基から選ばれる1つ又は複数の置換基で置換され、

m 、 n 、 p と q は独立的に0、1、2、3又は4であり、

Bは

【化6】



20

であり、

R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{b4} 、 R_{b5} 、 R_{b6} と R_{b7} は独立的に $-C(=O)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 又は $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ であり、

z_1 、 z_2 、 z_3 、 z_4 、 z_5 、 z_6 、 z_7 、 z_8 と z_9 は、独立的に0～10の整数であり、

30

L_2 は $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、或いは1つ若しくは複数の酸素、硫黄、窒素原子又は $C=O$ で中断された $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、

r は1～10の整数である、

リガンド。

【請求項2】

L_1 は L_3 又は $L_3-R_{10}-R_{11}-L_3$ であり、そのうち、 L_3 は独立的に $C_1 \sim C_{12}$ アルキル鎖、 $-(CH_2)_{j1}-C(=O)-(CH_2)_{j2}-$ 又は $-(CH_2)_{j3}-(CH_2CH_2O)_{1-4}-(CH_2)_{j4}-$ であり、 R_{10} と R_{11} は独立的に化学結合、 $-NR_{12}-$ 、 $-C(=O)-$ 又は $-OC(=O)-$ であり、 R_{12} は水素又は $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基であり、 j_1 、 j_2 、 j_3 と j_4 は独立的に0～10の整数であり、好ましくは0～2又は4～10の整数、より好ましくは0、1、2、6、7、8、9又は10である、

40

請求項1に記載のリガンド。

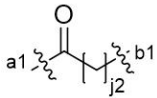
【請求項3】

L_1 は $-(CH_2)_{j1}-C(=O)-(CH_2)_{j2}-$ であり、

好ましくは L_1 は

50

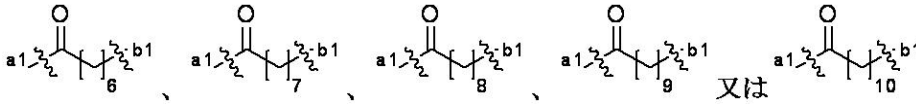
【化 7】



であり、

より好ましくは L_1 は

【化 8】



10

であり、

そのうち、 a_1 末端は B に連結され、 b_1 末端は R_1 に連結される、
請求項 2 に記載のリガンド。

【請求項 4】

R_1 と R_2 は、

組成 1 : R_1 は化学結合であり、且つ R_2 は $C=O$ であり、

組成 2 : R_1 は化学結合であり、且つ R_2 は NR_6 であり、

組成 3 : R_1 は化学結合であり、且つ R_2 は $-OC(=O)-$ であり、

組成 4 : R_1 は NR_6 であり、且つ R_2 は $C=O$ であり、

組成 5 : R_1 は NR_6 であり、且つ R_2 は $-OC(=O)-$ であり、

組成 6 : R_2 は NR_6 であり、且つ R_1 は $C=O$ であり、

組成 7 : R_2 は NR_6 であり、且つ R_1 は $-OC(=O)-$ である、

20

という組成のいずれか 1 つである、請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載のリガンド。

【請求項 5】

R_6 は水素又は $C_1 - 6$ アルキル基であり、好ましくは水素、重水素、メチル基、エチル基、プロピル基又はイソプロピル基であり、より好ましくは水素であり、

及び／又は、 R_7 と R_8 は水素であり、

及び／又は、 R_9 は水素である、

30

請求項 1 ～ 4 のいずれか一項に記載のリガンド。

【請求項 6】

m は 0 又は 1 である、

請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載のリガンド。

【請求項 7】

p と q は、

組成 1 : $p = 1$ 且つ $q = 1$ であり、

組成 2 : $p = 1$ 且つ $q = 0$ であり、

組成 3 : $p = 0$ 且つ $q = 1$ であり、

組成 4 : $p = 0$ 且つ $q = 0$ である、

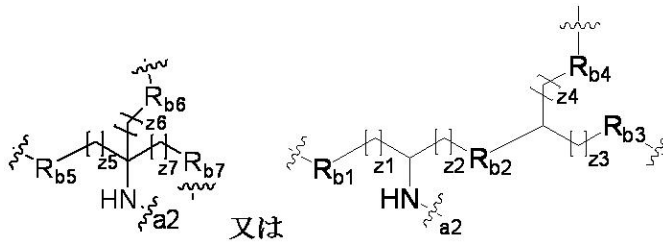
40

という組成のいずれか 1 つであってもよい、請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載のリガンド。

【請求項 8】

B は

【化 9】

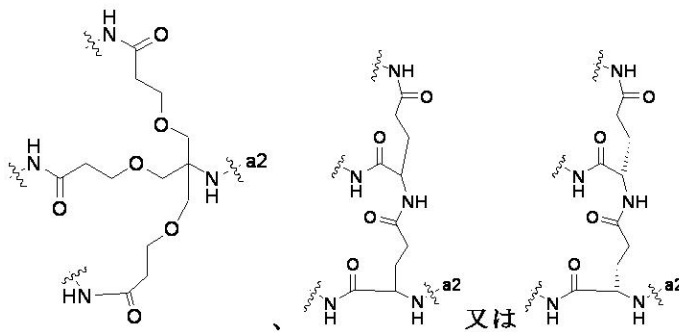


であり、 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{b4} 、 R_{b5} 、 R_{b6} と R_{b7} は独立的に $-C(=O)-$ 又は $-NH-C(=O)-$ であり、 $a2$ 末端のN原子は L_1 に連結され、

10

好ましくは、 B は

【化 10】



20

である、

請求項 1～7 のいずれか一項に記載のリガンド。

【請求項 9】

L_2 は L_4 又は $L_4-R_{13}-R_{14}-L_4$ であり、そのうち、 L_4 は独立的に $C_1 \sim C_{12}$ アルキル鎖又は $-(CH_2)_{j5}-(OCH_2CH_2)_{1-4}-(CH_2)_{j6}-$ であり、 R_{13} と R_{14} は独立的に化学結合、 $-NR_{15}-$ 、 $-C(=O)-$ 又は $-OC(=O)-$ であり、 R_{15} は独立的に水素又は $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基であり、 j_5 と j_6 は独立的に0～10の整数であり、好ましくは0～6の整数、より好ましくは0、1、2、3又は4である、

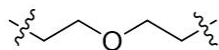
30

請求項 1～8 のいずれか一項に記載のリガンド。

【請求項 10】

L_2 は $-(CH_2)_{j5}-(OCH_2CH_2)_{1-4}-(CH_2)_{j6}-$ であり、好ましくは

【化 11】



である、

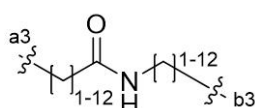
請求項 9 に記載のリガンド。

40

【請求項 11】

L_2 は

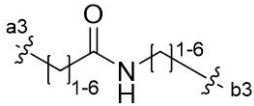
【化 12】



であり、好ましくは

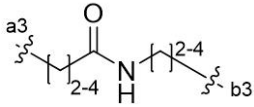
50

【化 1 3】



、より好ましくは

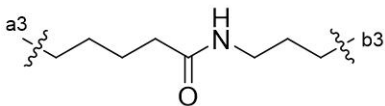
【化 1 4】



10

、更に好ましくは

【化 1 5】



であり、そのうち、a 3 末端は O に連結され、b 3 末端は B に連結される、
請求項 9 に記載のリガンド。

【請求項 1 2】

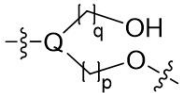
20

r は 3 である、

請求項 1 ～ 1 1 のいずれか一項に記載のリガンド。

【請求項 1 3】

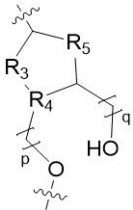
【化 1 6】



は

【化 1 7】

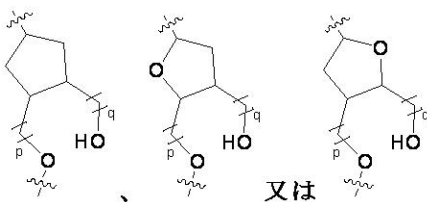
30



であり、好ましくは

【化 1 8】

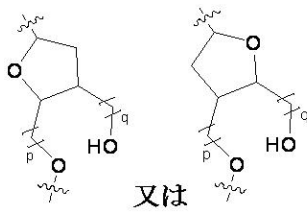
40



、より好ましくは

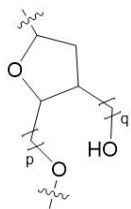
50

【化 1 9】



、更に好ましくは

【化 2 0】

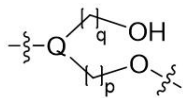


である、

請求項 1 ～ 1 2 のいずれか一項に記載のリガンド。

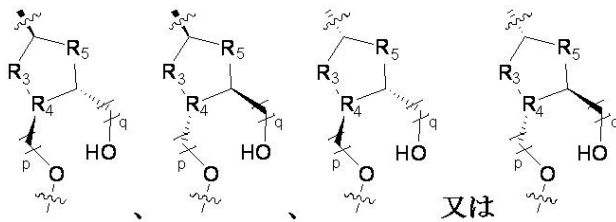
【請求項 1 4】

【化 2 1】



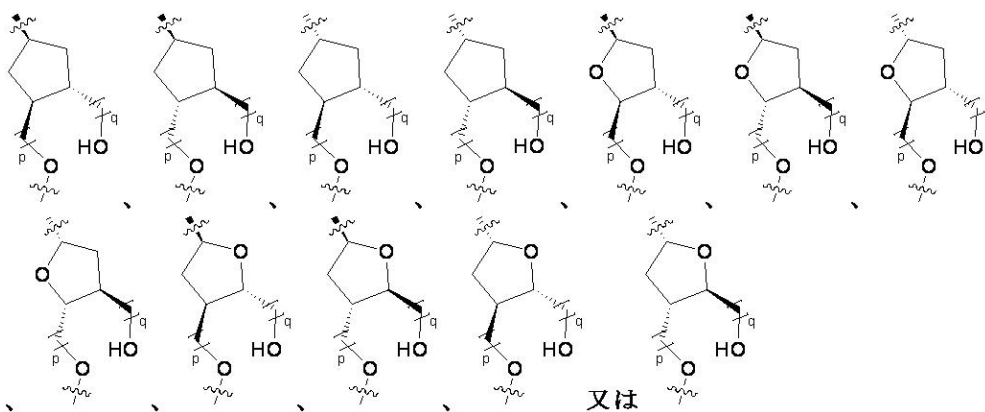
は

【化 2 2】



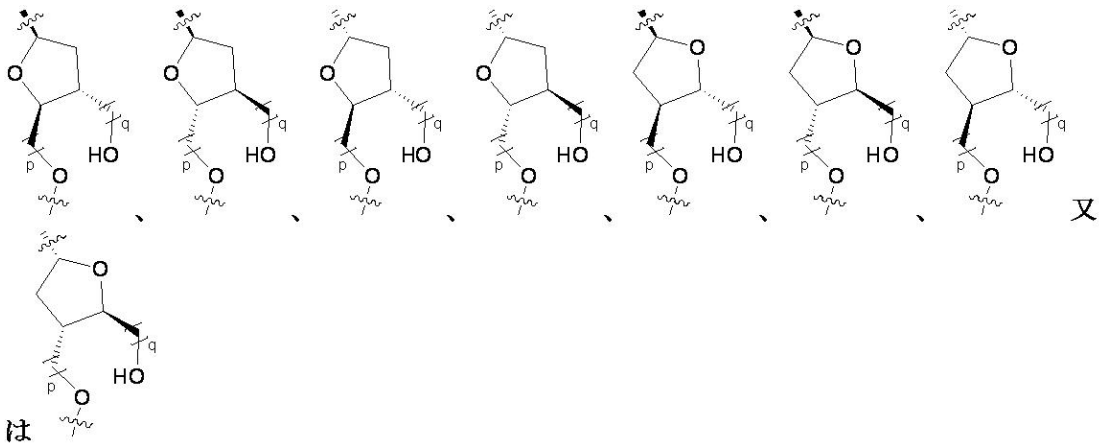
であり、好ましくは

【化 2 3】



、より好ましくは

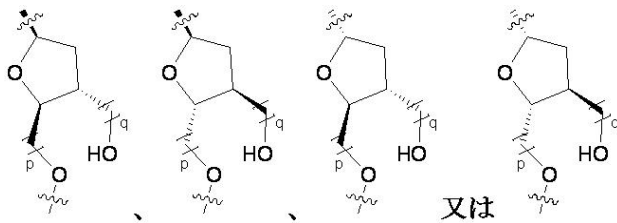
【化 2 4】



10

、更に好ましくは

【化 2 5】



20

である、

請求項 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載のリガンド。

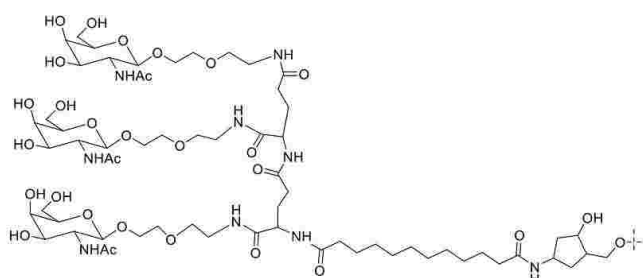
【請求項 1 5】

30

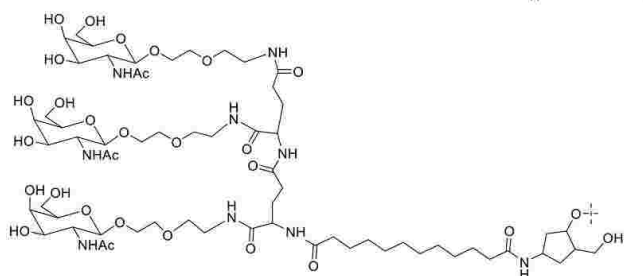
40

50

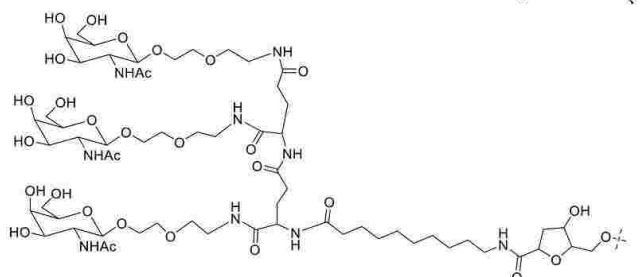
【化 2 6】



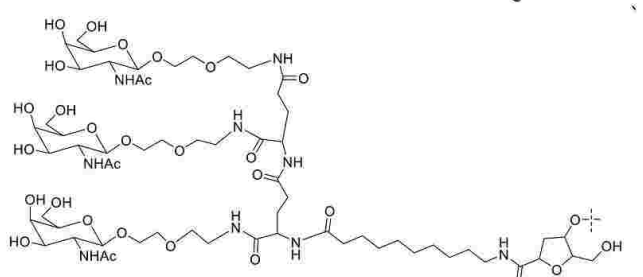
10



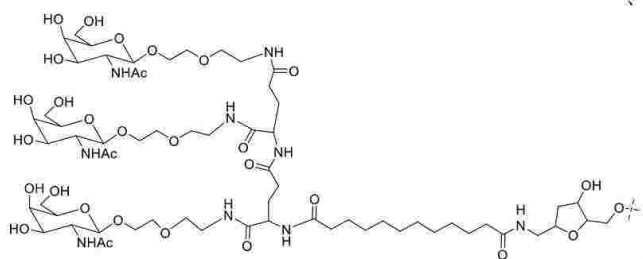
20



30

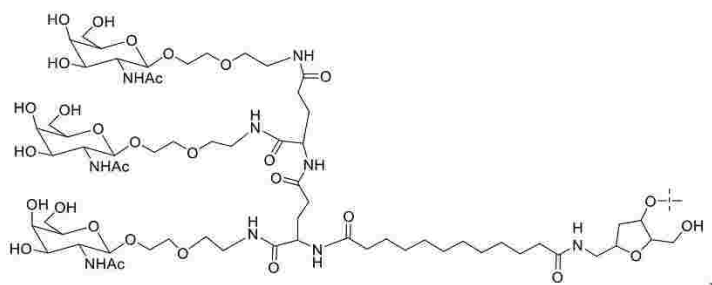


40

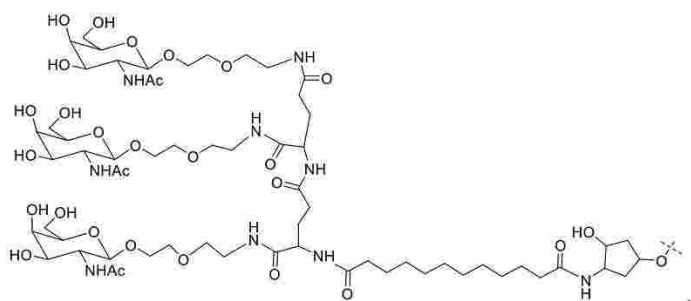


50

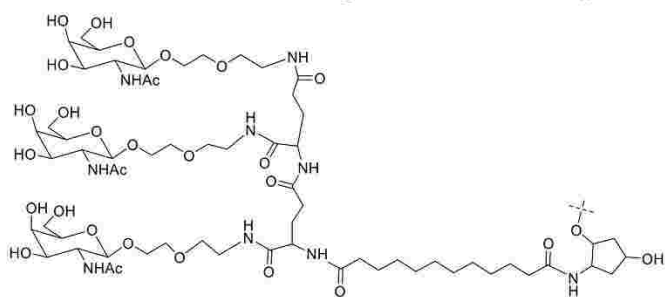
【化 2 7】



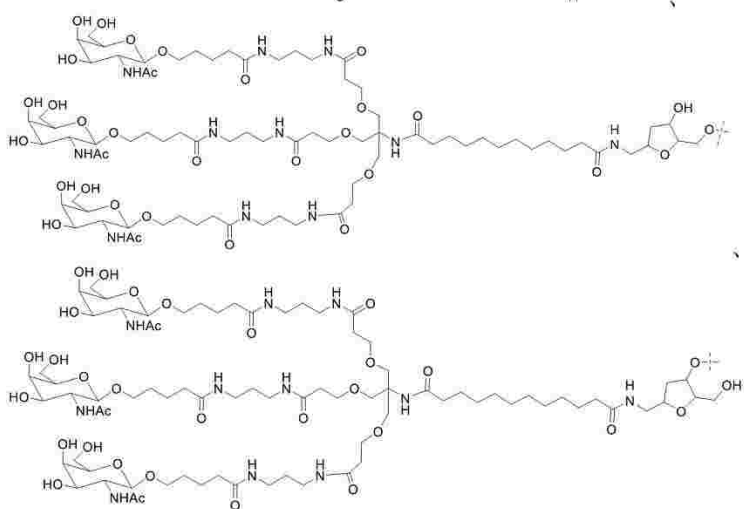
10



20



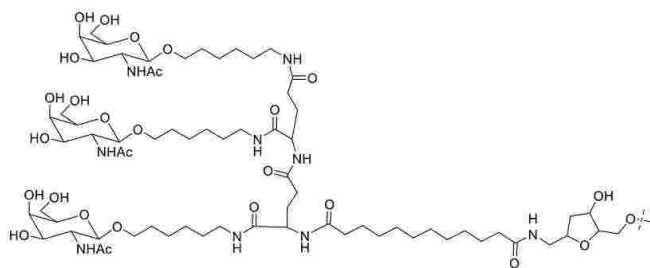
30



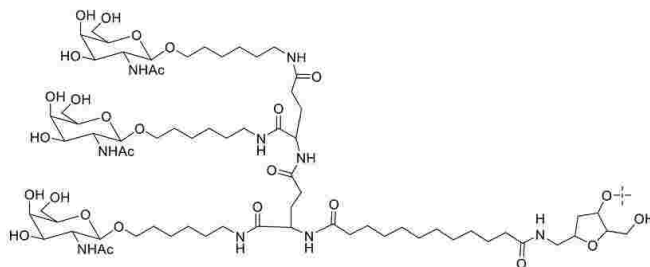
40

50

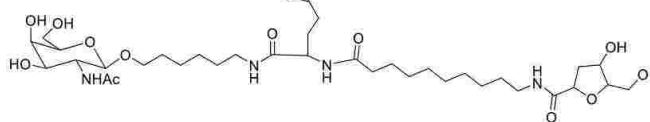
【化 2 8】



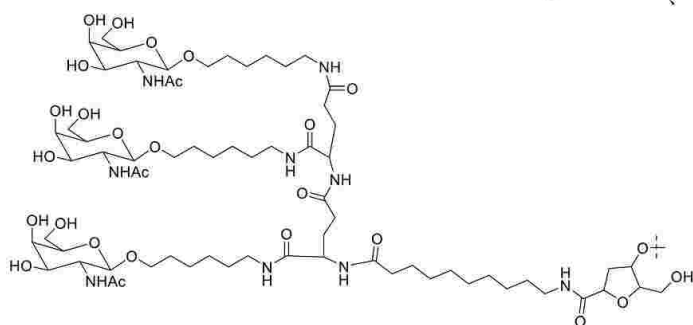
10



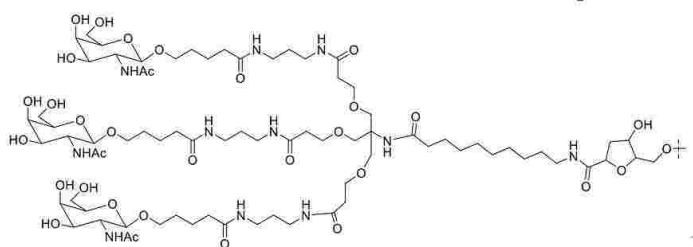
20



30



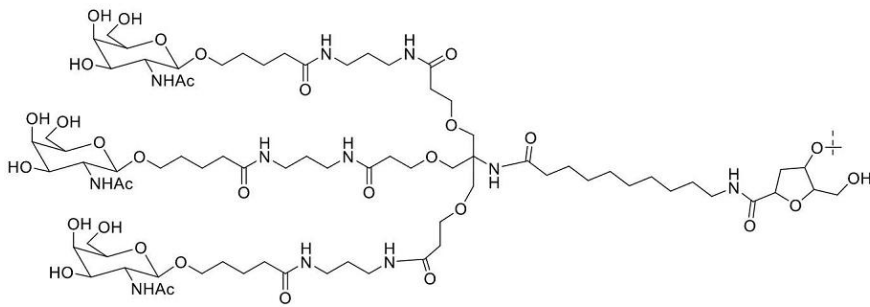
40



又は

50

【化 2 9】



10

という構造のいずれか 1 つである、
請求項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載のリガンド。
【請求項 1 6】

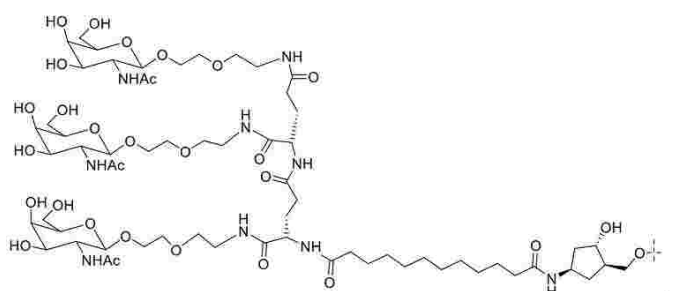
20

30

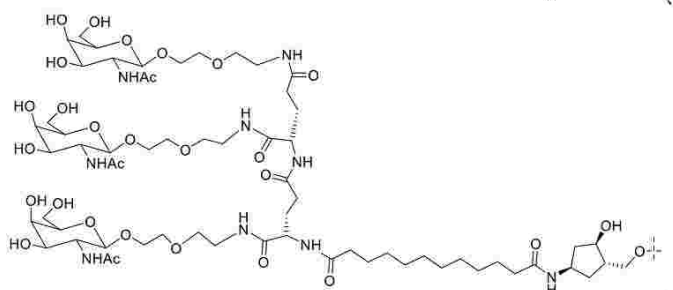
40

50

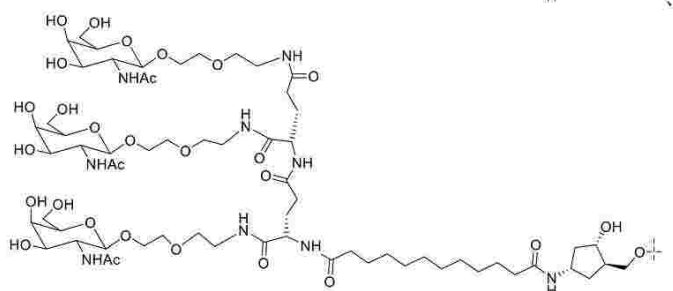
【化 3 0】



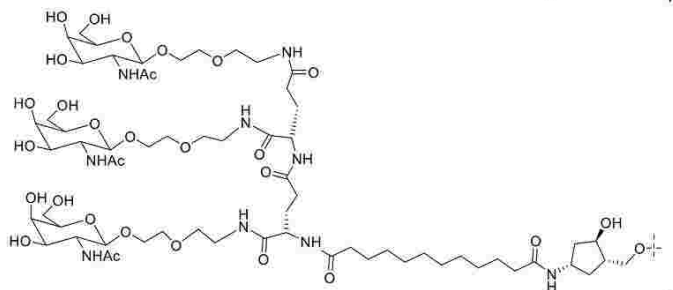
10



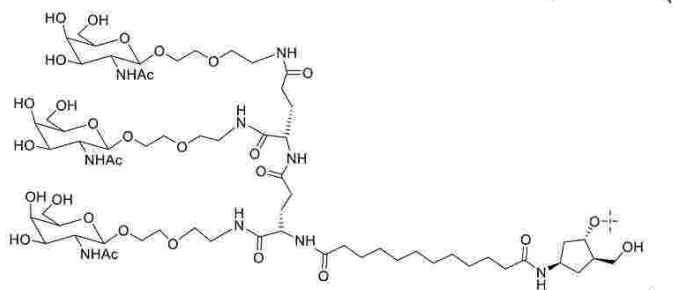
20



30

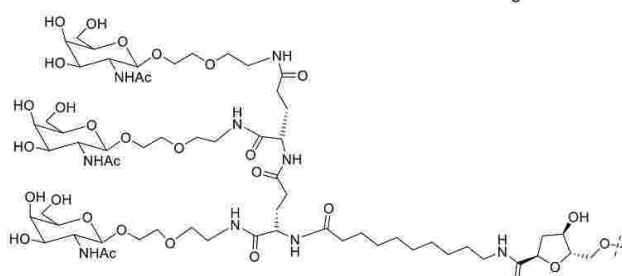
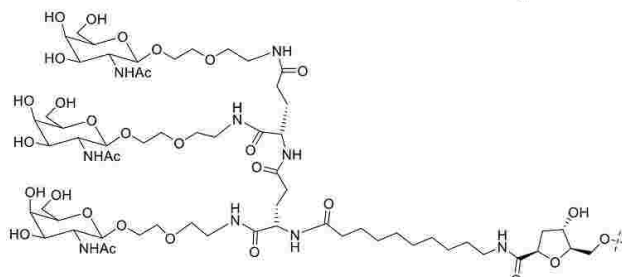
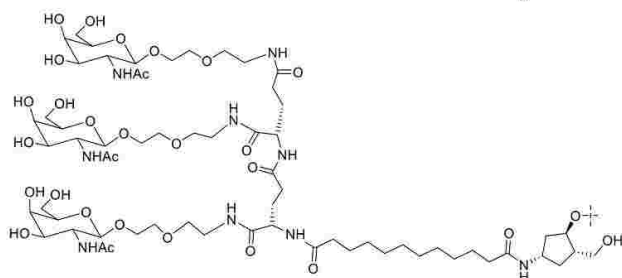
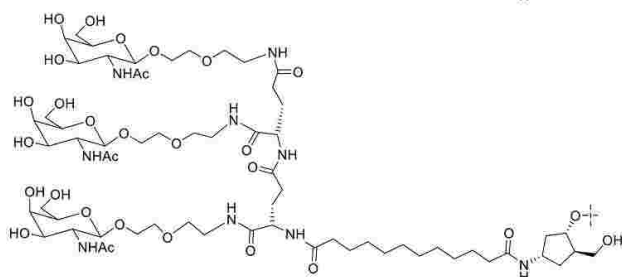
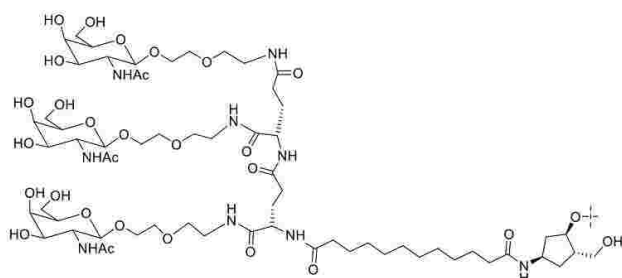


40

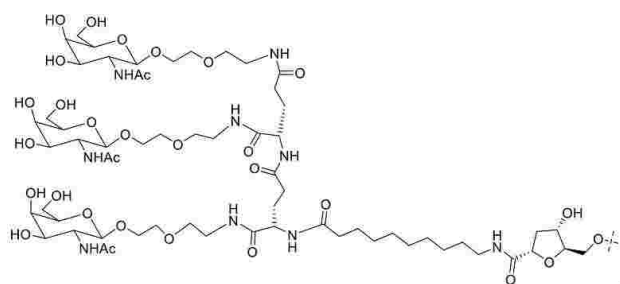


50

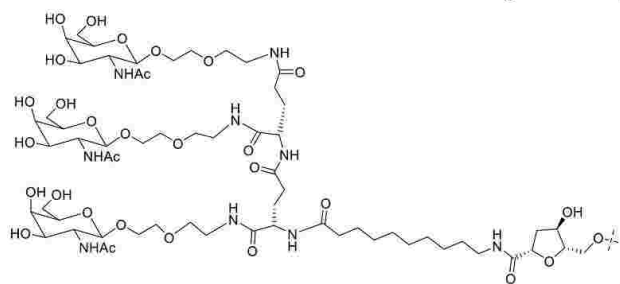
10



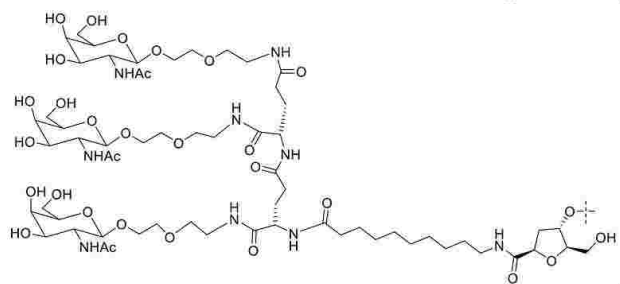
【化 3 2】



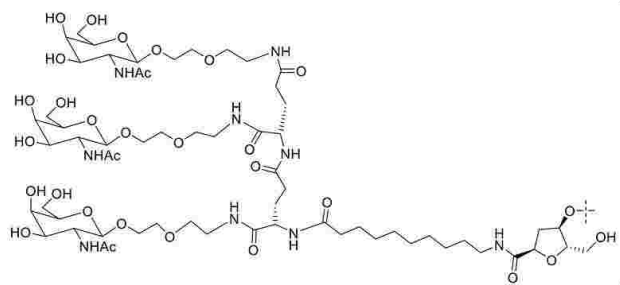
10



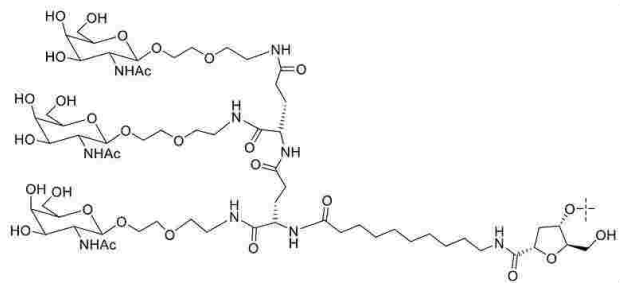
20



30

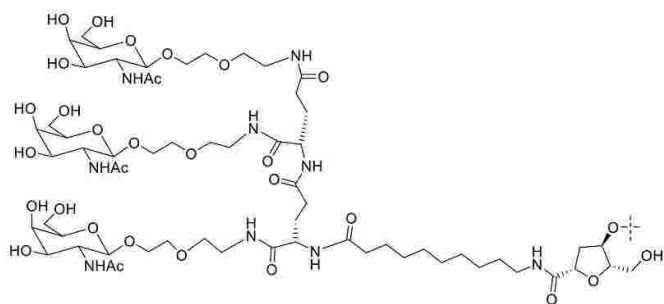


40

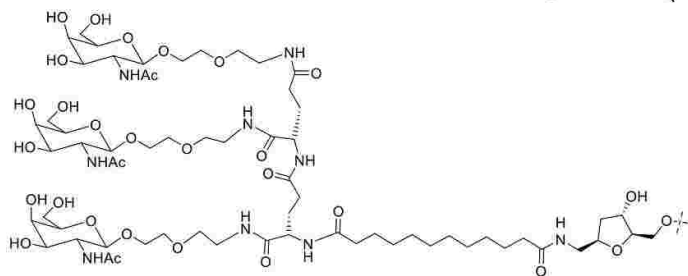


50

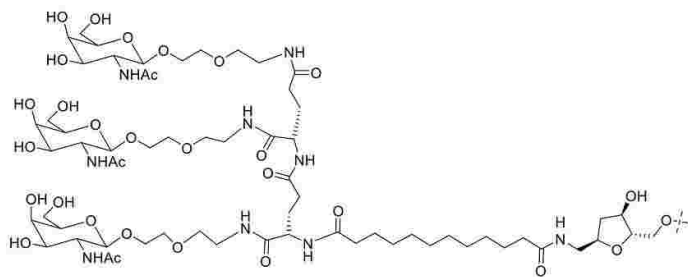
【化 3 3】



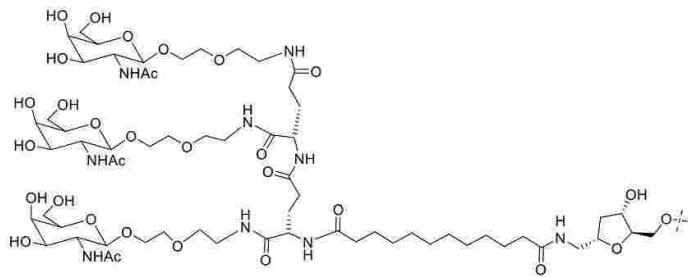
10



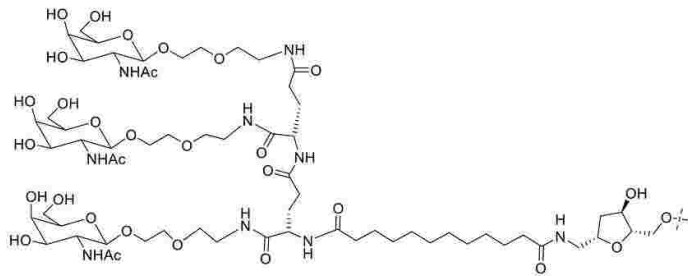
20



30

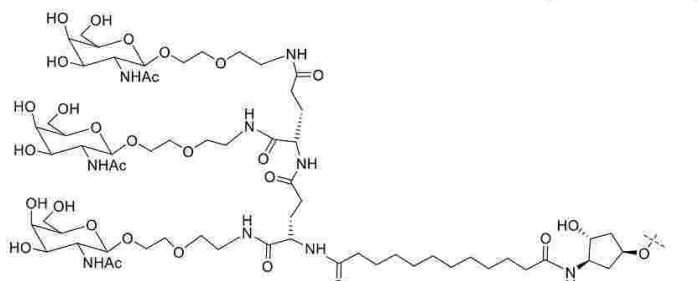
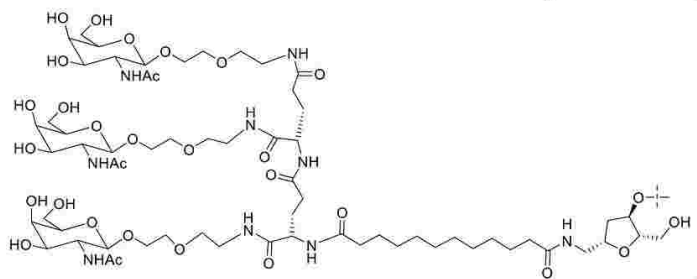
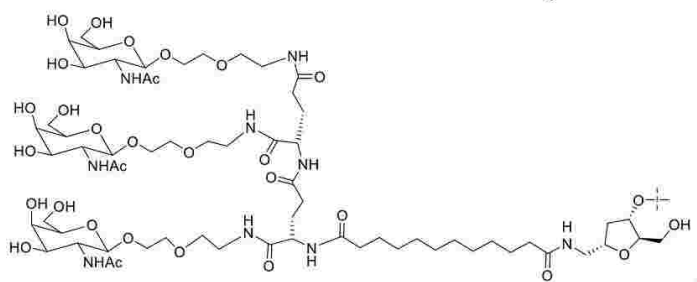
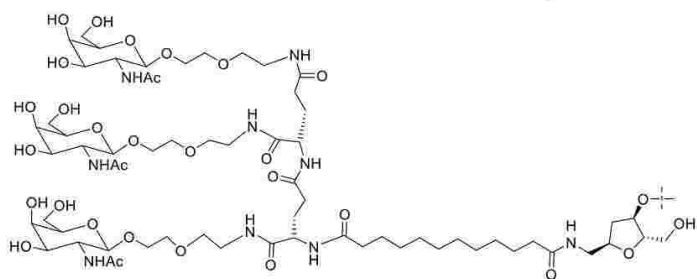
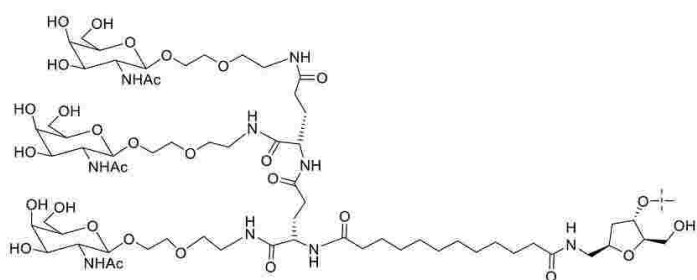


40

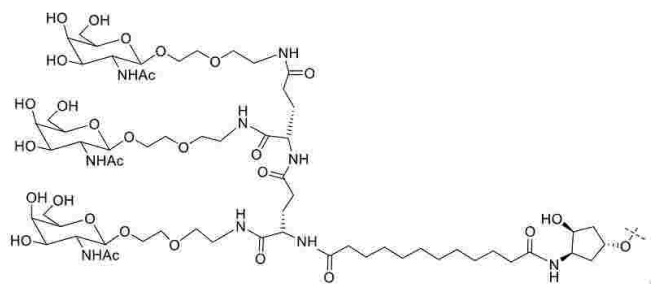


50

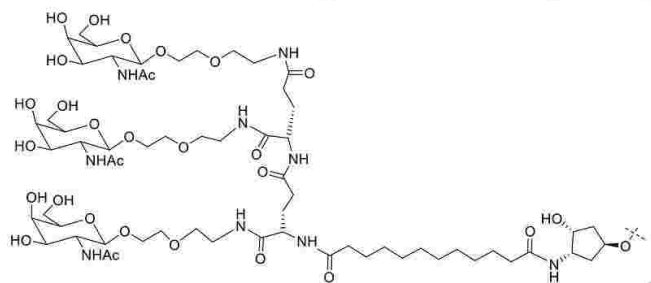
10



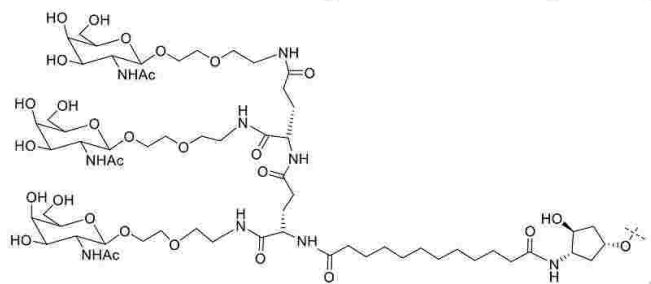
【化 3 5】



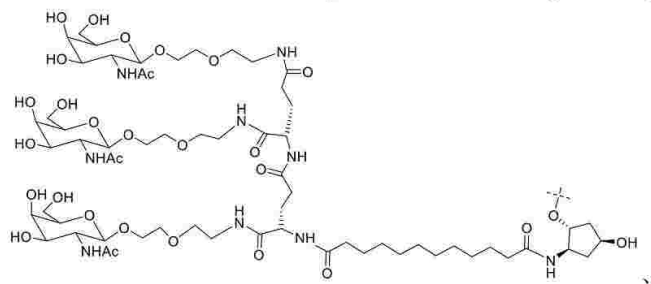
10



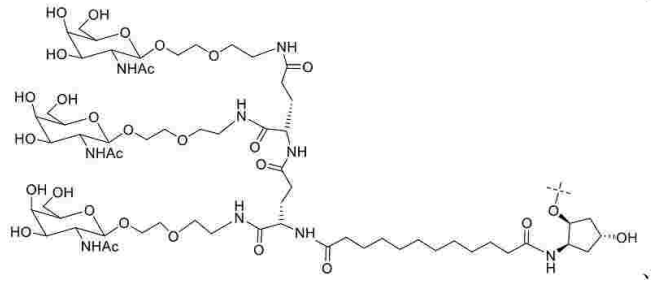
20



30

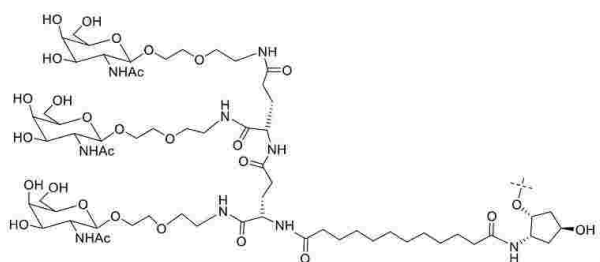


40

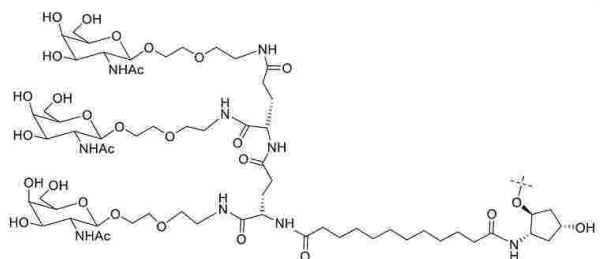


50

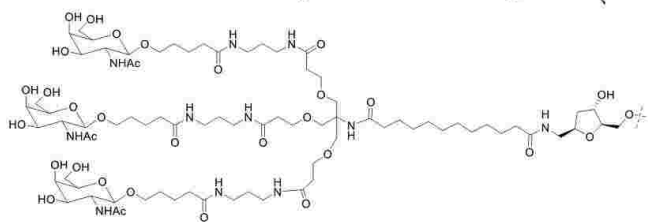
【化 3 6】



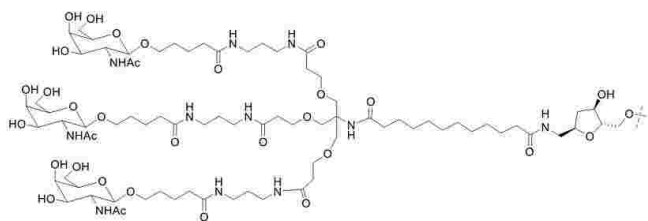
10



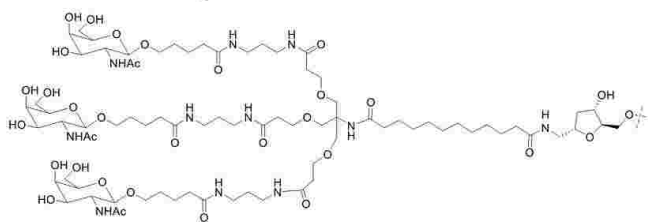
20



30

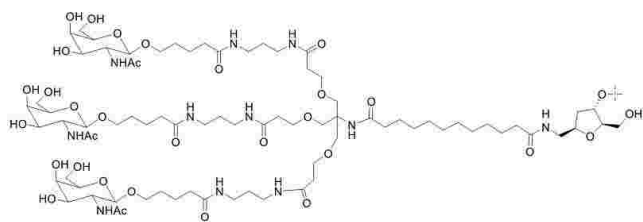


40

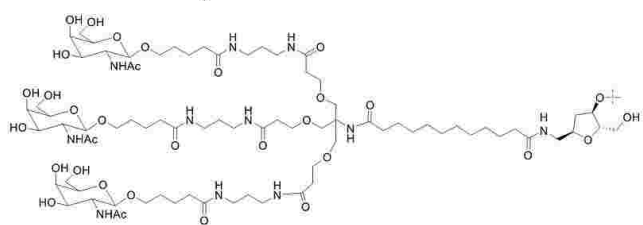


50

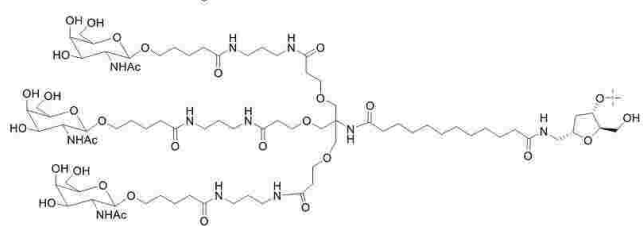
【化 3 7】



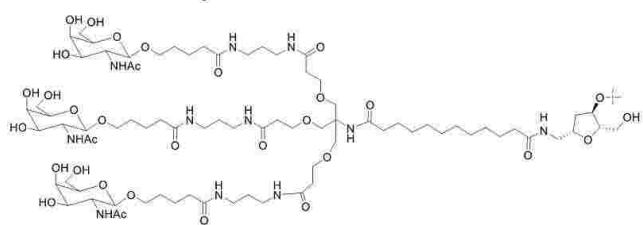
10



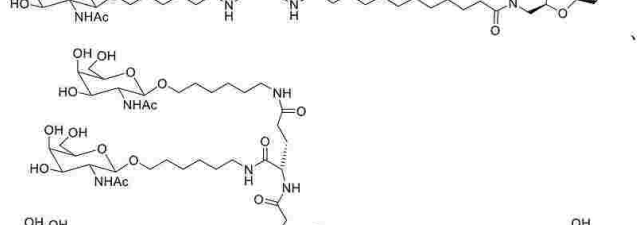
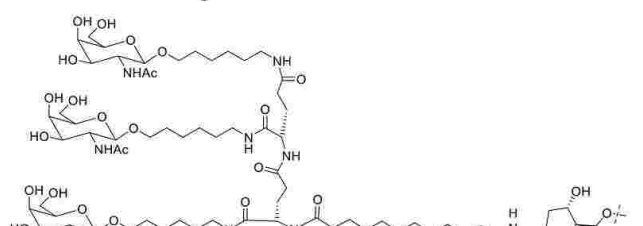
20



30

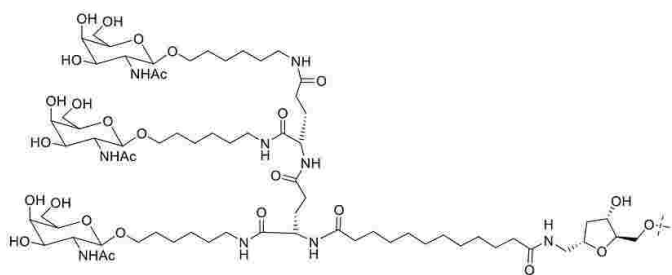


40

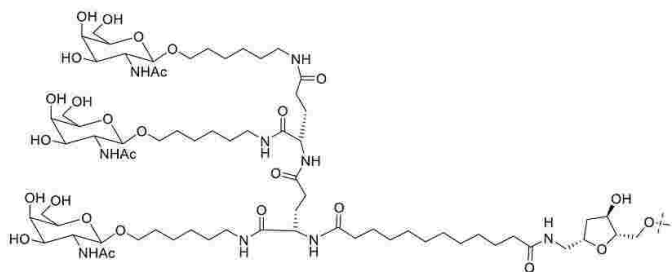


50

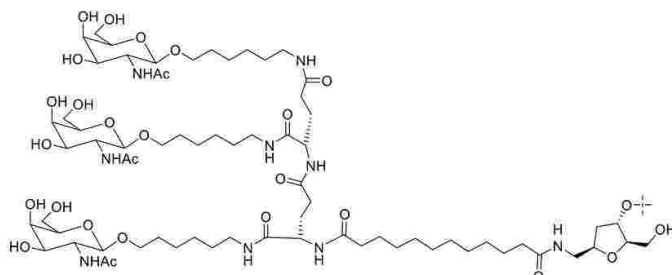
【化 3 8】



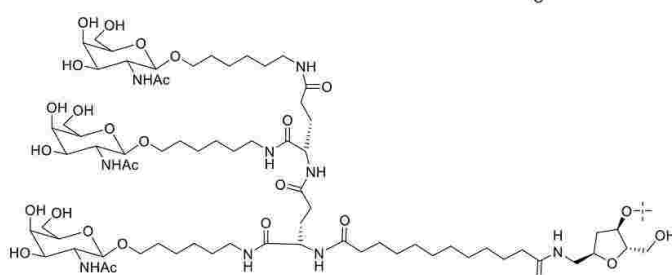
10



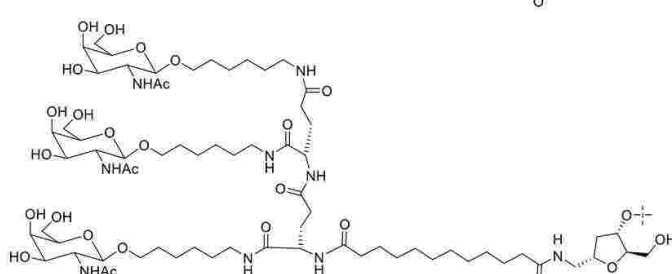
20



30

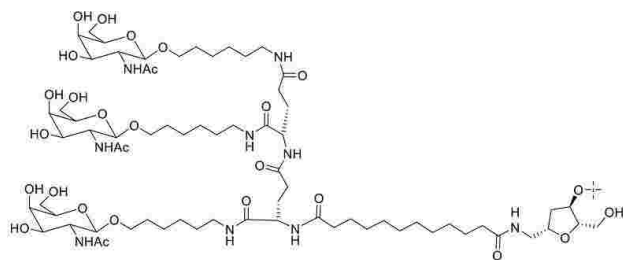


40

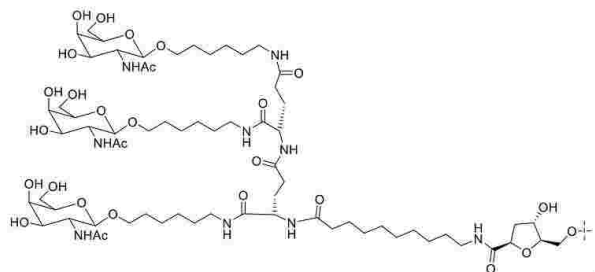


50

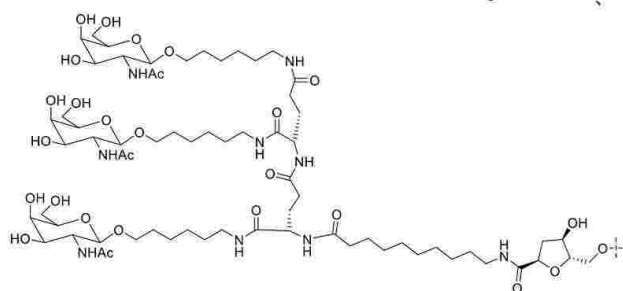
【化 3 9】



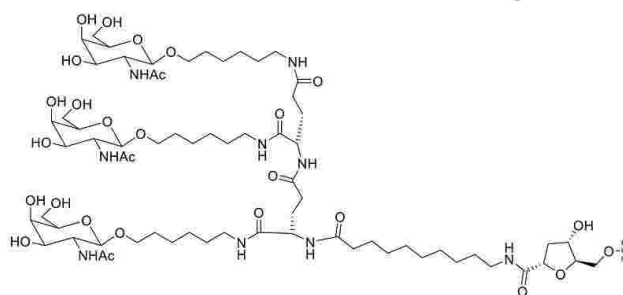
10



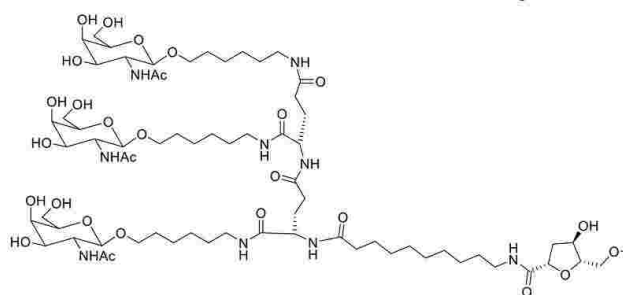
20



30

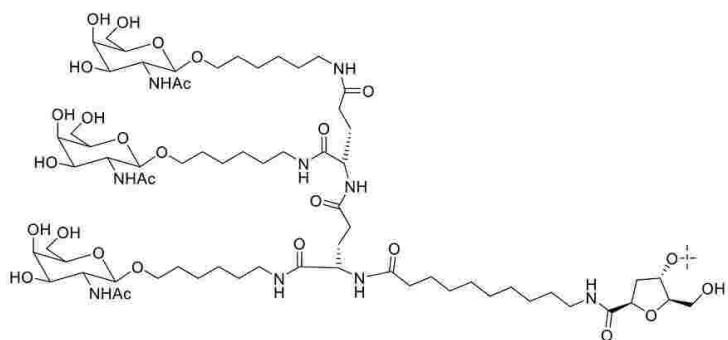


40

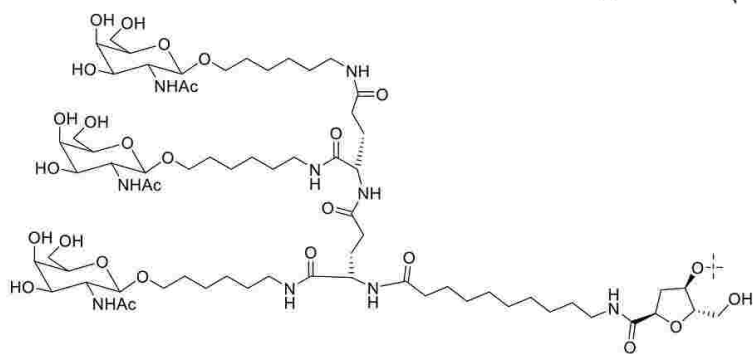


50

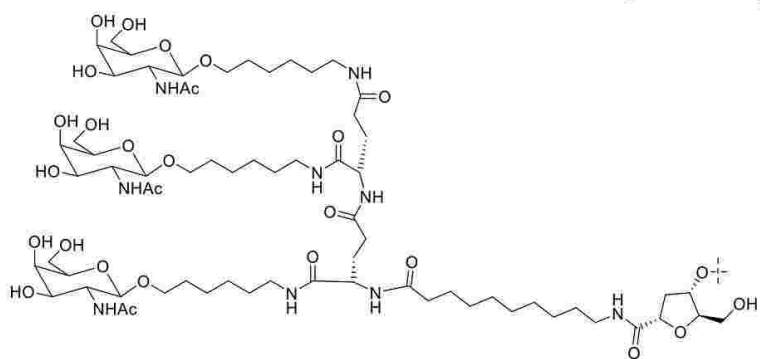
【化 4 0】



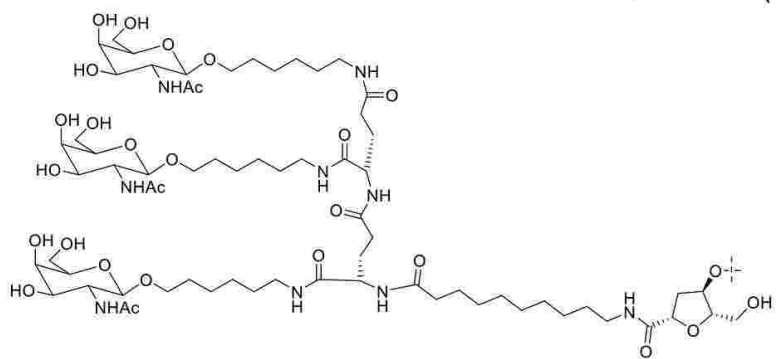
10



20



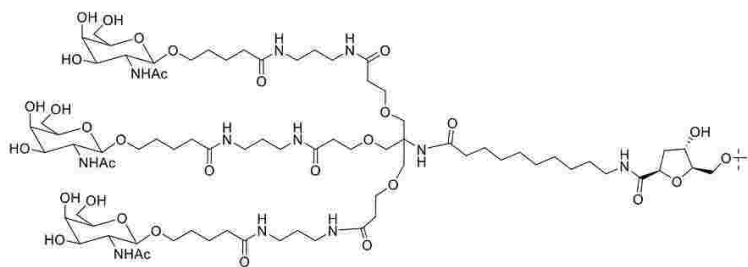
30



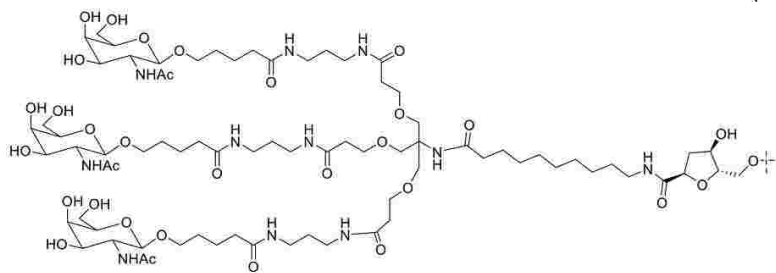
40

50

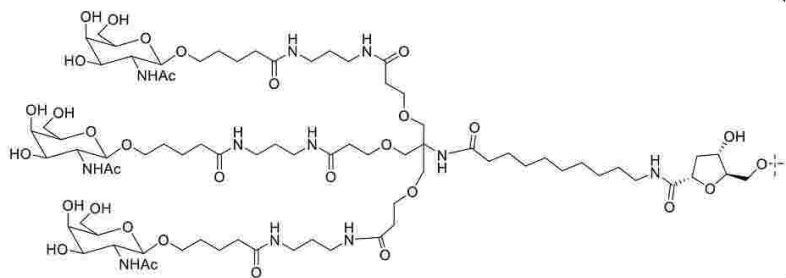
【化 4 1】



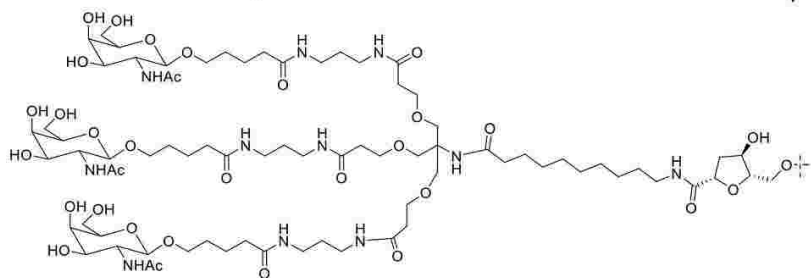
10



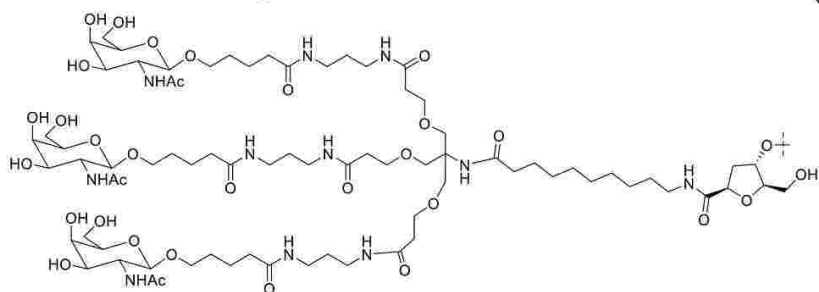
20



30

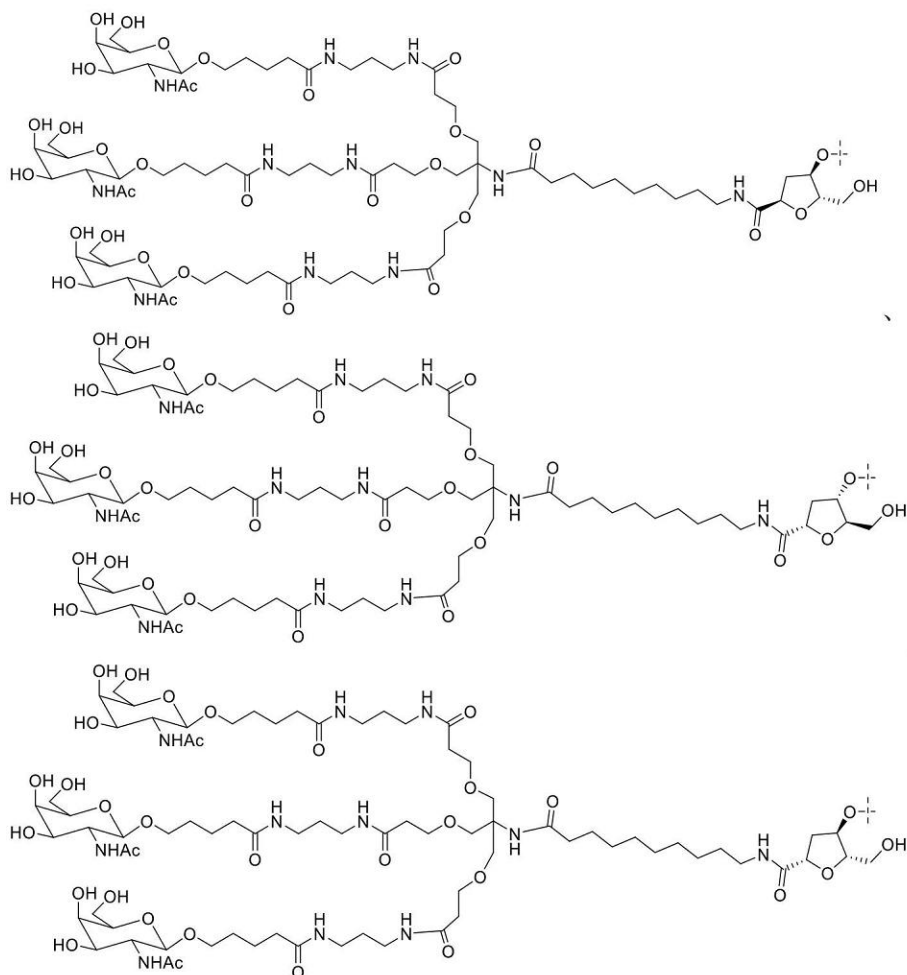


40



50

【化 4 2】



10

20

又は

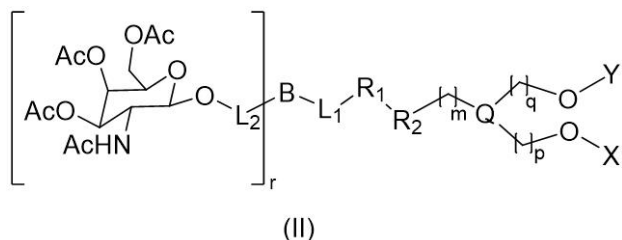
30

という構造のいずれか1つである、
請求項1～15のいずれか一項に記載のリガンド。

【請求項17】

式(I I)で示される化合物であって、

【化 4 3】



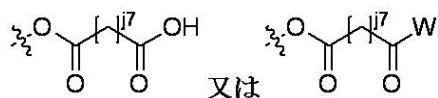
40

(II)

そのうち、Xはヒドロキシ保護基であり、前記ヒドロキシ保護基はエステル保護基、アルコキシメチル保護基、アルキル保護基、シリル保護基又はアリール保護基が好ましく、MMTrとDMTrがより好ましく、DMTrが更に好ましく、

Yは水素、重水素、

【化 4 4】



又は

50

であり、

j 7 は 1、2、3 又は 4 であり、好ましくは 2 であり、

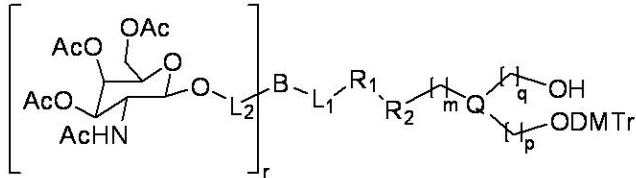
W は高分子化合物であり、好ましくは樹脂、より好ましくはマクロ孔質樹脂、更に好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂であり、

L₁、R₁、R₂、Q、B、L₂、m、p、q と r の定義は請求項 1～16 のいずれか一項に記載された通りである、

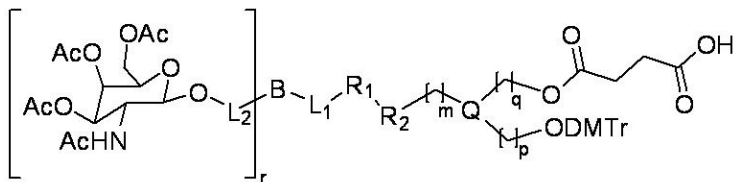
化合物。

【請求項 18】

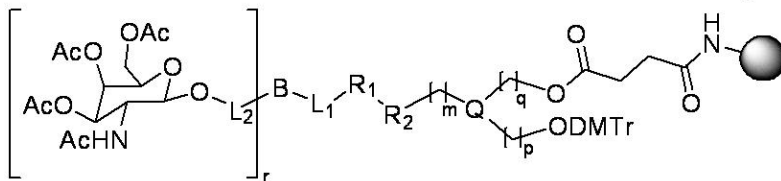
【化 45】



(II-1)



(II-2)



(II-3)

という式 (II-1)、(II-2) 又は (II-3) で示される化合物であり、

そのうち、

【化 46】



は樹脂であり、好ましくはマクロ孔質樹脂、より好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂であり、

L₁、R₁、R₂、B、L₂、m、p、q と r の定義は請求項 1～16 のいずれか一項に記載された通りである、

請求項 17 に記載の化合物。

【請求項 19】

10

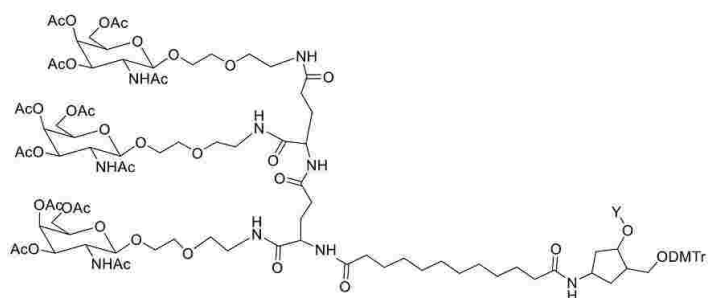
20

30

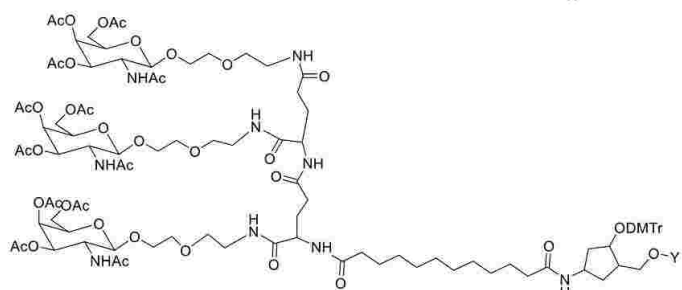
40

50

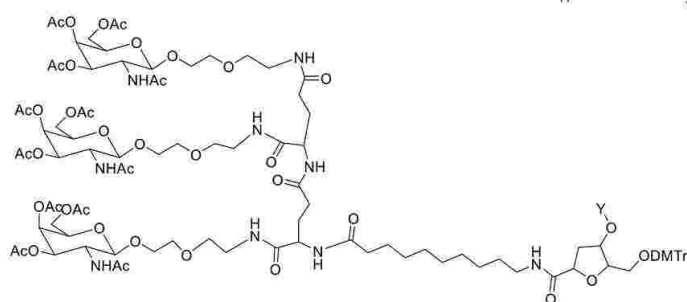
【化 4 7】



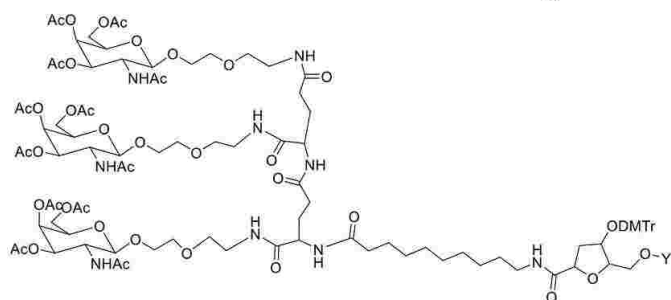
10



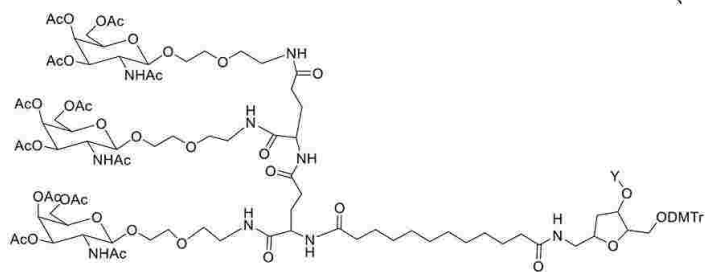
20



30

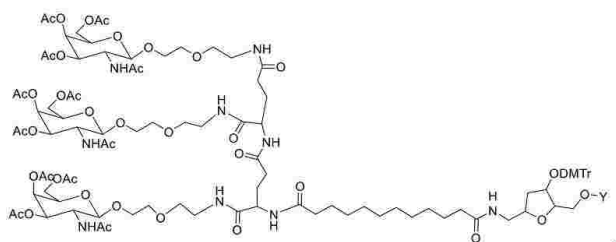


40

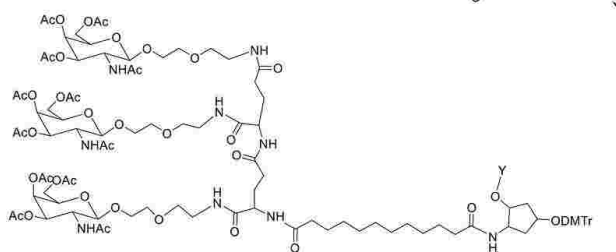


50

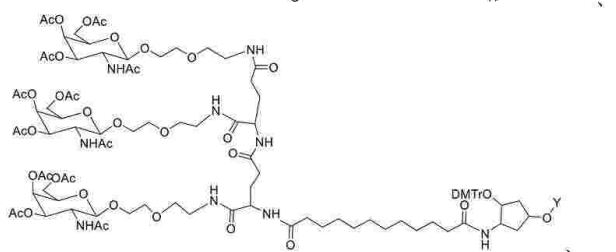
【化 4 8】



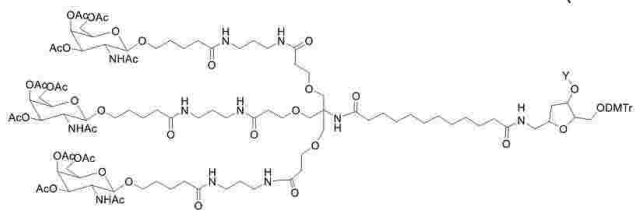
10



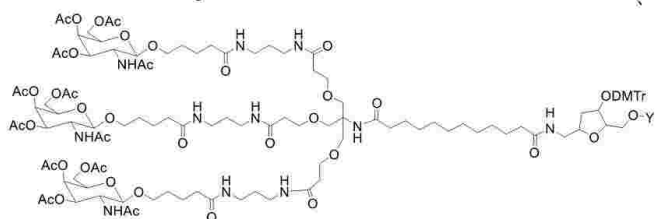
20



30

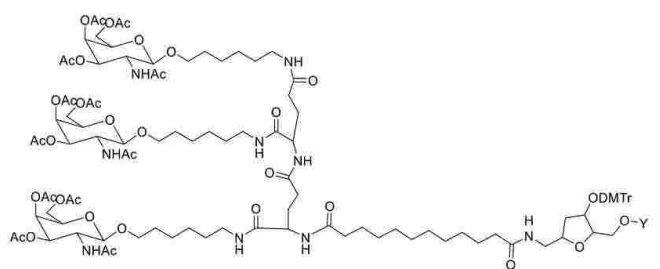


40

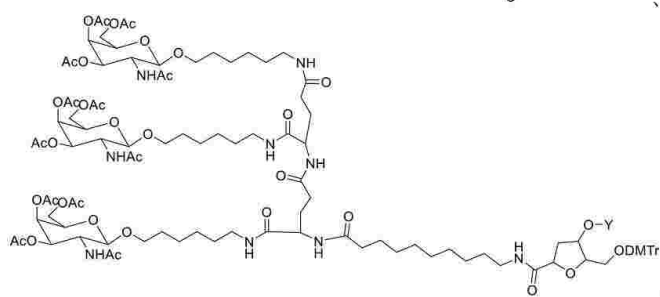


50

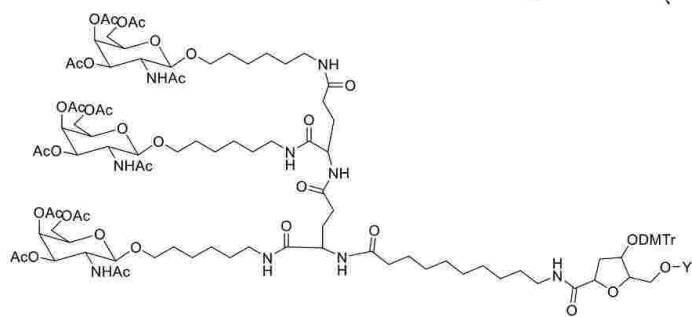
【化 4 9】



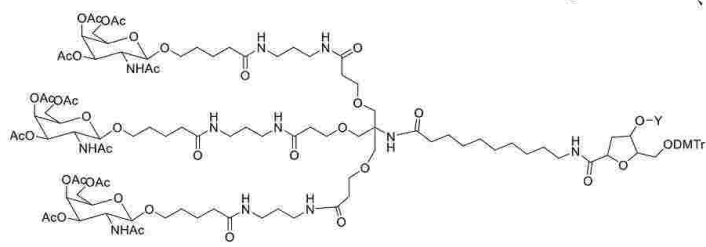
10



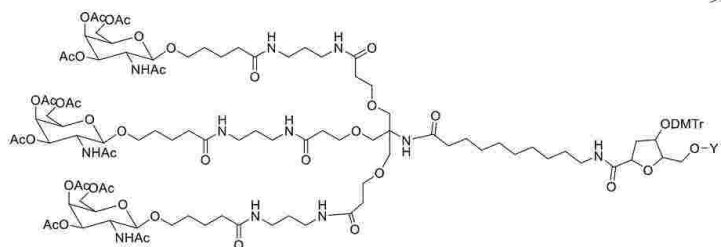
20



30



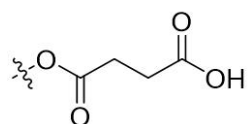
又は



40

という構造のいずれか 1 つであり、
そのうち、Y は水素又は

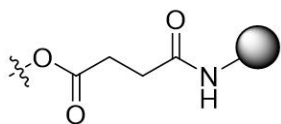
【化 5 0】



であり、
或いは、Y は

50

【化 5 1】



であり、

【化 5 2】



は樹脂であり、好ましくはマクロ孔質樹脂、より好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂である、

請求項 1 7 又は 1 8 に記載の化合物。

【請求項 2 0】

10

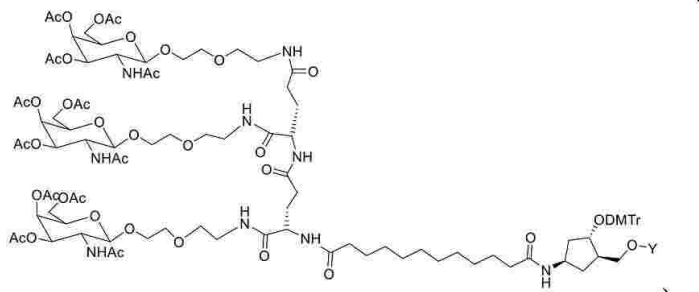
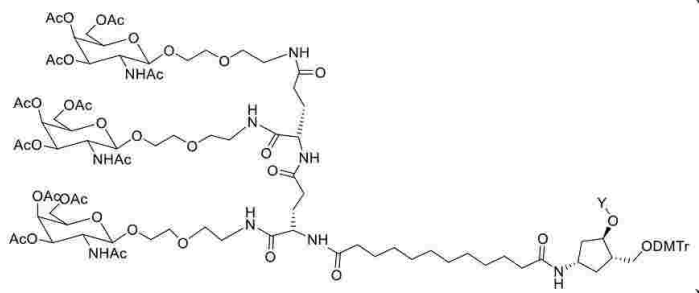
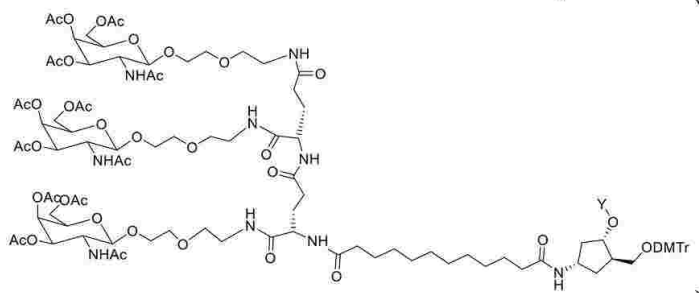
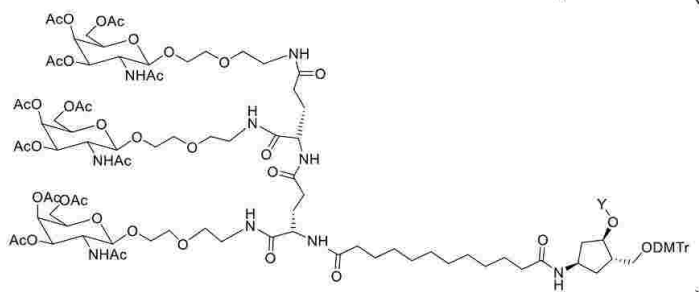
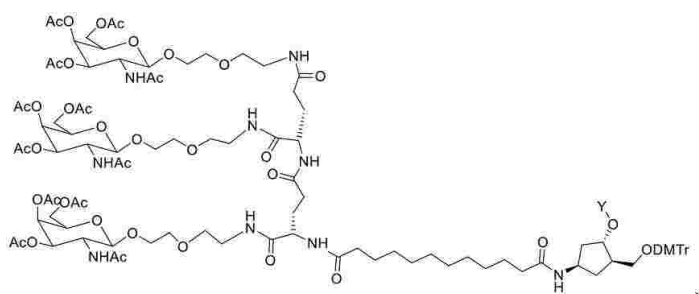
20

30

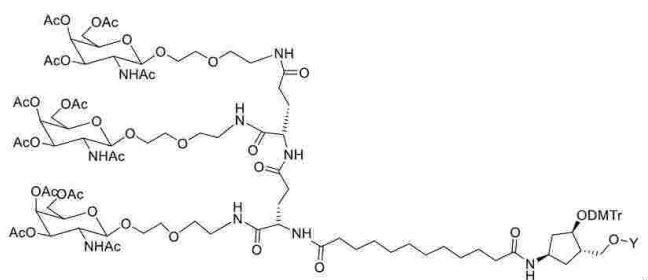
40

50

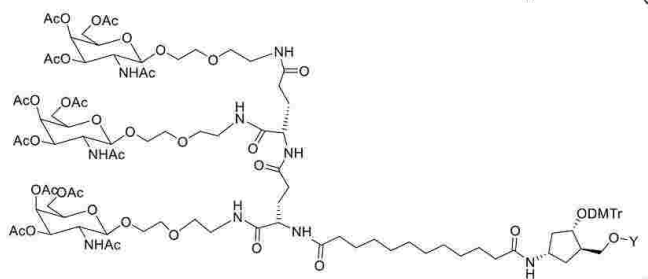
10



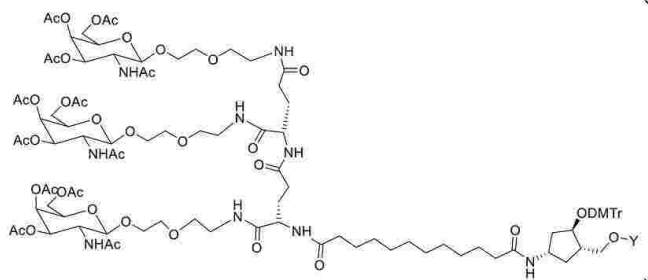
【化 5 4】



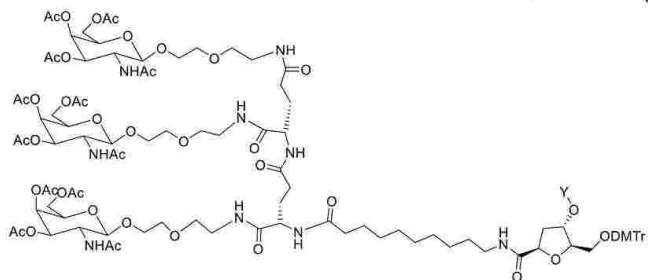
10



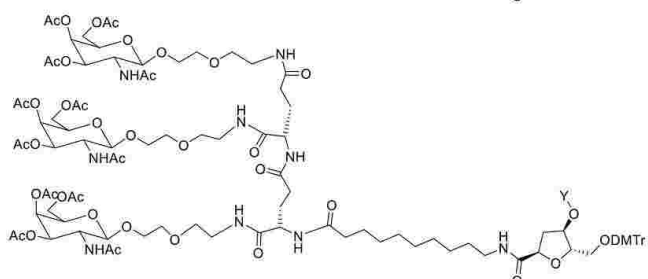
20



30

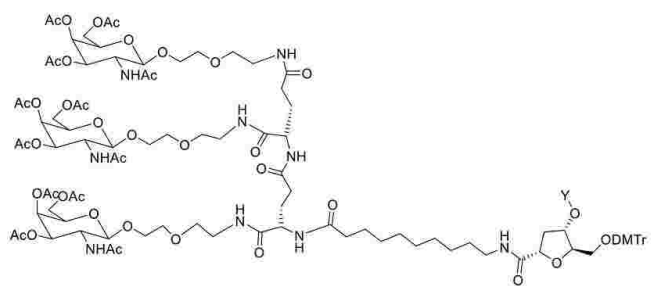


40

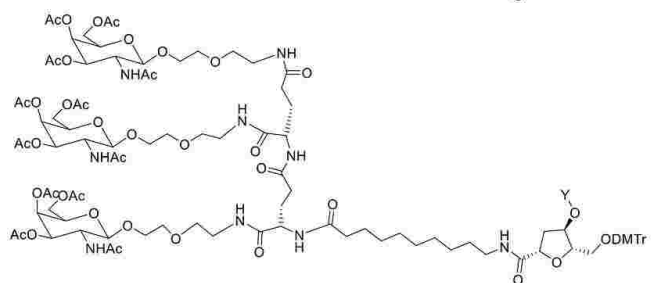


50

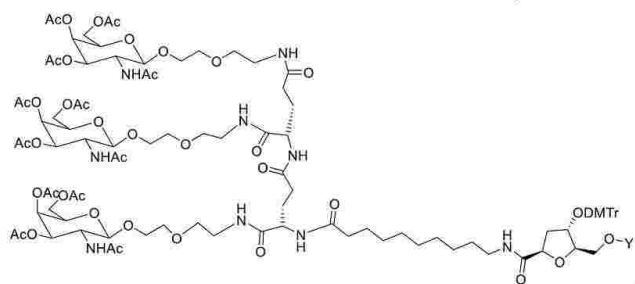
【化 5 5】



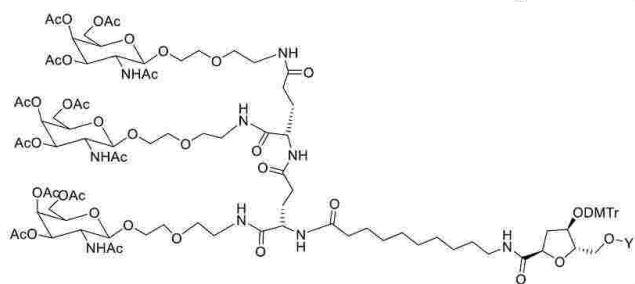
10



20



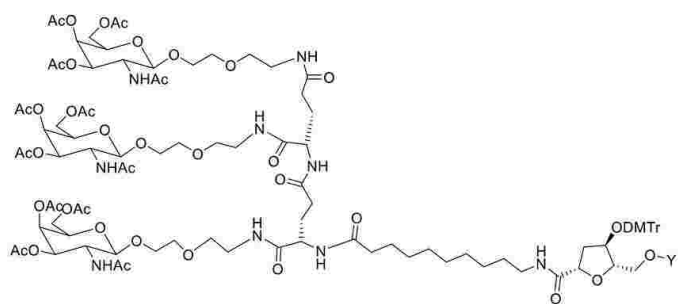
30



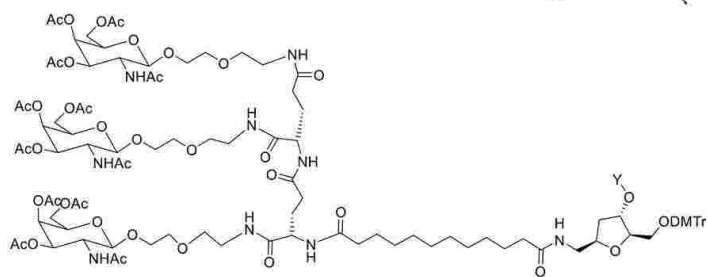
40

50

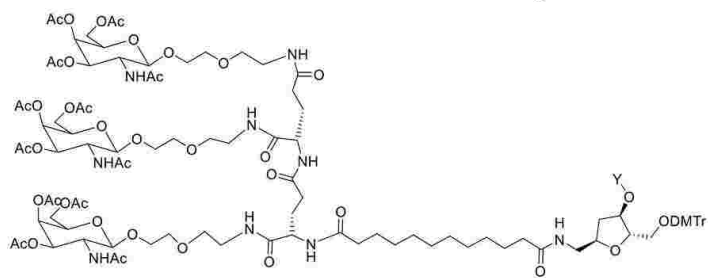
【化 5 6】



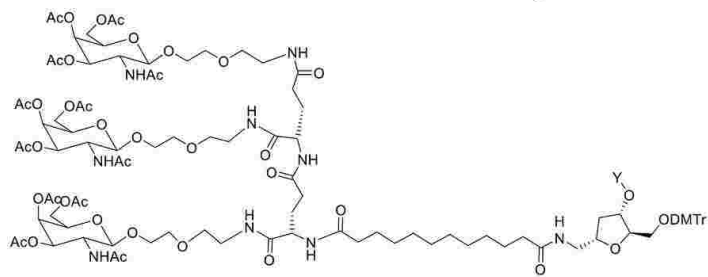
10



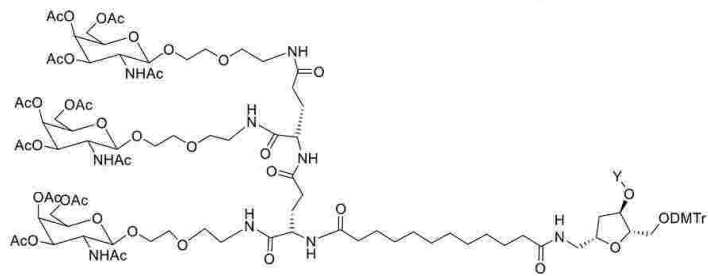
20



30

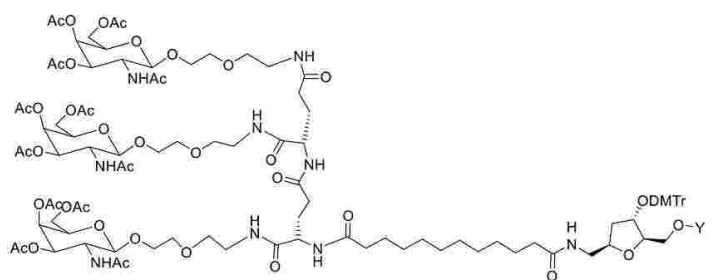


40

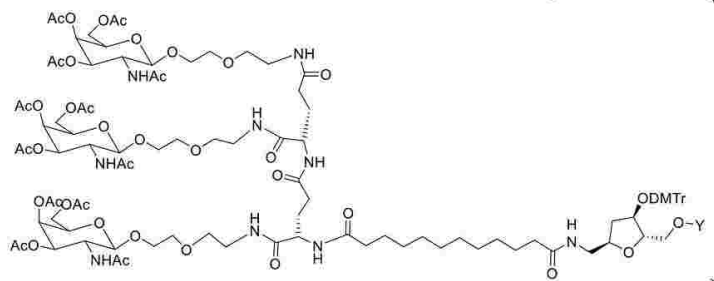


50

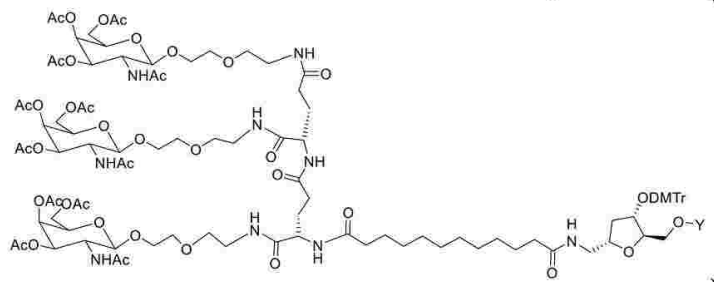
【化 5 7】



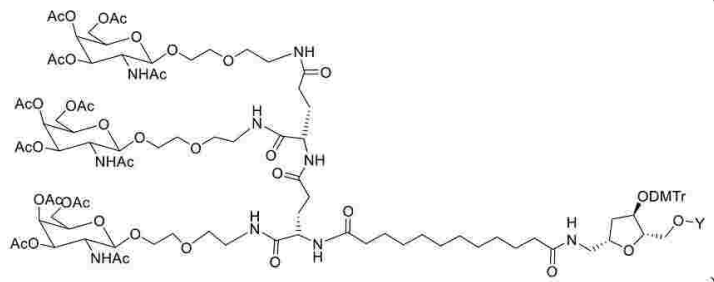
10



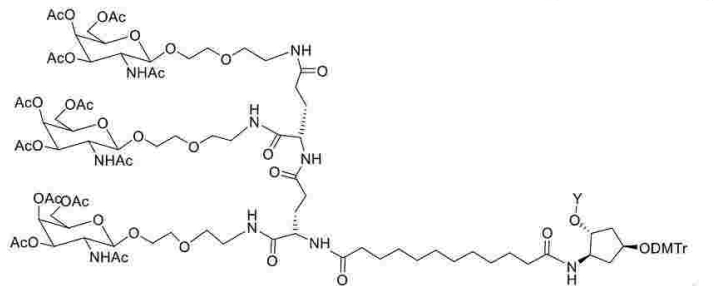
20



30

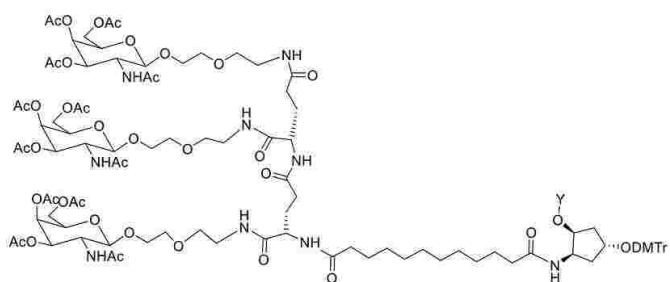


40

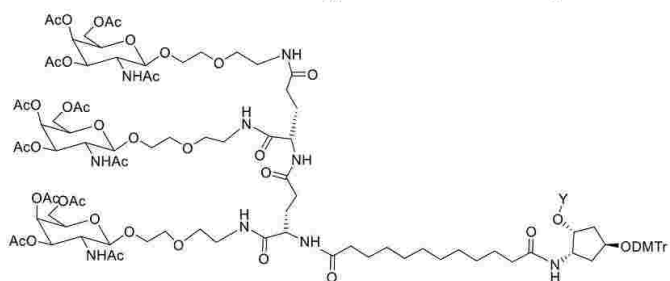


50

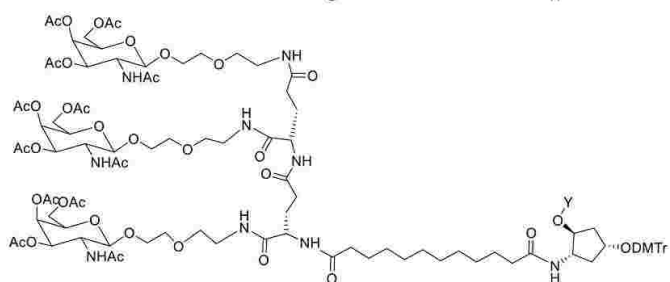
【化 5 8】



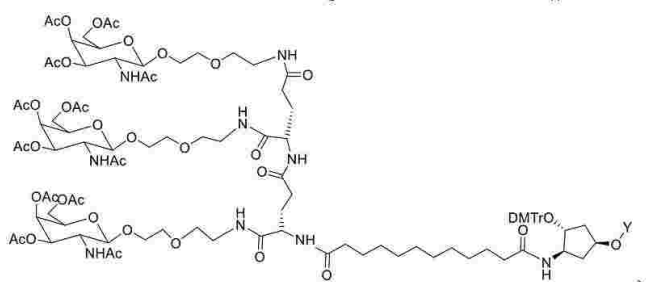
10



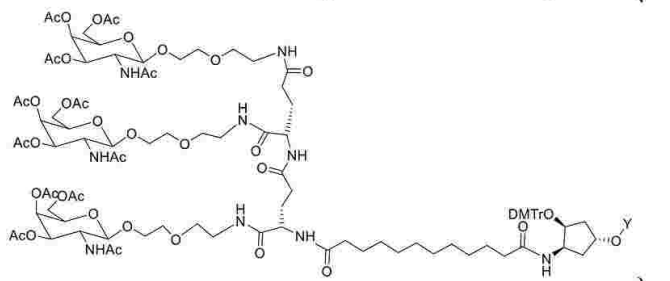
20



30

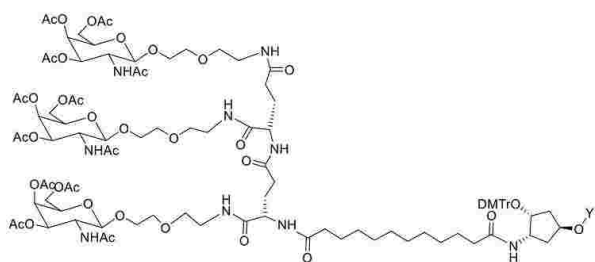


40

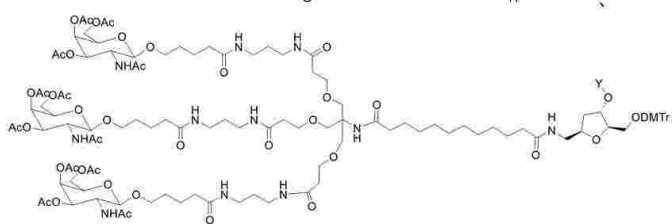
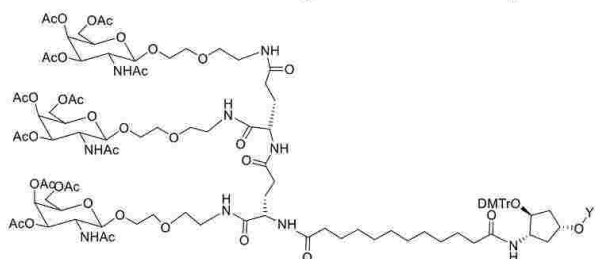


50

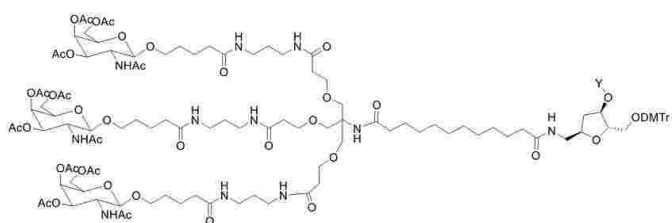
【化 5 9】



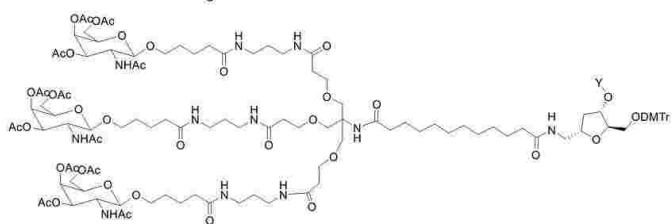
10



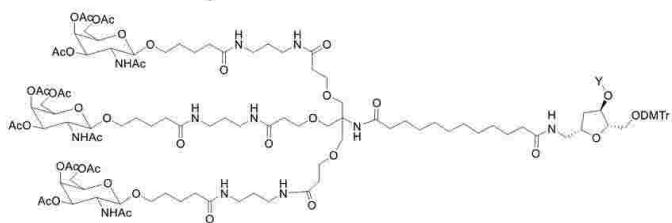
20



30

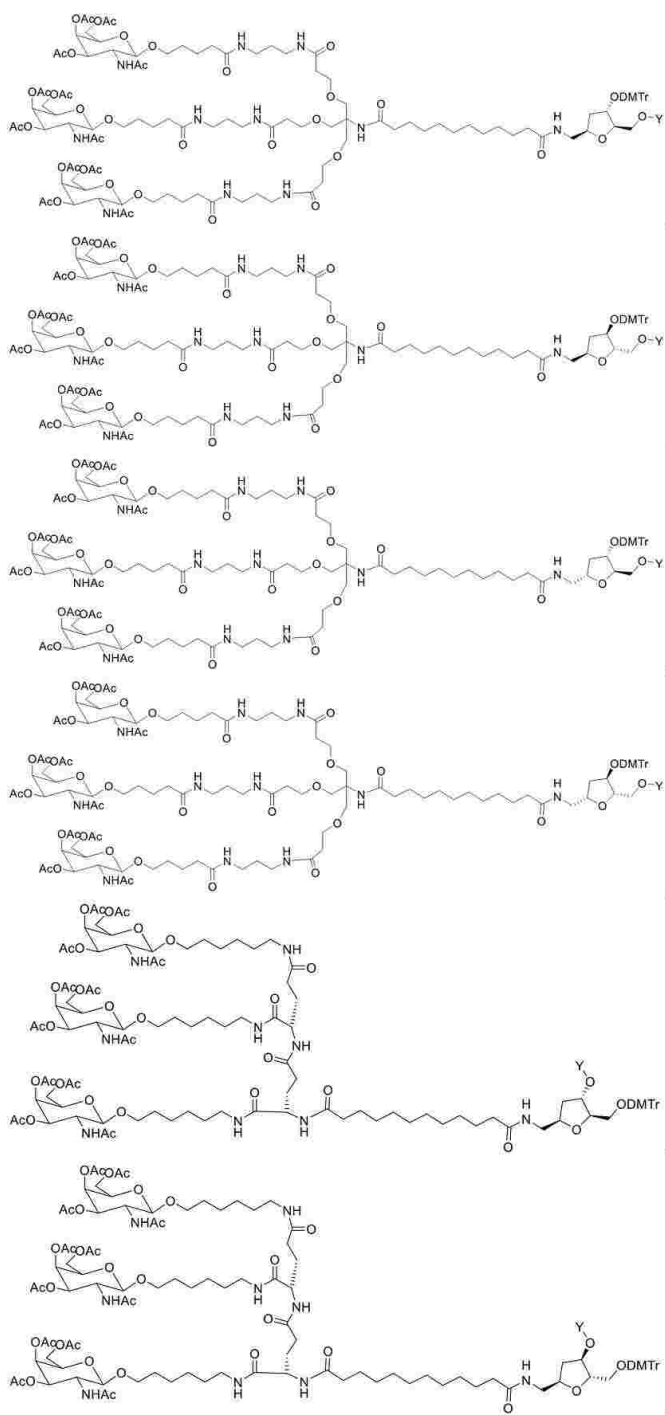


40



50

【化 6 0】



10

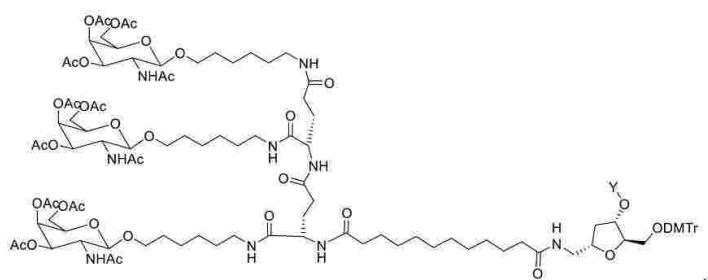
20

30

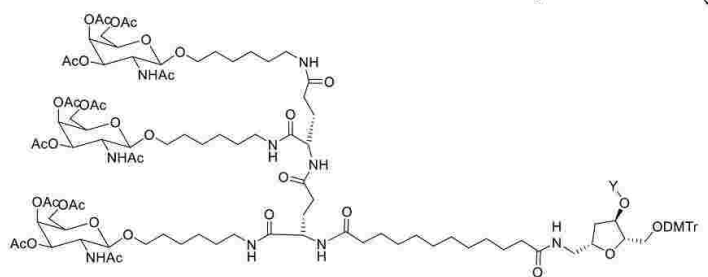
40

50

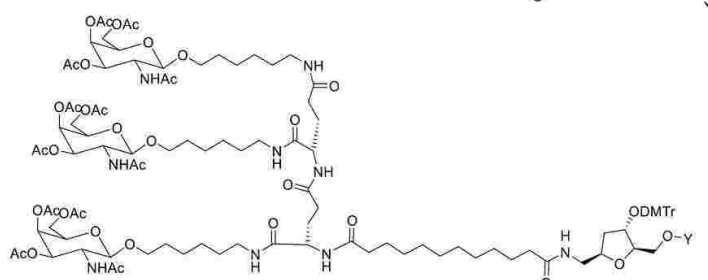
【化 6 1】



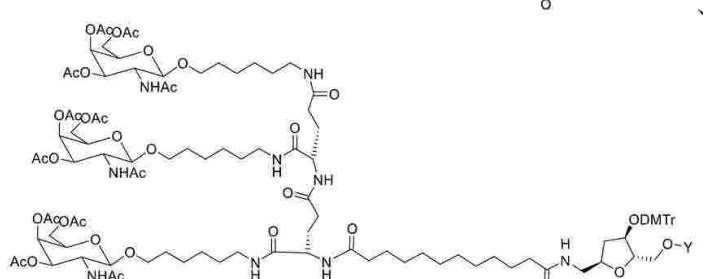
10



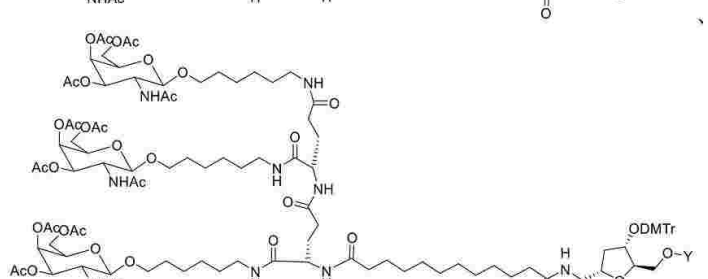
20



30

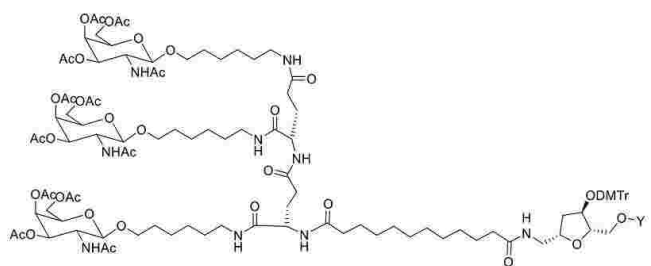


40

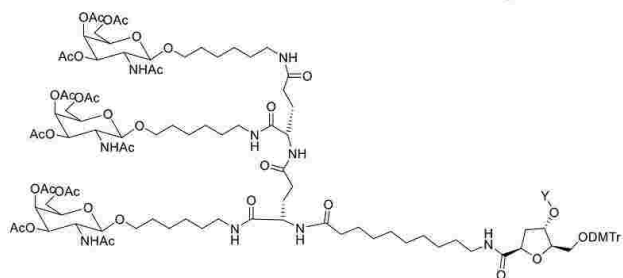


50

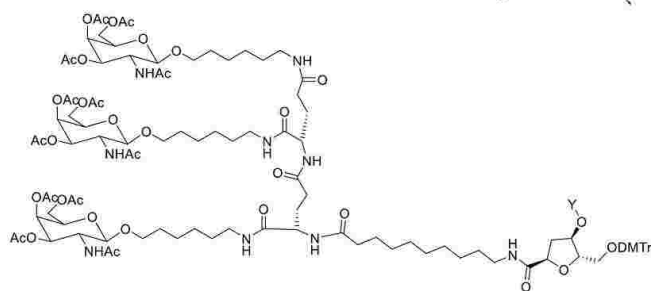
【化 6 2】



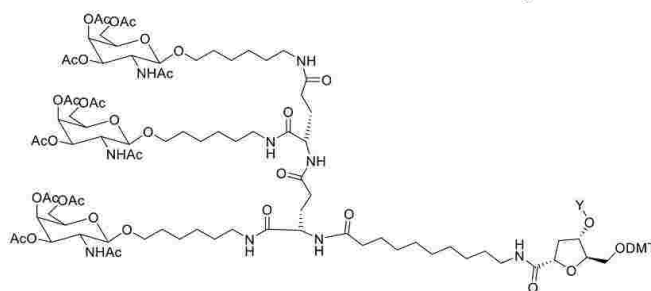
10



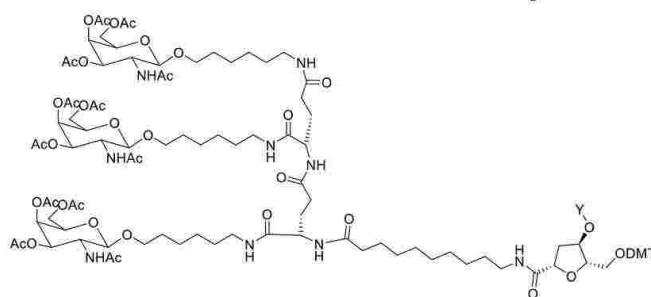
20



30

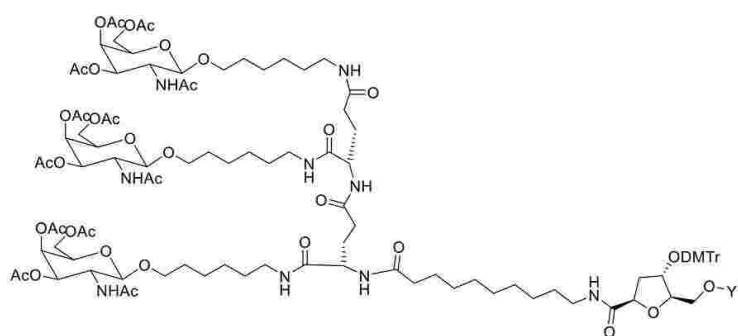


40

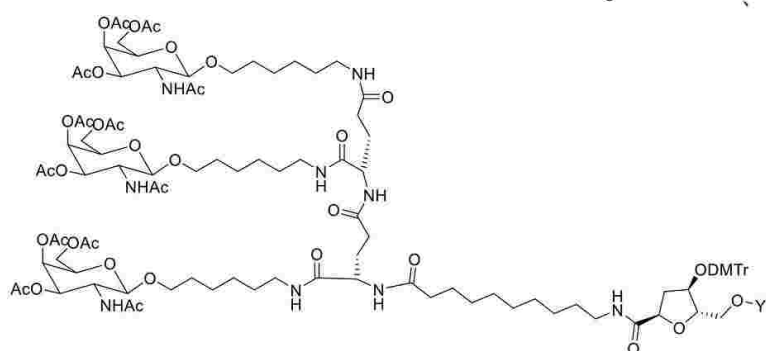


50

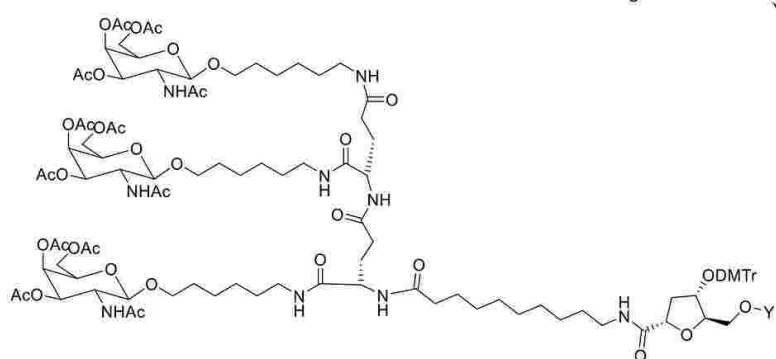
【化 6 3】



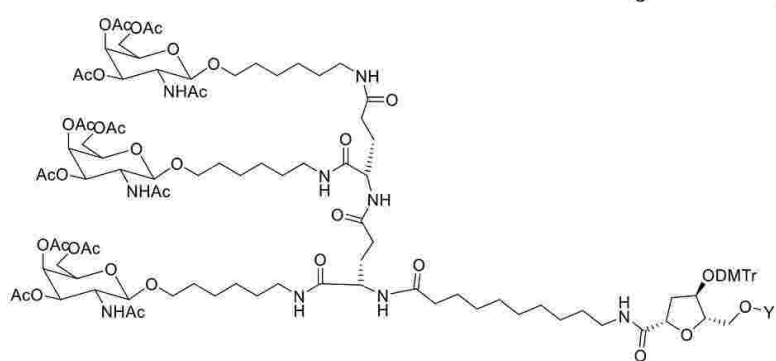
10



20



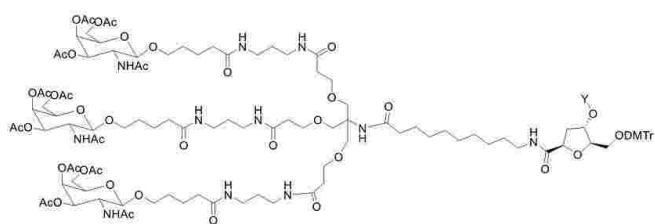
30



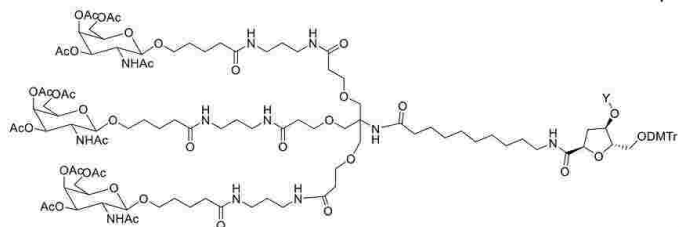
40

50

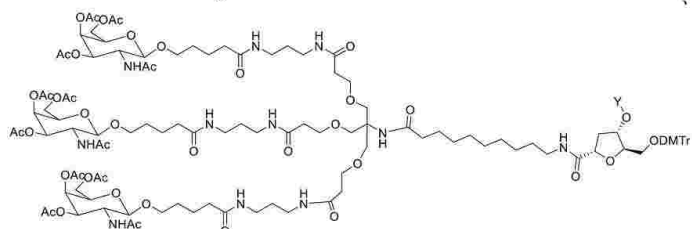
【化 6 4】



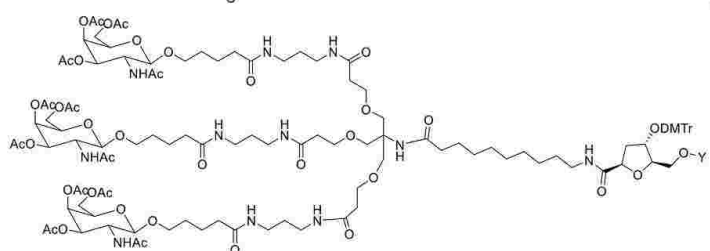
10



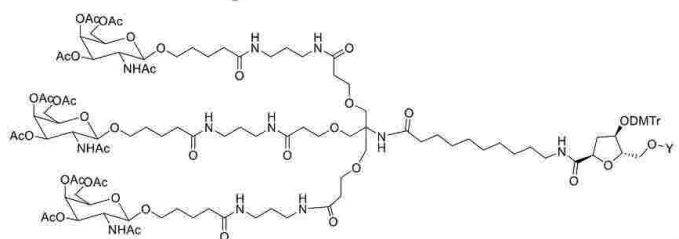
20



30

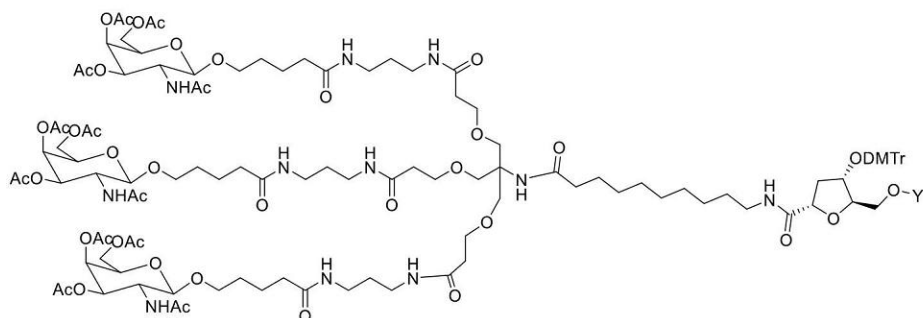


40



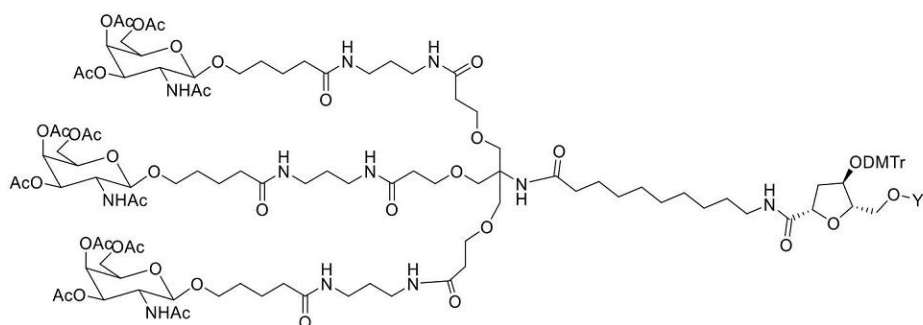
50

【化 6 5】



10

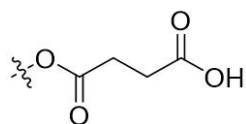
又は



20

という構造のいずれか 1 つであり、
そのうち、Y は水素又は

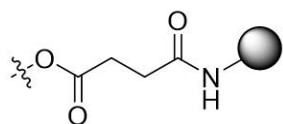
【化 6 6】



30

であり、
或いは、Y は

【化 6 7】



であり、
【化 6 8】



40

は樹脂であり、好ましくはマクロ孔質樹脂、より好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂である、

請求項 17～19 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 21】

核酸と、1 つ又は複数の請求項 1～16 のいずれか一項に記載のリガンドとを含み、前記リガンドは核酸末端と複合され、前記リガンドは相同又は相異である、核酸リガンド複合体。

50

【請求項 2 2】

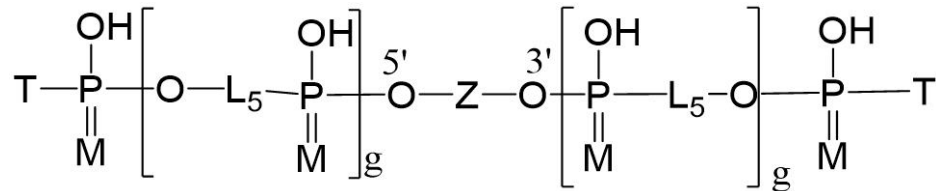
前記核酸と前記リガンドはリン酸エステル基、チオリン酸エステル基若しくはホスホン酸基を介して連結され、

及び／又は、前記核酸の 3' 末端はリガンドと複合され、

及び／又は、前記核酸は一本鎖核酸であり、好ましくは s i R N A のセンス鎖である、請求項 2 1 に記載の核酸リガンド複合体。

【請求項 2 3】

【化 6 9】



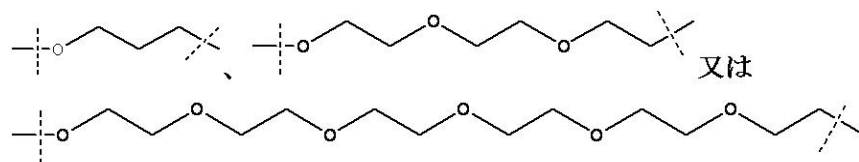
10

という構造又はその薬学的に許容される塩であり、

そのうち、T は請求項 1 ～ 1 6 のいずれか一項に記載のリガンドであり、T はそれぞれ相同又は相異であり、

L₅ は独立的に C₁ ～ C₃₀ アルキル鎖であり、或いは 1 つ若しくは複数の酸素、硫黄、窒素原子又は C = O で中断された C₁ ～ C₃₀ アルキル鎖、好ましくは

【化 7 0】



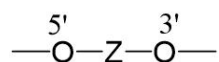
20

であり、

M は独立的に O 又は S であり、

g は独立的に 0 ～ 4 の整数であり、好ましくは 0 又は 1、より好ましくは 0 であり、

【化 7 1】



30

は核酸を表す、

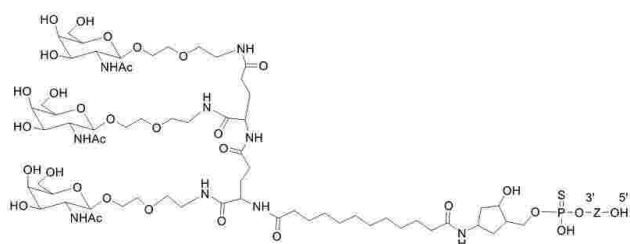
請求項 2 1 又は 2 2 に記載の核酸リガンド複合体。

【請求項 2 4】

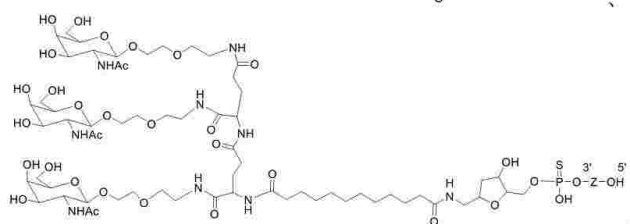
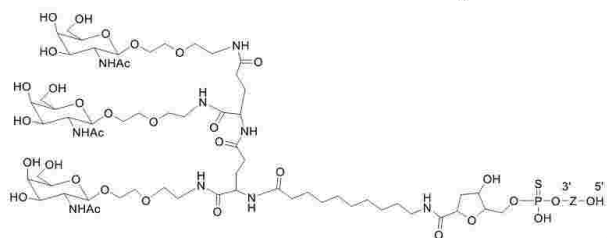
40

50

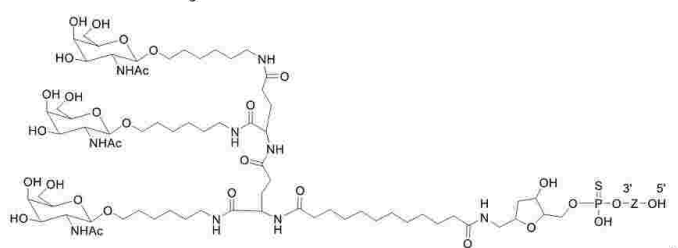
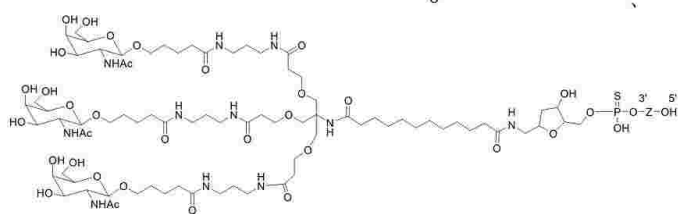
【化 7 2】



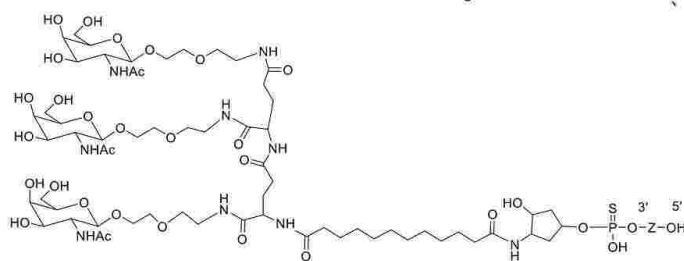
10



20



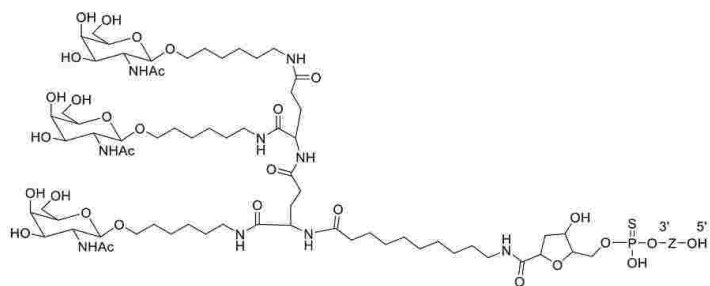
30



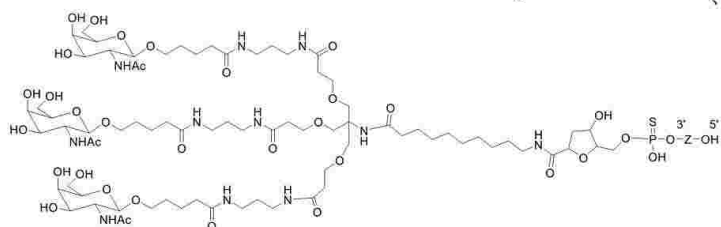
40

50

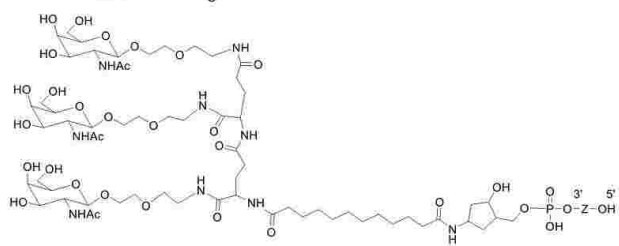
【化 7 3】



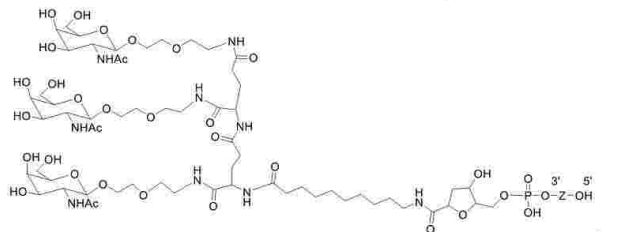
10



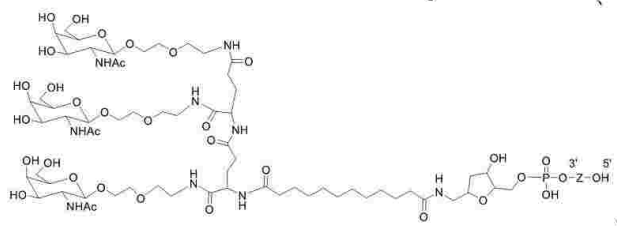
20



30

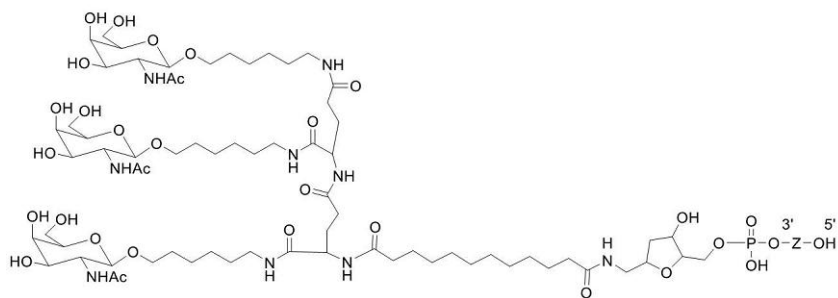


40

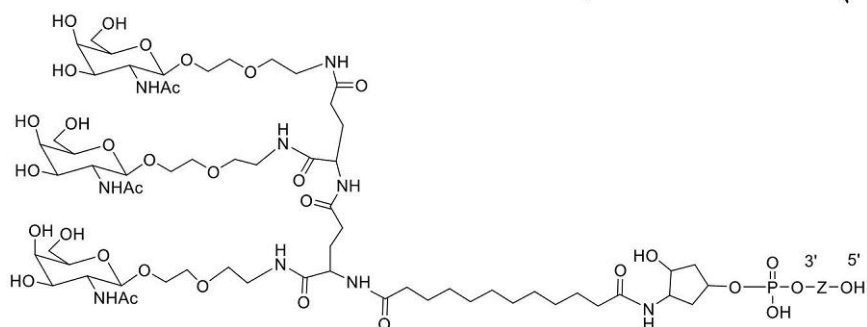


50

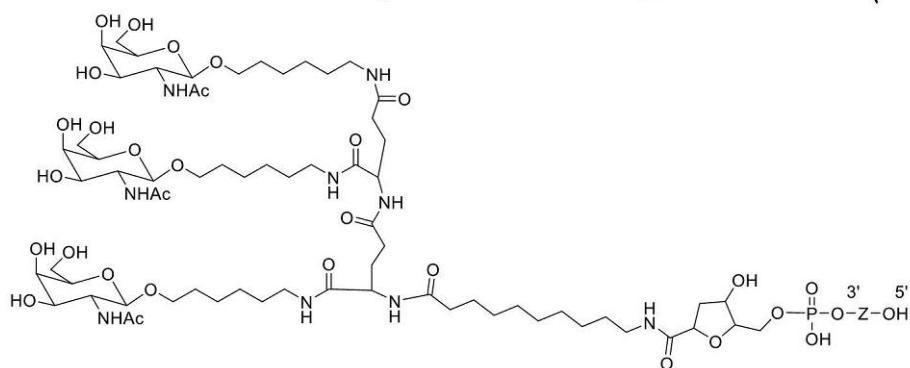
【化 7 4】



10

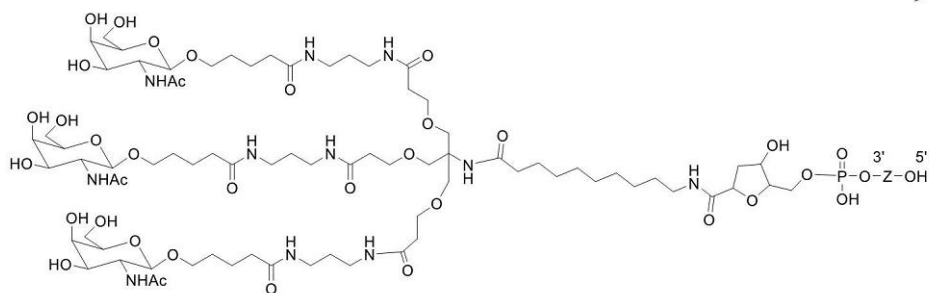


20



又は

30

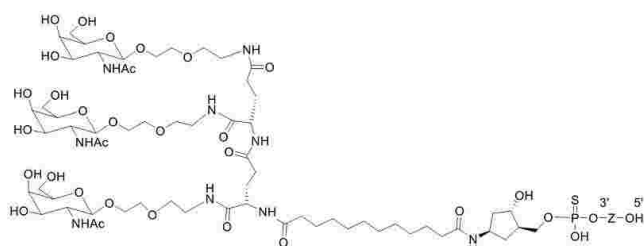


という構造のいずれか 1 つ又はその薬学的に許容される塩である、請求項 2 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の核酸リガンド複合体。

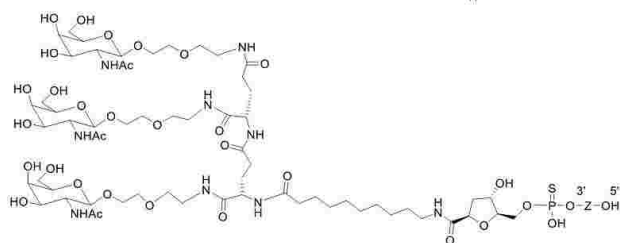
40

【請求項 2 5】

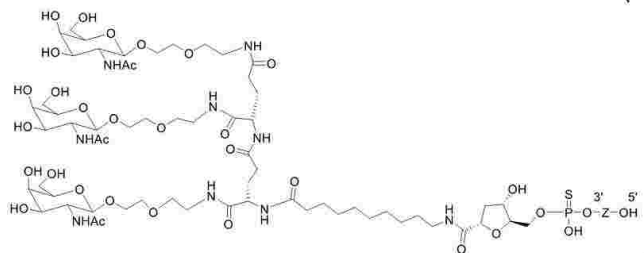
【化 7 5】



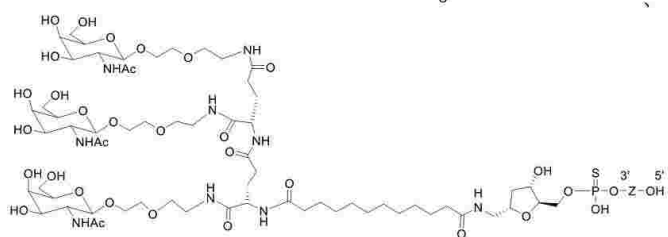
10



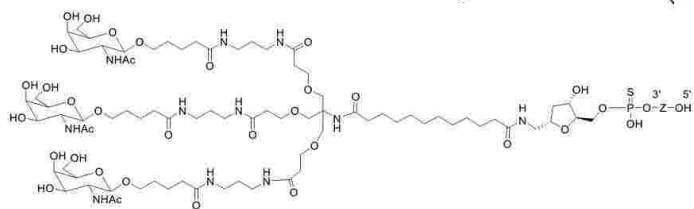
20



30

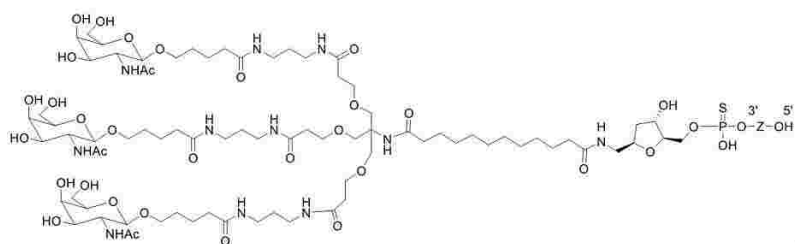


40

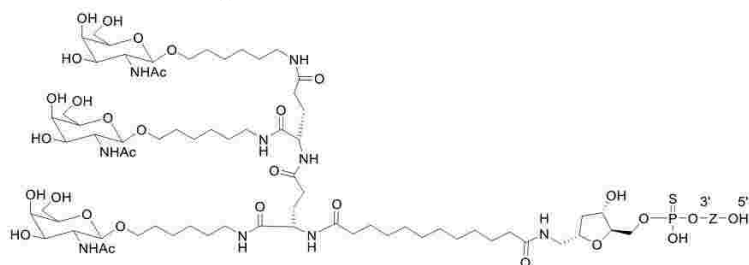


50

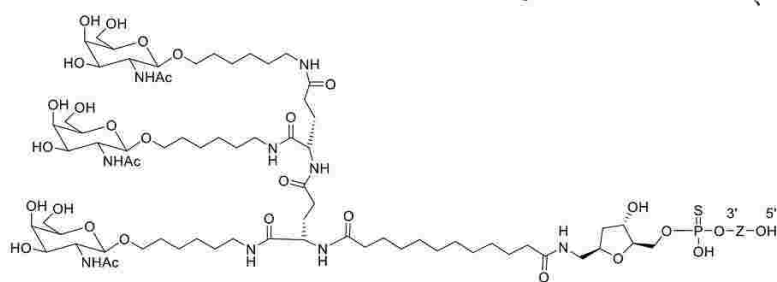
【化 7 6】



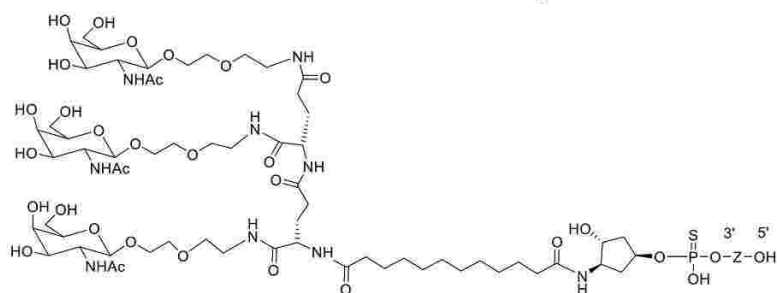
10



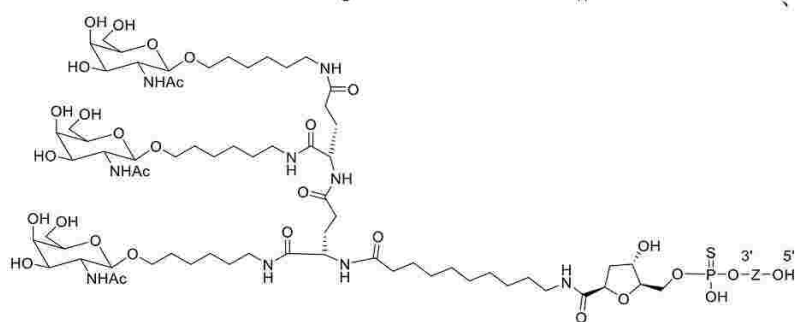
20



30

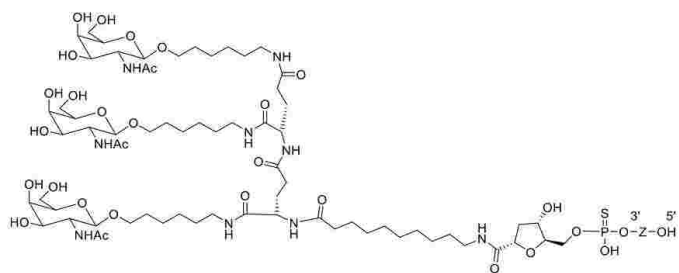


40

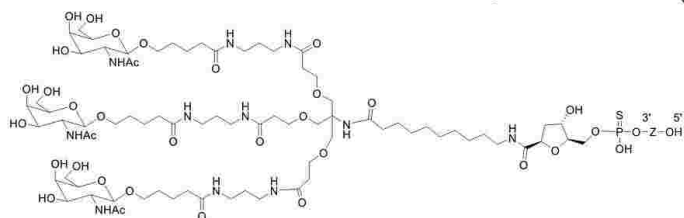


50

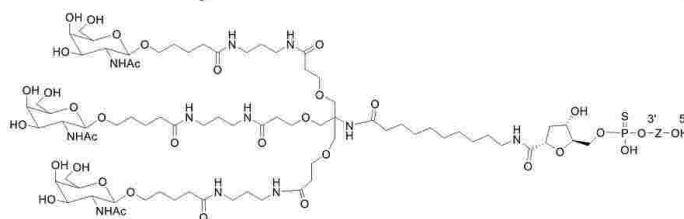
【化 7 7】



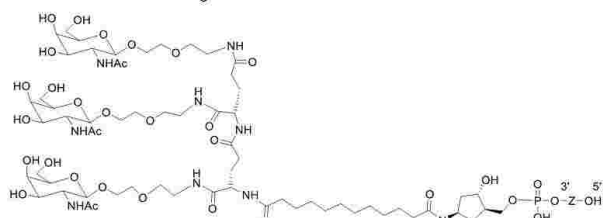
10



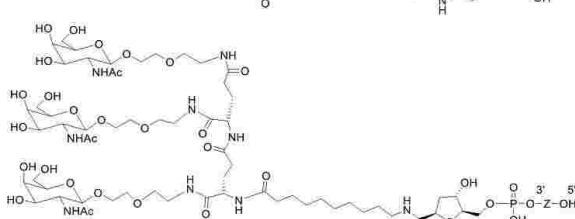
20



30

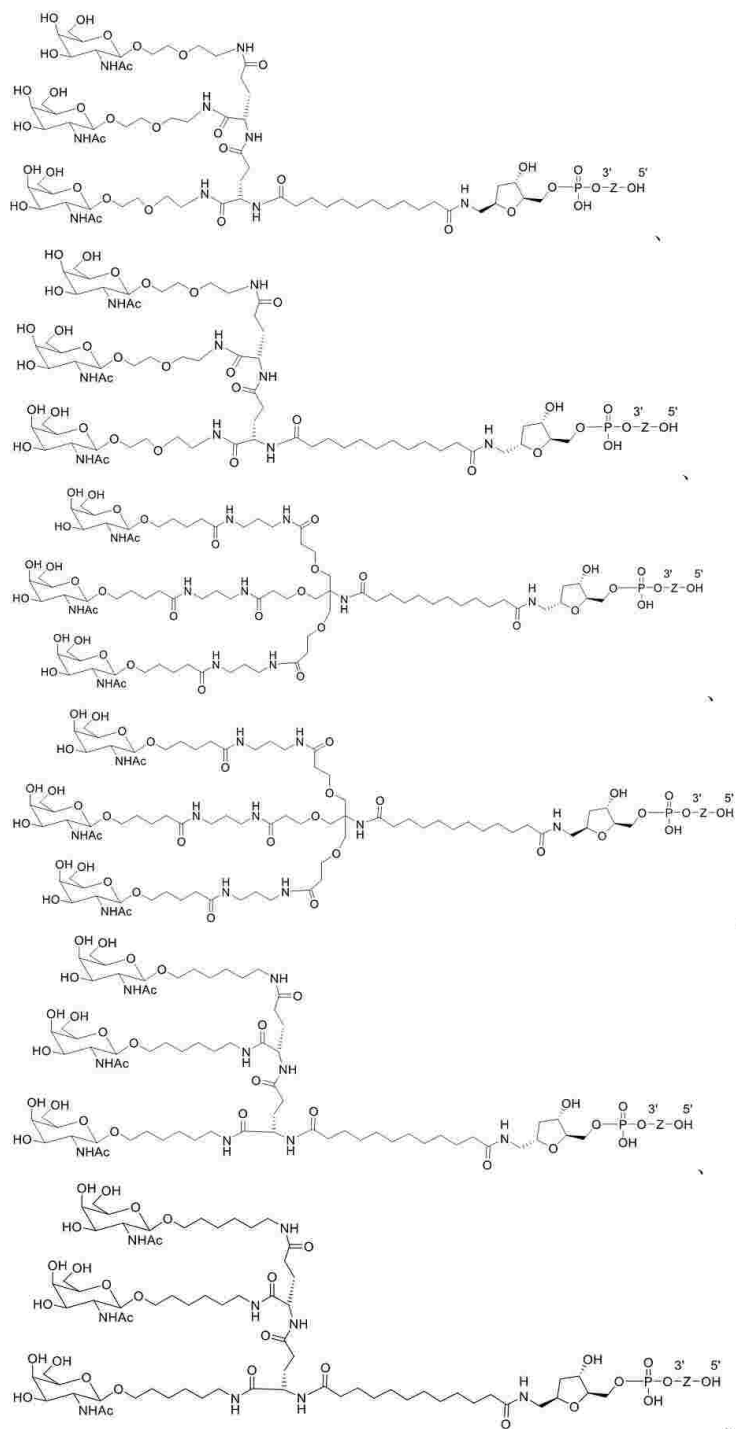


40



50

【化 7 8】



10

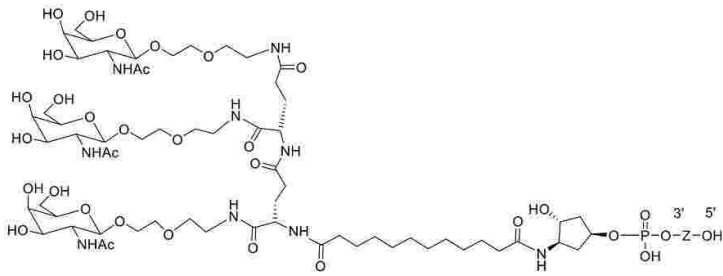
20

30

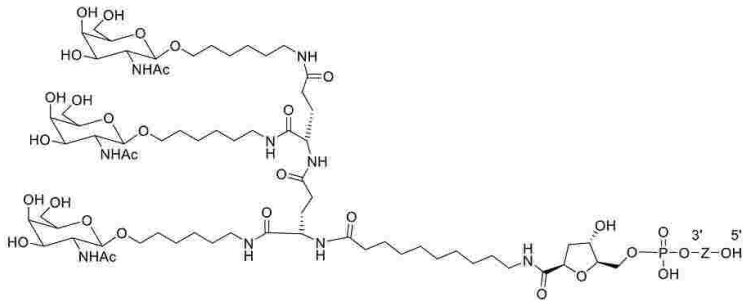
40

50

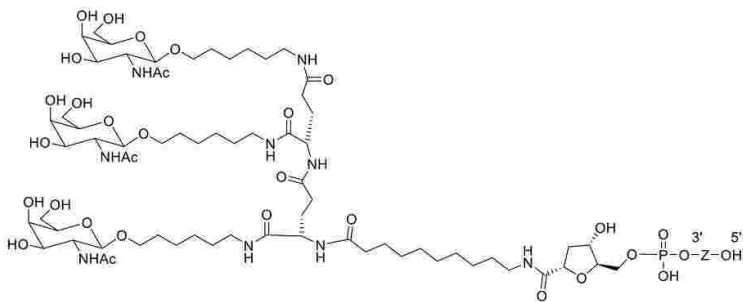
【化 7 9】



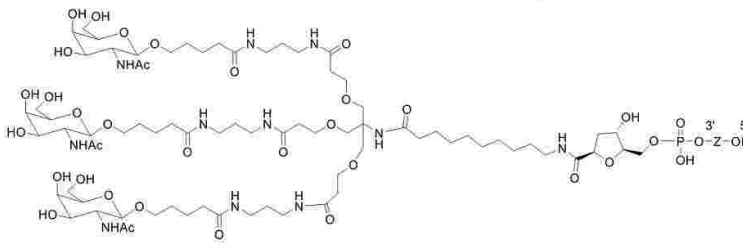
10



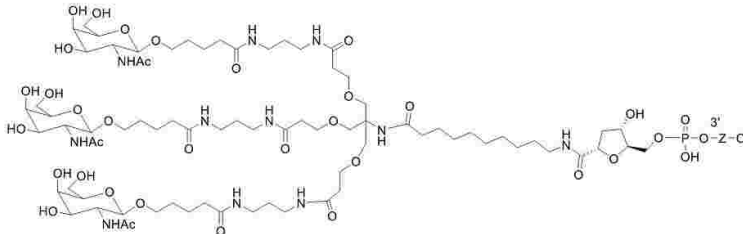
20



30



又は



40

という構造のいずれか 1 つ又はその薬学的に許容される塩である、請求項 2 1 ～ 2 4 のいずれか一項に記載の核酸リガンド複合体。

【請求項 2 6】

請求項 2 1 ～ 2 5 のいずれか一項に記載の核酸リガンド複合体を含み、好ましくは s i R N A である、
R N A i 試薬。

【請求項 2 7】

請求項 2 1 ～ 2 5 のいずれか一項に記載の核酸リガンド複合体又は請求項 2 6 に記載の R N A i 試薬と、1 種又は複数種の薬学的に許容される賦形剤とを含む、

50

組成物。

【請求項 28】

患者の疾患を治療する薬剤の調製における請求項 21～25 のいずれか一項に記載の核酸リガンド複合体又は請求項 26 に記載の RNAi 試薬又は請求項 27 に記載の組成物の用途であって、前記疾患は肝由来の疾患が好ましい、用途。

【請求項 29】

患者体内での mRNA 発現を抑制するか又は発現抑制性のオリゴマー化合物を肝臓にインビボ送達する方法であって、患者に請求項 21～25 のいずれか一項に記載の核酸リガンド複合体又は請求項 26 に記載の RNAi 試薬又は請求項 27 に記載の組成物を与えることを含む、方法。

【請求項 30】

請求項 21～25 のいずれか一項に記載の核酸リガンド複合体の調製方法であって、請求項 17～20 のいずれか一項に記載の化合物をはじめとして、ヌクレオチドの配列順に 3' - 5' の方向で 1 つずつヌクレオシド単量体に連結するステップを含む、調製方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、リガンド及びその調製方法に関する。本開示は、リガンドと核酸が共有結合により連結されてなる核酸リガンド複合体にも関し、それで、得られた核酸リガンド複合体は、肝細胞内に標的送達され、RNA 干渉作用を果たすことができる。

【背景技術】

【0002】

RNA 干渉は、遺伝子の発現をサイレンシングする効率的な方法である。統計によると、人体内の疾患関連タンパク質のうち、約 80% 以上のタンパク質は、現在通常の低分子薬剤及び生体高分子製剤により標的とされることができず、創薬不可能なタンパク質に属する。RNA 干渉技術によれば、これらのタンパク質をコードする mRNA によって、適当な siRNA を設計し、特異的に目標 mRNA を標的として目標 mRNA を分解することで、関連するタンパク質の産生の抑制を達成することができる。従って、siRNA は、非常に重要な医薬品開発の可能性を持っている。ところが、インビボでの治療的な RNA 干渉効果を達成するには、インビボでの特定の細胞に siRNA 分子を送達しなければならない。

【0003】

標的リガンドと複合した siRNA は、標的リガンドで細胞膜表面の受容体分子に結合することにより、細胞内にエンドサイトーシスする効果的な薬物送達方法である。例えば、アシアロ糖タンパク受容体 (ASGPR) は肝細胞に特異的に発現する受容体であり、肝細胞の表面において存在度が高く、細胞内外で急速に転換されるという特徴を有する。ガラクトース、ガラクトサミン、N-アセチルガラクトサミンなどの単糖と多糖分子は、ASGPR に高い親和性を有する。文献報告 (Yuanyu H, LIANG Zicai L, Asialoglycoprotein Receptor and Its Application in Liver-targeted Drug Delivery, Prog. Biochem. Biophys. 2015; 42 (6)) によると、アミノガラクトース分子クラスター (GalNAc) を用いることで、RNA を効率的に肝細胞に送達することができ、GalNAc 分子が 3 価又は 4 価のクラスターとして設計されることで、1 価又は 2 価の GalNAc 分子の肝細胞を標的とする能力を顕著に高めることができる。

【0004】

異なる分子クラスター構造、及び RNA との異なる連結方式によってインビボでの si

10

20

30

40

50

【 0 0 0 5 】

【発明の概要】

10

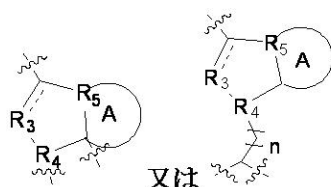
【化 1】



20

Q は

【化 2】



【化 3】

30

【化 4】

【化 5】

40

R₆とR₉は独立的に水素、重水素、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基、ヘテロアリール基、SR'、S(=O)R'、S(=O)₂R'、S(=O)₂NR'(R')'、NR'(R')'、C(=O)R'、C(=O)OR'又はC(=O)NR'(R')'であり、上記アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基は任意選択的にハロゲン、ヒドロ

50

キシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{3-7} シクロアルキル基、3～12員ヘテロシクリル基、5～12員アリール基、5～12員ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'(R'')$ 、 $NR'(R'')$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ と $C(=O)NR'(R'')$ が選ばれる1つ又は複数の基で置換され、

【0007】

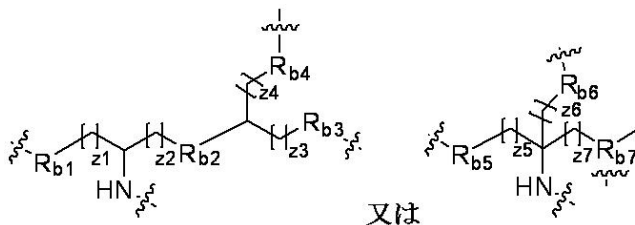
R_7 と R_8 は独立的に水素、重水素、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基、ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'(R'')$ 、 $NR'(R'')$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ 又は $C(=O)NR'(R'')$ であり、上記アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基は任意選択的にハロゲン、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{3-7} シクロアルキル基、3～12員ヘテロシクリル基、5～12員アリール基、5～12員ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'(R'')$ 、 $NR'(R'')$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ と $C(=O)NR'(R'')$ が選ばれる1つ又は複数の基で置換され、

R' と R'' は独立的に水素、重水素、ヒドロキシ基、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基であり、上記アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基は任意選択的にハロゲン、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基とシアノ基から選ばれる1つ又は複数の置換基で置換され、

m 、 n 、 p と q は独立的に0、1、2、3又は4であり、

Bは

【化6】



であり、

【0008】

R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{b4} 、 R_{b5} 、 R_{b6} と R_{b7} は独立的に $-C(=O)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 又は $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ であり、

z_1 、 z_2 、 z_3 、 z_4 、 z_5 、 z_6 、 z_7 、 z_8 と z_9 は、独立的に0～10の整数であり、

L_2 は $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、或いは1つ若しくは複数の酸素、硫黄、窒素原子又は $C=O$ で中断された $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、

Gは、細胞受容体に結合する標的部分であり、

rは1～10の整数である。

【0009】

幾つかの実施形態において、ある基の定義は以下の通りであり、未定義の基は上記形態のいずれか1つに記載された通りである（以下、「幾つかの実施形態において」と略す）。 L_1 は L_3 又は $L_3-R_{10}-R_{11}-L_3$ であってもよく、そのうち、 L_3 は独立的に $C_1 \sim C_{12}$ アルキル鎖、 $-(CH_2)_{j1}-C(=O)-(CH_2)_{j2}-$ 又は $-(CH_2)_{j3}-(CH_2CH_2O)_{1-4}-(CH_2)_{j4}-$ であり、 R_{10} と R_{11} は独立的に化学結合、 $-NR_{12}-$ 、 $-C(=O)-$ 又は $-OC(=O)-$ であり、 R_{12} は水素又は $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基であり、 j_1 、 j_2 、 j_3 と j_4 は独立的に0～10の整数

であり、好ましくは0～2又は4～10の整数であり、より好ましくは0、1、2、6、7、8、9又は10である。

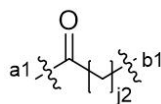
【0010】

幾つかの実施形態において、 L_1 は $-(CH_2)_{j1}-C(=O)-(CH_2)_{j2}-$ であってもよく、 j_1 と j_2 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0011】

幾つかの実施形態において、 L_1 は

【化7】



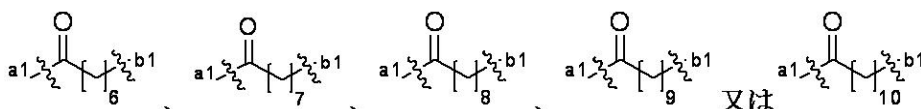
10

であってもよく、 j_1 と j_2 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りであり、そのうち、 a_1 末端はBに連結され、 b_1 末端は R_1 に連結される。

【0012】

幾つかの実施形態において、 L_1 は

【化8】



20

であってもよく、そのうち、 a_1 末端はBに連結され、 b_1 末端は R_1 に連結される。

【0013】

幾つかの実施形態において、 R_1 は化学結合であってもよく、且つ R_2 は $C=O$ であってもよい。

【0014】

幾つかの実施形態において、 R_1 は化学結合であってもよく、且つ R_2 は NR_6 であってもよく、 R_6 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0015】

幾つかの実施形態において、 R_1 は化学結合であってもよく、且つ R_2 は $-OC(=O)-$ であってもよい。

30

【0016】

幾つかの実施形態において、 R_1 は NR_6 であってもよく、且つ R_2 は $C=O$ であってもよく、 R_6 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0017】

幾つかの実施形態において、 R_1 は NR_6 であってもよく、且つ R_2 は $-OC(=O)-$ であってもよく、 R_6 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0018】

幾つかの実施形態において、 R_2 は NR_6 であってもよく、且つ R_1 は $C=O$ であってもよく、 R_6 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

40

【0019】

幾つかの実施形態において、 R_2 は NR_6 であってもよく、且つ R_1 は $-OC(=O)-$ であってもよく、 R_6 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0020】

幾つかの実施形態において、 R_6 は水素又は C_{1-6} アルキル基であってもよい。

【0021】

幾つかの実施形態において、 R_6 は水素、メチル基、エチル基、プロピル基又はイソプロピル基であってもよい。

【0022】

幾つかの実施形態において、 R_6 は水素であってもよい。

50

【0023】

幾つかの実施形態において、 R_7 と R_8 は水素であってもよい。

【0024】

幾つかの実施形態において、 R_9 は水素であってもよい。

【0025】

幾つかの実施形態において、環Aは存在する場合、環Aは C_{6-10} アリール基であってもよく、好ましくはフェニル基である。

【0026】

幾つかの実施形態において、 m は0又は1であってもよい。

【0027】

幾つかの実施形態において、 m は3であってもよい。

【0028】

幾つかの実施形態において、 n は0又は1であってもよい。

【0029】

幾つかの実施形態において、 p と q は独立的に0又は1である。

【0030】

幾つかの実施形態において、 $p = 1$ 且つ $q = 1$ である。

【0031】

幾つかの実施形態において、 $p = 1$ 且つ $q = 0$ である。

【0032】

幾つかの実施形態において、 $p = 0$ 且つ $q = 1$ である。

【0033】

幾つかの実施形態において、 $p = 0$ 且つ $q = 0$ である。

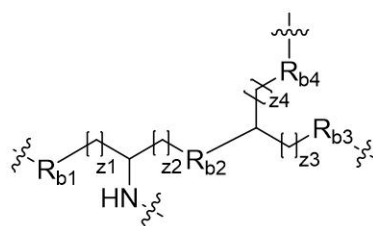
【0034】

幾つかの実施形態において、 z_1 、 z_2 、 z_3 、 z_4 、 z_5 、 z_6 、 z_7 、 z_8 と z_9 は独立的に0～4の整数であってもよく、好ましくは0、1又は2である。

【0035】

幾つかの実施形態において、Bは

【化9】

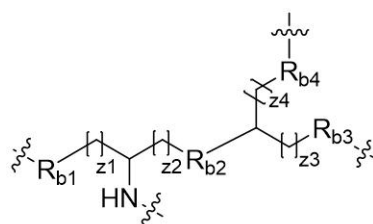


であってもよく、 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} と R_{b4} は独立的に $-C(=O)-$ 又は $-NH C(=O)-$ であり、N原子は L_1 に連結され、 z_1 、 z_2 、 z_3 と z_4 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0036】

幾つかの実施形態において、Bは

【化10】



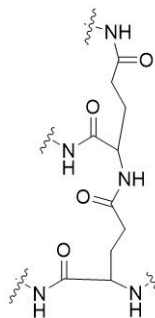
であってもよく、 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} と R_{b4} は独立的に $-C(=O)-$ 又は $-NH C$

(=O)－であり、N原子はL₁に連結され、R_{b1}、R_{b3}とR_{b4}は同じであり、z₁、z₂、z₃とz₄の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0037】

幾つかの実施形態において、Bは

【化11】



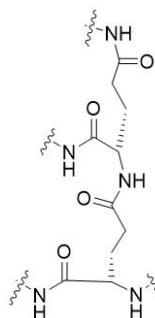
10

であってもよい。

【0038】

幾つかの実施形態において、Bは

【化12】



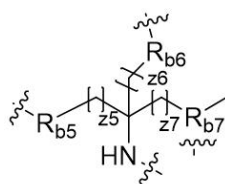
20

であってもよい。

【0039】

幾つかの実施形態において、Bは

【化13】



30

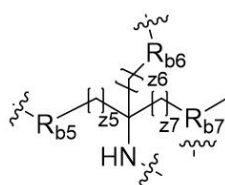
であってもよく、R_{b5}、R_{b6}とR_{b7}は独立的に－C(=O)－(CH₂)_{z8}－O－又は－NHCH(=O)－(CH₂)_{z9}－O－であり、N原子はL₁に連結され、z₅、z₆、z₇、z₈とz₉の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

40

【0040】

幾つかの実施形態において、Bは

【化14】



であってもよく、R_{b5}、R_{b6}とR_{b7}は独立的に－C(=O)－(CH₂)_{z8}－O－

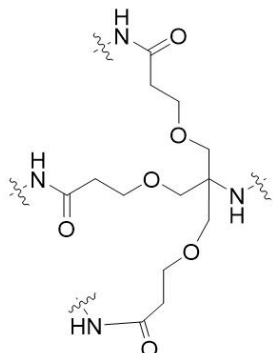
50

又は $\text{—NH—C(=O)—(CH}_2\text{)}_{z9}\text{—O—}$ であり、N 原子は L_1 に連結され、 R_{b5} 、 R_{b6} と R_{b7} は同じであり、 $z5$ 、 $z6$ 、 $z7$ 、 $z8$ と $z9$ の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0041】

幾つかの実施形態において、B は

【化15】



10

であってもよい。

【0042】

幾つかの実施形態において、 L_2 は L_4 又は $L_4\text{—}R_{13}\text{—}R_{14}\text{—}L_4$ であってもよく、そのうち、 L_4 は独立的に $C_1\sim C_{12}$ アルキル鎖又は $\text{—(CH}_2\text{)}_{j5}\text{—(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_{1-4}\text{—(CH}_2\text{)}_{j6}\text{—}$ であり、 R_{13} と R_{14} は独立的に化学結合、 $\text{—NR}_{15}\text{—}$ 、 —C(=O)— 又は —OC(=O)— であり、 R_{15} は独立的に水素又は $C_1\sim C_{12}$ アルキル基であり、 $j5$ と $j6$ は独立的に $0\sim 10$ の整数であり、好ましくは $0\sim 6$ の整数であり、より好ましくは 0 、 1 、 2 、 3 又は 4 である。

20

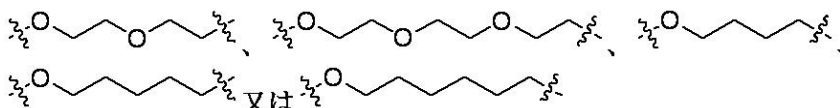
【0043】

幾つかの実施形態において、 L_2 は $\text{—(CH}_2\text{)}_{j5}\text{—(OCH}_2\text{CH}_2\text{)}_{1-4}\text{—(CH}_2\text{)}_{j6}\text{—}$ であってもよく、 $j5$ と $j6$ の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0044】

幾つかの実施形態において、 L_2 は

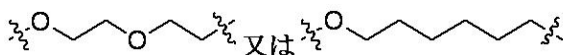
【化16】



30

であってもよく、そのうち、O 原子は G に連結され、C 原子は B に連結され、好ましくは L_2 は

【化17】



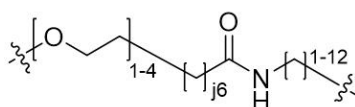
40

である。

【0045】

幾つかの実施形態において、 L_2 は

【化18】



であってもよく、そのうち、 $j6$ の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りであ

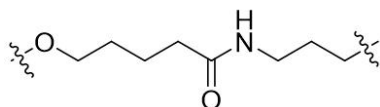
50

り、O 原子は G に連結され、C 原子は B に連結される。

【0046】

幾つかの実施形態において、L₂ は

【化19】



であってもよく、そのうち、O 原子は G に連結され、C 原子は B に連結される。

【0047】

幾つかの実施形態において、G はアシアロ糖タンパク受容体標的部分であってもよい。

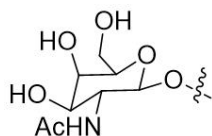
【0048】

幾つかの実施形態において、G はガラクトース、ガラクトサミン、N-ホルミルガラクトサミン、N-アセチルガラクトサミン、N-プロピオニルガラクトサミン、N-n-ブチルガラクトサミン又はN-イソブチルガラクトサミンであってもよい。

【0049】

幾つかの実施形態において、G は

【化20】



であってもよい。

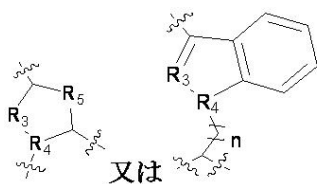
【0050】

幾つかの実施形態において、r は 3、4、5 又は 6 であってもよく、例えば 3 である。

【0051】

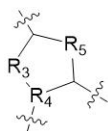
幾つかの実施形態において、Q は

【化21】



であってもよく、好ましくは

【化22】

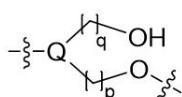


であり、そのうち、R₃、R₄、R₅ と n の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0052】

幾つかの実施形態において、

【化23】



10

20

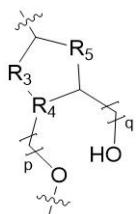
30

40

50

は

【化 2 4】



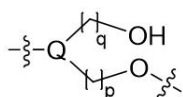
であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

10

【0053】

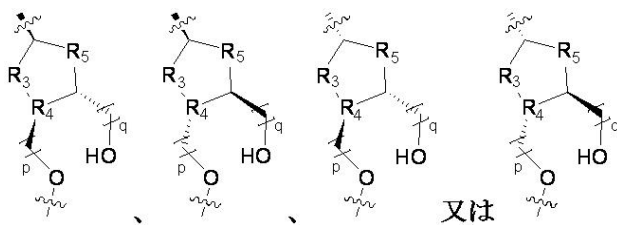
幾つかの実施形態において、

【化 2 5】



は

【化 2 6】



20

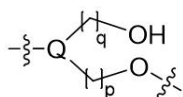
であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

30

【0054】

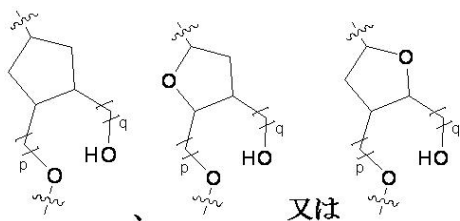
幾つかの実施形態において、

【化 2 7】



は

【化 2 8】

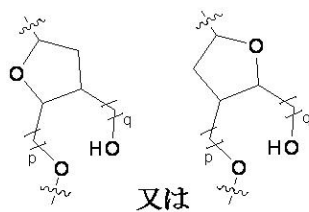


40

であってもよく、好ましくは

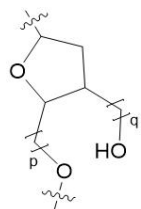
50

【化 2 9】



であり、より好ましくは

【化 3 0】

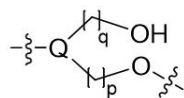


であり、p と q の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0 0 5 5】

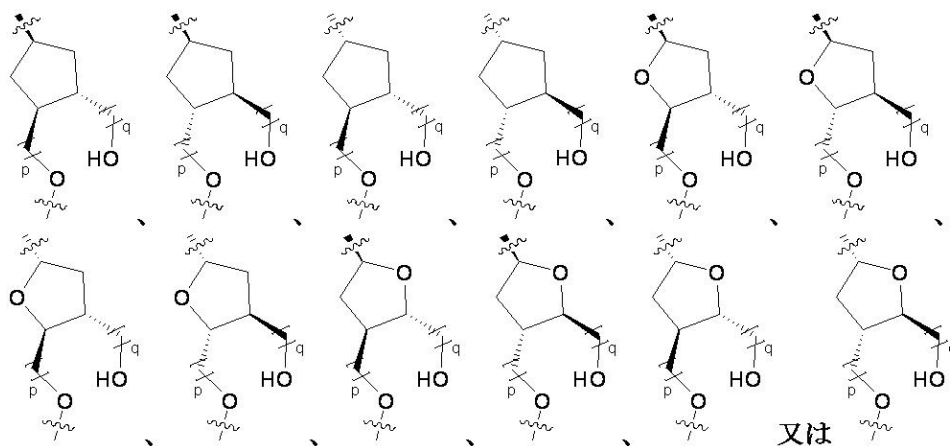
幾つかの実施形態において、

【化 3 1】



は

【化 3 2】



であってもよく、好ましくは

10

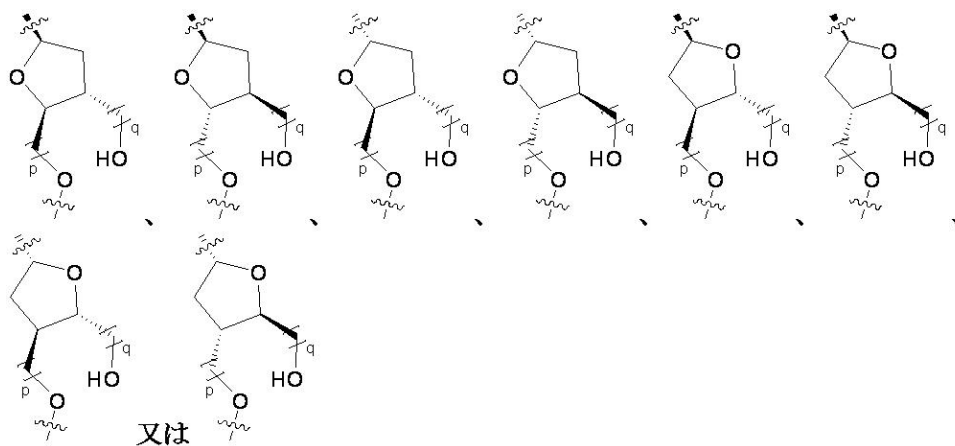
20

30

40

50

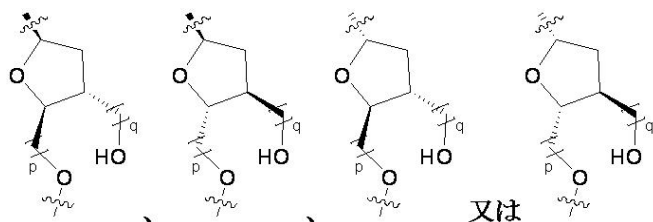
【化 3 3】



10

であり、より好ましくは

【化 3 4】



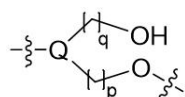
20

であり、pとqの定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0056】

幾つかの実施形態において、

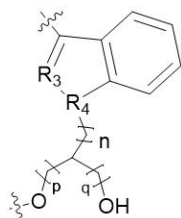
【化 3 5】



30

は

【化 3 6】



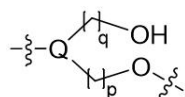
40

であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0057】

幾つかの実施形態において、

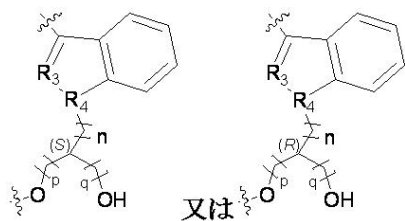
【化 3 7】



は

50

【化 3 8】



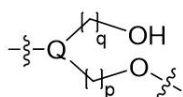
であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

10

【0058】

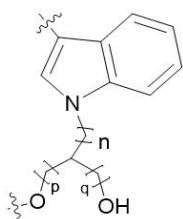
幾つかの実施形態において、

【化 3 9】



は

【化 4 0】



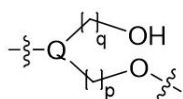
20

であってもよく、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0059】

幾つかの実施形態において、

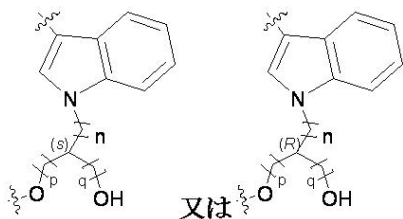
【化 4 1】



30

は

【化 4 2】



40

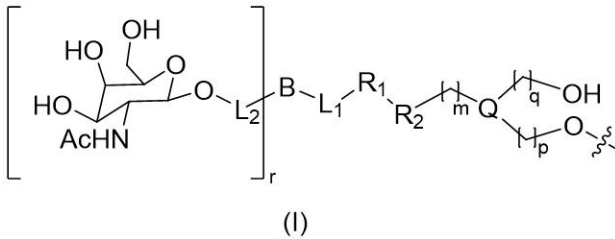
であってもよく、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0060】

本開示は、式（I）で示される構造を有するリガンドを提供し、

50

【化 4 3】

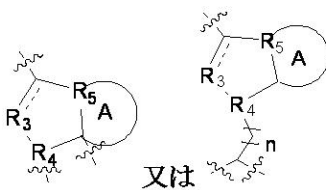


そのうち、 L_1 は $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、或いは 1 つ若しくは複数の酸素、硫黄、窒素原子又は $C=O$ で中断された $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、

R_1 と R_2 は独立的に化学結合、 $-NR_6-$ 、 $-C(=O)-$ 又は $-OC(=O)-$ であり、

Q は

【化 4 4】



であり、

【化 4 5】



は単結合又は二重結合であり、且つ

【化 4 6】



が単結合である場合、 R_3 は独立的に CR_7R_8 、 NR_6 、 O 又は S であり、

【化 4 7】



が二重結合である場合、 R_3 は独立的に CR_9 又は N であり、

R_4 は独立的に CR_9 又は N であり、

環 A は存在しないか、又はシクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基若しくはヘテロアリール基であり、且つ環 A が存在する場合、 R_5 は独立的に CR_9 又は N であり、環 A が存在しない場合、 R_5 は独立的に CR_7R_8 、 NR_6 又は O であり、

R_6 と R_9 は独立的に水素、重水素、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基、ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'$ (R'')、 NR' (R'')、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ 又は $C(=O)NR'$ (R'') であり、上記アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基は任意選択的にハロゲン、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_1-6 アルキル基、 C_1-6 アルコキシ基、 C_3-7 シクロアルキル基、 $3 \sim 12$ 員ヘテロシクリル基、 $5 \sim 12$ 員アリール基、 $5 \sim 12$ 員ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'$ (R'')、 NR' (R'')、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ と $C(=O)NR'$ (R'') が選ばれる 1 つ又は複数の基で置換され、

R_7 と R_8 は独立的に水素、重水素、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基、ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'$ (R'')、 NR' (R'')、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ 又は

10

20

30

は $C(=O)NR'(R'')$ であり、上記アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基は任意選択的にハロゲン、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_1-6 アルキル基、 C_1-6 アルコキシ基、 C_3-7 シクロアルキル基、3～12員ヘテロシクリル基、5～12員アリール基、5～12員ヘテロアリール基、 SR' 、 $S(=O)R'$ 、 $S(=O)_2R'$ 、 $S(=O)_2NR'(R'')$ 、 $NR'(R'')$ 、 $C(=O)R'$ 、 $C(=O)OR'$ と $C(=O)NR'(R'')$ から選ばれる1つ又は複数の基で置換され、

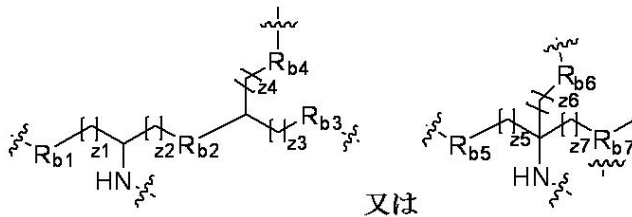
【0061】

R' と R'' は独立的に水素、重水素、ヒドロキシ基、アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基であり、上記アルキル基、アルコキシ基、シクロアルキル基、ヘテロシクリル基、アリール基又はヘテロアリール基は任意選択的にハロゲン、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基とシアノ基から選ばれる1つ又は複数の置換基で置換され、

m 、 n 、 p と q は独立的に0、1、2、3又は4であり、

B は

【化48】



であり、

R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} 、 R_{b4} 、 R_{b5} 、 R_{b6} と R_{b7} は独立的に $-C(=O)-$ 、 $-NHC(=O)-$ 、 $-C(=O)O-$ 、 $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 又は $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ であり、

$z1$ 、 $z2$ 、 $z3$ 、 $z4$ 、 $z5$ 、 $z6$ 、 $z7$ 、 $z8$ と $z9$ は、独立的に0～10の整数であり、

L_2 は $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、或いは1つ若しくは複数の酸素、硫黄、窒素原子又は $C=O$ で中断された $C_1 \sim C_{30}$ アルキル鎖であり、

r は1～10の整数である。

【0062】

幾つかの実施形態において、 L_1 は L_3 又は $L_3-R_{10}-R_{11}-L_3$ であってもよく、そのうち、 L_3 は独立的に $C_1 \sim C_{12}$ アルキル鎖、 $-(CH_2)_{j1}-C(=O)-(CH_2)_{j2}-$ 又は $-(CH_2)_{j3}-(CH_2CH_2O)_{1-4}-(CH_2)_{j4}-$ であり、 R_{10} と R_{11} は独立的に化学結合、 $-NR_{12}-$ 、 $-C(=O)-$ 又は $-OC(=O)-$ であり、 R_{12} は水素又は $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基であり、 $j1$ 、 $j2$ 、 $j3$ と $j4$ は独立的に0～10の整数であり、好ましくは0～2又は4～10の整数であり、より好ましくは0、1、2、6、7、8、9又は10である。

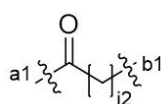
【0063】

幾つかの実施形態において、 L_1 は $-(CH_2)_{j1}-C(=O)-(CH_2)_{j2}-$ であってもよく、 $j1$ と $j2$ の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0064】

幾つかの実施形態において、 L_1 は

【化49】



10

20

30

40

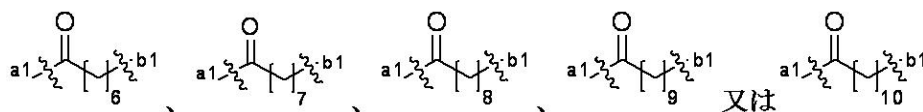
50

であってもよく、j 1 と j 2 の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りであり、そのうち、a 1 末端は B に連結され、b 1 末端は R₁ に連結される。

【0065】

幾つかの実施形態において、L₁ は

【化50】



であってもよく、そのうち、a 1 末端は B に連結され、b 1 末端は R₁ に連結される。

10

【0066】

幾つかの実施形態において、R₁ は化学結合であってもよく、且つ R₂ は C=O であってもよい。

【0067】

幾つかの実施形態において、R₁ は化学結合であってもよく、且つ R₂ は NR₆ であってもよく、R₆ の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0068】

幾つかの実施形態において、R₁ は化学結合であってもよく、且つ R₂ は -OC(=O)- であってもよい。

【0069】

幾つかの実施形態において、R₁ は NR₆ であってもよく、且つ R₂ は C=O であってもよく、R₆ の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

20

【0070】

幾つかの実施形態において、R₁ は NR₆ であってもよく、且つ R₂ は -OC(=O)- であってもよく、R₆ の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0071】

幾つかの実施形態において、R₂ は NR₆ であってもよく、且つ R₁ は C=O であってもよく、R₆ の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0072】

幾つかの実施形態において、R₂ は NR₆ であってもよく、且つ R₁ は -OC(=O)- であってもよく、R₆ の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

30

【0073】

幾つかの実施形態において、R₆ は水素又は C₁-6 アルキル基であってもよい。

【0074】

幾つかの実施形態において、R₆ は水素、メチル基、エチル基、プロピル基又はイソプロピル基であってもよい。

【0075】

幾つかの実施形態において、R₆ は水素であってもよい。

【0076】

幾つかの実施形態において、R₇ と R₈ は水素であってもよい。

40

【0077】

幾つかの実施形態において、R₉ は水素であってもよい。

【0078】

幾つかの実施形態において、環 A は存在する場合、環 A は C₆-10 アリール基であってもよく、好ましくはフェニル基である。

【0079】

幾つかの実施形態において、m は 0 又は 1 であってもよい。

【0080】

幾つかの実施形態において、m は 3 であってもよい。

【0081】

50

幾つかの実施形態において、 n は 0 又は 1 であってもよい。

【0082】

幾つかの実施形態において、 p と q は独立的に 0 又は 1 である。

【0083】

幾つかの実施形態において、 $p = 1$ 且つ $q = 1$ である。

【0084】

幾つかの実施形態において、 $p = 1$ 且つ $q = 0$ である。

【0085】

幾つかの実施形態において、 $p = 0$ 且つ $q = 1$ である。

【0086】

幾つかの実施形態において、 $p = 0$ 且つ $q = 0$ である。

10

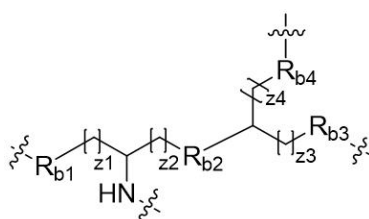
【0087】

幾つかの実施形態において、 z_1 、 z_2 、 z_3 、 z_4 、 z_5 、 z_6 、 z_7 、 z_8 と z_9 は独立的に 0 ～ 4 の整数であってもよく、好ましくは 0、1 又は 2 である。

【0088】

幾つかの実施形態において、 B は

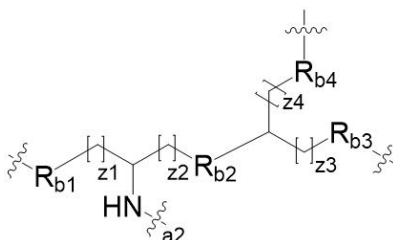
【化 5 1】



20

であってもよく、 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} と R_{b4} は独立的に $-C(=O)-$ 又は $-NH-C(=O)-$ であり、 N 原子は L_1 に連結され、 z_1 、 z_2 、 z_3 と z_4 の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである（例えば、

【化 5 2】



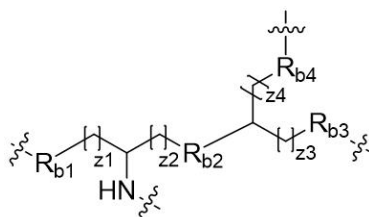
30

そのうち、 a_2 末端の N 原子は L_1 に連結される）。

【0089】

幾つかの実施形態において、 B は

【化 5 3】

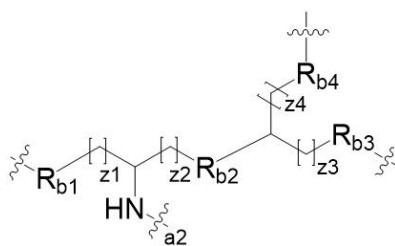


40

であってもよく、 R_{b1} 、 R_{b2} 、 R_{b3} と R_{b4} は独立的に $-C(=O)-$ 又は $-NH-C(=O)-$ であり、 N 原子は L_1 に連結され、 R_{b1} 、 R_{b3} と R_{b4} は同じであり、 z_1 、 z_2 、 z_3 と z_4 の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである（例えば、

50

【化 5 4】



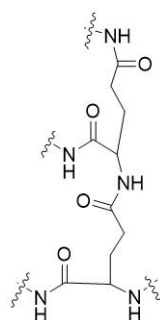
そのうち、a 2 末端の N 原子は L₁ に連結される)。

【0090】

10

幾つかの実施形態において、B は

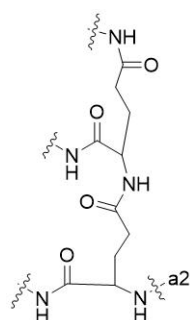
【化 5 5】



20

であってもよい (例えば

【化 5 6】



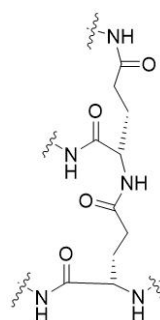
30

であり、そのうち、a 2 末端の N 原子は L₁ に連結される)。

【0091】

幾つかの実施形態において、B は

【化 5 7】

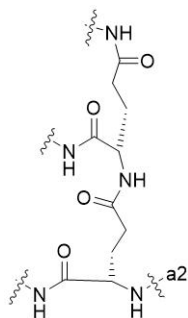


40

であってもよい (例えば

50

【化 5 8】



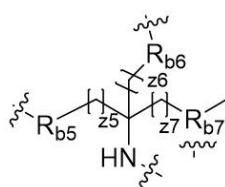
10

であり、そのうち、a 2 末端の N 原子は L₁ に連結される)。

【0 0 9 2】

幾つかの実施形態において、B は

【化 5 9】



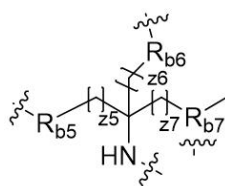
20

であってもよく、R_{b5}、R_{b6}とR_{b7}は独立的に $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 又は $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ であり、N 原子は L₁ に連結され、z 5、z 6、z 7、z 8 と z 9 の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0 0 9 3】

幾つかの実施形態において、B は

【化 6 0】



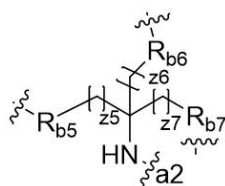
30

であってもよく、R_{b5}、R_{b6}とR_{b7}は独立的に $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 又は $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ であり、N 原子は L₁ に連結され、R_{b5}、R_{b6}とR_{b7}は同じであり、z 5、z 6、z 7、z 8 と z 9 の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0 0 9 4】

幾つかの実施形態において、B は

【化 6 1】



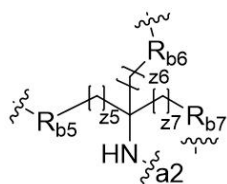
40

であってもよく、R_{b5}、R_{b6}とR_{b7}は独立的に $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 又は $-NHC(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ であり、a 2 末端の N 原子は L₁ に連結され、z 5、z 6、z 7、z 8 と z 9 の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0 0 9 5】

50

幾つかの実施形態において、Bは
【化62】

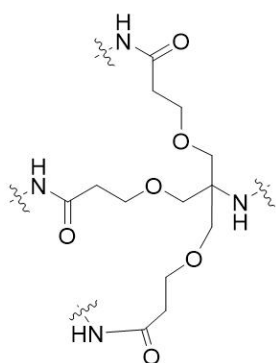


であってもよく、 R_{b5} 、 R_{b6} と R_{b7} は独立的に $-C(=O)-(CH_2)_{z8}-O-$ 又は $-NH-C(=O)-(CH_2)_{z9}-O-$ であり、 a_2 末端のN原子は L_1 に連結され、 R_{b5} 、 R_{b6} と R_{b7} は同じであり、 z_5 、 z_6 、 z_7 、 z_8 と z_9 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

10

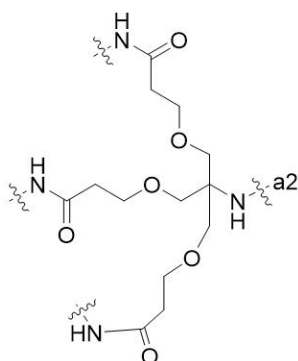
【0096】

幾つかの実施形態において、Bは
【化63】



20

であってもよい（例えば
【化64】



30

であり、そのうち、 a_2 末端のN原子は L_1 に連結される）。

【0097】

幾つかの実施形態において、 L_2 は L_4 又は $L_4-R_{13}-R_{14}-L_4$ であってもよく、そのうち、 L_4 は独立的に $C_1 \sim C_{12}$ アルキル鎖又は $-(CH_2)_{j5}-(OCH_2CH_2)_{1-4}-(CH_2)_{j6}-$ であり、 R_{13} と R_{14} は独立的に化学結合、 $-NR_{15}-$ 、 $-C(=O)-$ 又は $-OC(=O)-$ であり、 R_{15} は独立的に水素又は $C_1 \sim C_{12}$ アルキル基であり、 j_5 と j_6 は独立的に0～10の整数であり、好ましくは0～6の整数であり、より好ましくは0、1、2、3又は4である。

40

【0098】

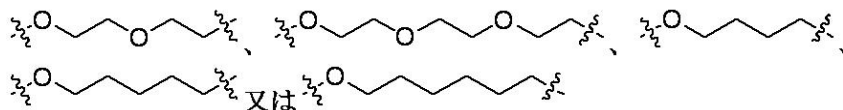
幾つかの実施形態において、 L_2 は $-(CH_2)_{j5}-(OCH_2CH_2)_{1-4}-(CH_2)_{j6}-$ であってもよく、 j_5 と j_6 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0099】

50

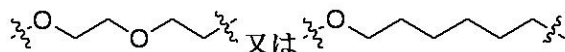
幾つかの実施形態において、 L_2 は

【化65】



であってもよく、好ましくは

【化66】



10

であり、そのうち、O原子はGに連結され、C原子はBに連結される。

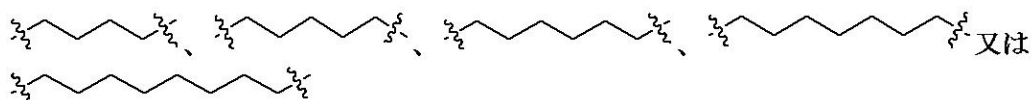
【0100】

幾つかの実施形態において、 L_2 は $C_1 \sim C_{12}$ アルキル鎖であってもよい。

【0101】

幾つかの実施形態において、 L_2 は

【化67】



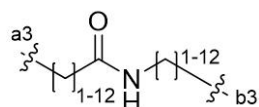
20

であってもよい。

【0102】

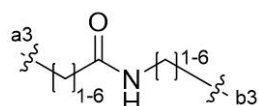
幾つかの実施形態において、 L_2 は

【化68】



であってもよく、好ましくは

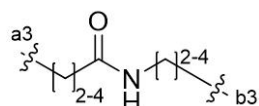
【化69】



30

であり、より好ましくは

【化70】



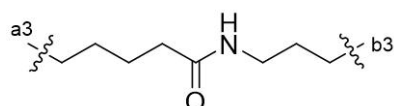
40

であり、そのうち、 a_3 末端はOに連結され、 b_3 末端はBに連結される。

【0103】

幾つかの実施形態において、 L_2 は

【化71】



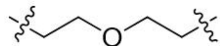
であってもよく、そのうち、 a_3 末端はOに連結され、 b_3 末端はBに連結される。

50

【0104】

幾つかの実施形態において、 L_2 は

【化72】



であってもよい。

【0105】

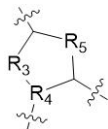
幾つかの実施形態において、 r は3、4、5又は6であってもよく、好ましくは3である。

10

【0106】

幾つかの実施形態において、 Q は

【化73】



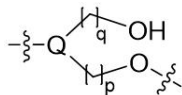
であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 R_5 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

20

【0107】

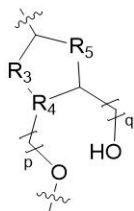
幾つかの実施形態において、

【化74】



は

【化75】



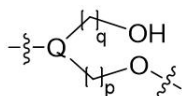
30

であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0108】

幾つかの実施形態において、

【化76】

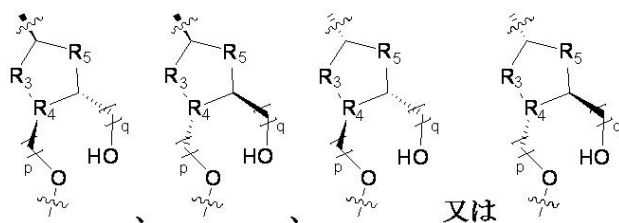


40

は

50

【化 7 7】



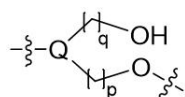
であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

10

【0109】

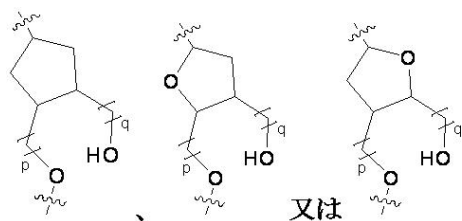
幾つかの実施形態において、

【化 7 8】



は

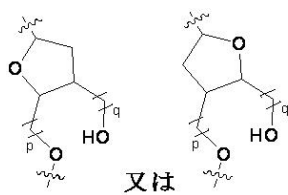
【化 7 9】



20

であってもよく、好ましくは

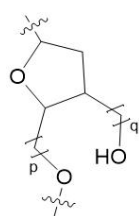
【化 8 0】



30

であり、より好ましくは

【化 8 1】



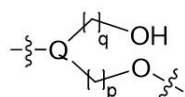
40

であり、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0110】

幾つかの実施形態において、

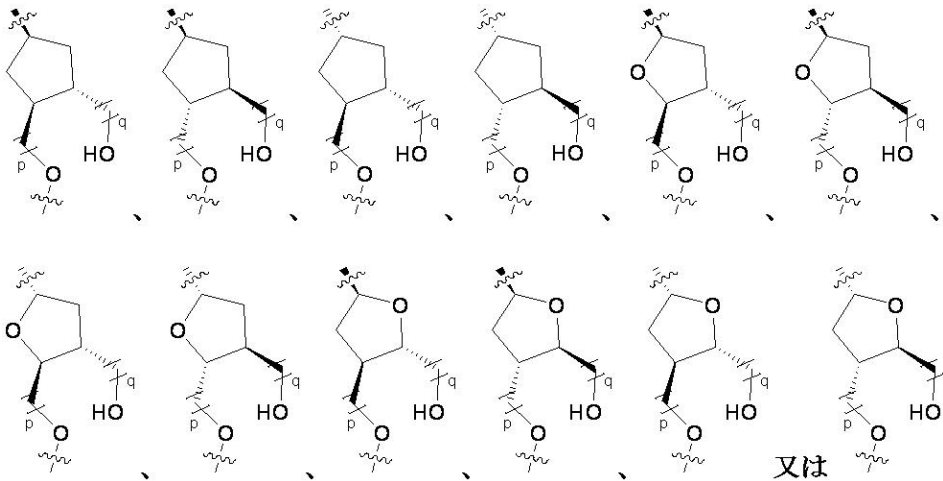
【化 8 2】



50

は

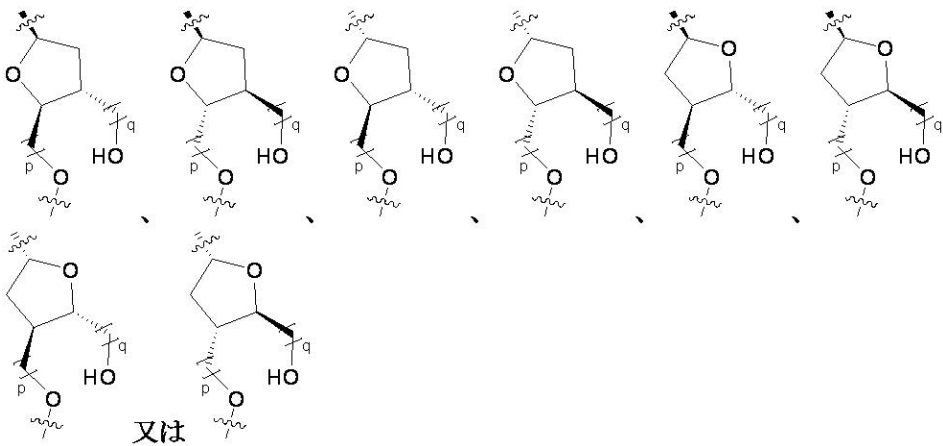
【化 8 3】



10

であってもよく、好ましくは

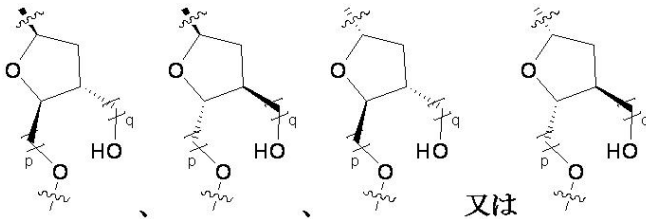
【化 8 4】



20

であり、より好ましくは

【化 8 5】



30

であり、pとqの定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 1 1】

幾つかの実施形態において、 $-R_1-R_2-$ は $-C(=O)-NR_6-$ であってもよく、そのうち、C原子は L_1 に連結されることが好ましく、 R_6 の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 1 2】

幾つかの実施形態において、mは1であってもよい。

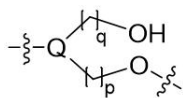
【0 1 1 3】

幾つかの実施形態において、mは1であってもよく、

40

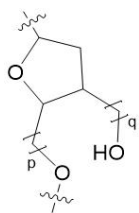
50

【化 8 6】



は

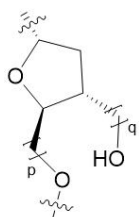
【化 8 7】



10

であり、好ましくは

【化 8 8】



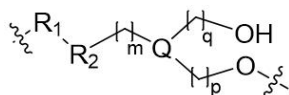
20

であり、pとqの定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 1 4】

幾つかの実施形態において、

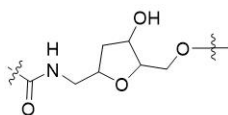
【化 8 9】



30

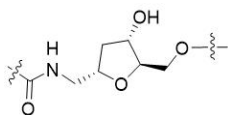
は

【化 9 0】



であってもよく、好ましくは

【化 9 1】



40

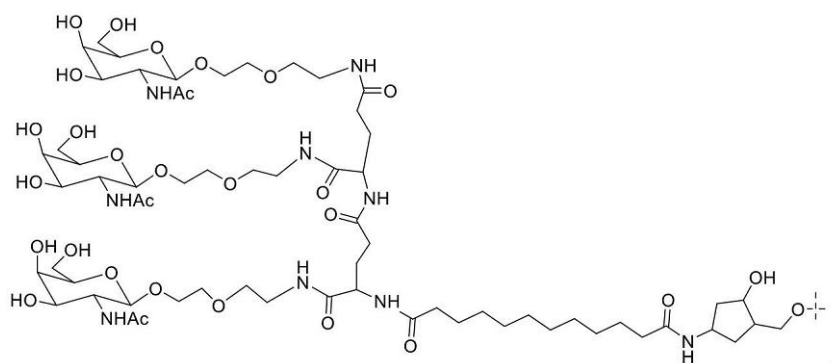
である。

【0 1 1 5】

幾つかの実施形態において、上記リガンドは、

50

【化 9 2】



10

【 0 1 1 6】

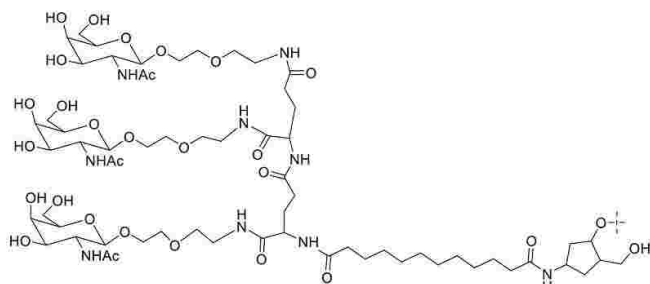
20

30

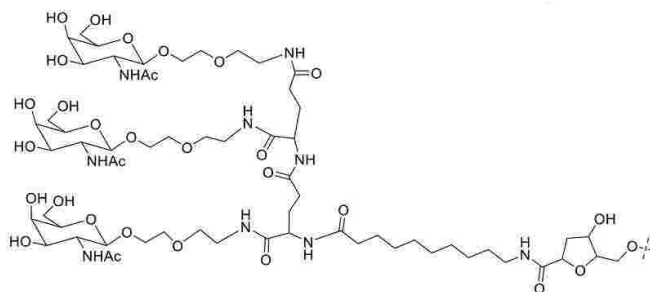
40

50

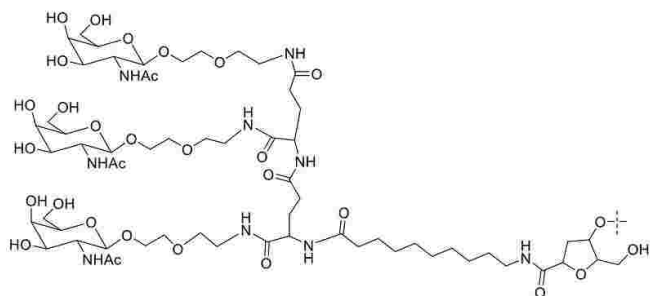
【化 9 3】



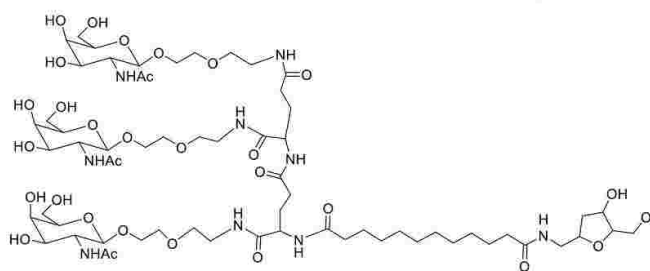
10



20



30

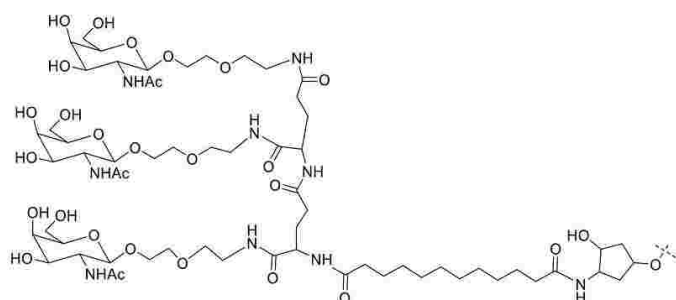


40

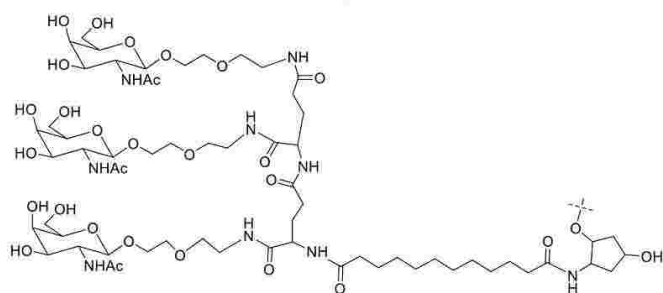
【0 1 1 7】

50

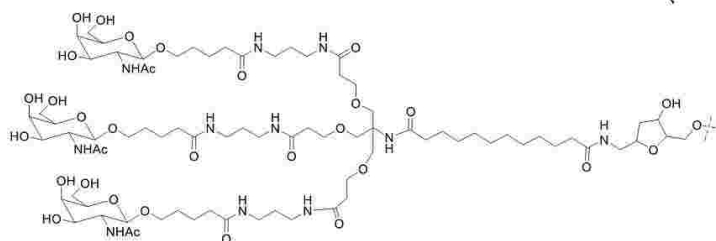
【化 9 4】



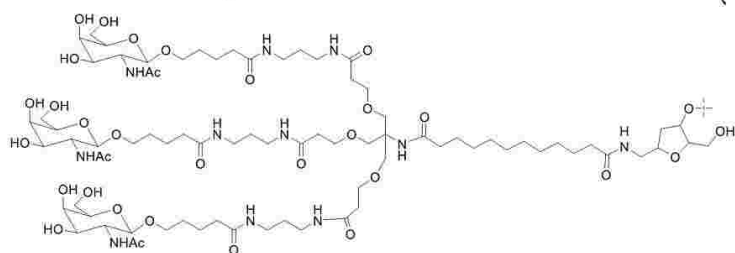
10



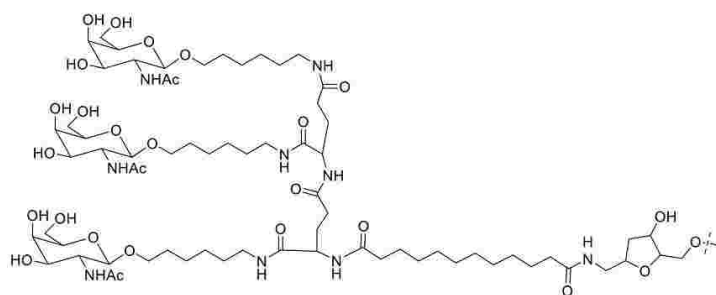
20



30



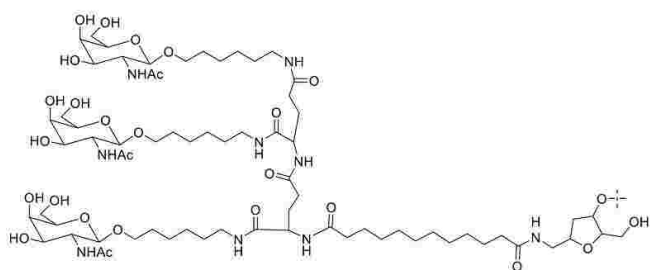
40



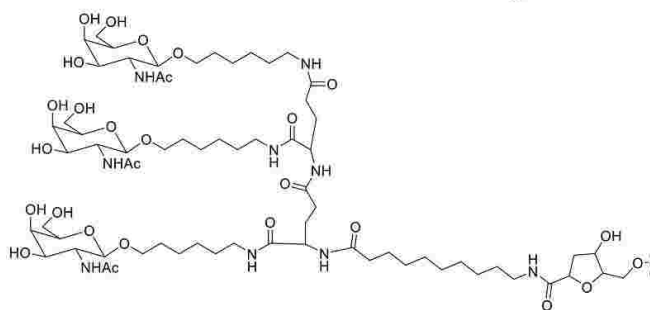
【 0 1 1 8 】

50

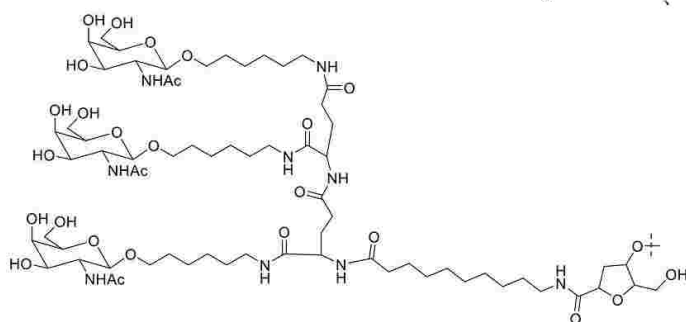
【化 9 5】



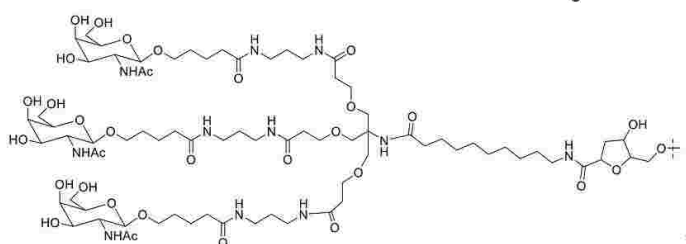
10



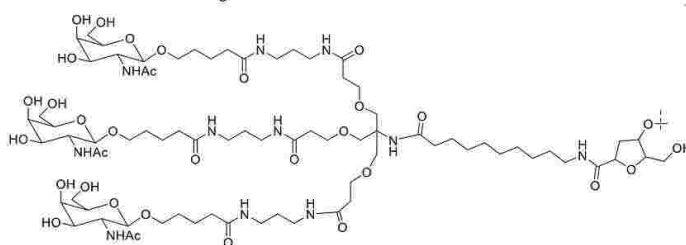
20



30



又は



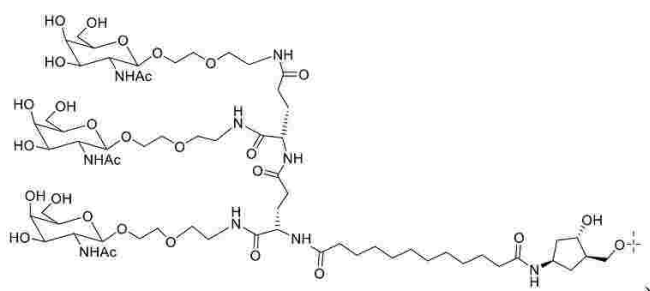
40

という構造のいずれか1つであってもよい。

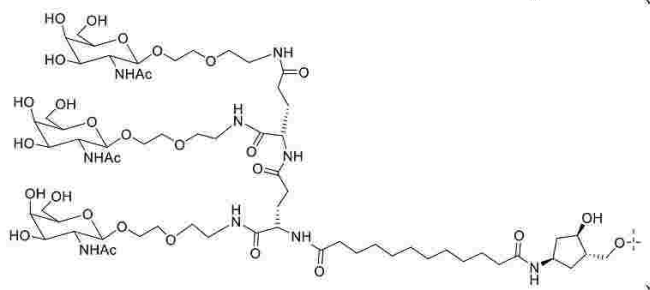
【0119】

幾つかの実施形態において、上記リガンドは、

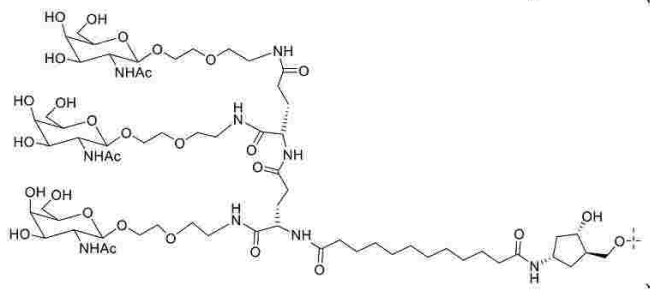
【化 9 6】



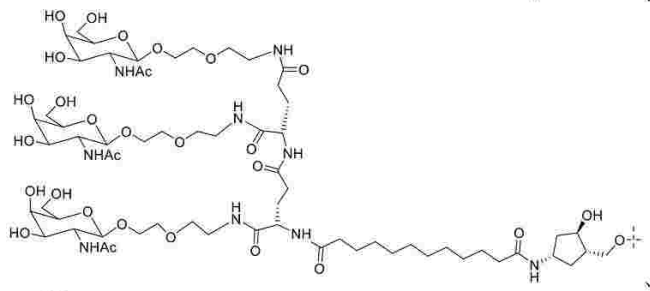
10



20



30

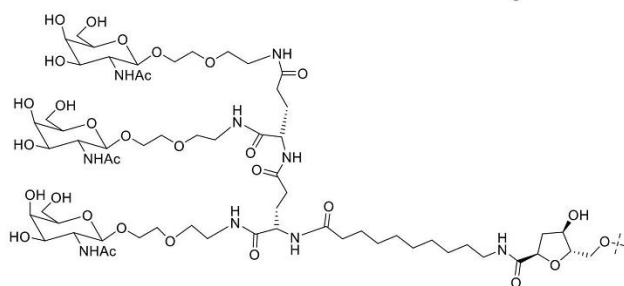
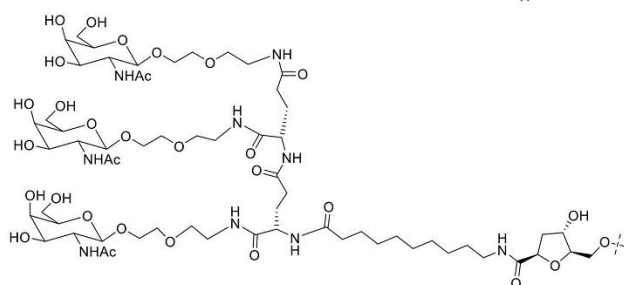
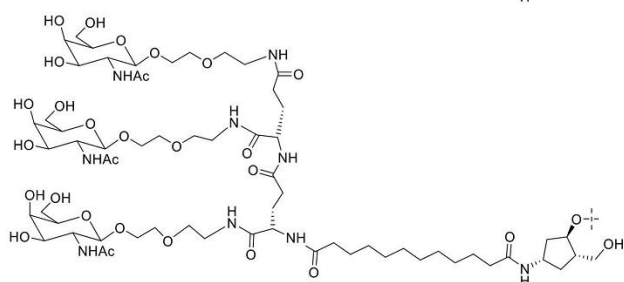
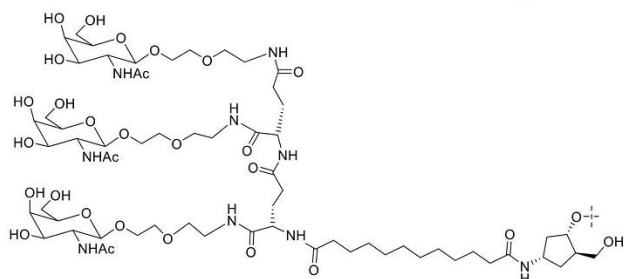
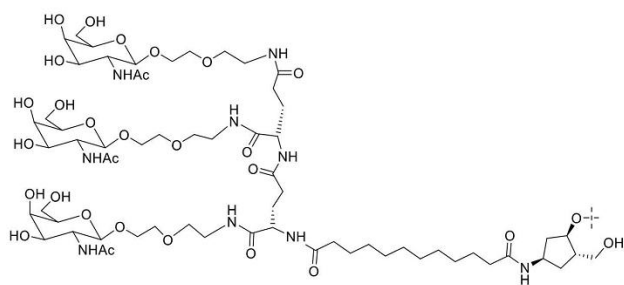


40

【0 1 2 0】

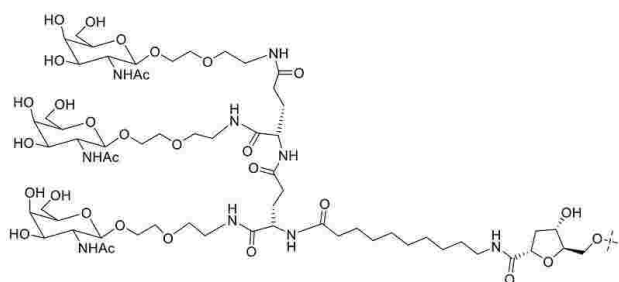
50

10

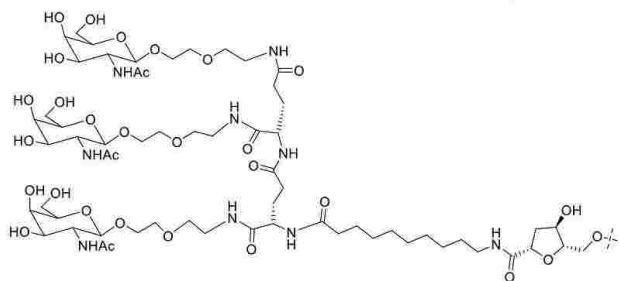


40

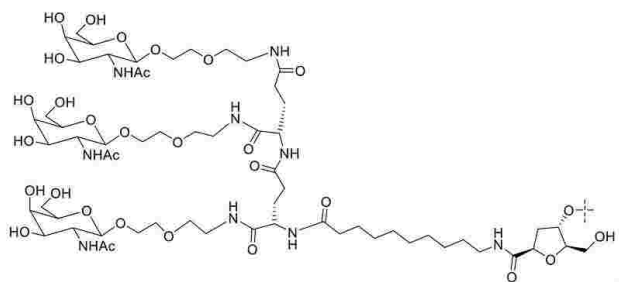
【化 9 8】



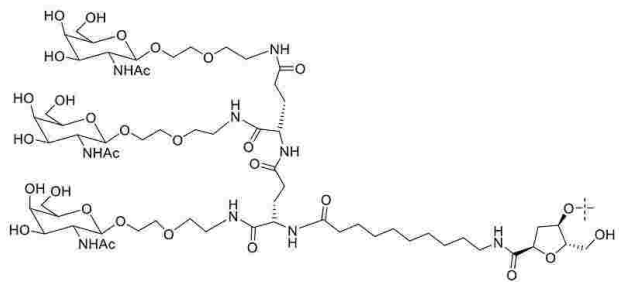
10



20



30

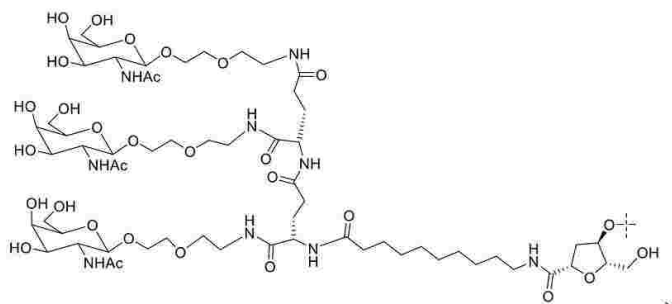


40

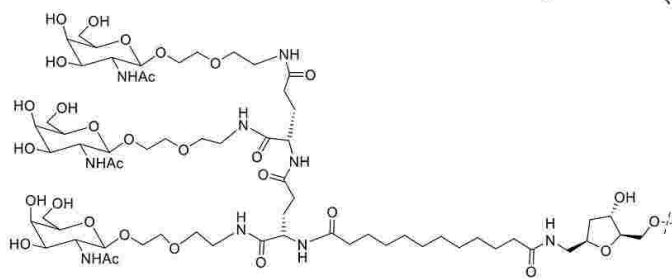
【 0 1 2 2】

50

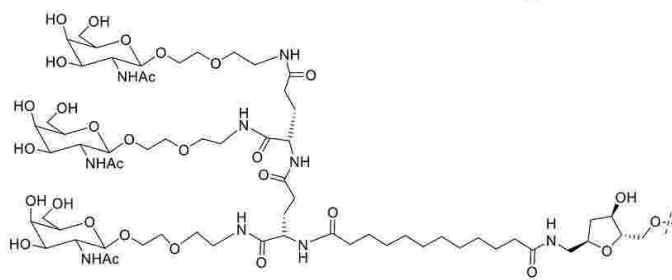
【化 9 9】



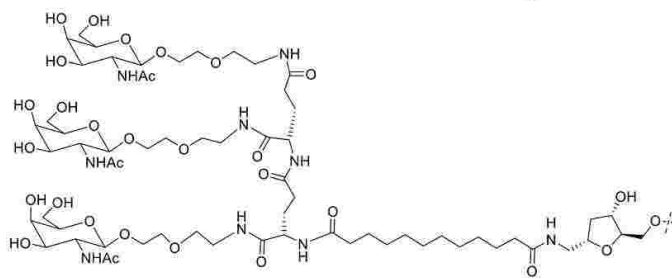
10



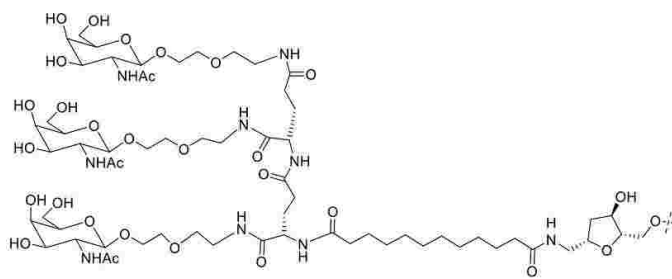
20



30



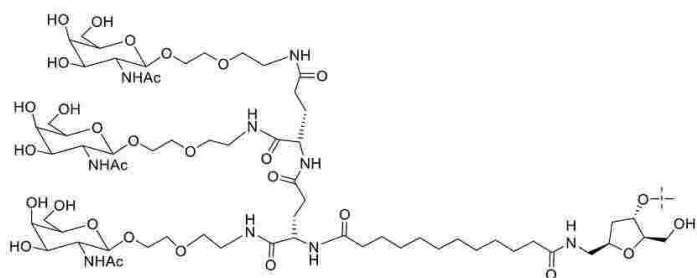
40



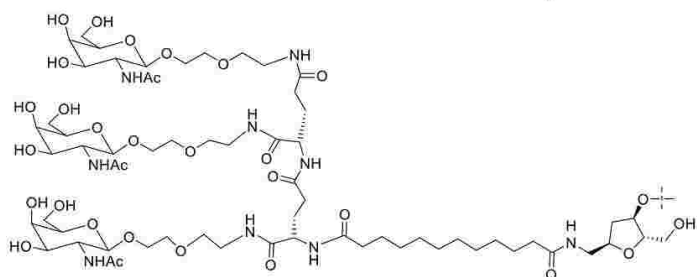
【 0 1 2 3】

50

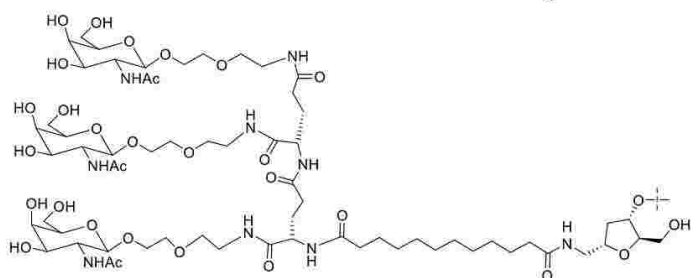
【化 1 0 0】



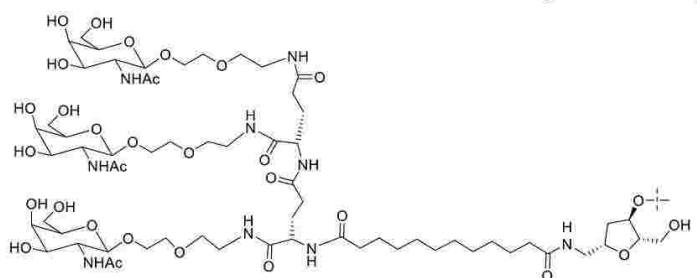
10



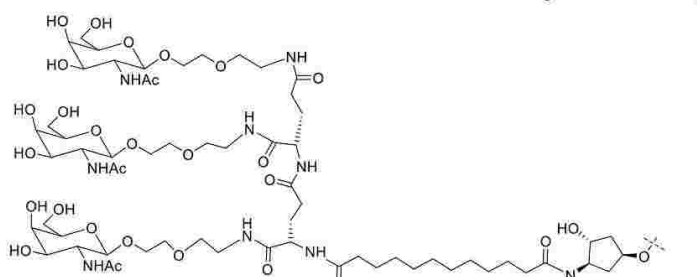
20



30



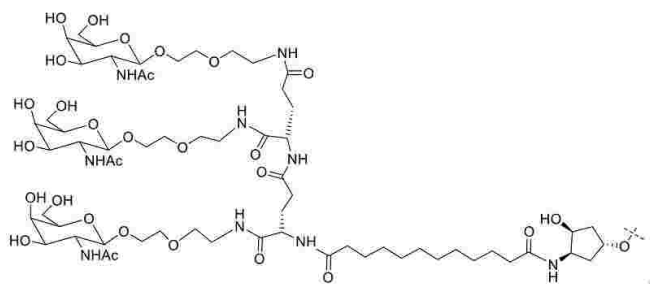
40



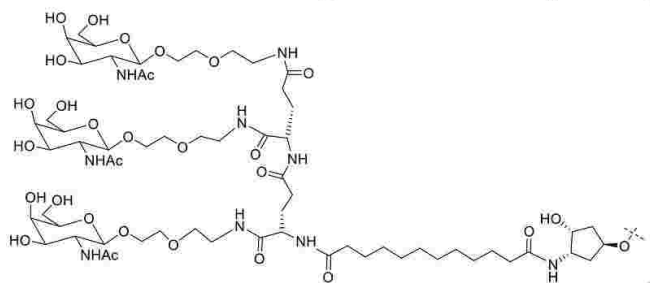
【 0 1 2 4】

50

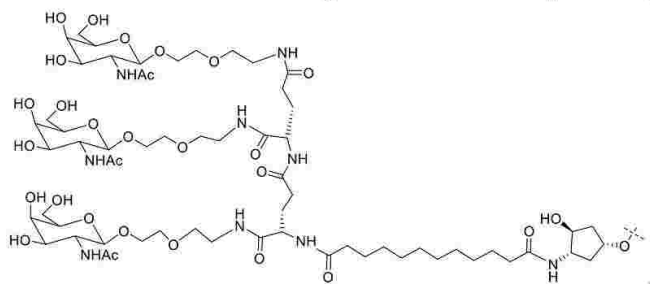
【化 1 0 1】



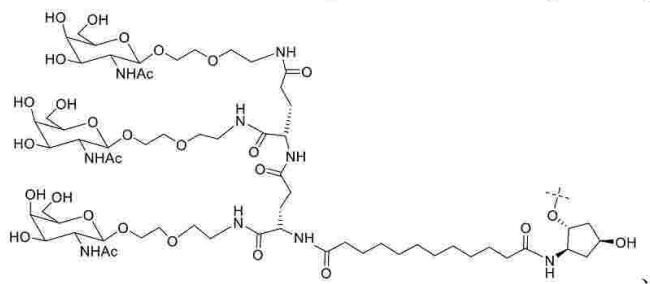
10



20



30

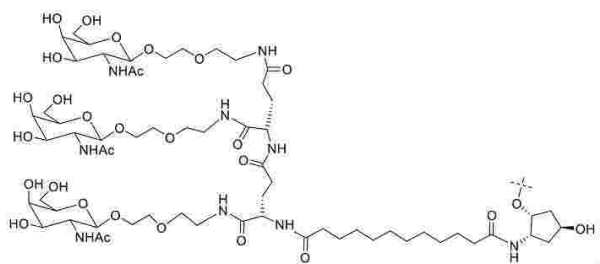


40

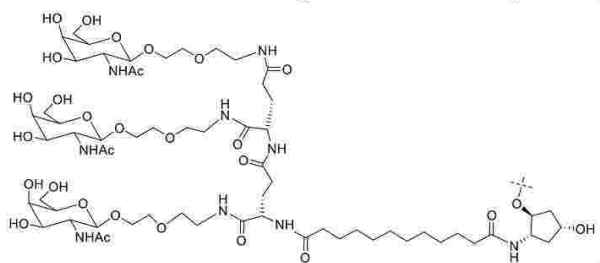
【 0 1 2 5】

50

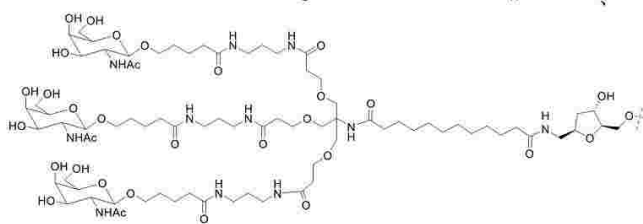
【化 1 0 2】



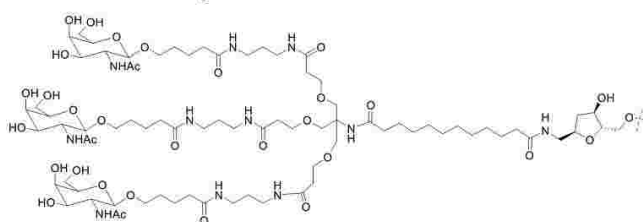
10



20



30

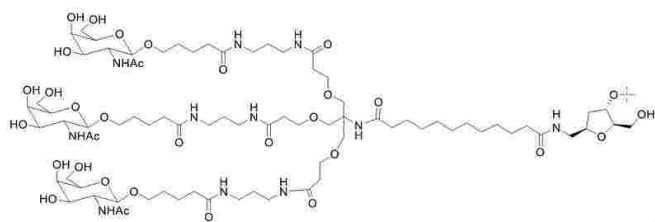


40

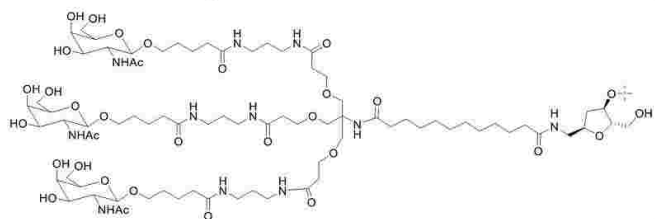
【 0 1 2 6】

50

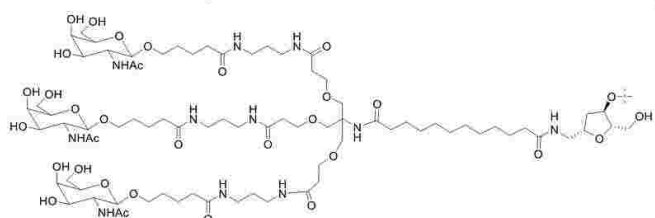
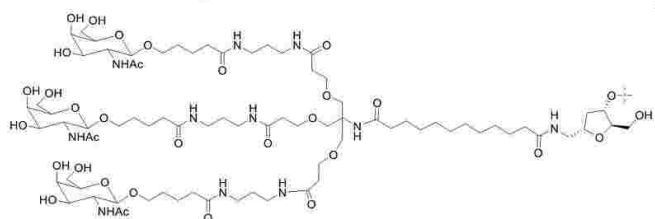
【化 1 0 3】



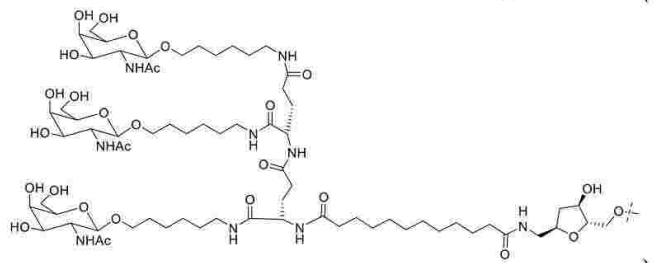
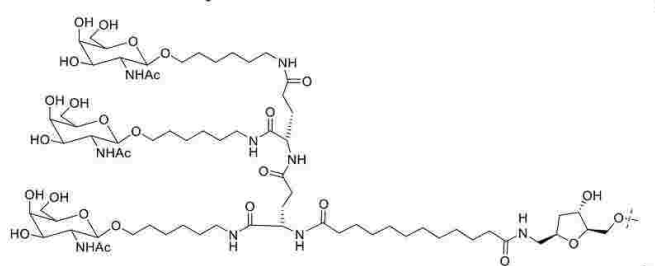
10



20



30

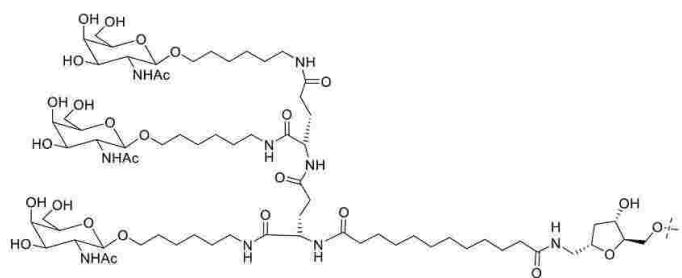


40

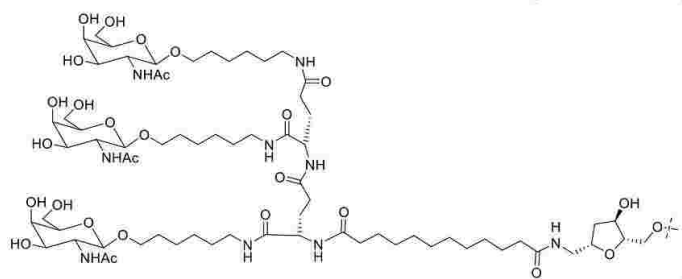
【 0 1 2 7】

50

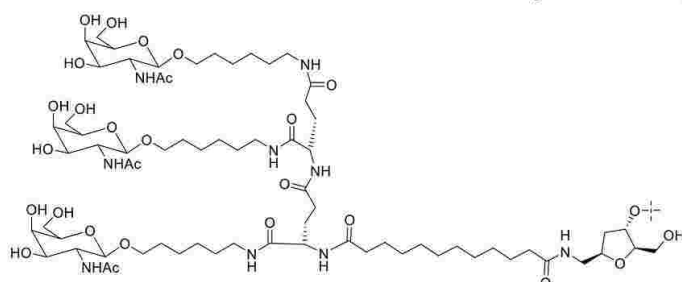
【化 1 0 4】



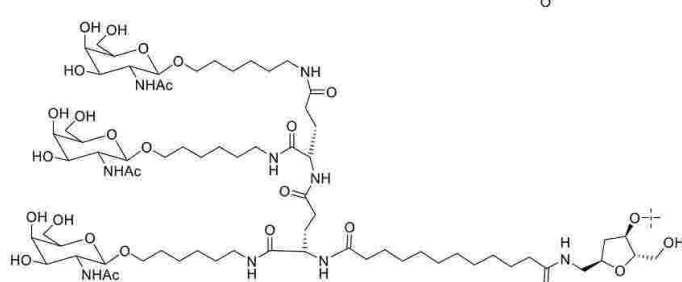
10



20



30

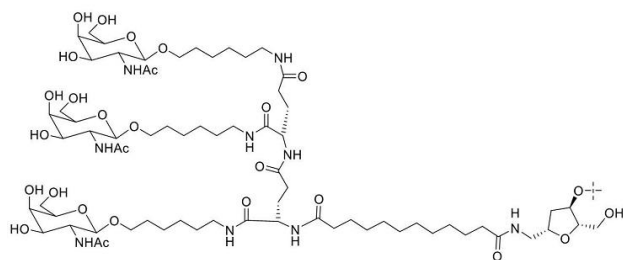


40

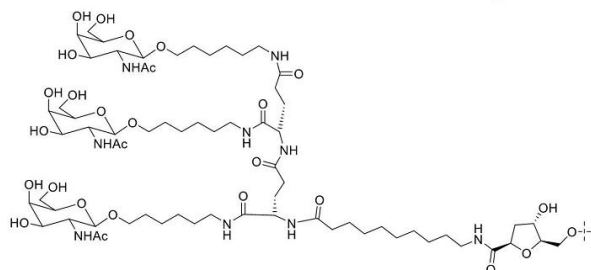
【 0 1 2 8】

50

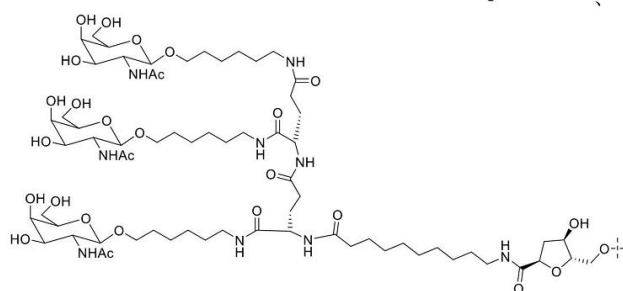
【化 1 0 5】



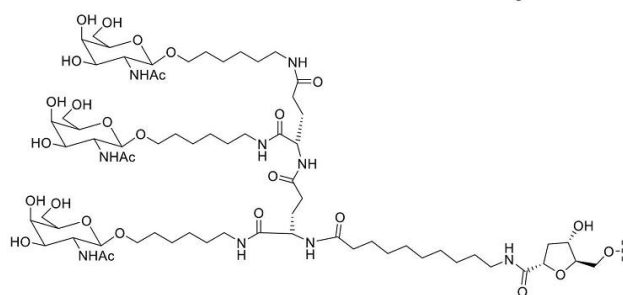
10



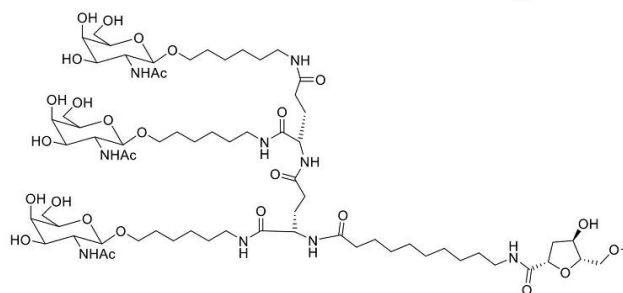
20



30



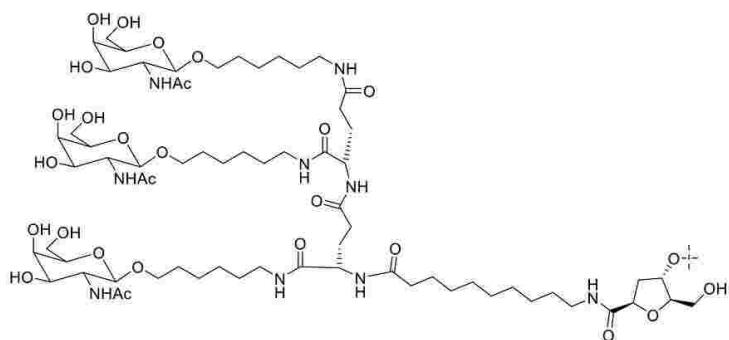
40



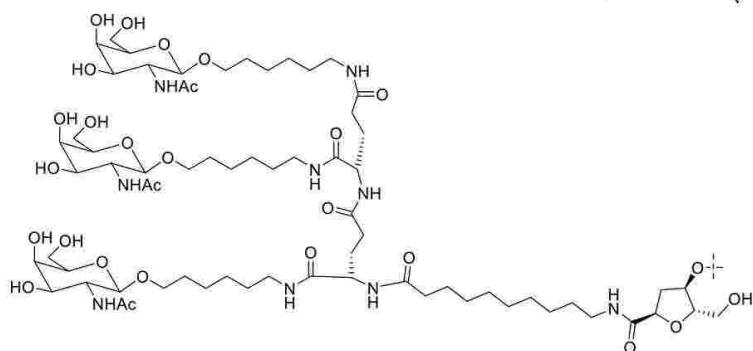
【 0 1 2 9】

50

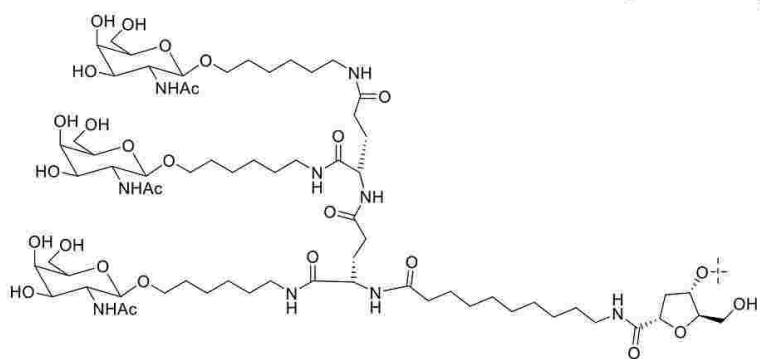
【化 1 0 6】



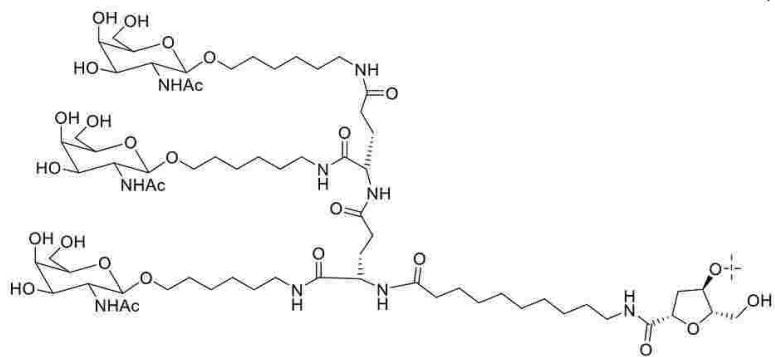
10



20



30

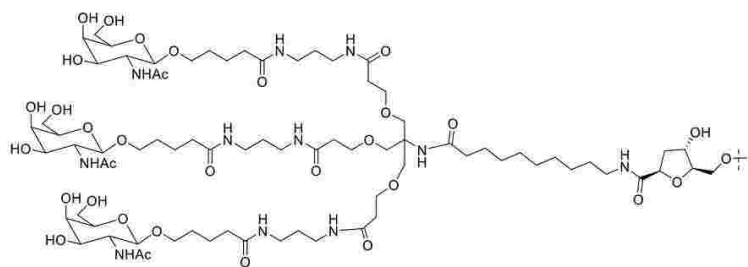


40

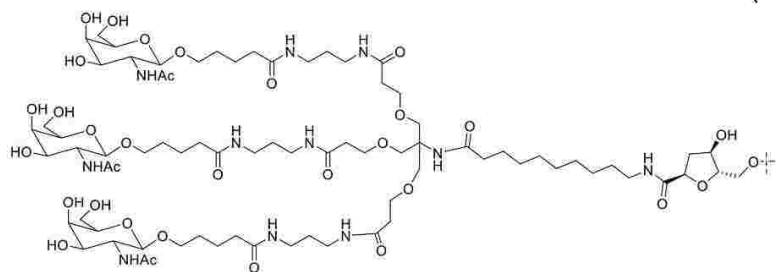
【 0 1 3 0】

50

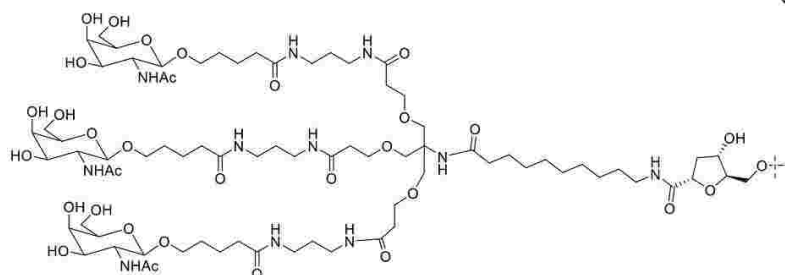
【化 1 0 7】



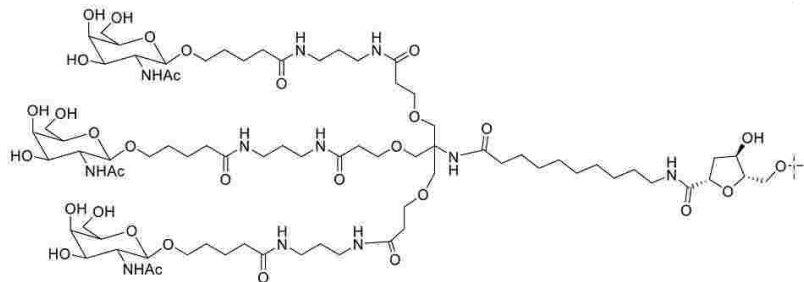
10



20



30

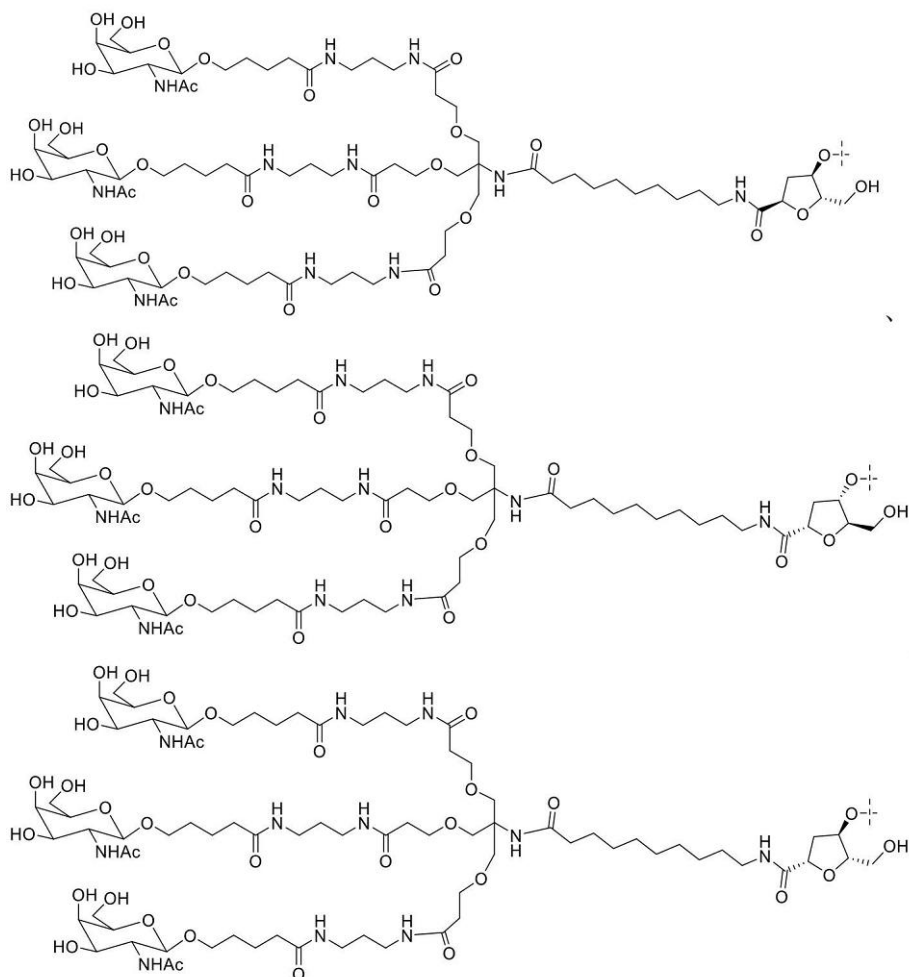


40

【0 1 3 1】

50

【化 1 0 8】



10

20

又は

30

という構造のいずれか 1 つであってもよい。

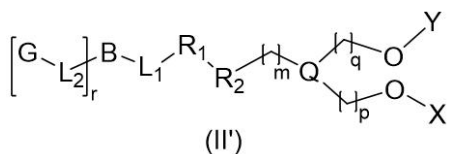
【0 1 3 2】

幾つかの実施形態において、上記リガンドにおける N-アセチルガラクトサミン部分は、N-トリフルオロアセチルガラクトサミン、N-プロピオニルガラクトサミン、N-n-ブチリルガラクトサミン又は N-イソブチリルガラクトサミンにより置換されてもよい。

【0 1 3 3】

第 2 の態様において、本開示は、式 (II') で示される化合物を提供し、

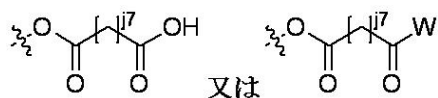
【化 1 0 9】



40

そのうち、X はヒドロキシ保護基であり、Y は水素、重水素、

【化 1 1 0】



又は

50

であり、

j 7 は 1、2、3 又は 4 であり、

W は高分子化合物であり、

G は、細胞受容体に結合する標的部分であり、

L₁、R₁、R₂、Q、B、L₂、m、p、q と r の定義は、式 (I') で示される構造を有するリガンド中のいずれか 1 つの形態に記載された通りである。

【0134】

幾つかの実施形態において、上記ヒドロキシ保護基はエステル保護基、アルコキシメチル保護基、アルキル保護基、シリル保護基又はアリール保護基であってもよく、好ましくはアリール保護基であり、より好ましくは MMT_r と DMTr_r であり、更に好ましくは DMTr_r である。

10

【0135】

幾つかの実施形態において、j 7 は 2 であってもよい。

【0136】

幾つかの実施形態において、G は、アシアロ糖タンパク受容体標的部分であってもよい。

【0137】

幾つかの実施形態において、G は N-アセチル-ガラクトサミントリアセテート、N-トリフルオロアセチルガラクトサミントリアセテート、N-プロピオニルガラクトサミントリアセテート、N-n-ブチルガラクトサミントリアセテート又は N-イソブチルガラクトサミントリアセテートであってもよく、好ましくは N-アセチル-ガラクトサミントリアセテートである。

20

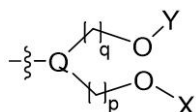
【0138】

幾つかの実施形態において、上記高分子化合物は樹脂であってもよく、好ましくはマクロ孔質樹脂、より好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂である。

【0139】

幾つかの実施形態において、

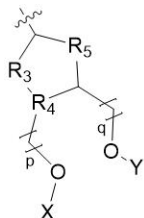
【化111】



30

は

【化112】



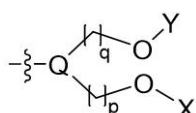
40

であってもよく、そのうち、R₃、R₄、R₅、X、Y、p と q の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0140】

幾つかの実施形態において、

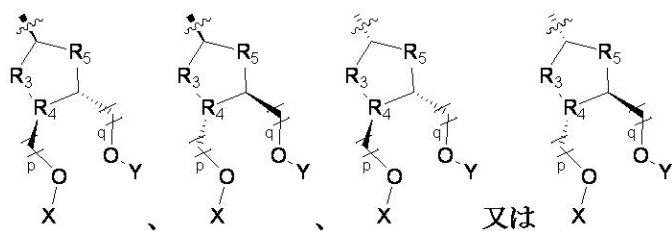
【化113】



50

は

【化 1 1 4】



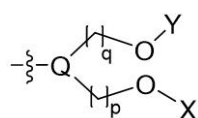
であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 X 、 Y 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

10

【0 1 4 1】

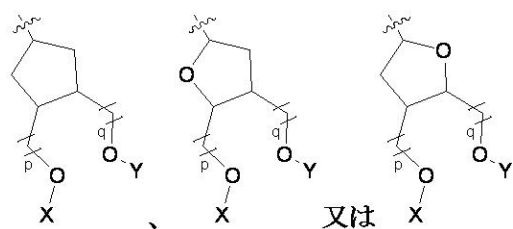
幾つかの実施形態において、

【化 1 1 5】



は

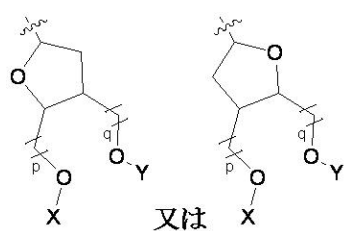
【化 1 1 6】



20

であってもよく、好ましくは

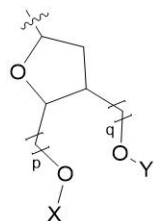
【化 1 1 7】



30

であり、より好ましくは

【化 1 1 8】



40

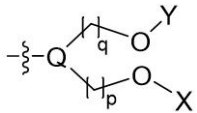
であり、 X 、 Y 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 4 2】

幾つかの実施形態において、

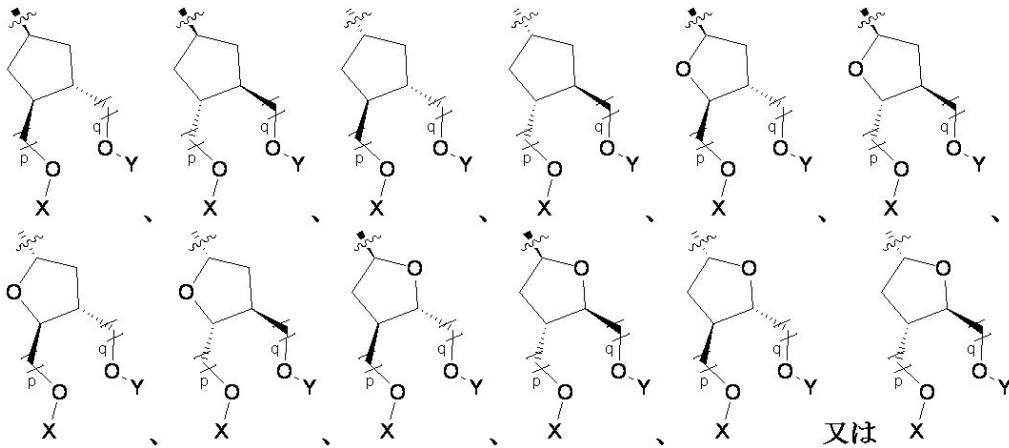
50

【化 1 1 9】



は

【化 1 2 0】

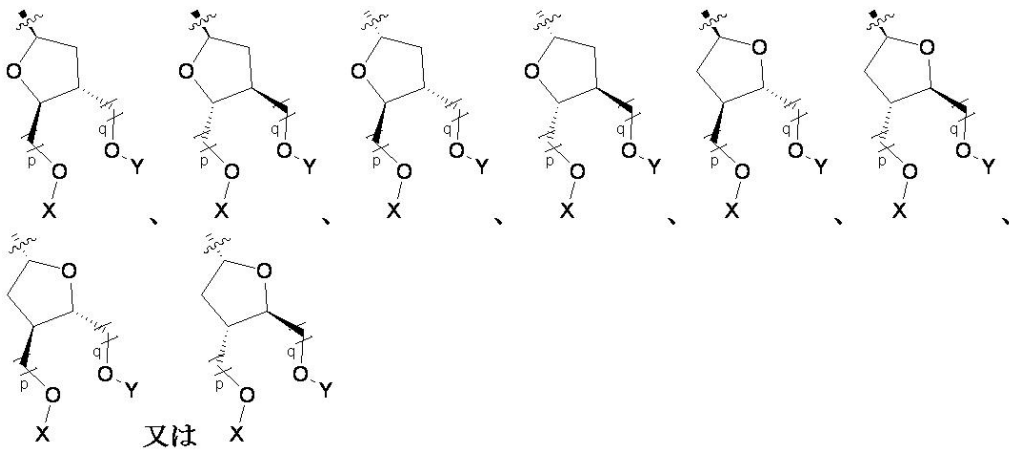


10

20

であってもよく、好ましくは

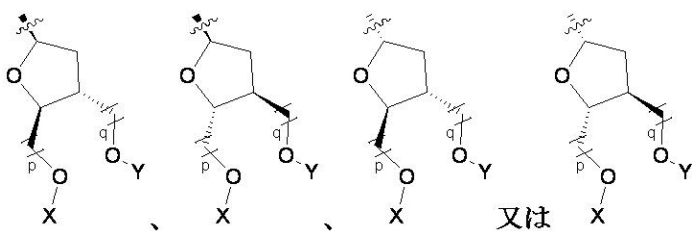
【化 1 2 1】



30

であり、より好ましくは

【化 1 2 2】



40

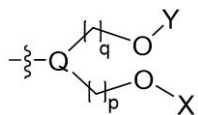
であり、X、Y、pとqの定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 4 3】

幾つかの実施形態において、

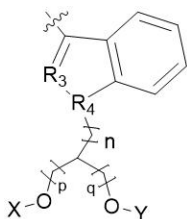
50

【化 1 2 3】



は

【化 1 2 4】



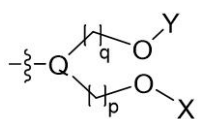
10

であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 X 、 Y 、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 4 4】

幾つかの実施形態において、

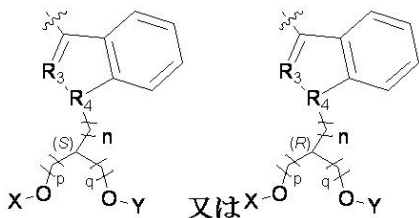
【化 1 2 5】



20

は

【化 1 2 6】



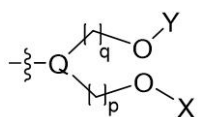
30

であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 X 、 Y 、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 4 5】

幾つかの実施形態において、

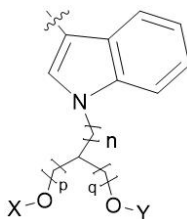
【化 1 2 7】



40

は

【化 1 2 8】



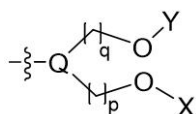
50

であってもよく、 X 、 Y 、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0146】

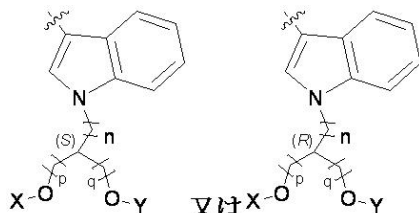
幾つかの実施形態において、

【化129】



は

【化130】



10

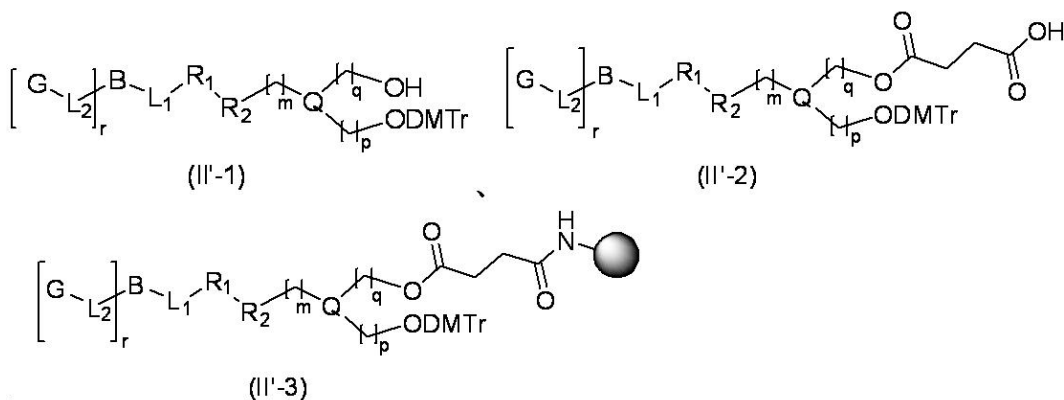
であってもよく、 X 、 Y 、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

20

【0147】

幾つかの実施形態において、上記化合物は

【化131】



30

という式(II'-1)、(II'-2)又は(II'-3)で示される化合物であってもよく、

そのうち、

【化132】



40

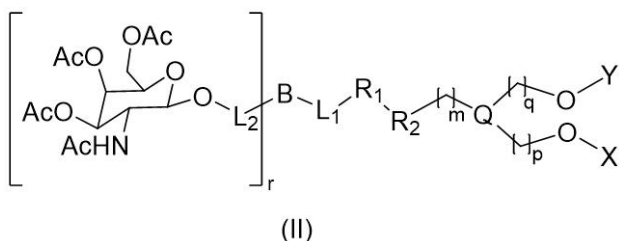
は樹脂であり、好ましくはマクロ孔質樹脂、より好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂であり、 L_1 、 R_1 、 R_2 、 Q 、 B 、 L_2 、 G 、 m 、 p 、 q と r の定義は式(II')で示される化合物中のいずれか1つの形態に記載された通りである。

【0148】

本開示は、式(II)で示される化合物を提供し、

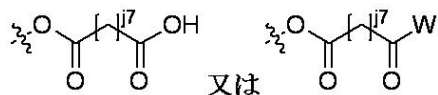
50

【化 1 3 3】



そのうち、Xはヒドロキシ保護基であり、Yは水素、重水素、

【化 1 3 4】



10

であり、

j 7 は 1、2、3 又は 4 であり、

W は高分子化合物であり、

L₁、R₁、R₂、Q、B、L₂、m、p、q と r の定義は、式 (I) で示される構造を有するリガンド中のいずれか 1 つの形態に記載された通りである。

【0 1 4 9】

幾つかの実施形態において、上記ヒドロキシ保護基はエステル保護基、アルコキシメチル保護基、アルキル保護基、シリル保護基又はアリール保護基であってもよく、好ましくはアリール保護基であり、より好ましくは MMT r と DMTr であり、更に好ましくは DMTr である。

20

【0 1 5 0】

幾つかの実施形態において、j 7 は 2 であってもよい。

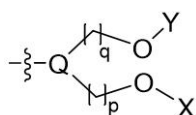
【0 1 5 1】

幾つかの実施形態において、上記高分子化合物は樹脂であってもよく、好ましくはマクロ孔質樹脂、より好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂である。

【0 1 5 2】

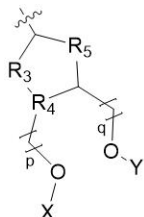
幾つかの実施形態において、

【化 1 3 5】



は

【化 1 3 6】



40

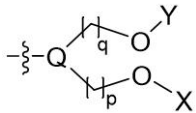
であってもよく、そのうち、R₃、R₄、R₅、X、Y、p と q の定義は上記形態のいずれか 1 つに記載された通りである。

【0 1 5 3】

幾つかの実施形態において、

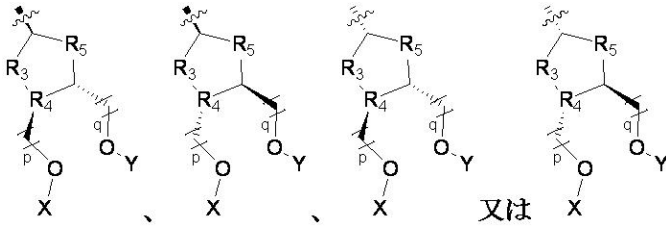
50

【化 1 3 7】



は

【化 1 3 8】



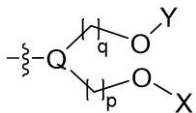
10

であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 X 、 Y 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 5 4】

幾つかの実施形態において、

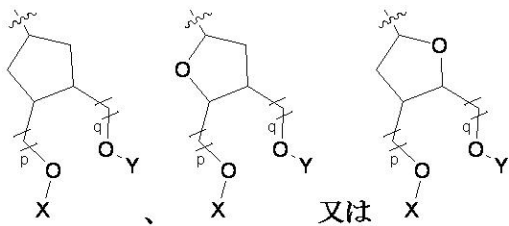
【化 1 3 9】



20

は

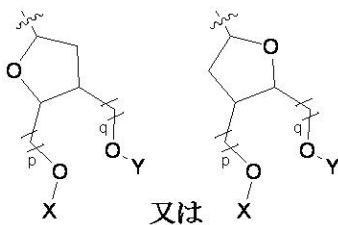
【化 1 4 0】



30

であってもよく、好ましくは

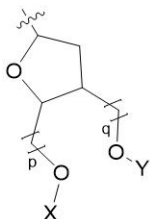
【化 1 4 1】



40

であり、より好ましくは

【化 1 4 2】



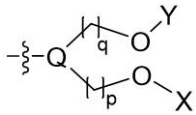
50

であり、X、Y、pとqの定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0155】

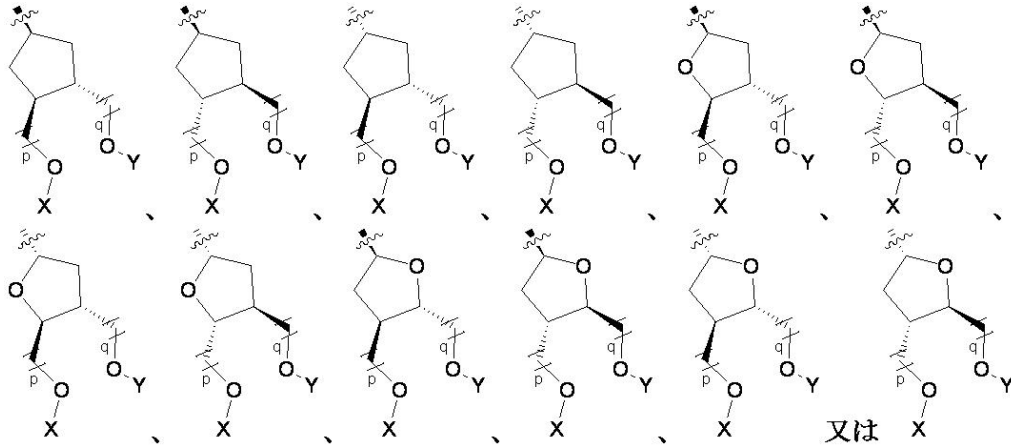
幾つかの実施形態において、

【化143】



は

【化144】

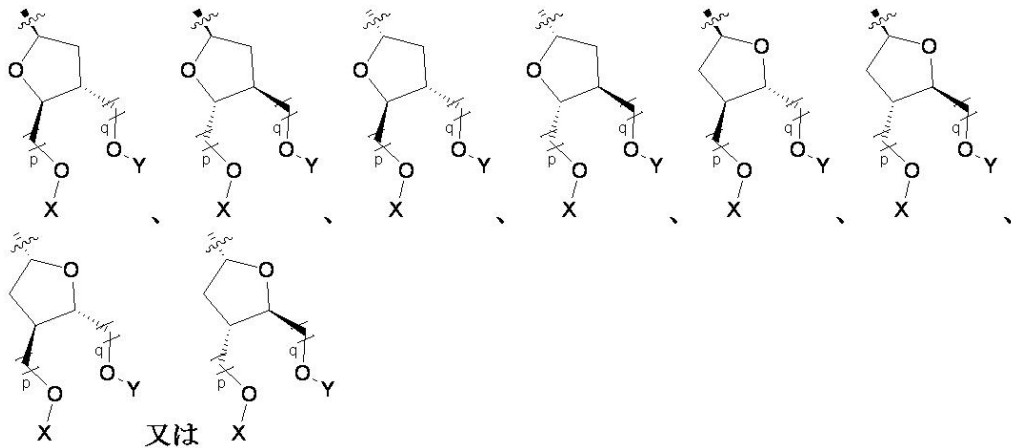


10

20

であってもよく、好ましくは

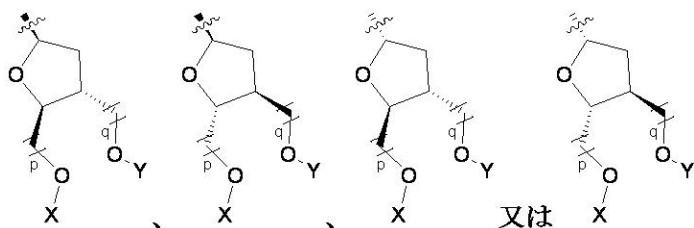
【化145】



30

であり、より好ましくは

【化146】



40

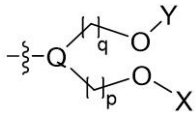
であり、X、Y、pとqの定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0156】

幾つかの実施形態において、

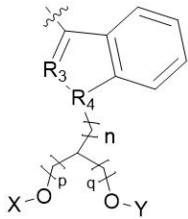
50

【化 1 4 7】



は

【化 1 4 8】



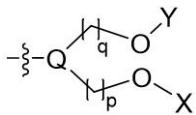
10

であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 X 、 Y 、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 5 7】

幾つかの実施形態において、

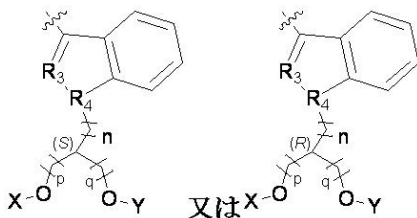
【化 1 4 9】



20

は

【化 1 5 0】



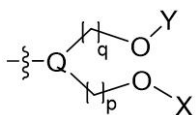
30

であってもよく、そのうち、 R_3 、 R_4 、 X 、 Y 、 n 、 p と q の定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0 1 5 8】

幾つかの実施形態において、

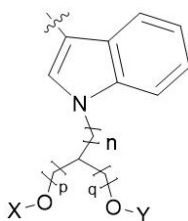
【化 1 5 1】



40

は

【化 1 5 2】



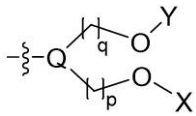
50

であってもよく、X、Y、n、pとqの定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

【0159】

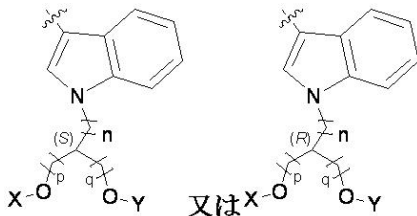
幾つかの実施形態において、

【化153】



は

【化154】



10

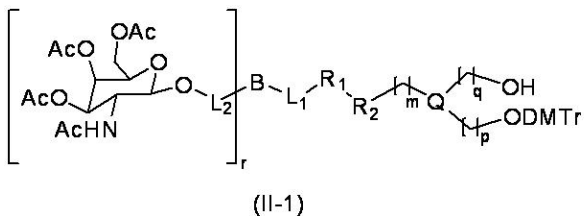
であってもよく、X、Y、n、pとqの定義は上記形態のいずれか1つに記載された通りである。

20

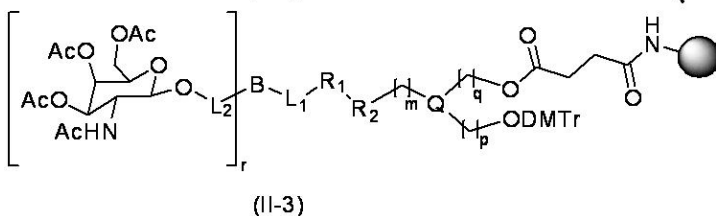
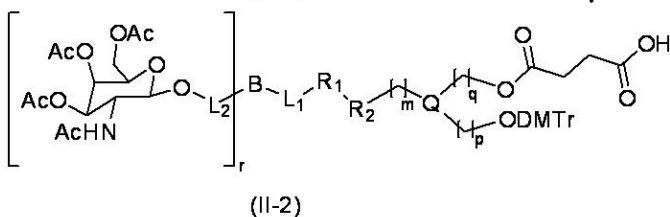
【0160】

幾つかの実施形態において、上記化合物は、

【化155】



30



40

という式(II-1)、(II-2)又は(II-3)で示される化合物であってもよく、

そのうち、

【化156】



は樹脂であり、好ましくはマクロ孔質樹脂、より好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂であり、L₁、R₁、R₂、Q、B、L₂、m、p、qとrの定義は式(II)で示され

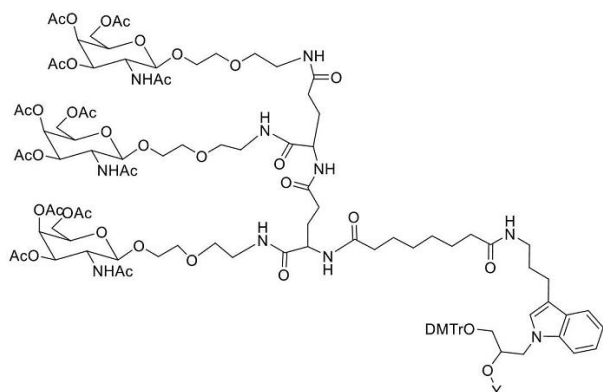
50

る化合物中のいずれか 1 つの形態に記載された通りである。

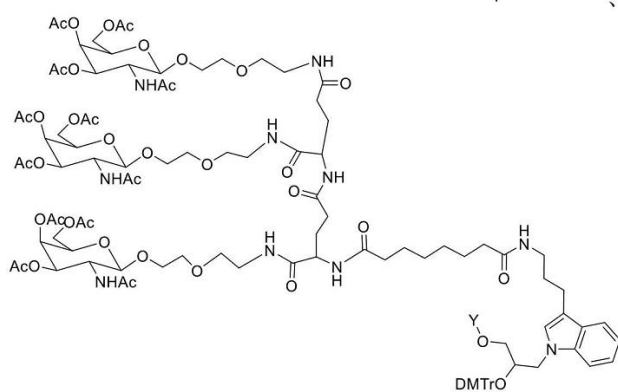
【 0 1 6 1 】

幾つかの実施形態において、上記化合物は、

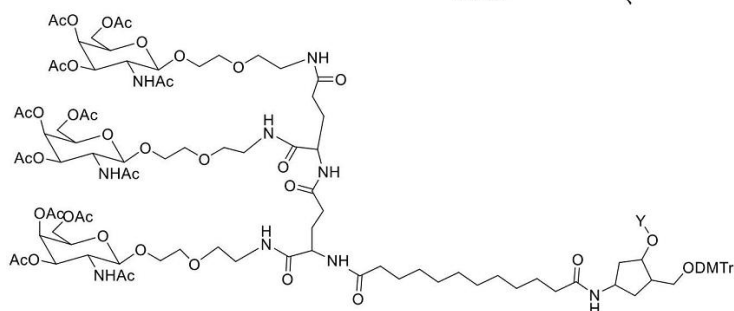
【 化 1 5 7 】



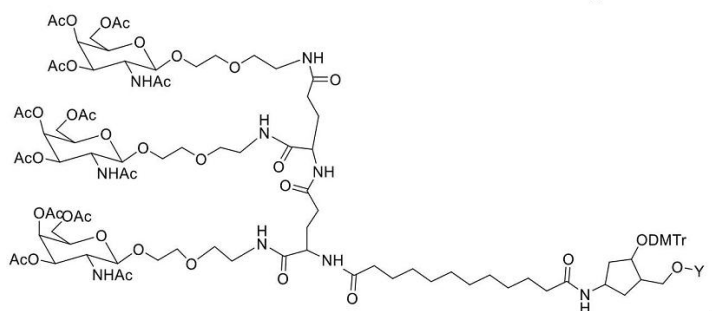
10



20



30

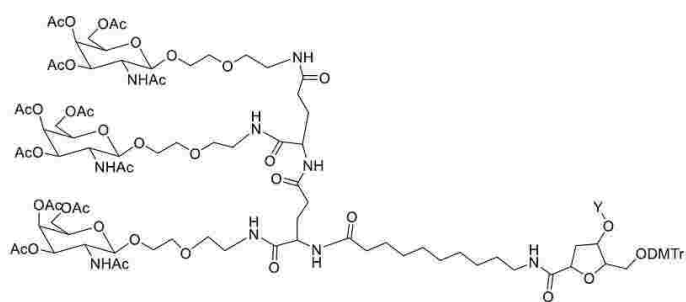


40

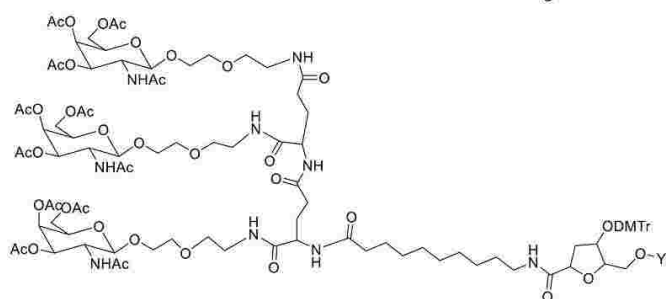
【 0 1 6 2 】

50

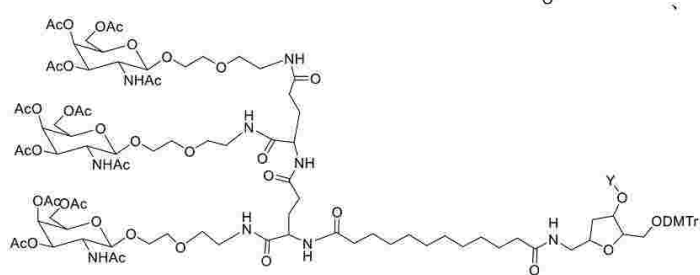
【化 1 5 8】



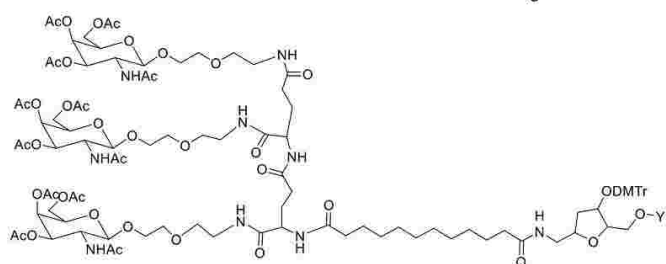
10



20



30

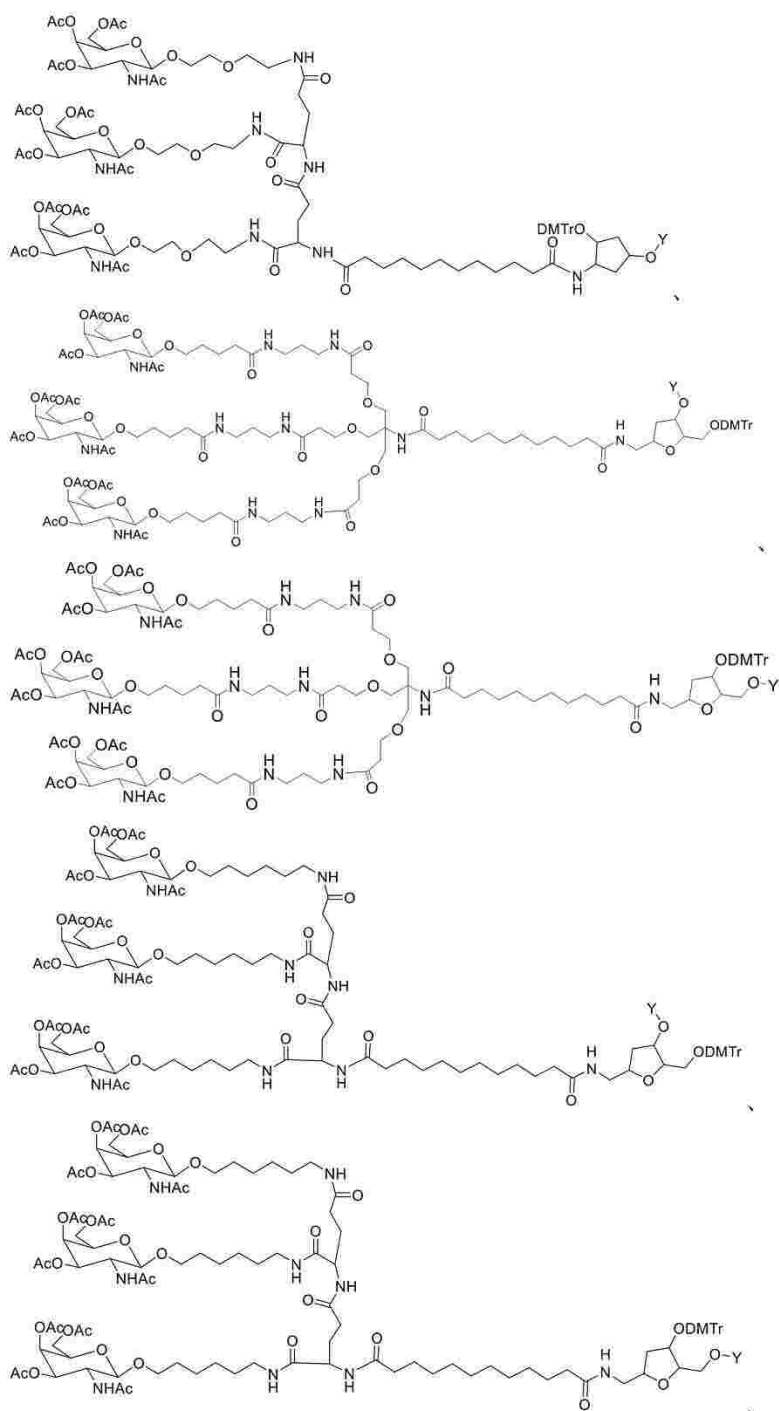


40

【 0 1 6 3】

50

【化 1 5 9】



10

20

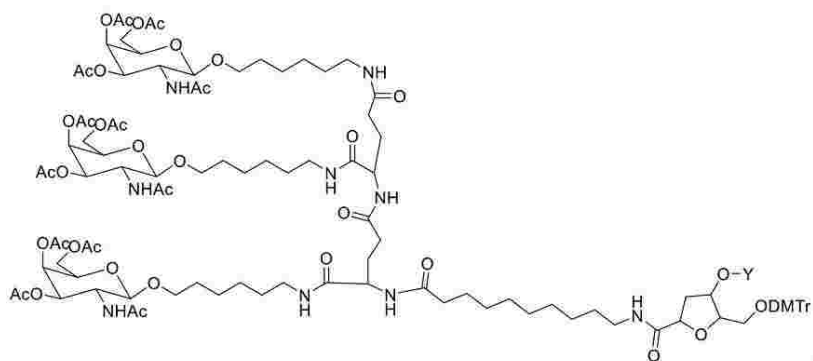
30

40

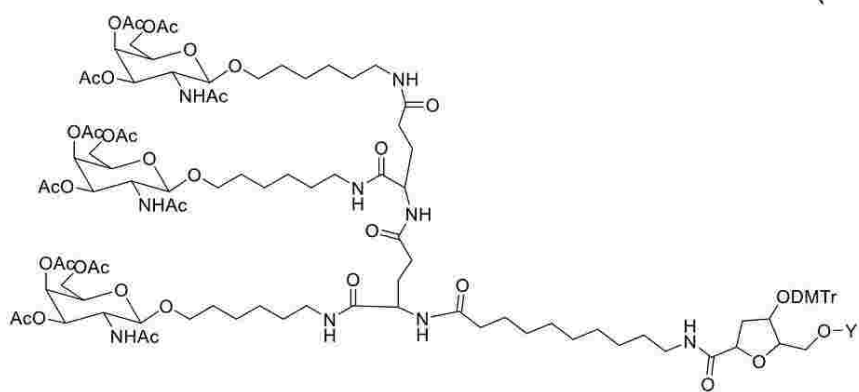
【 0 1 6 4】

50

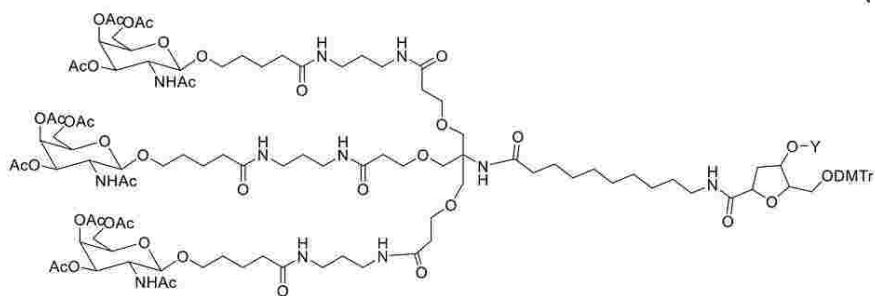
【化 1 6 0】



10

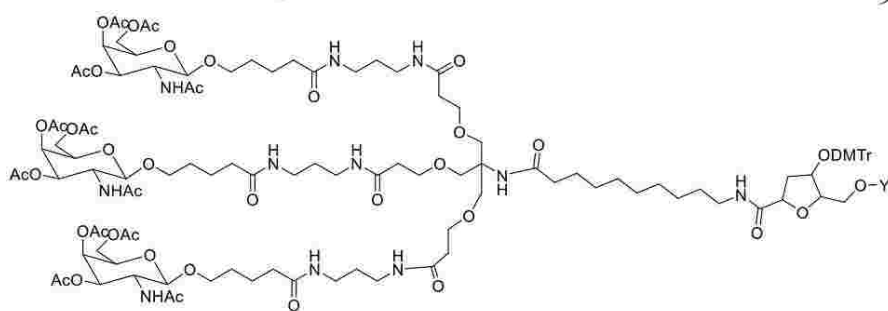


20



30

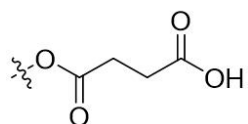
又は



40

という構造のいずれか 1 つであってもよく、
そのうち、Y は水素又は

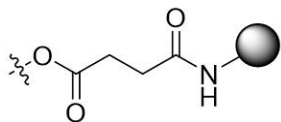
【化 1 6 1】



であり、
或いは、Y は

50

【化 1 6 2】



であり、

【化 1 6 3】



は樹脂であり、好ましくはマクロ孔質樹脂、より好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂である。

【0 1 6 5】

幾つかの実施形態において、上記化合物は、

10

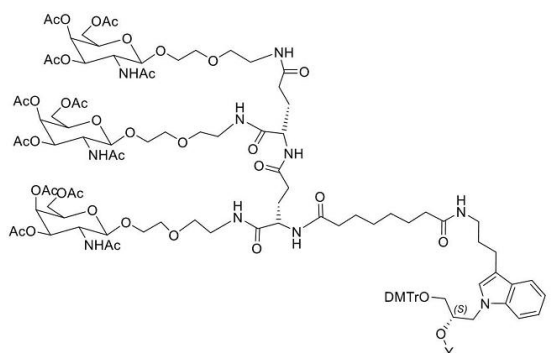
20

30

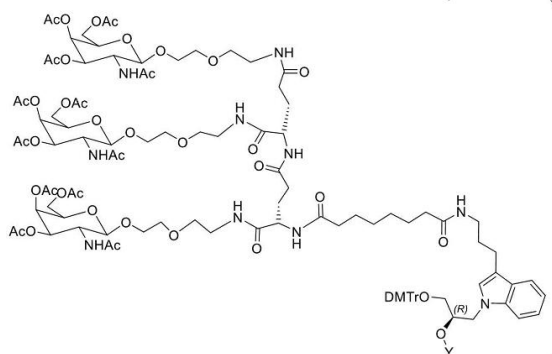
40

50

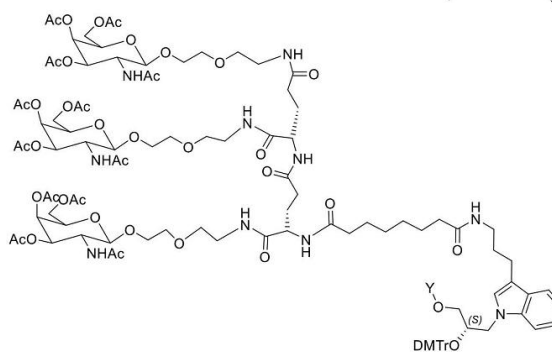
【化 1 6 4】



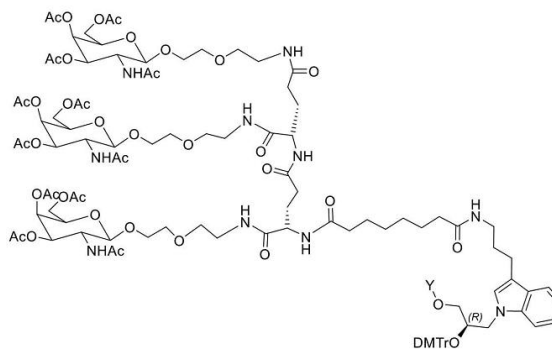
10



20



30

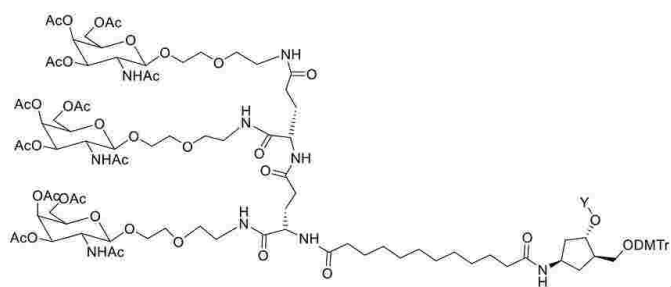


40

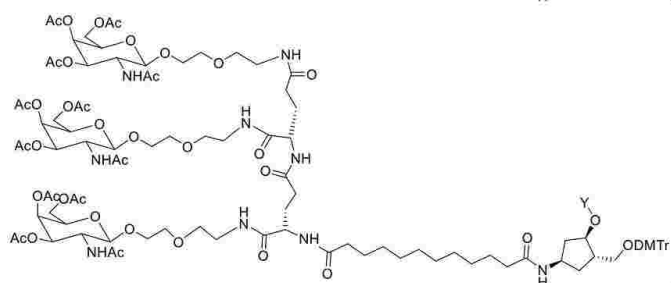
【 0 1 6 6】

50

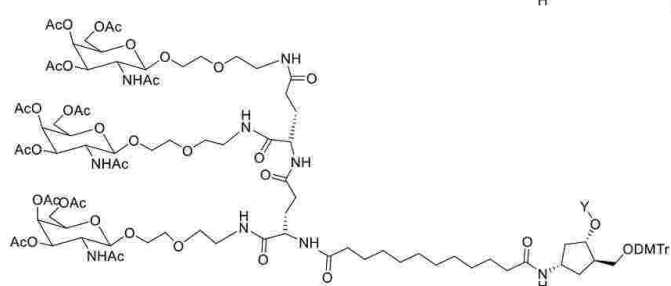
【化 1 6 5】



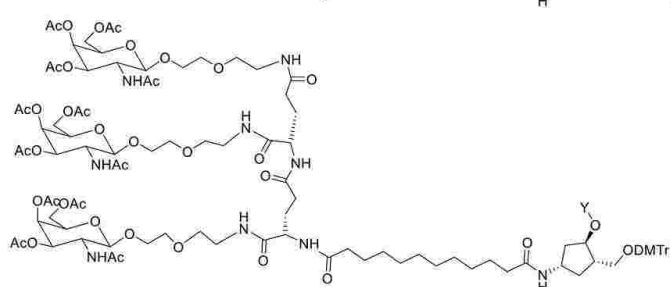
10



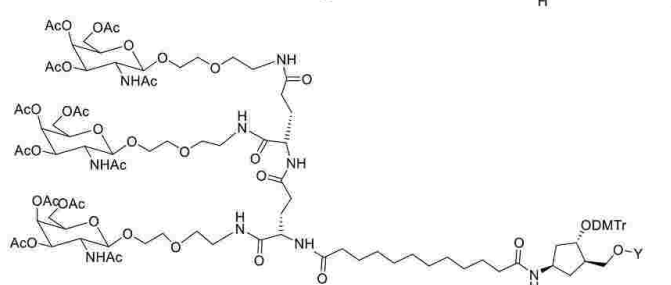
20



30



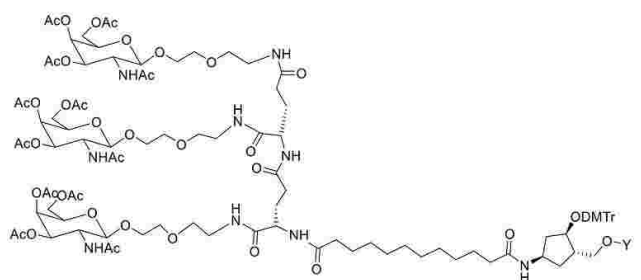
40



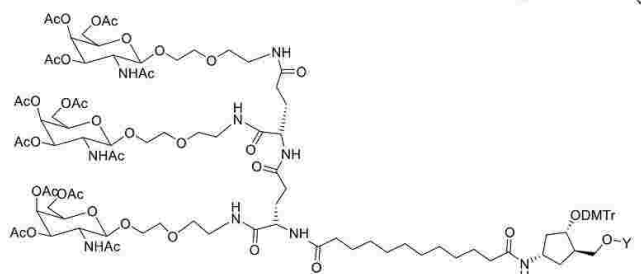
【 0 1 6 7】

50

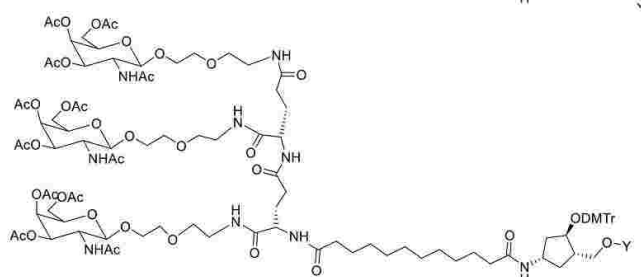
【化 1 6 6】



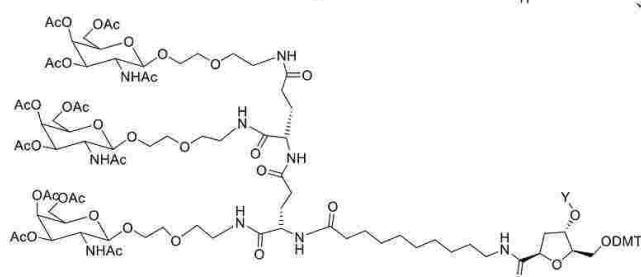
10



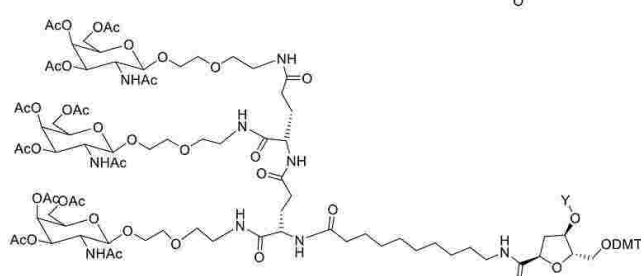
20



30



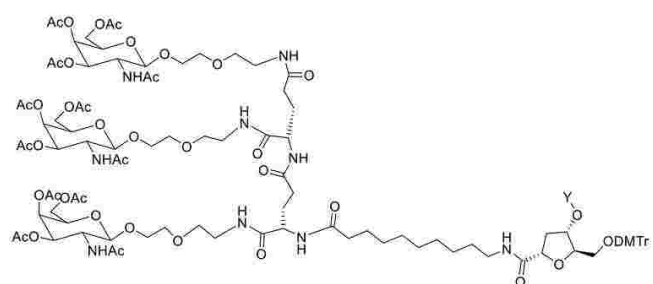
40



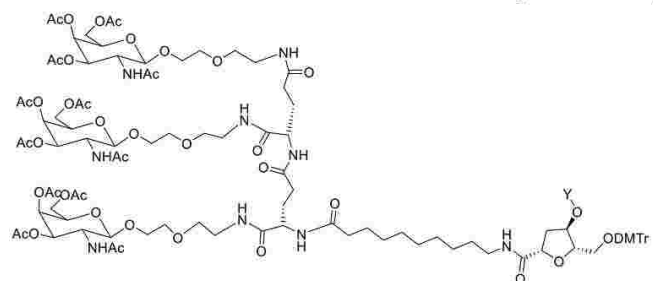
【 0 1 6 8】

50

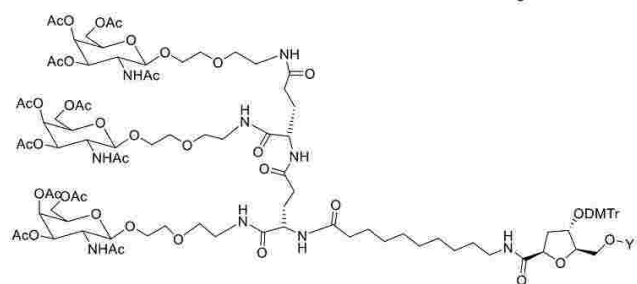
【化 1 6 7】



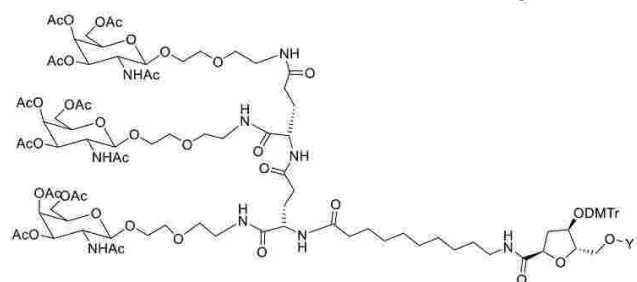
10



20



30

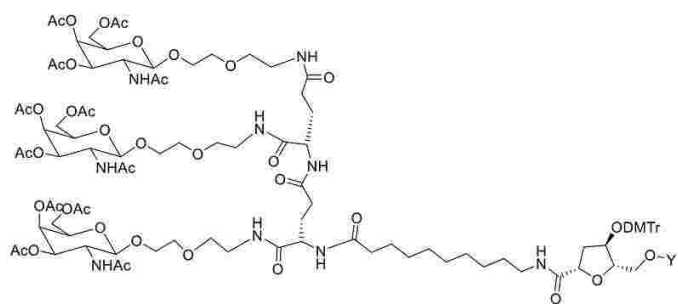


40

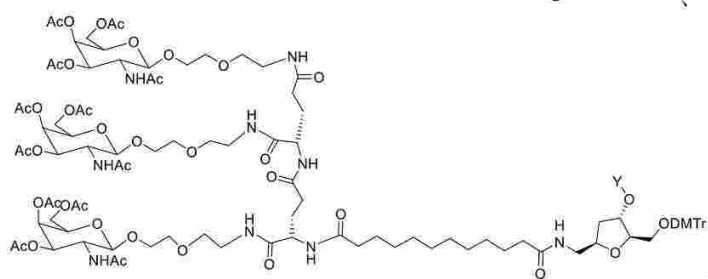
【 0 1 6 9】

50

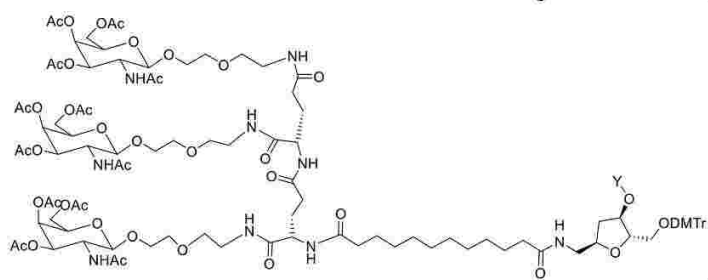
【化 1 6 8】



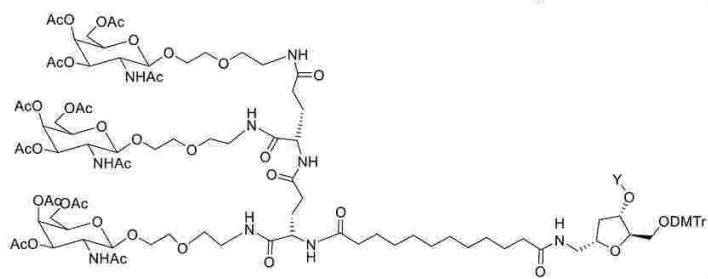
10



20



30

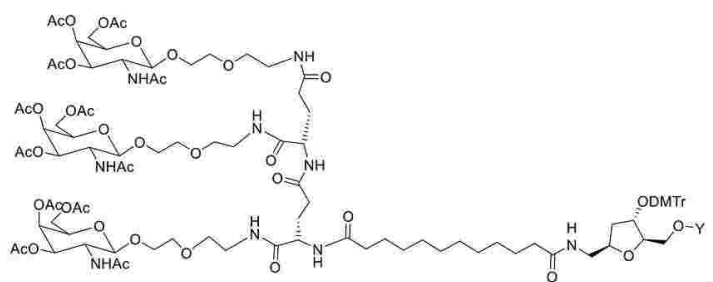


40

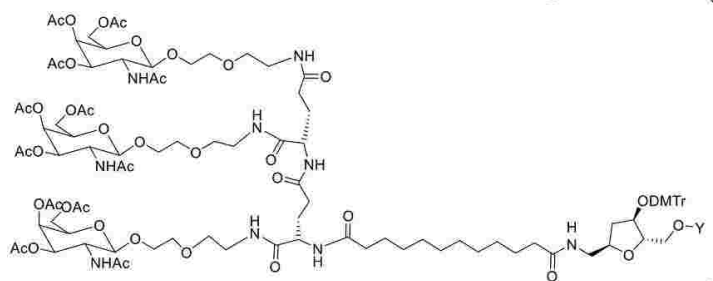
【 0 1 7 0】

50

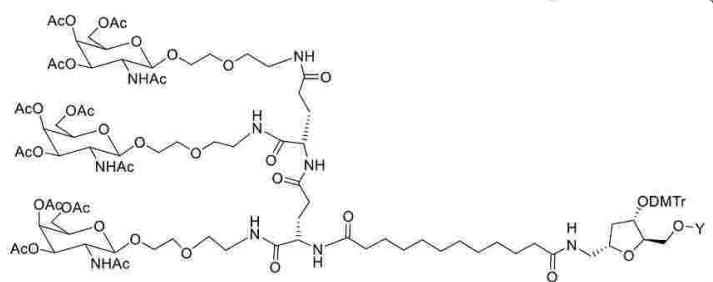
【化 1 6 9】



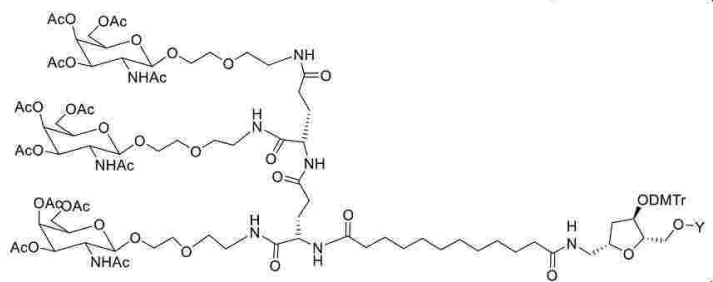
10



20



30

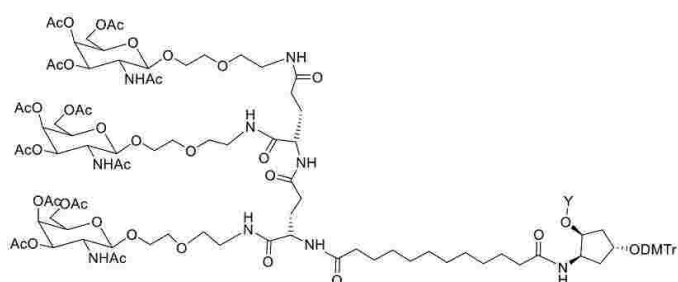


40

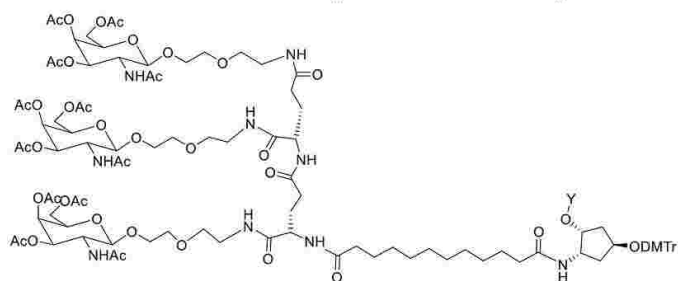
【0 1 7 1】

50

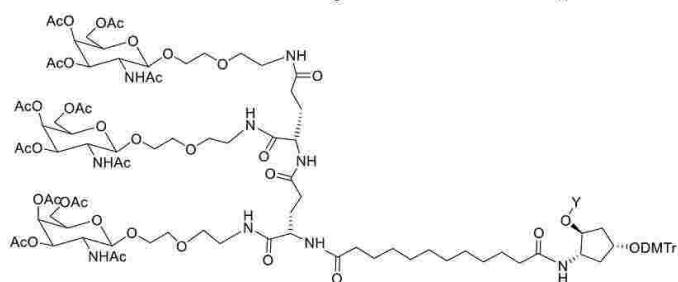
【化 1 7 0】



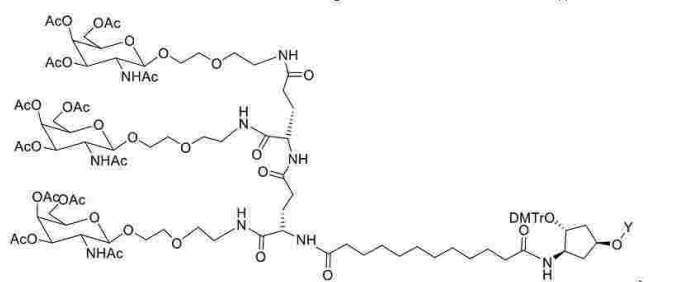
10



20



30

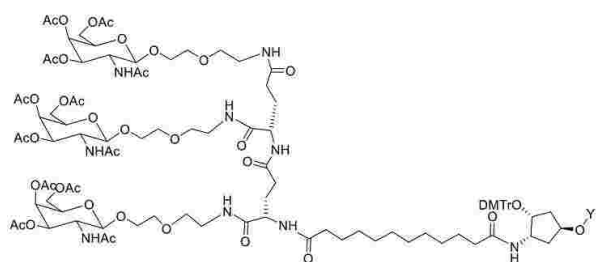


40

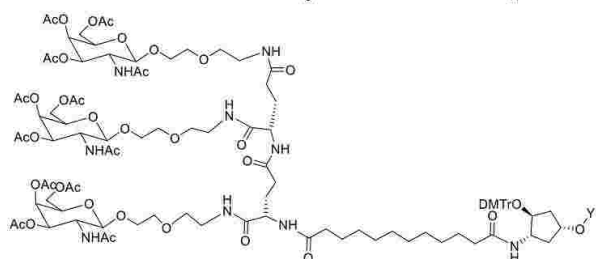
【 0 1 7 2】

50

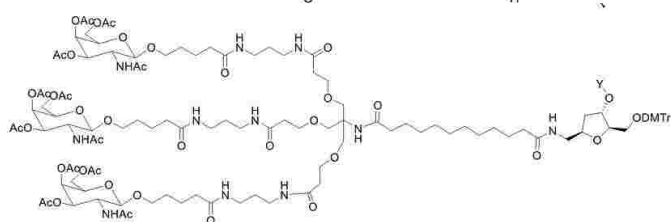
【化 1 7 1】



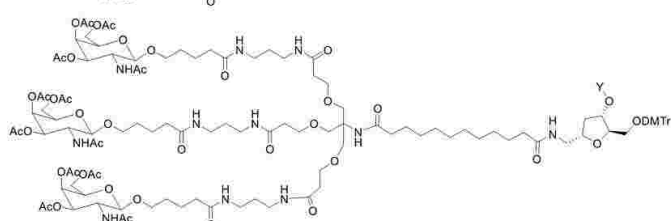
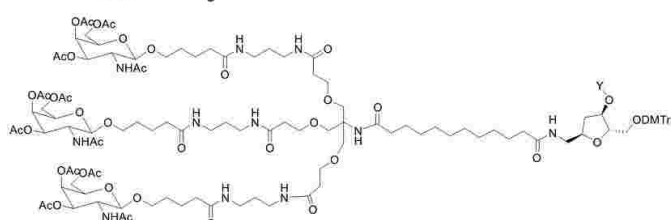
10



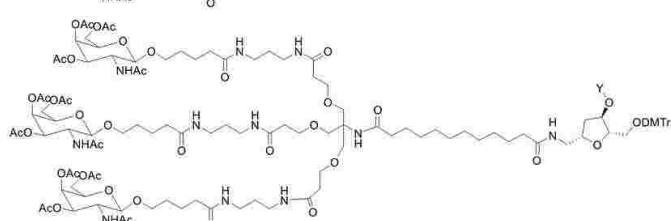
20



30



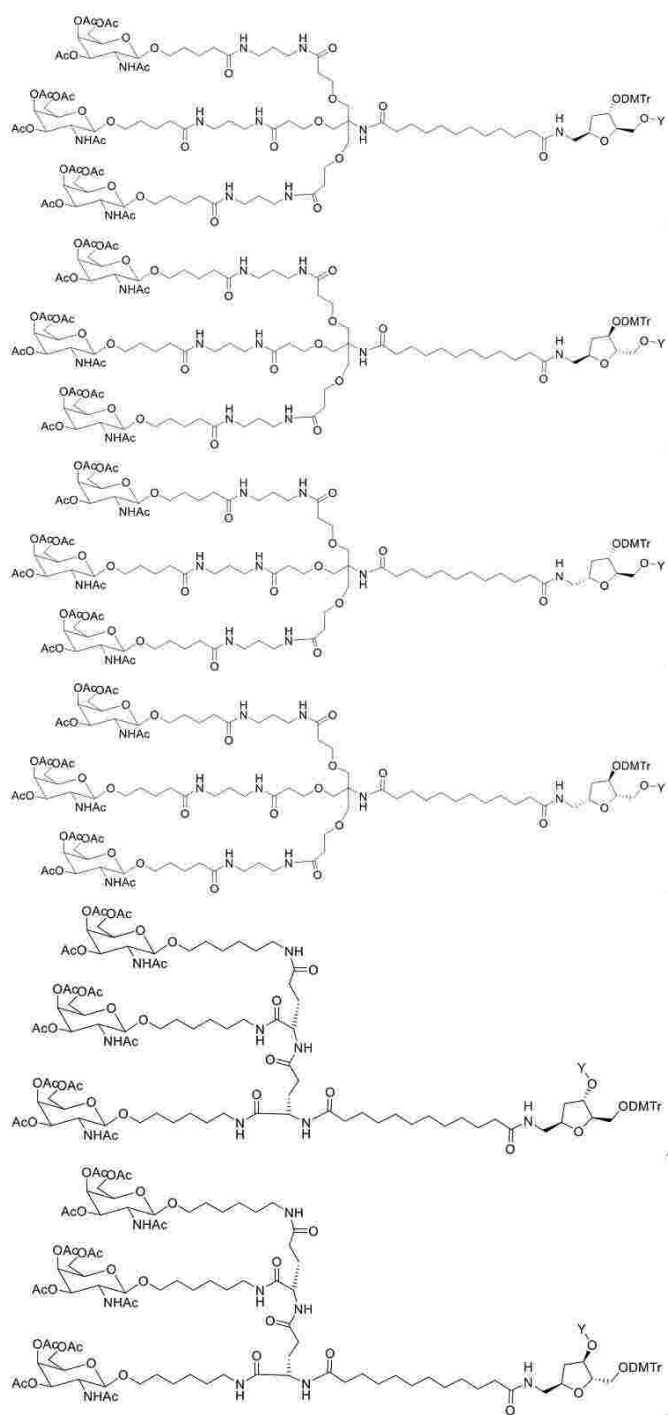
40



【 0 1 7 3】

50

【化 1 7 2】



10

20

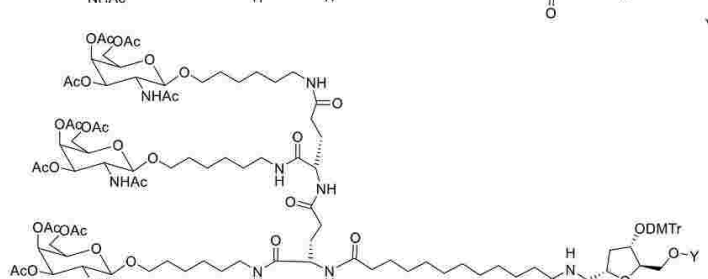
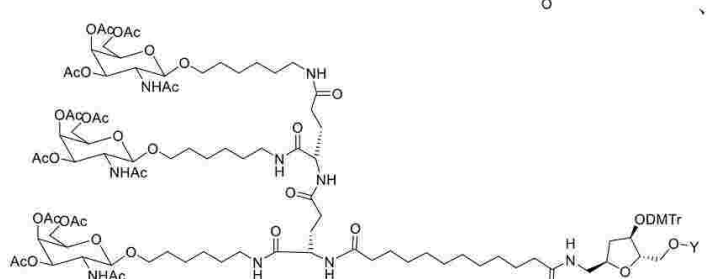
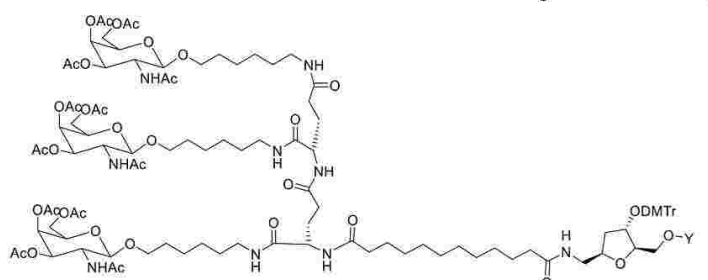
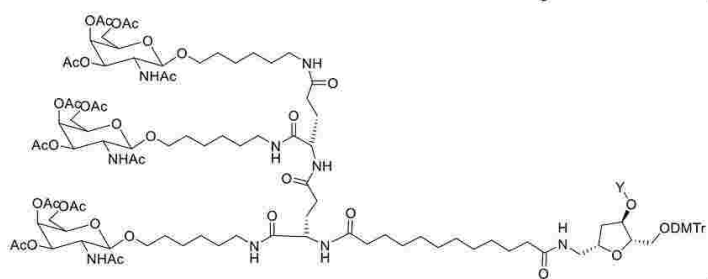
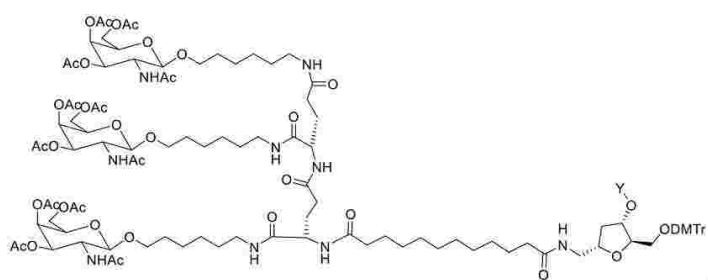
30

40

【0 1 7 4】

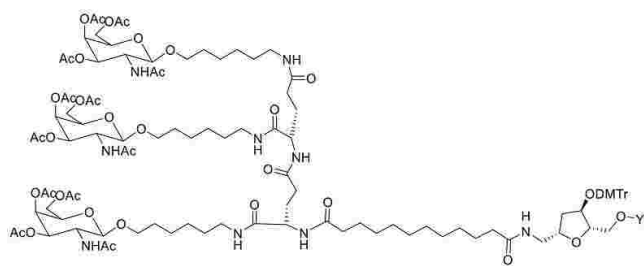
50

10

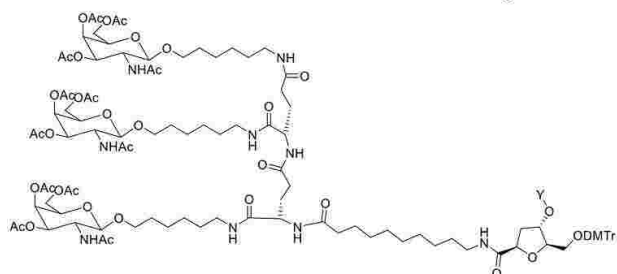


40

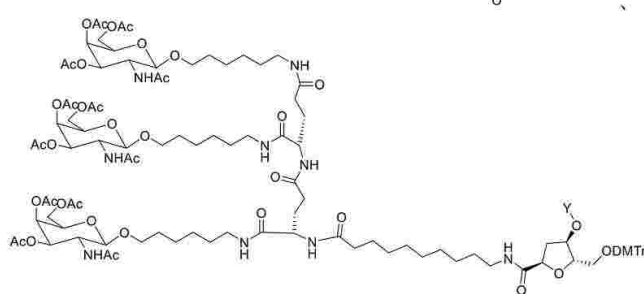
【化 1 7 4】



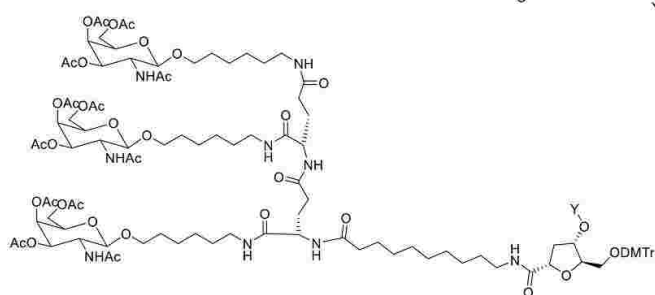
10



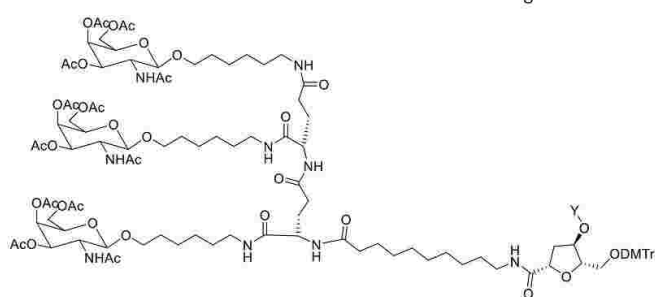
20



30



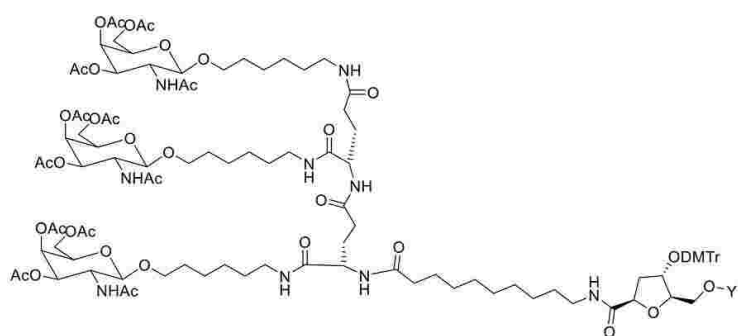
40



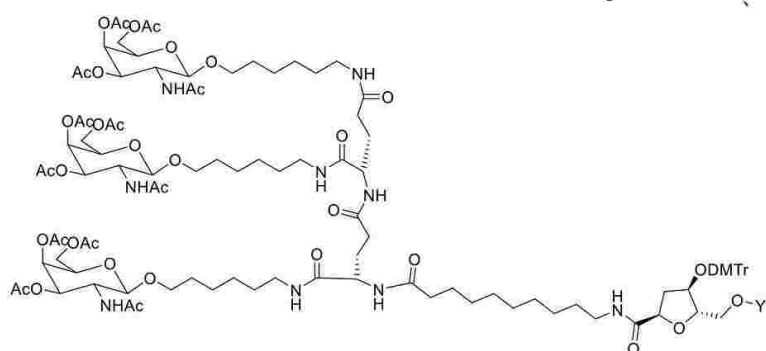
【 0 1 7 6】

50

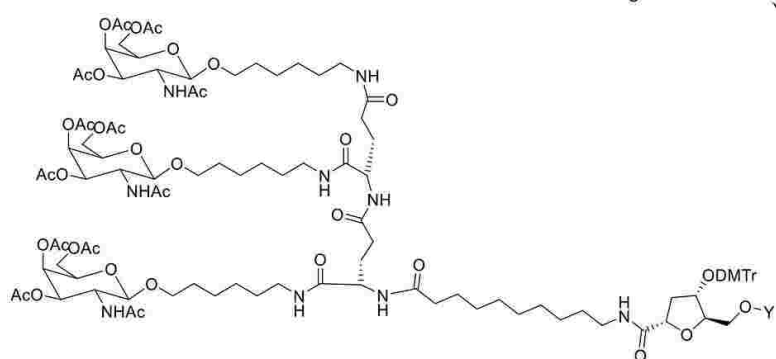
【化 1 7 5】



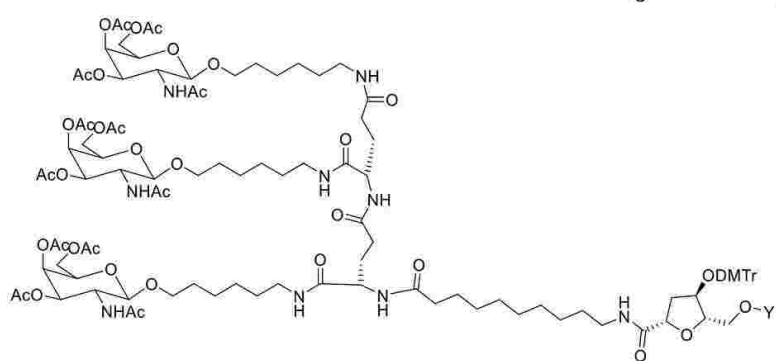
10



20



30

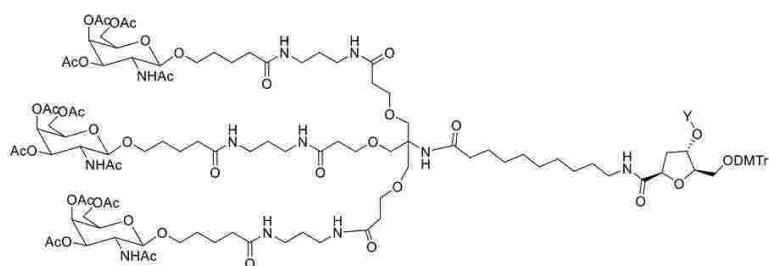


40

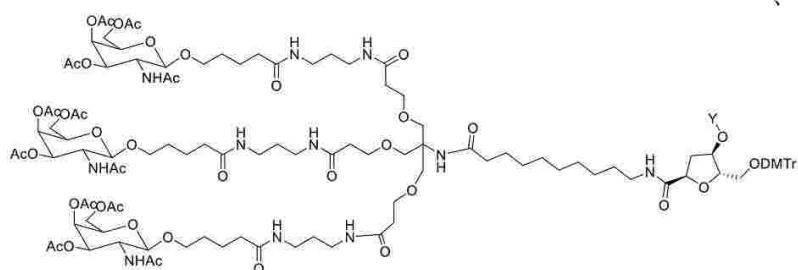
【 0 1 7 7】

50

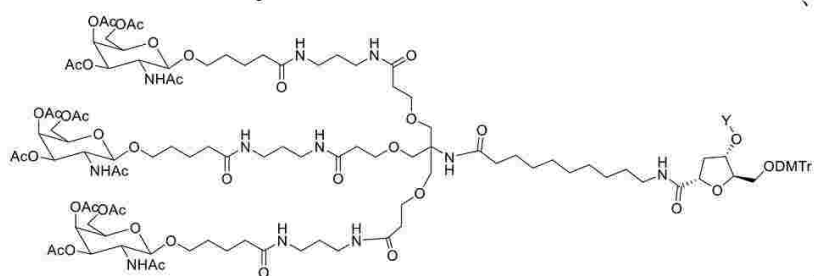
【化 1 7 6】



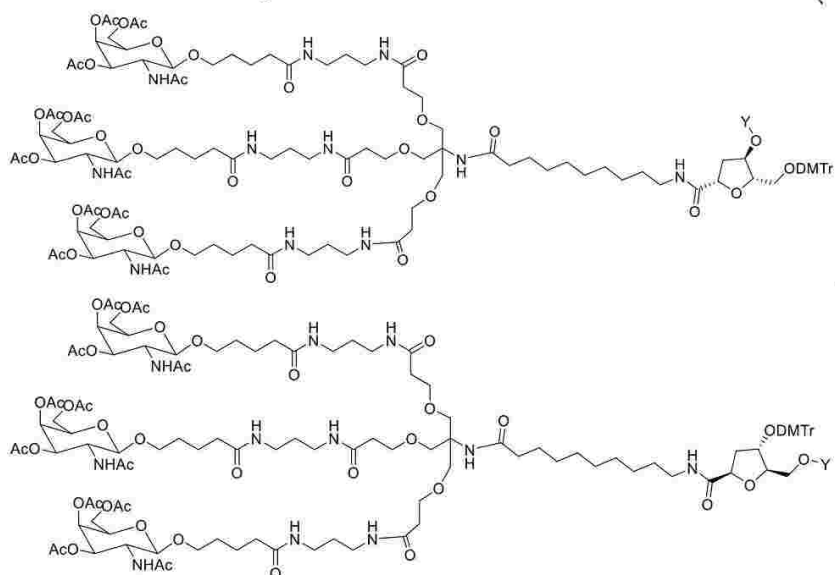
10



20



30

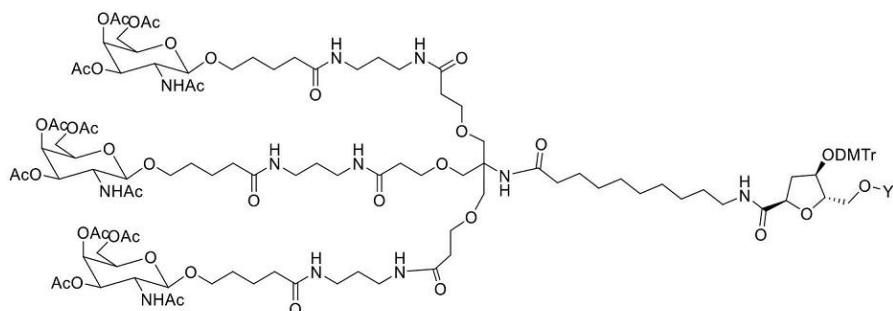


40

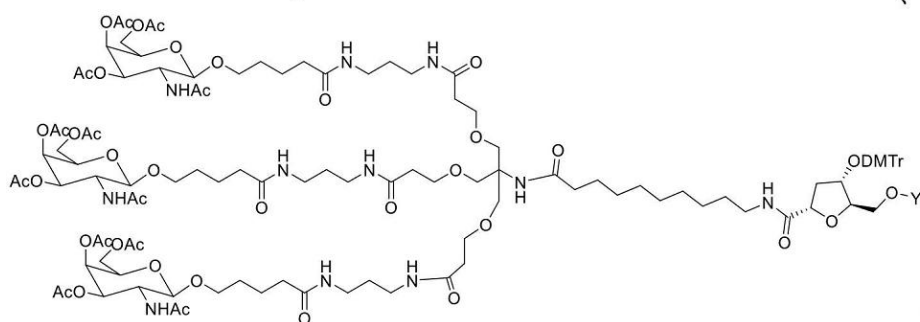
【 0 1 7 8】

50

【化 1 7 7】

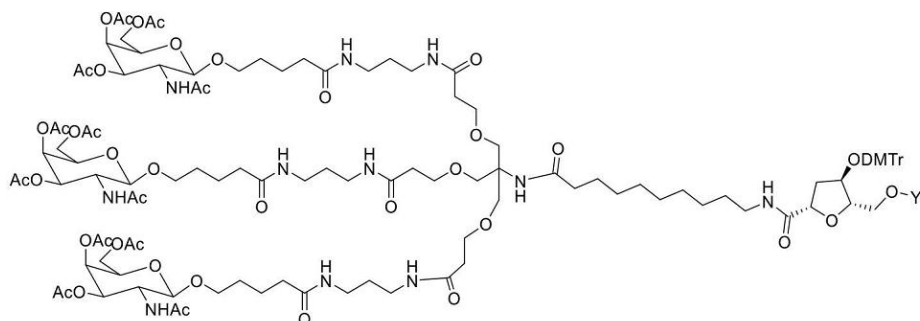


10



20

又は

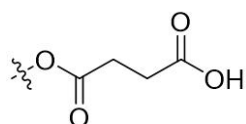


30

という構造のいずれか1つであってもよく、

そのうち、Yは水素又は

【化 1 7 8】

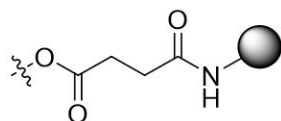


40

であり、

或いは、Yは

【化 1 7 9】



であり、

50

【化 1 8 0】



は樹脂であり、好ましくはマクロ孔質樹脂、より好ましくはマクロ孔質アミノメチル樹脂である。

【0 1 7 9】

幾つかの実施形態において、上記化合物におけるN-アセチル-ガラクトサミントリアセテート部分は、N-トリフルオロアセチルガラクトサミントリアセテート、N-プロピオニルガラクトサミントリアセテート、N-n-ブチリルガラクトサミントリアセテート又はN-イソブチリルガラクトサミントリアセテートにより置換されてもよい。

10

【0 1 8 0】

本開示は核酸リガンド複合体を提供し、それは核酸と、1つ又は複数の上記リガンドとを含み、上記リガンドは核酸末端と複合され、上記リガンドは相同又は相異であるする。

【0 1 8 1】

幾つかの実施形態において、上記核酸とリガンドはリン酸エステル基、チオリン酸エステル基又はホスホン酸基を介して連結されてもよい。

【0 1 8 2】

幾つかの実施形態において、上記核酸は、オリゴヌクレオチド、一本鎖オリゴヌクレオチド、一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチド、低分子干渉RNA (s i RNA)、二本鎖RNA (d s RNA)、マイクロRNA (m i RNA)、ショートヘアピンRNA (s h RNA)、リボザイム、干渉RNA分子とD i c e r 酵素基質を含んでもよいが、これらに限定されない。

20

【0 1 8 3】

幾つかの実施形態において、上記核酸の3'末端はリガンドと複合されてもよい。

【0 1 8 4】

幾つかの実施形態において、上記核酸は一本鎖核酸であってもよい。

【0 1 8 5】

幾つかの実施形態において、上記一本鎖核酸はs i RNAのセンス鎖であってもよい。

【0 1 8 6】

幾つかの実施形態において、上記一本鎖核酸はs i RNAのアンチセンス鎖であってもよい。

30

【0 1 8 7】

幾つかの実施形態において、上記核酸は二本鎖核酸であってもよい。上記二本鎖核酸は、少なくとも1つの二本鎖体領域を含んでもよく、二本鎖体領域には、第1鎖核酸と第2鎖核酸が少なくとも部分的に相補的であり、そのうち、

(1) 第1鎖核酸は2つの末端がリガンドと複合されないと共に、第2鎖核酸は5'末端がリガンドと複合され、3'末端がリガンドと複合されず、又は第2鎖核酸は3'末端がリガンドと複合され、5'末端がリガンドと複合されず、又は第2鎖核酸は3'末端と5'末端の両方がリガンドと複合され、

40

(2) 第2鎖核酸は2つの末端がリガンドと複合されないと共に、第1鎖核酸は5'末端がリガンドと複合され、3'末端がリガンドと複合されず、又は第1鎖核酸は3'末端がリガンドと複合され、5'末端がリガンドと複合されず、又は第1鎖核酸は3'末端と5'末端の両方がリガンドと複合され、

(3) 第1鎖核酸と第2鎖核酸は両方とも5'末端がリガンドと複合され、3'末端がリガンドと複合されず、又は第1鎖核酸と第2鎖核酸は両方とも3'末端がリガンドと複合され、5'末端がリガンドと複合されず、又は第1鎖核酸と第2鎖核酸は3'末端と5'末端の両方がリガンドと複合され、又は第1鎖核酸の3'末端と第2鎖核酸の5'末端は両方ともリガンドと複合され、第1鎖核酸の5'末端と第2鎖核酸の3'末端は両方ともリガンドと複合されず、又は第1鎖核酸の5'末端と第2鎖核酸の3'末端は両方ともリガンドと

50

複合され、第 1 鎖核酸の 3' 末端と第 2 鎖核酸の 5' 末端は両方ともリガンドと複合されず、

(4) 第 1 鎖核酸は 3' 末端と 5' 末端の両方がリガンドと複合され、第 2 鎖核酸は 5' 末端若しくは 3' 末端の一方がリガンドと複合され、又は第 2 鎖核酸は 3' 末端と 5' 末端が何れもリガンドと複合され、第 1 鎖核酸は 5' 末端又は 3' 末端の一方がリガンドと複合される。

【0188】

幾つかの実施形態において、上記二本鎖核酸は s i R N A であってもよい。

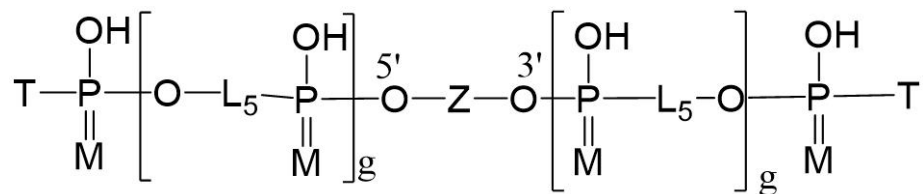
【0189】

幾つかの実施形態において、上記核酸は、1 つ又は複数の修飾されたヌクレオチドを含んでもよい。 10

【0190】

幾つかの実施形態において、上記核酸リガンド複合体は、

【化 181】



20

という構造又はその薬学的に許容される塩であってもよく、

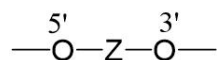
そのうち、T は上記リガンドであり、T はそれぞれ相同又は相異であり、

L₅ は、独立的に C₁ ~ C₃₀ アルキル鎖であり、或いは 1 つ若しくは複数の酸素、硫黄、窒素原子又は C=O で中断された C₁ ~ C₃₀ アルキル鎖であり、

M は独立的に O 又は S であり、

g は独立的に 0 ~ 4 の整数であり、

【化 182】



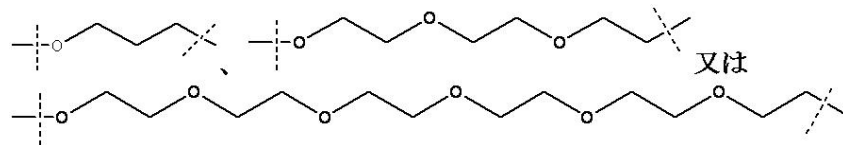
30

は核酸を表す。

【0191】

幾つかの実施形態において、L₅ は、

【化 183】



であってもよい。

40

【0192】

幾つかの実施形態において、g は 0 又は 1 であってもよい。

【0193】

幾つかの実施形態において、g は 0 であってもよい。

【0194】

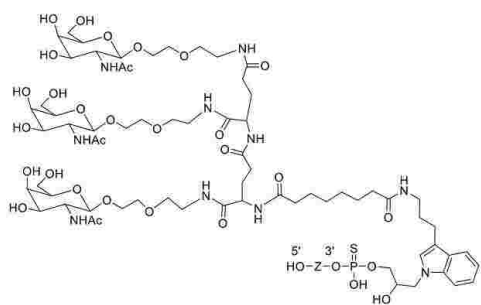
幾つかの実施形態において、M は S であってもよい。

【0195】

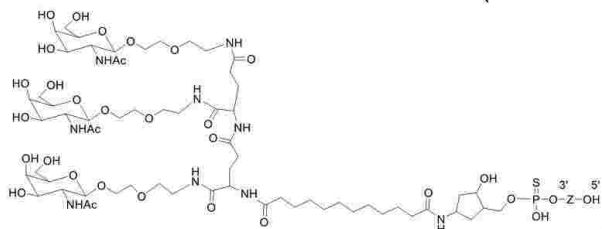
幾つかの実施形態において、上記核酸リガンド複合体は、

50

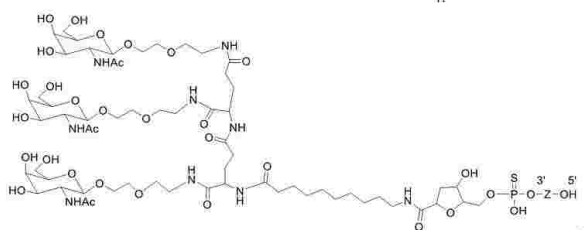
【化 1 8 4】



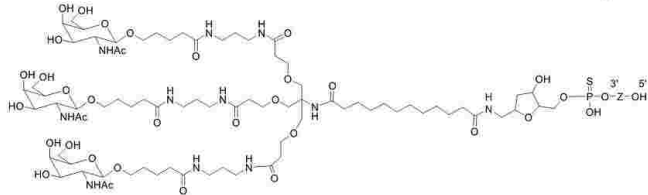
10



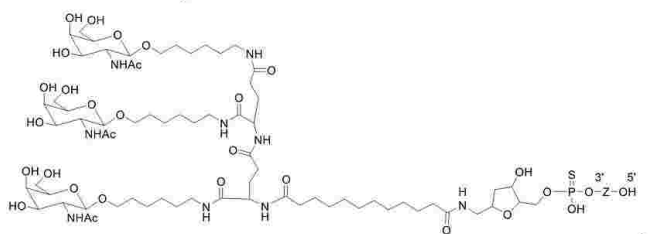
20



30



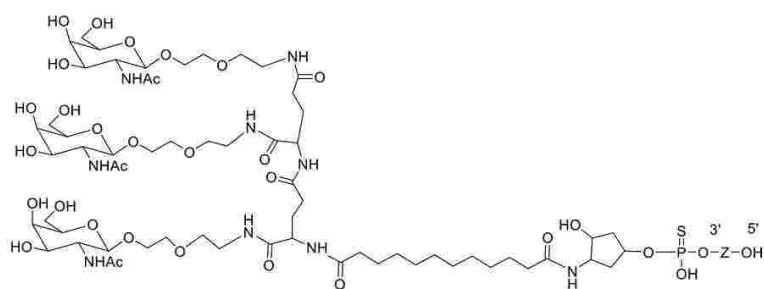
40



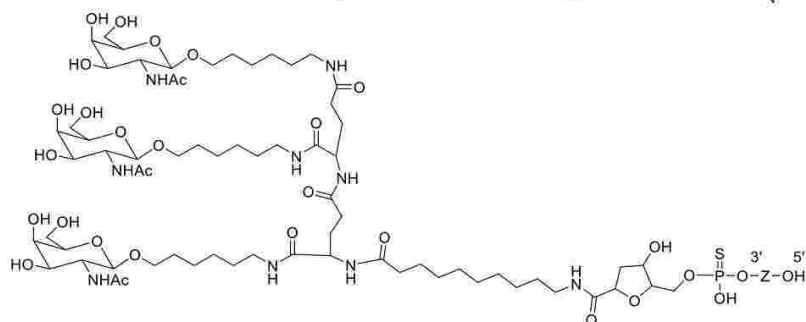
【 0 1 9 6】

50

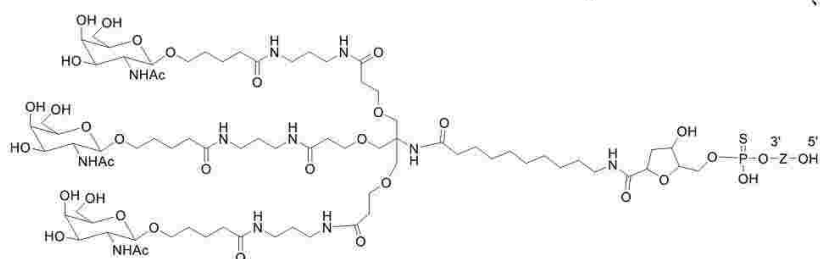
【化 1 8 5】



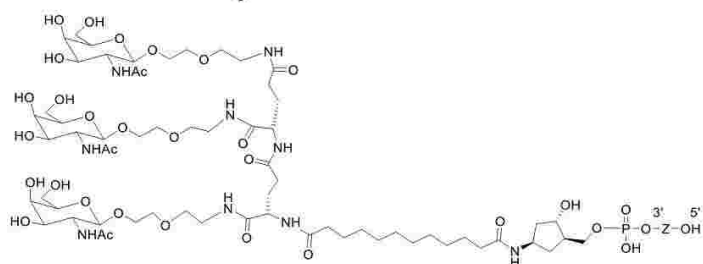
10



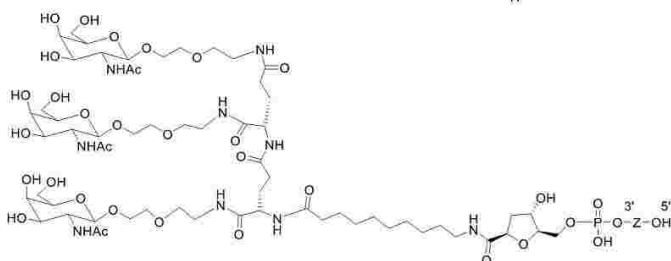
20



30



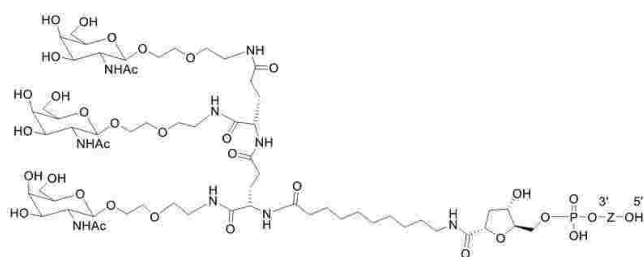
40



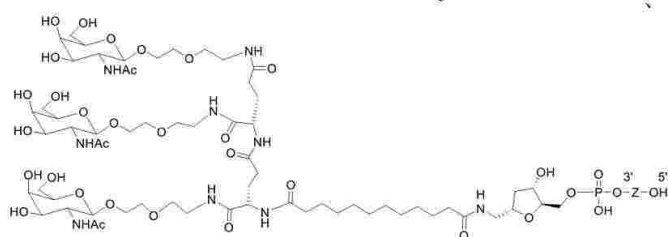
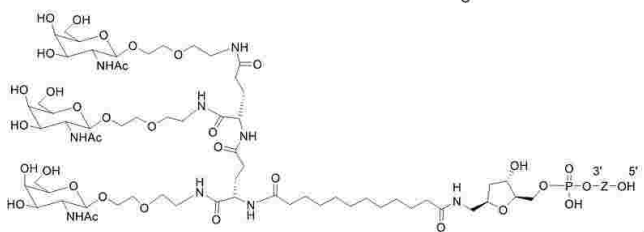
【0 1 9 7】

50

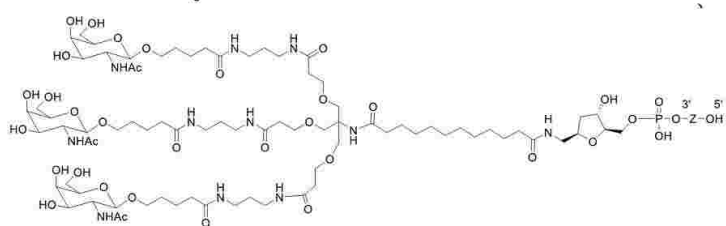
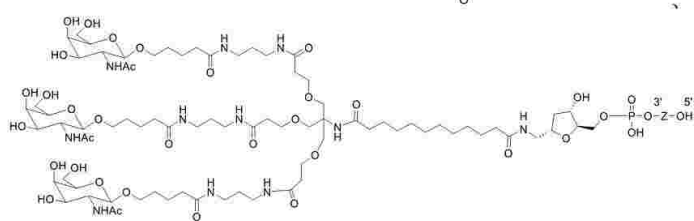
【化 1 8 6】



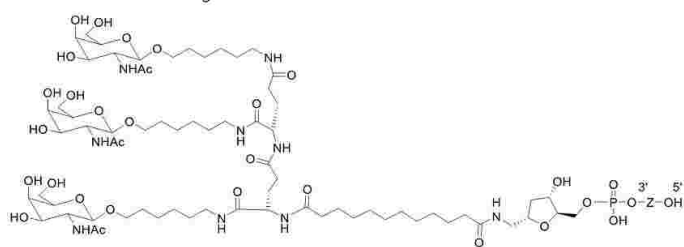
10



20



30

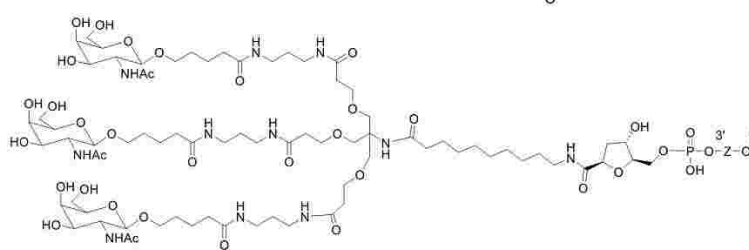
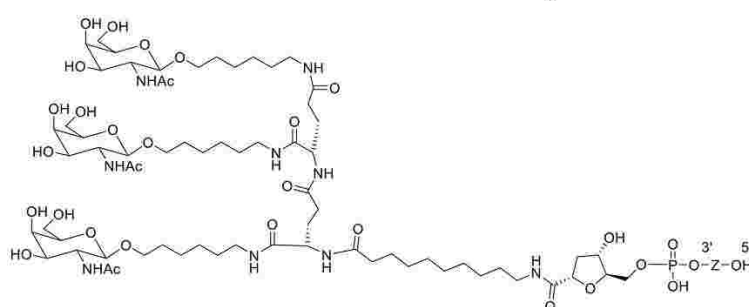
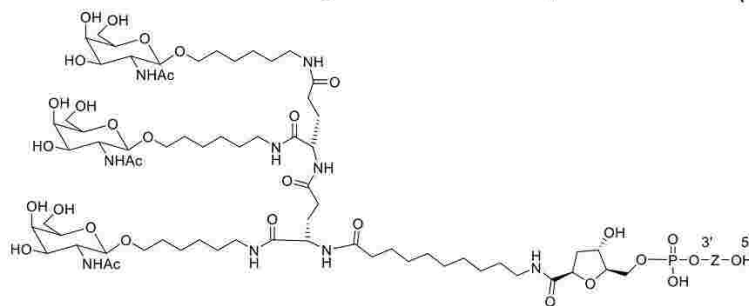
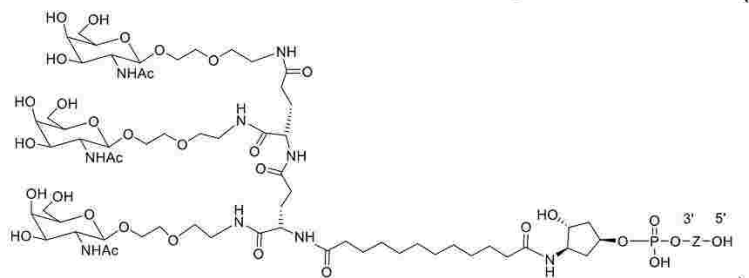
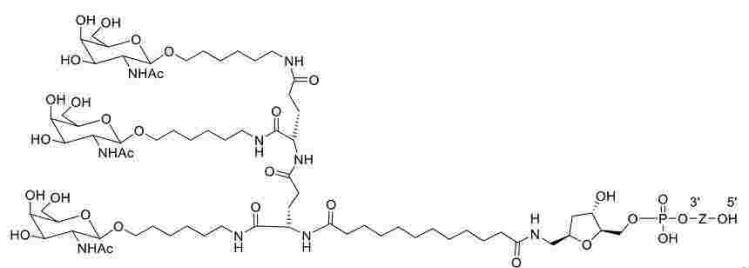


40

【0 1 9 8】

50

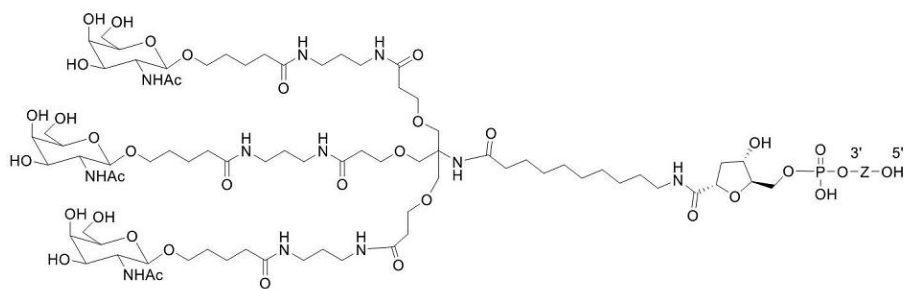
10



又は

【 0 1 9 9 】

【化 1 8 8】



10

という構造のいずれか 1 つ又はその薬学的に許容される塩であってもよい。

【0 2 0 0】

幾つかの実施形態において、上記核酸リガンド複合体は、

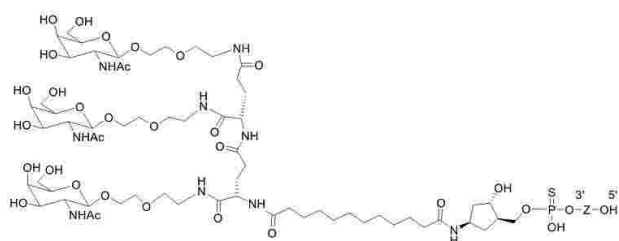
20

30

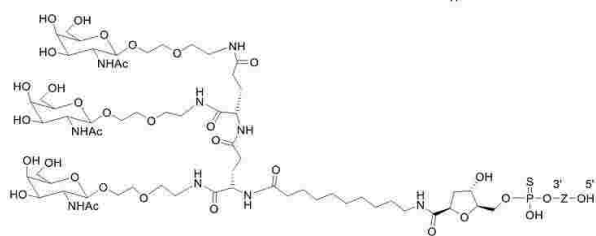
40

50

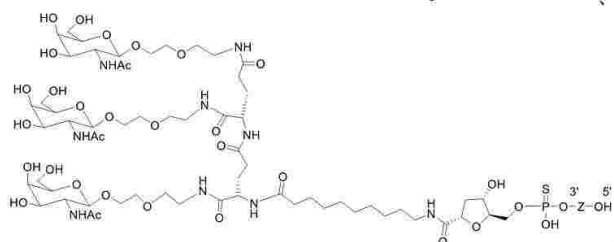
【化 1 8 9】



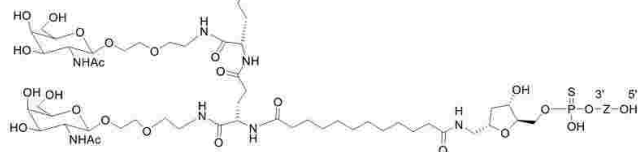
10



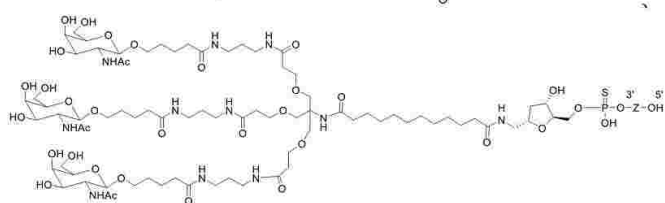
20



30



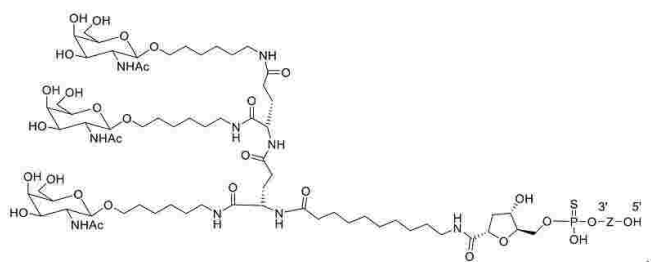
40



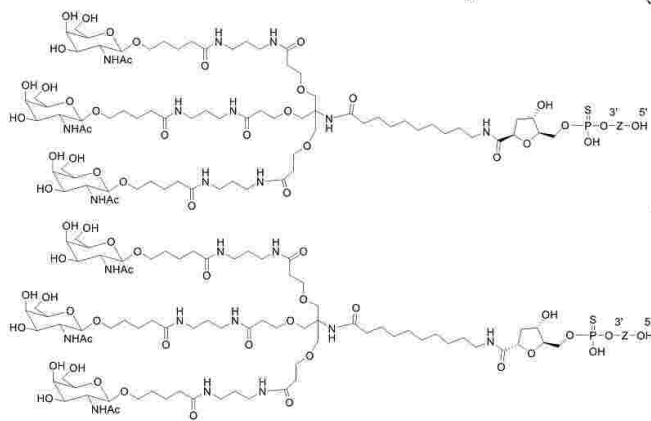
【0 2 0 1】

50

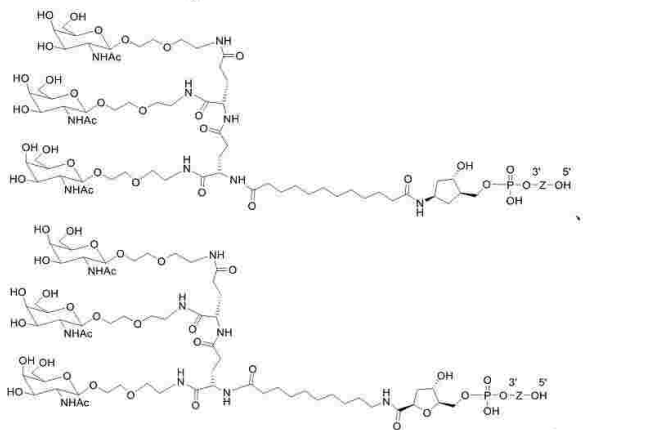
【化 1 9 1】



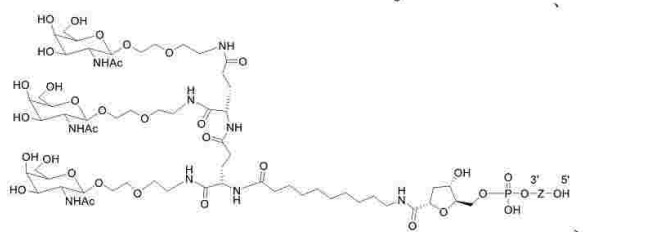
10



20



30

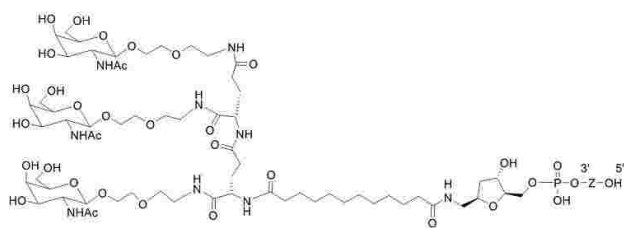


40

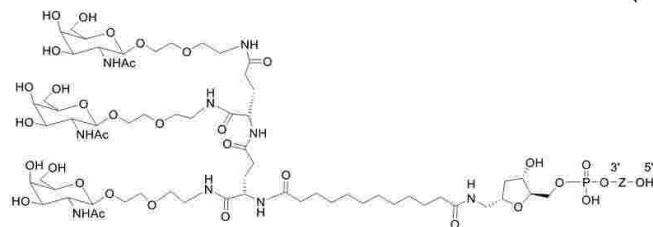
【0 2 0 3】

50

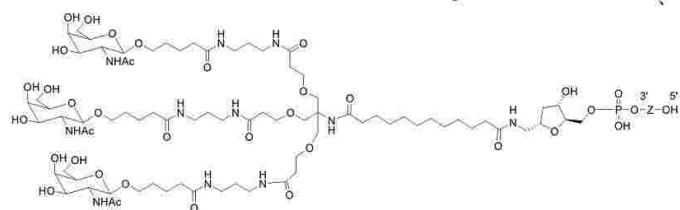
【化 1 9 2】



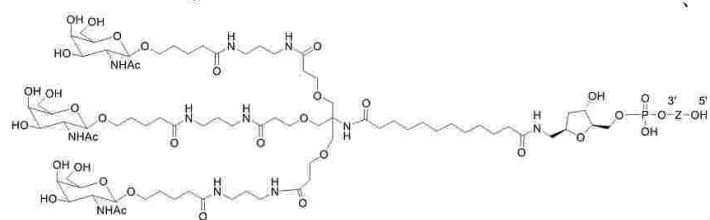
10



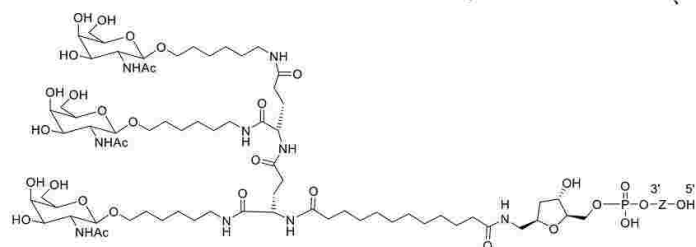
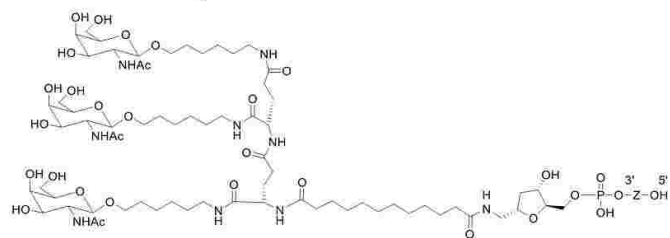
20



30



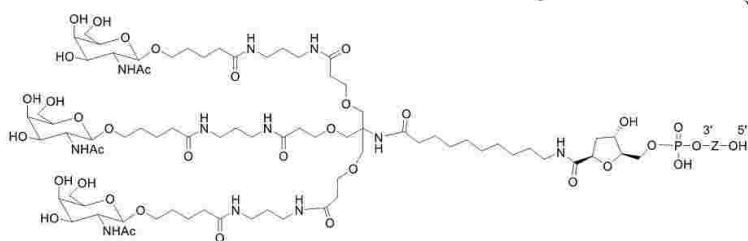
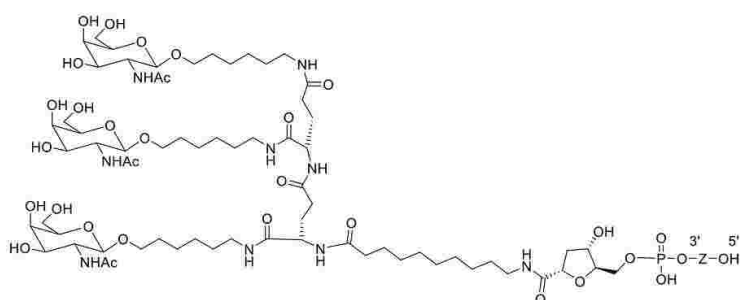
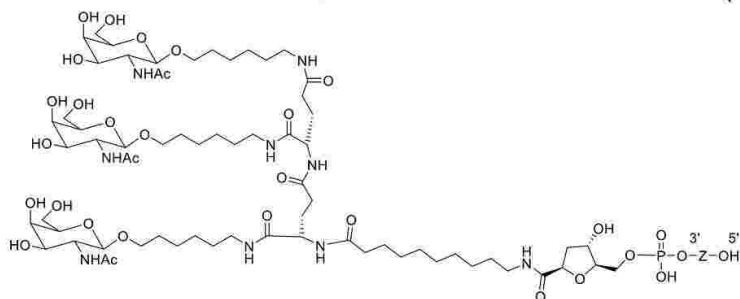
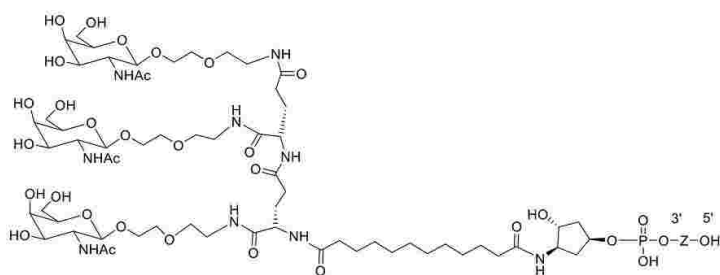
40



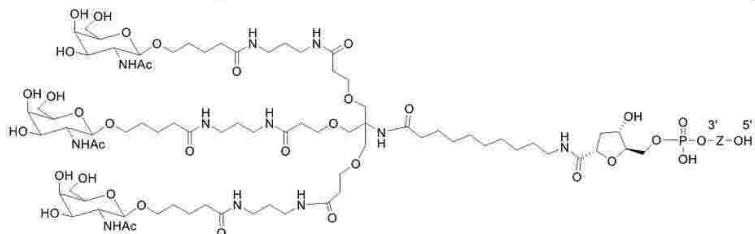
【0 2 0 4】

50

10



又は



40

50

幾つかの実施形態において、上記薬学的に許容される塩は、この分野で通常の塩であってもよく、ナトリウム塩、カリウム塩、アンモニウム塩、アミン塩などを含むが、これらに限定されない。

別の態様において、本開示は、上記の核酸リガンド複合体を含むRNAi試薬を提供する。

【 0 2 0 7 】

幾つかの実施形態において、上記RNAi試薬は、一本鎖オリゴヌクレオチド、一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチド、低分子干渉RNA (siRNA)、二本鎖RNA (dsRNA)、マイクロRNA (miRNA)、ショートヘアピンRNA (shRNA)とDicer基質を含んでもよく、これらに限定されない。

【0208】

幾つかの実施形態において、上記RNAi試薬はsiRNAであってもよい。

【0209】

別の態様において、本開示は、上記核酸リガンド複合体又は上記RNAi試薬と、1種又は複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む組成物を提供する。

【0210】

幾つかの実施形態において、上記薬学的に許容される賦形剤は例えば、キャリア剤、ベクター、希釈剤、及び／又は送達重合体であってもよい。

【0211】

幾つかの実施形態において、上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬は、治療有効量であってもよい。

【0212】

幾つかの実施形態において、上記組成物の単位用量は、0.001～1000mgであってもよい。

【0213】

幾つかの実施形態において、組成物の全重量に基づき、上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬の含有量は0.01%～99.99%であってもよく、また0.1%～99.9%であってもよく、また0.5%～99.5%であってもよく、更に1%～99%であってもよく、更に2%～98%であってもよい。

【0214】

幾つかの実施形態において、組成物の全重量に基づき、上記薬学的に許容される賦形剤の含有量は0.01%～99.99%であってもよく、また0.1%～99.9%であってもよく、また0.5%～99.5%であってもよく、更に1%～99%であってもよく、更に2%～98%であってもよい。

【0215】

幾つかの実施形態において、本開示に記載の核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物は、標的遺伝子を発現する細胞に接触した場合、例えば、psiCHECK活性スクリーニングとルシフェラーゼレポーター遺伝子検出法その他、例えばPCRや分岐DNA (bDNA)に基づく方法、又はタンパク質に基づく方法、例えばWestern Blotやフローサイトメトリーなどの免疫蛍光分析法により測定されると、上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬は、標的遺伝子の発現を少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%抑制するになる。

【0216】

幾つかの実施形態において、上記複合体又はRNAi試薬又は組成物は、標的遺伝子を発現する細胞に接触した場合、例えば、psiCHECK活性スクリーニングとルシフェラーゼレポーター遺伝子検出法その他、例えばPCRや分岐DNA (bDNA)に基づく方法、又はタンパク質に基づく方法、例えばWestern Blotやフローサイトメトリーなどの免疫蛍光分析法により測定されると、上記siRNAによる標的遺伝子mRNAの余剰発現百分率は99%以下、95%以下、90%以下、85%以下、80%以下、75%以下、70%以下、65%以下、60%以下、55%以下、50%以下、45%以下、40%以下、35%以下、30%以下、25%以下、20%以下、15%以下、又は

10

20

30

40

50

10%以下である。

【0217】

別の態様において、本開示は、患者の疾患を治療する薬剤の調製における、上記核酸リガンド複合体又は上記RNAi試薬又は上記組成物の用途を提供する。上記疾患は、肝由来の疾患が好ましい。

【0218】

本開示は、患者の疾患を治療するための核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物を提供し、上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物は上記の通りである。上記疾患は、肝由来の疾患が好ましい。

【0219】

本開示は、患者体内でのmRNA発現を抑制する核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物を提供し、上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物は上記の通りである。

【0220】

本開示は、発現抑制性のオリゴマー化合物を肝臓にインビボ送達するためのリガンド、核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物を提供し、上記リガンド、核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物は上記の通りである。

【0221】

別の態様において、本開示は、患者の疾患を治療する方法を提供し、それは患者に上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物を投与することを含む。上記疾患は、肝由来の疾患が好ましい。上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物は、治療有効量であってもよい。

【0222】

別の態様において、本開示は、患者体内でのmRNA発現を抑制する方法を提供し、それは患者に上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物を与えることを含む。上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物は、治療有効量であってもよい。

【0223】

別の態様において、本開示は、発現抑制性のオリゴマー化合物を肝臓にインビボ送達する方法を提供し、それは患者に上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物を与えることを含む。上記核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物は、治療有効量であってもよい。

【0224】

本明細書に開示された核酸リガンド複合体又はRNAi試薬又は組成物及び方法は、細胞、細胞集団、組織又は対象において標的mRNAのレベルを低減することができ、上記対象に治療有効量の本明細書に記載の発現抑制性オリゴマーを与えることを含み、上記発現抑制性オリゴマーはリガンドに連結されることで、対象における標的mRNAの発現を抑制し、上記リガンドは上記の通りである。

【0225】

幾つかの実施形態において、上記対象は、既にこの前に、標的の細胞又は組織に標的遺伝子の病的アップレギュレートがあると同定された。

【0226】

本開示に記載される患者は、標的mRNA発現の低減又は抑制から利益を受ける疾患又は病状を患っている対象を指す。

【0227】

送達は、局所投与（例えば、直接注射や移植）又は全身投与によってもよく、経口、直腸又は非経口経路によって投与されてもよく、上記非経口経路は、皮下注射、静脈注射、筋肉注射、腹腔内注射、経皮投与、吸い込み投与（例えば、エアロゾル）、粘膜投与（例えば、舌下、鼻腔内投与）、頭蓋内投与などを含むが、これらに限定されない。

【0228】

幾つかの実施形態において、本開示に提供される核酸リガンド複合体又はRNAi試薬

10

20

30

40

50

又は組成物は、注射、例えば、静脈内、筋肉内、皮内、皮下、十二指腸内又は腹腔内注射により投与することができる。

【0229】

幾つかの実施形態において、本開示に提供される核酸リガンド複合体又はRNA i 試薬又は組成物は、試薬キットに包装されてもよい。

【0230】

幾つかの実施形態において、本開示は、上記核酸リガンド複合体又はRNA i 試薬を含む細胞を更に提供する。

【0231】

本開示は、核酸リガンド複合体の調製方法を提供し、それは、上記の式(II-3)又は式(II'-3)で示される化合物をはじめとして、ヌクレオチドの配列順に3'-5'の方向で1つつヌクレオシド単量体に連結するステップを含む。

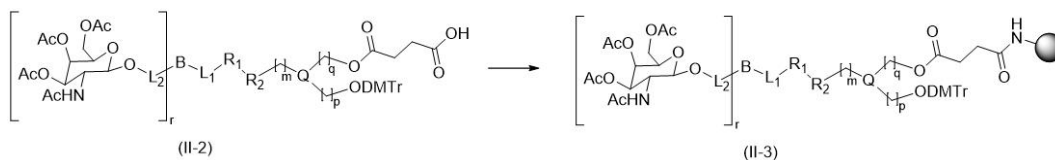
【0232】

幾つかの実施形態において、毎に1つの単量体との連結は、脱保護、カップリング、キャッピング、酸化又は硫化という4段階反応が含まれ、最後の単量体連結が完了した後、固相ベクターに連結された核酸配列を順に切断・脱保護・精製・脱塩してから、凍結乾燥して核酸リガンド複合体を得る。

【0233】

本開示は、上記の式(II-3)で示される化合物の調製方法を提供し、それは、上記の式(II-2)で示される化合物を高分子化合物に複合して、上記の式(II-3)で示される化合物を得るステップを含み、

【化194】



そのうち、 L_1 、 R_1 、 R_2 、 Q 、 B 、 L_2 、 m 、 p 、 q 、 r と

【化195】



の定義は上記の通りである。

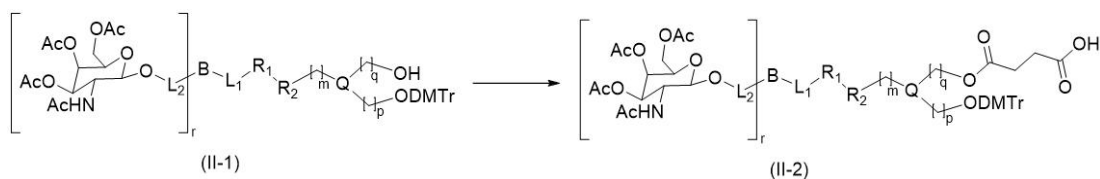
【0234】

幾つかの実施形態において、上記複合の条件と操作は、この分野で通常の場合と操作である。

【0235】

幾つかの実施形態において、上記の式(II-2)で示される化合物は下記ステップによって得られ、即ち、溶媒において、塩基の作用で、上記の式(II-1)で示される化合物をコハク酸無水物と次のように反応させて、上記の式(II-2)で示される化合物を得て、

【化196】



L_1 、 R_1 、 R_2 、 Q 、 B 、 L_2 、 m 、 p 、 q と r の定義は上記の通りである。

【0236】

10

20

30

40

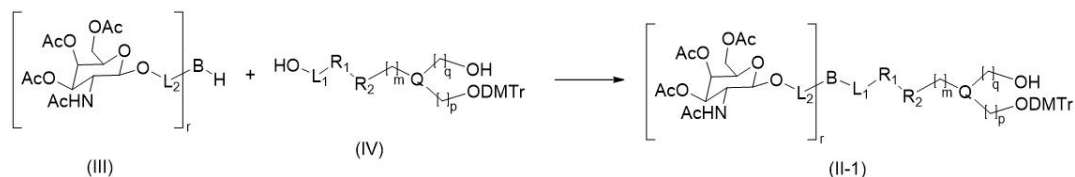
50

幾つかの実施形態において、上記反応の条件と操作は、この分野でこのような反応の通常の条件と操作であってもよい。

【0237】

幾つかの実施形態において、上記の式(II-1)で示される化合物は下記ステップによって得られ、即ち、上記の式(III)で示される化合物を式(IV)で示される化合物と次のように反応させて、上記の式(II-1)で示される化合物を得て、

【化197】



10

L₁、R₁、R₂、Q、B、L₂、m、p、qとrの定義は上記の通りである。

【0238】

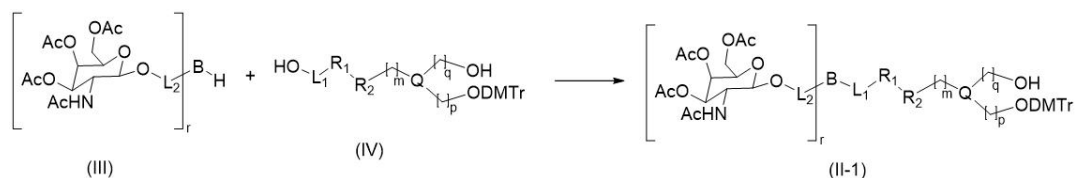
幾つかの実施形態において、上記反応の条件と操作は、この分野でこのような反応の通常の条件と操作であってもよい。

【0239】

本開示は、上記の式(II-1)で示される化合物の調製方法を提供し、それは、式(III)で示される化合物を式(IV)で示される化合物と次のように反応させて、上記の式(II-1)で示される化合物を得るステップを含み、

20

【化198】



L₁、R₁、R₂、Q、B、L₂、m、p、qとrの定義は上記の通りである。

【0240】

幾つかの実施形態において、上記反応の条件と操作は、この分野でこのような反応の通常の条件と操作であってもよい。

30

【0241】

用語の定義

一方、本開示では特定の配置が限定されていない場合、本開示の化合物は、特定の幾何異性体又は立体異性体形態があり得る。本開示は、シス異性体及びトランス異性体、(−)−と(+)-エナンチオマー、(R)-と(S)-エナンチオマー、ジアステレオマー、(D)-異性体、(L)-異性体、及びそのラセミ混合物と他の混合物、例えば、エナンチオマーやジアステレオマーに富む混合物のような混合物の全てを含め、このような化合物の全てが本開示の範囲に含まれることを意図する。アルキル基などの置換基には、他の不斉炭素原子があってもよい。このような異性体及びそれらの混合物の全ては、本開示の範囲に含まれる。

40

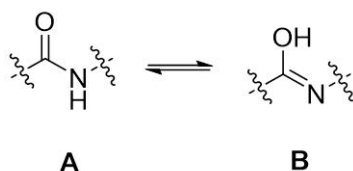
【0242】

また、本開示の化合物と中間体は、異なる互変異性体形態で存在してもよく、且つ、このような形態の全ては本開示の範囲内に含まれる。「互変異性体」又は「互変異性体形態」という用語は、低いエネルギー障壁により相互変換可能な異なるエネルギーの構造異性体を指す。例えば、プロトン互変異性体(プロトン移動互変異性体ともいう)は、例えばケト-エノール及びイミン-エナミン、ラクタム-ラクチム異性化などのプロトトリシスによる相互変換を含む。ラクタム-ラクチム平衡の実例は、以下に示すようなAとBの間である。

50

【 0 2 4 3 】

【 化 1 9 9 】



【 0 2 4 4 】

本開示における化合物の全ては、A型又はB型に描かれることができる。全ての互変異性形態は本開示の範囲にある。化合物の命名は、何れの互変異性体も排除しない。

10

【 0 2 4 5 】

本開示に係る化合物は不斉のものであってもよく、例えば、1つ又は複数の立体異性体を有する。特に断りのない限り、全ての立体異性体は、例えばエナンチオマー及びジアステレオマーを含む。本開示に係る不斉炭素原子を含む化合物は、光学活性純品の形態又はラセミ形態で単離されることができる。光学活性純品の形態は、ラセミ混合物から分割され、或いはキラル原料又はキラル試薬を使用することで合成されてもよい。

【 0 2 4 6 】

キラル合成又はキラル試薬又は他の通常の技術により、光学活性の(R)－と(S)－異性体及びDとL異性体を調製することができる。本開示のある化合物の1つのエナンチオマーを得るために、不斉合成又はキラル助剤を有する誘導作用により調製することができ、そのうち、得られたジアステレオマー混合物を単離し、且つ基の分裂を補助することにより、必要なエナンチオマーの純品を提供する。或いは、分子に塩基性官能基（例えば、アミノ基）又は酸性官能基（例えば、カルボキシ基）が含まれる場合、適当な光学活性的な酸又は塩基と共にジアステレオマーの塩を形成し、そしてこの分野でよく知られている通常の方法によりジアステレオマー分割を行い、その後、回収してエナンチオマーの純品を得る。なお、エナンチオマーとジアステレオマーの単離は、一般的にクロマトグラフィーにより完成され、上記クロマトグラフィーはキラル固定相を採用し、且つ任意選択的に化学誘導法と組み合わせる（例えば、アミンからカルバミン酸塩を生成する）。

20

【 0 2 4 7 】

本開示は、本明細書に記載されるものと同じであるが、1つ又は複数の原子が、自然界で通常見られる原子量又は質量数は異なる原子量又は質量数を有する原子で置換された同位体標識の幾つかの本開示の化合物を更に含む。本開示の化合物に結合可能な同位体の実例は、水素、炭素、窒素、酸素、リン、硫黄、フッ素、ヨウ素及び塩素の同位体を含み、例えば、それぞれ ^2H 、 ^3H 、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{13}N 、 ^{15}N 、 ^{15}O 、 ^{17}O 、 ^{18}O 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{18}F 、 ^{123}I 、 ^{125}I 及び ^{36}Cl などである。

30

【 0 2 4 8 】

特に説明のない限り、1つの位置が特に重水素(D)と指定される場合、当該位置は、重水素の天然存在度(0.015%である)よりも少なくとも1000倍高い存在度を有する重水素(即ち、少なくとも10%の重水素が組み込まれた)であると理解すべきである。例における化合物の、重水素の天然存在度よりも高い存在度を有するものは、少なくとも1000倍の存在度の重水素、少なくとも2000倍の存在度の重水素、少なくとも3000倍の存在度の重水素、少なくとも4000倍の存在度の重水素、少なくとも5000倍の存在度の重水素、少なくとも6000倍の存在度の重水素又はそれ以上の存在度の重水素であってもよい。本開示は、種々の重水素化形態の式(I)の化合物を更に含む。炭素原子に連結されるそれぞれの利用可能な水素原子は、独立的に重水素原子で置換されてもよい。当業者は、関連文献を参照して重水素化形態の式(I)の化合物を合成することができる。重水素化形態の式(I)の化合物は、調製する場合、市販の重水素化出発物質を使用してもよく、或いは、通常の技術により重水素化試薬で合成されてもよく、重水素化試薬は、重水素化ボラン、三重水素化ボランテトラヒドロフラン溶液、重水素化水

40

50

素化アルミニウムリチウム、重水素化ヨードエタン及び重水素化ヨードメタンなどを含むが、これらに限定されない。

【0249】

「任意選択的に」又は「任意選択的」は、その後に説明される事象又は状況が生じてもよいが、生じなくてもよいことを意味し、この説明は、当該事象又は状況が生じる場合と生じない場合を含む。例えば、「任意選択的にハロゲン又はシアノ基で置換されるC₁–₆アルキル基」は、ハロゲン又はシアノ基が存在してもよいが、存在しなくてもよいことを意味し、この説明は、アルキル基がハロゲン又はシアノ基で置換された場合と、アルキル基がハロゲン又はシアノ基で置換されていない場合とを含む。

【0250】

本開示に記載される化合物の化学構造において、

【化200】

「／」

10

という結合は配置が指定されていないことを示し、即ち、化学構造にキラル異性体が存在する場合、

【化201】

「／」

という結合は

【化202】

「」又は「」

20

であってもよく、或いは

【化203】

「」及び「」

という2種類の配置を同時に含んでもよい。便宜上、上記構造式の全てをある異性体形式として描かれているが、本開示は、互変異性体、回転異性体、幾何異性体、ジアステレオマー、ラセミ体及びエナンチオマーなどの全ての異性体を含んでもよい。本開示に記載される化合物の化学構造において、

【化204】

「」

30

という結合は、配置が指定されておらず、即ち、

【化205】

「」

という結合の配置はE配置又はZ配置であってもよく、或いはEとZという2つの配置を同時に含んでもよい。

【0251】

「組成物」という用語は、1種又は複数種の本明細書に記載される化合物又はその生理学的に／薬学的に許容される塩又はプロドラッグ及び他の化学成分の混合物と、生理学的に／薬学的に許容されるベクター及び賦形剤などの他の成分とを含むものを示す。組成物は、生体への投与を促進し、活性成分の吸収に寄与して更に生物活性を発揮するためのものである。

【0252】

「薬用可能な賦形剤」又は「薬学的に許容される賦形剤」という用語は、アメリカ食品医薬品局によって承認された、ヒト又は家畜動物への使用が許容される任意の助剤、ベクター、賦形剤、流動促進剤、甘味料、希釈剤、防腐剤、染料／着色剤、着香剤、界面活性

40

50

剤、湿潤剤、分散剤、懸濁化剤、安定剤、等張化剤、溶媒又は乳化剤を含むが、これらに限定されない。

【0253】

特に説明のない限り、本開示の「化合物」、「リガンド」、「核酸リガンド複合体」、「核酸」は、何れも独立的に塩、混合塩又は非塩（例えば、遊離酸又は遊離塩基）の形態で存在してもよい。塩又は混合塩の形態で存在する場合、それは薬学的に許容される塩であってもよい。

【0254】

「薬学的に許容される塩」という用語は、薬学的に許容される酸付加塩及び薬学的に許容される塩基付加塩を含む。

【0255】

「薬学的に許容される酸付加塩」は、他の副作用無しに遊離塩基の生物学的利用率を保持することができる、無機酸又は有機酸と形成された塩を指す。無機酸塩は塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩などを含むが、これらに限定されず、有機酸塩はギ酸塩、酢酸塩、2,2-ジクロロ酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、プロピオン酸塩、カプロン酸塩、オクタン酸塩、デカン酸塩、ウンデシレン酸塩、グリコール酸塩、グルコン酸塩、乳酸塩、セバシン酸塩、アジピン酸塩、グルタル酸塩、マロン酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、オレイン酸塩、桂皮酸塩、ラウリン酸塩、リンゴ酸塩、グルタミン酸塩、ピログルタミン酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、メシル酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-ートルエンズルホン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、サリチル酸塩、4-アミノサリチル酸塩、ナフタレンジスルホン酸塩などを含むが、これらに限定されない。これらの塩は、この分野で知られている方法で調製することができる。

【0256】

「薬学的に許容される塩基付加塩」は、他の副作用無しに遊離酸の生物学的利用率を保持することができる、無機塩基又は有機塩基と形成された塩を指す。無機塩基から誘導された塩は、ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩、アンモニウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、マンガン塩、アルミニウム塩などを含むが、これらに限定されない。好適な無機塩は、アンモニウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩及びマグネシウム塩であり、ナトリウム塩が好ましい。有機塩基から誘導された塩は、以下の塩、即ち、第1級アミン類、第2級アミン類及び第3級アミン類、天然の置換されたアミン類を含む置換されたアミン類、環状アミン類及び塩基性イオン交換樹脂、例えば、アンモニア、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジメチルエタノールアミン、2-ジメチルアミノエタノール、2-ジエチルアミノエタノール、ジシクロヘキシルアミン、リジン、アルギニン、ヒスチジン、カフェイン、プロカイン、コリン、グリシンベタイン、エチレンジアミン、グルコサミン、メチルグルコサミン、テオブロミン、プリン、ピペラジン、ピペリジン、N-エチルピペリジン、ポリアミド樹脂などを含むが、これらに限定されない。好適な有機塩基は、イソプロピルアミン、ジエチルアミン、エタノールアミン、トリメチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、コリン及びカフェインを含む。これらの塩は、この分野で知られている方法で調製することができる。

【0257】

「アルキル基」という用語は1~30個の炭素原子を含む直鎖又は分岐鎖基である飽和脂肪族炭化水素基を指し、好ましくは1~12個の炭素原子を含むアルキル基、より好ましくは1~10個の炭素原子を含むアルキル基、より好ましくは1~6個の炭素原子を含むアルキル基、更により好ましくは1~4個の炭素原子を含むアルキル基である。非限定的な実例は、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基、sec-ブチル基、n-ペンチル基、1,1-ジメチルプロピル基、1,2-ジメチルプロピル基、2,2-ジメチルプロピル基、1-エチル

10

20

30

40

50

プロピル基、2-メチルブチル基、3-メチルブチル基、n-ヘキシル基、1-エチル-
 2-メチルプロピル基、1, 1, 2-トリメチルプロピル基、1, 1-ジメチルブチル基
 、1, 2-ジメチルブチル基、2, 2-ジメチルブチル基、1, 3-ジメチルブチル基、
 2-エチルブチル基、2-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基、4-メチルペンチ
 ル基、2, 3-ジメチルブチル基、n-ヘブチル基、2-メチルヘキシル基、3-メチル
 ヘキシル基、4-メチルヘキシル基、5-メチルヘキシル基、2, 3-ジメチルペンチ
 ル基、2, 4-ジメチルペンチル基、2, 2-ジメチルペンチル基、3, 3-ジメチルペン
 チル基、2-エチルペンチル基、3-エチルペンチル基、n-オクチル基、2, 3-ジメ
 チルヘキシル基、2, 4-ジメチルヘキシル基、2, 5-ジメチルヘキシル基、2, 2-
 ジメチルヘキシル基、3, 3-ジメチルヘキシル基、4, 4-ジメチルヘキシル基、2-
 エチルヘキシル基、3-エチルヘキシル基、4-エチルヘキシル基、2-メチル-2-エ
 チルペンチル基、2-メチル-3-エチルペンチル基、n-ノニル基、2-メチル-2-
 エチルヘキシル基、2-メチル-3-エチルヘキシル基、2, 2-ジエチルペンチル基、
 n-デシル基、3, 3-ジエチルヘキシル基、2, 2-ジエチルヘキシル基、及びその種
 々の分岐鎖異性体などを含む。より好ましくは1~6個の炭素原子を含むアルキル基であ
 り、非限定的な実施例はメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブ
 チル基、イソブチル基、tert-ブチル基、sec-ブチル基、n-ペンチル基、1,
 1-ジメチルプロピル基、1, 2-ジメチルプロピル基、2, 2-ジメチルプロピル基、
 1-エチルプロピル基、2-メチルブチル基、3-メチルブチル基、n-ヘキシル基、1
 -エチル-2-メチルプロピル基、1, 1, 2-トリメチルプロピル基、1, 1-ジメチ
 ルブチル基、1, 2-ジメチルブチル基、2, 2-ジメチルブチル基、1, 3-ジメチル
 ブチル基、2-エチルブチル基、2-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基、4-メ
 チルペンチル基、2, 3-ジメチルブチル基などを含む。アルキル基は、置換されても、
 置換されなくてもよく、置換される場合に、置換基は任意の利用可能な連結部位で置換さ
 れてもよく、上記置換基は、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基、
 アルキルチオ基、アルキルアミノ基、ハロゲン、メルカプト基、ヒドロキシ基、ニトロ基
 、シアノ基、シクロアルキル基、ヘテロシクロアルキル基、アリール基、ヘテロアリール
 基、シクロアルコキシ基、ヘテロシクロアルコキシ基、シクロアルキルチオ基、ヘテロシ
 クロアルキルチオ基、オキソ基、カルボキシ基又はカルボン酸エステル基から独立的に選
 ばれる1つ又は複数の基が好ましい。

10

20

30

【0258】

「アルキレン基」という用語は、アルカン分子から2つの水素原子を除去した後に残っ
 た部分を表し、1~20個の炭素原子の直鎖及び分岐鎖のサブユニットを含む。1~6個
 の炭素原子を含むアルキレン基の非限定的な実施例は、メチレン基($-\text{CH}_2-$)、エチ
 リデン基(例えば、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 又は $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$)、プロピリデン基(例え
 ば、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 又は $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$)、ブチリデン基(例えば、
 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$)を含む。特に説明のない限り、アルキレン基は置換され
 ても、置換されなくてもよく、置換される場合に、置換基は任意の利用可能な連結部位で
 置換されてもよく、好ましくは重水素、アリール基、ヘテロアリール基、ハロゲンから独
 立的に選ばれる1つ又は複数の基で置換される。

40

【0259】

「シクロアルキル基」又は「炭素環」という用語は、飽和又は部分不飽和の単環式又は
 多環式環状炭化水素置換基を指し、シクロアルキル基環は3~20個の炭素原子を含み、
 好ましくは3~7個の炭素原子を含む。単環式シクロアルキル基の非限定的な実例は、シ
 クロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロペンテニル基、シクロヘキ
 シル基、シクロヘキセニル基、シクロヘキサジエニル基などを含み、多環式シクロアルキ
 ル基は、スピロ環、縮合環及び架橋環のシクロアルキル基を含む。シクロアルキル基は、
 置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合に、置換基は任意の利用可能な連
 結部位で置換されてもよく、独立的にハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ
 基、シアノ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基

50

、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基から選ばれる1つ又は複数の基が好ましく、上記 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基は、任意選択的にハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基から選ばれる1つ又は複数の基で置換される。

【0260】

上記シクロアルキル環は、アリール基又はヘテロアリール基に縮合されてもよく、そのうち、母体構造に連結された環はシクロアルキル基であり、非限定的な実例はインダニル基、テトラヒドロナフチル基、ベンゾシクロヘプタニル基などを含む。シクロアルキル基は、任意選択的に置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合に、置換基は、ハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基から独立的に選ばれる1つ又は複数の基が好ましく、上記 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基は、任意選択的にハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基から選ばれる1つ又は複数の基で置換される。

【0261】

「ヘテロシクロアルキル基」又は「複素環」という用語は、3～20個の環原子を含む飽和又は部分不飽和の単環式又は多環式環状炭化水素置換基を指し、そのうち、1つ又は複数の環原子は、窒素、酸素又は $S(O)_m$ （そのうち、 m は0～2の整数である）から選ばれるヘテロ原子であるが、 $-O-O-$ 、 $-O-S-$ 又は $-S-S-$ の環部分を含まず、残りの環原子は炭素である。好ましくは3～12個の環原子を含み、そのうち、1～4個はヘテロ原子であり、より好ましくは3～7個の環原子を含む。単環式ヘテロシクロアルキル基の非限定的な実例は、ピロリジニル基、イミダゾリジニル基、テトラヒドロフランニル基、テトラヒドロチエニル基、ジヒドロイミダゾリル基、ジヒドロフランニル基、ジヒドロピラゾリル基、ジヒドロピロリル基、ピペリジニル基、ピペラジニル基、モルホリニル基、チオモルホリニル基、ホモピペラジニル基などを含む。多環式ヘテロシクロアルキル基は、スピロ環、縮合環及び架橋環のヘテロシクロアルキル基を含む。「ヘテロシクロアルキル基」の非限定的な実例は、

10

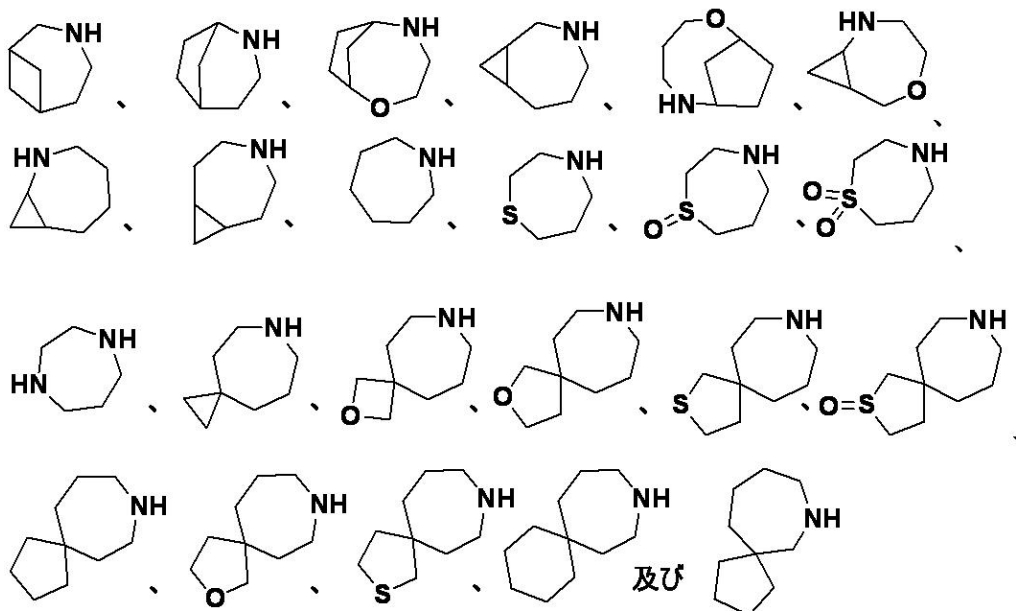
20

30

40

50

【化 2 0 6】



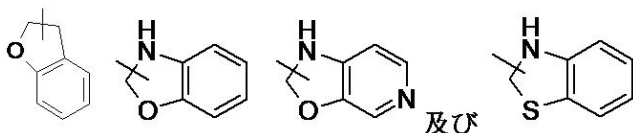
10

などを含む。

【0 2 6 2】

上記ヘテロシクロアルキル環は、アリール基又はヘテロアリール基に縮合されてもよく、そのうち、母体構造に連結された環はヘテロシクロアルキル基であり、その非限定的な実例は、

【化 2 0 7】



20

などを含む。

【0 2 6 3】

ヘテロシクロアルキル基は、任意選択的に置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合に、置換基は、ハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基から独立的に選ばれる1つ又は複数の基が好ましく、上記 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基は、任意選択的にハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基から選ばれる1つ又は複数の基で置換される。

30

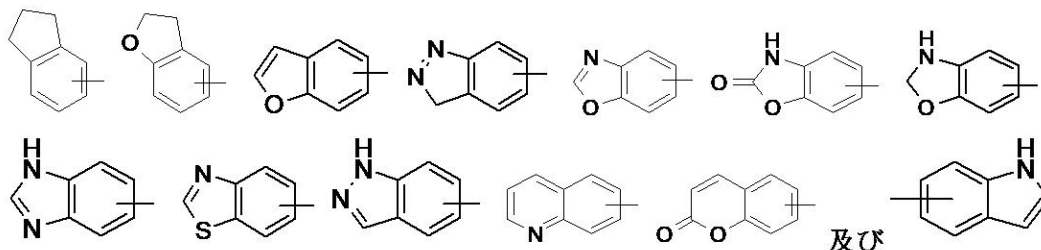
【0 2 6 4】

「アリール基」という用語は、共役した π 電子系を有する6～14員の全炭素単環式又は縮合多環（つまり、隣接する炭素原子対を共有する環）式基を指し、好ましくは6～12員であり、例えば、フェニル基及びナフチル基である。上記アリール基環は、ヘテロアリール基、ヘテロシクロアルキル基又はシクロアルキル基環に縮合されてもよく、そのうち、母体構造に連結された環はアリール基環であり、その非限定的な実例は、

40

50

【化 2 0 8】



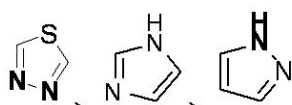
を含み、

アリール基は、置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合に、置換基は、ハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_1-6 アルキル基、 C_1-6 アルコキシ基、 C_2-6 アルケニルオキシ基、 C_2-6 アルキニルオキシ基、 C_3-6 シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_3-8 シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基から独立的に選ばれる1つ又は複数の基が好ましく、上記 C_1-6 アルキル基、 C_1-6 アルコキシ基、 C_2-6 アルケニルオキシ基、 C_2-6 アルキニルオキシ基、 C_3-6 シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_3-8 シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基は、任意選択的にハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基から選ばれる1つ又は複数の基で置換される。

【0 2 6 5】

「ヘテロアリール基」という用語は、1～4個のヘテロ原子、5～14個の環原子を含む複素芳香族系を指し、そのうち、ヘテロ原子は酸素、硫黄及び窒素から選ばれる。ヘテロアリール基は、5～12員が好ましく、5員又は6員がより好ましい。例えば、その非限定的な実例は、イミダゾリル基、フリル基、チエニル基、チアゾリル基、ピラゾリル基、オキサゾリル基 (oxazolyl)、イソオキサゾリル基 (isoxazolyl)、ピロリル基、テトラゾリル基、ピリジル基、ピリミジニル基、チアジアゾリル基、ピラジニル基、トリアゾリル基、インダゾリル基、ベンゾイミダゾリル基、

【化 2 0 9】

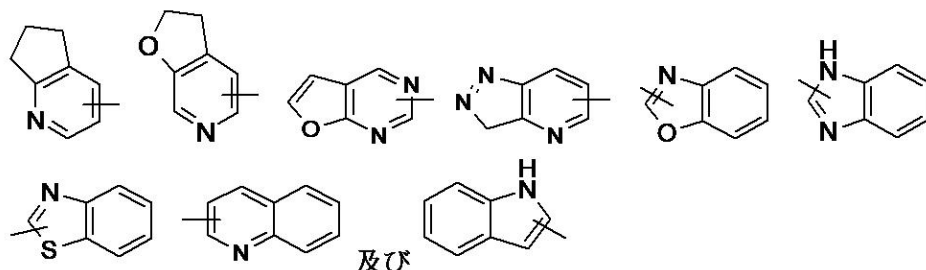


などを含む。

【0 2 6 6】

上記ヘテロアリール基環は、アリール基、ヘテロシクロアルキル基又はシクロアルキル基環に縮合されてもよく、そのうち、母体構造に連結された環はヘテロアリール基環であり、その非限定的な実例は、

【化 2 1 0】



を含む。

【0 2 6 7】

ヘテロアリール基は、任意選択的に置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合に、置換基は、ハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基から独立的に選ばれる1つ又は複数の基が好ましく、上記 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基は、任意選択的にハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基から選ばれる1つ又は複数の基で置換される。

10

【0268】

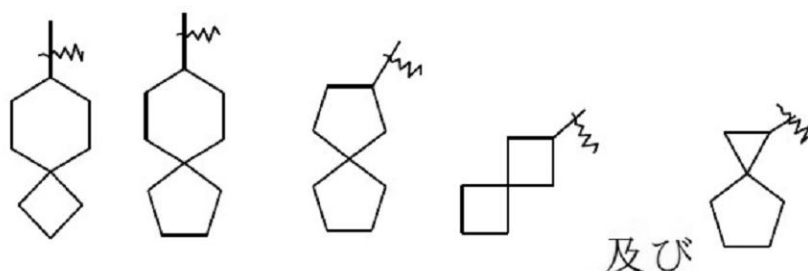
「スピロ環」という用語は、2つの環が1つの原子を共有する化合物を指す。

【0269】

「スピロシクロアルキル基」という用語は、5～20員で、単環同士が1つの炭素原子（スピロ原子と称する）を共有する多環式基を指し、それは1つ又は複数の二重結合を含んでもよいが、完全に共役した π 電子系を有する環は1つもない。好ましくは6～14員、より好ましくは7～10員である。スピロシクロアルキル基は、環同士の共有するスピロ原子の数によって、モノスピロシクロアルキル基、ビススピロシクロアルキル基又はポリスピロシクロアルキル基に分けられ、好ましくはモノスピロシクロアルキル基及びビススピロシクロアルキル基である。より好ましくは、4員／4員、4員／5員、4員／6員、5員／5員又は5員／6員のモノスピロシクロアルキル基である。「スピロ炭素環」は、スピロシクロアルキル基中の環系を指す。スピロシクロアルキル基の非限定的な実例は、

20

【化211】



30

を含む。

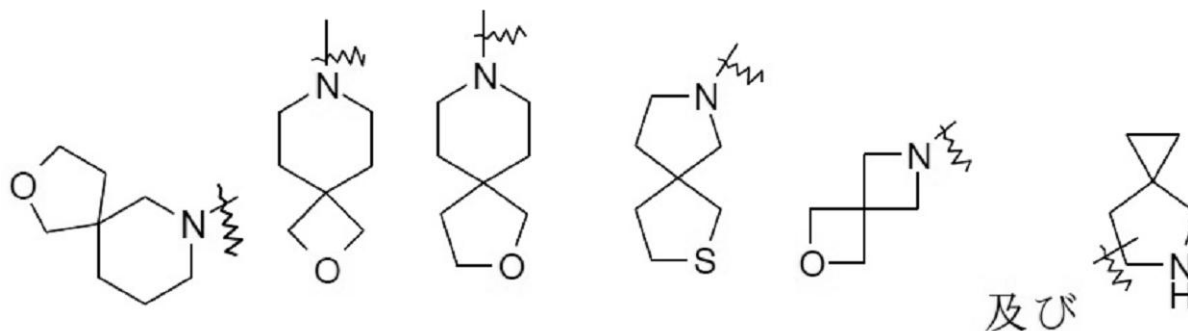
【0270】

「スピロヘテロシクリル基」という用語は、5～20員で、単環同士が1つの原子（スピロ原子と称する）を共有する多環式ヘテロシクリル基を指し、そのうち、1つ又は複数の環原子は窒素、酸素又は $S(O)_m$ （そのうち、 m は0～2の整数である）から選ばれるヘテロ原子であり、残りの環原子は炭素である。それは1つ又は複数の二重結合を含んでもよいが、完全に共役した π 電子系を有する環は1つもない。好ましくは6～14員、より好ましくは7～10員である。スピロヘテロシクリル基は、環同士の共有するスピロ原子の数によって、モノスピロヘテロシクリル基、ビススピロヘテロシクリル基又はポリスピロヘテロシクリル基に分けられ、好ましくはモノスピロヘテロシクリル基及びビススピロヘテロシクリル基である。より好ましくは、4員／4員、4員／5員、4員／6員、5員／5員又は5員／6員のモノスピロヘテロシクリル基である。「スピロ複素環」は、スピロヘテロシクリル基中の環系を指す。スピロヘテロシクリル基の非限定的な実例は、

40

50

【化 2 1 2】



10

を含む。

【0 2 7 1】

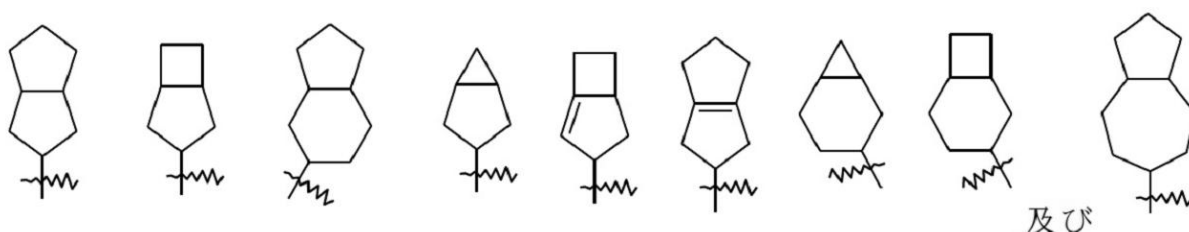
「縮合環」という用語は、2つ以上の環が2つの隣接する原子を共有して縮合することで形成された化合物を指す。

【0 2 7 2】

「縮合シクロアルキル基」という用語は、5～20員で、系内の各環が系内の他の環と、隣接する1対の炭素原子を共有する全炭素多環式基を指し、そのうち、1つ又は複数の環は1つ又は複数の二重結合を含んでもよいが、完全に共役したπ電子系を有する環は1つもない。好ましくは6～14員、より好ましくは7～10員である。構成する環の数によって、二環式、三環式、四環式又は多環式の縮合シクロアルキル基に分けることができ、好ましくは二環式又は三環式であり、より好ましくは5員／5員又は5員／6員の二環式アルキル基である。縮合シクロアルキル基の非限定的な実例は、

20

【化 2 1 3】



30

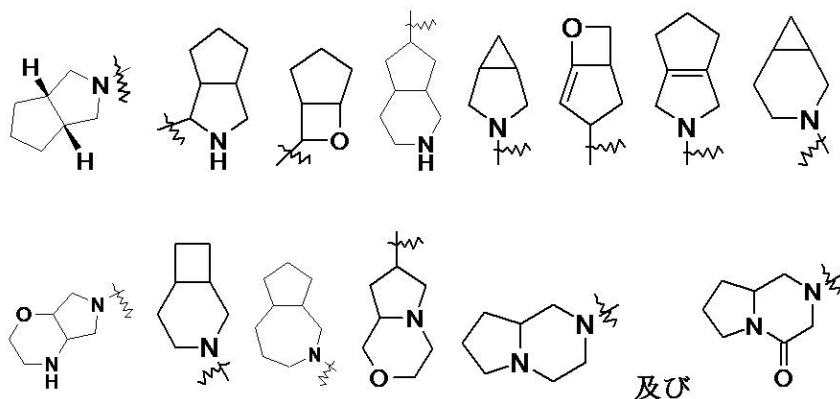
を含む。

【0 2 7 3】

「縮合ヘテロシクリル基」という用語は、5～20員で、系内の各環が系内の他の環と、隣接する1対の原子を共有する多環式ヘテロシクリル基を指し、1つ又は複数の環は1つ又は複数の二重結合を含んでもよいが、完全に共役したπ電子系を有する環は1つもなく、そのうち、1つ又は複数の環原子は、窒素、酸素又は $S(O)_m$ （そのうち、 m は0～2の整数である）から選ばれるヘテロ原子であり、残りの環原子は炭素である。好ましくは6～14員、より好ましくは7～10員である。構成する環の数によって、二環式、三環式、四環式又は多環式の縮合ヘテロシクリル基に分けることができ、好ましくは二環式又は三環式であり、より好ましくは5員／5員又は5員／6員の二環式縮合ヘテロシクリル基である。「縮合複素環」は、縮合ヘテロシクリル基中の環系を指す。縮合ヘテロシクリル基の非限定的な実例は、

40

【化 2 1 4】



10

を含む。

【0 2 7 4】

「縮合ヘテロアリール基」という用語は、5～14個の環原子（そのうち、少なくとも1つのヘテロ原子を含む）を含み、2つ以上の環状構造同士が2つの隣接する原子を共有して連結して形成される、芳香族性を有する不飽和の縮合環構造であってもよく、同時に、炭素原子、窒素原子及び硫黄原子がオキソで置換可能なことを含み、好ましくは「5～12員縮合ヘテロアリール基」、「7～12員縮合ヘテロアリール基」、「9～12員縮合ヘテロアリール基」などであり、例えば、ベンゾフラニル基、ベンゾイソフラニル基、ベンゾチオフェニル基、インドリル基、イソインドリル基、ベンゾオキサゾリル基、ベンゾイミダゾリル基、インダゾリル基、ベンゾトリアゾリル基、キノリル基、2-キノリノン、4-キノリノン、1-イソキノリノン、イソキノリル基、アクリジニル基、フェナントリジニル基、ベンゾピリダジニル基、フタラジニル基、キナゾリニル基、キノキサリニル基、フェナジニル基、プテリジニル基、プリニル基、ナフチリジニル基、フェナジニル基、フェノチアジニル基などである。「縮合複素芳香環」は、縮合ヘテロアリール基中の環系を指す。

20

【0 2 7 5】

縮合ヘテロアリール基は任意選択的に置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合に、置換基は、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アルコキシ基、アルキルチオ基、アルキルアミノ基、ハロゲン、メルカプト基、ヒドロキシ基、ニトロ基、シアノ基、シクロアルキル基、ヘテロシクロアルキル基、アリール基、ヘテロアリール基、シクロアルコキシ基、ヘテロシクロアルコキシ基、シクロアルキルチオ基、ヘテロシクロアルキルチオ基、カルボキシ基又はカルボン酸エステル基から独立的に選ばれる1つ又は複数の基が好ましい。

30

【0 2 7 6】

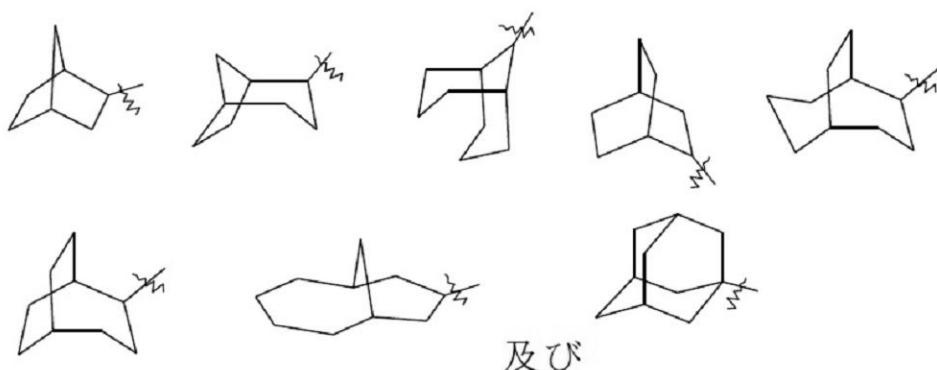
「架橋環」という用語は、2つ以上の環状構造が2つの隣接していない環原子を互いに共有して形成される構造を指す。

【0 2 7 7】

「架橋シクロアルキル基」という用語は、5～20員で、いずれか2つの環が直接連結されていない2つの炭素原子を共有する全炭素多環式基を指し、それは1つ又は複数の二重結合を含んでもよいが、完全に共役したπ電子系を有する環は1つもない。好ましくは6～14員、より好ましくは7～10員である。構成する環の数によって、二環式、三環式、四環式又は多環式の架橋シクロアルキル基に分けることができ、好ましくは二環式、三環式又は四環式であり、より好ましくは二環式又は三環式である。架橋シクロアルキル基の非限定的な実例は、

40

【化 2 1 5】



10

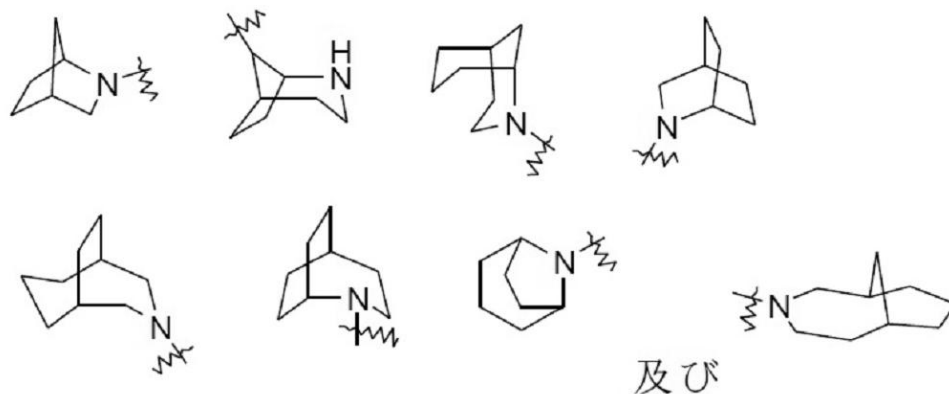
を含む。

【0 2 7 8】

「架橋ヘテロシクリル基」という用語は、5～14員で、いずれか2つの環が2つの直接連結されていない原子を共有する多環式ヘテロシクリル基を指し、1つ又は複数の二重結合を含んでもよいが、完全に共役した π 電子系を有する環は1つもなく、そのうち、1つ又は複数の環原子は窒素、酸素又は $S(O)_m$ （そのうち、 m は0～2の整数である）から選ばれるヘテロ原子であり、残りの環原子は炭素である。好ましくは6～14員、より好ましくは7～10員である。構成する環の数によって、二環式、三環式、四環式又は多環式の架橋ヘテロシクリル基に分けることができ、好ましくは二環式、三環式又は四環式であり、より好ましくは二環式又は三環式である。架橋ヘテロシクリル基の非限定的な実例は、

20

【化 2 1 6】



30

を含む。

【0 2 7 9】

「アルコキシ基」という用語は、 $-O-$ （アルキル基）及び $-O-$ （非置換のシクロアルキル基）を指し、そのうち、アルキル基の定義は上記の通りである。アルコキシ基の非限定的な実例は、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、ブトキシ基、シクロプロポキシ基、シクロブトキシ基、シクロペンチルオキシ基、シクロヘキシルオキシ基を含む。アルコキシ基は、任意選択的に置換されても、置換されなくてもよく、置換される場合に、置換基は、ハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基、 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール基又はヘテロアリール基から独立的に選ばれる1つ又は複数の基が好ましく、上記 C_{1-6} アルキル基、 C_{1-6} アルコキシ基、 C_{2-6} アルケニルオキシ基、 C_{2-6} アルキニルオキシ基、 C_{3-6} シクロアルコキシ基、3～6員ヘテロシクロアルコキシ基、 C_{3-8} シクロアルケニルオキシ基、5～6員アリール

40

50

基又はヘテロアリール基は、任意選択的にハロゲン、重水素、ヒドロキシ基、オキソ、ニトロ基、シアノ基から選ばれる1つ又は複数の基で置換される。同様に、「アルキニルオキシ基」、「アルケニルオキシ基」、「シクロアルコキシ基」、「ヘテロシクロアルコキシ基」、「シクロアルケニルオキシ基」の定義は、上記「アルコキシ基」の定義の通りである。

【0280】

「置換される」という用語は、基の中の1つ又は複数の水素原子、好ましくは5個以下、より好ましくは1～3個の水素原子が互いに独立的に対応する数の置換基で置換されることを指す。無論、置換基は、それらの化学的に可能な部位にしか位置せず、当業者はそれほど努力せずに（実験又は理論により）可能又は不可能な置換を決定することができる。

10

【0281】

「1つ又は複数の……で置換される」とは、単一又は複数の置換基で置換されてもよいことを意味する。複数の置換基で置換される場合、複数の同じ置換基であってもよく、1つ又は複数の異なる置換基の組み合わせであってもよい。

【0282】

「連結」という用語は、2つの分子間の繋がりを示す場合、2つの分子が共有結合で連結し、又は2つの分子が非共有結合（例えば、水素結合又はイオン結合）で繋がることを指し、直接的連結と間接的連結を含む。

【0283】

「直接的連結」という用語は、第1の化合物又は基と第2の化合物又は基が、何らの原子や原子団も介在することなく連結していることを指す。「間接的連結」という用語は、第1の化合物又は基と第2の化合物又は基が、中間基、化合物又は分子（例えば、連結基）を介して連結していることを指す。

20

【0284】

「ヒドロキシ基」という用語は、 $-OH$ を指す。

【0285】

「ハロゲン」という用語は、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素を指す。

【0286】

「ハロアルキル基」という用語は、ハロゲンで置換されるアルキル基を指し、そのうち、アルキル基は上記のように定義される。

30

【0287】

「シアノ基」という用語は、 $-CN$ を指す。

【0288】

「ニトロ基」という用語は、 $-NO_2$ を指す。

【0289】

「オキソ」という用語は、 $=O$ 基を指す。例えば、炭素原子と酸素原子は、二重結合によって連結され、そのうち、ケトン又はアルデヒド基が形成される。

【0290】

「アミノ基」という用語は、 $-NH_2$ を指す。

40

【0291】

「シアノ基」という用語は、 $-CN$ を指す。

【0292】

「カルボキシ基」という用語は、 $-C(O)OH$ を指す。

【0293】

「アルデヒド基」という用語は、 $-CHO$ を指す。

【0294】

本開示において、「含む」、「包含する」という用語は、「……からなる」に置き換えることができる。

【0295】

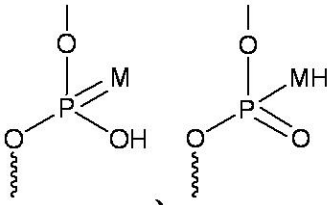
50

本開示において、「リン酸エステル基」、「ホスフェート基」、「リン酸エステル結合」は入れ替えて使用されてもよく、ホスホモノエステル、ホスホジエステル、又はホストリエステルを含む。「チオリン酸エステル基」における「リン酸エステル基」も同様の意味を有する。特に断りのない限り、天然ヌクレオチド間ホスフェート基はホスホジエステル基である。

【0296】

本発明において、チオホスフェート基は、1つの非架橋酸素原子が硫黄原子で置換されて修飾されたホスホジエステル基を指し、

【化217】



10

(MはS原子)と入れ替えて使用されてもよい。

【0297】

本明細書に使用されるように、RNA媒介性の遺伝子サイレンシングである場合に、siRNAのセンス鎖(SS、SS鎖又はセンス鎖ともいう)は、標的mRNA配列と同じ又は基本的に同じ配列を含む鎖を指し、siRNAのアンチセンス鎖(AS又はAS鎖ともいう)は、標的mRNA配列と相補的な配列をもつ鎖を指す。

20

【0298】

本開示において、センス鎖又はアンチセンス鎖の「5'領域」、即ち、「5'末端」、「5'末端」は入れ替えて使用されてもよい。例えば、アンチセンス鎖5'領域の2位から8位のヌクレオチドは、アンチセンス鎖5'末端の2位から8位のヌクレオチドで置き換えられてもよい。同様に、センス鎖又はアンチセンス鎖の「3'領域」、「3'末端」及び「3'端」は入れ替えて使用されてもよい。

【0299】

本明細書に使用されるように、「相補的」又は「逆相補的」という用語は、互いに入れ替えて使用することができ、且つ、二本鎖核酸分子において、1つの鎖の塩基がもう1つの鎖における塩基と相補的にペアリングするという当業者に知られている意味を有する。DNAにおいて、プリン塩基アデニン(A)は、常にピリミジン塩基チミン(T)(又は、RNAではウラシル(U))とペアリングし、プリン塩基グアニン(G)は、常にピリミジン塩基シトシン(C)とペアリングする。それぞれの塩基ペアは、何れも1つのプリンと1つのピリミジンを含む。1つの鎖におけるアデニンが常にもう1つの鎖におけるチミン(又はウラシル)とペアリングし、且つグアニンが常にシトシンとペアリングする場合、2つの鎖は互いに相補的であるとされ、また、その相補的な鎖の配列から当該鎖の配列を推定することができる。それに応じて、「ミスマッチ」は、この分野で、二本鎖核酸において、対応する位置での塩基が相補的な形態でペアリングして存在するものではないことを意味する。

30

40

【0300】

本明細書に使用されるように、「化学的修飾」又は「修飾」は、天然に存在する対応物に比べると化学的に異なる構造を意味し、例えば化学部分の添加や除去、又は1つの化学部分による別の化学部分の置換など、化学的手段によるあらゆる変化を含む。

【0301】

本開示の文脈において、Bzはベンゾイル基を示し、MMTrはメトキシフェニルジフェニルメチル基を示し、DMTrはジメトキシトリフェニルメチル基を示す。

【0302】

本明細書に使用されるように、「塩基」という用語は、何れの既知のDNAとRNA塩

50

基、塩基類似体も含み、例えば、プリンやピリミジンであり、更に、天然化合物であるアデニン、チミン、グアニン、シトシン、ウラシル、イノシンと天然類似体を含む。

【0303】

特に説明のない限り、本開示の文脈において、大文字C、G、U、A、Tは、ヌクレオチドの塩基の組成を示し、小文字dは、当該文字dの右側に隣接する1つのヌクレオチドがデオキシリボヌクレオチドであることを示し、小文字mは、当該文字mの左側に隣接する1つのヌクレオチドがメトキシ基で修飾されたヌクレオチドであることを示し、小文字fは、当該文字fの左側に隣接する1つのヌクレオチドがフルオロで修飾されたヌクレオチドであることを示し、小文字sは、当該文字sの両側に隣接する2つのヌクレオチド同士がチオホスフェート基で連結されていることを示す。

10

【0304】

本明細書に使用されるように、「フルオロで修飾されたヌクレオチド」という用語は、ヌクレオチドのリボシル基の2'位のヒドロキシ基がフルオロで置換されてなるヌクレオチドを指し、上記メトキシ基で修飾されたヌクレオチドは、リボシル基の2'-ヒドロキシ基がメトキシ基で置換されてなるヌクレオチドを指す。

【0305】

本明細書に使用されるように、「抑制」という用語は、「低減」、「サイレンシング」、「ダウレギュレーション」、「阻害」とそのような他の用語と交換して使用可能であり、また、何れのレベルの抑制も含む。抑制は、これらの変数のうちの1つ又は複数の、対照レベルと比べる場合の絶対的又は相対的なレベルの低減によって評価可能である。当該対照レベルは、この分野で使用されている何れの種類の対照レベルであってもよく、例えば、投与前基線レベル、又は類似の未処理の、若しくは対照（例えば、緩衝液対照又は不活性剤対照だけ）処理された対象、細胞や試料から決定されたレベルである。例えば、mRNA余剰発現量によって、siRNAによる標的遺伝子発現への抑制程度を表すことができ、例えば、mRNA余剰発現量は、99%以下、95%以下、90%以下、85%以下、80%以下、75%以下、70%以下、65%以下、60%以下、55%以下、50%以下、45%以下、40%以下、35%以下、30%以下、25%以下、20%以下、15%以下、又は10%以下である。標的遺伝子発現の抑制率は、Dual-Glo（登録商標）Luciferase Assay Systemにより検出し、それぞれホタル（Firefly）化学発光値とレニラ（Renilla）化学発光値を読み取り、相対値Ratio = Ren / Firを算出することができ、本開示において、余剰mRNA発現量比率（又は余剰活性%）= Ratio（siRNA処理群） / Ratio（無siRNA対照群）、抑制率（%）= 100% - 余剰mRNA発現量（%）である。

20

30

【0306】

「有効量」、「有効用量」、「有効治療量」又は「治療有効量」は、いずれか1種又は複数種の有益又は所望の治療結果を得るために必要な薬剤、化合物又は医薬組成物の量を指す。予防的用途として、有益又は所望の結果は、病状、その合併症及び病状の進行中に現れる中間的な病理学的表現型の生化学的、組織学的及び／又は行動的症状を含め、リスクの解消や低減、重症度の軽減又は病状の発作の遅延を含む。治療的応用として、有益又は所望の結果は、種々の本開示の標的遺伝子、標的mRNA若しくは標的タンパク質関連病状の発症率の低減又は上記病状の1つ以上の症状の改善、病状の治療に必要な他の薬剤の用量の低減、別の薬剤の治療効果の向上、及び／又は、患者の本開示の標的遺伝子、標的mRNA若しくは標的タンパク質関連病状の進行の遅延などの臨床的結果を含む。有効量は、診断の許容又は促進に十分な量を更に意味する。特定の患者又は獣医学的対象に用いられる有効量は、例えば、治療すべき病状、患者の全体的な健康状況、投与の方法経路と用量及び副作用の重症度などの要因によって変化することができる。有効量は、顕著な副作用又は毒性作用を回避する最大用量又は投与計画であってもよい。

40

【0307】

本明細書に使用されるように、「対象」、「患者」、「被験者」又は「個体」は互い交換して使用可能であり、ヒト又は哺乳類などの非ヒト動物を含み、例えば、ヒトやサルで

50

ある。

【0308】

幾つかの実施形態において、遺伝子を発現する細胞にオリゴマー化合物を送達した後、オリゴマー化合物は、潜在的な遺伝子の発現を抑制することができ、且つ本明細書では「発現抑制性のオリゴマー化合物」と称され、インビトロ又はインビボで遺伝子発現を抑制することができる。「オリゴマー化合物」は、オリゴヌクレオチド、一本鎖オリゴヌクレオチド、一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチド、低分子干渉RNA (siRNA)、二本鎖RNA (dsRNA)、マイクロRNA (miRNA)、ショートヘアピンRNA (shRNA)、リボザイム、干渉RNA分子とDicer酵素基質を含むが、これらに限定されない。

10

【0309】

特に指摘のない限り、本明細書に使用される記号

【化218】



は、本明細書に記載される発明の範囲に従って、1つ又は複数の任意の基に結合することができることを示す。

【0310】

本明細書に使用されるように、第1鎖はアンチセンス鎖と呼ばれてもよく、第2鎖はセンス鎖と呼ばれてもよい。第1鎖とアンチセンス鎖又は第2鎖とセンス鎖という用語は、入れ替えてもよいと考えられるべきである。

20

【0311】

本開示において上記「RNAi試薬」は、標的メッセンジャーRNA (mRNA) の転写及び翻訳を配列特異的に分解又は抑制することができるRNA又はRNA様 (例えば、化学的に修飾されたRNA) オリゴヌクレオチド分子を含む試薬を指す。本開示において、RNAi試薬は、RNA干渉機構 (即ち、哺乳動物細胞のRNA干渉経路構成機構 (RNA誘導性のサイレンシング複合物又はRISC) との相互作用によりRNA干渉を誘導すること) によって操作され、或いはいずれかの他の機構又は経路によって作用することができる。RNAi試薬は、一本鎖オリゴヌクレオチド、一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチド、低分子干渉RNA (siRNA)、二本鎖RNA (dsRNA)、マイクロRNA (miRNA)、ショートヘアピンRNA (shRNA) とDicer基質を含むが、これらに限定されない。

30

【0312】

本明細書に記載されるRNAi試薬は、標的mRNAに対して少なくとも部分的に相補的な鎖を有するオリゴヌクレオチドを含む。

【図面の簡単な説明】

【0313】

【図1】投与7日後のTTRにおける複合体TRD002218、TRD007203、TRD007204及びTRD007205のmRNAの発現量である。

【図2】与28日後のTTRにおける複合体TRD002218、TRD007203、TRD007204及びTRD007205のmRNAの発現量である。

40

【図3】試験例6におけるGalNAc複合siRNAによるマウス初代肝細胞mTTR遺伝子への発現抑制活性である。

【図4】試験例7におけるGalNAc複合siRNAによるマウスmTTR遺伝子へのインビボ抑制活性である。

【発明を実施するための形態】

【0314】

以下、実施例と合わせて本開示を更に説明するが、これらの実施例は本開示の範囲を限定するものではない。本開示の実施例において具体的な条件が明記されていない実験方法は、一般的に、通常の条件に従い、又は原料や商品のメーカーにより勧められた条件に従

50

う。具体的な供給源が明記されていない試薬である場合、当該試薬は、いずれかの分子生物学的試薬の供給元から、分子生物学的応用のための品質／純度で得ることができる。

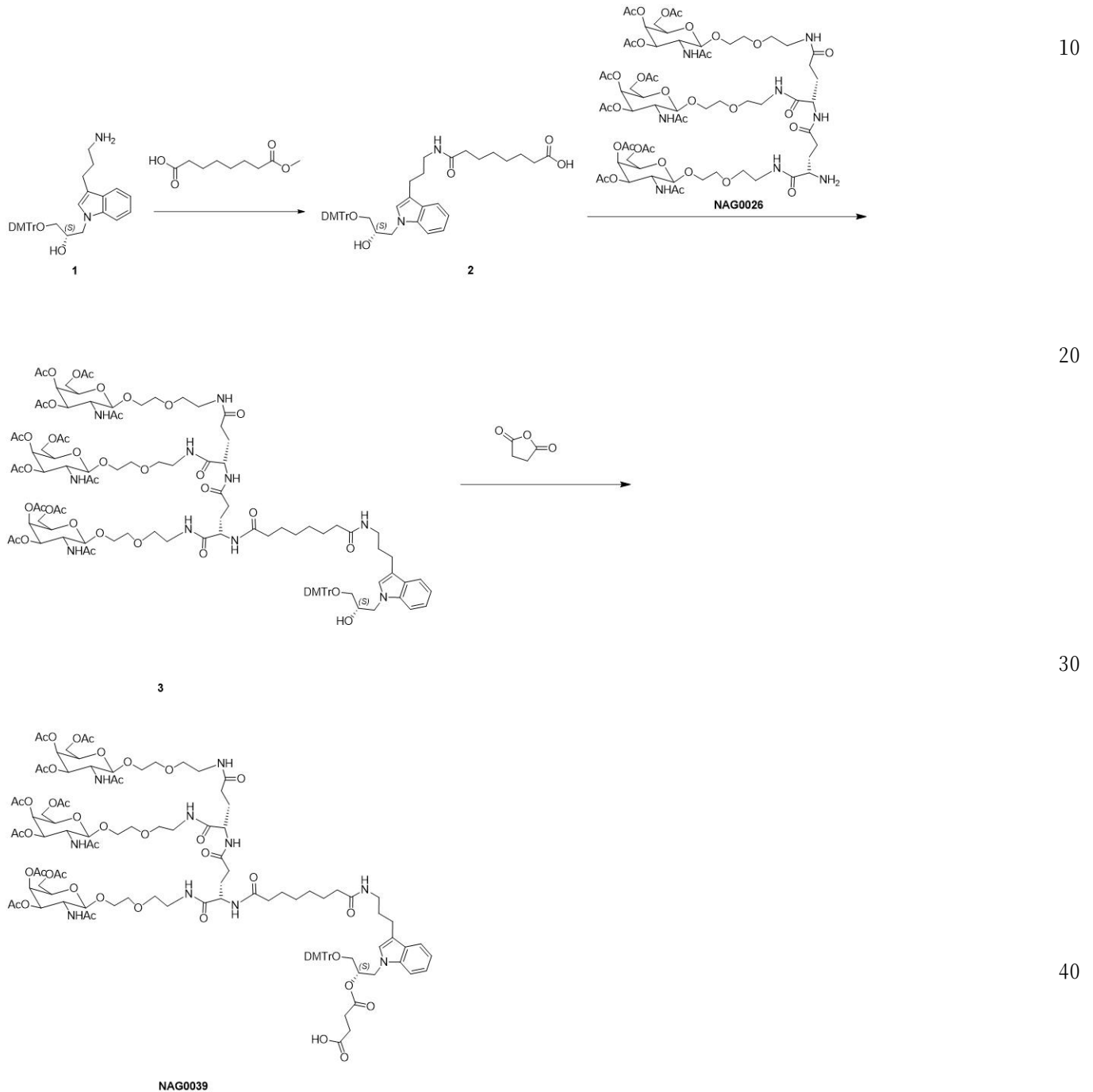
【0315】

化合物NAG0024、NAG0026は、天津薬明康德新薬開発有限公司から購入された。特に断りのない限り、以下の実施例に使用された試薬は市販品である。

【0316】

調製例1：化合物NAG0039の合成

【化219】



【0317】

化合物2

室温、窒素雰囲気下、化合物1（1.00g、1.82mmol）の乾燥THF（20mL）溶液にDIEA（469mg、3.63mmol）、3Aモレキュラシーブス、スベリン酸モノメチル（342mg、1.82mmol）、DCC（487mg、2.36

mmol)とHOBt(319mg、2.36mmol)を順に加えた。40℃で一晩反応させた。反応液をろ過して濃縮し、逆相カラムクロマトグラフィー(Boston C18カラム、0%~100%のMeCN/H₂O)により精製し、凍結乾燥して中間体(1.14g、1.58mmol、収率87%)を得た。

【0318】

この中間体(1.14g、1.58mmol)をTHF(3mL)とMeOH(3mL)に溶けた後、NaOH(126mg、3.16mmol)の水(3mL)溶液を滴下した。反応物を室温で4h攪拌した。減圧下で有機溶媒のほとんどを除去した後、逆相カラムクロマトグラフィー(Boston C18カラム、0%~100%のMeCN/H₂O)により精製し、化合物2(851mg、1.17mmol、ナトリウム塩、収率74%)を得た。

10

【0319】

化合物3

室温、窒素雰囲気下、化合物NAG0026(863mg、0.566mmol)の乾燥THF(15mL)溶液にDIEA(146mg、1.13mmol)、3Aモレキュラシーブス、化合物2(400mg、0.566mmol)、DCC(140mg、0.679mmol)とHOBt(92mg、0.679mmol)を順に加えた。45℃で一晩反応させた。反応液をろ過して濃縮し、逆相カラムクロマトグラフィー(Boston C18カラム、0%~100%のMeCN/H₂O)により精製し、凍結乾燥して化合物3(918mg、0.415mmol、収率73%)を得た。

20

【0320】

化合物NAG0039

室温で、化合物3(400mg、0.181mmol)のピリジン溶液に3Aモレキュラシーブス、コハク酸無水物(36mg、0.361mmol)、DMAP(22mg、0.181mmol)を加え、窒素雰囲気下、45℃で一晩反応させた。反応液をろ過し、減圧下で濃縮、逆相カラムクロマトグラフィー(Boston C18カラム、0%~100%のMeCN/H₂O)により分離して精製し、248mgの粗生成物を得て、この粗生成物を2バッチ合わせた後にHPLC分取クロマトグラフィー(カラム:Xbridge 150×50mm、5μm、移動相:A:0.1%NH₃H₂O+0.005%FA水溶液 B:MeCN;勾配:20%B~95%B 9min以内)により分離して、化合物NAG0039(240mg、0.104mmol、収率33%)を得た。

30

MS(ESI)m/z=2312.3[M-1]⁻、理論:2313.0。

¹H NMR(400 MHz, Acetonitrile-d₃) δ 7.63-6.59(m, 27H), 5.40-5.22(m, 4H), 5.16-5.02(m, 3H), 4.74-4.57(m, 3H), 4.45-3.05(m, 47H), 2.70-1.96(m, 57H), 1.63-1.27(m, 11H)。

【0321】

調製例2:化合物NAG0046の合成

40

[illegible]

化合物 3

LCMS: クロマトグラフィー条件 10~80 A B_2 min、保持時間 1.534 min、MS (ESI) $m/z = 682.6 [M + Na]^+$ 。

【 0 3 2 3 】

化合物 4

化合物 3 (250 mg、0.348 mmol) を MeOH (1 mL) と H₂O (0.5 mL) に溶けた後、LiOH (146 mg、3.48 mmol) を加え、室温で 12 h 反応させた。反応液を逆相カラムにかけて化合物 4 (166 mg、収率 71%) を得た。

LCMS: クロマトグラフィー条件 10~80 CD_3 min、保持時間 1.353 min、MS (ESI) $m/z = 668.6 [M+Na]^+$ 。

HPLC: クロマトグラフィー条件 10~80℃、6min、保持時間 1.897min。

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7.45 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.34–7.27 (m, 6H), 7.24–7.19 (m, 1H), 6.92–6.83 (m, 4H), 4.32 (q, J = 8.0 Hz, 1H), 4.13–4.02 (m, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.21–3.14 (m, 1H), 3.13–3.06 (m, 1H), 2.37–2.28 (m, 1H), 2.14 (td, J = 7.5, 15.6 Hz, 5H), 1.99–1.89 (m, 1H), 1.72–1.70 (m, 1H), 1.59–1.50 (m, 4H), 1.36–1.23 (m, 13H)。

【0324】

10

化合物5

化合物NAG0026 (120mg、0.079mmol)を無水THF (2mL)と無水DMF (2mL)に溶解、3Aモレキュラシーブス (50mg)を加えてから、化合物4 (54mg、0.084mmol)、HOBt (28mg、0.205mmol)、DCC (39mg、0.189mmol)とDIEA (0.08mL、0.472mmol)を順に加えた。反応液を40℃で20h反応させた。LC-MSにより反応が完了したことを示した後、水を加えてクエンチし、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮した後、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製 (Boston C18カラム、0%~100%のMeCN/H₂O)して、化合物5 (90mg、収率53%)を得た。

【0325】

20

化合物NAG0046

化合物5 (90mg、0.042mmol)を無水ピリジン (3mL)に溶解、3Aモレキュラシーブス (50mg)、DMAP (26mg、0.209mmol)とコハク酸無水物 (42mg、0.364mmol)を加えた。反応液を50℃で48h攪拌した。LC-MSにより原料を約50%反応させたことを示し、反応液をろ過し、濃縮し、逆相カラムクロマトグラフィー (Boston C18カラム、H₂O/MeCN、5%~70%溶離)により精製して、NAG0046 (30mg)を得た。

MS (ESI) m/z = 2251.4 [M-1]⁻、理論: 2252.0。

¹H NMR (400 MHz, Acetonitrile-d₃) δ 7.50–7.14 (m, 14H), 6.89 (d, J = 8.6 Hz, 7H), 6.56 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 5.32 (d, J = 3.4 Hz, 3H), 5.09 (t, J = 12.5 Hz, 4H), 4.65 (dd, J = 8.6, 4.8 Hz, 3H), 4.32–3.11 (m, 52H), 2.54 (t, J = 6.8 Hz, 3H), 2.32 (d, J = 7.6 Hz, 16H), 2.14–2.04 (m, 17H), 1.89 (d, J = 2.9 Hz, 10H), 1.75 (dt, J = 14.6, 7.9 Hz, 4H), 1.62–1.49 (m, 5H), 1.29 (s, 13H)。

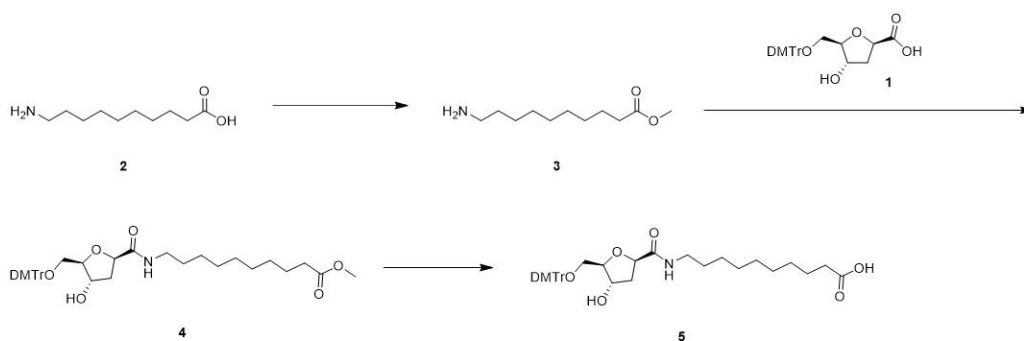
30

【0326】

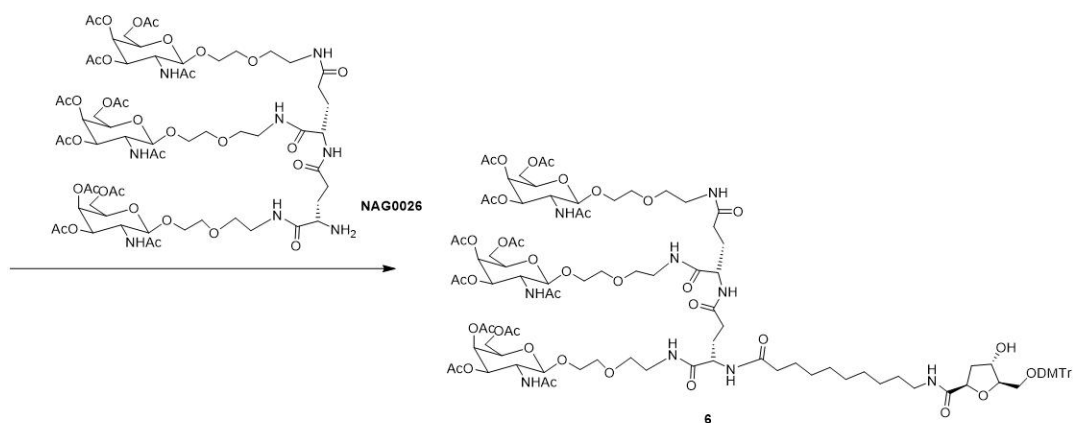
調製例3：化合物NAG0047の合成

40

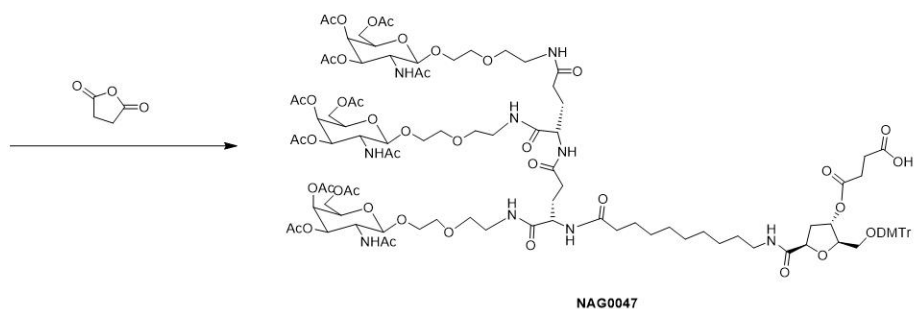
【化 2 2 1】



10



20



30

【0 3 2 7】

化合物 3

0℃及び窒素雰囲気下、化合物 2 (300mg、1.60mmol) の MeOH (10 mL) 溶液に SOCl_2 (0.581mL、8.009mmol) を 1 滴ずつ加えた。当該混合物を 60℃で 3 時間攪拌した。当該反応液を濃縮した後、化合物 3 (0.32g、1.510mmol、収率 95%) を得た。

^1H NMR: (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 3.75–3.59 (m, 3H), 2.93 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.33 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.64 (td, $J = 7.0, 14.4$ Hz, 4H), 1.48–1.27 (m, 10H)。

40

【0 3 2 8】

化合物 4

0℃及び窒素雰囲気下、化合物 1 (250mg、0.538mmol) の THF (25 mL) 溶液に DIEA (0.267mL、1.61mmol)、4 A モレキュラシーブス (500mg)、化合物 3 (271mg、1.08mmol)、DCC (333mg、1.61mmol) と HOBt (218mg、1.61mmol) をそれぞれ加えた。当該反応液を 50℃で 5 時間攪拌した。反応終了後に H_2O (50 mL) でクエンチし、且つ

50

EtOAc (100 mL × 3) で抽出し、合わせた有機相を飽和食塩水 (50 mL) で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させ、ろ過し、濃縮した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (0% ~ 80% の EtOAc / PE) により化合物 4 (420 mg、0.486 mmol、収率 90%) を得た。

LCMS: クロマトグラフィー条件 10 ~ 80 CD_7 min、保持時間 5.586 min、MS (ESI) m/z = 670.3 [M+Na]⁺。

¹H NMR: (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7.44 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.36-7.29 (m, 6H), 7.28-7.22 (m, 1H), 6.89 (d, J = 8.8 Hz, 4H), 4.53 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 4.35-4.27 (m, 1H), 4.02 (q, J = 4.0 Hz, 1H), 3.86-3.74 (m, 6H), 3.66 (s, 3H), 3.52-3.42 (m, 1H), 3.33-3.30 (m, 1H), 3.29-3.23 (m, 1H), 3.18 (td, J = 7.0, 13.5 Hz, 1H), 3.00 (td, J = 7.0, 13.5 Hz, 1H), 2.33-2.22 (m, 3H), 2.14 (ddd, J = 5.8, 7.8, 13.3 Hz, 1H), 1.92-1.82 (m, 2H), 1.73 (td, J = 3.6, 13.2 Hz, 2H), 1.66-1.53 (m, 3H), 1.43-1.26 (m, 7H)。

10

【0329】

化合物 5

20

20℃で、化合物 4 (420 mg、0.486 mmol) の THF (5 mL) と H₂O (2 mL) 溶液に LiOH (82 mg、1.95 mmol) を加えた。当該反応液を 20℃で 15 時間攪拌した。反応終了後に濃縮し、逆相カラムクロマトグラフィー (Boston C18 カラム、0% ~ 100% の MeCN / H₂O) により精製して、化合物 5 (236 mg、0.155 mmol、収率 32%、リチウム塩) を得た。

LCMS: クロマトグラフィー条件 0 ~ 60 CD_7 min、保持時間 3.950 min、MS (ESI) m/z = 656.4 [M+Na]⁺。

【0330】

化合物 6

30

化合物 NAG0026 (236 mg、0.155 mmol) を無水 THF (3 mL) に溶解、3 Å モレキュラシーブス (100 mg) を加え、更に化合物 5 (98 mg、0.155 mmol)、HOBt (25 mg、0.186 mmol)、DCC (41 mg、0.201 mmol) と DIEA (0.08 mL、0.464 mmol) を順に加えた。反応液を 40℃で 16 h 反応させた。LC-MS により反応が完了したことを示した後、水を加えてクエンチし、ろ過した。ろ液を濃縮した後、逆相カラムクロマトグラフィー (Boston C18 カラム、0% ~ 100% の MeCN / H₂O) により精製して、化合物 6 (160 mg、0.075 mmol、収率 48%) を得た。

【0331】

化合物 NAG0047

40

化合物 6 (160 mg、0.075 mmol) を無水ピリジン (3 mL) に溶解、3 Å モレキュラシーブス (100 mg)、DMAP (46 mg、0.374 mmol) とコハク酸無水物 (75 mg、0.747 mmol) を順に加えた。反応液を 50℃で 48 h 攪拌し、反応液をろ過し、濃縮し、逆相カラムクロマトグラフィー (Boston C18 カラム、0% ~ 100% の MeCN / H₂O) により精製して、NAG0047 (80 mg) を得た。

MS (ESI) m/z = 2239.1 [M-1]⁻、理論: 2240.0。

¹H NMR (400 MHz, Acetonitrile-d₃) δ 7.53-7.09 (m, 14H), 6.89 (dd, J = 7.2, 5.1 Hz, 8H), 5.31 (dt, J = 3.2, 1.5 Hz, 3H), 5.22-5.05 (m, 4H), 4.70-4.61 (m, 3H), 4.44 (d

50

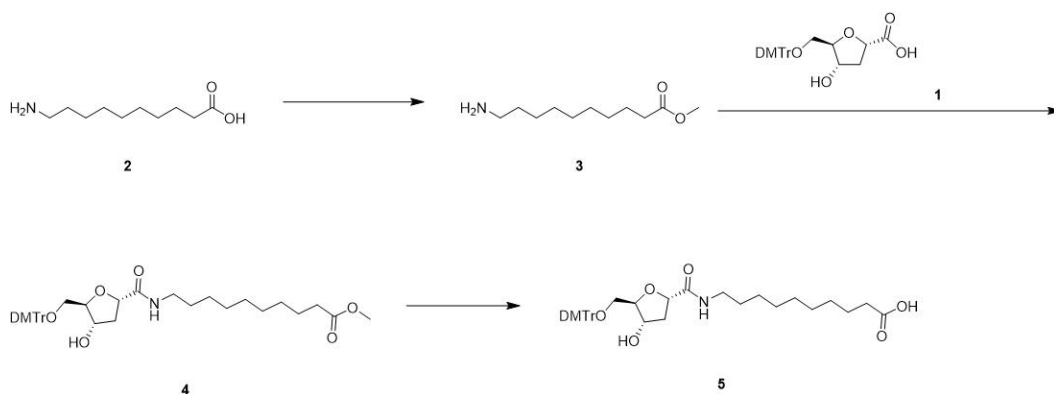
d, $J = 9.7, 6.7$ Hz, 1H), 4.29 (dq, $J = 14.6, 7.6$ Hz, 2H), 4.18–3.84 (m, 16H), 3.80 (s, 6H), 3.69 (dd, $J = 11.2, 4.3$ Hz, 3H), 3.64–3.03 (m, 24H), 2.57 (h, $J = 2.3$ Hz, 5H), 2.36–2.27 (m, 7H), 2.24–2.16 (m, 4H), 2.11 (s, 3H), 2.01–1.96 (m, 22H), 1.88 (q, $J = 2.9, 2.2$ Hz, 8H), 1.56 (s, 2H), 1.24 (d, $J = 17.7$ Hz, 13H)。

【0332】

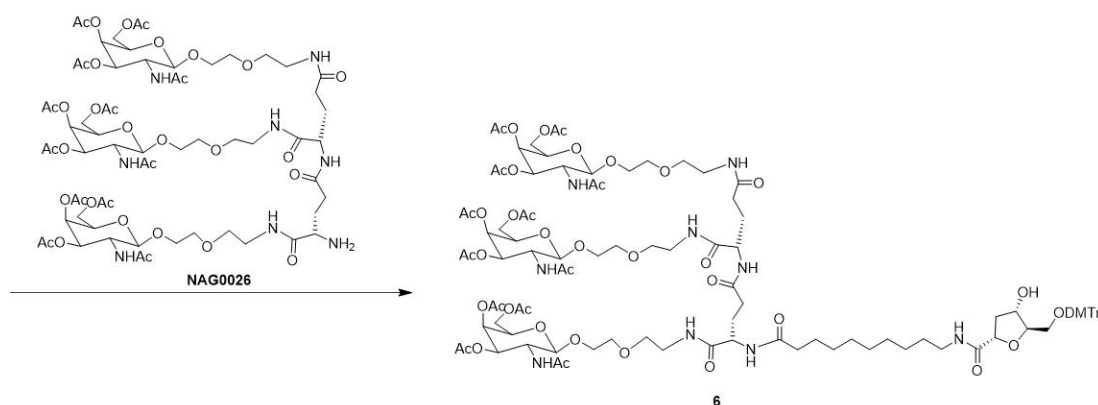
調製例4：化合物NAG0048の合成

10

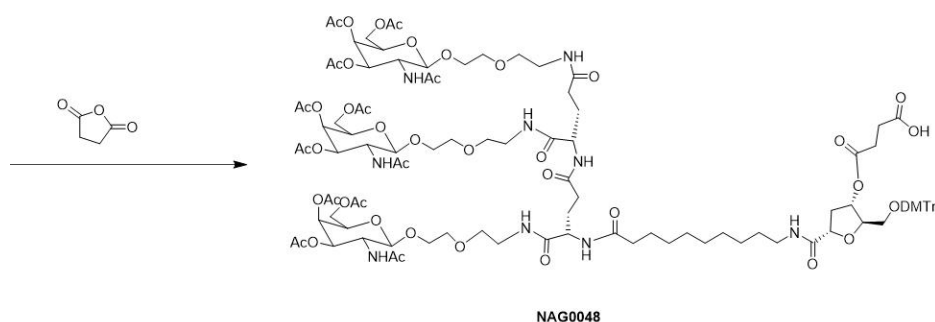
【化222】



20



30



40

【0333】

化合物3

0℃及び窒素雰囲気下、化合物2 (500mg、2.67mmol) のMeOH (10mL) 溶液にSOCl₂ (0.968mL、13.3mmol) を1滴ずつ加えた。当該混合物を60℃で12時間攪拌した。当該反応液を濃縮した後、化合物3 (550mg、2.46mmol、92%) を得た。

50

^1H NMR: (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 3.69–3.62 (m, 3H), 2.94 (s, 2H), 2.33 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.73–1.57 (m, 4H), 1.46–1.31 (m, 10H)。

【0334】

化合物 4

0℃及び窒素雰囲気下で、化合物 1 (250 mg、0.538 mmol) の THF (25 mL) 溶液に DIEA (0.267 mL、1.614 mmol)、4 Å モレキュラシーブ (500 mg)、化合物 3 (271 mg、1.08 mmol)、DCC (333 mg、1.61 mmol) と HOBt (218 mg、1.61 mmol) をそれぞれ加えた。当該反応液を 50℃で 5 時間攪拌した。反応終了後に H_2O (50 mL) でクエンチし、且つ EtOAc (100 mL × 3) で抽出し、合わせた有機相を飽和食塩水 (50 mL) で洗浄し、無水 Na_2SO_4 で乾燥させ、ろ過し、濃縮した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (0%~80%の EtOAc / PE) により精製して、化合物 4 (350 mg、0.486 mmol、収率 90%) を得た。

LCMS: クロマトグラフィー条件 10~80 CD_7 min、保持時間 5.670 min、MS (ESI) $m/z = 670.3$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。

^1H NMR: (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 7.45 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.36–7.27 (m, 6H), 7.25–7.19 (m, 1H), 6.90–6.85 (m, 4H), 4.50 (dd, $J = 4.6, 9.0$ Hz, 1H), 4.27 (td, $J = 3.0, 5.6$ Hz, 1H), 4.20–4.14 (m, 1H), 3.80 (s, 6H), 3.68–3.62 (m, 3H), 3.53–3.43 (m, 1H), 3.27–3.18 (m, 3H), 3.16–3.09 (m, 1H), 2.54 (ddd, $J = 5.8, 8.8, 13.2$ Hz, 1H), 2.31 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.08 (td, $J = 4.0, 13.2$ Hz, 1H), 1.91–1.82 (m, 2H), 1.73 (td, $J = 3.6, 13.2$ Hz, 2H), 1.67–1.50 (m, 5H), 1.39–1.32 (m, 2H), 1.27–1.12 (m, 3H)。

【0335】

化合物 5

20℃で、化合物 4 (350 mg、0.486 mmol) の THF (5 mL) と H_2O (2 mL) 溶液に LiOH (82 mg、1.95 mmol) を加えた。当該反応液を 20℃で 15 時間攪拌した。反応終了後に直ちに濃縮して、化合物 5 (300 mg、0.469 mmol、収率 96%) を得た。

LCMS: クロマトグラフィー条件 0~60 CD_7 min、保持時間 4.081 min、MS (ESI) $m/z = 656.4$ $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。

【0336】

化合物 6

化合物 NAG0026 (300 mg、0.197 mmol) を無水 THF (5 mL) に溶解、3 Å モレキュラシーブ (100 mg) を加え、更に化合物 5 (125 mg、0.197 mmol)、HOBt (32 mg、0.236 mmol)、DCC (53 mg、0.256 mmol) と DIEA (0.10 mL、0.590 mmol) を順に加えた。反応液を 40℃で 16 h 反応させた。LC-MS により反応が完了したことを示した後、水を加えてクエンチし、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮した後、逆相カラムクロマトグラフィー (Boston C18 カラム、0%~100%の MeCN / H_2O) により精製して、化合物 6 (260 mg、収率 62%) を得た。

【0337】

化合物 NAG0048

化合物 6 (260 mg、0.121 mmol) を無水ピリジン (4 mL) に溶解、3 Å

モレキュラシーブス (100 mg)、DMAP (30 mg、0.242 mmol) とコハク酸無水物 (73 mg、0.726 mmol) を順に加えた。反応液を 50℃ で 48 h 攪拌した。LC-MS により原料を約 70% 反応させたことを示し、反応液をろ過し、濃縮し、逆相カラムクロマトグラフィー (Boston C18 カラム、0% ~ 100% の MeCN / H₂O) により精製して、NAG0048 (170 mg、収率 62%) を得た。

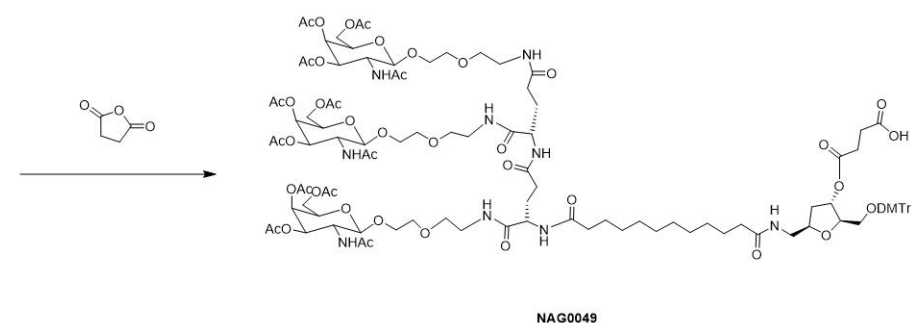
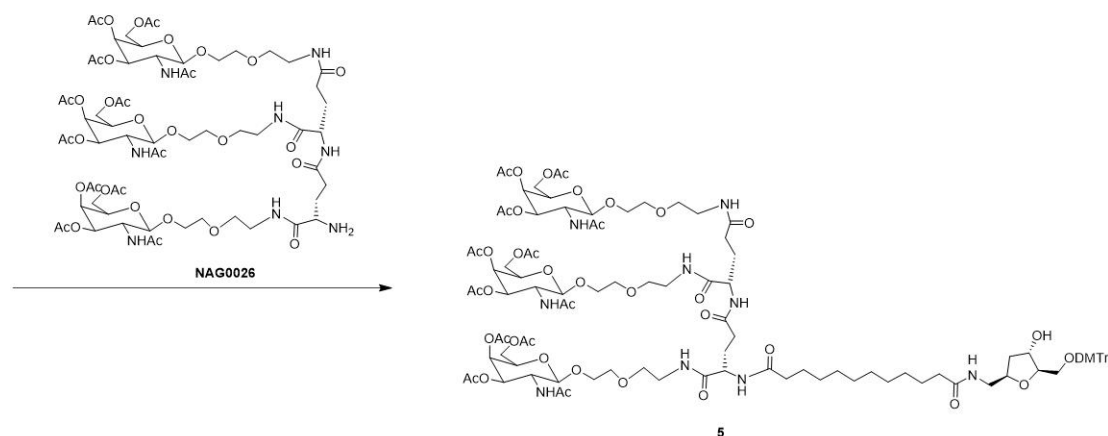
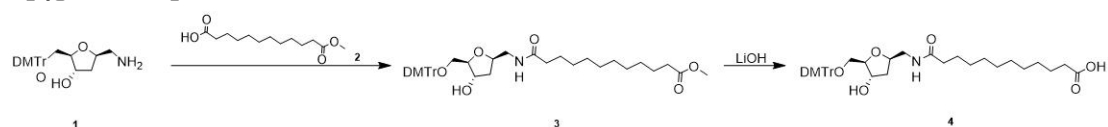
MS (ESI) $m/z = 2239.1$ [M-1]⁻、理論: 2240.0。

¹H NMR (400 MHz, Acetonitrile-*d*₃) δ 7.68 (s, 3H), 7.51-7.17 (m, 12H), 7.11-6.85 (m, 7H), 5.31 (dt, *J* = 2.5, 1.3 Hz, 3H), 5.18-5.04 (m, 4H), 4.74-4.53 (m, 4H), 4.30 (d, *J* = 4.9 Hz, 3H), 4.21-3.93 (m, 12H), 3.79 (s, 9H), 3.69 (dt, *J* = 10.4, 4.7 Hz, 3H), 3.62-3.14 (m, 22H), 3.09 (dd, *J* = 10.1, 4.4 Hz, 2H), 2.91 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 2.46 (s, 6H), 2.28 (ddt, *J* = 28.8, 20.0, 7.2 Hz, 8H), 2.11 (s, 3H), 2.01-1.96 (m, 18H), 1.90-1.87 (m, 8H), 1.54 (d, *J* = 25.2 Hz, 4H), 1.37-1.18 (m, 16H)。

【0338】

調製例 5：化合物 NAG0049 の合成

【化223】



【0339】

化合物 3

化合物 2 (293 mg、1.20 mmol) を DCM (3 mL) に溶解、DIEA (0.298 mL、1.80 mmol) と HATU (457 mg、1.20 mmol) を加え、更に化合物 1 (300 mg、0.601 mmol、調製例 7 より) を加え、20℃で 1 時間反応させた。反応液にジクロロメタン (60 mL) と水 (60 mL) を加えて抽出し、有機相を水 (60 mL×3) で 3 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製 (PE: EtOAc = 0:1) して、化合物 3 (300 mg、収率 90%) を得た。

LCMS: クロマトグラフィー条件 30~90 CD_3 min、保持時間 2.225 min、MS (ESI) m/z = 698.4 [M+Na]⁺。

【0340】

10

化合物 4

化合物 3 (300 mg、0.444 mmol) を THF (3 mL) と H₂O (1 mL) に溶解、LiOH・H₂O (75 mg、1.78 mmol) を加え、20℃で 12 時間反応させた。反応液を減圧下で濃縮し、水 (5 mL) とメタノール (5 mL) により溶解、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製 (Boston C18 カラム、0%~100% の MeCN/H₂O) して、化合物 4 (212 mg、収率 100%) を得た。

LCMS: クロマトグラフィー条件 10~80 CD_3 min、保持時間 1.333 min、MS (ESI) m/z = 684.3 [M+Na]⁺。

HPLC: クロマトグラフィー条件 10~80 CD_6 min、保持時間 1.853 min。

20

¹H NMR: (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 7.47-7.38 (m, 2H), 7.35-7.25 (m, 6H), 7.24-7.17 (m, 1H), 6.86 (d, J = 8.8 Hz, 4H), 4.30-4.17 (m, 2H), 3.99-3.88 (m, 1H), 3.78 (s, 6H), 3.42-3.33 (m, 2H), 3.16-3.04 (m, 2H), 2.18-2.05 (m, 4H), 1.92-1.70 (m, 2H), 1.65-1.46 (m, 4H), 1.36-1.17 (m, 12H)。

【0341】

化合物 5

化合物 NAG0026 (300 mg、0.197 mmol) を無水 DMF (3 mL) に溶解、3A モレキュラシーブス (100 mg) を加え、更に化合物 4 (143 mg、0.216 mmol)、HOBt (32 mg、0.236 mmol)、DCC (53 mg、0.256 mmol) と DIEA (0.1 mL、0.590 mmol) を順に加えた。反応液を 40℃で 16 h 反応させた。LC-MS により反応が完了したことを示した後、水を加えてクエンチし、ろ過した。ろ液を濃縮した後、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製 (Boston C18 カラム、H₂O/MeCN、5%~80% 溶離) して、化合物 5 (110 mg、収率 28%) を得た。

30

【0342】

化合物 NAG0049

化合物 5 (110 mg、0.051 mmol) を無水ピリジン (3 mL) に溶解、3A モレキュラシーブス (100 mg)、DMAP (31 mg、0.255 mmol) とコハク酸無水物 (51 mg、0.510 mmol) を順に加えた。反応液を 50℃で 48 h 撹拌した。LC-MS により原料を約 50% 反応させたことを示し、反応液をろ過し、濃縮し、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製 (Boston C18 カラム、H₂O/MeCN、5%~70% 溶離) して、NAG0049 (45 mg、収率 39%) を得た。

40

MS (ESI) m/z = 2267.0 [M-1]⁻、理論: 2268.0。

¹H NMR (400 MHz, CH₃CN-d₃) δ 7.62-6.40 (m, 22H), 5.31 (s, 3H), 5.21-5.02 (m, 4H), 4.64 (dd, J = 8.7, 6.2 Hz, 3H), 4.16 (s, 2H), 4.13-3.94 (m, 14H), 3.79 (s, 10H), 3

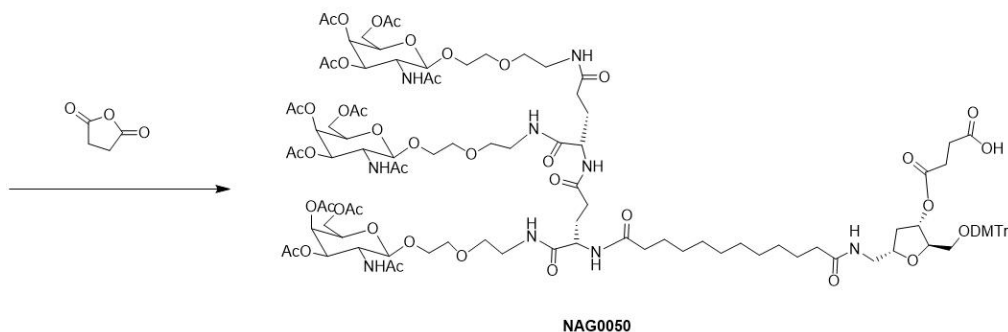
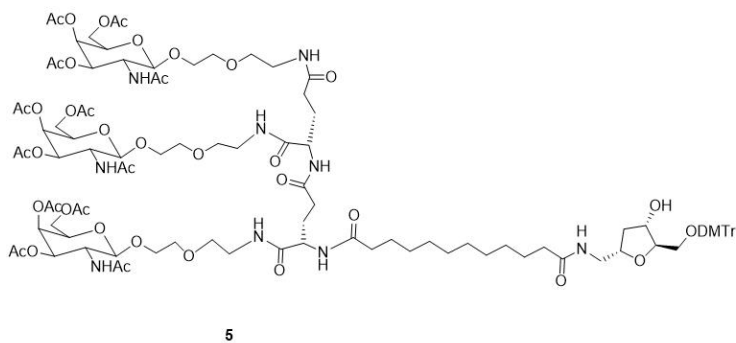
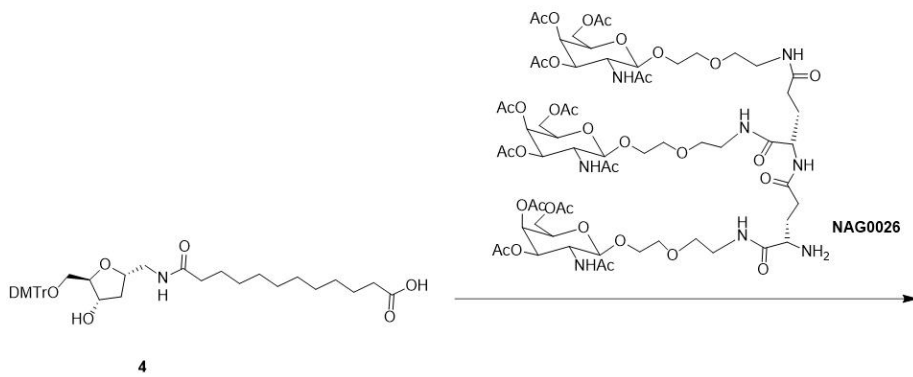
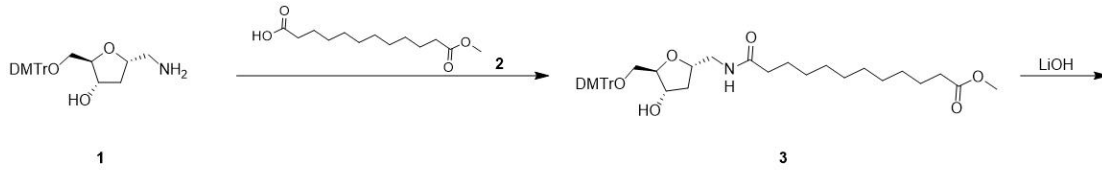
50

. 72-3.38 (m, 24H), 3.32-3.11 (m, 5H), 2.56 (t, $J = 3.4$ Hz, 4H), 2.34-2.20 (m, 16H), 1.99 (d, $J = 11.3$ Hz, 24H), 1.41 (d, $J = 127.6$ Hz, 21H)。

【0343】

調製例6：化合物NAG0050の合成

【化224】



【0344】

化合物3

化合物2 (435mg、1.780mmol) をDCM (10mL) に溶解、DIEA (0.441mL、2.67mmol) とHATU (677mg、1.78mmol) を加えた後、化合物1 (400mg、0.890mmol、調製例8より) を加え、20℃で1時間反応させた。反応液にジクロロメタン (60mL) と水 (60mL) を加えて抽出し、有機相を水 (60mL×3) で3回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過

10

20

30

40

50

し、濃縮し、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製（PE：EtOAc＝0：1）して、化合物3（600mg、収率90％）を得た。

LCMS：クロマトグラフィー条件30～90CD__3min、保持時間2.745min、MS（ESI） $m/z = 698.4 [M+Na]^+$ 。

^1H NMR：（400 MHz，CD₃OD） δ ppm 7.46－7.38（m，2H），7.35－7.24（m，6H），7.22－7.16（m，1H），6.90－6.78（m，4H），4.29－4.21（m，2H），4.02－3.95（m，1H），3.77（s，6H），3.66－3.62（m，3H），3.41（s，1H），3.18－3.04（m，2H），2.36－2.17（m，5H），1.71－1.50（m，5H），1.39－1.25（m，14H）。

10

【0345】

化合物4

化合物3（600mg、0.799mmol）をTHF（3mL）とH₂O（1mL）に溶解、LiOH・H₂O（134mg、3.20mmol）を加え、20℃で12時間反応させた。反応液を減圧下で濃縮し、水（5mL）とメタノール（5mL）で溶解、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製（Boston C18カラム、0％～100％のMeCN／H₂O）して、化合物4（460mg、収率100％、リチウム塩）を得た。

LCMS：クロマトグラフィー条件10～80CD__3min、保持時間1.346min、MS（ESI） $m/z = 684.3 [M+Na]^+$ 。

20

HPLC：クロマトグラフィー条件10～80CD__6min、保持時間1.879min。

^1H NMR：（400 MHz，CD₃OD） δ ppm 7.47－7.39（m，2H），7.35－7.24（m，6H），7.22－7.15（m，1H），6.91－6.79（m，4H），4.31－4.18（m，2H），4.02－3.95（m，1H），3.78（s，6H），3.44－3.33（m，2H），3.18－3.04（m，2H），2.35－2.27（m，1H），2.24－2.10（m，4H），1.70－1.51（m，5H），1.31－1.23（m，12H）。

30

【0346】

化合物5

化合物NAG0026（300mg、0.197mmol）を無水DMF（3mL）に溶解、3Aモレキュラシーブス（100mg）を加え、更に化合物4（143mg、0.216mmol）、HOBt（32mg、0.236mmol）、DCC（53mg、0.256mmol）とDIEA（0.1mL、0.590mmol）を順に加えた。反応液を40℃で16h反応させた。LC-MSにより反応が完了したことを示した後、水を加えてクエンチし、ろ過した。ろ液を濃縮した後、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製（Boston C18カラム、H₂O／MeCN、5％～80％溶離）して、化合物5（300mg、収率73％）を得た。

40

【0347】

化合物NAG0050

化合物5（310mg、0.143mmol）を無水ピリジン（5mL）に溶解、3Aモレキュラシーブス（100mg）、DMAP（87mg、0.714mmol）とコハク酸無水物（143mg、1.429mmol）を順に加えた。反応液を50℃で48h撹拌した。LC-MSにより原料を約50％反応させたことを示し、反応液をろ過し、濃縮し、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製（Boston C18カラム、H₂O／MeCN、5％～70％溶離）して、NAG0050（140mg、収率43％）を得た。

MS（ESI） $m/z = 2267.1 [M-1]^-$ 、理論：2268.0。

50

^1H NMR (400 MHz, $\text{CH}_3\text{CN}-d_3$) δ 7.54–7.14 (m, 14H), 6.97–6.64 (m, 8H), 5.32 (d, $J = 3.4$ Hz, 3H), 5.21–5.04 (m, 4H), 4.71–4.60 (m, 3H), 4.30 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 4.17–3.95 (m, 14H), 3.93–3.84 (m, 3H), 3.79 (s, 7H), 3.74–3.65 (m, 3H), 3.63–3.08 (m, 26H), 2.57 (d, $J = 2.0$ Hz, 6H), 2.46–2.28 (m, 8H), 2.20 (dt, $J = 15.1, 7.4$ Hz, 5H), 2.11 (s, 2H), 2.01–1.97 (m, 16H), 1.90–1.88 (m, 9H), 1.65–1.55 (m, 4H), 1.39–1.20 (m, 14H)。

10

【0348】

調製例7：化合物NAG0051

20

30

40

50

【化 2 2 5】



【0 3 4 9】

化合物 2

溶媒であるジクロロメタン（100 mL）に化合物 1（5.00 g、21.4 mmol）と TEA（8.04 mL、57.9 mmol）を加えた。0℃で攪拌し、DMTrCl（9.08 g、26.8 mmol）を上記系に徐々に加えた。加入完了後、25℃に昇温して 12 h 反応させた。飽和炭酸水素ナトリウム溶液（100 mL）を反応液に加え、DCM（100×3）で抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、濃縮し、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製（PE：EtOAc 100：0～70：30）して、化合物 2（12 g、収率 94%）を得た。

LCMS：クロマトグラフィー条件5～95AB__1.5min、保持時間1.166min、MS(ESI)m/z=558.1[M+Na]⁺。

¹H NMR：(400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.52–7.47 (m, 2H), 7.42–7.35 (m, 8H), 7.34–7.27 (m, 3H), 7.26–7.19 (m, 1H), 6.89–6.81 (m, 4H), 5.68 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.18–5.08 (m, 3H), 4.83 (br d, J = 9.2 Hz, 1H), 4.55–4.42 (m, 2H), 3.82 (s, 6H), 2.43–2.29 (m, 1H), 1.39–1.32 (m, 2H)。

【0350】

化合物3

溶媒であるTHF(100mL)に化合物2(6.00g、10.1mmol)を加え、0℃でBH₃THF(1M、20.2mL、20.2mmol)を上記系に加えた。加入完了後、20℃で12h反応させた。そして0℃に降温し、順に0℃でEtOH(6mL)、NaOH(20mL、60.0mmol)を徐々に加え、最後に0℃でH₂O₂(20mL、33.4mmol)を当該反応液に徐々に滴下した後、20℃にゆっくり昇温して12h反応させた。反応液をろ過し、H₂O(200mL)とEtOAc(200mL)を加え、EtOAc(3×200mL)で抽出し、飽和Na₂SO₃(100mL)溶液で洗浄し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、ろ過し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製(DCM/MeOH)して、粗生成物3.5gを得て、生成物を塩基性分取により分離(カラム：Xbridge 150×50mm、5μm、移動相：A：0.1%のNH₃H₂+0.005%のFA水溶液 B：MeCN、勾配：20%B～95%B in 9min)して化合物3(850mg、収率15%)と化合物4(800mg、収率14%)を得た。

【0351】

化合物3

LCMS：クロマトグラフィー条件10～80AB__7min、保持時間4.214min、MS(ESI)m/z=576.3[M+Na]⁺。

¹H NMR：(400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.31–7.23 (m, 6H), 7.23–7.19 (m, 5H), 7.12–7.08 (m, 3H), 6.79–6.73 (m, 4H), 5.12 (s, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.13 (s, 2H), 4.01–3.95 (m, 1H), 3.75–3.71 (m, 6H), 2.48–2.27 (m, 1H), 2.12–1.84 (m, 2H), 1.57 (br d, J = 14.6 Hz, 1H)。

【0352】

化合物4

LCMS：クロマトグラフィー条件10～80AB__7min、保持時間4.305min、MS(ESI)m/z=576.3[M+Na]⁺。

¹H NMR：(400 MHz, CDCl₃) δ ppm 7.37–7.33 (m, 1H), 7.31–7.19 (m, 11H), 7.15–7.08 (m, 2H), 6.78–6.69 (m, 4H), 5.08–4.98 (m, 3H), 4.39–4.05 (m, 2H), 3.71 (m, 6H), 3.54–3.36 (m, 1H), 2.37–1.97 (m, 1H), 1.87–1.65 (m, 2H), 1.14–0.99 (m, 1H)。

【0353】

化合物5

Pd/C 5%(300mg、0.141mmol)を化合物3(600mg、1.030mmol)のEtOAc(10mL)溶液に加えた。当該反応液を水素雰囲気(15psi)、20℃で2h反応させた。ろ過し、濃縮して粗生成物を得て、粗生成物を塩

10

20

30

40

50

基性分取により分離（カラム：X b r i d g e 150×50mm、5μm、移動相：A：0.1%のNH₃H₂O+0.005%のFA水溶液 B：MeCN、勾配：20%B～95% B i n 9min）して化合物5（301mg、収率70%）を得た。

LCMS：クロマトグラフィー条件10～80CD_3min、保持時間2.444min、MS（ESI）m/z=839.5 [2M+H]⁺。

HPLC：クロマトグラフィー条件10～80CD_7min、保持時間4.100min。

¹H NMR：（400 MHz, CD₃OD） δ ppm 7.49–7.44（m, 2H）, 7.34（d, J = 8.8 Hz, 4H）, 7.32–7.26（m, 2H）, 7.24–7.18（m, 1H）, 6.91–6.82（m, 4H）, 4.22–4.11（m, 1H）, 3.85–3.81（m, 1H）, 3.79（s, 6H）, 2.78–2.68（m, 1H）, 1.90–1.83（m, 1H）, 1.73–1.65（m, 1H）, 1.41–1.33（m, 1H）, 1.29–1.25（m, 1H）。 10

【0354】

化合物7

化合物6（233mg、0.953mmol）、HATU（272mg、0.715mmol）、DIEA（0.236mL、1.430mmol）をDCM（10mL）に溶解、化合物5（200mg、0.477mmol）を加え、25℃で1時間反応させた。H₂O（20mL）を加え、DCM（20mL×3）で抽出し、有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、ろ液を減圧下で濃縮し、残留物をカラムクロマトグラフィーにより分離（PE/EtOAc=1/1～1/2）して、化合物7（290mg）を得た。 20

LCMS：クロマトグラフィー条件10～80CD_3min、保持時間2.834min、MS（ESI）m/z=668.4 [M+Na]⁺。

¹H NMR：（400 MHz, CDCl₃） δ ppm 7.49–7.44（m, 2H）, 7.41–7.30（m, 6H）, 7.25–7.18（m, 1H）, 6.89–6.79（m, 4H）, 4.30–4.07（m, 2H）, 3.87–3.79（m, 7H）, 3.73–3.64（m, 4H）, 2.8–2.80（m, 7H）, 2.32（t, J = 7.6 Hz, 2H）, 2.24–2.13（m, 2H）, 2.01–1.89（m, 1H）, 1.80–1.75（m, 1H）, 1.65–1.60（m, 5H）, 1.58（s, 4H）, 1.20–1.10（m, 1H）。 30

【0355】

化合物8

化合物7（290mg、0.404mmol）をTHF（10mL）とH₂O（5mL）に溶解、LiOH（51mg、1.212mmol）を加え、25℃で3時間反応させた。TLC（DCM/MeOH=10/1）により約20%の原料を反応させなかったことを示し、LiOH（50mg）を補充し、25℃で12時間反応させ、TLC（DCM/MeOH=10/1）により原料の反応が完了したことを示した。反応液を濃縮し、残留物を逆相クロマトグラフィーにより分離（H₂O/CH₃CN=5/1～3/1）して、化合物8（217mg）を得た。 40

LCMS：クロマトグラフィー条件5～95CDN_1.5min、保持時間0.879min、MS（ESI）m/z=630.3 [M-H]⁺。

HPLC：クロマトグラフィー条件10～80CD_7min、保持時間2.677min。

¹H NMR：（400 MHz, CD₃OD） δ ppm 7.50–7.44（m, 2H）, 7.38–7.32（m, 4H）, 7.32–7.27（m, 2H）, 7.24–7.19（m, 1H）, 6.91–6.85（m, 4H）, 4.25–4.14（m, 1H）, 4.02–3.96（m, 1H）, 50

3.80 (s, 6H), 3.73–3.65 (m, 1H), 2.20–2.10 (m, 4H), 1.97–1.86 (m, 1H), 1.75–1.70 (m, 1H), 1.66–1.53 (m, 4H), 1.51–1.41 (m, 1H), 1.37–1.26 (m, 13H)。

【0356】

化合物 9

化合物 NAG0026 (300mg、0.197mmol) を無水 DMF (4mL) に溶解、3 Å モレキュラシーブス (100mg) を加え、更に化合物 8 (137mg、0.217mmol)、HOBt (32mg、0.236mmol)、DCC (53mg、0.256mmol) と DIEA (0.10mL、0.591mmol) を順に加えた。反応液を 40℃ で 16 h 反応させた。水を加えてクエンチし、ろ過した。ろ液を濃縮した後、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製 (Boston C18 カラム、H₂O / MeCN、5%～80% 溶離) して、化合物 9 (330mg) を得た。

10

【0357】

化合物 NAG0051

化合物 9 (330mg、0.154mmol) を無水ピリジン (5mL) に溶解、3 Å モレキュラシーブス (100mg)、DMAP (94mg、0.771mmol) とコハク酸無水物 (154mg、1.543mmol) を順に加えた。反応液を 50℃ で 48 h 撹拌した。LC-MS により原料を約 60% 反応させたことを示し、反応液をろ過し、濃縮し、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製 (Boston C18 カラム、H₂O / MeCN、5%～70% 溶離) して、NAG0051 (190mg) を得た。

20

MS (ESI) m/z = 2237.3 [M-1]⁻、理論：2238.0。

¹H NMR (400 MHz, Acetonitrile-d₃) δ 7.54–7.16 (m, 14H), 7.01–6.53 (m, 8H), 5.32 (d, J = 5.1 Hz, 3H), 5.20–4.89 (m, 4H), 4.65 (q, J = 7.2 Hz, 3H), 4.38–3.20 (m, 52H), 2.51–2.44 (m, 4H), 2.36–2.20 (m, 20H), 2.02–1.97 (m, 20H), 1.64–1.20 (m, 22H)。

【0358】

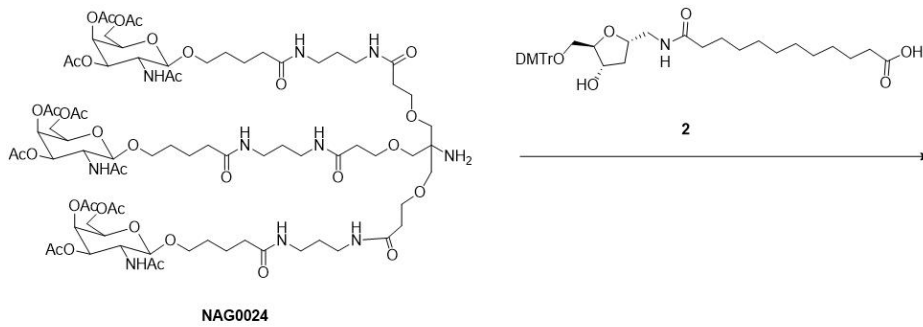
調製例 8：NAG0052 の合成

30

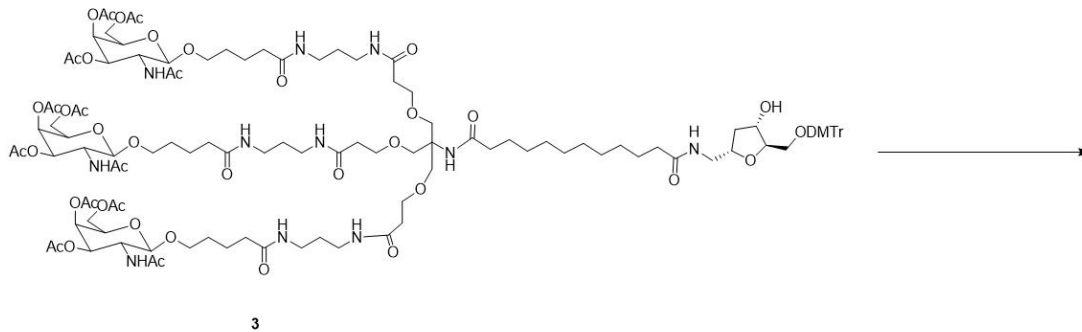
40

50

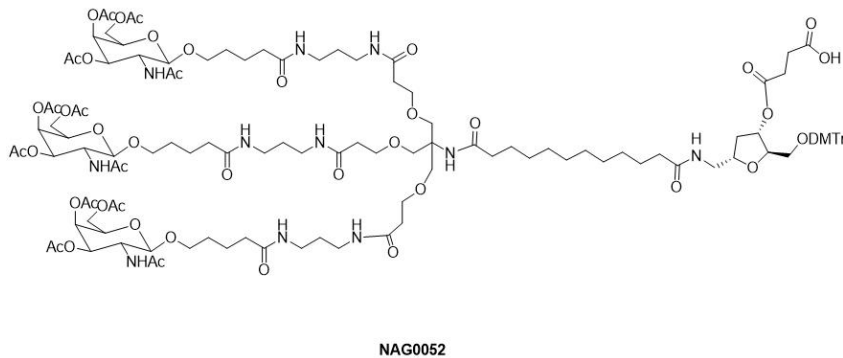
【化 2 2 6】



10



20



【0 3 5 9】

30

化合物 3

室温、窒素雰囲気下、化合物 NAG0024 (271mg、0.151mmol) を無水 THF (2mL) と無水 DMF (4mL) に溶解、3 Å モレキュラーシーブスを加え、更に化合物 2 (100mg、0.151mmol)、HOBt (25mg、0.181mmol)、DCC (38mg、0.181mmol) と DIEA (39mg、0.302mmol) を順に加えた。反応液を 45℃ で 16 h 反応させた。LC-MS により反応が完了したことを示した後、水を加えてクエンチし、ろ過した。ろ液を濃縮した後、逆相カラムクロマトグラフィーにより精製 (Boston C18 カラム、0%~100% の MeCN/H₂O) して、化合物 3 (210mg、収率 57%) を得た。

【0 3 6 0】

40

化合物 NAG0052

室温で、化合物 3 (230mg、0.094mmol) をピリジン (5mL) に溶解、モレキュラーシーブスを加え、DMAP (12mg、0.283mmol)、コハク酸無水物 (28mg、0.283mmol) を加えた。窒素雰囲気下、50℃ で 16 時間撹拌した。LCMS により完全に反応したことを検出し、ろ過し、減圧下で濃縮した。残留物を逆相カラムクロマトグラフィーにより精製 (Boston C18 カラム、0%~100% の MeCN/H₂O) した後、分取 HPLC クロマトグラフィー (カラム: Xbridge 150×50mm、5μm、移動相: A: 0.1% の NH₃H₂O + 0.005% の FA 水溶液 B: MeCN、勾配: 20% B~95% B in 9min) により二次精製し、化合物 NAG0052 (123mg、0.048mmol、収率 51%) を得た。

50

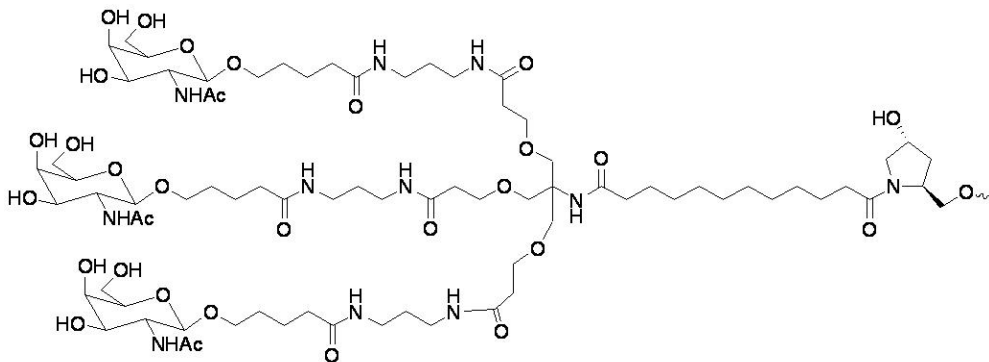
MS (ESI) $m/z = 2535.3$ $[M-1]^-$ 、理論：2536.2。

^1H NMR (400 MHz, $\text{CH}_3\text{CN}-d_3$) δ 7.48–7.43 (m, 2H), 7.37–7.12 (m, 11H), 7.00–6.85 (m, 10H), 6.66 (s, 1H), 5.31 (dd, $J = 3.4, 1.1$ Hz, 3H), 5.20–5.13 (m, 1H), 5.05 (dd, $J = 11.3, 3.4$ Hz, 3H), 4.56 (d, $J = 8.5$ Hz, 3H), 4.30 (dd, $J = 7.7, 5.3$ Hz, 1H), 4.18–3.93 (m, 14H), 3.79 (s, 10H), 3.65 (q, $J = 4.7, 3.6$ Hz, 13H), 3.56–3.07 (m, 24H), 2.56 (s, 6H), 2.37 (t, $J = 5.8$ Hz, 10H), 2.17 (t, $J = 7.5$ Hz, 9H), 2.02–1.96 (m, 20H), 1.88 (s, 8H), 1.82–1.73 (m, 2H), 1.60 (dt, $J = 15.0, 7.3$ Hz, 16H), 1.27 (s, 13H)。

【0361】

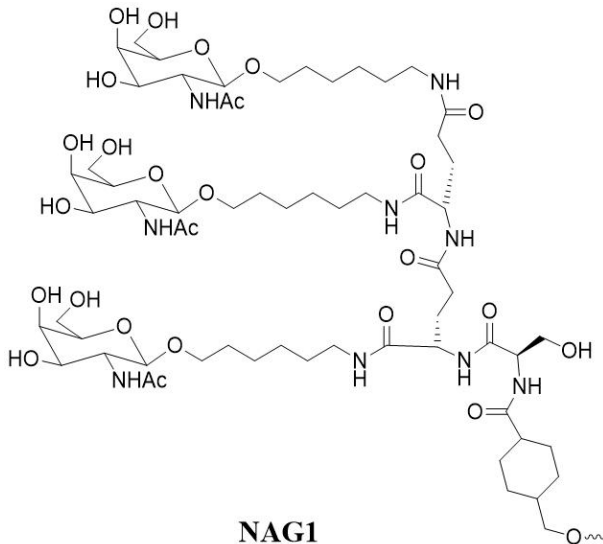
調製例9：L96及びNAG1の合成

【化227】



L96

【化228】



NAG1

L96は特許出願WO2014025805A1に記載された方法により調製して得られ、NAG1は特許出願WO2021254360A1に記載された方法により調製して得られ、上記特許出願（全文）は援用により本願に組み込まれている。

【0362】

調製例10：核酸リガンド複合体の合成

1、ベクター付き樹脂の調製

カルボン酸基を含む化合物NAG0050（140mg、0.062mmol）を無水

10

20

30

40

50

DMF (3 mL) に溶解、基質が完全に溶解された後、無水アセトニトリル (4 mL)、DIEA (0.03 mL、0.154 mmol、2.5 eq) と HBTU (35 mg、0.093 mmol、1.5 eq) を順に加えた。反応液を均一に混合した後、マクロ孔質アミノメチル樹脂 (476 mg、ブランク担持量 0.41 mmol/g、目標担持量 0.1 mmol/g) を加えた。反応液をシェーカー (温度: 25 °C、回転速度: 200 rpm) に置いて一晩振とうした。反応液をろ過し、ろ過ケーキを順にそれぞれ DCM、無水アセトニトリルで洗浄し、固体を収集し、真空下で一晩乾燥させた。

【0363】

前ステップの固体を無水アセトニトリル (5 mL) に分散させ、ピリジン (0.18 mL)、DMAP (3 mg)、NMI (0.12 mL) と Cap B1 (2.68 mL) を順に加えた。反応液をシェーカー (温度: 25 °C、回転速度: 200 rpm) に置いて 2 h 振とうした。反応液をろ過し、ろ過ケーキを無水アセトニトリルで洗浄し、固体を収集し、真空下で一晩乾燥させ、ベクター付き樹脂を得た。担持量は 0.1 mmol/g と測定された。

化合物 NAG0051 と NAG0052 は、同じ反応条件でベクター付き樹脂が得られた。

【0364】

2、既に樹脂に連結された NAG0050 - NAG0052 に対しては、当該樹脂をはじめとして、ヌクレオチドの配列順に 3' - 5' の方向で 1 つずつヌクレオシド単量体に連結する。1 つの単量体との連結毎に脱保護、カップリング、キャッピング、酸化又は硫化という 4 段階反応が含まれた。

【0365】

機器装置型番: Biolytic Dr. Oligo 48 固相合成装置、逗点生物製の EmbedTM CPG Frits 汎用合成カラム DS0200、逗点生物製の 96 ウェルプレート脱塩カラム DC189650 (80 mg)。

【0366】

【表 1】

表 1. siRNA 複合体の合成用の試薬

試薬名	試薬の組成	仕様	用途	メーカー
ACT	ACN に 0.6 M の ETT	4 L	触媒	柯楽瑪
Cap A	N-メチルイミダゾール: アセトニトリル 2:8	4 L	キャッピング試薬	柯楽瑪
Cap B1	酢酸無水物: アセトニトリル 40:60	4 L		柯楽瑪
Cap B2	ピリジン: アセトニトリル 60:40	4 L		柯楽瑪
OXD	ヨウ素 50 nM のピリジン溶液: 水 90:10	4 L	酸化剤	柯楽瑪
DCA	ジクロロ酢酸のジクロロメタン溶液 (3% v/v)	1 kg	脱 DMT 保護試薬	柯楽瑪
アセトニトリル	含水量が 20 ppm 未満 (実際は 10 ppm 程度)	4 L	溶媒	柯楽瑪
PADS (ジフェニルアセト二硫化物)	トリメチルピリジンとアセトニトリルを等体積で混合した後、0.05 M の PADS 溶液を調製した		加硫試薬	柯楽瑪
トリメチルピリジン				柯楽瑪

【0367】

合成条件は以下の通りである：

ヌクレオシド単量体は濃度が 0.05 M のアセトニトリル溶液により提供され、各ステップの脱保護反応の条件は同じであり、即ち、温度が 25℃、反応時間が 3 分間、脱保護試薬が DCA、注入体積が 180 μL であった。

【0368】

各ステップのカップリング反応条件はいずれも同じであり、温度が 25℃、反応時間が 3 分間であることを含む。ヌクレオシド単量体の注入体積は 90 μL、触媒 ACT の注入体積は 110 μL であった。

【0369】

各ステップのキャッピング条件はいずれも同じであり、温度が 25℃、反応時間が 2 分間であることを含む。キャッピング試薬溶液は、モル比が 1:1 の Cap A と Cap B (Cap B 1:Cap B 2 = 1:1) の混合溶液であった。キャッピング試薬の注入体積は 180 μL であった。

【0370】

各ステップの酸化反応条件はいずれも同じであり、温度が 25℃、反応時間が 3 分間、酸化試薬 OXD の注入体積が 180 μL であることを含む。

【0371】

各ステップの硫化反応条件はいずれも同じであり、温度が 25℃、反応時間が 4 分間、加硫試薬が 0.05 M の PADS のピリジンアセトニトリル溶液であることを含む。加硫試薬の注入体積は 180 μL であった。

【0372】

3、最後のヌクレオシド単量体との連結が完了すると、固相ベクターに連結された核酸配列を順に切断・脱保護・精製・脱塩し、その後凍結乾燥してセンス鎖及びアンチセンス鎖を得て、そのうち、

3-1 切断・脱保護条件としては、体積が 0.8 mL になるように、合成されたベクター連結ヌクレオチド配列をアンモニア水:エタノール=3:1 の混合溶液に加えた。50℃で 15 h 反応させ、残りのベクターをろ過して除去し、上清液を乾燥になるまで真空下で濃縮した。

【0373】

3-2 精製・脱塩条件としては、逗点生物製の 96 ウェルプレート脱塩カラム DC189650 (80 mg) により脱塩した。具体的な条件は、以下を含む：

3-2-1 試料の準備

体積が 0.8 mL になるように、オリゴヌクレオチド試料に 0.1 M の TEAA (トリエチルアミン酢酸塩) を加えた。

【0374】

3-2-2 96 ウェルプレートの活性化

活性化：0.8 mL のアセトニトリルを 96 ウェルプレートの各ウェルに通して活性化した。

【0375】

平衡：0.8 mL の TEAA (pH 7.0) 溶液で 96 ウェルプレートの平衡を行った。

【0376】

3-2-3 精製工程は、順に次のように操作した：

オリゴヌクレオチドを含む溶液 0.8 mL を脱塩カラムに通し、6.5% アンモニア水 0.8 mL で 96 ウェルプレートを 2 回洗浄して、失敗した配列を除去し、0.8 mL の脱イオン水で 96 ウェルプレートを 2 回濯いで塩分を除去し、3% トリフルオロ酢酸 0.8 mL で 96 ウェルプレートを 3 回濯いで DMT を除去し、吸着層が橙赤色になったことを観察し、0.1 M の TEAA 0.8 mL で 96 ウェルプレートを濯ぎ、0.8 mL の脱イオン水で 96 ウェルプレートを 2 回濯いで、トリフルオロ酢酸と残りの塩分を除去し、20% アセトニトリル 0.6 mL で溶離し、収集して凍結乾燥した。

【0377】

10

20

30

40

50

検出方法としては、Waters Acquity UPLC-SQD2 LCMS（カラム：ACQUITY UPLC BEH C18）により上記センス鎖とアンチセンス鎖の純度を検出して分子量を分析した。実測値が理論値に合致すると、合成されたものは3'末端に複合分子が複合されたセンス鎖及びアンチセンス鎖であることを示している。
【0378】

4、アニール操作は以下の通りである：

ステップ3で合成したセンス鎖及びアンチセンス鎖をそれぞれ注射用水に溶け、1000 ng/μLの溶液を得て、QPCR装置（Applied Biosystems QuantStudio 6&7 Pro）にて等モル比で混合し、90℃で10分間加熱し、5℃下がるごとに3分間保持し、最後に25℃で10分間保持することで、それらが水素結合で二本鎖構造を形成するようになった。実測値が理論値に合致すると、合成されたsiRNA複合体は、標的として設計された複合分子付きの二本鎖核酸配列であることを示している。上記siRNAは、表2及び表3に示されるセンス鎖及びアンチセンス鎖を有する。

10

【0379】

【表2】

表2

核酸リガンド複合体の番号	siRNA複合体のセンス鎖の番号	siRNA複合体のアンチセンス鎖の番号
TRD002218	TJR4373-SS	TJR0414-AS
TRD007203	TJR013483S	TJR0414-AS
TRD007204	TJR013484S	TJR0414-AS
TRD007205	TJR013485S	TJR0414-AS

20

【0380】

【表3】

表3 センス鎖及びアンチセンス鎖の核酸配列

		配列方向5' - 3'
センス鎖	TJR4373-SS	CmsAmsGm UmGfUm UfCfUf UmGmCm UmCmUm AmUmAm Am-L96
	TJR013483S	CmsAmsGm UmGfUm UfCfUf UmGmCm UmCmUm AmUmAms Ams-NAG0050'
	TJR013484S	CmsAmsGm UmGfUm UfCfUf UmGmCm UmCmUm AmUmAms Ams-NAG0051'
	TJR013485S	CmsAmsGm UmGfUm UfCfUf UmGmCm UmCmUm AmUmAms Ams-NAG0052'
アンチセンス鎖	TJR0414-AS	UmsUfsAm UmAmGf AmGmCm AmAmGm AmAfCm AfCmUm GmsUmsUm

30

40

【0381】

上記複合体の構造は、以下の通りである：

50

た。投与の7、28日後に、マウスを殺し、肝臓を収集し、RNA later (Sigma Aldrich社) で保存し、その後、組織ホモジナイザーにより肝組織をホモジネートし、更に組織RNA抽出試薬キット (凡知医療科技、FG0412) により取扱説明書に記載された操作ステップに従って肝組織全RNAを抽出して得た。全RNAをcDNAに逆転写してリアルタイム蛍光定量PCR方法により肝組織中のTTR mRNAの発現量を検出した。当該蛍光定量PCR法において、グリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH) 遺伝子を内部基準遺伝子として、TTRとGAPDHに対するTaqmanプローブプライマーによりTTRとGAPDHのmRNA発現量をそれぞれ検出した。

【0386】

【表5】

表4 マウスインビボ試験化合物の群分け情報

化合物の番号	用量	mRNA定量	動物数	備考
PBS	—	D7, 28	6	各時点で3匹ずつ
TRD002218	1mpk s. c.	D7, 28	6	各時点で3匹ずつ
TRD007203	1mpk s. c.	D7, 28	6	各時点で3匹ずつ
TRD007204	1mpk s. c.	D7, 28	6	各時点で3匹ずつ
TRD007205	1mpk s. c.	D7, 28	6	各時点で3匹ずつ

【0387】

【表6】

表5 検出プライマーの配列

プライマーの名称	フォワードプライマー
mTTR-F	GGGAAGACCGCGGAGTCT
mTTR-R	CAGTTCTACTCTGTACACTCCTTCTACAAA
mTTR-P	5'-6-FAM-CTGCACGGGCTCACCACAGATGA-3' BHQ1
mGAPDH-F	CGGCAAATTCAACGGCACAG
mGAPDH-R	CCACGACATACTCAGCACCG
mGAPDH-P	5'-TET-ACCATCTTCCAGGAGCGAGACCCCACT-3' BHQ2

【0388】

TTR mRNAの発現量は、下記の等式によって算出された：

$$\text{TTR mRNA発現量} = \left[\left(\frac{\text{試験群TTR mRNA発現量}}{\text{試験群GAPDH mRNA発現量}} \right) \div \left(\frac{\text{対照群TTR mRNA発現量}}{\text{対照群GAPDH mRNA発現量}} \right) \right] \times 100\%。$$

【0389】

投与の7、28日後の、標的遺伝子mRNAの発現量に対する本開示に係る異なる構造を複合したsiRNA複合体のインビボ抑制効率は、それぞれ図1及び図2に示されている。図1の結果から分かるように、NAG0050の複合体TRD007203とNAG0052のTRD007205は、投与7日後にTTR mRNAへの発現抑制がいずれも良好な効果を有し、そのうち、NAG0050のTRD007203はL96の複合体TRD002218よりも明らかに優れているので、それはより効率的なsiRNA送達効率を媒介することができることを示している。図2から分かるように、投与28日後に、NAG0050の複合体TRD007203、NAG0051の複合体TRD007204及びNAG0052の複合体TRD007205は、標的遺伝子mRNA発現量への抑制作用がいずれもL96の複合体TRD002218よりも優れており、そのうち、N

10

20

30

40

50

A G 0 0 5 0 の複合体 T R D 0 0 7 2 0 3 は優位性が最も顕著である。

【 0 3 9 0 】

調製例 1 1 : 核酸リガンド複合体の合成

調製例 1 0 のステップを参照して下記 s i R N A 複合体を合成し、上記 s i R N A は表 6 と表 7 に示されるセンス鎖とアンチセンス鎖を有する。

【 0 3 9 1 】

【表 7】

表 6 核酸化合物の一覧

遺伝子	s i R N A 複合体の番号	s i R N A 複合体のセンス鎖の番号	s i R N A 複合体のアンチセンス鎖の番号
F X I	T R D 0 0 8 0 0 2	T J R 0 1 4 9 3 7 S	T J R 0 1 3 3 1 8 A
	T R D 0 0 8 0 0 3	T J R 0 1 4 9 3 8 S	T J R 0 1 3 3 1 4 A
A N G P T L 3	T R D 0 0 8 0 0 4	T J R 0 1 4 9 3 9 S	T J R 0 1 3 2 8 7 A
	T R D 0 0 8 0 0 5	T J R 0 1 4 9 4 0 S	T J R 0 1 3 2 8 8 A
	T R D 0 0 8 0 0 6	T J R 0 1 4 9 4 1 S	T J R 0 1 3 2 8 9 A
M A R C 1	T R D 0 0 8 0 2 4	T J R 0 1 4 9 6 3 S	T J R 0 1 4 9 5 9 A
	T R D 0 0 8 0 2 5	T J R 0 1 4 9 6 4 S	T J R 0 1 4 9 6 0 A
	T R D 0 0 8 0 2 6	T J R 0 1 4 9 6 5 S	T J R 0 1 4 9 6 1 A
	T R D 0 0 8 0 2 7	T J R 0 1 4 9 6 6 S	T J R 0 1 4 9 6 2 A
	T R D 6 2 3 3	T J R 1 2 2 9 6 - S S	T J R 1 2 3 3 8 - A S
	T R D 6 2 3 8	T J R 1 2 3 0 1 - S S	T J R 1 2 3 4 3 - A S
	T R D 6 2 5 3	T J R 1 2 3 1 6 - S S	T J R 1 2 3 5 8 - A S

10

20

【 0 3 9 2 】

そのうち、複合体 T R D 6 2 3 3 、 T R D 6 2 3 8 、 T R D 6 2 5 3 は参照陽性化合物とされた。

【 0 3 9 3 】

30

40

50

【表 8 - 1】

表 7 センス鎖及びアンチセンス鎖の核酸配列

	番号	配列方向 5' - 3'
センス鎖	TJR014937S	CmsUmsUm GmCfAm AfCfAf AmAmGm AmCmAm UmUmUm Am-NAG0052'
	TJR014938S	UmsCmsAm GmGfAm UfGfAf UmUmUm UmCmUm UmAmUm Um-NAG0052'
	TJR014939S	GmsAmsAm GmAfGm CfAfAf CmUmAm AmCmUm AmAmCm Um-NAG0052'
	TJR014940S	AmsGmsGm UmAfAm AfGfAf AmUmAm UmGmUm CmAmCm Um-NAG0052'
	TJR014941S	AmsGmsUm GmAfAm GfCfAf AmUmCm UmAmAm UmUmAm Um-NAG0052'
	TJR014963S	GmsUmsAm UmGfUm CfCfUf GmGmAm AmUmAm UmUmAm Am-NAG0052'
	TJR014964S	AmsCmsAm AmGfAm CfAfGf GmAmUm UmCmUm GmAmAm Am-NAG0052'
	TJR014965S	CmsUmsCm UmAfAm GfAfUf CmUmGm AmUmGm AmAmGm Um-NAG0052'
	TJR014966S	AmsGmsUm UmGfAm CfUfAf AmAmCm UmUmGm AmAmAm Am-NAG0052'
	TJR12296-SS	GmsUmsAm UmGfUm CfCfUf GmGmAm AmUmAm UmUmAm Am-NAG1
	TJR12301-SS	AmsCmsAm AmGfAm CfAfGf GmAmUm UmCmUm GmAmAm Am-NAG1
	TJR12316-SS	CmsUmsCm UmAfAm GfAfUf CmUmGm AmUmGm AmAmGm Um-NAG1

10

20

30

40

50

【表 8 - 2】

アンチセンス鎖	TJR013318A	UmsAfsAm AfUmGf U(036)CmUm UfUmGf UmUfGm CEAmAf GmsCmsGm
	TJR013314A	UmsAfsUm AfAmGf A(036)AmAm AfUmCf AmUfCm CfUmGf AmsAmsAm
	TJR013287A	AmsGfsUm UfAmGf U(036)UmAm GfUmUf GmCfUm CfUmUf CmsUmsAm
	TJR013288A	AmsGfsUm GfAmCf A(036)UmAm UfUmCf UmUfUm AfCmCf UmsCmsUm
	TJR013289A	AmsUfsAm AfUmUf A(036)GmAm UfUmGf CmUfUm CfAmCf UmsAmsUm
	TJR014959A	UmsUfsAm AfUmAf U(036)UmCm CfAmGf GmAfCm AfUmAf CmsGmsGm
	TJR014960A	UmsUfsUm CfAmGf A(036)AmUm CfCmUf GmUfCm UfUmGf UmsCmsAm
	TJR014961A	AmsCfsUm UfCmAf U(036)CmAm GfAmUf CmUfUm AfGmAf GmsUmsUm
	TJR014962A	UmsUfsUm UfCmAf A(036)GmUm UfUmAf GmUfCm AfAmCf UmsUmsCm
	TJR12338-AS	UmsUfsAm AfUmAf U(036)UmCf CmAmGf GmAfCm AfUmAf CmsGmsGm
	TJR12343-AS	UmsUfsUm CfAmGf A(036)AmUf CmCmUf GmUfCm UfUmGf UmsCmsAm
	TJR12358-AS	AmsCfsUm UfCmAf U(036)CmAf GmAmUf CmUfUm AfGmAf GmsUmsUm

10

20

【0394】

そのうち、036は、WO2022028462A1に開示された(ー)hmpNA(A)修飾(塩基が配列によって変化される)を表す。

30

【0395】

試験例2 siRNA配列のpsicheck 11濃度ポイントでのオンターゲット活性
HEK293A細胞(南京科佰)において11個の濃度勾配を使用して、表6中のsiRNA配列に対して体外分子レベルでオンターゲット活性のスクリーニングをシミュレーションした。

【0396】

ヒトFXI、ANGPTL3、MARC1遺伝子によりsiRNAの対応するオンターゲット配列を構築し、psicheck-2プラスミド(生工生物工程股ふん有限公司)に挿入した。当該プラスミドは、ウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子及びホタルルシフェラーゼ遺伝子を含む。二重レポーター遺伝子システムとして、siRNAの標的配列はウミシイタケルシフェラーゼ遺伝子の3'UTR領域に挿入され、siRNAの標的配列に対する活性は、ホタルルシフェラーゼでキャリブレーションされたウミシイタケルシフェラーゼの発現状況の検出によって反映可能であり、検出にはDual-Luciferase Reporter Assay System(Promega、E2940)が使用された。

40

【0397】

HEK293A細胞を10%のウシ胎児血清を含むDMEM高グルコース培地に培養し、37℃、5%のCO₂の条件下で培養した。トランスフェクションの24h前に、HEK293A細胞を96ウェルプレートに接種し、接種密度は8×10³個の細胞/ウェル

50

であり、各ウェルに100 μ Lの培地であった。

【0398】

Lipofectamine 2000 (ThermoFisher、11668019)により細胞にsiRNA及び対応するプラスミドを共トランスフェクションし、各ウェルに0.2 μ LのLipofectamine 2000及び20 ngのプラスミドを使用した。オンターゲットプラスミドに対して、siRNAは、合計11個の濃度ポイントを設置し、最高濃度ポイントの最終濃度が20 nMで、3倍の勾配で希釈した。トランスフェクションの24 h後に、Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega、E2940)によりオンターゲットレベルを検出した。データはGraphPad Prism5により解析され、その結果が表8に示す通りである。

10

【0399】

【表9】

表8 siRNA配列のpsi-CHECKオンターゲット活性スクリーニングの結果

siRNA複合体 の番号	異なるsiRNA濃度での標的遺伝子mRNA(GSCM)の発現余剰百分率(平均値)					
	20nM	6.6667nM	2.2222nM	0.7407nM	0.2469nM	0.0823nM
TRD008002	6.4%	5.9%	6.5%	7.8%	9.7%	15.0%
TRD008003	3.9%	3.4%	3.8%	4.1%	5.1%	9.2%
TRD008004	5.4%	4.9%	4.0%	5.6%	6.8%	17.5%
TRD008005	5.5%	3.7%	3.7%	5.0%	5.5%	12.7%
TRD008006	4.2%	3.1%	3.3%	3.8%	5.7%	10.6%
TRD008024	26.91%	20.16%	18.02%	16.21%	17.50%	25.18%
TRD008025	24.41%	21.09%	22.07%	18.86%	20.28%	29.57%
TRD008026	10.66%	10.26%	9.51%	11.47%	15.20%	24.28%
TRD008027	20.33%	15.44%	15.61%	14.39%	15.31%	27.01%
siRNA複合体 の番号	異なるsiRNA濃度での標的遺伝子mRNA(GSCM)の発現余剰百分率(平均値)					GSCM IC ₅₀ 値 (nM)
	0.0274nM	0.0091nM	0.0030nM	0.0010nM	0.0003nM	
TRD008002	34.7%	74.2%	93.6%	98.7%	93.7%	0.0179
TRD008003	20.2%	54.0%	77.3%	96.3%	88.0%	0.0099
TRD008004	38.0%	73.3%	97.3%	102.2%	84.5%	0.0196
TRD008005	33.6%	69.4%	112.9%	124.6%	103.1%	0.0157
TRD008006	23.5%	51.2%	75.9%	89.2%	88.7%	0.0093
TRD008024	44.20%	71.85%	99.14%	95.71%	100.03%	0.0204
TRD008025	48.80%	88.00%	100.83%	98.83%	100.45%	0.0267
TRD008026	49.72%	99.29%	103.55%	104.57%	100.83%	0.0288
TRD008027	47.05%	81.86%	114.93%	122.14%	100.28%	0.0238

20

30

40

【0400】

その結果、本開示のリガンドNAG0052は配列構造の異なるsiRNAと複合する場合、いずれも細胞において標的遺伝子mRNAの発現を効果的に抑制することができることが明らかになった。

【0401】

試験例3 siRNAのヒト初代肝細胞(PHH)中のヒトFXI、ANGPTL3、MACR1への抑制

ヒト初代肝細胞(PHH、Novabiosis)において5個又は7個の濃度勾配を

50

使用して、表 6 中の s i R N A に対してヒト初代肝細胞（P H H）活性のスクリーニングを行った。

【0402】

ヒト初代肝細胞（P H H）を液体窒素に凍結保存し、トランスフェクションの 24 h 前に、ヒト初代肝細胞（P H H）を蘇生させてから 96 ウェルプレートに接種し、接種密度は 3×10^4 個の細胞／ウェルであり、各ウェルに 80 μ L の培地であった。L i p o f e c t a m i n e R N A i M A X（T h e r m o F i s h e r、13778150）により s i R N A をトランスフェクションした。7 濃度ポイント実験の s i R N A トランスフェクションの勾配最終濃度は 10 nM、2 nM、0.4 nM、0.08 nM、0.016 nM、0.0032 nM と 0.00064 nM であった。5 濃度ポイント実験の s i R N A トランスフェクションの勾配最終濃度は 5 nM、0.625 nM、0.0781 nM、0.00977 nM と 0.00122 nM であった。24 時間処理した後、ハイスルーブット細胞 R N A 抽出試薬キット（凡知、F G 0417）により細胞全 R N A の抽出を行い、R N A 逆転写試薬キット（T a k a r a、6210A）により逆転写し、且つ T a q m a n プローブ Q - P C R 試薬キット（T h e r m o F i s h e r、4444964）によりヒト F X I、A N G P T L 3、M A C R 1 の m R N A レベルを測定した。G A P D H 内部基準遺伝子レベルに基づき、ヒト F X I、A N G P T L 3、M A C R 1 の m R N A レベルを補正した。T a q m a n プローブプライマーの情報は表 9 に示されている。データ処理は $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法を採用し、結果が対照 s i R N A で処理した細胞に対するヒト F X I、A N G P T L 3、M A C R 1 m R N A の発現余剰百分率で表され、抑制率の I C ₅₀ 結果が表 10 と表 11 に示されている。

【0403】

$\Delta\Delta C_t = [(C_t \text{ 実験群標的遺伝子} - C_t \text{ 実験群内部基準}) - (C_t \text{ 対照群標的遺伝子} - C_t \text{ 対照群内部基準})]$ 。

【0404】

抑制率 (%) = $(1 - \text{標的遺伝子の発現余剰量}) \times 100\%$ 。

【0405】

【表 10】

表 9 T a q m a n プライマーの情報表

プライマーの名称	プライマーの配列
h F X I - P F	TTTGCTGGGAGAGGGTGTTG
h F X I - P R	TACAAACACCAAGCCCCTTCA
h F X I - P	CCAGCATGCTTCCTCCACAGTAACACG
h A N G 3 - P F 1 - M G B	TTACTGGCAATGTCCCCAATG
h A N G 3 - P R 1 - M G B	TGAAGTGTCCTTTTGTCTTTGTGA
h A N G 3 - P 1 - M G B	ACAAAGATTTGGTGTTTTC
h M A R C 1 - P F	GCTCAGGAGGATGGTTGTGTAGT
h M A R C 1 - P R	GAAGGAGCACTCCGTCATTAGC
h M A R C 1 - P	CCCTGGATCCTTGCCATTCCCCTC
h G A P D H - P F 1 - M G B	GACCCCTTCATTGACCTCAACTAC
h G A P D H - P R 1 - M G B	TTGACGGTGCCATGGAATTT
h G A P D H - P 1 - M G B	TTACATGTTCCAATATGATTCC

【0406】

【表 1 1】

表10 PHH細胞におけるsiRNAの多用量抑制活性

siRNA複合体 の番号	異なるsiRNA濃度での標的遺伝子mRNA(PHH)の発現余剰百分率(平均値)							IC ₅₀ 値(n M)
	10nM	2nM	0.4nM	0.08nM	0.016nM	0.0032nM	0.00064nM	
TRD008002	16.61%	23.16%	34.70%	38.35%	52.77%	91.37%	105.17%	0.0295
TRD008003	19.15%	25.65%	39.67%	42.81%	55.62%	80.31%	91.47%	0.0465
TRD008004	4.27%	6.24%	7.34%	15.42%	41.23%	68.30%	81.65%	0.0098
TRD008005	5.85%	5.66%	8.71%	24.52%	47.34%	88.18%	84.60%	0.0176
TRD008006	6.52%	5.99%	8.44%	10.76%	33.06%	58.39%	63.74%	0.0066
TRD008024	12.72%	8.30%	8.86%	9.68%	19.98%	36.58%	65.77%	0.0015
TRD008025	9.63%	9.62%	9.93%	20.08%	28.44%	38.41%	55.92%	0.0011
TRD008026	7.44%	9.15%	10.37%	15.59%	33.72%	53.33%	68.26%	0.0044

10

【0 4 0 7】

【表 1 2】

表11 PHH細胞におけるsiRNAの多用量抑制活性

siRNA複合体の 番号	異なるsiRNA濃度でのMARC1 mRNA(PHH)の発現余剰 百分率(平均値)					IC ₅₀ 値 (nM)
	5nM	0.63nM	0.078nM	0.0098nM	0.0012nM	
TRD6233	5.70%	6.45%	ND	44.32%	76.77%	0.0074
TRD6238	6.46%	12.07%	29.28%	63.63%	118.05%	0.0186
TRD6253	7.90%	12.13%	33.85%	56.02%	65.52%	0.0206

20

【0 4 0 8】

その結果、本開示のリガンドNAG0052は配列構造の異なるsiRNAと複合する場合、いずれもヒト初代肝細胞において標的遺伝子mRNAの発現を効果的に抑制することができることが明らかになった。NAG0052と複合した複合体TRD008024、TRD008025、TRD008026はPHH細胞において、NAG1と複合した複合体TRD6233、TRD6238、TRD6253よりも優れた抑制活性を示している。

30

【0 4 0 9】

試験例4 siRNAによるカニクイザルの初代肝細胞(PCH)中のFXIへの抑制－7濃度ポイント抑制活性

サル初代肝細胞(PCH、妙順生物)において7個の濃度勾配を使用して、表6におけるFXIの2本のsiRNAに対して逆相トランスフェクション活性のスクリーニングを行った。各siRNA試料のトランスフェクションの初期最終濃度は10nMであり、5倍の勾配希釈及び7個の濃度ポイントであった。

40

【0 4 1 0】

サル初代肝細胞(PCH)を液体窒素に凍結保存し、トランスフェクション前に、サル初代肝細胞(PCH)を蘇生させてから96ウェルプレートに接種し、接種密度は 3×10^4 個の細胞/ウェルであり、各ウェルに90μLの培地であった。Lipofectamine RNAi MAX(ThermoFisher、13778150)によりsiRNAをトランスフェクションし、siRNAトランスフェクションの勾配最終濃度は10nM、2nM、0.4nM、0.08nM、0.016nM、0.0032nMと0.00064nMであった。24時間処理した後、ハイスループット細胞RNA抽出試薬キット(凡知、FG0417)により細胞全RNAの抽出を行い、RNA逆転写試薬キッ

50

ト (Takara、6210A) により逆転写し、且つ Taqman プローブ Q-PCR 試薬キット (ThermoFisher、4444964) によりサル FXI の mRNA レベルを測定した。GAPDH 内部基準遺伝子レベルに基づき、サル FXI の mRNA レベルを補正した。Taqman プローブプライマーの情報は表 12 に示されている。データ処理は $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法を採用し、結果が対照 siRNA で処理した細胞に対するサル FXI mRNA の発現余剰百分率で表され、抑制率の IC_{50} 結果が表 13 に示されている。

【0411】

$\Delta\Delta C_t = [(C_t \text{ 実験群標的遺伝子} - C_t \text{ 実験群内部基準}) - (C_t \text{ 対照群標的遺伝子} - C_t \text{ 対照群内部基準})]$ 。

【0412】

抑制率 (%) = $(1 - \text{標的遺伝子の発現余剰量}) \times 100\%$ 。

【0413】

【表 13】

表 12 サル Taqman プローブプライマーの情報表

プライマーの名称	プライマーの配列
mkFXI-V1-PF1	CTGGATATTGTTGCTGTGAAAGGT
mkFXI-V1-PR1	CCTTCGTTGCAAGATGCTTGA
mkFXI-V1-P1	CTGTGCACCAATGCCGTCCGC
mkGAPDH-PF1-MGB	AGTCAGCCGCATTTTCTCTTG
mkGAPDH-PR1-MGB	AAATCCGTTGACTCCGACCTT
mkGAPDH-P1-MGB	ATCGCCAGCGCATC

【0414】

【表 14】

表 13 PCH における siRNA の多用量抑制活性

siRNA 複合体の番号	異なる siRNA 濃度での標的遺伝子 mRNA (HCH) の発現余剰百分率 (平均値)							IC_{50} 値 (nM)
	10nM	2nM	0.4nM	0.08nM	0.016nM	0.0032nM	0.00064nM	
TRD008002	11.69%	29.29%	48.51%	49.83%	42.10%	47.34%	76.09%	0.0398
TRD008003	6.83%	9.29%	51.01%	33.91%	55.43%	65.33%	71.83%	0.0369

【0415】

その結果、NAG0052 と複合した TRD008002、TRD008003 複合体は、PCH 細胞において FXI に良好な抑制活性を有することが明らかになった。

【0416】

試験例 5: siRNA による Huh7 細胞中のヒト ANGPTL3 への阻害 - 7 濃度ポイント抑制活性

Huh7 細胞 (南京科佰) において 7 個の濃度勾配で表 6 中の siRNA に対して Huh7 細胞活性のスクリーニングを行った。各 siRNA 試料のトランスフェクションの初期最終濃度は 10 nM であり、5 倍の勾配で希釈し、7 個の濃度ポイントであった。

【0417】

Huh7 細胞を 10% のウシ胎児血清を含む DMEM 高グルコース培地に培養し、37℃、5% の CO_2 の条件下で培養した。トランスフェクションの 24 h 前に、Huh7 細胞を 96 ウェルプレートに接種し、接種密度は 1 万個の細胞 / ウェルであり、各ウェルに 100 μ L の培地であった。Lipofectamine RNAi MAX (Ther

moFisher、13778150)によりsiRNAをトランスフェクションし、siRNAトランスフェクションの最終濃度は10nM、2nM、0.4nM、0.08nM、0.016nM、0.0032nMと0.00064nMであった。24時間処理した後、ハイスループット細胞RNA抽出試薬キット(凡知、FG0417)により細胞全RNAの抽出を行い、RNA逆転写試薬キット(Takara、6210A)により逆転写し、且つTaqmanプローブQ-PCR試薬キット(ThermoFisher、4444964)によりヒトANGPTL3のmRNAレベルを測定した。GAPDH内部基準遺伝子レベルに基づき、ヒトANGPTL3のmRNAレベルを補正した。データ処理は $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法を採用し、結果が対照siRNAで処理した細胞に対するヒトANGPTL3 mRNAの発現余剰百分率で表される。抑制率のIC₅₀結果は表14に示されている。

10

【0418】

$\Delta\Delta C_t = [(C_t \text{ 実験群標的遺伝子} - C_t \text{ 実験群内部基準}) - (C_t \text{ 対照群標的遺伝子} - C_t \text{ 対照群内部基準})]$ 。

【0419】

抑制率(%) = (1 - 標的遺伝子の発現余剰量) × 100%。

【0420】

【表15】

表14 Huh7におけるsiRNAのヒトANGPTL3への多用量抑制活性

siRNA複合体の番号	異なるsiRNA濃度での標的遺伝子mRNA(Huh7)の発現余剰百分率(平均値)							IC ₅₀ 値(nM)
	10nM	2nM	0.4nM	0.08nM	0.016nM	0.0032nM	0.00064nM	
TRD008004	20.41%	29.83%	38.24%	66.52%	91.40%	100.41%	102.12%	0.1995
TRD008005	18.80%	25.78%	28.90%	57.12%	77.19%	93.56%	95.33%	0.1047
TRD008006	19.14%	30.21%	37.88%	61.27%	83.49%	98.09%	99.08%	0.1738

20

【0421】

その結果、Huh7細胞において、NAG0052と複合したTRD008004、TRD008005、TRD008006複合体はANGPTL3に効果的な抑制活性を示していることが明らかになった。

30

【0422】

調製例12：核酸リガンド複合体の合成

調製例10のステップを参照して下記siRNA複合体を試験例6及び7のために合成し、上記siRNAは表15に示されるセンス鎖とアンチセンス鎖を有する。

【0423】

【表16】

表15

siRNA複合体の番号	SS鎖(5'-3')	AS鎖(5'-3')
S-1	CmsAmsGm UmGfUm UfCfUf UmGmCm UmCmUm AmUmAm Am -NAG1	UmsUfsAm UmAmGf AmGmCm AmAmGm AmAfCm AfCmUm GmsUmsUm
S-L96	CmsAmsGm UmGfUm UfCfUf UmGmCm UmCmUm AmUmAm Am -L96	UmsUfsAm UmAmGf AmGmCm AmAmGm AmAfCm AfCmUm GmsUmsUm

40

【0424】

50

試験例 6 肝初代細胞におけるアミノガラクトース分子クラスターと複合した s i R N A の m R N A 発現への抑制

S e v e r g i n i などに報告された方法 (C y t o t e c h n o l o g y . 2 0 1 2 ; 6 4 (2) : 1 8 7 - 1 9 5 .) を参照して新鮮なマウス初代肝細胞を分離した。

【 0 4 2 5 】

初代肝細胞を分離した後、10万／ウェルで24ウェルプレートに接種し、最終濃度が50nM、10nM、2nM、0.4nM、0.08nM、0.016nM、0.0032nM、0.00064nMになるように測定待ちのs i R N A化合物をそれぞれ加えた。その後、初代肝細胞を37℃、5%のCO₂の環境に置いて24時間培養した。24h後に、q P C R方法によりm T T Rのm R N A発現レベルを検出した。

10

【 0 4 2 6 】

図3は、異なる濃度のs i R N A複合体S-1 (N A G 1複合) 及びS-L96 (L96複合) のm R N Aへの抑制率を示す。図3に示すように、S-1は優れたm T T R遺伝子発現抑制効率を示している。対照群S-L96のIC₅₀値である0.280nMと比べて、S-1のIC₅₀値が0.131nMであることで、N A G 1と複合したs i R N Aは、体外で初代肝細胞により自由に摂取される効率が対照群よりも優れ、N A G 1との複合により、s i R N Aの初代肝細胞への進入をより効果的に媒介することができることが明らかになった。試験例3において、N A G 0 0 5 2と複合したs i R N Aは、N A G 1と複合したs i R N Aよりも強い標的遺伝子発現抑制活性を示しており、総合データから、N A G 0 0 5 2複合体はL96複合体よりも優れた抑制活性を有することが明らかになった。

20

【 0 4 2 7 】

試験例 7 m R N A 発現に対するアミノガラクトース分子クラスターと複合した s i R N A のインビボ抑制

8週齢のC57BL／6マウス (昭衍生物、S P Fグレード、雌) を使用し、上記のアミノガラクトース分子クラスターと複合したs i R N Aを皮下注射で送達した。初日に、マウスの首肩部の弛んだ肌に、100μLの溶液を皮下注射により投与し、それは、P B S (M o c k群と呼ばれ、即ち、ブランク対照群) 又はP B Sで調製された1mg／kg (m p k)、0.2m p kという用量の対応するアミノガラクトース分子クラスターと複合したs i R N A (S-L96又はS-1) を含んだ。各群別に6匹のマウスに注射した。

30

【 0 4 2 8 】

投与3日後に、頸椎脱臼によりマウスを殺し、q P C Rによりマウスの肝組織m T T Rのm R N A発現レベルを検出した。

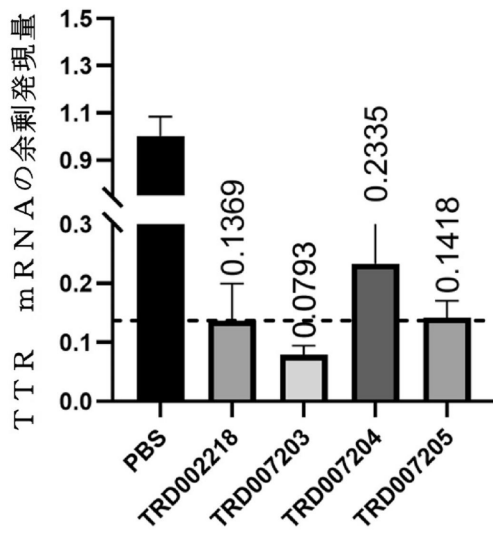
【 0 4 2 9 】

図4は、異なる用量のS-1とS-L96をそれぞれ投与した後のマウス肝組織におけるm R N Aの発現レベルを示す。図4に示すように、S-1は優れたm T T R遺伝子発現抑制効率を示している。S-1は、1m p k及び0.2m p kでの活性レベルが対照群S-L96よりも優れている。試験例3において、N A G 0 0 5 2と複合したs i R N Aは、N A G 1と複合したs i R N Aよりも強い標的遺伝子発現抑制活性を示しており、総合データから、N A G 0 0 5 2複合体はL96複合体よりも優れた抑制活性を有することが明らかになった。

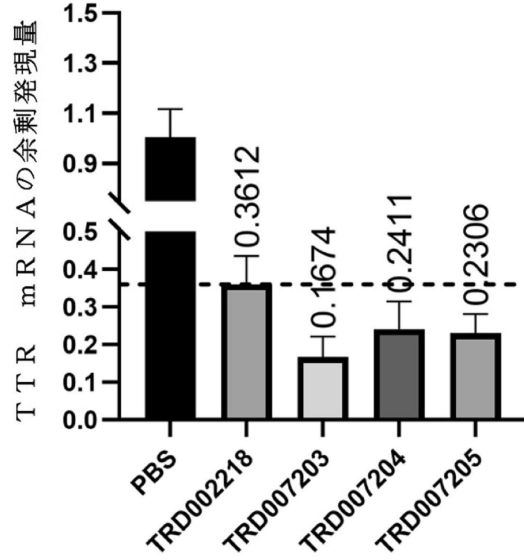
40

【図面】

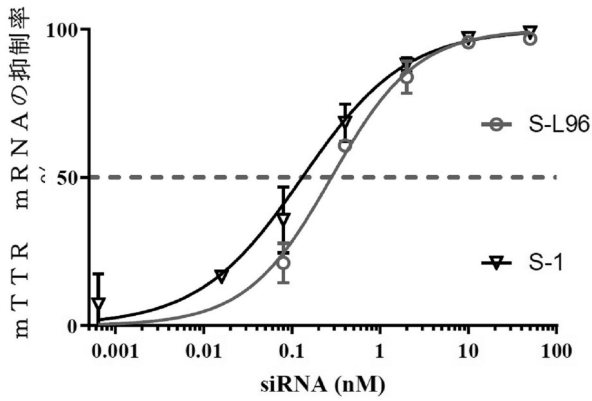
【図 1】



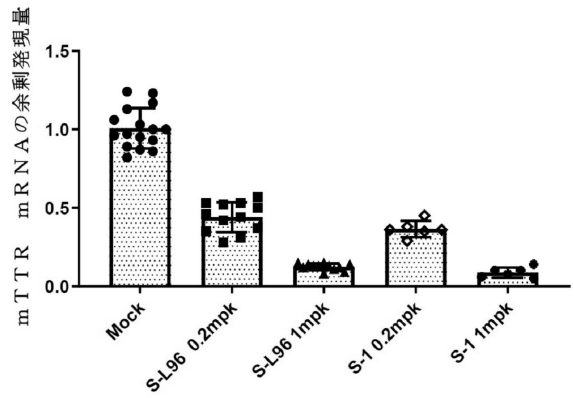
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【配列表】

202452433000001.xml

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN2022/103275
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12N 15/113(2010.01)i; A61K 47/54(2017.01)i; A61K 31/713(2006.01)i; A61P 1/16(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) C12N; A61K; A61P Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CNABS; CNTXT; DWPI; SIPOABS; STNext; CNKI; ISI Web of Science: 黄金宇; 上海拓界生物; 苏州瑞博生物; 核酸; 连接器; 肝靶向; siRNA; GalNac; linker; liver target		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 105392488 A (ISIS PHARMACEUTICALS INC.) 09 March 2016 (2016-03-09) description, paragraphs 0043 and 0420-0438, and abstract	1-30
X	CN 107250362 A (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC.) 13 October 2017 (2017-10-13) claims 32 and 63 and abstract	1-30
X	WO 2019105418 A1 (SUZHOU RIBO LIFE SCIENCE CO., LTD.) 06 June 2019 (2019-06-06) claim 35 and abstract	1-30
Y	CN 105392488 A (ISIS PHARMACEUTICALS INC.) 09 March 2016 (2016-03-09) description, paragraphs 0043 and 0420-0438, and abstract	1-30
Y	CN 107250362 A (ALNYLAM PHARMACEUTICALS INC.) 13 October 2017 (2017-10-13) claims 32 and 63 and abstract	1-30
Y	WO 2019105418 A1 (SUZHOU RIBO LIFE SCIENCE CO., LTD.) 06 June 2019 (2019-06-06) claim 35 and abstract	1-30
Y	CN 109069529 A (ARROWHEAD PHARMACEUTICALS INC.) 21 December 2018 (2018-12-21) claims 1-3 and abstract	1-30
☒ 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 20 September 2022		Date of mailing of the international search report 29 September 2022
Name and mailing address of the ISA/CN China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10)62019451		Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/103275

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2015179693 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS INC.) 26 November 2015 (2015-11-26) entire document	1-30
A	CN 112390835 A (SUZHOU RIBO LIFE SCIENCE CO., LTD.) 23 February 2021 (2021-02-23) entire document	1-30
A	CN 110959011 A (SUZHOU RIBO LIFE SCIENCE CO., LTD.) 03 April 2020 (2020-04-03) entire document	1-30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/103275

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: **29**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

[1] Claim 29 relates to a method for inhibiting mRNA expression in a patient or delivering an expression-inhibiting oligomeric compound to a liver in vivo, and thus does not comply with PCT Rule 39.1(iv). A search was conducted on the basis that the title of the subject matter is a use of the nucleic acid ligand conjugate according to any one of claims 21-25, or the RNAi reagent according to claim 26, or the composition according to claim 27 in the preparation of a drug for treating diseases of a patient.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/103275

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	105392488	A	09 March 2016	MX	2019010441	A	17 October 2019
				IL	261901	A	31 October 2018
				RU	2019124314	A	21 August 2019
				US	2016076032	A1	17 March 2016
				RS	60796	B1	30 October 2020
				WO	2014179620	A1	06 November 2014
				EA	201891479	A1	30 November 2018
				JP	2016526874	A	08 September 2016
				JP	2020058370	A	16 April 2020
				ES	2778442	T3	10 August 2020
				KR	20190084138	A	15 July 2019
				IL	263843	A	31 January 2019
				JP	2016523515	A	12 August 2016
				IL	242124	B	28 February 2019
				HR	P20201378	T1	27 November 2020
				AU	2017200365	A1	23 February 2017
				HU	E050394	T2	30 November 2020
				JP	2021020901	A	18 February 2021
				US	2018273953	A1	27 September 2018
				EP	2991656	A2	09 March 2016
				EP	3633039	A1	08 April 2020
				US	2016017323	A1	21 January 2016
				US	2015176007	A1	25 June 2015
				AU	2001259750	A1	14 February 2002
				AU	2014259759	A1	22 October 2015
				US	2021395734	A1	23 December 2021
				US	2021130823	A1	06 May 2021
				PT	2992098	T	05 July 2019
				IL	242132	B	31 October 2018
				IL	274064	A	30 June 2020
				CN	105378085	A	02 March 2016
				LT	2992098	T	10 July 2019
				AU	2014259757	A1	22 October 2015
				CA	2921162	A1	06 November 2014
				HK	1221404	A1	02 June 2017
				UA	120287	C2	11 November 2019
				IL	264241	A	28 February 2019
				US	2018273952	A1	27 September 2018
				JP	2020039355	A	19 March 2020
				AU	2022202770	A1	19 May 2022
				AU	2020207820	A1	06 August 2020
				KR	20210151260	A	13 December 2021
				MY	178929	A	23 October 2020
				US	2020224198	A1	16 July 2020
				AU	2014259755	A1	22 October 2015
				US	2016076030	A1	17 March 2016
				PT	3524680	T	04 January 2021
				AU	2019200820	A1	28 February 2019
				ES	2819213	T3	15 April 2021
				CR	20190269	A	13 September 2019

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2022/103275

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	107250362	A	13 October 2017	US	11408001	B1	09 August 2022
				US	2020199591	A1	25 June 2020
				HK	1244843	A1	17 August 2018
				US	2020080088	A1	12 March 2020
				JP	2020141685	A	10 September 2020
				WO	2016081444	A1	26 May 2016
				AU	2021212094	A1	26 August 2021
				JP	2017535552	A	30 November 2017
				AU	2015350120	A1	18 May 2017
				EP	3221451	A1	27 September 2017
				US	2021108203	A1	15 April 2021
				CN	113846101	A	28 December 2021
				US	2017260527	A1	14 September 2017
				CA	2968114	A1	26 May 2016
WO	2019105418	A1	06 June 2019	CN	110997919	A	10 April 2020
				KR	20200091414	A	30 July 2020
				EP	3719128	A1	07 October 2020
				CA	3083968	A1	06 June 2019
				TW	201925469	A	01 July 2019
				US	2022049249	A1	17 February 2022
				JP	2021504415	A	15 February 2021
CN	109069529	A	21 December 2018	AU	2018374219	A1	21 May 2020
				EP	3426261	A1	16 January 2019
				US	2021189394	A1	24 June 2021
				BR	112018068230	A2	30 July 2019
				AU	2017229469	A1	09 August 2018
				US	2019211333	A1	11 July 2019
				KR	20220005633	A	13 January 2022
				TW	202203972	A	01 February 2022
				WO	2017156012	A1	14 September 2017
				JP	2022023242	A	07 February 2022
				KR	20180121925	A	09 November 2018
				IL	261598	A	31 October 2018
				CA	3011946	A1	14 September 2017
				US	2017253875	A1	07 September 2017
				JP	2019511491	A	25 April 2019
WO	2015179693	A1	26 November 2015	TW	201735953	A	16 October 2017
				IL	288341	A	01 January 2022
				UY	37146	A	29 September 2017
				MX	2018009854	A	09 November 2018
				CN	113797348	A	17 December 2021
				US	2017355727	A1	14 December 2017
				US	2021054017	A1	25 February 2021
CN	112390835	A	23 February 2021	None			
CN	110959011	A	03 April 2020	AU	2018394875	A1	09 April 2020
				TW	201929905	A	01 August 2019
				JP	2021509402	A	25 March 2021
				US	2020338201	A1	29 October 2020
				CA	3087106	A1	04 July 2019

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (January 2015)

10

20

30

40

50

International application No.

PCT/CN2022/103275

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
		ZA 202003833 B	26 January 2022
		KR 20200105812 A	09 September 2020
		EP 3732185 A1	04 November 2020
		RU 2020121741 A	01 February 2022
		WO 2019128611 A1	04 July 2019

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/103275

A. 主题的分类 C12N 15/113(2010.01)i; A61K 47/54(2017.01)i; A61K 31/713(2006.01)i; A61P 1/16(2006.01)i 按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号) C12N; A61K; A61P 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) CNABS; CNTXT; DWPI; SIPOABS; STNext; CNKI; ISI Web of Science: 黄金宇; 上海拓界生物; 苏州瑞博生物; 核酸; 连接器; 肝靶向; siRNA; GalNac; linker; liver target		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 105392488 A (ISIS制药公司) 2016年3月9日 (2016 - 03 - 09) 说明书第0043, 0420-0438段, 摘要	1-30
X	CN 107250362 A (阿尔尼拉姆医药品有限公司) 2017年10月13日 (2017 - 10 - 13) 权利要求32, 63, 摘要	1-30
X	WO 2019105418 A1 (苏州瑞博生物技术有限公司) 2019年6月6日 (2019 - 06 - 06) 权利要求35, 摘要	1-30
Y	CN 105392488 A (ISIS制药公司) 2016年3月9日 (2016 - 03 - 09) 说明书第0043, 0420-0438段, 摘要	1-30
Y	CN 107250362 A (阿尔尼拉姆医药品有限公司) 2017年10月13日 (2017 - 10 - 13) 权利要求32, 63, 摘要	1-30
Y	WO 2019105418 A1 (苏州瑞博生物技术有限公司) 2019年6月6日 (2019 - 06 - 06) 权利要求35, 摘要	1-30
Y	CN 109069529 A (箭头药业股份有限公司) 2018年12月21日 (2018 - 12 - 21) 权利要求1-3, 摘要	1-30
A	WO 2015179693 A1 (ISIS PHARMACEUTICALS, INC.) 2015年11月26日 (2015 - 11 - 26) 全文	1-30
☒ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。		
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件		
国际检索实际完成的日期 2022年9月20日		国际检索报告邮寄日期 2022年9月29日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		受权官员 吴铁生 电话号码 (86) 10-53961870

PCT/ISA/210 表(第2页) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2022/103275
G. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 112390835 A (苏州瑞博生物技术股份有限公司) 2021年2月23日 (2021 - 02 - 23) 全文	1-30
A	CN 110959011 A (苏州瑞博生物技术股份有限公司) 2020年4月3日 (2020 - 04 - 03) 全文	1-30

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN2022/103275
第II栏	某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第I页第2项)	
根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下：		
1.	☒ 权利要求： 29 因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即： [1] 权利要求29涉及一种抑制患者体内mRNA表达或将表达抑制性寡聚化合物体内递送至肝脏的方法，不符合PCT实施细则39.1(iv)的规定，基于主题名称为权利要求21-25中任一项所述的核酸配体缀合物或权利要求26所述的RNAi试剂或权利要求27所述的组合物在制备治疗患者疾病的药物中的用途进行检索。	10
2.	☐ 权利要求： 因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：	
3.	☐ 权利要求： 因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。	20
		30
		40
		50

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/103275

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	105392488	A	2016年3月9日	MX	2019010441	A	2019年10月17日
				IL	261901	A	2018年10月31日
				RU	2019124314	A	2019年8月21日
				US	2016076032	A1	2016年3月17日
				RS	60796	B1	2020年10月30日
				WO	2014179620	A1	2014年11月6日
				EA	201891479	A1	2018年11月30日
				JP	2016526874	A	2016年9月8日
				JP	2020058370	A	2020年4月16日
				ES	2778442	T3	2020年8月10日
				KR	20190084138	A	2019年7月15日
				IL	263843	A	2019年1月31日
				JP	2016523515	A	2016年8月12日
				IL	242124	B	2019年2月28日
				HR	P20201378	T1	2020年11月27日
				AU	2017200365	A1	2017年2月23日
				HU	E050394	T2	2020年11月30日
				JP	2021020901	A	2021年2月18日
				US	2018273953	A1	2018年9月27日
				EP	2991656	A2	2016年3月9日
				EP	3633039	A1	2020年4月8日
				US	2016017323	A1	2016年1月21日
				US	2015176007	A1	2015年6月25日
				AU	2001259750	A1	2002年2月14日
				AU	2014259759	A1	2015年10月22日
				US	2021395734	A1	2021年12月23日
				US	2021130823	A1	2021年5月6日
				PT	2992098	T	2019年7月5日
				IL	242132	B	2018年10月31日
				IL	274064	A	2020年6月30日
				CN	105378085	A	2016年3月2日
				LT	2992098	T	2019年7月10日
				AU	2014259757	A1	2015年10月22日
				CA	2921162	A1	2014年11月6日
				HK	1221404	A1	2017年6月2日
				UA	120287	C2	2019年11月11日
				IL	264241	A	2019年2月28日
				US	2018273952	A1	2018年9月27日
				JP	2020039355	A	2020年3月19日
				AU	2022202770	A1	2022年5月19日
				AU	2020207820	A1	2020年8月6日
				KR	20210151260	A	2021年12月13日
				MY	178929	A	2020年10月23日
				US	2020224198	A1	2020年7月16日
				AU	2014259755	A1	2015年10月22日
				US	2016076030	A1	2016年3月17日
				PT	3524680	T	2021年1月4日
				AU	2019200820	A1	2019年2月28日
				ES	2819213	T3	2021年4月15日
				CR	20190269	A	2019年9月13日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/103275

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	107250362	A	2017年10月13日	US	11408001	B1	2022年8月9日
				US	2020199591	A1	2020年6月25日
				HK	1244843	A1	2018年8月17日
				US	2020080088	A1	2020年3月12日
				JP	2020141685	A	2020年9月10日
				WO	2016081444	A1	2016年5月26日
				AU	2021212094	A1	2021年8月26日
				JP	2017535552	A	2017年11月30日
				AU	2015350120	A1	2017年5月18日
				EP	3221451	A1	2017年9月27日
				US	2021108203	A1	2021年4月15日
				CN	113846101	A	2021年12月28日
				US	2017260527	A1	2017年9月14日
				CA	2968114	A1	2016年5月26日
WO	2019105418	A1	2019年6月6日	CN	110997919	A	2020年4月10日
				KR	20200091414	A	2020年7月30日
				EP	3719128	A1	2020年10月7日
				CA	3083968	A1	2019年6月6日
				TW	201925469	A	2019年7月1日
				US	2022049249	A1	2022年2月17日
				JP	2021504415	A	2021年2月15日
				AU	2018374219	A1	2020年5月21日
CN	109069529	A	2018年12月21日	EP	3426261	A1	2019年1月16日
				US	2021189394	A1	2021年6月24日
				BR	112018068230	A2	2019年7月30日
				AU	2017229469	A1	2018年8月9日
				US	2019211333	A1	2019年7月11日
				KR	20220005633	A	2022年1月13日
				TW	202203972	A	2022年2月1日
				WO	2017156012	A1	2017年9月14日
				JP	2022023242	A	2022年2月7日
				KR	20180121925	A	2018年11月9日
				IL	261598	A	2018年10月31日
				CA	3011946	A1	2017年9月14日
				US	2017253875	A1	2017年9月7日
				JP	2019511491	A	2019年4月25日
				TW	201735953	A	2017年10月16日
				IL	288341	A	2022年1月1日
				UY	37146	A	2017年9月29日
				MX	2018009854	A	2018年11月9日
				CN	113797348	A	2021年12月17日
WO	2015179693	A1	2015年11月26日	US	2017355727	A1	2017年12月14日
				US	2021054017	A1	2021年2月25日
CN	112390835	A	2021年2月23日	无			
CN	110959011	A	2020年4月3日	AU	2018394875	A1	2020年4月9日
				TW	201929905	A	2019年8月1日
				JP	2021509402	A	2021年3月25日
				US	2020338201	A1	2020年10月29日
				CA	3087106	A1	2019年7月4日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/103275

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
	ZA	202003833 B	2022年1月26日
	KR	20200105812 A	2020年9月9日
	EP	3732185 A1	2020年11月4日
	RU	2020121741 A	2022年2月1日
	WO	2019128611 A1	2019年7月4日

PCT/ISA/210 表(同族专利附件) (2015年1月)

フロントページの続き

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),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,IQ,IR,IS,IT,JM,J
O,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,M
Z,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,
TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100156144

弁理士 落合 康

(74)代理人 100103230

弁理士 高山 裕貢

(72)発明者 黄 金宇

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 上海市浦東新区自由貿易試験区金科路 3 7 2 8 号 1 4 幢 1 0 3 室

(72)発明者 羅 敏

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 上海市浦東新区自由貿易試験区金科路 3 7 2 8 号 1 4 幢 1 0 3 室

(72)発明者 尹 科

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 上海市浦東新区自由貿易試験区金科路 3 7 2 8 号 1 4 幢 1 0 3 室

(72)発明者 侯 哲

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 上海市浦東新区自由貿易試験区金科路 3 7 2 8 号 1 4 幢 1 0 3 室

(72)発明者 李 雲飛

中華人民共和国 2 0 1 2 0 3 上海市浦東新区自由貿易試験区金科路 3 7 2 8 号 1 4 幢 1 0 3 室

F ターム (参考) 4C057 AA18 CC03 DD03 JJ05

4C076 AA95 CC16 CC41 DD69 EE59 FF68

4C084 AA13 NA13 ZA75