

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号
特許第6276763号
(P6276763)

(45) 発行日 平成30年2月7日 (2018.2.7)

(24) 登録日 平成30年1月19日 (2018.1.19)

(51) Int.Cl.	F I
C O 7 C 219/16 (2006.01)	C O 7 C 219/16 C S P
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A G
C O 7 D 211/22 (2006.01)	C O 7 D 211/22
C O 7 D 211/46 (2006.01)	C O 7 D 211/46
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00

請求項の数 62 (全 158 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-526314 (P2015-526314)	(73) 特許権者 307010166 第一三共株式会社 東京都中央区日本橋本町三丁目5番1号
(86) (22) 出願日 平成26年7月7日 (2014.7.7)	
(86) 国際出願番号 PCT/JP2014/068002	
(87) 国際公開番号 W02015/005253	(74) 代理人 100146581 弁理士 石橋 公樹
(87) 国際公開日 平成27年1月15日 (2015.1.15)	(74) 代理人 100113583 弁理士 北野 範子
審査請求日 平成29年4月10日 (2017.4.10)	(74) 代理人 100161160 弁理士 竹元 利泰
(31) 優先権主張番号 特願2013-142677 (P2013-142677)	(74) 代理人 100164460 弁理士 児玉 博宣
(32) 優先日 平成25年7月8日 (2013.7.8)	(74) 代理人 100119622 弁理士 金原 玲子
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)	

最終頁に続く

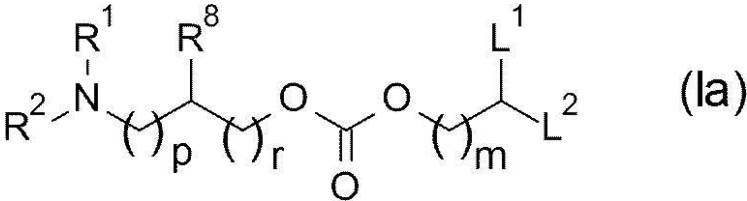
(54) 【発明の名称】 新規脂質

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一般式 (I a) で表されるカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【化 1】



式中、

R¹ 及び R² は、独立して、水素原子、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい C₁ - C₆ アルキル基、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい C₂ - C₆ アルケニル基、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい C₂ - C₆ アルキニル基、又は置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい C₃ - C₇ シクロアルキル基を示し、又は、R¹ 及び R² は、それらの結合する窒素原子と一緒にあって 3 員 - 10 員の複素環を形成し、当該複素環は、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよく、当該複素環の構成原子として、R¹ 及び R² が結合する窒素原子に加えて、窒素原子、酸素原子、又は硫黄原子を 1 若しくは複数個含んでいてもよく；

R^8 は、水素原子、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_1 - C_6$ アルキル基を示し；

或いは、 R^1 と R^8 は、一緒になって基 - $(CH_2)_q$ - を示してもよく；

置換基群 α は、ハロゲン原子、オキソ基、水酸基、スルファニル基、アミノ基、シアノ基、 $C_1 - C_6$ アルキル基、ハロゲン化 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基、 $C_1 - C_6$ アルキルアミノ基、及び $C_1 - C_7$ アルカノイル基からなる群を示し；

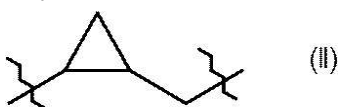
L^1 は、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルキル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルケニル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_3 - C_{24}$ アルキニル基、又は、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_{10} \text{ アルキル}) - (Q)_k - (C_1 - C_{10} \text{ アルキル})$ 基を示し；

L^2 は、 L^1 と独立して、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルキル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルケニル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_3 - C_{24}$ アルキニル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_{10} \text{ アルキル}) - (Q)_k - (C_1 - C_{10} \text{ アルキル})$ 基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_{10} - C_{24} \text{ アルコキシ})$ メチル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_{10} - C_{24} \text{ アルケニル})$ オキシメチル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_3 - C_{24} \text{ アルキニル})$ オキシメチル基、又は、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_{10} \text{ アルキル}) - (Q)_k - (C_1 - C_{10} \text{ アルコキシ})$ メチル基を示し；

置換基群 $\beta 1$ は、ハロゲン原子、オキソ基、シアノ基、 $C_1 - C_6$ アルキル基、ハロゲン化 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基、 $C_1 - C_7$ アルカノイル基、及び $C_1 - C_7$ アルカノイルオキシ基、 $C_3 - C_7$ アルコキシオキシ基、 $(C_1 - C_6 \text{ アルコキシ})$ カルボニル基、 $(C_1 - C_6 \text{ アルコキシ})$ カルボキシル基、 $(C_1 - C_6 \text{ アルコキシ})$ カルバモイル基、 $(C_1 - C_6 \text{ アルキルアミノ})$ カルボキシル基からなる群を示し；

Q は、下記の式 (II)

【化 2】



で表される基を示し；

L^1 及び L^2 が置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有し、置換基群 $\beta 1$ が、 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基、 $C_1 - C_7$ アルカノイル基、又は $C_1 - C_7$ アルカノイルオキシ基である場合、 L^1 が有する置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基と、 L^2 が有する置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基は、互いに結合して環状構造を形成していてもよく；

k は、1、2、3、4、5、6 又は 7 を示し；

m は、0 又は 1 を示し；

p は、0、1 又は 2 を示し；

q は、1、2、3 又は 4 を示し；

r は、0、1、2 又は 3 を示し；

但し、 $p + r$ が 2 以上、又は、 $q + r$ が 2 以上である。

【請求項 2】

R^1 及び R^2 が、独立して、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有して

10

20

30

40

50

いてもよい $C_1 - C_6$ アルキル基である、請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 3】

R^1 及び R^2 が、独立して、 $C_1 - C_3$ アルキル基である、請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 4】

R^1 及び R^2 が、共にメチル基である、請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 5】

R^1 及び R^2 が、それらの結合する窒素原子と一緒にあって、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい、アゼチジン、ピロリジン、ピペリジン、アゼパン、ジヒドロピロール、ジヒドロピリジン、テトラヒドロピリジン、ピペラジン、モルホリン、ジヒドロオキサゾール、又はジヒドロチアゾールを形成する、請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

10

【請求項 6】

R^1 及び R^2 が、それらの結合する窒素原子と一緒にあって、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい、アゼチジン、ピロリジン、ピペリジン、又はモルホリンを形成する、請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 7】

20

R^1 及び R^2 が、それらの結合する窒素原子と一緒にあって、アゼチジン、ピロリジン、又はモルホリンを形成する、請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 8】

R^1 と R^8 が、一緒にあって基 - $(CH_2)_q$ - であり； $p + q$ が 2、3 又は 4 であり； R^2 が、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_1 - C_3$ アルキル基である、請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 9】

R^2 が、 $C_1 - C_3$ アルキル基である、請求項 8 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

30

【請求項 10】

R^2 が、メチル基である、請求項 8 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 11】

L^1 が、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルキル基、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルケニル基、又は置換基群 β_1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_4 \text{ アルキル}) - (Q)_k - (C_4 - C_9 \text{ アルキル})$ 基であり； k が、1、2 又は 3 である、請求項 1 乃至 10 から選択されるいずれか 1 項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

40

【請求項 12】

L^1 が、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい、ヘプタデセニル基、オクタデセニル基、ノナデセニル基、ヘプタデカジエニル基、オクタデカジエニル基、ノナデカジエニル基、ヘプタデカトリエニル基、オクタデカトリエニル基、又はノナデカトリエニル基である、請求項 1 乃至 10 から選択されるいずれか 1 項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 13】

L^1 が、 $(R) - 11 - \text{アセチルオキシ} - cis - 8 - \text{ヘプタデセニル基}$ 、 $(R) - 11 - (\text{テトラヒドロ} - 2H - \text{ピラン} - 2 - \text{イルオキシ}) - cis - 8 - \text{ヘプタデセニル基}$ 、 $cis - 9 - \text{オクタデセニル基 (オレイル基)}$ 、 $cis - 8, 11 - \text{ヘプタデカジエニ}$

50

ル基、*c i s* - 9 , 1 2 - オクタデカジエニル基 (リノレイル基)、*c i s* - 1 0 , 1 3 - ノナデカジエニル基、又は *c i s* - 6 , 9 , 1 2 - オクタデカトリエニル基 (リノレニル基) である、請求項 1 乃至 1 0 から選択されるいずれか 1 項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 1 4】

L^2 が、置換基群 β 1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい C_{10} - C_{19} アルキル基、置換基群 β 1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい C_{10} - C_{19} アルケニル基、置換基群 β 1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい (C_1 - C_4 アルキル) - (Q)_k - (C_4 - C_9 アルキル) 基、置換基群 β 1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい (C_{10} - C_{19} アルコキシ) メチル基、置換基群 β 1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい (C_{10} - C_{19} アルケニル) オキシメチル基、又は、置換基群 β 1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい (C_1 - C_{10} アルキル) - (Q)_k - (C_1 - C_{10} アルコキシ) メチル基であり； k が、1、2 又は 3 である、請求項 1 乃至 1 3 から選択されるいずれか 1 項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

10

【請求項 1 5】

L^2 が、置換基群 β 1 から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい、デシル基、デセニル基、ウンデシル基、ウンデセニル基、ドデシル基、ドデセニル基、デカジエニル基、ウンデカジエニル基、ドデカジエニル基、ヘプタデカジエニル基、オクタデカジエニル基、ノナデカジエニル基、ヘプタデカトリエニル基、オクタデカトリエニル基、ノナデカトリエニル基、デシルオキシメチル基、デセニルオキシメチル基、ウンデシルオキシメチル基、ウンデセニルオキシメチル基、ドデシルオキシメチル基、ドデセニルオキシメチル基、デカジエニルオキシメチル基、ウンデカジエニルオキシメチル基、ドデカジエニルオキシメチル基、ヘプタデカジエニルオキシメチル基、オクタデカジエニルオキシメチル基、ノナデカジエニルオキシメチル基、ヘプタデカトリエニルオキシメチル基、オクタデカトリエニルオキシメチル基、又はノナデカトリエニルオキシメチル基である、請求項 1 乃至 1 3 から選択されるいずれか 1 項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

20

【請求項 1 6】

L^2 が、デシル基、*c i s* - 7 - デセニル基、(R) - 1 1 - アセチルオキシ - *c i s* - 8 - ヘプタデセニル基、(R) - 1 1 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) - *c i s* - 8 - ヘプタデセニル基、*c i s* - 9 - オクタデセニル基 (オレイル基)、*c i s* - 8 , 1 1 - ヘプタデカジエニル基、*c i s* - 9 , 1 2 - オクタデカジエニル基 (リノレイル基)、*c i s* - 1 0 , 1 3 - ノナデカジエニル基、*c i s* - 6 , 9 , 1 2 - オクタデカトリエニル基 (リノレニル基)、デシルオキシメチル基、*c i s* - 7 - デセニルオキシメチル基、(R) - 1 1 - アセチルオキシ - *c i s* - 8 - ヘプタデセニルオキシメチル基、(R) - 1 1 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) - *c i s* - 8 - ヘプタデセニルオキシメチル基、*c i s* - 9 - オクタデセニルオキシメチル基 (オレイルオキシメチル基)、*c i s* - 8 , 1 1 - ヘプタデカジエニルオキシメチル基、*c i s* - 9 , 1 2 - オクタデカジエニルオキシメチル基 (リノレイルオキシメチル基)、*c i s* - 1 0 , 1 3 - ノナデカジエニルオキシメチル基、又は *c i s* - 6 , 9 , 1 2 - オクタデカトリエニルオキシメチル基 (リノレニルオキシメチル基) である、請求項 1 乃至 1 3 から選択されるいずれか 1 項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

30

40

【請求項 1 7】

m が、0 である、請求項 1 乃至 1 6 から選択されるいずれか 1 項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 1 8】

R^1 及び R^2 が共にメチル基であり； R^8 が水素原子であり； L^1 が、1 個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい C_{17} - C_{19} アルキル基、又は、1 個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい C_{17} - C_{19} アルケニル基であり； L^2 が、1 個のアセチ

50

ルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルキル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルケニル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10} - C_{19}$ アルコキシ)メチル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10} - C_{19}$ アルケニル)オキシメチル基であり； $p + r$ が2であり； m が0である、請求項1に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項19】

R^2 がメチル基であり； R^1 及び R^8 が一緒になって基- $(CH_2)_q$ -であり； L^1 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルキル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルケニル基であり； L^2 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルキル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルケニル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10} - C_{19}$ アルコキシ)メチル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10} - C_{19}$ アルケニル)オキシメチル基であり； p が2であり； q が2であり； r が0であり； m が0である、請求項1に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

10

【請求項20】

R^2 がメチル基であり； R^1 及び R^8 が一緒になって基- $(CH_2)_q$ -であり； L^1 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルキル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルケニル基であり； L^2 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルキル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルケニル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10} - C_{19}$ アルコキシ)メチル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10} - C_{19}$ アルケニル)オキシメチル基であり； p が1であり； q が2又は3であり； r が1であり； m が0である、請求項1に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

20

【請求項21】

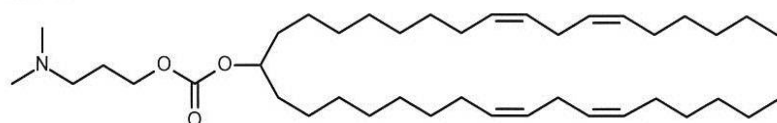
R^2 がメチル基であり； R^1 及び R^8 が一緒になって基- $(CH_2)_q$ -であり； L^1 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルキル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルケニル基であり； L^2 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルキル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルケニル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10} - C_{19}$ アルコキシ)メチル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10} - C_{19}$ アルケニル)オキシメチル基であり； p が0であり； q が3又は4であり； r が2であり； m が0である、請求項1に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

30

【請求項22】

式

【化3】



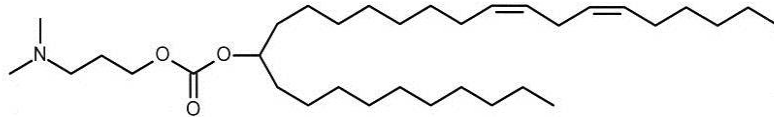
40

で表される請求項1に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項23】

式

【化 4】

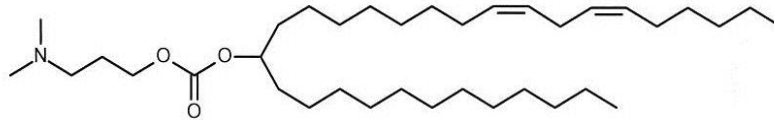


で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 2 4】

式

【化 5】



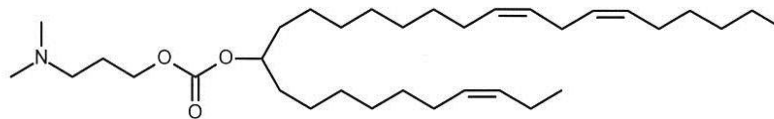
10

で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 2 5】

式

【化 6】



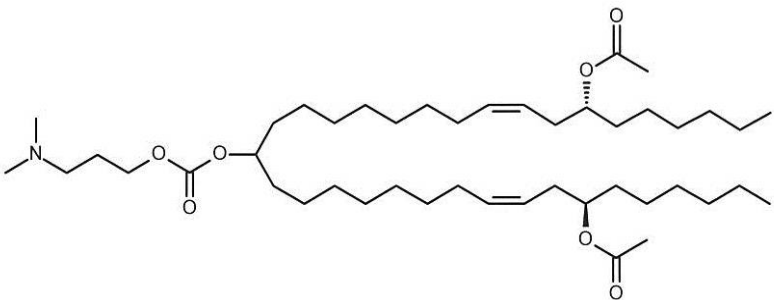
20

で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 2 6】

式

【化 7】



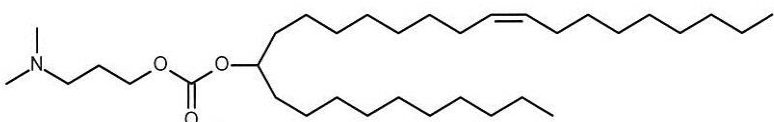
30

で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 2 7】

式

【化 8】



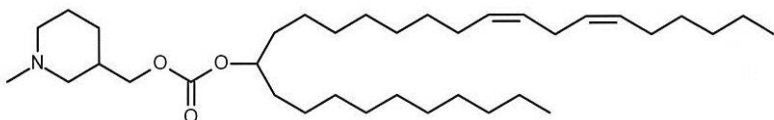
40

で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 2 8】

式

【化 9】



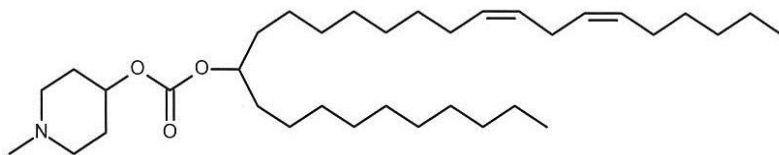
50

で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 29】

式

【化 10】



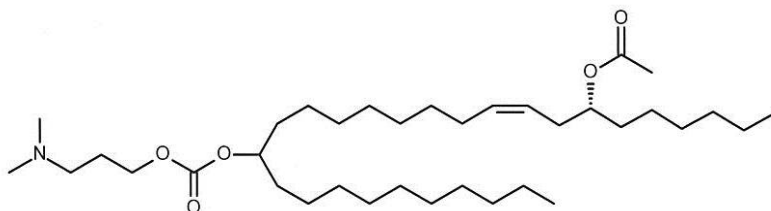
で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

10

【請求項 30】

式

【化 11】



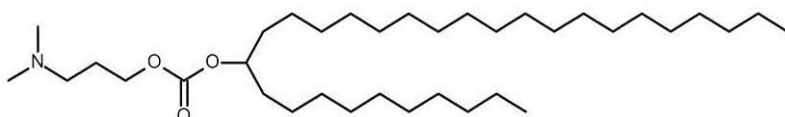
で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

20

【請求項 31】

式

【化 12】

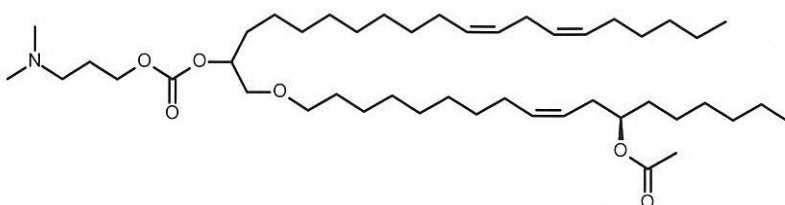


で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 32】

式

【化 13】



で表される請求項 1 に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【請求項 33】

請求項 1 乃至 32 から選択される少なくともいずれか 1 項に記載のカチオン性脂質を含む脂質粒子。

40

【請求項 34】

脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質を含有することを特徴とする、請求項 33 に記載の脂質粒子。

【請求項 35】

脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が PEG-脂質である、請求項 34 に記載の脂質粒子。

【請求項 36】

PEG-脂質が、N-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル-1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン(PEG-C-DMA)、又は

50

1, 2 - ジミリストイル - sn - グリセロール メトキシポリエチレングリコールである、請求項 35 に記載の脂質粒子。

【請求項 37】

PEG - 脂質が、N - [メトキシ ポリ(エチレングリコール) 2000]カルバモイル] - 1, 2 - ジパルミチルオキシプロピル - 3 - アミン(PEG - C - DMA)である、請求項 35 に記載の脂質粒子。

【請求項 38】

PEG - 脂質が、N - [メトキシ ポリ(エチレングリコール) 2000]カルバモイル] - 1, 2 - ジパルミチルオキシプロピル - 3 - アミン(PEG - C - DPA)、又は 1, 2 - ジパルミトイル - sn - グリセロール メトキシポリエチレン グリコールである、請求項 35 に記載の脂質粒子。

10

【請求項 39】

PEG - 脂質が、N - [メトキシ ポリ(エチレングリコール) 2000]カルバモイル] - 1, 2 - ジパルミチルオキシプロピル - 3 - アミン(PEG - C - DPA)である、請求項 35 に記載の脂質粒子。

【請求項 40】

PEG - 脂質が、N - [メトキシ ポリ(エチレングリコール) 2000]カルバモイル] - 1, 2 - ジステアerylオキシプロピル - 3 - アミン(PEG - C - DSA)、又は 1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロール メトキシポリエチレン グリコールである、請求項 35 に記載の脂質粒子。

20

【請求項 41】

PEG - 脂質が、N - [メトキシ ポリ(エチレングリコール) 2000]カルバモイル] - 1, 2 - ジステアerylオキシプロピル - 3 - アミン(PEG - C - DSA)である、請求項 35 に記載の脂質粒子。

【請求項 42】

PEGの分子量が1, 000乃至5, 000である、請求項 35 乃至 41 から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子。

【請求項 43】

PEGの分子量が1, 800乃至2, 200である、請求項 35 乃至 41 から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子。

30

【請求項 44】

ステロール類を含有することを特徴とする、請求項 33 乃至 43 から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子。

【請求項 45】

ステロール類がコレステロールである、請求項 44 に記載の脂質粒子。

【請求項 46】

両親媒性脂質を含有することを特徴とする、請求項 33 乃至 45 から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子。

【請求項 47】

両親媒性脂質が、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)、ジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)、ジミリストリルホスファチジルコリン(DMPC)、1 - パルミトイル - 2 - オレオイルホスファチジルコリン(POPC)、ジオレオイルホスファチジエタノールアミン(DOPE)、及びスフィンゴミエリン(SM)から選択される少なくともいずれか一つである、請求項 46 に記載の脂質粒子。

40

【請求項 48】

両親媒性脂質が、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)又はジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)である、請求項 46 に記載の脂質粒子。

【請求項 49】

両親媒性脂質、ステロール類、カチオン性脂質、及び脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質の脂質組成が、モル量にて、両親媒性脂質が25%以下、ステロール類が15%以

50

上、カチオン性脂質が20%～70%、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が1%～10%である、請求項46乃至48から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子。

【請求項50】

両親媒性脂質、ステロール類、カチオン性脂質、及び脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質の脂質組成が、モル量にて、両親媒性脂質が15%以下、ステロール類が32%以上、カチオン性脂質が45%～65%、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が1.5%～3%である、請求項46乃至48から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子。

【請求項51】

請求項33乃至50から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子と核酸を含むことからなる核酸脂質粒子。

10

【請求項52】

核酸が1本鎖DNA、1本鎖RNA、DNAとRNAが混合した1本鎖ポリヌクレオチド、2本鎖DNA、2本鎖RNA、DNA-RNAのハイブリッドポリヌクレオチド及びDNAとRNAが混合した2種のポリヌクレオチドからなる群から選択されるいずれか一つである、請求項51に記載の核酸脂質粒子。

【請求項53】

核酸がRNA干渉作用を有する1本鎖又は2本鎖ポリヌクレオチドである、請求項51に記載の核酸脂質粒子。

【請求項54】

核酸が1本鎖RNAである、請求項51に記載の核酸脂質粒子。

20

【請求項55】

カチオン性脂質の分子数(N)と核酸由来のリン原子数(P)の比率(N/P)が、2.0～9.0である、請求項51～54のいずれか1項に記載の核酸脂質粒子。

【請求項56】

カチオン性脂質の分子数(N)と核酸由来のリン原子数(P)の比率(N/P)が、3.0～9.0である、請求項51～54のいずれか1項に記載の核酸脂質粒子。

【請求項57】

平均粒子径が約30nm～約300nmである、請求項51乃至56から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子。

【請求項58】

平均粒子径が約30nm～約200nmである、請求項51乃至56から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子。

30

【請求項59】

平均粒子径が約30nm～約100nmである、請求項51乃至56から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子。

【請求項60】

請求項51乃至59から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子を有効成分として含有する医薬。

【請求項61】

標的遺伝子発現に由来する疾患を治療又は予防するための、請求項60に記載の医薬。

40

【請求項62】

標的遺伝子発現に由来する疾患が、癌、肝臓疾患、胆のう疾患、線維症、貧血、又は、遺伝子疾患である、請求項60に記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規カチオン性脂質、脂質粒子を形成する新規カチオン性脂質、該カチオン性脂質を含む脂質粒子、該脂質粒子に更に核酸が含まれる核酸脂質粒子、該核酸脂質粒子を有効成分として含有する医薬組成物、該医薬組成物を用いた治療方法に関する。

50

【背景技術】

【0002】

細胞、組織、あるいは個体内の標的遺伝子の発現を阻害する方法として、当該細胞、組織、あるいは個体内に2本鎖RNAを導入する手法がある。2本鎖RNAの導入によって、その配列に相同性を持つmRNAが分解され、標的遺伝子の発現が阻害される。この効果は「RNA干渉」又は「RNAi」と呼ばれている。RNA干渉は最初に線虫で報告され（例えば、非特許文献1参照）、その後に植物でも報告されている（例えば、非特許文献2参照）。

【0003】

3'末端に2ヌクレオチドのオーバーハングを有する、センス鎖、アンチセンス鎖それぞれ21ヌクレオチドからなる2本鎖RNA（small interfering RNA：siRNA）は、脊椎動物の培養細胞において、RNA干渉作用を有することが報告されている（例えば、非特許文献3参照）。siRNAは遺伝子機能の同定、有用物質生産に適した細胞株のスクリーニング、疾患に関連する遺伝子の制御等に有用であるとされているが、RNA分解酵素によって容易に分解されるという性質を有する（例えば、非特許文献4参照）。

【0004】

siRNA、あるいは、修飾siRNAのような2本鎖ポリヌクレオチドは、13,000程度の分子量を持ち、水溶性を有し、かつ電荷を持つ分子であるので、細胞膜を透過させるために、トランスフェクション試薬のような送達技術を用いるのが一般的である（例えば、非特許文献5参照）。特にリポソームは、プラスミドDNA等の核酸分子を封入し、核酸脂質粒子を形成し、核酸分子の送達に広く使われている（例えば、非特許文献6参照）。また、カチオン性脂質を含むリポソームは、siRNAと混合することで核酸脂質粒子を形成し、細胞内への送達ができることが報告されている（例えば、特許文献1参照）。しかしながら、カチオン性脂質は非生体成分であるため、低濃度で利用できるカチオン性脂質が求められている。カチオン性脂質としては、ジメチルアミノ吉草酸誘導体（特許文献1）、ジメチルアミノ酪酸誘導体（特許文献2）、ジメチルアミノエチルカーボネート誘導体（特許文献3）等が知られている。

【0005】

本発明者らは、siRNAのような2本鎖ポリヌクレオチド、DNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド等の核酸を封入でき、低濃度で利用できるカチオン性脂質からなる脂質粒子を取得すべく、鋭意研究を行ったところ、新規なカチオン性脂質を見出し、そして、核酸分子を封入でき、低濃度で利用可能であり、高い細胞内送達を可能にする当該新規なカチオン性脂質からなる核酸脂質粒子を見出し、本発明を完成させた。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】国際公開第2012/108397号パンフレット

【特許文献2】国際公開第2012/054365号パンフレット

【特許文献3】国際公開第2010/054405号パンフレット

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Nature、1998年、第391巻、p.806-811

【非特許文献2】Science、1999年、第286巻、p.950-952

【非特許文献3】Nature、2001年、第411巻、p.494-498

【非特許文献4】Clinical Chemistry、2002年、第48巻、p.1647-1653

【非特許文献5】Journal of Medicinal Chemistry、2010年、第57巻、p.7887-7901

【非特許文献6】Gene Therapy 1999年、第6巻、p.271-281

10

20

30

40

50

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明の一つの課題は、脂質粒子を形成する、新規カチオン性脂質を提供することである。

【0009】

本発明の他の一つの課題は、両親媒性脂質、ステロール類、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質と組み合わせることで脂質粒子を形成する新規カチオン性脂質を提供することである。

【0010】

本発明の他の一つの課題は該カチオン性脂質を含む脂質粒子を提供することである。

【0011】

本発明の他の一つの課題は、該脂質粒子に更に核酸が含まれる核酸脂質粒子を提供することである。

【0012】

本発明の他の一つの課題は該核酸脂質粒子を有効成分として含有する医薬組成物を提供することである。

【0013】

本発明の他の一つの課題は当該医薬組成物を用いた治療方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

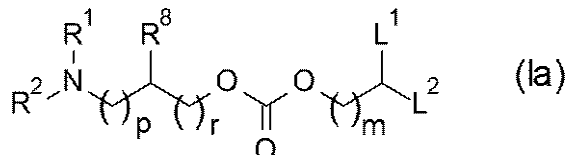
【0014】

すなわち、本発明は、

(1) 一般式(Ia)で表されるカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩。

【0015】

【化1】



【0016】

式中、

R¹及びR²は、独立して、水素原子、置換基群αから選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよいC₁-C₆アルキル基、置換基群αから選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよいC₂-C₆アルケニル基、置換基群αから選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよいC₂-C₆アルキニル基、又は置換基群αから選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよいC₃-C₇シクロアルキル基を示し、又は、R¹及びR²は、それらの結合する窒素原子と一緒になって3員-10員の複素環を形成し、当該複素環は、置換基群αから選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよく、当該複素環の構成原子として、R¹及びR²が結合する窒素原子に加えて、窒素原子、酸素原子、又は硫黄原子を1若しくは複数個含んでいてもよく；

R⁸は、水素原子、置換基群αから選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよいC₁-C₆アルキル基を示し；

或いは、R¹とR⁸は、一緒になって基-(CH₂)_q-を示してもよく；

置換基群αは、ハロゲン原子、オキソ基、水酸基、スルファニル基、アミノ基、シアノ基、C₁-C₆アルキル基、ハロゲン化C₁-C₆アルキル基、C₁-C₆アルコキシ基、C₁-C₆アルキルスルファニル基、C₁-C₆アルキルアミノ基、及びC₁-C₇アルカノイル基からなる群を示し；

L¹は、置換基群β₁から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよいC₁₀-C₂₄アルキル基、置換基群β₁から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよいC₁₀-C₂₄アルケニル基、置換基群β₁から選ばれる置換基を1若しくは複数個有

10

20

30

40

50

していてもよい $C_3 - C_{24}$ アルキニル基、又は、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_{10}$ アルキル) - $(Q)_k - (C_1 - C_{10}$ アルキル) 基を示し；

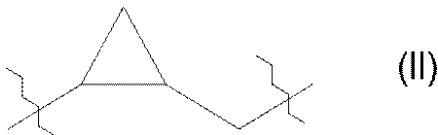
L^2 は、 L^1 と独立して、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルキル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルケニル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_3 - C_{24}$ アルキニル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_{10}$ アルキル) - $(Q)_k - (C_1 - C_{10}$ アルキル) 基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_{10} - C_{24}$ アルコキシ) メチル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_{10} - C_{24}$ アルケニル) オキシメチル基、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_3 - C_{24}$ アルキニル) オキシメチル基、又は、置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_{10}$ アルキル) - $(Q)_k - (C_1 - C_{10}$ アルコキシ) メチル基を示し；

置換基群 $\beta 1$ は、ハロゲン原子、オキソ基、シアノ基、 $C_1 - C_6$ アルキル基、ハロゲン化 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基、 $C_1 - C_7$ アルカノイル基、及び $C_1 - C_7$ アルカノイルオキシ基、 $C_3 - C_7$ アルコキシオキシ基、 $(C_1 - C_6$ アルコキシ) カルボニル基、 $(C_1 - C_6$ アルコキシ) カルボキシル基、 $(C_1 - C_6$ アルコキシ) カルバモイル基、 $(C_1 - C_6$ アルキルアミノ) カルボキシル基からなる群を示し；

Q は、下記の式 (II)

【0017】

【化2】



【0018】

で表される基を示し；

L^1 及び L^2 が置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有し、置換基群 $\beta 1$ が、 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基、 $C_1 - C_7$ アルカノイル基、又は $C_1 - C_7$ アルカノイルオキシ基である場合、 L^1 が有する置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基と、 L^2 が有する置換基群 $\beta 1$ から選ばれる置換基は、互いに結合して環状構造を形成していてもよく；

k は、1、2、3、4、5、6 又は 7 を示し；

m は、0 又は 1 を示し；

p は、0、1 又は 2 を示し；

q は、1、2、3 又は 4 を示し；

r は、0、1、2 又は 3 を示し；

但し、 $p + r$ が 2 以上、又は、 $q + r$ が 2 以上である、

(2) R^1 及び R^2 が、独立して、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_1 - C_6$ アルキル基である、(1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(3) R^1 及び R^2 が、独立して、 $C_1 - C_3$ アルキル基である、(1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(4) R^1 及び R^2 が、共にメチル基である、請求項 2 (1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(5) R^1 及び R^2 が、それらの結合する窒素原子と一緒にあって、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい、アゼチジン、ピロリジン、ピペリ

10

20

30

40

50

ジン、アゼパン、ジヒドロピロール、ジヒドロピリジン、テトラヒドロピリジン、ピペラジン、モルホリン、ジヒドロオキサゾール、又はジヒドロチアゾールを形成する、(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(6) R^1 及び R^2 が、それらの結合する窒素原子と一緒にあって、置換基群 α から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい、アゼチジン、ピロリジン、ピペリジン、又はモルホリンを形成する、(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(7) R^1 及び R^2 が、それらの結合する窒素原子と一緒にあって、アゼチジン、ピロリジン、又はモルホリンを形成する、(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(8) R^1 と R^8 が、一緒にあって基 - $(CH_2)_q$ - であり； $p + q$ が2、3又は4であり； R^2 が、置換基群 α から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $C_1 - C_3$ アルキル基である、(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(9) R^2 が、 $C_1 - C_3$ アルキル基である、(8)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(10) R^2 が、メチル基である、(8)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(11) L^1 が、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルキル基、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $C_{17} - C_{19}$ アルケニル基、又は置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_4 \text{ アルキル}) - (Q)_k - (C_4 - C_9 \text{ アルキル})$ 基であり； k が、1、2又は3である、(1) ~ (10) から選択されるいずれか1項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(12) L^1 が、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい、ヘプタデセニル基、オクタデセニル基、ノナデセニル基、ヘプタデカジエニル基、オクタデカジエニル基、ノナデカジエニル基、ヘプタデカトリエニル基、オクタデカトリエニル基、又はノナデカトリエニル基である、(1) ~ (10) から選択されるいずれか1項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(13) L^1 が、(R) - 11 - アセチルオキシ - cis - 8 - ヘプタデセニル基、(R) - 11 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) - cis - 8 - ヘプタデセニル基、cis - 9 - オクタデセニル基 (オレイル基)、cis - 8, 11 - ヘプタデカジエニル基、cis - 9, 12 - オクタデカジエニル基 (リノレイル基)、cis - 10, 13 - ノナデカジエニル基、又は cis - 6, 9, 12 - オクタデカトリエニル基 (リノレニル基) である、(1) ~ (10) から選択されるいずれか1項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(14) L^2 が、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルキル基、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{19}$ アルケニル基、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_4 \text{ アルキル}) - (Q)_k - (C_4 - C_9 \text{ アルキル})$ 基、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $(C_{10} - C_{19} \text{ アルコキシ})$ メチル基、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $(C_{10} - C_{19} \text{ アルケニル})$ オキシメチル基、又は、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_{10} \text{ アルキル}) - (Q)_k - (C_1 - C_{10} \text{ アルコキシ})$ メチル基であり； k が、1、2又は3である、(1) ~ (13) から選択されるいずれか1項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(15) L^2 が、置換基群 β_1 から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい、デシル基、デセニル基、ウンデシル基、ウンデセニル基、ドデシル基、ドデセニル基、デカジエニル基、ウンデカジエニル基、ドデカジエニル基、ヘプタデカジエニル基、

10

20

30

40

50

オクタデカジエニル基、ノナデカジエニル基、ヘプタデカトリエニル基、オクタデカトリエニル基、ノナデカトリエニル基、デシルオキシメチル基、デセニルオキシメチル基、ウンデシルオキシメチル基、ウンデセニルオキシメチル基、ドデシルオキシメチル基、ドデセニルオキシメチル基、デカジエニルオキシメチル基、ウンデカジエニルオキシメチル基、ドデカジエニルオキシメチル基、ヘプタデカジエニルオキシメチル基、オクタデカジエニルオキシメチル基、ノナデカジエニルオキシメチル基、ヘプタデカトリエニルオキシメチル基、オクタデカトリエニルオキシメチル基、又はノナデカトリエニルオキシメチル基である、(1)～(13)から選択されるいずれか1項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(16) L^2 が、デシル基、cis-7-デセニル基、(R)-11-アセチルオキシ-cis-8-ヘプタデセニル基、(R)-11-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イルオキシ)-cis-8-ヘプタデセニル基、cis-9-オクタデセニル基(オレイル基)、cis-8,11-ヘプタデカジエニル基、cis-9,12-オクタデカジエニル基(リノレイル基)、cis-10,13-ノナデカジエニル基、cis-6,9,12-オクタデカトリエニル基(リノレニル基)、デシルオキシメチル基、cis-7-デセニルオキシメチル基、(R)-11-アセチルオキシ-cis-8-ヘプタデセニルオキシメチル基、(R)-11-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イルオキシ)-cis-8-ヘプタデセニルオキシメチル基、cis-9-オクタデセニルオキシメチル基(オレイルオキシメチル基)、cis-8,11-ヘプタデカジエニルオキシメチル基、cis-9,12-オクタデカジエニルオキシメチル基(リノレイルオキシメチル基)、cis-10,13-ノナデカジエニルオキシメチル基、又はcis-6,9,12-オクタデカトリエニルオキシメチル基(リノレニルオキシメチル基)である、(1)～(13)から選択されるいずれか1項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(17) mが、0である、(1)～(16)から選択されるいずれか1項に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(18) R^1 及び R^2 が共にメチル基であり； R^8 が水素原子であり； L^1 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17}-C_{19}$ アルキル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17}-C_{19}$ アルケニル基であり； L^2 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10}-C_{19}$ アルキル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10}-C_{19}$ アルケニル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10}-C_{19}$ アルコキシ)メチル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10}-C_{19}$ アルケニル)オキシメチル基であり；p+rが2であり；mが0である、(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(19) R^2 がメチル基であり； R^1 及び R^8 が一緒になって基-(CH_2)_q-であり； L^1 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17}-C_{19}$ アルキル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17}-C_{19}$ アルケニル基であり； L^2 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10}-C_{19}$ アルキル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10}-C_{19}$ アルケニル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10}-C_{19}$ アルコキシ)メチル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10}-C_{19}$ アルケニル)オキシメチル基であり；pが2であり；qが2であり；rが0であり；mが0である、(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(20) R^2 がメチル基であり； R^1 及び R^8 が一緒になって基-(CH_2)_q-であり； L^1 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17}-C_{19}$ アルキル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{17}-C_{19}$ アルケニル基であり； L^2 が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10}-C_{19}$ アルキル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい $C_{10}-C_{19}$ アルケニル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい($C_{10}-C_{19}$ アルコキシ)メチル基、

10

20

30

40

50

又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい(C₁₀ - C₁₉ アルケニル)オキシメチル基であり；pが1であり；qが2又は3であり；rが1であり；mが0である、(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

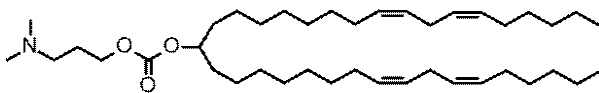
(21) R²がメチル基であり；R¹及びR⁸が一緒になって基-(CH₂)_q-であり；L¹が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよいC₁₇ - C₁₉ アルキル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよいC₁₇ - C₁₉ アルケニル基であり；L²が、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよいC₁₀ - C₁₉ アルキル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよいC₁₀ - C₁₉ アルケニル基、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい(C₁₀ - C₁₉ アルコキシ)メチル基、又は、1個のアセチルオキシ基で置換されていてもよい(C₁₀ - C₁₉ アルケニル)オキシメチル基であり；pが0であり；qが3又は4であり；rが2であり；mが0である、(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

10

(22) 式

【0019】

【化3】



【0020】

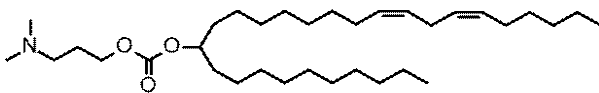
で表される(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

20

(23) 式

【0021】

【化4】



【0022】

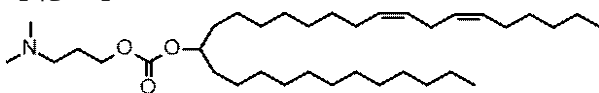
で表される(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(24) 式

【0023】

30

【化5】



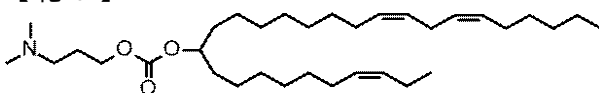
【0024】

で表される(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(25) 式

【0025】

【化6】



40

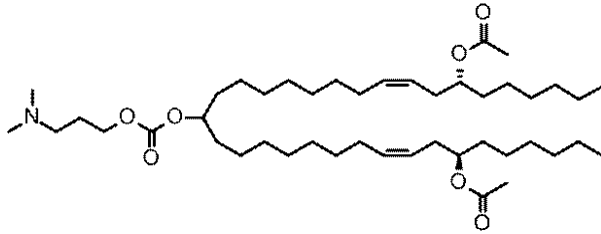
【0026】

で表される(1)に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(26) 式

【0027】

【化 7】



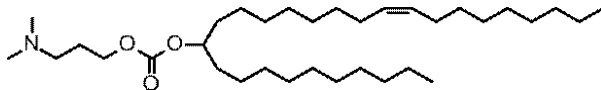
【 0 0 2 8 】

で表される (1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、
(2 7) 式

10

【 0 0 2 9 】

【化 8】

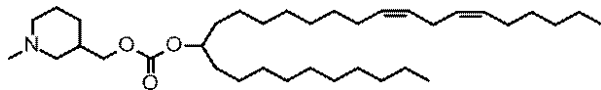


【 0 0 3 0 】

で表される (1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、
(2 8) 式

【 0 0 3 1 】

【化 9】



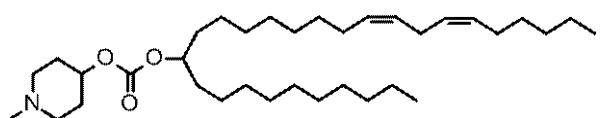
20

【 0 0 3 2 】

で表される (1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、
(2 9) 式

【 0 0 3 3 】

【化 1 0】



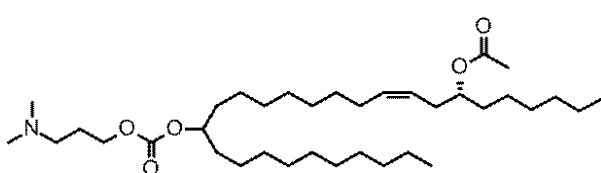
30

【 0 0 3 4 】

で表される (1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、
(3 0) 式

【 0 0 3 5 】

【化 1 1】



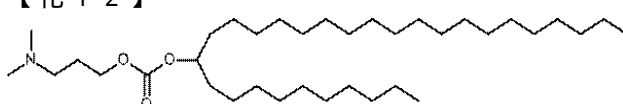
40

【 0 0 3 6 】

で表される (1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、
(3 1) 式

【 0 0 3 7 】

【化 1 2】



【 0 0 3 8 】

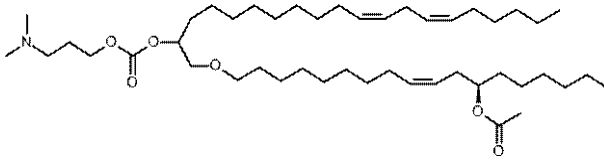
50

で表される (1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(3 2) 式

【 0 0 3 9 】

【 化 1 3 】



【 0 0 4 0 】

で表される (1) に記載のカチオン性脂質、又はその薬理上許容される塩、

(3 3) (1) ~ (3 2) から選択される少なくともいずれか 1 項に記載のカチオン性脂質を含有する脂質粒子、

(3 4) 脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質を含有することを特徴とする、(3 3) に記載の脂質粒子、

(3 5) 脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が PEG-脂質である、(3 4) に記載の脂質粒子、

(3 6) PEG-脂質が、N-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン(PEG-C-DMA)、又は1,2-ジミリストイル-sn-グリセロールメトキシポリエチレングリコールである、(3 5) に記載の脂質粒子、

(3 7) PEG-脂質が、N-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン(PEG-C-DMA)である、(3 5) に記載の脂質粒子、

(3 8) PEG-脂質が、N-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-1,2-ジパルミチルオキシプロピル-3-アミン(PEG-C-DPA)、又は1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロールメトキシポリエチレングリコールである、(3 5) に記載の脂質粒子、

(3 9) PEG-脂質が、N-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-1,2-ジパルミチルオキシプロピル-3-アミン(PEG-C-DPA)である、(3 5) に記載の脂質粒子、

(4 0) PEG-脂質が、N-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-1,2-ジステアリルオキシプロピル-3-アミン(PEG-C-DSA)、又は1,2-ジステアロイル-sn-グリセロールメトキシポリエチレングリコールである、(3 5) に記載の脂質粒子、

(4 1) PEG-脂質が、N-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-1,2-ジステアリルオキシプロピル-3-アミン(PEG-C-DSA)である、(3 5) に記載の脂質粒子、

(4 2) PEGの分子量が1,000乃至5,000である、(3 5) ~ (4 1) から選択されるいずれか 1 項に記載の脂質粒子、

(4 3) PEGの分子量が1,800乃至2,200である、(3 5) ~ (4 1) から選択されるいずれか 1 項に記載の脂質粒子、

(4 4) ステロール類を含有することを特徴とする、(3 3) ~ (4 3) から選択されるいずれか 1 項に記載の脂質粒子、

(4 5) ステロール類がコレステロールである、(4 4) に記載の脂質粒子、

(4 6) 両親媒性脂質を含有することを特徴とする、(3 3) ~ (4 5) から選択されるいずれか 1 項に記載の脂質粒子、

(4 7) 両親媒性脂質が、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)、ジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)、ジミリストリルホスファチジルコリン(DMPC)、1-パルミトイル-2-オレオイルホスファチジルコリン(POPC)、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン(DOPE)、及びスフィンゴミエリン(S

10

20

30

40

50

M) から選択される少なくともいずれか一つである、(46)に記載の脂質粒子、

(48) 両親媒性脂質が、ジステアロイルホスファチジルコリン(DSPC)又はジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)である、(46)に記載の脂質粒子、

(49) 両親媒性脂質、ステロール類、カチオン性脂質、及び脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質の脂質組成が、モル量にて、両親媒性脂質が25%以下、ステロール類が15%以上、カチオン性脂質が20%~70%、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が1%~10%である、(46)~(48)から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子、

(50) 両親媒性脂質、ステロール類、カチオン性脂質、及び脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質の脂質組成が、モル量にて、両親媒性脂質が15%以下、ステロール類が32%以上、カチオン性脂質が45%~65%、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が1.5%~3%である、(46)~(48)から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子、

10

(51) (33)~(50)から選択されるいずれか1項に記載の脂質粒子と核酸を含むことからなる核酸脂質粒子、

(52) 核酸が1本鎖DNA、1本鎖RNA、DNAとRNAが混合した1本鎖ポリヌクレオチド、2本鎖DNA、2本鎖RNA、DNA-RNAのハイブリッドポリヌクレオチド及びDNAとRNAが混合した2種のポリヌクレオチドからなる群から選択されるいずれか一つである、(51)に記載の核酸脂質粒子、

(53) 核酸がRNA干渉作用を有する1本鎖又は2本鎖ポリヌクレオチドである、(51)に記載の核酸脂質粒子、

20

(54) 核酸が1本鎖RNAである、(51)に記載の核酸脂質粒子、

(55) カチオン性脂質の分子数(N)と核酸由来のリン原子数(P)の比率が、2.0~9.0である、(51)~(54)のいずれか1項に記載の核酸脂質粒子、

(56) カチオン性脂質の分子数(N)と核酸由来のリン原子数(P)の比率が、3.0~9.0である、(51)~(54)のいずれか1項に記載の核酸脂質粒子、

(57) 平均粒子径が約30nm~約300nmである、(51)~(56)から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子、

(58) 平均粒子径が約30nm~約200nmである、(51)~(56)から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子、

30

(59) 平均粒子径が約30nm~約100nmである、(51)~(56)から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子、

(60) (51)~(59)から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子を有効成分として含有する医薬、

(61) 標的遺伝子発現に由来する疾患を治療又は予防するための、(60)に記載の医薬、

(62) 標的遺伝子発現に由来する疾患が、癌、肝臓疾患、胆のう疾患、線維症、貧血、又は遺伝子疾患である、(60)に記載の医薬、

(63) (51)~(59)から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子を哺乳動物に投与することによる、標的遺伝子の発現抑制方法、

40

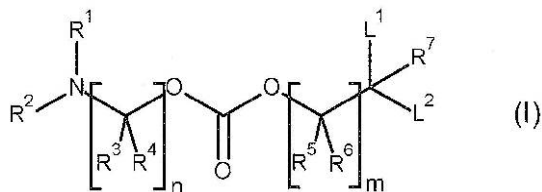
(64) (51)~(59)から選択されるいずれか1項に記載の核酸脂質粒子を哺乳動物に投与することによる、標的遺伝子発現に由来する疾患の治療又は予防のための方法、

(65) 標的遺伝子発現に由来する疾患が癌である、(64)に記載の方法、及び、

(66) 一般式(I)で表されるカチオン性脂質

【0041】

【化 1 4】



【 0 0 4 2 】

式中、

R^1 及び R^2 は、独立して、水素原子、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_1 - C_6$ アルキル基、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_2 - C_6$ アルケニル基、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_2 - C_6$ アルキニル基、又は置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_3 - C_7$ シクロアルキル基を示し、又は、 R^1 及び R^2 は、それらの結合する窒素原子と一緒にあって 3 員 - 10 員の複素環を形成し、当該複素環は、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよく、当該複素環の構成原子として、 R^1 及び R^2 が結合する窒素原子に加えて、窒素原子、酸素原子、又は硫黄原子を 1 若しくは複数個含んでいてもよく；

R^3 及び R^4 は、独立して、水素原子、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_1 - C_6$ アルキル基を示し、又は R^3 及び R^4 は、それらの結合する炭素原子と一緒にあって 3 員 - 10 員の炭化水素環を形成し；

或いは、 R^1 は、 R^1 の結合する窒素原子、 R^3 、及び R^3 の結合する炭素原子と一緒にあって 3 員 - 10 員の複素環を形成し、当該複素環は、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよく、当該複素環の構成原子として、 R^1 が結合する窒素原子に加えて、窒素原子、酸素原子、又は硫黄原子を 1 若しくは複数個含んでいてもよく；

R^2 及び R^4 は、独立して、水素原子、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_1 - C_6$ アルキル基、置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_2 - C_6$ アルケニル基、又は置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_2 - C_6$ アルキニル基を示し；

R^5 及び R^6 は、独立して、水素原子、又は $C_1 - C_3$ アルキル基を示し；

R^7 は、水素原子、又は置換基群 α から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_1 - C_6$ アルキル基を示し；

置換基群 α は、ハロゲン原子、オキソ基、水酸基、スルファニル基、アミノ基、シアノ基、 $C_1 - C_6$ アルキル基、ハロゲン化 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基、 $C_1 - C_6$ アルキルアミノ基、及び $C_1 - C_7$ アルカノイル基からなる群を示し；

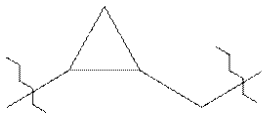
L^1 及び L^2 は、独立して、置換基群 β から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルキル基、置換基群 β から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルケニル基、置換基群 β から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $C_3 - C_{24}$ アルキニル基、置換基群 β から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_{10} \text{ アルキル}) - (Q)_k - (C_1 - C_{10} \text{ アルキル})$ 基を示し；

置換基群 β は、ハロゲン原子、オキソ基、水酸基、スルファニル基、アミノ基、シアノ基、 $C_1 - C_6$ アルキル基、ハロゲン化 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基、 $C_1 - C_7$ アルカノイル基、及び $C_1 - C_7$ アルカノイルオキシ基、 $C_3 - C_7$ アルコキシオキシ基、 $C_1 - C_6$ アルコキシカルボニル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシカルボキシル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシカルバモイル基、 $C_1 - C_6$ アルキルアミノカルボキシル基からなる群を示し；

Q は、下記の式 (I I)

【 0 0 4 3 】

【 化 1 5 】



(II)

【 0 0 4 4 】

で表される基を示し；

L^1 及び L^2 が置換基群 β から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有し、置換基群 β がスルファニル基、 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基、 $C_1 - C_7$ アルカノイル基、又は $C_1 - C_7$ アルカノイルオキシ基である場合、 L^1 が有する置換基群 β から選ばれる置換基と、 L^2 が有する置換基群 β から選ばれる置換基は、互いに結合して環状構造を形成していてもよく；

k は、1 乃至 7 の整数を示し；

m は、0 乃至 1 の整数を示し；

n は、3 乃至 6 の整数を示す、

からなる。

【 発明の効果 】

【 0 0 4 5 】

本発明により、脂質粒子を形成する、新規カチオン性脂質を提供することができた。

【 0 0 4 6 】

また、本発明により、両親媒性脂質、ステロール類、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質と組み合わせることで脂質粒子を形成する新規カチオン性脂質を提供することができた。

【 0 0 4 7 】

また、本発明により、該カチオン性脂質を含む脂質粒子を提供することができた。

【 0 0 4 8 】

また、本発明により、該脂質粒子に更に核酸が含まれる核酸脂質粒子を提供することができた。

【 0 0 4 9 】

また、本発明により、該核酸脂質粒子を有効成分として含有する医薬組成物を提供することができた。

【 0 0 5 0 】

また、本発明により、該医薬組成物を用いた、疾患の治療方法を提供することができた。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 5 1 】

【 図 1 】式 (I) で表されるカチオン性脂質の合成に用いられる中間体 (A5) の製法の概要を示す図。

【 図 2 】式 (I) で表されるカチオン性脂質の合成に用いられる B 法の概要を示す図。

【 図 3 】式 (I) で表されるカチオン性脂質の合成に用いられる C 法の概要を示す図。

【 図 4 】核酸脂質粒子を構成する核酸のうち、2 本鎖構造を有する核酸の構造を示す図。図中、上がセンス鎖、下がアンチセンス鎖を示す。シンボルのうち、白四角 ($\square$) は RNA、黒丸 ($\bullet$) は DNA、白丸 ($\circ$) は 2' - O - メチル RNA を示す。各シンボル間の線は、ヌクレオシド間のリン酸ジエステル結合を示す。図中の p は - P (= O) (OH) - を示し、p が結合している場合、ポリヌクレオチドの末端の水酸基の水素原子は除かれる。ポリヌクレオチドの末端に何も結合していない場合、RNA、DNA、或いは、2' - O - メチル RNA の 3' 末端或いは 5' 末端は OH 基である。X は明細書中で「3 - 4 - 2 . 修飾 2 本鎖ポリヌクレオチド」の項で記載しているアンチセンス鎖の 5' 末端を修飾する化合物である。linker は、明細書中で「3 - 4 - 3 . 修飾 1 本鎖ポリヌクレオチド」の項で記載しているポリヌクレオチドのリンカーである。

10

20

30

40

50

【図5】試験例10における、実施例19、45、及び、54の化合物を有する核酸脂質粒子が腫瘍中で示すPLK-1発現抑制活性の図。

【図6】試験例11における、実施例8の化合物を含む核酸脂質粒子が、mRNAの発現を促進することを示す図。図の上段はHoechstにより染色された核の画像を、下段はmCherryの画像を示している。

【発明を実施するための形態】

【0052】

以下、本発明の実施の形態について詳細に説明する。

【0053】

1. カチオン性脂質

本明細書において開示するカチオン性脂質は、それ自体単独で用いることもできるし、他の物質と組み合わせて用いることもできる、例えば、脂質粒子を構成する成分として用いることもできるし、核酸脂質粒子を構成する成分として用いることもできる。

【0054】

1-1. 基の定義

本発明において、「カチオン性脂質」とは、生理学的pHなどの選択したpHにおいて、その脂質の有するpKaに応じて一部の分子が正味の正電荷を有する脂質である。本発明のカチオン性脂質は、イオン化することができる脂質 (ionizable lipid) であり、いかなるpHにおいても全部の分子が正味の正電荷を有する脂質である4級アミンを有するカチオン性脂質 (例えば、N,N-ジオレイル-N,N-ジメチルアンモニウムクロリド (DODAC)) とは異なる。

【0055】

R¹、R²、R³、R⁴、R⁷、R⁸、置換基群α、及び置換基群βの定義における「C₁-C₆アルキル基」とは、炭素数1乃至6個の直鎖、又は分枝鎖のアルキル基を示す。例えば、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、sec-ブチル基、tert-ブチル基、n-ペンチル基、イソペンチル基、2-メチルブチル基、ネオペンチル基、1-エチルプロピル基、n-ヘキシル基、4-メチルペンチル基、3-メチルペンチル基、2-メチルペンチル基、1-メチルペンチル基、3,3-ジメチルブチル基、2,2-ジメチルブチル基、1,1-ジメチルブチル基、1,2-ジメチルブチル基、1,3-ジメチルブチル基、2,3-ジメチルブチル基、2-エチルブチル基等を挙げることができる。C₁-C₆アルキル基は、好適には、C₁-C₄アルキル基であり、より好適には、C₁-C₃アルキル基である。

【0056】

R¹、R²、R³、R⁵、及びR⁶の定義における「C₁-C₃アルキル基」とは、炭素数1乃至3個の直鎖、又は分枝鎖のアルキル基を示す。例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基を挙げることができ、好適には、メチル基である。

【0057】

R¹、R²、及びR⁴の定義における「C₂-C₆アルケニル基」とは、炭素数2乃至6個の直鎖、又は分枝鎖のアルケニル基を示す。例えば、ビニル基、1-プロペニル基、2-プロペニル基、イソプロペニル基、1-メチル-2-プロペニル基、2-メチル-2-プロペニル基、1-ブテニル基、2-ブテニル基、3-ブテニル基、2-メチル-1-プロペニル基、1-ペンテニル基、4-ペンテニル基、1-メチル-4-ペンテニル基、5-ヘキセニル基を挙げることができる。

【0058】

R¹、R²、及びR⁴の定義における「C₂-C₆アルキニル基」とは、炭素数2乃至6個の直鎖、又は分枝鎖のアルキニル基を示す。例えば、エチニル基、1-プロピニル基、2-プロピニル基、1-メチル-2-プロピニル基、1-ブチニル基、2-ブチニル基、3-ブチニル基、1-ペンチニル基、4-ペンチニル基、1-メチル-4-ペンチニル基、5-ヘキシニル基を挙げることができる。

【0059】

10

20

30

40

50

R^1 、及び R^2 の定義における「 $C_3 - C_7$ シクロアルキル基」とは、炭素数3乃至7個のシクロアルキル基を示す。例えば、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基を挙げることができる。

【0060】

R^1 、 R^2 、及び R^3 の定義における「3員 - 10員の複素環」とは、窒素原子を少なくとも1個含み、更に、窒素原子、硫黄原子及び酸素原子からなる群より選ばれる原子を1若しくは複数個含んでいてもよい、飽和、若しくは部分不飽和の3乃至10員の単環、又は2環の複素環基を示す。例えば、アゼチジン、ピロリジン、ピペリジン、アゼパン、ジヒドロピロール、ジヒドロピリジン、テトラヒドロピリジン、ピペラジン、モルホリン、ジヒドロオキサゾール、又はジヒドロチアゾールを挙げることができる。 R^1 及び R^2 が、それらの結合する窒素原子と一緒に形成する複素環は、好適には、アゼチジン、ピロリジン、又はモルホリンである。 R^1 が、 R^1 の結合する窒素原子、 R^3 、及び R^3 の結合する炭素原子と一緒に形成する複素環は、好適には、アゼチジン、ピロリジン、ピペリジン、又はモルホリンである。

10

【0061】

R^3 及び R^4 の定義における「3員 - 10員の炭化水素環」とは、炭素数3乃至10個の飽和炭化水素環基を示す。例えば、シクロプロピル基、シクロブチル基、シクロペンチル基、シクロヘキシル基、シクロヘプチル基、シクロオクチル基、シクロノニル基、シクロデカニル基を挙げることができる。

【0062】

20

置換基群 α 、及び置換基群 β の定義における「ハロゲン原子」とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子又はヨウ素原子であり、好適には、フッ素原子である。

【0063】

置換基群 α 、及び置換基群 β の定義における「ハロゲン化 $C_1 - C_6$ アルキル基」とは、上記「 $C_1 - C_6$ アルキル基」の1個又は2個の水素原子が、上記「ハロゲン原子」で置換された基を示す。例えば、フルオロメチル基、クロロメチル基、1 - フルオロエチル基、1 - クロロエチル基、2 - フルオロエチル基、1, 2 - ジフルオロプロピル基を挙げることができる。ハロゲン化 $C_1 - C_6$ アルキル基は、好適には、ハロゲン化 $C_1 - C_4$ アルキル基であり、より好適には、ハロゲン化 $C_1 - C_3$ アルキル基である。

【0064】

30

置換基群 α 、及び置換基群 β の定義における「 $C_1 - C_6$ アルコキシ基」とは、上記「 $C_1 - C_6$ アルキル基」が酸素原子に結合した基を示す。例えば、メトキシ基、エトキシ基、 n - プロポキシ基、 n - ブトキシ基、 s - ブトキシ基、 $tert$ - ブトキシ基、 n - ペントキシ基を挙げることができる。 $C_1 - C_6$ アルコキシ基は、好適には、 $C_1 - C_4$ アルコキシ基であり、より好適には、 $C_1 - C_2$ アルコキシ基である。

【0065】

置換基群 α 、及び置換基群 β の定義における「 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基」とは、上記「 $C_1 - C_6$ アルキル基」が硫黄原子に結合した基を示す。例えば、メチルスルファニル基、エチルスルファニル基、 n - プロピルスルファニル基、 n - ブチルスルファニル基、 s - ブチルスルファニル基、 $tert$ - ブチルスルファニル基、 n - ペンチルスルファニル基を挙げることができる。 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基は、好適には、 $C_1 - C_4$ アルキルスルファニル基であり、より好適には、 $C_1 - C_2$ アルキルスルファニル基である。

40

【0066】

置換基群 α の定義における「 $C_1 - C_6$ アルキルアミノ基」とは、上記「 $C_1 - C_6$ アルキル基」が窒素原子に結合した基を示す。例えば、メチルアミノ基、エチルアミノ基、 n - プロピルアミノ基、 n - ブチルアミノ基、 s - ブチルアミノ基、 $tert$ - ブチルアミノ基、 n - ペンチルアミノ基、 n - ヘキシルアミノ基、 N, N - ジメチルアミノ基、 N, N - ジエチルアミノ基、 N, N - ジ n - プロピルアミノ基、 N, N - ジイソプロピルアミノ基、 N, N - ジ n - ブチルアミノ基、 N, N - ジイソブチルアミノ基、 N, N - ジ s

50

- ブチルアミノ基、N, N - ジtert - ブチルアミノ基を挙げることができる。C₁ - C₆ アルキルアミノ基は、好適には、C₁ - C₄ アルキルアミノ基であり、より好適には、C₁ - C₂ アルキルアミノ基である。

【0067】

置換基群α、及び置換基群βの定義における「C₁ - C₇ アルカノイル基」とは、炭素数1乃至7個のアルカノイル基を示す。例えば、ホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル基、ペンタノイル基、ピバロイル基、バレリル基、イソバレリル基、ヘキサノイル基、ヘプタノイル基を挙げることができる。

【0068】

置換基群βの定義における「C₁ - C₇ アルカノイルオキシ基」とは、上記「C₁ - C₇ アルカノイル基」が酸素原子に結合した基を示す。例えば、ホルミルオキシ基、アセチルオキシ基、プロピオニルオキシ基、ブチリルオキシ基、イソブチリルオキシ基、ペンタノイルオキシ基、ピバロイルオキシ基、バレリルオキシ基、イソバレリルオキシ基、ヘキサノイルオキシ基、ヘプタノイルオキシ基を挙げることができる。

10

【0069】

置換基群βの定義における「C₃ - C₇ アルコキシオキシ基」とは、炭素数3乃至7の直鎖、分枝鎖、又は環状アルカンの1個又は2個の炭素原子が酸素原子で置換され、さらに酸素原子に結合した基（但し、過酸化物を除く。）を示す。例えば、メトキシメトキシ基、エトキシメトキシ基、エトキシメトキシ基、エトキシエトキシ基、2 - テトラヒドロフラニルオキシ基、2 - テトラヒドロピラニルオキシ基を挙げることができる。

20

【0070】

置換基群βの定義における「(C₁ - C₆ アルコキシ)カルボニル基」とは、上記「C₁ - C₆ アルコキシ基」がカルボニル基に結合した基を示す。例えば、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、プロボキシカルボニル基、イソプロボキシカルボニル基、ブトキシカルボニル基、イソブトキシカルボニル基、sec - ブトキシカルボニル基、tert - ブトキシカルボニル基、ペンチルオキシカルボニル基、ヘキシルオキシカルボニル基等を挙げることができる。

【0071】

置換基群βの定義における「(C₁ - C₆ アルコキシ)カルボキシル基」とは、上記「C₁ - C₆ アルコキシ基」がカルボキシル基に結合した基を示す。例えば、メトキシカルボキシル基、エトキシカルボキシル基、プロボキシカルボキシル基、イソプロボキシカルボキシル基、ブトキシカルボキシル基、イソブトキシカルボキシル基、sec - ブトキシカルボキシル基、tert - ブトキシカルボキシル基、ペンチルオキシカルボキシル基、ヘキシルオキシカルボキシル基等を挙げることができる。

30

【0072】

置換基群βの定義における「(C₁ - C₆ アルコキシ)カルバモイル基」とは、上記「C₁ - C₆ アルコキシ基」がカルバモイル基に結合した基を示す。例えば、メトキシカルバモイル基、エトキシカルバモイル基、プロボキシカルバモイル基、イソプロボキシカルバモイル基、ブトキシカルバモイル基、イソブトキシカルバモイル基、sec - ブトキシカルバモイル基、tert - ブトキシカルバモイル基、ペンチルオキシカルバモイル基、ヘキシルオキシカルバモイル基等を挙げることができる。

40

【0073】

置換基群βの定義における「(C₁ - C₆ アルキルアミノ)カルボキシル基」とは、上記「C₁ - C₆ アルキルアミノ基」がカルボキシル基に結合した基を示す。例えば、メチルアミノカルボキシル基、エチルアミノカルボキシル基、n - プロピルアミノカルボキシル基、n - ブチルアミノカルボキシル基、s - ブチルアミノカルボキシル基、tert - ブチルアミノカルボキシル基、n - ペンチルアミノカルボキシル基、n - ヘキシルアミノカルボキシル基、N, N - ジメチルアミノカルボキシル基、N, N - ジエチルアミノカルボキシル基、N, N - ジn - プロピルアミノカルボキシル基、N, N - ジイソプロピルアミノカルボキシル基、N, N - ジn - ブチルアミノカルボキシル基、N, N - ジイソブチ

50

ルアミノカルボキシル基、N, N - ジ s - ブチルアミノカルボキシル基、N, N - ジ t e r t - ブチルアミノカルボキシル基等を挙げることができる。

【 0 0 7 4 】

L¹、及び L² の定義における「C₁₀ - C₂₄ アルキル基」とは、炭素数 10 乃至 24 個の直鎖アルキル基を示す。例えば、デシル基、ウンデシル基、ドデシル基、トリデシル基、テトラデシル基、ペンタデシル基、ヘキサデシル基、ヘプタデシル基、オクタデシル基、ノナデシル基、イコシル基、ヘンイコシル基、ドコシル基、トリコシル基、テトラコシル基を挙げることができる。L¹ における「C₁₀ - C₂₄ アルキル基」は、好適には、ヘプタデシル基、オクタデシル基、ノナデシル基である。L² における「C₁₀ - C₂₄ アルキル基」は、好適には、デシル基、ウンデシル基、ドデシル基である。

10

【 0 0 7 5 】

L¹、及び L² の定義における「C₁₀ - C₂₄ アルケニル基」とは、炭素数 10 乃至 24 個の直鎖アルケニル基を示す。本願における「C₁₀ - C₂₄ アルケニル基」は、C₁₀ - C₂₄ アルカジエニル基、C₁₀ - C₂₄ アルカトリエニル基、及び C₁₀ - C₂₄ アルカテトラエニル基のいずれをも含む。例えば、デセニル基、ウンセニル基、ドデセニル基、トリデセニル基、テトラデセニル基、ペンタデセニル基、ヘキサデセニル基、ヘプタデセニル基、オクタデセニル基、ノナデセニル基、イコセニル基、ヘンイコセニル基、ドコセニル基、トリコセニル基、テトラコセニル基、デカジエニル基、ウンデカジエニル基、ドデカジエニル基、トリデカジエニル基、テトラデカジエニル基、ペンタデカジエニル基、ヘキサデカジエニル基、ヘプタデカジエニル基、オクタデカジエニル基、ノナデカジエニル基、イコサジエニル基、ヘンイコサジエニル基、ドコサジエニル基、トリコサジエニル基、テトラコサジエニル基、デカトリエニル基、ウンデカトリエニル基、ドデカトリエニル基、トリデカトリエニル基、テトラデカトリエニル基、ペンタデカトリエニル基、ヘキサデカトリエニル基、ヘプタデカトリエニル基、オクタデカトリエニル基、ノナデカトリエニル基、イコサトリエニル基、ヘンイコサトリエニル基、ドコサトリエニル基、トリコサトリエニル基、又はテトラコサトリエニル基、を挙げることができる。L¹ における「C₁₀ - C₂₄ アルケニル基」は、好適には、ヘプタデセニル基、オクタデセニル基、ノナデセニル基、ヘプタデカジエニル基、オクタデカジエニル基、ノナデカジエニル基、ヘプタデカトリエニル基、オクタデカトリエニル基、又はノナデカトリエニル基である。L¹ は、好適には、(R) - 11 - アセチルオキシ - c i s - 8 - ヘプタデセニル基、(R) - 11 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) - c i s - 8 - ヘプタデセニル基、c i s - 9 - オクタデセニル基 (オレイル基)、c i s - 8, 11 - ヘプタデカジエニル基、c i s - 9, 12 - オクタデカジエニル基 (リノレイル基)、c i s - 10, 13 - ノナデカジエニル基、又は c i s - 6, 9, 12 - オクタデカトリエニル基 (リノレニル基) である。L² における「C₁₀ - C₂₄ アルケニル基」は、好適には、デセニル基、ウンセニル基、ドデセニル基、ヘプタデセニル基、オクタデセニル基、デカジエニル基、ウンデカジエニル基、ドデカジエニル基、ヘプタデカジエニル基、オクタデカジエニル基、ノナデカジエニル基、ヘプタデカトリエニル基、オクタデカトリエニル基、又はノナデカトリエニル基である。L² は、好適には、c i s - 7 - デセニル基、(R) - 11 - アセチルオキシ - c i s - 8 - ヘプタデセニル基、(R) - 11 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) - c i s - 8 - ヘプタデセニル基、c i s - 9 - オクタデセニル基 (オレイル基)、c i s - 8, 11 - ヘプタデカジエニル基、c i s - 9, 12 - オクタデカジエニル基 (リノレイル基)、c i s - 10, 13 - ノナデカジエニル基、又は c i s - 6, 9, 12 - オクタデカトリエニル基 (リノレニル基) である。

20

30

40

【 0 0 7 6 】

L¹、及び L² の定義における「C₃ - C₂₄ アルキニル基」とは、炭素数 3 乃至 24 個の直鎖アルキニル基を示す。本願における「C₃ - C₂₄ アルキニル基」は、C₃ - C₂₄ アルカジイニル基、C₃ - C₂₄ アルカトリエニル基、及び C₃ - C₂₄ アルカテトライニル基のいずれをも含む。例えば、プロピニル基、ブチニル基、ペンチニル基、ヘキ

50

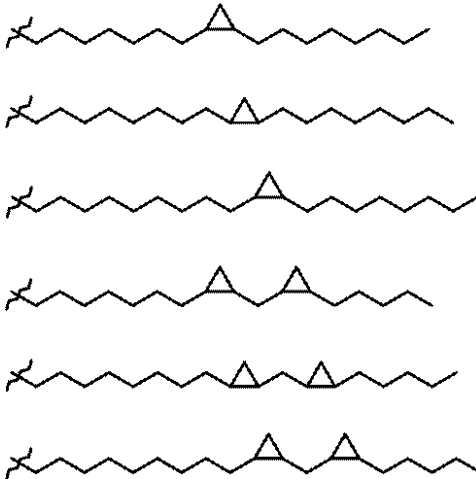
シニル基、ヘプチニル基、オクチニル基、ノニニル基、デシニル基、ウンデシニル基、ドデシニル基、トリデシニル基、テトラデシニル基、ペンタデシニル基、ヘキサデシニル基、ヘプタデシニル基、オクタデシニル基、ノナデシニル基、イコシニル基、ヘンイコシニル基、ドコシニル基、トリコシニル基、又はテトラコシニル基あり、好適にはデシニル基である。

【 0 0 7 7 】

L^1 、及び L^2 の定義における「 $(C_1 - C_{10})$ アルキル) - $(Q)_k$ - $(C_1 - C_{10})$ アルキル) 基」とは、例えば、以下の構造式で示される基である。

【 0 0 7 8 】

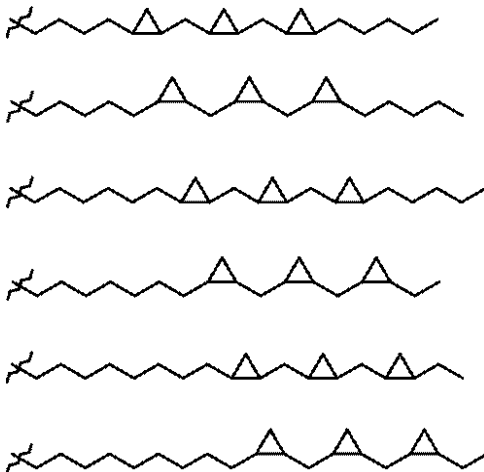
【 化 1 6 】



10

【 0 0 7 9 】

【 化 1 7 】



20

30

【 0 0 8 0 】

L^2 の定義における「 $(C_{10} - C_{24})$ アルコキシ) メチル基」とは、前記「 $C_{10} - C_{24}$ アルキル基」が酸素原子に結合し、当該酸素原子結合したメチル基を示す。例えば、デシルオキシメチル基、ウンデシルオキシメチル基、ドデシルオキシメチル基、トリデシルオキシメチル基、テトラデシルオキシメチル基、ペンタデシルオキシメチル基、ヘキサデシルオキシメチル基、ヘプタデシルオキシメチル基、オクタデシルオキシメチル基、ノナデシルオキシメチル基、イコシルオキシメチル基、ヘンイコシルオキシメチル基、ドコシルオキシメチル基、トリコシルオキシメチル基、テトラコシルオキシメチル基を挙げることができる。好適には、デシルオキシメチル基、ウンデシルオキシメチル基、ドデシルオキシメチル基である。

40

【 0 0 8 1 】

L^2 の定義における「 $(C_{10} - C_{24})$ アルケニル) オキシメチル基」とは、前記「 C

50

$C_{10} - C_{24}$ アルケニル基」が酸素原子に結合し、当該酸素原子が結合したメチル基を示す。本願における「($C_{10} - C_{24}$ アルケニル) オキシメチル基」は、($C_{10} - C_{24}$ アルカジエニル) オキシメチル基、($C_{10} - C_{24}$ アルカトリエニル) オキシメチル基、及び($C_{10} - C_{24}$ アルカテトラエニル) オキシメチル基のいずれをも含む。例えば、デセニルオキシメチル基、ウンセニルオキシメチル基、ドデセニルオキシメチル基、トリデセニルオキシメチル基、テトラデセニルオキシメチル基、ペンタデセニルオキシメチル基、ヘキサデセニルオキシメチル基、ヘプタデセニルオキシメチル基、オクタデセニルオキシメチル基、ノナデセニルオキシメチル基、イコセニルオキシメチル基、ヘンイコセニルオキシメチル基、ドコセニルオキシメチル基、トリコセニルオキシメチル基、テトラコセニルオキシメチル基、デカジエニルオキシメチル基、ウンデカジエニルオキシメチル基、ドデカジエニルオキシメチル基、トリデカジエニルオキシメチル基、テトラデカジエニルオキシメチル基、ペンタデカジエニルオキシメチル基、ヘキサデカジエニルオキシメチル基、ヘプタデカジエニルオキシメチル基、オクタデカジエニルオキシメチル基、ノナデカジエニルオキシメチル基、イコサジエニルオキシメチル基、ヘンイコサジエニルオキシメチル基、ドコサジエニルオキシメチル基、トリコサジエニルオキシメチル基、テトラコサジエニルオキシメチル基、デカトリエニルオキシメチル基、ウンデカトリエニルオキシメチル基、ドデカトリエニルオキシメチル基、トリデカトリエニルオキシメチル基、テトラデカトリエニルオキシメチル基、ペンタデカトリエニルオキシメチル基、ヘキサデカトリエニルオキシメチル基、ヘプタデカトリエニルオキシメチル基、オクタデカトリエニルオキシメチル基、ノナデカトリエニルオキシメチル基、イコサトリエニルオキシメチル基、ヘンイコサトリエニルオキシメチル基、ドコサトリエニルオキシメチル基、トリコサトリエニルオキシメチル基、又はテトラコサトリエニルオキシメチル基、を挙げることができる。好適には、デセニルオキシメチル基、ウンセニルオキシメチル基、ドデセニルオキシメチル基、ヘプタデセニルオキシメチル基、オクタデセニルオキシメチル基、デカジエニルオキシメチル基、ウンデカジエニルオキシメチル基、ドデカジエニルオキシメチル基、ヘプタデカジエニルオキシメチル基、オクタデカジエニルオキシメチル基、ノナデカジエニルオキシメチル基、ヘプタデカトリエニルオキシメチル基、オクタデカトリエニルオキシメチル基、又はノナデカトリエニルオキシメチル基であり、より好適には、*cis*-7-デセニルオキシメチル基、(*R*)-11-アセチルオキシ-*cis*-8-ヘプタデセニルオキシメチル基、(*R*)-11-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イルオキシ)-*cis*-8-ヘプタデセニルオキシメチル基、*cis*-9-オクタデセニルオキシメチル基(オレイルオキシメチル基)、*cis*-8,11-ヘプタデカジエニルオキシメチル基、*cis*-9,12-オクタデカジエニルオキシメチル基(リノレイルオキシメチル基)、*cis*-10,13-ノナデカジエニルオキシメチル基、又は*cis*-6,9,12-オクタデカトリエニルオキシメチル基(リノレニルオキシメチル基)である。

【0082】

L^2 の定義における「($C_3 - C_{24}$ アルキニル) オキシメチル基」とは、前記「 $C_3 - C_{24}$ アルキニル基」が酸素原子に結合し、当該酸素原子が結合したメチル基を示す。本願における「($C_3 - C_{24}$ アルキニル) オキシメチル基」は、($C_3 - C_{24}$ アルカジイニル) オキシメチル基、($C_3 - C_{24}$ アルカトリエニル) オキシメチル基、及び($C_3 - C_{24}$ アルカテトライニル) オキシメチル基のいずれをも含む。例えば、プロピニルオキシメチル基、ブチニルオキシメチル基、ペンチニルオキシメチル基、ヘキシニルオキシメチル基、ヘプチニルオキシメチル基、オクチニルオキシメチル基、ノニニルオキシメチル基、デシニルオキシメチル基、ウンデシニルオキシメチル基、ドデシニルオキシメチル基、トリデシニルオキシメチル基、テトラデシニルオキシメチル基、ペンタデシニルオキシメチル基、ヘキサデシニルオキシメチル基、ヘプタデシニルオキシメチル基、オクタデシニルオキシメチル基、ノナデシニルオキシメチル基、イコシニルオキシメチル基、ヘンイコシニルオキシメチル基、ドコシニルオキシメチル基、トリコシニルオキシメチル基、又はテトラコシニルオキシメチル基あり、好適にはデシニルオキシメチル基である。

【0083】

L^2 の定義における「 $(C_1 - C_{10}$ アルキル) - $(Q)_k$ - $(C_1 - C_{10}$ アルキル) オキシメチル基」とは、前記「 $(C_1 - C_{10}$ アルキル) - $(Q)_k$ - $(C_1 - C_{10}$ アルキル) 基」が酸素原子に結合し、当該酸素原子が結合したメチル基である。

【0084】

L^1 及び L^2 が置換基群 β から選ばれる置換基を 1 若しくは複数個有し、 L^1 が有する置換基群 β から選ばれる置換基と、 L^2 が有する置換基群 β から選ばれる置換基が、互いに結合して環状構造を形成している場合における置換基群 β は、好適には、 $C_2 - C_6$ アルカノイルオキシ基であり、より好適には、プロピオニルオキシ基である。より具体的には、 L^1 が有する置換基群 β から選ばれる置換基と、 L^2 が有する置換基群 β から選ばれる置換基は、互いに結合して、基 - $OCOCH_2CH_2COO$ - を形成する。

10

【0085】

本願における置換基群 β は、好適には、ハロゲン原子、オキシ基、シアノ基、 $C_1 - C_6$ アルキル基、ハロゲン化 $C_1 - C_6$ アルキル基、 $C_1 - C_6$ アルコキシ基、 $C_1 - C_6$ アルキルスルファニル基、 $C_1 - C_7$ アルカノイル基、及び $C_1 - C_7$ アルカノイルオキシ基、 $C_3 - C_7$ アルコキシオキシ基、 $(C_1 - C_6$ アルコキシ) カルボニル基、 $(C_1 - C_6$ アルコキシ) カルボキシル基、 $(C_1 - C_6$ アルコキシ) カルバモイル基、 $(C_1 - C_6$ アルキルアミノ) カルボキシル基からなる群 (置換基群 $\beta 1$) であり、より好適には、 $C_2 - C_5$ アルカノイルオキシ基であり、更により好適には、アセチルオキシ基又はプロピオニルオキシ基であり、特に好適にはアセチルオキシ基である。

【0086】

20

本発明のカチオン性脂質は、常法により「薬理上許容される塩」にすることができ、そのような塩としては、好適にはナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩のようなアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩のようなアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、鉄塩、亜鉛塩、銅塩、ニッケル塩、コバルト塩等の金属塩；アンモニウム塩のような無機塩、*t*-オクチルアミン塩、ジベンジルアミン塩、モルホリン塩、グルコサミン塩、フェニルグリシンアルキルエステル塩、エチレンジアミン塩、*N*-メチルグルカミン塩、グアニジン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、*N*, *N*'-ジベンジリエチレンジアミン塩、クロロプロカイン塩、プロカイン塩、ジエタノールアミン塩、*N*-ベンジル-フェネチルアミン塩、ピペラジン塩、テトラメチルアンモニウム塩、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩のような有機塩等のアミン塩；弗化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、沃化水素酸塩のようなハロゲン原子化水素酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、燐酸塩等の無機酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩のような低級アルカンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、*p*-トルエンスルホン酸塩のようなアリ-ルスルホン酸塩、酢酸塩、りんご酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、蔞酸塩、マレイン酸塩等の有機酸塩；及び、グリシン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、グルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩を挙げることができる。

30

【0087】

本発明のカチオン性脂質は、水和物又は溶媒和物としても存在することができ、本発明は、それらの水和物又は溶媒和物をも包含する。

40

【0088】

本発明のカチオン性脂質には、立体異性体、幾何異性体、アトロープ異性体が存在する場合があります、特に明示しない限り、本発明はそれらの異性体及び任意の異性体の任意の割合の混合物をも包含する。

【0089】

1 - 2 . カチオン性脂質の具体例

本発明のカチオン性脂質の具体例としては、例えば、以下の表 1 に記載の化合物 1 - 1 乃至 1 - 481、表 2 に記載の化合物 2 - 1 乃至 2 - 570 を挙げることができる。表 1 及び表 2 中における「C17 - 1」は、*cis*-8-ヘプタデセニル基を表し、「C18 - 1」は、*cis*-9-オクタデセニル基 (オレイル基) を表し、「C17 - 2」は、*c*

50

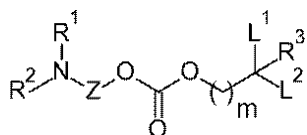
$is, cis - 8, 11$ - ヘプタデカジエニル基を表し、「 Lin 」は、 $cis, cis - 9, 12$ - オクタデカジエニル基（リノレイル基）を表し、「 $C19 - 2$ 」は、 $cis, cis - 10, 13$ - ノナデカジエニル基を表し、「 $C17 - 31$ 」は、 $cis, cis, cis - 5, 8, 11$ - ヘプタデカトリエニル基を表し、「 $C17 - 32$ 」は、 $cis, cis, cis - 8, 11, 14$ - ヘプタデカトリエニル基を表し、「 $C17 - 33$ 」は、7 - [2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] ヘプチル基を表し、「 $C17 - A$ 」は、(R) - 11 - アセチルオキシ - $cis - 8$ - ヘプタデセニル基を表し、「 $C17 - H$ 」は、(R) - 11 - ヘキセニルオキシ - $cis - 8$ - ヘプタデセニル基を表し、「 $C17 - OH$ 」は、(R) - 11 - ヒドロキシ - $cis - 8$ - ヘプタデセニル基を表し、「 $C17 - T$ 」は、(R) - 11 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) - $cis - 8$ - ヘプタデセニル基を表し、「 $C17 - T2$ 」は、(R) - 11 - (テトラヒドロ - 2 H - フラン - 2 - イルオキシ) - $cis - 8$ - ヘプタデセニル基を表し、「 Me 」は、メチル基を表し、「 Et 」は、エチル基を表し、「 Pr 」は、プロピル基を表し、「 $C10$ 」は、デシル基を表し、「 $C11$ 」は、ウンデシル基を表し、「 $C12$ 」は、ドデシル基を表し、「 $C13$ 」は、トリデシル基を表し、「 $C14$ 」は、テトラデシル基を表し、「 $C15$ 」は、ペンタデシル基を表し、「 $C16$ 」は、ヘキサデシル基を表し、「 $C17$ 」は、ヘプタデシル基を表し、「 $C18$ 」は、オクタデシル基を表し、「 $C19$ 」は、ノナデシル基を表し、「 $C20$ 」は、イコシル基を表し、「 $C21$ 」は、ヘンイコシル基を表し、「 $C22$ 」は、ドコシル基を表し、「 $C23$ 」は、トリコシル基を表し、「 $C24$ 」は、テトラコシル基を表し、「 $C10 - 1$ 」は、 $cis - 7$ - デセニル基を表し、「 $C10 - 2$ 」は、7 - デシニル基を表し、「 $C17 - O - Su - O - C17$ 」は、(R) - 11 - ヒドロキシ - $cis - 8$ - ヘプタデセニル基同士がコハク酸により架橋している基を表し、「 $-$ 」は、単結合を表す。

【 0 0 9 0 】

(表 1)

【 0 0 9 1 】

【 化 1 8 】



【 0 0 9 2 】

化合物	R^1	R^2	m	Z	L^1	L^2	R^3
1-1	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C16	C10	H
1-2	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C16	C11	H
1-3	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C16	C12	H
1-4	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C16	C13	H
1-5	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C16	C14	H
1-6	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C16	C15	H
1-7	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C16	C16	H
1-8	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C17	C10	H
1-9	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C17	C11	H
1-10	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C17	C12	H
1-11	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C17	C13	H
1-12	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C17	C14	H
1-13	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C17	C15	H
1-14	Me	Me	0	$-(CH_2)_3-$	C17	C16	H

1-15	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17	C17	H	
1-16	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	H	
1-17	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	H	
1-18	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	H	
1-19	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	H	
1-20	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	H	
1-21	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	H	
1-22	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	H	
1-23	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-1	C10	H	
1-24	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-1	C10	H	10
1-25	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-1	C10	H	
1-26	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	H	
1-27	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-1	C10	H	
1-28	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	Me	
1-29	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	Me	
1-30	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10	Et	
1-31	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10-1	H	
1-32	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10-1	H	
1-33	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10-1	H	
1-34	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10-1	H	20
1-35	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10-1	H	
1-36	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10-1	H	
1-37	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10-1	H	
1-38	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-1	C10-1	H	
1-39	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-1	C10-1	H	
1-40	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-1	C10-1	H	
1-41	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C10-1	H	
1-42	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-1	C10-1	H	
1-43	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C11	H	
1-44	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C12	H	30
1-45	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C13	H	
1-46	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C14	H	
1-47	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C15	H	
1-48	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C16	H	
1-49	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17	H	
1-50	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	H	
1-51	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	H	
1-52	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	H	
1-53	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	H	
1-54	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	H	40
1-55	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	H	
1-56	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	H	
1-57	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-1	C17-1	H	
1-58	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-1	C17-1	H	
1-59	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-1	C17-1	H	
1-60	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	H	
1-61	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-1	C17-1	H	
1-62	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	Me	
1-63	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	Me	
1-64	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C17-1	Et	50

1-65	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C18	H	
1-66	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C19	H	
1-67	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C20	H	
1-68	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C21	H	
1-69	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C22	H	
1-70	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C23	H	
1-71	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-1	C24	H	
1-72	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	H	
1-73	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	H	
1-74	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	H	10
1-75	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	H	
1-76	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	H	
1-77	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	H	
1-78	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	H	
1-79	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-2	C10	H	
1-80	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-2	C10	H	
1-81	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-2	C10	H	
1-82	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	H	
1-83	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-2	C10	H	
1-84	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	Me	20
1-85	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	Me	
1-86	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10	Et	
1-87	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-1	H	
1-88	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-1	H	
1-89	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-1	H	
1-90	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-1	H	
1-91	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-1	H	
1-92	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-1	H	
1-93	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-1	H	
1-94	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-2	C10-1	H	30
1-95	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-2	C10-1	H	
1-96	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-2	C10-1	H	
1-97	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-1	H	
1-98	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-2	C10-1	H	
1-99	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-2	H	
1-100	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-2	H	
1-101	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-2	H	
1-102	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-2	H	
1-103	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-2	H	
1-104	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-2	H	40
1-105	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-2	H	
1-106	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-2	C10-2	H	
1-107	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-2	C10-2	H	
1-108	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-2	C10-2	H	
1-109	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C10-2	H	
1-110	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-2	C10-2	H	
1-111	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C11	H	
1-112	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C12	H	
1-113	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C13	H	
1-114	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C14	H	50

1-115	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C15	H	
1-116	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C16	H	
1-117	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17	H	
1-118	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-119	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-120	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-121	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-122	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-123	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-124	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	10
1-125	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-126	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-127	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-128	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-2	C17-2	H	
1-129	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-2	C17-2	H	
1-130	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-2	C17-2	H	
1-131	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C17-2	H	
1-132	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-2	C17-2	H	
1-133	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C18	H	
1-134	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C19	H	20
1-135	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C20	H	
1-136	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C21	H	
1-137	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C22	H	
1-138	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C23	H	
1-139	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-2	C24	H	
1-140	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C10	H	
1-141	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C10	H	
1-142	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C10	H	
1-143	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C10	H	
1-144	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C10	H	30
1-145	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C10	H	
1-146	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C10	H	
1-147	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-31	C10	H	
1-148	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-31	C10	H	
1-149	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-31	C10	H	
1-150	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C10	H	
1-151	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-31	C10	H	
1-152	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C17-31	H	
1-153	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C17-31	H	
1-154	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C17-31	H	40
1-155	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C17-31	H	
1-156	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C17-31	H	
1-157	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C17-31	H	
1-158	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C17-31	H	
1-159	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-31	C17-31	H	
1-160	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-31	C17-31	H	
1-161	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-31	C17-31	H	
1-162	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-31	C17-31	H	
1-163	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-31	C17-31	H	
1-164	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-32	C10	H	50

1-165	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H	
1-166	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H	
1-167	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H	
1-168	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H	
1-169	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H	
1-170	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H	
1-171	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-32	C10	H	
1-172	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-32	C10	H	
1-173	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-32	C10	H	
1-174	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C10	H	10
1-175	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-32	C10	H	
1-176	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H	
1-177	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H	
1-178	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H	
1-179	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H	
1-180	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H	
1-181	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H	
1-182	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H	
1-183	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-32	C17-32	H	
1-184	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-32	C17-32	H	20
1-185	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-32	C17-32	H	
1-186	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-32	C17-32	H	
1-187	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-32	C17-32	H	
1-188	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H	
1-189	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H	
1-190	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H	
1-191	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H	
1-192	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H	
1-193	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H	
1-194	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H	30
1-195	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-33	C10	H	
1-196	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-33	C10	H	
1-197	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-33	C10	H	
1-198	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C10	H	
1-199	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-33	C10	H	
1-200	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H	
1-201	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H	
1-202	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H	
1-203	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H	
1-204	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H	40
1-205	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H	
1-206	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H	
1-207	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-33	C17-33	H	
1-208	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-33	C17-33	H	
1-209	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-33	C17-33	H	
1-210	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-33	C17-33	H	
1-211	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-33	C17-33	H	
1-212	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
1-213	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
1-214	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	50

1-215	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
1-216	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
1-217	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
1-218	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
1-219	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-A	C10	H	
1-220	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-A	C10	H	
1-221	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-A	C10	H	
1-222	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
1-223	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-A	C10	H	
1-224	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C11	H	10
1-225	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C12	H	
1-226	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C13	H	
1-227	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C14	H	
1-228	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C15	H	
1-229	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C16	H	
1-230	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17	H	
1-231	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-1	H	
1-232	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-2	H	
1-233	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
1-234	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	20
1-235	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
1-236	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
1-237	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
1-238	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
1-239	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
1-240	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-A	C17-A	H	
1-241	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-A	C17-A	H	
1-242	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-A	C17-A	H	
1-243	Me	Me	1	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
1-244	Me	Me	1	-(CH ₂) ₄ -	C17-A	C17-A	H	30
1-245	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C18	H	
1-246	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C18-1	H	
1-247	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C19	H	
1-248	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C19-2	H	
1-249	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C20	H	
1-250	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C21	H	
1-251	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C22	H	
1-252	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C23	H	
1-253	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C24	H	
1-254	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	Lin	H	40
1-255	Me	Me	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
1-256	Me	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
1-257	Me	Pr	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
1-258	Et	Et	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
1-259	-(CH ₂) ₃ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
1-260	-(CH ₂) ₄ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
1-261	-(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
1-262	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C17-H	C10	H	
1-263	Me	Me	0	-(CH ₂) ₄ -	C17-H	C10	H	
1-264	Me	Me	0	-(CH ₂) ₅ -	C17-H	C10	H	50

1-265	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C10	H	
1-266	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-H	C10	H	
1-267	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C11	H	
1-268	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C12	H	
1-269	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C13	H	
1-270	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C14	H	
1-271	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C15	H	
1-272	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C16	H	
1-273	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17	H	
1-274	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-1	H	10
1-275	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-2	H	
1-276	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-H	H	
1-277	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-H	H	
1-278	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-H	H	
1-279	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-H	H	
1-280	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-H	H	
1-281	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-H	H	
1-282	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-H	H	
1-283	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-H	C17-H	H	
1-284	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-H	C17-H	H	20
1-285	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-H	C17-H	H	
1-286	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C17-H	H	
1-287	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-H	C17-H	H	
1-288	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C18	H	
1-289	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C18-1	H	
1-290	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C19	H	
1-291	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C19-2	H	
1-292	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C20	H	
1-293	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C21	H	
1-294	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C22	H	30
1-295	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C23	H	
1-296	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	C24	H	
1-297	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-H	Lin	H	
1-298	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C10	H	
1-299	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C11	H	
1-300	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C12	H	
1-301	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C13	H	
1-302	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C14	H	
1-303	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C15	H	
1-304	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C16	H	40
1-305	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C17	H	
1-306	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C17-1	H	
1-307	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C17-2	H	
1-308	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C17-OH	H	
1-309	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C18	H	
1-310	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C18-1	H	
1-311	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C19	H	
1-312	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C19-2	H	
1-313	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C20	H	
1-314	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C21	H	50

1-315	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C22	H	
1-316	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C23	H	
1-317	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	C24	H	
1-318	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-OH	Lin	H	
1-319	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-320	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-321	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-322	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-323	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-324	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	10
1-325	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-326	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-327	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-328	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-329	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-330	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-331	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-332	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-333	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-O-Su-O-C17		H	
1-334	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C10	H	20
1-335	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C10	H	
1-336	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C10	H	
1-337	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C10	H	
1-338	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C10	H	
1-339	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C10	H	
1-340	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C10	H	
1-341	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-T	C10	H	
1-342	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-T	C10	H	
1-343	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-T	C10	H	
1-344	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C10	H	30
1-345	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-T	C10	H	
1-346	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C11	H	
1-347	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C12	H	
1-348	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C13	H	
1-349	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C14	H	
1-350	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C15	H	
1-351	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C16	H	
1-352	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17	H	
1-353	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-1	H	
1-354	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-2	H	40
1-355	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-T	H	
1-356	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-T	H	
1-357	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-T	H	
1-358	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-T	H	
1-359	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-T	H	
1-360	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-T	H	
1-361	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-T	H	
1-362	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-T	C17-T	H	
1-363	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-T	C17-T	H	
1-364	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-T	C17-T	H	50

1-365	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C17-T	H	
1-366	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-T	C17-T	H	
1-367	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C18	H	
1-368	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C18-1	H	
1-369	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C19	H	
1-370	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C19-2	H	
1-371	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C20	H	
1-372	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C21	H	
1-373	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C22	H	
1-374	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C23	H	10
1-375	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	C24	H	
1-376	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T	Lin	H	
1-377	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C10	H	
1-378	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C10	H	
1-379	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C10	H	
1-380	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C10	H	
1-381	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C10	H	
1-382	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C10	H	
1-383	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C10	H	
1-384	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-T2	C10	H	20
1-385	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-T2	C10	H	
1-386	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-T2	C10	H	
1-387	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C10	H	
1-388	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-T2	C10	H	
1-389	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C11	H	
1-390	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C12	H	
1-391	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C13	H	
1-392	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C14	H	
1-393	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C15	H	
1-394	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C16	H	30
1-395	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17	H	
1-396	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-1	H	
1-397	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-2	H	
1-398	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-399	Me	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-400	Me	Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-401	Et	Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-402	$-(\text{CH}_2)_3-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-403	$-(\text{CH}_2)_4-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-404	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$		0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-T2	H	40
1-405	Me	Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-406	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-407	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-408	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-409	Me	Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	C17-T2	C17-T2	H	
1-410	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C18	H	
1-411	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C18-1	H	
1-412	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C19	H	
1-413	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C19-2	H	
1-414	Me	Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	C17-T2	C20	H	50

1-415	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C17-T2	C21	H	
1-416	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C17-T2	C22	H	
1-417	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C17-T2	C23	H	
1-418	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C17-T2	C24	H	
1-419	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C17-T2	Lin	H	
1-420	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18	C10	H	
1-421	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18	C11	H	
1-422	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18	C12	H	
1-423	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18	C13	H	
1-424	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18	C14	H	10
1-425	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18	C15	H	
1-426	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18	C16	H	
1-427	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18	C17	H	
1-428	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18	C18	H	
1-429	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H	
1-430	Me	Et	0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H	
1-431	Me	Pr	0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H	
1-432	Et	Et	0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H	
1-433	- (CH ₂) ₃ -		0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H	
1-434	- (CH ₂) ₄ -		0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H	20
1-435	- (CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H	
1-436	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C18-1	C18-1	H	
1-437	Me	Me	0	- (CH ₂) ₄ -	C18-1	C18-1	H	
1-438	Me	Me	0	- (CH ₂) ₅ -	C18-1	C18-1	H	
1-439	Me	Me	1	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	H	
1-440	Me	Me	1	- (CH ₂) ₄ -	C18-1	C18-1	H	
1-441	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	Me	
1-442	Me	Et	0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	Me	
1-443	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C18-1	C18-1	Et	
1-444	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H	30
1-445	Me	Et	0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H	
1-446	Me	Pr	0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H	
1-447	Et	Et	0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H	
1-448	- (CH ₂) ₃ -		0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H	
1-449	- (CH ₂) ₄ -		0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H	
1-450	- (CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ -		0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H	
1-451	Me	Me	0	-CH ₂ CH(CH ₃)CH ₂ -	C19-2	C10	H	
1-452	Me	Me	0	- (CH ₂) ₄ -	C19-2	C10	H	
1-453	Me	Me	0	- (CH ₂) ₅ -	C19-2	C10	H	
1-454	Me	Me	1	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	H	40
1-455	Me	Me	1	- (CH ₂) ₄ -	C19-2	C10	H	
1-456	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	Me	
1-457	Me	Et	0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	Me	
1-458	Me	Me	0	- (CH ₂) ₃ -	C19-2	C10	Et	
1-459	Me	Me	1	- (CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H	
1-460	Me	Et	1	- (CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H	
1-461	Me	Pr	1	- (CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H	
1-462	Et	Et	1	- (CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H	
1-463	- (CH ₂) ₃ -		1	- (CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H	
1-464	- (CH ₂) ₄ -		1	- (CH ₂) ₃ -	Lin	C10	H	50

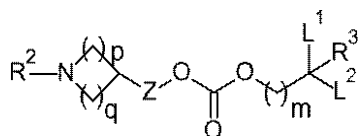
1-465	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	C10	H
1-466	Me Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	Lin	C10	H
1-467	Me Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	H
1-468	Me Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	H
1-469	Me Pr	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	H
1-470	Et Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	H
1-471	$-(\text{CH}_2)_3-$	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	H
1-472	$-(\text{CH}_2)_4-$	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	H
1-473	$-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2-$	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	H
1-474	Me Me	0	$-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$	Lin	Lin	H
1-475	Me Me	0	$-(\text{CH}_2)_4-$	Lin	Lin	H
1-476	Me Me	0	$-(\text{CH}_2)_5-$	Lin	Lin	H
1-477	Me Me	1	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	H
1-478	Me Me	1	$-(\text{CH}_2)_4-$	Lin	Lin	H
1-479	Me Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	Me
1-480	Me Et	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	Me
1-481	Me Me	0	$-(\text{CH}_2)_3-$	Lin	Lin	Et

【 0 0 9 3 】

(表 2)

【 0 0 9 4 】

【 化 1 9 】



【 0 0 9 5 】

化合物	R ²	p	q	m	Z	L ¹	L ²	R ³
2-1	Me	0	2	0	—	C17-1	C10	H
2-2	Me	0	3	0	—	C17-1	C10	H
2-3	Me	0	4	0	—	C17-1	C10	H
2-4	Me	1	2	0	—	C17-1	C10	H
2-5	Me	1	3	0	—	C17-1	C10	H
2-6	Me	2	2	0	—	C17-1	C10	H
2-7	Me	0	2	0	$-\text{CH}_2-$	C17-1	C10	H
2-8	Me	0	3	0	$-\text{CH}_2-$	C17-1	C10	H
2-9	Me	0	4	0	$-\text{CH}_2-$	C17-1	C10	H
2-10	Me	1	1	0	$-\text{CH}_2-$	C17-1	C10	H
2-11	Me	1	2	0	$-\text{CH}_2-$	C17-1	C10	H
2-12	Me	1	3	0	$-\text{CH}_2-$	C17-1	C10	H
2-13	Me	2	2	0	$-\text{CH}_2-$	C17-1	C10	H
2-14	Me	0	2	0	$-(\text{CH}_2)_2-$	C17-1	C10	H
2-15	Me	0	3	0	$-(\text{CH}_2)_2-$	C17-1	C10	H
2-16	Me	0	4	0	$-(\text{CH}_2)_2-$	C17-1	C10	H
2-17	Me	1	1	0	$-(\text{CH}_2)_2-$	C17-1	C10	H
2-18	Me	1	2	0	$-(\text{CH}_2)_2-$	C17-1	C10	H
2-19	Me	1	3	0	$-(\text{CH}_2)_2-$	C17-1	C10	H
2-20	Me	2	2	0	$-(\text{CH}_2)_2-$	C17-1	C10	H

2-21	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H	
2-22	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H	
2-23	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H	
2-24	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H	
2-25	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H	
2-26	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H	
2-27	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C10	H	
2-28	Me	1	3	0	—	C17-1	C10	Me	
2-29	Me	2	2	0	—	C17-1	C10	Me	
2-30	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C10	Me	10
2-31	Me	0	2	0	—	C17-1	C17-1	H	
2-32	Me	0	3	0	—	C17-1	C17-1	H	
2-33	Me	0	4	0	—	C17-1	C17-1	H	
2-34	Me	1	2	0	—	C17-1	C17-1	H	
2-35	Me	1	3	0	—	C17-1	C17-1	H	
2-36	Me	2	2	0	—	C17-1	C17-1	H	
2-37	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-38	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-39	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-40	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H	20
2-41	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-42	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-43	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-44	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-45	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-46	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-47	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-48	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-49	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H	
2-50	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-1	C17-1	H	30
2-51	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H	
2-52	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H	
2-53	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H	
2-54	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	17-1	C17-1	H	
2-55	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H	
2-56	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H	
2-57	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-1	C17-1	H	
2-58	Me	1	3	0	—	C17-1	C17-1	Me	
2-59	Me	2	2	0	—	C17-1	C17-1	Me	
2-60	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-1	C17-1	Me	40
2-61	Me	0	2	0	—	C17-2	C10	H	
2-62	Me	0	3	0	—	C17-2	C10	H	
2-63	Me	0	4	0	—	C17-2	C10	H	
2-64	Me	1	2	0	—	C17-2	C10	H	
2-65	Me	1	3	0	—	C17-2	C10	H	
2-66	Me	2	2	0	—	C17-2	C10	H	
2-67	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H	
2-68	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H	
2-69	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H	
2-70	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H	50

2-71	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H	
2-72	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H	
2-73	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	H	
2-74	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H	
2-75	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H	
2-76	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H	
2-77	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H	
2-78	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H	
2-79	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H	
2-80	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C10	H	10
2-81	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H	
2-82	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H	
2-83	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H	
2-84	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H	
2-85	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H	
2-86	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H	
2-87	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C10	H	
2-88	Me	1	3	0	—	C17-2	C10	Me	
2-89	Me	2	2	0	—	C17-2	C10	Me	
2-90	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C10	Me	20
2-91	Me	0	2	0	—	C17-2	C17-2	H	
2-92	Me	0	3	0	—	C17-2	C17-2	H	
2-93	Me	0	4	0	—	C17-2	C17-2	H	
2-94	Me	1	2	0	—	C17-2	C17-2	H	
2-95	Me	1	3	0	—	C17-2	C17-2	H	
2-96	Me	2	2	0	—	C17-2	C17-2	H	
2-97	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-98	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-99	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-100	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H	30
2-101	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-102	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-103	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-104	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-105	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-106	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-107	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-108	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-109	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H	
2-110	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-2	C17-2	H	40
2-111	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H	
2-112	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H	
2-113	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H	
2-114	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H	
2-115	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H	
2-116	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H	
2-117	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-2	C17-2	H	
2-118	Me	1	3	0	—	C17-2	C17-2	Me	
2-119	Me	2	2	0	—	C17-2	C17-2	Me	
2-120	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-2	C17-2	Me	50

2-121	Me	0	2	0	—	C17-A	C10	H	
2-122	Me	0	3	0	—	C17-A	C10	H	
2-123	Me	0	4	0	—	C17-A	C10	H	
2-124	Me	1	2	0	—	C17-A	C10	H	
2-125	Me	1	3	0	—	C17-A	C10	H	
2-126	Me	2	2	0	—	C17-A	C10	H	
2-127	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H	
2-128	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H	
2-129	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H	
2-130	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H	10
2-131	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H	
2-132	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H	
2-133	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	H	
2-134	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H	
2-135	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H	
2-136	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H	
2-137	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H	
2-138	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H	
2-139	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H	
2-140	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C10	H	20
2-141	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
2-142	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
2-143	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
2-144	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
2-145	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
2-146	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
2-147	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C10	H	
2-148	Me	1	3	0	—	C17-A	C10	Me	
2-149	Me	2	2	0	—	C17-A	C10	Me	
2-150	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C10	Me	30
2-151	Me	0	2	0	—	C17-A	C17-A	H	
2-152	Me	0	3	0	—	C17-A	C17-A	H	
2-153	Me	0	4	0	—	C17-A	C17-A	H	
2-154	Me	1	2	0	—	C17-A	C17-A	H	
2-155	Me	1	3	0	—	C17-A	C17-A	H	
2-156	Me	2	2	0	—	C17-A	C17-A	H	
2-157	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-158	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-159	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-160	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H	40
2-161	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-162	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-163	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-164	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-165	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-166	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-167	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-168	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-169	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H	
2-170	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-A	C17-A	H	50

2-171	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
2-172	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
2-173	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
2-174	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
2-175	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
2-176	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
2-177	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-A	C17-A	H	
2-178	Me	1	3	0	—	C17-A	C17-A	Me	
2-179	Me	2	2	0	—	C17-A	C17-A	Me	
2-180	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-A	C17-A	Me	10
2-181	Me	0	2	0	—	C17-H	C10	H	
2-182	Me	0	3	0	—	C17-H	C10	H	
2-183	Me	0	4	0	—	C17-H	C10	H	
2-184	Me	1	2	0	—	C17-H	C10	H	
2-185	Me	1	3	0	—	C17-H	C10	H	
2-186	Me	2	2	0	—	C17-H	C10	H	
2-187	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H	
2-188	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H	
2-189	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H	
2-190	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H	20
2-191	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H	
2-192	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H	
2-193	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	H	
2-194	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H	
2-195	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H	
2-196	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H	
2-197	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H	
2-198	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H	
2-199	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H	
2-200	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C10	H	30
2-201	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
2-202	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
2-203	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
2-204	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
2-205	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
2-206	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
2-207	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C10	H	
2-208	Me	1	3	0	—	C17-H	C10	Me	
2-209	Me	2	2	0	—	C17-H	C10	Me	
2-210	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C10	Me	40
2-211	Me	0	2	0	—	C17-H	C17-H	H	
2-212	Me	0	3	0	—	C17-H	C17-H	H	
2-213	Me	0	4	0	—	C17-H	C17-H	H	
2-214	Me	1	2	0	—	C17-H	C17-H	H	
2-215	Me	1	3	0	—	C17-H	C17-H	H	
2-216	Me	2	2	0	—	C17-H	C17-H	H	
2-217	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-218	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-219	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-220	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H	50

2-221	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-222	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-223	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-224	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-225	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-226	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-227	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-228	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-229	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H	
2-230	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-H	C17-H	H	10
2-231	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H	
2-232	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H	
2-233	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H	
2-234	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H	
2-235	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H	
2-236	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H	
2-237	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-H	C17-H	H	
2-238	Me	1	3	0	—	C17-H	C17-H	Me	
2-239	Me	2	2	0	—	C17-H	C17-H	Me	
2-240	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-H	C17-H	Me	20
2-241	Me	0	2	0	—	C17-T	C10	H	
2-242	Me	0	3	0	—	C17-T	C10	H	
2-243	Me	0	4	0	—	C17-T	C10	H	
2-244	Me	1	2	0	—	C17-T	C10	H	
2-245	Me	1	3	0	—	C17-T	C10	H	
2-246	Me	2	2	0	—	C17-T	C10	H	
2-247	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H	
2-248	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H	
2-249	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H	
2-250	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H	30
2-251	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H	
2-252	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H	
2-253	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	H	
2-254	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H	
2-255	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H	
2-256	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H	
2-257	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H	
2-258	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H	
2-259	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H	
2-260	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C10	H	40
2-261	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H	
2-262	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H	
2-263	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H	
2-264	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H	
2-265	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H	
2-266	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H	
2-267	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C10	H	
2-268	Me	1	3	0	—	C17-T	C10	Me	
2-269	Me	2	2	0	—	C17-T	C10	Me	
2-270	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C10	Me	50

2-271	Me	0	2	0	—	C17-T	C17-T	H	
2-272	Me	0	3	0	—	C17-T	C17-T	H	
2-273	Me	0	4	0	—	C17-T	C17-T	H	
2-274	Me	1	2	0	—	C17-T	C17-T	H	
2-275	Me	1	3	0	—	C17-T	C17-T	H	
2-276	Me	2	2	0	—	C17-T	C17-T	H	
2-277	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-278	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-279	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-280	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H	10
2-281	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-282	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-283	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-284	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-285	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-286	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-287	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-288	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-289	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H	
2-290	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T	C17-T	H	20
2-291	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H	
2-292	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H	
2-293	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H	
2-294	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H	
2-295	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H	
2-296	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H	
2-297	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T	C17-T	H	
2-298	Me	1	3	0	—	C17-T	C17-T	Me	
2-299	Me	2	2	0	—	C17-T	C17-T	Me	
2-300	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T	C17-T	Me	30
2-301	Me	0	2	0	—	C17-T2	C10	H	
2-302	Me	0	3	0	—	C17-T2	C10	H	
2-303	Me	0	4	0	—	C17-T2	C10	H	
2-304	Me	1	2	0	—	C17-T2	C10	H	
2-305	Me	1	3	0	—	C17-T2	C10	H	
2-306	Me	2	2	0	—	C17-T2	C10	H	
2-307	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-308	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-309	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-310	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H	40
2-311	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-312	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-313	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-314	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-315	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-316	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-317	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-318	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-319	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H	
2-320	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C10	H	50

2-321	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H	
2-322	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H	
2-323	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H	
2-324	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H	
2-325	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H	
2-326	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H	
2-327	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C10	H	
2-328	Me	1	3	0	—	C17-T2	C10	Me	
2-329	Me	2	2	0	—	C17-T2	C10	Me	
2-330	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C10	Me	10
2-331	Me	0	2	0	—	C17-T2	C17-T2	H	
2-332	Me	0	3	0	—	C17-T2	C17-T2	H	
2-333	Me	0	4	0	—	C17-T2	C17-T2	H	
2-334	Me	1	2	0	—	C17-T2	C17-T2	H	
2-335	Me	1	3	0	—	C17-T2	C17-T2	H	
2-336	Me	2	2	0	—	C17-T2	C17-T2	H	
2-337	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-338	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-339	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-340	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	20
2-341	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-342	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-343	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-344	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-345	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-346	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-347	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-348	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-349	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-350	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17-T2	C17-T2	H	30
2-351	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-352	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-353	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-354	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-355	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-356	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-357	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17-T2	C17-T2	H	
2-358	Me	1	3	0	—	C17-T2	C17-T2	Me	
2-359	Me	2	2	0	—	C17-T2	C17-T2	Me	
2-360	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17-T2	C17-T2	Me	40
2-361	Me	0	2	0	—	Lin	Lin	H	
2-362	Me	0	3	0	—	Lin	Lin	H	
2-363	Me	0	4	0	—	Lin	Lin	H	
2-364	Me	1	2	0	—	Lin	Lin	H	
2-365	Me	1	3	0	—	Lin	Lin	H	
2-366	Me	2	2	0	—	Lin	Lin	H	
2-367	Me	0	2	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H	
2-368	Me	0	3	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H	
2-369	Me	0	4	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H	
2-370	Me	1	1	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H	50

2-371	Me	1	2	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H	
2-372	Me	1	3	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H	
2-373	Me	2	2	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	H	
2-374	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H	
2-375	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H	
2-376	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H	
2-377	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H	
2-378	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H	
2-379	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H	
2-380	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	Lin	Lin	H	10
2-381	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H	
2-382	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H	
2-383	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H	
2-384	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H	
2-385	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H	
2-386	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H	
2-387	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	Lin	Lin	H	
2-388	Me	1	3	0	—	Lin	Lin	Me	
2-389	Me	2	2	0	—	Lin	Lin	Me	
2-390	Me	1	3	0	-CH ₂ -	Lin	Lin	Me	20
2-391	Me	0	2	0	—	C16	C10	H	
2-392	Me	0	3	0	—	C16	C10	H	
2-393	Me	0	4	0	—	C16	C10	H	
2-394	Me	1	2	0	—	C16	C10	H	
2-395	Me	1	3	0	—	C16	C10	H	
2-396	Me	2	2	0	—	C16	C10	H	
2-397	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C16	C10	H	
2-398	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C16	C10	H	
2-399	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C16	C10	H	
2-400	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C16	C10	H	30
2-401	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C16	C10	H	
2-402	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C16	C10	H	
2-403	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C16	C10	H	
2-404	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H	
2-405	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H	
2-406	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H	
2-407	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H	
2-408	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H	
2-409	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H	
2-410	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C10	H	40
2-411	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H	
2-412	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H	
2-413	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H	
2-414	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H	
2-415	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H	
2-416	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H	
2-417	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C10	H	
2-418	Me	1	3	0	—	C16	C10	Me	
2-419	Me	2	2	0	—	C16	C10	Me	
2-420	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C16	C10	Me	50

2-421	Me	0	2	0	—	C16	C16	H	
2-422	Me	0	3	0	—	C16	C16	H	
2-423	Me	0	4	0	—	C16	C16	H	
2-424	Me	1	2	0	—	C16	C16	H	
2-425	Me	1	3	0	—	C16	C16	H	
2-426	Me	2	2	0	—	C16	C16	H	
2-427	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C16	C16	H	
2-428	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C16	C16	H	
2-429	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C16	C16	H	
2-430	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C16	C16	H	10
2-431	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C16	C16	H	
2-432	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C16	C16	H	
2-433	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C16	C16	H	
2-434	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H	
2-435	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H	
2-436	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H	
2-437	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H	
2-438	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H	
2-439	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H	
2-440	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C16	C16	H	20
2-441	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H	
2-442	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H	
2-443	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H	
2-444	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H	
2-445	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H	
2-446	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H	
2-447	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C16	C16	H	
2-448	Me	1	3	0	—	C16	C16	Me	
2-449	Me	2	2	0	—	C16	C16	Me	
2-450	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C16	C16	Me	30
2-451	Me	0	2	0	—	C17	C10	H	
2-452	Me	0	3	0	—	C17	C10	H	
2-453	Me	0	4	0	—	C17	C10	H	
2-454	Me	1	2	0	—	C17	C10	H	
2-455	Me	1	3	0	—	C17	C10	H	
2-456	Me	2	2	0	—	C17	C10	H	
2-457	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17	C10	H	
2-458	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17	C10	H	
2-459	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17	C10	H	
2-460	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17	C10	H	40
2-461	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17	C10	H	
2-462	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17	C10	H	
2-463	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17	C10	H	
2-464	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H	
2-465	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H	
2-466	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H	
2-467	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H	
2-468	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H	
2-469	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H	
2-470	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C10	H	50

2-471	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H	
2-472	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H	
2-473	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H	
2-474	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H	
2-475	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H	
2-476	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H	
2-477	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C10	H	
2-478	Me	1	3	0	—	C17	C10	Me	
2-479	Me	2	2	0	—	C17	C10	Me	
2-480	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17	C10	Me	10
2-481	Me	0	2	0	—	C17	C17	H	
2-482	Me	0	3	0	—	C17	C17	H	
2-483	Me	0	4	0	—	C17	C17	H	
2-484	Me	1	2	0	—	C17	C17	H	
2-485	Me	1	3	0	—	C17	C17	H	
2-486	Me	2	2	0	—	C17	C17	H	
2-487	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C17	C17	H	
2-488	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C17	C17	H	
2-489	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C17	C17	H	
2-490	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C17	C17	H	20
2-491	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C17	C17	H	
2-492	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17	C17	H	
2-493	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C17	C17	H	
2-494	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H	
2-495	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H	
2-496	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H	
2-497	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H	
2-498	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H	
2-499	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H	
2-500	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C17	C17	H	30
2-501	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H	
2-502	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H	
2-503	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H	
2-504	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H	
2-505	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H	
2-506	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H	
2-507	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C17	C17	H	
2-508	Me	1	3	0	—	C17	C17	Me	
2-509	Me	2	2	0	—	C17	C17	Me	
2-510	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C17	C17	Me	40
2-511	Me	0	2	0	—	C18	C10	H	
2-512	Me	0	3	0	—	C18	C10	H	
2-513	Me	0	4	0	—	C18	C10	H	
2-514	Me	1	2	0	—	C18	C10	H	
2-515	Me	1	3	0	—	C18	C10	H	
2-516	Me	2	2	0	—	C18	C10	H	
2-517	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C18	C10	H	
2-518	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C18	C10	H	
2-519	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C18	C10	H	
2-520	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C18	C10	H	50

2-521	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C18	C10	H	
2-522	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C18	C10	H	
2-523	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C18	C10	H	
2-524	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H	
2-525	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H	
2-526	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H	
2-527	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H	
2-528	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H	
2-529	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H	
2-530	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C10	H	10
2-531	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H	
2-532	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H	
2-533	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H	
2-534	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H	
2-535	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H	
2-536	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H	
2-537	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C10	H	
2-538	Me	1	3	0	—	C18	C10	Me	
2-539	Me	2	2	0	—	C18	C10	Me	
2-540	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C18	C10	Me	20
2-541	Me	0	2	0	—	C18	C18	H	
2-542	Me	0	3	0	—	C18	C18	H	
2-543	Me	0	4	0	—	C18	C18	H	
2-544	Me	1	2	0	—	C18	C18	H	
2-545	Me	1	3	0	—	C18	C18	H	
2-546	Me	2	2	0	—	C18	C18	H	
2-547	Me	0	2	0	-CH ₂ -	C18	C18	H	
2-548	Me	0	3	0	-CH ₂ -	C18	C18	H	
2-549	Me	0	4	0	-CH ₂ -	C18	C18	H	
2-550	Me	1	1	0	-CH ₂ -	C18	C18	H	30
2-551	Me	1	2	0	-CH ₂ -	C18	C18	H	
2-552	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C18	C18	H	
2-553	Me	2	2	0	-CH ₂ -	C18	C18	H	
2-554	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H	
2-555	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H	
2-556	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H	
2-557	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H	
2-558	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H	
2-559	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H	
2-560	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₂ -	C18	C18	H	40
2-561	Me	0	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H	
2-562	Me	0	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H	
2-563	Me	0	4	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H	
2-564	Me	1	1	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H	
2-565	Me	1	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H	
2-566	Me	1	3	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H	
2-567	Me	2	2	0	-(CH ₂) ₃ -	C18	C18	H	
2-568	Me	1	3	0	—	C18	C18	Me	
2-569	Me	2	2	0	—	C18	C18	Me	
2-570	Me	1	3	0	-CH ₂ -	C18	C18	Me	50

【 0 0 9 6 】

1 - 3 . カチオン性脂質の製造方法

本発明のカチオン性脂質は、各種の公知の合成法を適応することにより、製造することができる。公知の合成法としては、「Comprehensive Organic Transformations (第2版)」、Wiley-VCH、1999年、「Comprehensive Organic Synthesis」、Pergamon、1991年等に記載されたものなどがある。用いた官能基の種類によっては、原料または中間体の段階において、適切な保護基による保護を行う、あるいは当該官能基に容易に変換可能な官能基に置き換えて反応を行うことが、製造上効果的である場合がある。これらの官能基としては、水酸基、カルボキシル基、アミノ基、多重結合などがあり、それらの官能基の保護および脱保護、又はそれらの官能基への誘導化については、公知の方法により行うことができる。公知の方法としては、「Protective Groups in Organic Synthesis (第4版)」、Wiley-Interscience、2006年などがある。

10

【 0 0 9 7 】

図1～図3に概要を示している、本発明のカチオン性脂質(1)の製造方法について以下に示す。ただし、製造方法は下記の方法に限定されるものではない。

【 0 0 9 8 】

式中において、 G^1 、 G^2 、 G^3 、 G^4 および G^5 は、独立して、水素原子、置換基群 β から選ばれる置換基、又は置換基群 β に誘導するための合成化学的に許容される保護体若しくは前駆体となりうる置換基を示す。

20

【 0 0 9 9 】

p^1 、 p^2 は、独立して、0乃至21の整数を示す。

【 0 1 0 0 】

G^6 、 G^7 、 G^{10} 、 G^{11} 、および G^{12} は、独立して、置換基群 β から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルキル基、置換基群 β から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $C_{10} - C_{24}$ アルケニル基、置換基群 β から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $C_3 - C_{24}$ アルキニル基、置換基群 β から選ばれる置換基を1若しくは複数個有していてもよい $(C_1 - C_{10}$ アルキル) - $(Q)_k - (C_1 - C_{10}$ アルキル)基、又はそれらの置換基に誘導するための合成化学的に許容される保護体若しくは前駆体となりうる置換基を示す。

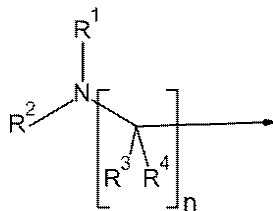
30

【 0 1 0 1 】

G^8 は、以下の構造式に示される置換基、又はそれらの置換基に誘導するための合成化学的に許容される保護体若しくは前駆体となりうる置換基を示す。

【 0 1 0 2 】

【 化 2 0 】



40

【 0 1 0 3 】

G^9 は、一般的にカルボキシル基の保護基として用いられるものであれば特に限定されないが、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、ベンジル基、p-ニトロベンジル基、o-ニトロベンジル基、p-メトキシベンジル基などが挙げられる。

【 0 1 0 4 】

1 - 3 - 1 . A 法

A法の概要を図1に示す。

【 0 1 0 5 】

50

1 - 3 - 1 - 1 . A - 1 工程

A - 1 工程は、水酸基を有する末端アルキン化合物 (A 1) および脱離性置換基を有するアルキル化合物 (A 2) から水酸基を有する内部アルキン化合物 (A 3) を製造する工程である。

【 0 1 0 6 】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、エーテル系、エステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系、ハロゲン化炭素系などの溶媒があり、好ましくはアミド系およびスルホキシド系等の非プロトン性極性溶媒であり、より好ましくは N , N - ジメチルホルムアミド (D M F) である。

10

【 0 1 0 7 】

使用される試薬としては、遷移金属化合物などであり、好ましくは銅化合物であり、より好ましくはヨウ化銅 (I) である。

【 0 1 0 8 】

使用される添加剤としては、無機塩類、無機塩基類、アルカリ金属アルコキシド類、アルカリ土類金属アルコキシド類、有機塩基類などのうち、複数用いたものであり、好ましくは無機塩類と無機塩基類であり、より好ましくはヨウ化ナトリウムと炭酸カリウムである。

【 0 1 0 9 】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 0 — 1 0 0 であり、好ましくは 0 — 室温である。

20

【 0 1 1 0 】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【 0 1 1 1 】

1 - 3 - 1 - 2 . A - 2 工程

30

A - 2 工程は、水酸基を有する内部アルキン化合物 (A 3) からホルミル基を有する内部アルキン化合物 (A 4) を製造する工程である。

【 0 1 1 2 】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、スルホキシド系などの溶媒があり、好ましくはジメチルスルホキシド (D M S O) である。

【 0 1 1 3 】

使用される試薬としては、例えば、三酸化硫黄—ピリジン錯体、シュウ酸クロライドなどである。

【 0 1 1 4 】

使用される添加剤としては、無機塩基類、有機塩基類であり、好ましくは有機塩基類であり、より好ましくはトリエチルアミンである。

40

【 0 1 1 5 】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 0 — 1 0 0 であり、好ましくは 0 — 室温である。

【 0 1 1 6 】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウ

50

ムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【0117】

1 - 3 - 1 - 3 . A - 3 工程

A - 3 工程は、ホルミル基を有する内部アルキン化合物 (A 4) からカルボキシル基を有する内部アルキン化合物 (A 5) を製造する工程である。

【0118】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、アルコール系、アミン系、水系などの溶媒があり、好ましくはアルコール系溶媒であり、より好ましくは *tert* - ブチルアルコールである。

10

【0119】

使用される試薬としては、例えば、無機酸化剤：亜塩素酸ナトリウムなどである。

【0120】

使用される添加剤としては、無機塩類、無機塩基類、アルカリ金属アルコキシド類、アルカリ土類金属アルコキシド類であり、好ましくはリン酸塩類であり、より好ましくはリン酸二水素ナトリウム類である。

【0121】

さらに使用される添加剤としては、例えば、2 - メチル - 2 - ブテンである。

【0122】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 0 — 100 であり、好ましくは 0 — 室温である。

20

【0123】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【0124】

1 - 3 - 2 . B 法

B 法の概要を図 2 に示す。

30

【0125】

1 - 3 - 2 - 1 . B - 1 工程

B - 1 工程は、カルボン酸類 (B 1) から N - メトキシカルボン酸アミド類 (B 2) を製造する工程である。

【0126】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、エーテル系、エステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系、ハロゲン化炭素系などの溶媒があり、好ましくはハロゲン化炭素系溶媒であり、より好ましくはジクロロメタンである。

40

【0127】

使用される副原料としては、例えば、N, O - ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩などである。

【0128】

使用される試薬としては、脱水縮合剤：カルボジイミド類などであり、好ましくは 1 - エチル - 3 - ((3' - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド)塩酸塩である。

【0129】

使用される添加剤としては、無機塩基類、アルカリ金属アルコキシド類、アルカリ土類金属アルコキシド類、有機塩基類であり、好ましくは有機塩基類であり、より好ましくはトリエチルアミンである。さらに使用される添加剤としては、脱水縮合活性化剤：N - ヒ

50

ドロキシヘテロ環状化合物類であり、好ましくは 1 - ヒドロキシベンズイミダゾール水和物である。

【 0 1 3 0 】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 - 7 8 — 1 0 0 であり、好ましくは 0 — 室温である。

【 0 1 3 1 】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

10

【 0 1 3 2 】

1 - 3 - 2 - 2 . B - 2 工程

B - 2 工程は、N - メトキシカルボン酸アミド類 (B 2) からケトン類 (B 3) を製造する工程である。

【 0 1 3 3 】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、エーテル系、エステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系などの溶媒があり、好ましくはジエチルエーテル、テトラヒドロフランなどのエーテル系溶媒である。

20

【 0 1 3 4 】

使用される試薬としては、グリニャール試薬、アルキルリチウム試薬、アルキル亜鉛試薬などであり、好ましくはグリニャール試薬、アルキルリチウム試薬である。

【 0 1 3 5 】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 - 7 8 — 1 0 0 であり、好ましくは - 3 0 — 室温である。

【 0 1 3 6 】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

30

【 0 1 3 7 】

1 - 3 - 2 - 3 . B - 3 工程

B - 3 工程は、ケトン類 (B 3) からアルコール類 (B 4) を製造する工程である。

【 0 1 3 8 】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、エーテル系、エステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系、アルコール系、アミン系、水系などの溶媒があり、好ましくはアルコール系、水系などのプロトン性溶媒であり、より好ましくはメタノール又はエタノールの水溶液である。

40

【 0 1 3 9 】

使用される試薬としては、一般的に還元剤として用いられるホウ素試薬、アルミニウム試薬などであり、好ましくは水素化ホウ素ナトリウムである。

【 0 1 4 0 】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 0 — 1 0 0 であり、好ましくは 0 — 室温である。

【 0 1 4 1 】

50

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【0142】

1 - 3 - 2 - 4 . B - 4 工程

B - 4 工程は、分子内に三重結合を有するアルコール類 (B 4) から分子内に二重結合を有するアルコール類 (B 4') を製造する工程である。

10

【0143】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、エーテル系、エステル系、アミド系、アルコール系、アミン系、水系などの溶媒があり、好ましくはアルコール系、水系などのプロトン性溶媒であり、より好ましくはメタノール又はエタノールである。

【0144】

使用される副原料としては、例えば、水素ガス又は水素供与体としての還元剤などであり、好ましくは、水素、水素化ホウ素ナトリウムなどであり、これらを単独または複数組み合わせ用いる。

【0145】

20

使用される触媒としては、遷移金属化合物類などであり、好ましくは担持パラジウム金属類、ニッケル化合物類、コバルト化合物類であり、より好ましくはポリエチレンイミン担持パラジウム、酢酸ニッケル (II) 四水和物である。

【0146】

触媒としてニッケル化合物類、コバルト化合物類などを用いた場合に使用される添加剤としては、有機塩基類であり、好ましくはエチレンジアミンである。

【0147】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 - 78 — 80 であり、好ましくは 0 — 室温である。

【0148】

30

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【0149】

1 - 3 - 2 - 5 . B - 5 工程

B - 5 工程は、アルコール類 (B 4) から炭酸エステル類 (B 5) を製造する工程である。

40

【0150】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、エーテル系、エステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系、ハロゲン化炭素系、アミン系などの溶媒があり、好ましくは芳香族系、ハロゲン化炭素系などの低極性溶媒であり、より好ましくはトルエン、ジクロロメタンである。

【0151】

使用される副原料としては、例えば、アルコール類および p - ニトロフェニル置換炭酸エステルなどの活性炭酸エステル類などである。

【0152】

50

副原料としてアルコールを用いた場合に使用される試薬としては、ホスゲン等価体などであり、好ましくはジホスゲン、トリホスゲンである。

【0153】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 - 78 — 100 であり、好ましくは 0 — 室温である。

【0154】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

10

【0155】

1 - 3 - 2 - 6 . B - 6 工程

B - 6 工程は、分子内に三重結合を有する炭酸エステル類 (B5) から分子内に二重結合を有する炭酸エステル類 (B5') を製造する工程である。

【0156】

本工程は、B - 4 工程と同様の方法で行うことができる。

【0157】

1 - 3 - 2 - 7 . B - 7 工程

B - 7 工程は、アルコール類 (B6) からアルデヒド類 (B7) を製造する工程である。

20

【0158】

各種の一般的な酸化反応を用いることが可能であるが、スルホキシドを酸化剤として用いる場合には、使用される溶媒としては、好ましくはジメチルスルホキシドである。

【0159】

使用される試薬としては、塩化オキサリル、トリフルオロ酢酸、ジシクロヘキシルカルボジイミド、三酸化硫黄ピリジン錯体などである。

【0160】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 - 78 — 80 であり、好ましくは 0 — 60 である。

30

【0161】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【0162】

1 - 3 - 2 - 8 . B - 8 工程

B - 8 工程は、アルデヒド類 (B7) からアルコール類 (B4) を製造する工程である。

40

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、エーテル系、エステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系などの溶媒があり、好ましくはジエチルエーテル、テトラヒドロフランなどのエーテル系溶媒である。

【0163】

使用される試薬としては、グリニャール試薬、アルキルリチウム試薬、アルキル亜鉛試薬などであり、好ましくはグリニャール試薬、アルキルリチウム試薬である。

【0164】

50

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 - 78 — 100 であり、好ましくは - 30 — 室温である。

【0165】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【0166】

1 - 3 - 3 . C 法

C 法の概要を図 3 に示す。

【0167】

1 - 3 - 3 - 1 . C - 1 工程

C - 1 工程は、無置換マロン酸エステル類 (C 1) から一置換マロン酸エステル類 (C 2) を製造する工程である。

【0168】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、エーテル系、エステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系、アルコール系などの溶媒があり、好ましくはトルエン、キシレンなどの芳香族系溶媒である。

【0169】

使用される副原料としては、例えば、アルキルハライド類、アルキルスルホネート類などである。

【0170】

使用される試薬としては、無機塩基類、アルカリ金属アルコキシド類、アルカリ土類金属アルコキシド類、有機塩基類などであり、好ましくは水素化ナトリウム、ナトリウムメトキシドである。

【0171】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 0 — 200 であり、好ましくは 50 — 150 である。

【0172】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【0173】

1 - 3 - 3 - 2 . C - 2 工程

C - 2 工程は、一置換マロン酸エステル類 (C 2) からエステル類 (C 3) を製造する工程である。

【0174】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、ステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系、水系などの溶媒があり、好ましくはアミド系およびスルホキシド系等の非プロトン性極性溶媒であり、より好ましくはジメチルスルホキシド (DMSO) である。

【0175】

使用される試薬としては、無機塩類、無機塩基類などであり、好ましくは塩化リチウム、青酸ナトリウムである。

10

20

30

40

50

【 0 1 7 6 】

使用される添加剤としては、水などである。

【 0 1 7 7 】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 8 0 — 2 0 0 であり、好ましくは 1 2 0 — 1 8 0 である。

【 0 1 7 8 】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

10

【 0 1 7 9 】

1 - 3 - 3 - 3 . C - 3 工程

C - 3 工程は、エステル類 (C 3) からケトエステル類 (C 4) を製造する工程である。

【 0 1 8 0 】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、エーテル系、エステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系などの溶媒があり、好ましくは芳香族系溶媒であり、より好ましくはキシレン類である。

20

【 0 1 8 1 】

使用される副原料としては、例えば、原料と同じアルコールが縮合した構造の各種有機酸エステルなどである。

【 0 1 8 2 】

使用される試薬としては、無機塩基類、アルカリ金属アルコキシド類、アルカリ土類金属アルコキシド類、有機塩基類などであり、好ましくは水素化ナトリウムである。

【 0 1 8 3 】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 5 0 — 2 0 0 であり、好ましくは 1 2 0 — 1 8 0 である。

30

【 0 1 8 4 】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【 0 1 8 5 】

1 - 3 - 3 - 4 . C - 4 工程

C - 4 工程は、ケトエステル類 (C 4) からケトン類 (C 5 : B 3 に相当する化合物) を製造する工程である。

40

【 0 1 8 6 】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、エーテル系、エステル系、アミド系、ニトリル系、スルホキシド系、アルコール系、水系などの溶媒があり、好ましくはアルコール系、水系などのプロトン性溶媒であり、より好ましくはメタノール又はエタノールの水溶液である。

【 0 1 8 7 】

使用される試薬としては、無機塩基類、アルカリ金属アルコキシド類、アルカリ土類金属アルコキシド類などであり、好ましくは水酸化ナトリウム、水酸化リチウムである。

【 0 1 8 8 】

50

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 0 — 120 であり、好ましくは 50 — 100 である。

【0189】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【0190】

1 - 3 - 3 - 5 . C - 5 工程

C - 5 工程は、一置換マロン酸エステル類 (C 2) から二置換マロン酸エステル類 (C 6) を製造する工程である。

【0191】

本工程は、C - 1 工程と同様の方法で行うことができる。

【0192】

1 - 3 - 3 - 6 . C - 6 工程

C - 6 工程は、二置換マロン酸エステル類 (C 6) からエステル類 (C 7) を製造する工程である。

【0193】

本工程は、C - 2 工程と同様の方法で行うことができる。

【0194】

1 - 3 - 3 - 7 . C - 7 工程

C - 7 工程は、エステル類 (C 7) から 2 - 置換アルコール類 (C 8) を製造する工程である。

【0195】

使用される溶媒としては、反応を阻害せず、出発物質をある程度溶解できる溶媒であれば特に限定されるものではないが、芳香族系、エーテル系などの溶媒があり、好ましくはテトラヒドロフランである。

【0196】

使用される試薬としては、一般的な還元剤：リチウムアルミニウムヒドリドなどである。

【0197】

反応温度は、出発物質、溶媒、試薬などの種類によって異なるが、通常 - 78 — 80 であり、好ましくは 0 — 室温である。

【0198】

反応終了後、本反応の目的化合物は常法に従って、反応混合物から採取される。例えば、反応混合物を適宜中和し、又、不要物が存在する場合には濾過により除去した後、水とヘキサンや酢酸エチルなどのような混和しない有機溶媒を加え、水洗後、目的化合物を含む有機層を分離し、無水硫酸マグネシウム、無水硫酸ナトリウム、無水炭酸水素ナトリウムなどで乾燥後、溶剤を留去することによって得られる。得られた目的化合物は、必要に応じて常法、例えば、再結晶、再沈殿又はクロマトグラフィーによって更に精製される。

【0199】

1 - 3 - 3 - 8 . C - 8 工程

C - 8 工程は、2 - 置換アルコール類 (C 8) から炭酸エステル類 (C 9) を製造する工程である。

【0200】

本工程は、B - 5 工程と同様の方法で行うことができる。

【0201】

2 . 脂質粒子

10

20

30

40

50

本明細書における脂質粒子には、リポソーム、脂質が凝集している脂質凝集体、及びミセルから選択されるいずれかの構造を有する組成物が含まれるが、脂質を含む組成物である限り脂質粒子の構造はこれらに限定されない。リポソームは脂質二重層構造を有し、内部に水相を持つ。リポソームには脂質の二分子膜が多数層状に重なった多重層リポソーム、膜が１枚の単層リポソームがあり、本発明のリポソームには両方のリポソームが含まれる。

【０２０２】

本発明の「脂質粒子」には、以下の（ａ）乃至（ｃ）から選択されるいずれかの組成物が含まれる。

- （ａ）カチオン性脂質、及び脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質を含む組成物、
- （ｂ）カチオン性脂質、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質、及びステロール類を含む組成物、
- （ｃ）カチオン性脂質、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質、ステロール類、及び両親媒性脂質を含む組成物。

10

【０２０３】

ここで、カチオン性脂質は上記「１．カチオン性脂質」の項に記載されている各種カチオン性脂質の１又は２種以上である。具体例としては、表１又は表２に記載の１又は２種以上の化合物を挙げることができる。

【０２０４】

両親媒性脂質としては、下記の「２－１．両親媒性脂質」の項に記載の１又は２種以上を挙げるすることができる。

20

【０２０５】

ステロール類としては、下記の、「２－２．ステロール類」の項に記載の１又は２種以上を挙げるすることができる。

【０２０６】

脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質としては、下記の「２－３．脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質」の項に記載の１又は２種以上を挙げるすることができる。

【０２０７】

２－１．両親媒性脂質

本明細書において、「両親媒性脂質」とは、極性、非極性の溶媒に対してともに親和性を持つ脂質をいう。

30

【０２０８】

両親媒性脂質の例としては、「Liposomes: from physics to applications」のChapter 1. Chemistry of lipids and liposomes（出版社：Elsevier，出版年：1993年，著者：D.D.Lasic）等に記載の脂質を挙げるすることができる。例えば、リン脂質、糖脂質、アミノ脂質、スフィンゴ脂質、グリコール類、飽和又は不飽和の脂肪酸を含むが、これらに限定されない。具体例を、２－１－１乃至２－１－３に記載する。

【０２０９】

２－１－１．リン脂質

40

リン脂質は、グリセロリン脂質とスフィンゴリン脂質に大別される。グリセロリン脂質の代表的なものには、ホスファチジルコリン（PC）、ホスファチジルセリン（PS）、ホスファチジルイノシトール（PI）、ホスファチジルグリセロール（PG）、ホスファチジルエタノールアミン（PE）、ホスファチジン酸（PA）が挙げられる。一方、スフィンゴリン脂質の代表的なものにはスフィンゴミエリン（SM）が挙げられる。例えば、以下の（ａ）乃至（ｇ）に記載の脂質を挙げるすることができる。

【０２１０】

（ａ）ホスファチジルコリン類

ホスファチジルコリン類の具体例としては、ジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）、ジステアロイルホスファチジルコリン（DSPC）、ジミリストリルホスファ

50

チジルコリン (D M P C)、ジオレオイルホスファチジルコリン (D O P C)、ジラウロイルホスファチジルコリン (D L P C)、ジデカノイルホスファチジルコリン (D D P C)、ジオクタノイルホスファチジルコリン (D O P C)、ジヘキサノイルホスファチジルコリン (D H P C)、ジブチリルホスファチジルコリン (D B P C)、ジエライドイルホスファチジルコリン、ジリノレオイルホスファチジルコリン、ジアラキドノイルホスファチジルコリン、ジイコセノイルホスファチジルコリン (D E P C)、ジヘプタノイルホスファチジルコリン、ジカプロイルホスファチジルコリン、ジヘプタデカノイルホスファチジルコリン、ジベヘノイルホスファチジルコリン、エレオステアロイルホスファチジルコリン、水素化卵ホスファチジルコリン (H E P C)、水素化大豆ホスファチジルコリン (H S P C)、1 - パルミトイル - 2 - アラキドノイルホスファチジルコリン、1 - パルミトイル - 2 - オレオイルホスファチジルコリン (P O P C)、1 - パルミトイル - 2 - リノレオイルホスファチジルコリン、1 - パルミトイル - 2 - ミリストイルホスファチジルコリン、1 - パルミトイル - 2 - ステアロイルホスファチジルコリン、1 - ステアロイル - 2 - パルミトイルホスファチジルコリン、1, 2 - ジミリストイルアミド - 1, 2 - デオキシホスファチジルコリン、1 - ミリストイル - 2 - パルミトイルホスファチジルコリン、1 - ミリストイル - 2 - ステアロイルホスファチジルコリン、ジ - 0 - ヘキサデシルホスファチジルコリン、トランスジエライドイルホスファチジルコリン、ジパルミテライドイル - ホスファチジルコリン、n - オクタデシル - 2 - メチルホスファチジルコリン、n - オクタデシルホスファチジルコリン、1 - ラウリルプロパンジオール - 3 - ホスホコリン、エリスロ - N - リグノセロイルスフィンゴホスファチジルコリン及びパルミトイル - (9 - c i s - オクタデセノイル) - 3 - s n - ホスファチジルコリン等を挙げることができる。

10

20

【0211】

(b) ホスファチジルセリン類

ホスファチジルセリン類の具定例としては、ジステアロイルホスファチジルセリン (D S P S)、ジミリストイルホスファチジルセリン (D M P S)、ジラウロイルホスファチジルセリン (D L P S)、ジパルミトイルホスファチジルセリン (D P P S)、ジオレオイルホスファチジルセリン (D O P S)、リゾホスファチジルセリン、エレオステアロイルホスファチジルセリン、1, 2 - ジ - (9 - c i s - オクタデセノイル) - 3 - s n - ホスファチジルセリン等が挙げられる。

30

【0212】

(c) ホスファチジルイノシトール類

ホスファチジルイノシトール類の具体例としては、ジパルミトイルホスファチジルイノシトール (D P P I)、ジステアロイルホスファチジルイノシトール (D S P I)、ジラウロイルホスファチジルイノシトール (D L P I) 等が挙げられる。

【0213】

(d) ホスファチジルグリセロール類

ホスファチジルグリセロール類の具体例としては、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール (D P P G)、ジステアロイルホスファチジルグリセロール (D S P G)、ジオレオイルホスファチジルグリセロール (D O P G)、ジラウロイルホスファチジルグリセロール (D L P G)、ジミリストイルホスファチジルグリセロール (D M P G)、リゾホスファチジルグリセロール、水素化大豆ホスファチジルグリセロール (H S P G)、水素化卵ホスファチジルグリセロール (H E P G)、カルジオリピン (ジホスファチジルグリセロール) 等が挙げられる。

40

【0214】

(e) ホスファチジルエタノールアミン類

ホスファチジルエタノールアミン類の具体例としては、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン (D P P E)、ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン (D S P E)、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン (D O P E)、ジラウロイルホスファチジルエタノールアミン (D L P E)、ジミリストイルホスファチジルエタノールア

50

ミン (D M P E)、ジデカノイルホスファチジルエタノールアミン (D D P E)、N - グルタリルホスファチジルエタノールアミン (N G P E)、リゾホスファチジルエタノールアミン、N - (7 - ニトロ - 2 , 1 , 3 - ベンゾキシジアゾール - 4 - イル) - 1 , 2 - ジオレオイル - s n - ホスファチジルエタノールアミン、エレオステアロイルホスファチジルエタノールアミン、N - スクシニルジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、1 - ヘキサデシル - 2 - パルミトイルグリセロホスファチジルエタノールアミン等が挙げられ、好ましくは、D O P E を挙げるができる。

【 0 2 1 5 】

(f) ホスファチジン酸類

ホスファチジン酸類の具体例としては、ジパルミトイルホスファチジン酸 (D P P A)、ジステアロイルホスファチジン酸 (D S P A)、ジミリストイルホスファチジン酸 (D M P A)、ジオレイルホスファチジン酸 (D O P A) 等が挙げられる。

10

【 0 2 1 6 】

(g) スフィンゴリン脂質

スフィンゴリン脂質の具体例としては、スフィンゴミエリン (S M)、ジパルミトイルスフィンゴミエリン、ジステアロイルスフィンゴミエリン、セラミドシリアチン、セラミドホスホリルエタノールアミン、セラミドホスホリルグリセロール等が挙げられ、好ましくは、S M を挙げるができる。

【 0 2 1 7 】

2 - 1 - 2 . 糖脂質

20

糖脂質は、グリセロ糖脂質とスフィンゴ糖脂質に大別される。例えば、以下の (a) 又は (b) に記載の脂質を挙げるができる。

【 0 2 1 8 】

(a) グリセロ糖脂質

グリセロ糖脂質の具体例としては、ジグリコシルジグリセリド、グリコシルジグリセリド、ジガラクトシルジグリセリド、ガラクトシルジグリセリド、スルホキシリボシルジグリセリド、(1 , 3) - D - マンノシル (1 , 3) ジグリセリド、ジガラクトシルグリセリド、ジガラクトシルジラウロイルグリセリド、ジガラクトシルジミリストイルグリセリド、ジガラクトシルジパルミトイルグリセリド、ジガラクトシルジステアロイルグリセリド、ガラクトシルグリセリド、ガラクトシルジラウロイルグリセリド、ガラクトシルジミリストイルグリセリド、ガラクトシルジパルミトイルグリセリド、ガラクトシルジステアロイルグリセリド、ジガラクトシルジアシルグリセロール等が挙げられる。

30

【 0 2 1 9 】

(b) スフィンゴ糖脂質

スフィンゴ糖脂質の具体例としては、セラミド (セレブロシド)、ガラクトシルセラミド、ラクトシルセラミド、ジガラクトシルセラミド、ガングリオシド G M 1、ガングリオシド G M 2、ガングリオシド G M 3、スルファチド、セラミドオリゴヘキソシド及びグロボシド等を挙げるができる。

【 0 2 2 0 】

2 - 1 - 3 . 飽和又は不飽和脂肪酸

40

飽和脂肪酸及び不飽和脂肪酸の具体例としては、カプリル酸、ペラルガン酸、カプリン酸、ウンデシレン酸、ラウリン酸、トリデシレン酸、ミリスチン酸、ペンタデシレン酸、パルミチン酸、マーガリン酸、ステアリン酸、ノナデシレン酸、アラキジン酸、ドデセン酸、テトラデセン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレイン酸、アイコセン酸、エルシン酸及びドコサペンタエン酸等の炭素数 5 ~ 3 0 の飽和もしくは不飽和の脂肪酸が用いられる。

【 0 2 2 1 】

2 - 2 . ステロール類

ステロール類の具体例としては、コレステロール、コレステロールコハク酸、ジヒドロコレステロール、ラノステロール、ジヒドロラノステロール、デスモステロール、スチグ

50

マステロール、シトステロール、カンペステロール、ブラシカステロール、チモステロール、エルゴステロール、キャンペステロール、フコステロール、22-ケトステロール、20-ヒドロキシステロール、7-ヒドロキシコレステロール、19-ヒドロキシコレステロール、22-ヒドロキシコレステロール、25-ヒドロキシコレステロール、7-デヒドロコレステロール、5 α -コレスト-7-エン-3 β -オール、エピコレステロール、デヒドロエルゴステロール、硫酸コレステロール、ヘミコハク酸コレステロール、フタル酸コレステロール、リン酸コレステロール、吉草酸コレステロール、コレステロールヘミサクシネート、3 β N-(N', N'-ジメチルアミノエタン)-カルバモイルコレステロール、コレステロールアセテート、コレステリルオレート、コレステリルリノレート、コレステリルミリステート、コレステリルパルミテート、コレステリルアラキデート、コプロスタノール、コレステロールエステル、コレステリルフォスフォリルコリン、及び3, 6, 9-トリオキサオクタン-1-オール-コレステリル-3e-オールを挙げることができ、好ましくは、コレステロール及びコレステロールヘミサクシネート、更に好ましくは、コレステロールを挙げることができる。

【0222】

2-3. 脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質

脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質として、非イオン性水溶性高分子が結合した脂質を用いることができる。

【0223】

非イオン性水溶性高分子とは、水や緩衝液等の水性媒体中において末端を除いて解離基を有しない高分子または該高分子の末端をアルコキシとした高分子である。このような非イオン性水溶性高分子の例としては、

(1) ビニルアルコール、メチルビニルエーテル、ビニルピロリドン、ビニルオキサゾリドン、ビニルメチルオキサゾリドン、2-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、N-ビニルサクシンイミド、N-ビニルホルムアミド、N-ビニル-N-メチルホルムアミド、N-ビニルアセトアミド、N-ビニル-N-メチルアセトアミド、2-ヒドロキシエチルメタクリレート、アクリルアミド、メタクリルアミド、N, N-ジメチルアクリルアミド、N-iso-プロピルアクリルアミド、ジアセトンアクリルアミド、メチロールアクリルアミド、アクリロイルモルホリン、アクリロイルピロリジン、アクリロイルピペリジン、スチレン、クロロメチルスチレン、プロモメチルスチレン、酢酸ビニル、メチルメタクリレート、ブチルアクリレート、メチルシアノアクリレート、エチルシアノアクリレート、n-プロピルシアノアクリレート、iso-プロピルシアノアクリレート、n-ブチルシアノアクリレート、iso-ブチルシアノアクリレート、tert-ブチルシアノアクリレート、グリシジルメタクリレート、エチルビニルエーテル、n-プロピルビニルエーテル、iso-プロピルビニルエーテル、n-ブチルビニルエーテル、iso-ブチルビニルエーテル、tert-ブチルビニルエーテル、などのモノマー単位を構成成分とする非イオン性のビニル系高分子または該高分子の末端がアルコキシ化された高分子；

(2) グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミンのようなアミノ酸から選択されるいずれかひとつのモノマー単位を構成成分とする非イオン性ポリアミノ酸または該高分子の末端がアルコキシ化された高分子；

(3) グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、セリン、スレオニン、アスパラギン、グルタミンのようなアミノ酸から選択される2種以上のモノマー単位を構成成分とする非イオン性合成ポリペプチドまたは該高分子の末端がアルコキシ化された高分子；

(4) グリコール酸および乳酸から選択されるモノマー単位を構成成分とする非イオン性ポリエステルまたは該高分子の末端がアルコキシ化された高分子；

(5) メチレングリコール、エチレングリコール、n-プロピレングリコール、iso-プロピレングリコール、ヒドロキシプロピレングリコールのようなグリコール類から選択されるモノマー単位を構成成分とする非イオン性ポリエーテルまたは該高分子の末端がア

10

20

30

40

50

ルコキシ化された高分子；

(6) デキストラン、ペクチン、プルランのような糖類などの、非イオン性天然高分子または該高分子の末端がアルコキシ化された高分子；

(7) メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースのようなセルロース類などの非イオン性改変天然高分子または該高分子の末端がアルコキシ化された高分子；及び、

(8) 上記 (1) 及至 (7) の異なる 2 種以上の高分子を構成単位とするブロック重合体
またはグラフト共重合体または該共重合体の末端がアルコキシ化された共重合体
を挙げることができる。

【 0 2 2 4 】

これらの非イオン性水溶性高分子のうち、好適には非イオン性ポリエーテル、非イオン性ポリエステル、非イオン性ポリアミノ酸もしくは非イオン性合成ポリペプチドまたはこれらの高分子の末端がアルコキシ化された高分子であり、更に好適には非イオン性ポリエーテルもしくは非イオン性ポリエステルまたはこれらの高分子の末端がアルコキシ化された高分子であり、更により好適には非イオン性ポリエーテルまたは非イオン性モノアルコキシポリエーテルであり、特に好適にはポリエチレングリコールまたはモノメトキシポリエチレングリコールであり、最適にはモノメトキシポリエチレングリコールである。

【 0 2 2 5 】

また、これらの非イオン性水溶性高分子の平均分子量は、特に限定はないが、好適には 1000 及至 12000 であり、より好適には、1000 及至 5000 であり、更により好適には、1800 乃至 2200 である。

【 0 2 2 6 】

脂質部分には、「2 - 1」記載の「両親媒性脂質」、「2 - 2」記載の「ステロール類」で挙げた脂質等を用いることができる。

【 0 2 2 7 】

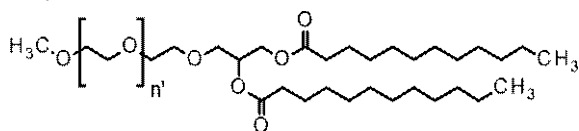
非イオン性水溶性高分子が結合した脂質の具体例としては、例えば、ジアシルグリセロール結合モノメトキシポリエチレングリコール、ホスファチジルエタノールアミン結合モノメトキシポリエチレングリコール、セラミド結合モノメトキシポリエチレングリコール（米国特許 5, 885, 613 号）等を挙げることができるが、これらに限定されない。

【 0 2 2 8 】

より具体的には、いずれも、分子量約 2000 の PEG をもつ式

【 0 2 2 9 】

【化 2 1】



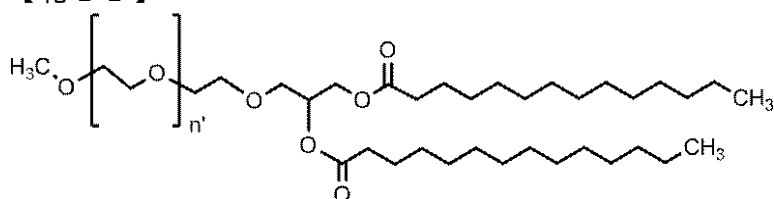
【 0 2 3 0 】

で表される、1, 2 - ジラウロイル - sn - グリセロール メトキシポリエチレン グリコール、

以下の式

【 0 2 3 1 】

【化 2 2】



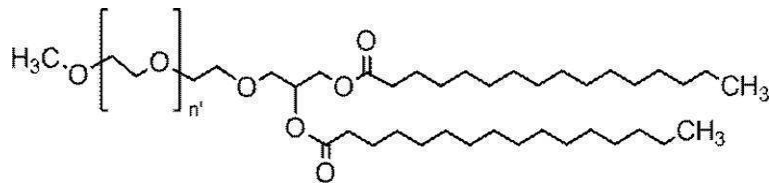
【 0 2 3 2 】

で表される、1, 2 - ジミリスチル - sn - グリセロール メトキシポリエチレン グリコール、

以下の式

【 0 2 3 3 】

【 化 2 3 】



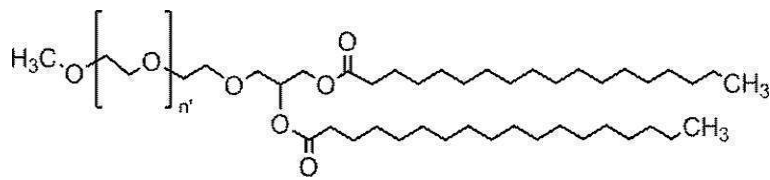
【 0 2 3 4 】

で表される、1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロール メトキシポリエチレン グ
リコール、

以下の式

【 0 2 3 5 】

【 化 2 4 】



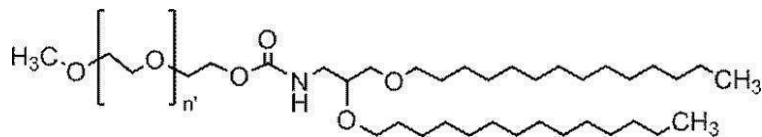
【 0 2 3 6 】

で表される、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロール メトキシポリエチレン グ
リコール、

以下の式

【 0 2 3 7 】

【 化 2 5 】

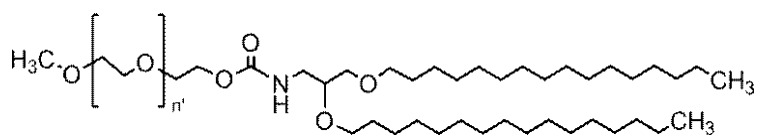


【 0 2 3 8 】

で表される、N-[メトキシ ポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-
1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン(P E G - C - D M A : J . C o n t
r o l l e d R e l e a s e (2 0 0 6) 1 1 2、p . 2 8 0 - 2 9 0)、
以下の式

【 0 2 3 9 】

【 化 2 6 】

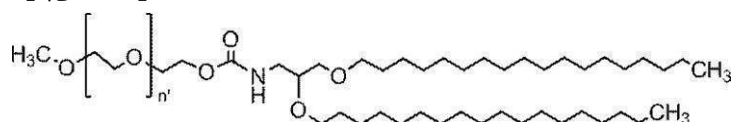


【 0 2 4 0 】

で表される、N-[メトキシ ポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-
1,2-ジパルミチルオキシプロピル-3-アミン(P E G - C - D P A : J . C o n t
r o l l e d R e l e a s e (2 0 0 6) 1 1 2、p . 2 8 0 - 2 9 0)、
以下の式、

【 0 2 4 1 】

【 化 2 7 】



10

20

30

40

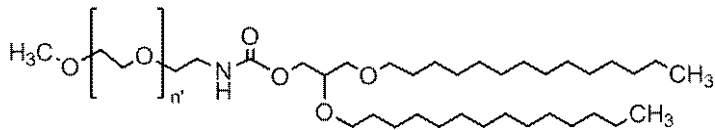
50

【 0 2 4 2 】

で表される、N - [メトキシ ポリ (エチレングリコール) 2 0 0 0] カルバモイル] - 1 , 2 - ジステアリルオキシプロピル - 3 - アミン (P E G - C - D S A : J . C o n t r o l l e d R e l e a s e (2 0 0 6) 1 1 2 , p . 2 8 0 - 2 9 0) 、
以下の式、

【 0 2 4 3 】

【 化 2 8 】



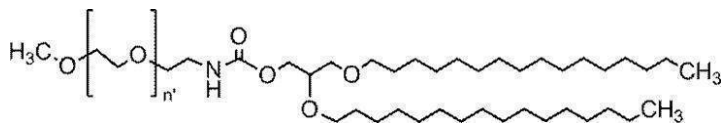
10

【 0 2 4 4 】

で表される、m P E G 2 0 0 0 - 1 , 2 - ジ - O - ミリスチル - s n 3 - カルボモイルグリセリド (P E G - D M G : W O 2 0 0 9 / 1 3 2 1 3 1 実施例 2 1 に記載) 、
以下の式、

【 0 2 4 5 】

【 化 2 9 】



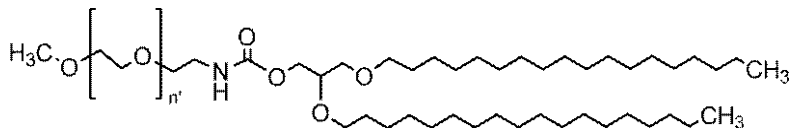
20

【 0 2 4 6 】

で表される、m P E G 2 0 0 0 - 1 , 2 - ジ - O - パルミチル - s n 3 - カルボモイルグリセリド (P E G - D P G : W O 2 0 0 9 / 1 3 2 1 3 1 実施例 2 1 に記載) 、 及び、
以下の式、

【 0 2 4 7 】

【 化 3 0 】



30

【 0 2 4 8 】

で表される、m P E G 2 0 0 0 - 1 , 2 - ジ - O - ステアリル - s n 3 - カルボモイルグリセリド (P E G - D S G : W O 2 0 0 9 / 1 3 2 1 3 1 実施例 2 1 に記載) 、
を挙げることができ、好ましくは、N - [メトキシ ポリ (エチレングリコール) 2 0 0 0] カルバモイル] - 1 , 2 - ジミリスチルオキシプロピル - 3 - アミン (P E G - C - D M A) 、 及び 1 , 2 - ジミリストイル - s n - グリセロール メトキシポリエチレングリコールを挙げることができ、更に好ましくは、N - [メトキシ ポリ (エチレングリコール) 2 0 0 0] カルバモイル] - 1 , 2 - ジミリスチルオキシプロピル - 3 - アミン (P E G - C - D M A) を挙げることができる。

【 0 2 4 9 】

上記の構造式中の $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ は、非イオン性水溶性高分子を示し、その平均分子量は、特に限定はないが、好適には 1 0 0 0 及至 1 2 0 0 0 であり、より好適には、1 0 0 0 及至 5 0 0 0 であり、更により好適には、1 8 0 0 乃至 2 2 0 0 である。n ' は、非イオン性水溶性高分子の平均分子量から考えられる数値であり、その数は、特に限定はないが、好適には 2 0 及至 2 8 0 であり、より好適には、2 0 及至 1 2 0 であり、更により好適には、3 5 乃至 5 0 である。

40

【 0 2 5 0 】

また、脂質粒子の凝集を防ぐことができる限りにおいて、上記 P E G - 脂質の代わりに又は同時に通常の P E G を用いることもできる。脂質粒子の製造後に安定であれば、投与前に透析によって P E G を除去することもできる。

50

【 0 2 5 1 】

2 - 4 . その他の脂質粒子の構成成分

本発明の脂質粒子には、脂質粒子の構造を維持する限りにおいて他の物質を含むことができ、そのような脂質粒子の一例としては、ポリアミド・オリゴマー（米国特許 US 6 3 2 0 0 1 7 号参照。）、ペプチド、タンパク質、界面活性剤から選択される 1 又は 2 種以上を含む脂質粒子を挙げることができる。

【 0 2 5 2 】

本発明の脂質粒子の構成成分に標的分子に対する指向性を有するリガンドを結合させることも可能である。

【 0 2 5 3 】

リガンドとしては、例えば、(1) デリバリーが所望される細胞によって支配的に発現される特定の細胞受容体と結合している、ホルモン、成長因子、その適切なオリゴペプチドフラグメント又は低分子化合物、又は (2) 標的細胞上で支配的に見出される抗原性エピトープと特異的に結合する、ポリクローナル又はモノクローナル抗体、又はその適切なフラグメント（例えば、F a b ; F (a b ') 2 ）、を挙げることができる。

【 0 2 5 4 】

2 - 5 . 脂質粒子の組成比率

本発明における脂質粒子中におけるカチオン性脂質は、脂質粒子中に存在する全脂質のうち、モル量にて、約 2 0 % ~ 約 8 0 %、好ましくは、約 2 0 % ~ 約 7 0 %、更に好ましくは約 4 5 % ~ 約 6 5 % 含まれる。本発明に用いられるカチオン性脂質のモル量は、脂質粒子中に存在する全脂質のうち、下限は、好ましくは 2 0 % であり、より好ましくは 4 5 % であり、上限は、好ましくは 8 0 % であり、より好ましくは 7 0 % であり、更により好ましくは 6 5 % である。両親媒性脂質は、脂質粒子中に存在する全脂質のうち、モル量にて、約 0 % ~ 約 3 5 %、好ましくは、約 0 % ~ 約 2 0 %、更に好ましくは約 5 % ~ 約 1 5 % 含まれる。本発明に用いられる両親媒性脂質のモル量は、脂質粒子中に存在する全脂質のうち、下限は、好ましくは 5 % であり、上限は、好ましくは 3 5 % であり、より好ましくは 2 0 % であり、更により好ましくは 1 5 % である。ステロール類は、脂質粒子中に存在する全脂質のうち、モル量にて、約 0 % ~ 約 7 0 %、好ましくは、約 1 5 % ~ 約 7 0 %、更に好ましくは約 1 5 % ~ 約 3 5 % 含まれる。本発明に用いられるステロール類のモル量は、脂質粒子中に存在する脂質のうち、下限は、好ましくは 1 5 % であり、上限は、好ましくは 7 0 % であり、より好ましくは 3 5 % である。脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質は、脂質粒子中に存在する全脂質のうち、モル量にて、約 0 . 5 % ~ 約 1 0 %、好ましくは約 1 % ~ 約 1 0 %、更に好ましくは約 1 . 5 % ~ 約 1 0 %、特に好ましくは約 1 . 5 % ~ 約 3 % 含まれる。本発明の脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質のモル量は、脂質粒子中に存在する全脂質のうち、下限は、好ましくは 0 . 5 % であり、より好ましくは 1 % であり、更により好ましくは 1 . 1 % であり、更により好ましくは 1 . 2 % であり、更により好ましくは 1 . 3 % であり、特に好ましくは 1 . 4 % であり、最も好ましくは 1 . 5 % であり、上限は、好ましくは 1 0 % であり、より好ましくは 5 % であり、更により好ましくは 3 % である。

【 0 2 5 5 】

本発明の脂質粒子が、両親媒性脂質、ステロール類、カチオン性脂質、及び脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質を用いる場合には、脂質組成は、モル量にて、両親媒性脂質が 2 0 % 以下、ステロール類が 1 5 % ~ 7 0 %、カチオン性脂質が 2 0 % ~ 7 0 %、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が 1 % ~ 1 0 % であることが好ましく、両親媒性脂質が 5 % ~ 1 5 % 以下、ステロール類が 1 5 % ~ 4 0 % 以上、カチオン性脂質が 4 5 % ~ 6 5 %、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が 1 . 5 % ~ 3 % であることがさらに好ましい。

【 0 2 5 6 】

本発明の脂質粒子の好適な例としては、モル比で、両親媒性脂質：ステロール類：カチオン性脂質：脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が、1 0 : 4 8 : 4 0 : 2、1 0

10

20

30

40

50

： 38 : 50 : 2、 10 : 33 : 55 : 2、 10 : 28 : 60 : 2、 15 : 33 : 50 : 2、 10 : 48 : 5 : 40 : 1 : 5、 10 : 47 : 5 : 40 : 2 : 5 から選択されるいずれかの割合のものを挙げる事ができる。更に好適には、モル比で、両親媒性脂質：ステロール類：カチオン性脂質：脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質が、10 : 38 : 50 : 2、 10 : 33 : 55 : 2、 10 : 28 : 60 : 2、 15 : 33 : 50 : 2 から選択されるいずれかの割合のものを挙げる事ができる。

【0257】

3. 核酸脂質粒子

本発明は、上記「2. 脂質粒子」の項に記載の脂質粒子に更に核酸が含まれる、核酸脂質粒子を提供する。「核酸脂質粒子」という用語は、脂質粒子と核酸との複合体を意味する。脂質粒子が核酸と複合体を形成している核酸脂質粒子の一例としては、核酸が脂質の二重膜の中に埋もれている構造を有する核酸脂質粒子を挙げる事ができる。本発明の核酸脂質粒子の一例としては、核酸、カチオン性脂質、両親媒性脂質、ステロール類及び脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質を含む組成物を挙げる事ができる。

10

【0258】

本発明の核酸脂質粒子内のカチオン性脂質の分子数(N)と核酸由来のリン原子数(P)の比率(N/P)は、好ましくは約2.0~15.0、より好ましくは約2.0~12.0であり、。更により好ましくは、2.0~9.0であり、更により好ましくは3.0~9.0である。N/P比率の下限は、好ましくは2.0であり、より好ましくは2.5であり、更により好ましくは3.0であり、上限は好ましくは15.0、より好ましくは12.0、更により好ましくは9.0である。

20

【0259】

本発明の核酸脂質粒子は、好ましくは約30nm~約300nm、より好ましくは約30nm~約200nmの、更により好ましくは約30nm~約100nmの平均粒子径を有する。平均粒子径とは、Zeta Potential / Particle Sizer N I C O M P ^{T M} 380 Z L S (PARTICLE SIZING SYSTEMS)等の機器を用い、動的光散乱法等の原理に基づいて測定した体積平均粒子径をいう。

【0260】

通常の場合ではヌクレアーゼによって分解される核酸は、本発明の核酸脂質粒子内に存在する場合には、水溶液中でのヌクレアーゼによる分解に対し耐性である。

30

【0261】

核酸脂質粒子及びそれらの調製方法は、米国特許第5,753,613号；第5,785,992号；第5,705,385号；第5,976,567号；第5,981,501号；第6,110,745号；第6,320,017号；国際公開公報第96/40964号及び国際公開公報第07/012191号に開示されている。

【0262】

本明細書において、「核酸」、「オリゴヌクレオチド」又は「ポリヌクレオチド」という用語は、少なくとも二個のデオキシリボヌクレオチド又はリボヌクレオチドを、単鎖、二本鎖又は三重鎖いずれかの形で含有するポリマーを指す。

【0263】

特に指示がない限り、具体的核酸配列は、暗黙のうちにその保存的に修飾された変異物(例えば縮重コドン置換物)、対立遺伝子、オルトログ、SNP及び相補的配列、ならびに明示的に指示された配列も包含する。

40

【0264】

DNAは、アンチセンス、プラスミドDNA、プラスミドDNAの一部、事前濃縮されたDNA、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)の産物、ベクター(P1、PAC、BAC、YAC、人工染色体)、発現カセット、キメラ配列、染色体DNA又はそれらの群の誘導体の形でもよい。

【0265】

本明細書においては、核酸という用語は、遺伝子、プラスミド、cDNA、メッセンジ

50

ャーRNA (mRNA)、及び干渉RNA分子 (例えば、合成 siRNA 又はプラスミドから発現した siRNA) の全てに対して用いられる。

【 0 2 6 6 】

3 - 1 . 核酸脂質粒子を形成する核酸

本発明の核酸脂質粒子を形成する核酸には当業者に知られているいかなる形態をも含む得る。そのような核酸の形態の具体例としては1本鎖DNA、1本鎖RNA、DNAとRNAが混合した1本鎖ポリヌクレオチドを挙げることができる。他の形態の核酸の具体例としては、2本鎖DNA、2本鎖RNA、DNA-RNAのハイブリッドポリヌクレオチド、DNAとRNAが混合した2種のポリヌクレオチドからなる、2本鎖ポリヌクレオチドを挙げることができる。

10

【 0 2 6 7 】

3 - 2 . ヌクレオシド又はヌクレオチド

本発明の核酸脂質粒子に含まれる核酸を構成するヌクレオシド又はヌクレオチドは天然型ものに加え化学修飾された修飾ヌクレオシド又は修飾ヌクレオチドも含まれる。修飾ヌクレオシド/ヌクレオチドとしては、例えば、糖修飾ヌクレオシド/ヌクレオチド、核酸塩基修飾ヌクレオシド/ヌクレオチド、骨格修飾ヌクレオシド/ヌクレオチド、又はそれらの組み合わせが挙げられる (例えば、Nucleic Acid Research, 1997, Vol.25, No.22, 4429-4443参照)。

【 0 2 6 8 】

本明細書において、「天然型のヌクレオシド」とは、2'-デオキシアデノシン、2'-デオキシグアノシン、2'-デオキシシチジン、2'-デオキシ-5-メチルシチジン、チミジン等の2'-デオキシヌクレオシド、アデノシン、グアノシン、シチジン、5-メチルシチジン、ウリジン等のリボヌクレオシドをいう。また、「オリゴヌクレオチド」とは、ヌクレオシドの糖部分がリン酸とエステルを形成している化合物から構成されるオリゴヌクレオチドのことをいう。本明細書においては、オリゴヌクレオチドとポリヌクレオチドとは同一の意味で用いている。

20

【 0 2 6 9 】

本明細書においては2'-デオキシアデノシンをA^t、2'-デオキシグアノシンをG^t、2'-デオキシシチジンをC^t、2'-デオキシ-5-メチルシチジンを5meC^t、チミジンをT^t、2'-デオキシウリジンをU^t、アデノシンをA^r、グアノシンをG^r、シチジンをC^r、5-メチルシチジンを5meC^r、ウリジンをU^rと表すこともある。また、本明細書中においては、2'-デオキシアデノシンヌクレオチドをA^p、2'-デオキシグアノシンヌクレオチドをG^p、2'-デオキシシチジンヌクレオチドをC^p、2'-デオキシ-5-メチルシチジンヌクレオチドを5meC^p、チミジンヌクレオチドをT^p、2'-デオキシウリジンヌクレオチドをU^p、アデノシンヌクレオチドをA^r、グアノシンヌクレオチドをG^r、シチジンヌクレオチドをC^r、5-メチルシチジンヌクレオチドを5meC^r、ウラシルヌクレオチドをU^rと表すこともある。

30

【 0 2 7 0 】

本明細書においてはヌクレオチドのリン酸エステルの代わりにホスホロチオエートエステルとなっているホスホロチオエートエステルについて、A^pに対応するものとしてA^s、G^pに対応するものとしてG^s、C^pに対応するものとしてC^s、5meC^pに対応するものとして5meC^s、T^pに対応するものとしてT^s、U^pに対応するものとしてU^s、A^rに対応するものとしてA^r、G^rに対応するものとしてG^r、C^rに対応するものとしてC^r、5meC^rに対応するものとして5meC^r、U^rに対応するものとしてU^rと表すこともある。

40

【 0 2 7 1 】

本明細書における、「糖修飾ヌクレオシド」とは、ヌクレオシドの糖部分が修飾されているヌクレオシドをいう。糖修飾ヌクレオシドとしては、例えば、2'-O-メチルヌクレオシド、2'-O, 4'-C-エチレンヌクレオシド (ENA)、2'-O, 4'-C

50

- メチレンヌクレオチド (BNA / LNA) が挙げられる。

【0272】

このうち、2' - O - メチル修飾の例としては、2' - O - メチルヌクレオシド及び2' - O - メチルヌクレオチドがあり、 A^r_t に対応するものとして A^{m1}_t 、 G^r_t に対応するものとして G^{m1}_t 、 C^r_t に対応するものとして C^{m1}_t 、 $5meC^r_t$ に対応するものとして $5meC^{m1}_t$ 、 U^r_t に対応するものとして U^{m1}_t 、 A^r_p に対応するものとして A^{m1}_p 、 G^r_p に対応するものとして G^{m1}_p 、 C^r_p に対応するものとして C^{m1}_p 、 $5meC^r_p$ に対応するものとして $5meC^{m1}_p$ 、 U^r_p に対応するものとして U^{m1}_p 、 A^r_s に対応するものとして A^{m1}_s 、 G^r_s に対応するものとして G^{m1}_s 、 C^r_s に対応するものとして C^{m1}_s 、 $5meC^s$ に対応するものとして $5meC^{m1}_s$ 、 U^r_s に対応するものとして U^{m1}_s と表すこともある。

10

【0273】

本明細書に添付する配列表において、各配列の<223>の項目中で“cm”は2' - O - メチルシチジン (2' - O - Methylcytidine) を示し、“um”は2' - O - メチルウリジン (2' - O - Methyluridine) を示し、“gm”は2' - O - メチルグアノシン (2' - O - Methylguanosine) を示す。

【0274】

本明細書において2' - O , 4' - C - エチレンヌクレオチド ユニット及び「ENAユニット」とは上記の各ヌクレオシド、各ヌクレオチドにおいてENAを有するものをいい、 A^t に対応するものとして A^2_t 、 A^p に対応するものとして A^{e2}_p 、 A^s に対しては A^{e2}_s 、 G^t に対応するものとして G^2_t 、 G^p に対応するものとして G^{e2}_p 、 G^s に対しては G^{e2}_s 、 $5meC^t$ に対応するものとして C^2_t 、 $5meC^p$ に対応するものとして C^{e2}_p 、 $5meC^s$ に対しては C^{e2}_s 、 T^t に対応するものとして T^2_t 、 T^p に対応するものとして T^{e2}_p 、 T^s に対しては T^{e2}_s というようにENAユニットを有するヌクレオシド及びヌクレオチドを表わすこともある。

20

【0275】

本明細書において2' - O , 4' - C - メチレンヌクレオチド ユニット及び「2'、4' - BNA / LNAユニット」とは上記の各ヌクレオシド、各ヌクレオチドにおいて2'、4' - BNA / LNAを有するものをいい、 A^t に対応するものとして A^1_t 、 A^p に対応するものとして A^{e1}_p 、 A^s に対しては A^{e1}_s 、 G^t に対応するものとして G^1_t 、 G^p に対応するものとして G^{e1}_p 、 G^s に対しては G^{e1}_s 、 $5meC^t$ に対応するものとして C^1_t 、 $5meC^p$ に対応するものとして C^{e1}_p 、 $5meC^s$ に対しては C^{e1}_s 、 T^t に対応するものとして T^1_t 、 T^p に対応するものとして T^{e1}_p 、 T^s に対しては T^{e1}_s というように2'、4' - BNA / LNAユニットを有するヌクレオシド及びヌクレオチドを表わすこともある。

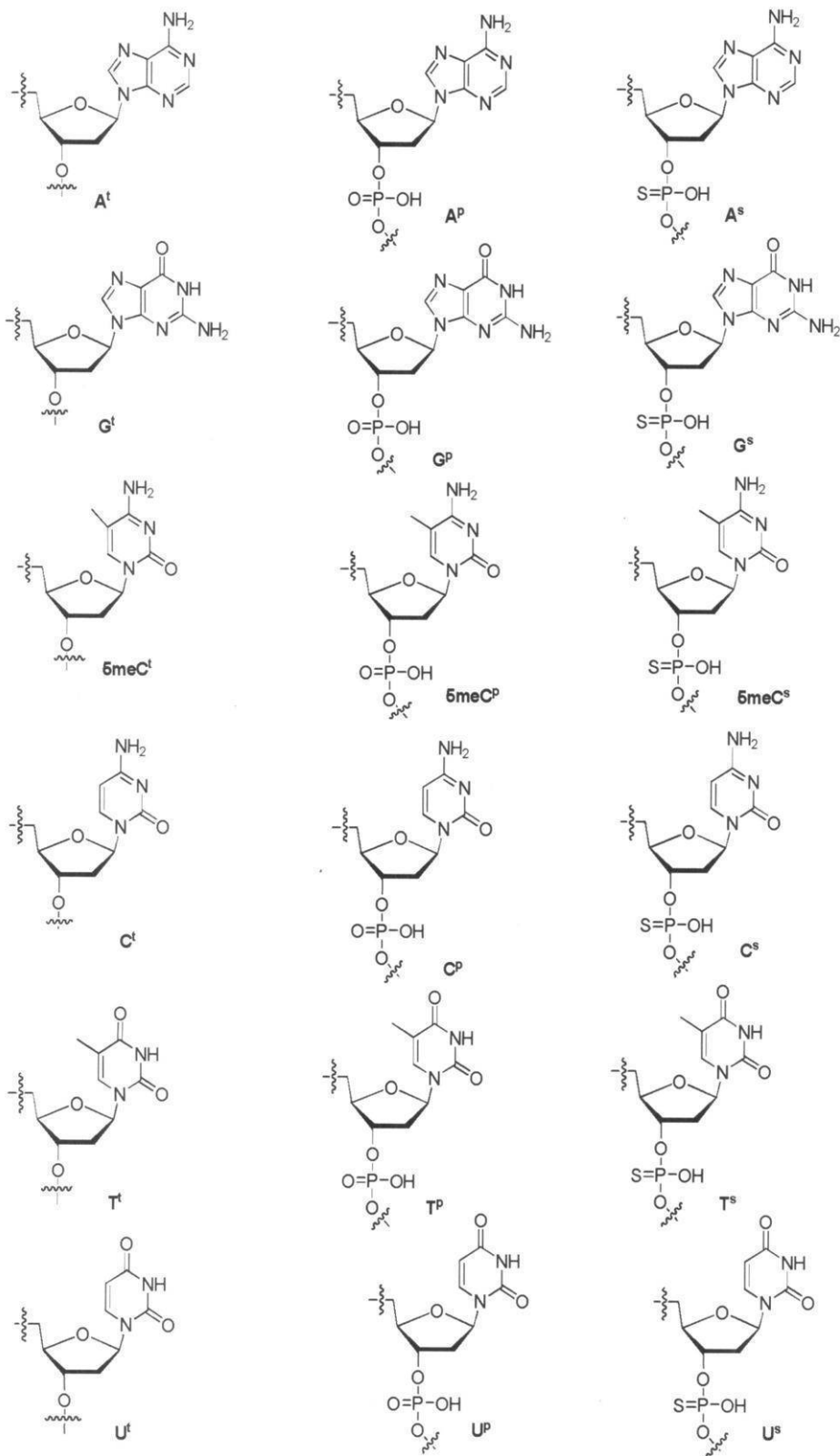
30

【0276】

以下に各ヌクレオチドの構造式を示す。

【0277】

【化 3 1】



10

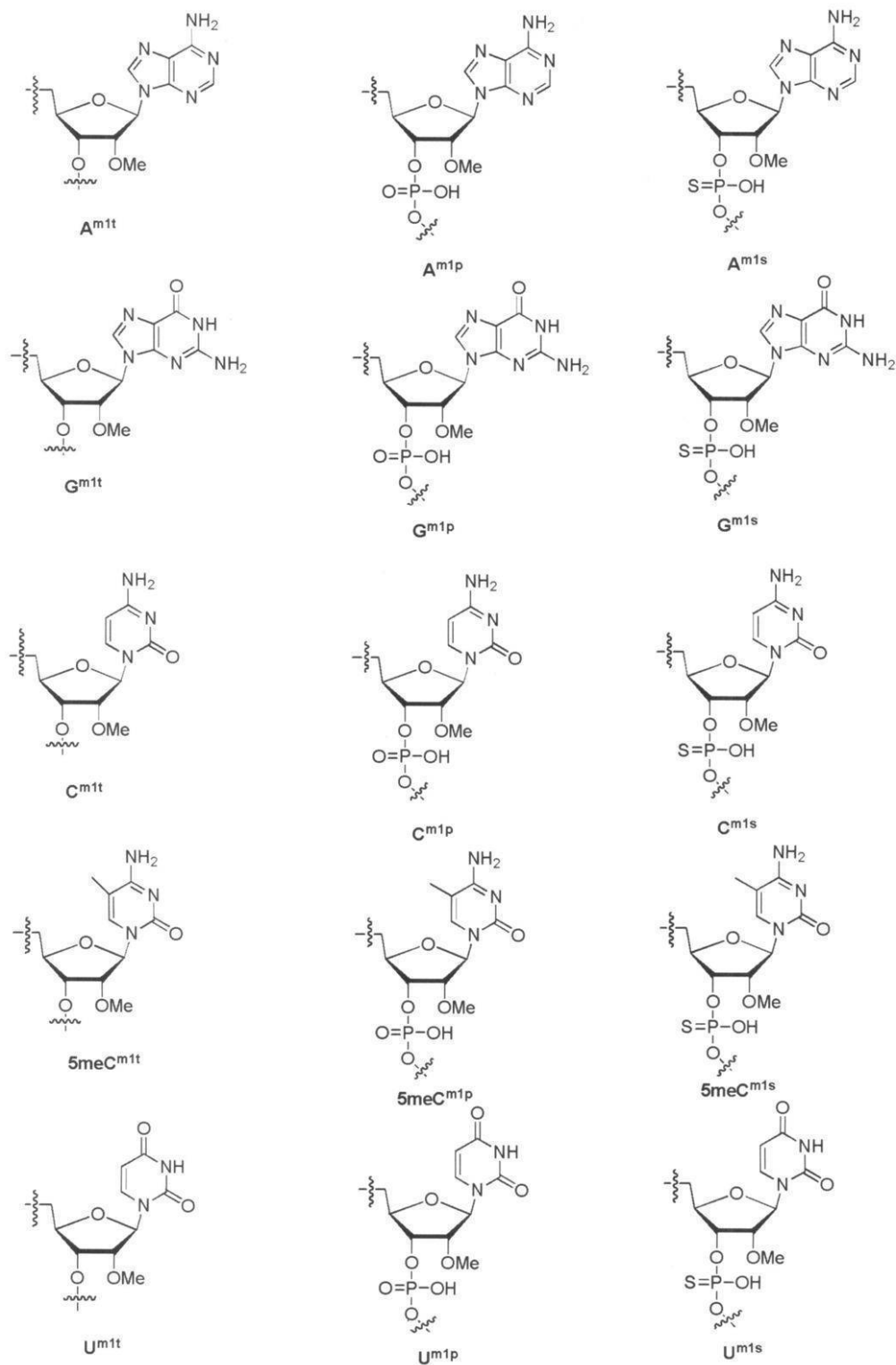
20

30

40

【 0 2 7 8 】

【化 3 2】



10

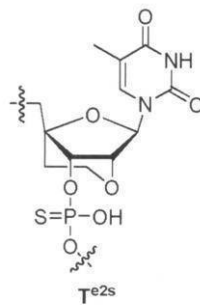
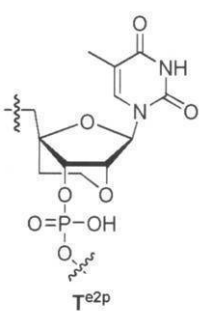
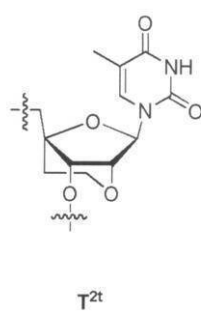
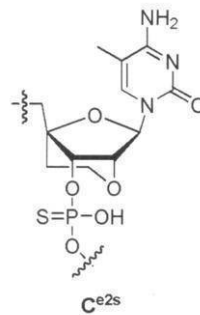
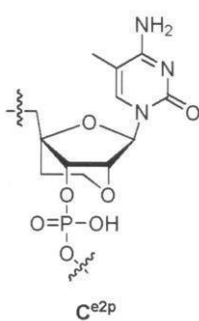
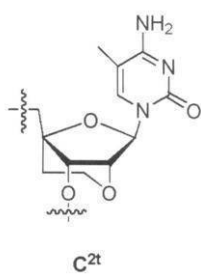
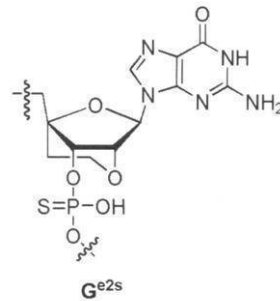
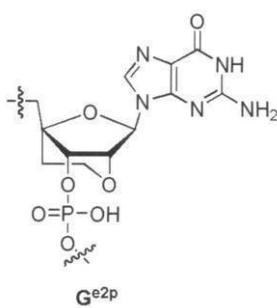
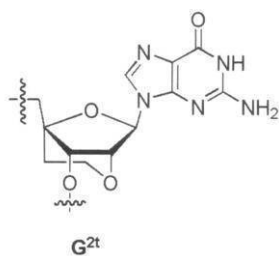
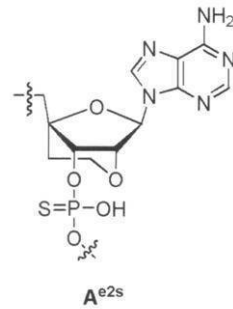
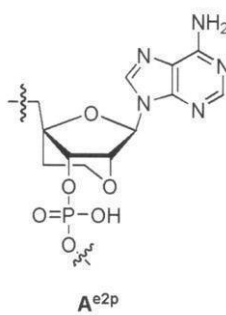
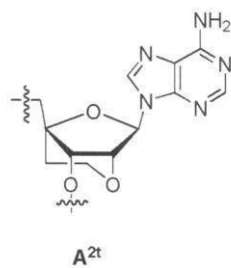
20

30

40

【 0 2 7 9 】

【化 3 3】



【 0 2 8 0 】

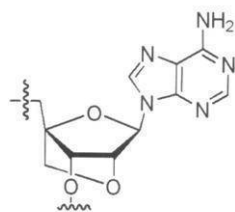
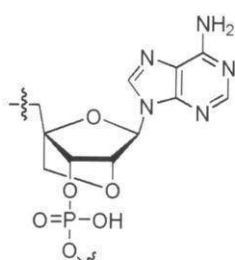
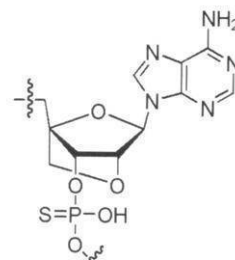
10

20

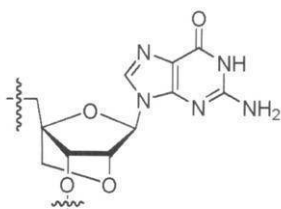
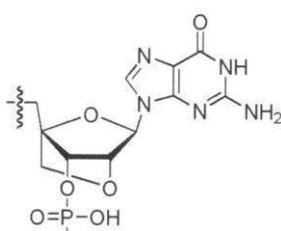
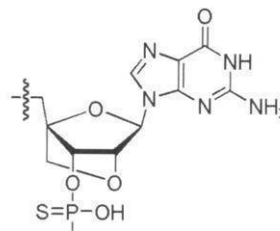
30

40

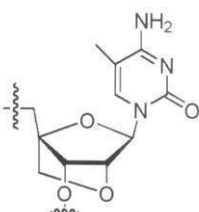
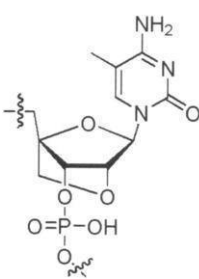
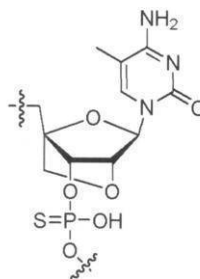
【化 3 4】

**A^{1t}****A^{e1p}****A^{e1s}**

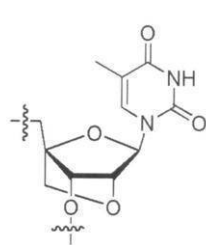
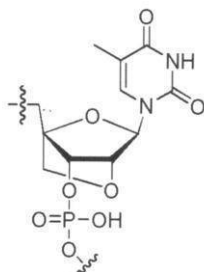
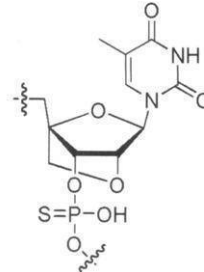
10

**G^{1t}****G^{e1p}****G^{e1s}**

20

**C^{1t}****C^{e1p}****C^{e1s}**

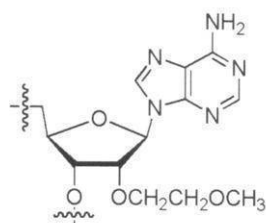
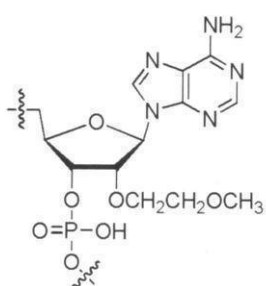
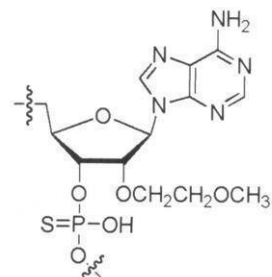
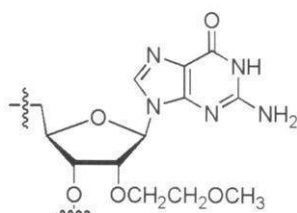
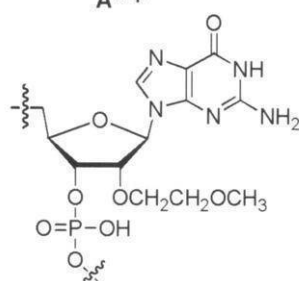
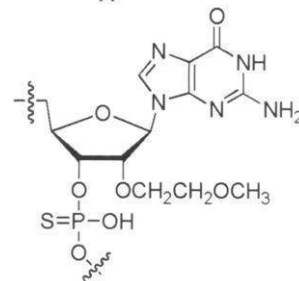
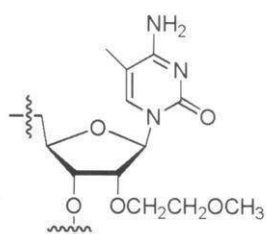
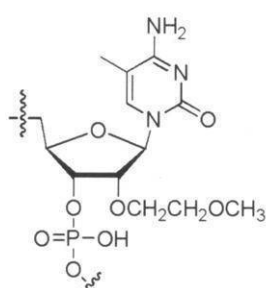
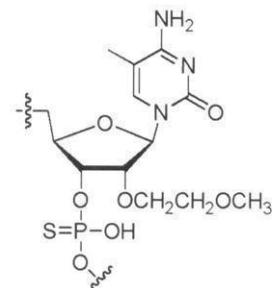
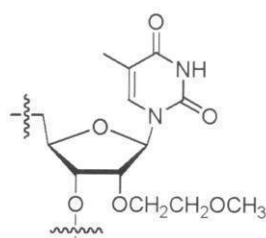
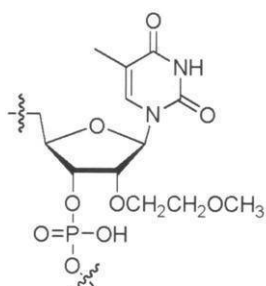
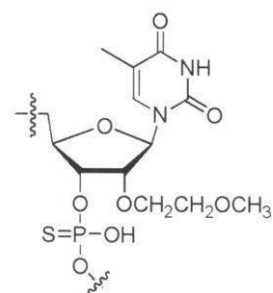
30

**T^{1t}****T^{e1p}****T^{e1s}**

40

【 0 2 8 1 】

【化 3 5】

 A^{m2t}  A^{m2p}  A^{m2s}  G^{m2t}  G^{m2p}  G^{m2s}  $5meC^{m2t}$  $5meC^{m2p}$  $5meC^{m2s}$  T^{m2t}  T^{m2p}  T^{m2s}

【 0 2 8 2 】

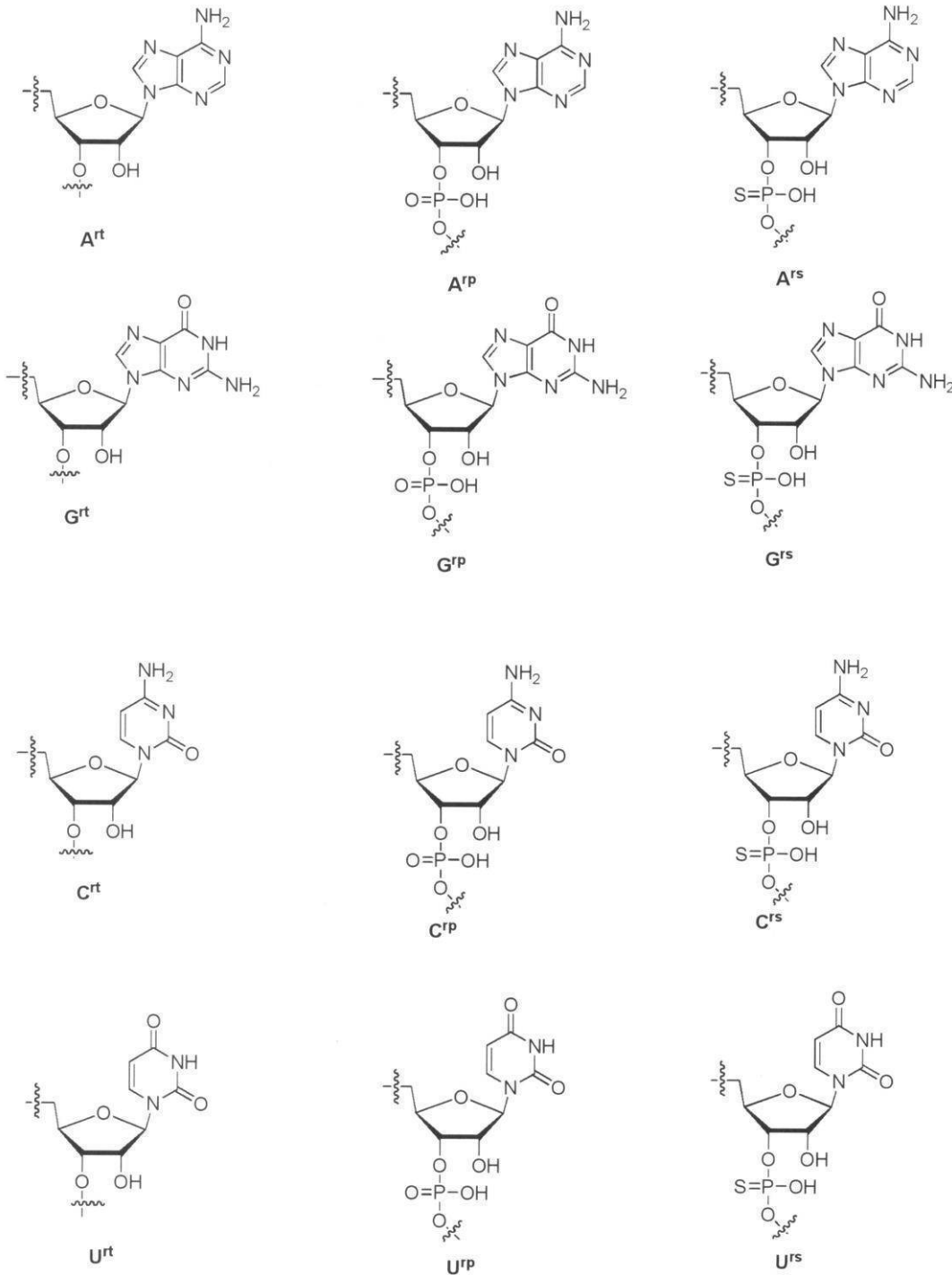
10

20

30

40

【化 3 6】



10

20

30

【 0 2 8 3】

40

3 - 3 . 標的遺伝子

本明細書において、「標的遺伝子」とは、これを導入する細胞、組織、あるいは個体（以下これを「被導入体」と称することがある。）においてRNAであれば特に制限されず、タンパク質に翻訳されるmRNAであってもタンパク質に翻訳されないノンコーディングRNAであってもよい。ノンコーディングRNAとしては、機能性RNA、例えば、mRNAの非翻訳領域、tRNA、rRNA、mRNA型ncRNA (mRNA-like non-coding RNA)、長鎖ncRNA (long non-coding RNA)、snRNA (small nuclear RNA)、snoRNA (small nucleolar RNA)、miRNA (microRNA) 等が挙げられる。具体的には、導入する被導入体に内在性のものでも、遺伝子導入等の手法によって導入される外

50

来性のものでよい。また、染色体上に存在する遺伝子でも、染色体外のものでよい。外来性の遺伝子としては、例えば、被導入体に感染可能なウイルス、バクテリア、真菌又は原生動物由来のものが挙げられるがこれらに制限されない。遺伝子の機能については既知のもので未知のものでよい。

【0284】

そのような標的遺伝子の例としては、特定の疾患を有する患者において特異的に発現が上昇している及び／又は特異的に変異している遺伝子を挙げることができる。疾患としては、例えば、中枢疾患（例えば、アルツハイマー病、痴呆、摂食障害など）、炎症性疾患（例えば、アレルギー、リュウマチ、変形性関節症、エリテマトーデスなど）、循環器疾患（例えば、高血圧症、心肥大、狭心症、動脈硬化症、高コレステロール血症等）、癌（例えば、非小細胞肺癌、卵巣癌、前立腺癌、胃癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸部癌、結腸癌、直腸癌、肝臓癌、腎臓癌、膵臓癌、悪性黒色腫等）、呼吸器疾患（例えば、肺炎、気管支炎、喘息、慢性閉塞性肺疾患、肺線維症等）、糖尿病、糖尿病網膜症、糖尿病性腎症、貧血（例えば、慢性疾患に伴う貧血、鉄不応性鉄欠乏性貧血等）、加齢性黄斑変性症、免疫系疾患（例えば、クローン病、アトピー性皮膚炎、自己免疫疾患、免疫不全、白血病等）、肝臓・胆のう疾患（例えば、非アルコール性脂肪性肝炎、肝硬変、肝炎、肝不全、胆汁うっ滞症、結石等）、消化管疾患（例えば、潰瘍、腸炎、吸収不良等）、感染症、肥満、線維症（例えば、肺線維症、肝線維症、腎線維症、骨髄線維症等）を挙げることができる。これらの疾患の原因遺伝子としては、例えば、*kinesin spindle protein* (KSP)、*vascular endothelial growth factor* (VEGF)、*transthyretin* (TTR)、*proprotein convertase subtilisin/kexin type 9* (PCSK9)、*polo-like kinase 1* (PLK-1)、*ApoB-100*、*ribonucleotide reductase M2 subunit* (RRM2)、*clusterin*、*heat shock protein 27* (Hsp27)、*survivin*、*eukaryotic initiation factor-4E* (eIF-4E)、*intercellular adhesion molecule 1* (ICAM-1)、*alpha subunit of the interleukin 4 receptor* (IL-4R-alpha)、*Factor XI*、*Factor VII*、*N-ras*、*H-ras*、*K-ras*、*bcl-2*、*bcl-xL*、*Her-1*、*Her-2*、*Her-3*、*Her-4*、*MDR-1*、ヒトβ-カテニン遺伝子、*DDX3* (DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, X-linked)、*Myeloid Cell Leukemia Sequence 1* (MCL1) 遺伝子、*PKR* (Eif2ak2)、*Hsp47* (Serpinh1)、*Hepcidin*、活性化プロテインC (APC)、*signal transducer and activator of transcription* (STAT3)、*Collagen, type I, alpha 1* (Col1A1) を挙げることが出来るがこれらに限定されない。

【0285】

3-4.2 本鎖ポリヌクレオチド

本発明の核酸脂質粒子に含まれる核酸が標的遺伝子に対してRNA干渉作用を有する核酸である場合には、核酸のRNA干渉作用を有する限りにおいてその構造及び化学修飾に制限は無いが、例えば、*siRNA*（例えば、WO2002/044321、*Current Opinion in Chemical Biology* 570-579、参照）、RNAと2'-OMeRNAを交互に結合したポリヌクレオチドからなる*AtuRNAi*（例えばWO2004/015107参照）、以下の3-4-1の項で説明する、DNAと2'-OMeRNAが交互に結合したポリヌクレオチドにおいてセンス鎖とアンチセンス鎖が異なる種類の核酸がワトソン-クリック塩基対で2本鎖を形成している2本鎖ポリヌクレオチド（例えば、WO2010/001909参照）、以下の3-4-2の項で説明する、ポリヌクレオチドの末端が修飾された核酸（例えば、WO2010/05

2715参照)、及び、以下の3-4-3の項で説明する、アンチセンス鎖ポリヌクレオチドの5'末端とセンス鎖ポリヌクレオチドの3'末端の各々がリンカーを介して結合し1本鎖となり、さらに分子内でワトソン-クリック塩基対を形成して2本鎖構造を有する1本鎖ポリヌクレオチド(例えば、WO2012/074038参照)等を挙げることができる。

【0286】

これらのポリヌクレオチドの構造を図4に示す。

【0287】

本明細書中において、「標的遺伝子と同一のヌクレオチド配列からなる」とは、標的遺伝子の少なくとも一部のヌクレオチド配列と同一の配列からなることをいうが、完全に同一の配列に加え、標的遺伝子に対するRNA干渉作用及び/又は遺伝子発現抑制作用を有する限りにおいて、実質的に同一な配列も含む。「標的遺伝子と相補的なヌクレオチド配列からなる」とは、標的遺伝子の少なくとも一部のヌクレオチド配列と相補的な配列からなることをいうが、完全に相補的な配列に加え、標的遺伝子に対するRNA干渉作用及び/又は遺伝子発現抑制作用を有する限りにおいて、実質的に同一な配列も含む。また、標的遺伝子にSNPs等が知られている場合、それらの変異を有する配列も同一のヌクレオチド配列に含まれる。本明細書中において、標的遺伝子と相補的なヌクレオチド配列を含み標的遺伝子に対してRNA干渉作用及び/又は遺伝子発現抑制作用を有するポリヌクレオチドを標的遺伝子に対するポリヌクレオチドという。

【0288】

本発明の核酸粒子に含まれる核酸のヌクレオチド配列は、標的遺伝子に対するRNA干渉作用及び/又は遺伝子発現抑制作用を有する限りにおいて特に制限されないが、例えば、コンピュータソフトウェア(例えば、GENETYX(登録商標): GENETYX CORPORATION製等。)を用いて標的遺伝子に対するRNA干渉作用を有すると予想された配列に基づいてセンス鎖及びアンチセンス鎖の配列を決定することによって決定することもできるし、更に選択された配列に基づいて作製したポリヌクレオチドのRNA干渉作用及び/又は遺伝子発現抑制作用を確認することによって決定することもできる。

【0289】

RNA干渉作用を有する2本鎖ポリヌクレオチドのセンス鎖及びアンチセンス鎖の鎖長は、RNA干渉作用及び/又は遺伝子発現抑制作用を有する限り、10ヌクレオチドから標的遺伝子のオープンリーディングフレーム(ORF)の全長までのいかなる長さ、好ましくは、18ヌクレオチドから、標的遺伝子のオープンリーディングフレーム(ORF)の全長までのいかなる長さ、更に好ましくは10から100ヌクレオチドであり、更に好ましくは15~30ヌクレオチドである。

【0290】

RNA干渉作用を有する2本鎖ポリヌクレオチドとして、DNAと2'-OMeRNAが交互に結合したポリヌクレオチドにおいてセンス鎖とアンチセンス鎖が異なる種類の核酸でワトソン-クリック結合をしている2本鎖ポリヌクレオチド(WO2010/001909)を用いる場合には、センス鎖としては、18~21の鎖長のものが好ましく、18~19の鎖長のものが更に好ましい。アンチセンス鎖としては、19~21の鎖長のものが好ましく、21鎖長のものが更に好ましい。またその全体が2本鎖構造である必要はなく5'及び/又は3'末端が一部突出したものも含み、その突出末端は1~5ヌクレオチド、好ましくは1~3ヌクレオチド、さらに好ましくは2ヌクレオチドである。また、最も好ましい例としては、アンチセンス鎖のポリヌクレオチドの3'末端が2ヌクレオチド突出している(オーバーハング構造)構造を有し、18塩基対を形成しているポリヌクレオチドが挙げられる。

【0291】

3-4-1. DNAと2'-OMeRNAが交互に結合したポリヌクレオチド

本発明の核酸脂質粒子に含まれる核酸の一例としては、DNAと2'-OMeRNAが

交互に結合したポリヌクレオチドにおいてセンス鎖とアンチセンス鎖が異なる種類の核酸でワトソン・クリック結合をしている2本鎖ポリヌクレオチドを挙げることができる。

【0292】

そのような2本鎖ポリヌクレオチドの具体例としては、例えば、WO2010/001909の実施例51に記載のセンス鎖CT-169：

HO-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1t}-H (配列表の配列番号1)

と実施例45に記載のアンチセンス鎖CT-157：

HO-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (配列表の配列番号2)

10

で構成される2本鎖ポリヌクレオチド；

WO2010/001909の実施例20に記載のセンス鎖がCT-103：

HO-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-A^t-H (配列表の配列番号3)

と実施例45に記載のアンチセンス鎖CT-157：

HO-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (配列表の配列番号2)

で構成される2本鎖ポリヌクレオチドが挙げられる。

【0293】

3-4-2. 修飾2本鎖ポリヌクレオチド

20

核酸脂質粒子に含まれる核酸としてRNA干渉作用を有する核酸を用いる場合には、RNA干渉作用を有する限りにおいて、ポリヌクレオチドの末端が修飾された核酸もその一例として挙げることができる。例えば、siRNA、A^tuRNAⁱ、DNAと2'-OMeRNAが交互に結合したポリヌクレオチドにおいてセンス鎖とアンチセンス鎖が異なる種類の核酸でワトソン・クリック結合をしている2本鎖ポリヌクレオチド(例えば、WO2010/001909参照)等のRNA干渉作用を有する2本鎖ポリヌクレオチドにおいて、アンチセンス鎖の5'末端のリン酸基が5'アリールリン酸修飾されている2本鎖ポリヌクレオチド(例えば、WO2010/052715参照)を挙げることができる。

【0294】

30

そのような修飾2本鎖ポリヌクレオチドの具体例としては、例えば、WO2010/052715の実施例1に記載のセンス鎖CT-169：

HO-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1t}-H (配列表の配列番号1)

と以下の(1)乃至(3)から選択されるいずれか1つの配列を有するアンチセンス鎖：

(1) 実施例17に記載のアンチセンス鎖CT-292：

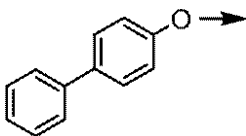
X-P(=O)(OH)-O-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (配列表の配列番号4)

であって、Xが次式

【0295】

40

【化37】



【0296】

で表される配列；

(2) 実施例26に記載のアンチセンス鎖CT-315：

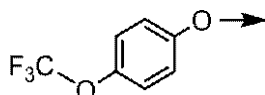
X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (配列表の配列番号5)

50

であって、Xが次式

【0297】

【化38】



【0298】

で表される配列；

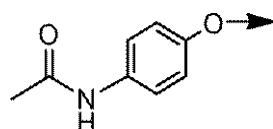
(3) 実施例83に記載のアンチセンス鎖CT-387：

X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (配列表の配列番号6)

であって、Xが次式

【0299】

【化39】



【0300】

で表される配列；

で構成される修飾2本鎖ポリヌクレオチドが挙げられる。

【0301】

3-4-3. 修飾1本鎖ポリヌクレオチド

核酸脂質粒子に含まれる核酸としては、RNA干渉作用を有する限りにおいて、標的遺伝子に対するセンス鎖ポリヌクレオチド、及び該センス鎖ポリヌクレオチドに相補的な塩基配列を有するアンチセンス鎖ポリヌクレオチドを有するポリヌクレオチドであって、該アンチセンス鎖ポリヌクレオチドの5'末端と該センス鎖ポリヌクレオチドの3'末端の各々において、リン酸ジエステル構造を形成したリンカーによって結合された1本鎖構造を有するポリヌクレオチドも含まれる(例えば、WO2012/074038参照)。

【0302】

そのような化合物の具体例としては、例えば、WO2012/074038の実施例12に記載のポリヌクレオチドCT-454：

HO-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-A^p-U^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (配列表の配列番号7(センス鎖領域)及び配列番号8(アンチセンス鎖領域))；

実施例28に記載のポリヌクレオチドHS-005：

HO-C^p-G^{m1p}-A^p-G^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-G^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-C^{m1p}-T^p-A^{m1p}-X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-T^p-A^{m1p}-G^p-C^{m1p}-A^p-C^{m1p}-C^p-C^{m1p}-A^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-G^p-U^{m1p}-C^p-U^{m1p}-C^p-G^{m1p}-T^p-U^{m1t}-H (配列表の配列番号9(センス鎖領域)及び配列番号10(アンチセンス鎖領域))；

実施例29に記載ポリヌクレオチドHS-006：

HO-C^p-A^{m1p}-G^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-A^{m1p}-T^p-G^{m1p}-G^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-C^p-U^{m1p}-A^p-U^{m1p}-X-P(=O)(OH)-O-U^{m1p}-A^p-U^{m1p}-A^p-G^{m1p}-C^p-A^{m1p}-C^p-C^{m1p}-C^p-A^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-G^{m1p}-T^p-C^{m1p}-T^p

- G^{m1p} - T^p - U^{m1t} - H (配列表の配列番号 11 (センス鎖領域) 及び配列番号 12 (アンチセンス鎖領域)) ;

実施例 30 に記載ポリヌクレオチドポリヌクレオチド HS - 005s :

HO - C^p - G^{m1p} - A^p - G^{m1p} - A^p - C^{m1p} - A^p - C^{m1p} - A^p - U^{m1p} - G^p - G^{m1p} - G^p - U^{m1p} - G^p - C^{m1p} - T^p - A^{m1p} - X - P (= O) (OH) - O - U^{m1p} - T^p - A^{m1p} - G^p - C^{m1p} - A^p - C^{m1p} - C^p - C^{m1p} - A^p - U^{m1p} - G^p - U^{m1p} - G^p - U^{m1p} - C^p - U^{m1p} - C^p - G^{m1p} - T^{ps} - U^{m1t} - H (配列表の配列番号 13 (センス鎖領域) 及び配列番号 14 (アンチセンス鎖領域)) ;

実施例 31 に記載ポリヌクレオチドポリヌクレオチド HS - 006s :

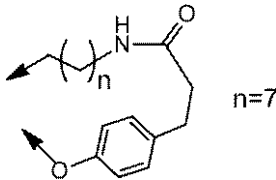
HO - C^p - A^{m1p} - G^p - A^{m1p} - C^p - A^{m1p} - C^p - A^{m1p} - T^p - G^{m1p} - G^p - G^{m1p} - T^p - G^{m1p} - C^p - U^{m1p} - A^p - U^{m1p} - X - P (= O) (OH) - O - U^{m1p} - A^p - U^{m1p} - A^p - G^{m1p} - C^p - A^{m1p} - C^p - C^{m1p} - C^p - A^{m1p} - T^p - G^{m1p} - T^p - G^{m1p} - T^p - C^{m1p} - T^p - G^{m1p} - T^{ps} - U^{m1t} - H

(配列表の配列番号 15 (センス鎖領域) 及び配列番号 16 (アンチセンス鎖領域)) ;
であって、

Xが次式

【0303】

【化40】



【0304】

で表される配列を挙げることができる。Xの末端のメチレン基はセンス鎖ポリヌクレオチドの 3' 末端に結合してリン酸ジエステル結合を形成し、フェニル基に結合している酸素原子はアンチセンス鎖ポリヌクレオチドの 5' 末端に結合してリン酸ジエステル結合を形成する。

【0305】

3 - 4 - 3 . 1 本鎖 RNA

核酸脂質粒子に含まれる核酸として、1 本鎖 RNA であれば特に制限されず、タンパク質に翻訳される mRNA も含まれる。翻訳効率を向上させるために、5' 末端に m7 GpppG のようなキャップ構造、内部リボソーム進入部位 (IRES)、および / または、3' 末端にポリ A 尾部も含むことができる。さらに 3' および / または、5' 非翻訳領域にタンパク質を安定化に貢献する配列、翻訳を促進する配列を含めることができる。

【0306】

1 本鎖 RNA は、所望の塩基配列を有する DNA から *in vitro* 転写反応により製造することができる。 *in vitro* 転写に必要な酵素、緩衝液、及び、ヌクレオシド - 5' - トリリン酸混合物 (アデノシン - 5' - トリリン酸 (ATP)、グアノシン - 5' - トリリン酸 (GTP)、シチジン - 5' - トリリン酸 (CTP) 及びウリジン - 5' - トリリン酸 (UTP)) は、市販されている (Ampliscribe T7 High Yield Transcription Kit (Epicentre)、mMES SAGE mMACHINE T7 Ultra Kit (Life technologies) 等)。1 本鎖 RNA を製造するために使用される DNA は、クローン化された DNA、例えば、プラスミド DNA または DNA 断片が用いられる。

【0307】

また、安定性を向上させ、さらに、免疫原性を低下させた mRNA を得るために、 *in vitro* 転写反応において、修飾ヌクレオシド - 5' - トリリン酸を未修飾ヌクレオシ

10

20

30

40

50

ド - 5' - トリリン酸と共に用いることで、mRNAの中に修飾ヌクレオチドを導入することもできる (Kormann, M. (2011) Nature Biotechnology 29, 154 - 157.)。用いる修飾ウリジン - 5' - トリリン酸として、2 - チオウリジン - 5' - トリリン酸、4 - チオウリジン - 5' - トリリン酸、4' - チオウリジン - 5' - トリリン酸、または、シュウドウリジン - 5' - トリリン酸を挙げることができる。用いる修飾シチジン - 5' - トリリン酸として、5 - メチルシチジン - 5' - トリリン酸、または、4 - チオシチジン - 5' - トリリン酸、を挙げることができる。修飾ヌクレオシド - 5' - トリリン酸として、修飾ウリジン - 5' - トリリン酸及び修飾シチジン - 5' - トリリン酸を同時に用いることもできる。

【0308】

未修飾ウリジン - 5' - トリリン酸と修飾ウリジン - 5' - トリリン酸との割合は、50 ~ 95 %の未修飾ウリジン - 5' - トリリン酸、5 ~ 50 %修飾ウリジン - 5' - トリリン酸が好ましい。さらには、70 ~ 95 %の未修飾ウリジン - 5' - トリリン酸、5 ~ 30 %修飾ウリジン - 5' - トリリン酸が好ましい。未修飾シチジン - 5' - トリリン酸と修飾シチジン - 5' - トリリン酸との割合は、50 ~ 95 %の未修飾シチジン - 5' - トリリン酸、5 ~ 50 %修飾シチジン - 5' - トリリン酸が好ましい。さらには、70 ~ 95 %の未修飾シチジン - 5' - トリリン酸、5 ~ 30 %修飾シチジン - 5' - トリリン酸が好ましい。

【0309】

修飾ヌクレオシド - 5' - トリリン酸を用いた *in vitro* 転写反応により得られた修飾ヌクレオチド (或いは修飾ヌクレオシド) を含有した1本鎖RNAは、ヌクレアーゼにより完全水解し (必要に応じて、ホスファターゼで脱リン酸を行うこともできる)、薄層クロマトグラフィー (TLC) または高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 等を用いて分析することで、修飾ヌクレオチドと未修飾ヌクレオチド (或いは修飾ヌクレオシドと未修飾ヌクレオシド) の含有する割合を求めることができる。

【0310】

未修飾のウリジンと修飾ウリジンとの割合は、50 ~ 95 %の未修飾ウリジン、5 ~ 50 %修飾ウリジンが好ましい。さらには、70 ~ 95 %の未修飾ウリジン、5 ~ 30 %修飾ウリジンが好ましい。未修飾のシチジンと修飾シチジンとの割合は、50 ~ 95 %の未修飾シチジン、5 ~ 50 %修飾シチジンが好ましい。さらには、70 ~ 95 %の未修飾シチジン、5 ~ 30 %修飾シチジンが好ましい。

【0311】

1本鎖RNAは、疾患の治療のため、または、有益なタンパク質の供給のために用いられる。1本鎖RNAは、本発明の核酸脂質粒子によって、疾患をもたらす臓器に運ばれ、さらに、細胞質内に1本鎖RNAは運搬される。1本鎖RNAがタンパク質をコードする場合、細胞質内でタンパク質に翻訳され、そのタンパク質が疾患の治療をもたらす。

【0312】

疾患の治療の対象として、遺伝子の変異によってタンパク質が存在しないか、或いは、供給量が減っている場合がある。また、タンパク質が存在していても、その遺伝子の変異によってタンパク質の変異が生じ、その変異タンパク質の機能が天然型タンパク質に比べ弱い事例もある。これらのようなタンパク質の欠失や欠損に対して、タンパク質をコードする1本鎖RNAを使用し、疾患の治療をもたらすことができる。1本鎖RNAを使用して治療できる疾患として、遺伝子の欠陥により生じる疾患 (遺伝子疾患)、及び、臓器不全のために体内にたんぱく質が存在しないことによる疾患を挙げることができる。

【0313】

遺伝子の欠陥により生じる疾患 (遺伝子疾患) として (括弧内は遺伝子名を表す)、糖原病 Ia (グルコース - 6 - フォスファターゼ)、糖原病 Ib (グルコース - 6 - リン酸トランスロカーゼ)、糖原病 III (アミロ - 1, 6 - グルコシダーゼ)、糖原病 IV (アミロ 1, 4 → 1, 6 トランスグルコシラーゼ)、糖原病 VI (肝ホスホリラーゼ)、糖原病 IX、糖原病 VII (肝ホスホリラーゼキナーゼ)、α1 - アンチトリプシン欠損

10

20

30

40

50

症（ $\alpha 1$ -アンチトリプシン）、先天性ヘモクロマトーシス、ヘプシジン欠損症（ヘプシジン）、血友病AおよびB（凝固第VIII因子、凝固第IX因子）、先天性凝固阻止因子欠損症（プロテインC、inactivator of coagulation factors Va and VIIa）、血栓性血小板減少紫斑病（ADAMTS13）、先天性無巨核球性血小板減少症、トロンボポエチン欠損症（トロンボポエチン）などを挙げることができる。臓器不全のために体内にたんぱく質が存在しないことによる疾患として、エリスロポエチン（EPO）成長ホルモン（ソマトトロピン、hGH）を挙げることができる。

【0314】

3-5. 核酸脂質粒子の製造方法

本発明の核酸脂質粒子の製造方法は、核酸脂質粒子を製造できる限りにおいて特に制限されないが、例えば、薄膜法、逆相蒸発法、エタノール注入法、エーテル注入法、脱水-再水和法、界面活性剤透析法、水和法、凍結融解法等の方法によって製造することが出来る。より具体的には、下記のエタノール注入法にて製造することができる。

【0315】

カチオン性脂質、両親媒性脂質、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質等の疎水性物質を50~90%エタノールに溶解させる。一方、上記核酸等の親水性物質を、pH3~6の緩衝液に溶解させる。

【0316】

上記、脂質エタノール溶液と核酸水溶液を1:20~1:1の体積比にて混合することにより、脂質粒子の形成、及び、負に荷電した核酸と正に荷電したカチオン性脂質との静電的相互作用による核酸脂質粒子の形成が行われ、核酸脂質粒子の粗分散液が得られる。

【0317】

また、別の態様において、脂質エタノール溶液は核酸を含まない緩衝液と混合されることにより、脂質粒子を形成する。その後、核酸水溶液を混合することによって、核酸脂質粒子形成させることも可能である。

【0318】

続いて、限外濾過や透析等の方法によって、得られた核酸脂質粒子の粗分散液に含まれるエタノール及び遊離の核酸の除去が行われ、安定な核酸脂質粒子が得られる。

【0319】

そのような核酸脂質粒子の例としては例えば以下の(a)乃至(g)からなる群から選択されるいずれかのモル比からなる構成成分を含む核酸脂質粒子を挙げることができる。

(a) 両親媒性脂質：ステロール類：カチオン性脂質：脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質=10:48:40:2、

(b) 両親媒性脂質：ステロール類：カチオン性脂質：脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質=10:38:50:2、

(c) 両親媒性脂質：ステロール類：カチオン性脂質：脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質=10:33:55:2、

(d) 両親媒性脂質：ステロール類：カチオン性脂質：脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質=10:28:60:2、

(e) 両親媒性脂質：ステロール類：カチオン性脂質：脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質=15:33:50:2、

(f) 両親媒性脂質：ステロール類：カチオン性脂質：脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質=10:48.5:40:1.5、

(g) 両親媒性脂質：ステロール類：カチオン性脂質：脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質=10:47.5:40:2.5。

【0320】

核酸脂質粒子における、カチオン性脂質の分子数(N)と核酸由来のリン原子数(P)の比率(N/P)は、好ましくは約2.0~15.0、より好ましくは約2.0~12.0であり、。更により好ましくは、2.0~9.0であり、更により好ましくは3.0~

10

20

30

40

50

9.0である。N/P比率の下限は、好ましくは2.0であり、より好ましくは2.5であり、更により好ましくは3.0であり、上限は好ましくは15.0、より好ましくは12.0、更により好ましくは9.0である。

【0321】

4. 核酸脂質粒子を含有する医薬

本発明の核酸脂質粒子は、標的遺伝子に対するRNA干渉作用及び又は遺伝子抑制作用を有する限りにおいて医薬品となり得る。

【0322】

医薬品としては、標的遺伝子発現に由来する疾患を治療又は予防するための医薬品であれば特に限定されないが、好適には、中枢疾患（例えば、アルツハイマー病、痴呆、摂食障害など）、炎症性疾患（例えば、アレルギー、リュウマチ、変形性関節症、エリテマトーデスなど）、循環器疾患（例えば、高血圧症、心肥大、狭心症、動脈硬化症、高コレステロール血症等）、癌（例えば、非小細胞肺癌、卵巣癌、前立腺癌、胃癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸部癌、結腸癌、直腸癌、肝臓癌、腎臓癌、膵臓癌、悪性黒色腫等）、呼吸器疾患（例えば、肺炎、気管支炎、喘息、慢性閉塞性肺疾患、肺線維症等）、糖尿病、糖尿病網膜症、糖尿病性腎症、貧血（例えば、慢性疾患に伴う貧血、鉄不応性鉄欠乏性貧血、癌性貧血等）、加齢性黄斑変性症、免疫系疾患（例えば、クローン病、アトピー性皮膚炎、自己免疫疾患、免疫不全、白血病等）、肝臓・胆のう疾患（例えば、非アルコール性脂肪性肝炎、肝硬変、肝炎、肝不全、胆汁うっ滞症、結石等）、消化管疾患（例えば、潰瘍、腸炎、吸収不良等）、感染症、肥満、線維症（例えば、肺線維症、肝線維症、腎線維症、骨髓線維症等）を治療又は予防するための医薬品が挙げられる。より好適には、癌（例えば、非小細胞肺癌、卵巣癌、前立腺癌、胃癌、膀胱癌、乳癌、子宮頸部癌、結腸癌、直腸癌、肝臓癌、腎臓癌、膵臓癌、悪性黒色腫等）、呼吸器疾患（例えば、肺炎、気管支炎、喘息、慢性閉塞性肺疾患、肺線維症など）、肝臓・胆のう疾患（例えば、非アルコール性脂肪性肝炎、肝硬変、肝炎、肝不全、胆汁うっ滞症、結石等）を治療又は予防するための医薬品である。更により好適には、癌（結腸癌、直腸癌、肝臓癌）、貧血（慢性疾患に伴う貧血、鉄不応性鉄欠乏性貧血、癌性貧血）、肝臓疾患（非アルコール性脂肪性肝炎、肝硬変、肝炎）、胆のう疾患（胆汁うっ滞症）、線維症（肺線維症、肝線維症、腎線維症）を治療又は予防するための医薬品である。

【0323】

本発明の核酸脂質粒子は、1本鎖RNAを用いて、疾患の治療のために有益なタンパク質の供給のために用いられる限りにおいて医薬品となり得る。3-4-3.に例を示した。

【0324】

本発明の核酸脂質粒子は、単独で、又は投与経路及び標準的な医薬的慣行に従って選択された、生理学的に許容される担体との混合物中のいずれかで投与できる。

【0325】

一般的には、標準の生理食塩水が薬学的に許容される担体として用いられる。

【0326】

その他の好適な担体としては、例えば水、緩衝化水、0.4%食塩水、0.3%グリシン等を含み、かつ安定性を高めるために、アルブミン、リポタンパク質、グロブリンなどの糖タンパク質を含む。

【0327】

薬学的担体は、一般的には、粒子形成後に加えられる。従って、粒子が形成された後に、粒子は、標準の生理学的食塩水のような薬学的に許容される担体の中で希釈することができる。

【0328】

医薬調合物中の粒子の濃度は極めて広く、即ち重量の約0.05%未満、通常は約2~5%か又は少なくとも2~5%から、10~30%程度までであり、選択された具体的な投与様式に従って、主に液体の容積、粘度等から選択される。例えば、濃度を高くして、

治療に伴う液体の負荷を小さくしてもよい。これは、アテローム性動脈硬化症関連鬱血性心不全又は重症高血圧の患者に特に望ましい。又は、刺激性脂質から構成された粒子は、低濃度に希釈し、投与部位の炎症を軽減できる。

【0329】

典型的には、核酸脂質粒子内の核酸の濃度は、約1～20%、より好ましくは約3～10%である。

【0330】

本発明の薬学的組成物は、通常の、周知の滅菌技術により滅菌してもよい。水溶液は、使用のために包装するか、又は無菌的条件下で濾過して凍結乾燥でき、凍結乾燥製剤は、投与前に無菌水溶液と合わせられる。組成物は、例えば酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム及び塩化カルシウムなどのpH調節及び緩衝化剤、ならびに浸透圧調節剤等、生理学的状態に近づけるのに必要な、薬学的に許容される補助物質を含有できる。

【0331】

これに加えて、粒子懸濁液は、貯蔵中のフリーラジカル及び脂質の過酸化損傷から脂質を保護する脂質保護剤を含んでよい。アルファトコフェロールなどの脂肪親和性フリーラジカルクエンチャー、及びフェリオキシアミンのような水溶性イオン特異的キレート化剤が好適である。

【0332】

それらの使用の別の例では、核酸脂質粒子は、ゲル、オイル、乳剤等を含むが、それらに限定されない、広範囲の局所投与形態に組み入れることができる。例えば、核酸脂質粒子を含有する懸濁液は、局所用クリーム、ペースト、軟膏、ゲル、ローション等として調合及び投与できる。

【0333】

本発明の核酸脂質粒子は、核酸（例えばプラスミドもしくはsiRNA）の細胞内への導入方法も提供する。方法は、まず上記のように粒子を形成すること、次に粒子を細胞と、核酸の細胞内への送達が起こるのに十分な時間接触させることによって、インビトロ又はインビボで実施される。

【0334】

本発明の核酸脂質粒子は、それらが混合又は接触させられるほとんどいかなるタイプの細胞にも吸着させることができる。ひとたび吸着すると、粒子は細胞部分によりエンドサイトーシスされるか、脂質と細胞膜を交換するか、又は細胞と融合するかのいずれかを成し得る。

【0335】

粒子の核酸部分の移送又は取り込みは、これら経路の任意の一つによって起こる。特に、融合が起こる場合は、粒子膜は細胞膜内に組み入れられ、粒子の内容物は細胞内液と合わさる。

【0336】

本発明の核酸脂質粒子は、細胞又は組織における標的遺伝子発現のレベルに関与又は応答する、あらゆる特徴、疾患又は症状を治療又は予防に有用である。治療又は予防の対象となる疾患としては、標的遺伝子発現に由来する疾患であれば特に限定されないが、好適には癌、貧血、肝臓疾患、胆のう疾患、線維症、又は、遺伝子疾患である。本発明の核酸脂質粒子は、その必要のある哺乳動物（好ましくはヒト）に投与することができる。

【0337】

本発明は、細胞又は組織における標的遺伝子発現を阻害又はダウンレギュレーションする方法を提供する。また、本発明は、標的遺伝子がタンパク質に翻訳されないノンコーディングRNAである場合は、ノンコーディングRNAの発現を阻害又はダウンレギュレーションし、さらに当該ノンコーディングRNAに関与する遺伝子の発現をアップレギュレーション、或いは、場合によってはダウンレギュレーションする方法を提供する。

【実施例】

【0338】

以下、実施例、参考例及び試験例にて本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、下記実施例において、遺伝子操作に関する各操作は特に明示がない限り、「モレキュラークローニング (Molecular Cloning)」[Sambrook, J., Fritsch, E. F. および Maniatis, T. 著、Cold Spring Harbor Laboratory Press より 1989 年に発刊] に記載の方法により行うか、または、市販の試薬やキットを用いる場合には市販品の指示書に従って使用した。

【0339】

(参考例 1)

炭酸 4 - ニトロフェニル (6Z, 9Z, 28Z, 31Z) - ヘプタトリアコンタ - 6, 9, 28, 31 - テトラエン - 19 - イル

ジイソプロピルエチルアミン (0.50 g, 3.8 mmol) および 4 - ジメチルアミノピリジン (0.12 g, 0.95 mmol) のジクロロメタン (61 mL) 溶液に、WO2010042877 Example 1 および Example 7 記載の (6Z, 9Z, 28Z, 31Z) - ヘプタトリアコンタ - 6, 9, 28, 31 - テトラエン - 19 - オール (0.50 g, 0.95 mmol) およびクロロギ酸 4 - ニトロフェニル (0.38 g, 1.9 mmol) を添加し、室温で 5 時間反応させた。減圧下で揮発分を除去し、酢酸エチルを添加することにより発生した固体をろ過により除去し、得られた溶液の、溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を得た (0.61 g, 93%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (6H, t, $J = 6.8 \text{ Hz}$), 1.21 - 1.44 (36H, m), 1.59 - 1.73 (4H, m), 2.00 - 2.09 (8H, m), 2.77 (4H, t, $J = 6.8 \text{ Hz}$), 4.77 - 4.85 (1H, m), 5.28 - 5.42 (8H, m), 7.38 (2H, d, $J = 9.3 \text{ Hz}$), 8.28 (2H, d, $J = 9.3 \text{ Hz}$)。

【0340】

(参考例 2)

炭酸 2 - (ジメチルアミノ)エチル (6Z, 9Z, 28Z, 31Z) - ヘプタトリアコンタ - 6, 9, 28, 31 - テトラエン - 19 - イル

参考例 1 で得られた炭酸 4 - ニトロフェニル (6Z, 9Z, 28Z, 31Z) - ヘプタトリアコンタ - 6, 9, 28, 31 - テトラエン - 19 - イル (0.20 g, 0.29 mmol)、2 - ジメチルアミノエタノール (0.26 g, 2.9 mmol) およびジイソプロピルエチルアミン (0.15 g, 1.2 mmol) のジクロロメタン (10 mL) 溶液に、4 - ジメチルアミノピリジン (0.14 g, 1.2 mmol) を加え、室温で終夜反応させた。水処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (100 mg, 54%)。本化合物は、WO2010/054405 の Table に記載されている化合物である。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (6H, t, $J = 6.8 \text{ Hz}$), 1.20 - 1.40 (36H, m), 1.45 - 1.65 (4H, m), 1.96 - 2.08 (8H, m), 2.28 (6H, s), 2.60 (2H, t, $J = 5.9 \text{ Hz}$), 2.77 (4H, t, $J = 6.8 \text{ Hz}$), 4.21 (2H, t, $J = 5.9 \text{ Hz}$), 4.64 - 4.71 (1H, m), 5.27 - 5.42 (8H, m)。

$\text{MS (ESI}^+) \text{ m/z } 644 [\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS (ESI}^+) \text{ m/z } 644.6012 (3.0 \text{ mDa})$ 。

【0341】

(実施例 1)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (6Z, 9Z, 28Z, 31Z) - ヘプタトリアコンタ - 6, 9, 28, 31 - テトラエン - 19 - イル (例示化合物 1 - 467)

参考例 1 で得られた炭酸 4 - ニトロフェニル (6 Z , 9 Z , 2 8 Z , 3 1 Z) - ヘプタトリアコンタ - 6 , 9 , 2 8 , 3 1 - テトラエン - 1 9 - イル (0 . 2 0 g , 0 . 2 9 m m o l) 、 3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0 . 3 0 g , 2 . 9 m m o l) およびジイソプロピルエチルアミン (0 . 1 5 g , 1 . 2 m m o l) のジクロロメタン (1 0 m L) 溶液に、 4 - ジメチルアミノピリジン (0 . 1 4 g , 1 . 2 m m o l) を加え、室温で終夜反応させた。水処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (1 0 0 m g , 5 3 %)

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

MS (ESI +) m / z 6 5 8 [M + H] ⁺

HRMS (ESI +) m / z 6 5 8 . 6 1 6 4 (2 . 6 m D a) .

【 0 3 4 2 】

(参考例 3)

(6 Z , 9 Z , 2 6 Z , 2 9 Z) - ペンタトリアコンタ - 6 , 9 , 2 6 , 2 9 - テトラエン - 1 8 - オン

リノール酸メチル (3 0 . 0 g , 1 0 1 m m o l) のキシレン (5 5 m L) 溶液に、ヘキサンにて洗浄済みの水素化ナトリウム (5 . 0 5 g , 6 3 % , 1 3 2 m m o l) のキシレン (1 0 m L) 懸濁液を 1 0 分間かけて添加した後、1 5 0 で 5 時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶液により抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去し、油状物質を得た。この油状物質にテトラヒドロフラン (4 1 3 m L) および 5 規定水酸化ナトリウム水溶液 (1 0 2 m L) を加え、1 0 0 で 5 . 5 時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶液により抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (2 3 . 0 g , 9 1 %) .

$^1\text{H-NMR}$ (4 0 0 M H z , C D C l ₃) δ : 0 . 8 9 (6 H , t , J = 6 . 6 H z) , 1 . 2 4 - 1 . 4 0 (2 8 H , m) , 1 . 5 1 - 1 . 6 0 (4 H , m) , 2 . 0 1 - 2 . 0 9 (8 H , m) , 2 . 3 8 (4 H , t , J = 7 . 4 H z) , 2 . 7 7 (4 H , t , J = 6 . 6 H z) , 5 . 2 9 - 5 . 4 3 (8 H , m) .

【 0 3 4 3 】

(参考例 4)

(6 Z , 9 Z , 2 6 Z , 2 9 Z) - ペンタトリアコンタ - 6 , 9 , 2 6 , 2 9 - テトラエン - 1 8 - オール

参考例 3 で得られた (6 Z , 9 Z , 2 6 Z , 2 9 Z) - ペンタトリアコンタ - 6 , 9 , 2 6 , 2 9 - テトラエン - 1 8 - オン (2 3 . 0 g , 4 6 . 1 m m o l) のメタノール (1 8 7 m L) およびテトラヒドロフラン (1 8 7 m L) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (1 . 7 4 g , 4 6 . 1 m m o l) を加えた後、室温で 8 0 分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶液により抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (2 2 . 2 g , 9 6 %) .

$^1\text{H-NMR}$ (4 0 0 M H z , C D C l ₃) δ : 0 . 8 9 (6 H , t , J = 7 . 0 H z) , 1 . 2 4 - 1 . 4 8 (3 6 H , m) , 2 . 0 1 - 2 . 0 9 (8 H , m) , 2 . 7 7 (4 H , t , J = 6 . 3 H z) , 3 . 5 5 - 3 . 6 2 (1 H , m) , 5 . 2 9 - 5 . 4 3 (

8 H, m)。

【0344】

(参考例5)

炭酸4-ニトロフェニル(6Z, 9Z, 26Z, 29Z)-ペントトリアコンタ-6, 9, 26, 29-テトラエン-18-イル

ジイソプロピルエチルアミン(0.20 g, 1.5 mmol)および4-ジメチルアミノピリジン(0.05 g, 0.38 mmol)のジクロロメタン(25 mL)溶液に、参考例4で得られた(6Z, 9Z, 26Z, 29Z)-ペントトリアコンタ-6, 9, 26, 29-テトラエン-18-オール(0.19 g, 0.38 mmol)およびクロロギ酸4-ニトロフェニル(0.15 g, 0.77 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。減圧下で揮発分を除去し、ヘキサンを添加することにより発生した固体をろ過により除去し、得られた溶液の、溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を得た(0.12 g, 47%)。

【0345】

(実施例2)

炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(6Z, 9Z, 26Z, 29Z)-ペントトリアコンタ-6, 9, 26, 29-テトラエン-18-イル(例示化合物1-118)

参考例5で得られた炭酸4-ニトロフェニル(6Z, 9Z, 26Z, 29Z)-ペントトリアコンタ-6, 9, 26, 29-テトラエン-18-イル(0.03 g, 0.05 mmol)、3-ジメチルアミノ-1-プロパノール(0.05 g, 0.5 mmol)およびジイソプロピルエチルアミン(0.03 g, 0.2 mmol)のジクロロメタン(6 mL)溶液に、4-ジメチルアミノピリジン(0.02 g, 0.2 mmol)を加え、室温で4日反応させた。3-ジメチルアミノ-1-プロパノール(0.1 g, 1 mmol)を追加し、さらに2日反応させた。水処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(10 mg, 31%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (6H, t, $J = 6.6$ Hz), 1.22 - 1.42 (34H, m), 1.48 - 1.65 (4H, m), 1.85 (2H, tt, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 1.98 - 2.10 (8H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 2.77 (4H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.18 (2H, t, 6.6 Hz), 4.64 - 4.73 (1H, m), 5.37 - 5.43 (8H, m)。

MS (ESI+) m/z 630 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 630.5839 (1.4 mDa)。

【0346】

(実施例3)

炭酸4-(ジメチルアミノ)ブチル(6Z, 9Z, 26Z, 29Z)-ペントトリアコンタ-6, 9, 26, 29-テトラエン-18-イル(例示化合物1-129)

参考例5で得られた炭酸4-ニトロフェニル(6Z, 9Z, 26Z, 29Z)-ペントトリアコンタ-6, 9, 26, 29-テトラエン-18-イル(0.12 g, 0.18 mmol)、4-ジメチルアミノ-1-ブタノール(0.22 g, 1.8 mmol)およびジイソプロピルエチルアミン(0.10 g, 0.72 mmol)のジクロロメタン(10 mL)溶液に、4-ジメチルアミノピリジン(0.09 g, 0.72 mmol)を加え、室温で終夜反応させた。水処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(30 mg, 26%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (6H, t, $J = 6.6$ Hz), 1.21 - 1.42 (34H, m), 1.47 - 1.64 (6H, m), 1.71

(2 H , t t , J = 6 . 6 , 7 . 4 H z) , 1 . 9 9 - 2 . 0 9 (8 H , m) , 2 . 2 1 (6 H , s) , 2 . 2 7 (2 H , t , J = 7 . 4 H z) , 2 . 7 7 (4 H , t , J = 6 . 6 H z) , 4 . 1 4 (2 H , t , J = 6 . 6 H z) , 4 . 6 3 - 4 . 7 2 (1 H , m) , 5 . 2 8 - 5 . 4 3 (8 H , m) .

MS (ESI+) m/z 644 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 644.6008 (2.6 mDa).

【0347】

(参考例6)

(9Z, 26Z) - ペントトリアコンタ - 9 , 26 - ジエン - 18 - オン

オレイン酸メチル (10.0 g, 33.4 mmol) のキシレン (18 mL) 溶液に、ヘキサンにて洗浄済みの水素化ナトリウム (1.65 g, 63%, 43.4 mmol) のキシレン (3 mL) 懸濁液を5分間かけて添加した後、150 で5時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶液により抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去し、油状物質を得た。この油状物質にテトラヒドロフラン (135 mL) および5規定水酸化ナトリウム水溶液 (33 mL) を加え、100 で5.5時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶液により抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去した後、アセトン - ヘキサン溶媒で固体を発生させた。ろ過により固体をのぞいた溶液から溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (7.5 g, 89%)。

¹H - NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (6H, t, J = 6.8 Hz), 1.21 - 1.36 (40H, m), 1.52 - 1.60 (4H, m), 1.97 - 2.04 (8H, m), 2.38 (4H, t, J = 7.6 Hz), 5.30 - 5.39 (4H, m)。

【0348】

(参考例7)

(9Z, 26Z) - ペントトリアコンタ - 9 , 26 - ジエン - 18 - オール

参考例6で得られた (9Z, 26Z) - ペントトリアコンタ - 9 , 26 - ジエン - 18 - オン (5.0 g, 9.9 mmol) のメタノール (40 mL) およびテトラヒドロフラン (40 mL) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0.38 g, 9.9 mmol) を加えた後、室温で80分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (4.5 g, 90%)。

¹H - NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (6H, t, J = 6.6 Hz), 1.21 - 1.37 (48H, m), 1.37 - 1.49 (4H, m), 1.97 - 2.06 (8H, m), 3.55 - 3.62 (1H, m), 5.31 - 5.40 (4H, m)。

【0349】

(実施例4)

炭酸3 - ジメチルアミノプロピル (9Z, 26Z) - ペントトリアコンタ - 9 , 26 - ジエン - 18 - イル (例示化合物1 - 50)

参考例7で得られた (9Z, 26Z) - ペントトリアコンタ - 9 , 26 - ジエン - 18 - オール (0.25 g, 0.50 mmol) およびピリジン (0.25 g, 3.1 mmol) のトルエン (5.0 mL) 溶液に、トリホスゲン (0.10 g, 0.34 mmol) のトルエン (0.74 mL) 溶液を2分間かけて添加した。室温で100分間攪拌した後、3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.54 g, 5.2 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シ

10

20

30

40

50

リカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (29.6 mg, 94%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 - 0.91 (6H, m), 1.22 - 1.36 (44H, m), 1.50 - 1.59 (4H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.8, 7.3 \text{ Hz}$), 1.97 - 2.04 (8H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, $J = 7.3 \text{ Hz}$), 4.18 (2H, t, $J = 6.8 \text{ Hz}$), 4.65 - 4.72 (1H, m), 5.33 - 5.37 (4H, m).

MS (ESI+) m/z 634 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 634.6169 (3.1 mDa)。

【0350】

10

(参考例8)

(3Z, 6Z, 9Z, 26Z, 29Z, 32Z) - ペンタトリアコンタ - 3, 6, 9, 26, 29, 32 - ヘキサエン - 18 - オン

α - リノレン酸メチル (10.0 g, 33.4 mmol) のキシレン (18 mL) 溶液に、ヘキサンにて洗浄済みの水素化ナトリウム (1.65 g, 63%, 43.4 mmol) のキシレン (3 mL) 懸濁液を5分間かけて添加した後、150 で5時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶液により抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去し、油状物質を得た。この油状物質にテトラヒドロフラン (135 mL) および5規定水酸化ナトリウム水溶液 (33 mL) を加え、100 で5.5時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶液により抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去した後、アセトン - ヘキサン溶媒で固体を発生させた。ろ過により固体をのぞいた溶液から溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (6.10 g, 74%)。

20

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.98 (6H, t, $J = 7.6 \text{ Hz}$), 1.22 - 1.40 (16H, m), 1.52 - 1.60 (4H, m), 2.00 - 2.19 (8H, m), 2.39 (4H, t, $J = 7.6 \text{ Hz}$), 2.74 - 2.83 (8H, m), 5.28 - 5.43 (12H, m)。

【0351】

30

(参考例9)

(3Z, 6Z, 9Z, 26Z, 29Z, 32Z) - ペンタトリアコンタ - 3, 6, 9, 26, 29, 32 - ヘキサエン - 18 - オール

参考例8で得られた (3Z, 6Z, 9Z, 26Z, 29Z, 32Z) - ペンタトリアコンタ - 3, 6, 9, 26, 29, 32 - ヘキサエン - 18 - オン (5.0 g, 10.1 mmol) のメタノール (41 mL) およびテトラヒドロフラン (41 mL) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0.38 g, 10 mmol) を加えた後、室温で80分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (4.0 g, 79%)。

40

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.98 (6H, t, $J = 7.6 \text{ Hz}$), 1.24 - 1.48 (24H, m), 2.00 - 2.20 (8H, m), 2.75 - 2.84 (8H, m), 3.55 - 3.61 (1H, m), 5.29 - 5.43 (12H, m)。

【0352】

(実施例5)

炭酸3 - ジメチルアミノプロピル (3Z, 6Z, 9Z, 26Z, 29Z, 32Z) - ペンタトリアコンタ - 3, 6, 9, 26, 29, 32 - ヘキサエン - 18 - イル (例示化合物 1 - 176)

50

参考例 9 で得られた (3 Z, 6 Z, 9 Z, 26 Z, 29 Z, 32 Z) - ペンタトリアコンタ - 3, 6, 9, 26, 29, 32 - ヘキサエン - 18 - オール (0.25 g, 0.50 mmol) およびピリジン (0.25 g, 3.1 mmol) のトルエン (5.0 mL) 溶液に、トリホスゲン (0.10 g, 0.34 mmol) のトルエン (0.75 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。室温で 100 分間攪拌した後、3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.55 g, 5.3 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (274 mg, 87%, 異性体混合物)。

10

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.98 (6 H, t, $J = 7.6$ Hz), 1.24 - 1.39 (20 H, m), 1.49 - 1.62 (4 H, m), 1.85 (2 H, tt, $J = 6.6, 7.6$ Hz), 2.00 - 2.19 (8 H, m), 2.22, (6 H, s), 2.36 (2 H, t, $J = 7.6$ Hz), 2.74 - 2.84 (8 H, m), 4.17 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.65 - 4.71 (1 H, m), 5.28 - 5.44 (12 H, m)。

MS (ESI+) m/z 626 $[\text{M} + \text{H}]^+$

HRMS (ESI+) m/z 626.5512 (-0.5 mDa)。

【0353】

(参考例 10)

20

(6 Z, 9 Z, 12 Z, 23 Z, 26 Z, 29 Z) - ペンタトリアコンタ - 6, 9, 12, 23, 26, 29 - ヘキサエン - 18 - オン

γ - リノレン酸メチル (5.00 g, 17.1 mmol) のキシレン (9 mL) 溶液に、ヘキサンにて洗浄済みの水素化ナトリウム (0.85 g, 63%, 22.2 mmol) のキシレン (1.5 mL) 懸濁液を 5 分間かけて添加した後、150 で 5 時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶液により抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去し、油状物質を得た。この油状物質にテトラヒドロフラン (69 mL) および 5 規定水酸化ナトリウム水溶液 (17 mL) を加え、100 で 5.5 時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶液により抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去した後、アセトン - ヘキサン溶媒で固体を発生させた。ろ過により固体をのぞいた溶液から溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (3.80 g, 90%)。

30

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 - 0.91 (6 H, m), 1.23 - 1.42 (16 H, m), 1.55 - 1.63 (4 H, m), 1.98 - 2.20 (8 H, m), 2.39 (4 H, t, $J = 7.6$ Hz), 2.78 - 2.83 (8 H, m), 5.25 - 5.44 (12 H, m)。

【0354】

(参考例 11)

40

(6 Z, 9 Z, 12 Z, 23 Z, 26 Z, 29 Z) - ペンタトリアコンタ - 6, 9, 12, 23, 26, 29 - ヘキサエン - 18 - オール

参考例 10 で得られた (6 Z, 9 Z, 12 Z, 23 Z, 26 Z, 29 Z) - ペンタトリアコンタ - 6, 9, 12, 23, 26, 29 - ヘキサエン - 18 - オン (3.0 g, 6.1 mmol) のメタノール (25 mL) およびテトラヒドロフラン (25 mL) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0.23 g, 6.1 mmol) を加えた後、室温で 80 分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (2.1 g, 70%)。

50

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 - 0.91 (6 H, m), 1.24 - 1.50 (24 H, m), 1.99 - 2.21 (8 H, m), 2.78 - 2.84 (8 H, m), 3.55 - 3.62 (1 H, m), 5.28 - 5.44 (12 H, m)。

【0355】

(実施例6)

炭酸3-ジメチルアミノプロピル(6Z, 9Z, 12Z, 23Z, 26Z, 29Z)-ペンタトリアコンタ-6, 9, 12, 23, 26, 29-ヘキサエン-18-イル(例示化合物1-152)

参考例11で得られた(6Z, 9Z, 12Z, 23Z, 26Z, 29Z)-ペンタトリアコンタ-6, 9, 12, 23, 26, 29-ヘキサエン-18-オール(0.25 g, 0.50 mmol)およびピリジン(0.25 g, 3.1 mmol)のトルエン(5.0 mL)溶液に、トリホスゲン(0.10 g, 0.34 mmol)のトルエン(0.75 mL)溶液を2分間かけて添加した。室温で100分間撹拌した後、3-ジメチルアミノ-1-プロパノール(0.55 g, 5.3 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(240 mg, 76%)。

^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 - 0.91 (6 H, m), 1.22 - 1.42 (20 H, m), 1.51 - 1.63 (4 H, m), 1.85 (2 H, t, $J = 6.6, 7.3$ Hz), 1.99 - 2.19 (8 H, m), 2.22 (6 H, s), 2.36 (2 H, t, $J = 7.3$ Hz), 2.78 - 2.83 (8 H, m), 4.17 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.65 - 4.72 (1 H, m), 5.30 - 5.45 (12 H, m)。

MS (ESI+) m/z 626 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 626.5515 (0.3 mDa)。

【0356】

(参考例12)

ジ-(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルプロパン二酸ジメチルマロン酸ジメチル(13.5 g, 102 mmol)のトルエン(500 mL)溶液に、ヘキサンにて洗浄済みの水素化ナトリウム(5.17 g, 63%, 136 mmol)のトルエン(6 mL)懸濁液を5分間かけて添加した。80 で30分間撹拌した後、メタンスルホン酸(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イル(WO2009/132131記載Example 1の化合物, 23.4 g, 67.9 mmol)を添加し、100 で4時間撹拌し、120 で2時間撹拌した。1規定塩酸水溶液処理後、抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(9.71 g)。

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.90 (6 H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.07 - 1.16 (4 H, m), 1.21 - 1.40 (32 H, m), 1.82 - 1.89 (4 H, m), 2.01 - 2.08 (8 H, m), 2.77 (4 H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.71 (6 H, s), 5.29 - 5.43 (8 H, m)。

【0357】

また、副生物として(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルプロパン二酸ジメチルを無色液体として得た(8.50 g)。

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 (3 H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.21 - 1.37 (18 H, m), 1.81 - 1.90 (2 H, m), 1.96 - 2.05 (4 H, m), 2.74 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.32 (1 H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.70 (6 H, s), 5.25 - 5.39 (4 H, m)。

【0358】

10

20

30

40

50

(参考例 13)

(11Z, 14Z) - 2 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イル]イコサ - 11 - ジエン酸メチル

参考例 12 で得られたジ - (9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルプロパン二酸ジメチル (5.00 g, 7.95 mmol) および水 (2.15 g, 119 mmol) のジメチルスルホキシド (39.5 mL) 溶液に、塩化リチウム (1.01 g, 23.9 mmol) を加えた。150 で 5 時間撹拌した後、水 (2.15 g, 119 mmol) および塩化リチウム (1.01 g, 23.9 mmol) を加えた。160 で 5 時間反応させ、室温まで冷却し、水処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (3.00 g, 66%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (6H, t, $J = 7.0\text{ Hz}$), 1.20 - 1.47 (38H, m), 1.55 - 1.64 (2H, m), 2.01 - 2.09 (8H, m), 2.28 - 2.37 (1H, m), 2.77 (4H, t, $J = 6.6\text{ Hz}$), 3.67 (3H, s), 5.29 - 5.46 (8H, m)。

【0359】

(参考例 14)

(11Z, 14Z) - 2 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イル]イコサ - 11, 14 - ジエン - 1 - オール

参考例 13 で得られた (11Z, 14Z) - 2 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イル]イコサ - 11 - ジエン酸メチル (3.00 g, 5.25 mmol) のテトラヒドロフラン (40 mL) 溶液に、水素化リチウムアルミニウム (0.400 g, 10.5 mmol) を加え、室温で 1 時間撹拌した。水 (0.4 mL)、15% 水酸化ナトリウム水溶液 (0.4 mL)、水 (1.2 mL) で処理し、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (1.00 g, 35%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (6H, t, $J = 7.0\text{ Hz}$), 1.24 - 1.44 (38H, m), 1.97 - 2.09 (9H, m), 2.78 (4H, t, $J = 6.6\text{ Hz}$), 4.15 (2H, t, $J = 6.3\text{ Hz}$), 5.29 - 5.43 (8H, m)。

【0360】

(実施例 7)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (11Z, 14Z) - 2 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イル]イコサ - 11, 14 - ジエン - 1 - イル (例示化合物 1-477)

参考例 14 で得られた (11Z, 14Z) - 2 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イル]イコサ - 11, 14 - ジエン - 1 - オール (0.15 g, 0.28 mmol) およびピリジン (0.14 g, 1.8 mmol) のトルエン (0.6 mL) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.06 g, 0.19 mmol) のトルエン (0.24 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 2 時間撹拌した後、10 に昇温し 30 分間撹拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ 1 - プロパノール (0.30 g, 2.9 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (130 mg, 70%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.92 (6H, m), 1.21 - 1.40 (40H, m), 1.62 - 1.69 (1H, m), 1.85 (2H, t t, $J = 6.6, 7.4\text{ Hz}$), 2.01 - 2.09 (8H, m), 2.22 (6H, m)。

s), 2.36 (2H, t, J = 7.4 Hz), 2.78 (4H, t, J = 6.6 Hz), 4.03 (2H, d, J = 5.9 Hz), 4.18 (2H, t, J = 6.6 Hz), 5.29 - 5.43 (8H, m).

MS (ESI+) m/z 672 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 672.6309 (1.4 mDa).

【0361】

(参考例15)

(9Z, 12Z) - N - メトキシ - N - メチルオクタデカ - 9, 12 - ジエンアミドリノール酸 (10.0 g, 35.7 mmol) および、N, O - ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩 (6.56 g, 71.3 mmol) のジクロロメタン (250 mL) 溶液に、1 - ヒドロキシベンズイミダゾール水和物 (10.9 g, 71.3 mmol)、トリエチルアミン (7.22 g, 71.3 mmol)、1 - エチル - 3 - (3' - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩 (13.7 g, 71.3 mmol) を加え、室温で終夜反応させた。水処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (11.4 g, 99%).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (3H, t, J = 7.0 Hz), 1.24 - 1.40 (14H, m), 1.63 (2H, quint, J = 7.4 Hz), 2.00 - 2.09 (4H, m), 2.41 (2H, t, J = 7.4 Hz), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 3.18 (3H, s), 3.68 (3H, s), 5.29 - 5.43 (4H, m).

【0362】

(参考例16)

(19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - オン

参考例15で得られた (9Z, 12Z) - N - メトキシ - N - メチルオクタデカ - 9, 12 - ジエンアミド (11.4 g, 35.2 mmol) のテトラヒドロフラン (157 mL) 溶液を、水浴にて15 に冷却し、1 規定臭化 n - デシルマグネシウム テトラヒドロフラン溶液 (52.9 mL, 52.9 mmol) を20分間かけて滴下添加した後、室温にて終夜反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (14.3 g, 99%).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.90 (3H, t, J = 7.0 Hz), 1.20 - 1.40 (28H, m), 1.50 - 1.60 (4H, m), 2.00 - 2.09 (4H, m), 2.38 (4H, t, J = 7.4 Hz), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 5.28 - 5.42 (4H, m).

【0363】

(参考例17)

(19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - オール

参考例16で得られた (19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - オン (14.3 g, 35.2 mmol) のメタノール (106 mL) およびテトラヒドロフラン (106 mL) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (1.33 g, 35.2 mmol) を加えた後、室温で70分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (13.5 g, 95%).

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (3H, t, J = 7.0 Hz), 0.90 (3H, t, J = 7.0 Hz), 1.23 - 1.47 (40H, m), 2.01 - 2.09 (4H, m), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 3.54 -

3.62 (1H, m), 5.29 - 5.42 (4H, m)。

【0364】

(実施例8)

炭酸3-ジメチルアミノプロピル(9Z, 12Z)-オクタコサ-19, 22-ジエン-11-イル(例示化合物1-72)

参考例17で得られた(19Z, 22Z)-オクタコサ-19, 22-ジエン-11-オール(0.15g, 0.37mmol)およびピリジン(0.18g, 2.3mmol)のトルエン(0.8mL)溶液を、氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン(0.07g, 0.25mmol)のトルエン(0.31mL)溶液を2分間かけて添加した。0℃で1時間攪拌した後、10℃に昇温し20分間攪拌し、再度0℃に冷却した。3-ジメチルアミノ1-プロパノール(0.40g, 3.9mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(100mg, 51%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.92 (6H, m), 1.22 - 1.39 (32H, m), 1.49 - 1.62 (4H, m), 1.85 (2H, tt, $J = 6.6, 7.6\text{ Hz}$), 2.01 - 2.08 (4H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, $J = 7.6\text{ Hz}$), 2.77 (2H, t, $J = 6.6\text{ Hz}$), 4.18 (2H, t, $J = 6.6\text{ Hz}$), 4.65 - 4.72 (1H, m), 5.29 - 5.42 (4H, m)。

$\text{MS (ESI}^+)$ m/z 536 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 536.5038 (-0.5mDa)。

【0365】

(実施例9)

炭酸(1-メチルピペリジン-3-イル)メチル(9Z, 12Z)-オクタコサ-19, 22-ジエン-11-イル(例示化合物2-72)

参考例17で得られた(19Z, 22Z)-オクタコサ-19, 22-ジエン-11-オール(0.26g, 0.64mmol)およびピリジン(0.32g, 4.0mmol)のトルエン(7.4mL)溶液を、氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン(0.13g, 0.44mmol)のトルエン(0.9mL)溶液を2分間かけて添加した。0℃で20分間攪拌した後、室温に昇温し1時間攪拌し、再度0℃に冷却した。(1-メチル-3-ピペリジル)メタノール(0.87g, 6.7mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(360mg, 55%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6H, m), 1.21 - 1.39 (32H, m), 1.49 - 1.76 (9H, m), 1.86 - 1.92 (1H, m), 1.96 - 2.07 (5H, m), 2.26 (3H, s), 2.74 (1H, d, $J = 10.5\text{ Hz}$), 2.77 (2H, t, $J = 6.8\text{ Hz}$), 2.85 (1H, d, $J = 10.5\text{ Hz}$), 3.94 (1H, dt, $J = 3.2, 7.3\text{ Hz}$), 4.06 (1H, ddd, $J = 3.2, 5.9, 10.7\text{ Hz}$), 4.65 - 4.71 (1H, m), 5.29 - 5.42 (4H, m)。

$\text{MS (ESI}^+)$ m/z 562 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 562.5196 (-0.3mDa)。

【0366】

(実施例10)

炭酸1-メチルピペリジン-4-イル(9Z, 12Z)-オクタコサ-19, 22-ジエン-11-イル(例示化合物2-66)

10

20

30

40

50

参考例 17 で得られた (19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - オール (0.300 g, 0.738 mmol) およびピリジン (0.368 g, 4.65 mmol) のトルエン (7.4 mL) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.151 g, 0.509 mmol) のトルエン (1.1 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 20 分間攪拌した後、室温に昇温し 1 時間攪拌し、再度 0 に冷却した。4 - ヒドロキシ - 1 - メチルピペリジン (0.892 g, 7.75 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (249 mg, 62%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6H, m), 1.20 - 1.40 (32H, m), 1.49 - 1.62 (4H, m), 1.73 - 1.84 (2H, m), 1.92 - 2.01 (2H, m), 2.01 - 2.08 (4H, m), 2.16 - 2.25 (2H, m), 2.28 (3H, s), 2.65 - 2.73 (2H, m), 2.77 (2H, t, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 4.57 - 4.66 (1H, m), 4.64 - 4.73 (1H, m), 5.28 - 5.43 (4H, m).

$\text{MS (ESI}^+)$ m/z 548 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 548.5042 (-0.1 mDa).

【0367】

(実施例 11)

炭酸 (1 - メチルピロリジン - 3 - イル) メチル (9Z, 12Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - イル (例示化合物 2 - 71)

参考例 17 で得られた (19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - オール (0.300 g, 0.738 mmol) およびピリジン (0.368 g, 4.65 mmol) のトルエン (7.4 mL) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.151 g, 0.509 mmol) のトルエン (1.1 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 20 分間攪拌した後、室温に昇温し 1 時間攪拌し、再度 0 に冷却した。(1 - メチルピロリジン - 3 - イル) メタノール (0.892 g, 7.75 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (234 mg, 58%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6H, m), 1.20 - 1.40 (32H, m), 1.45 - 1.64 (5H, m), 1.95 - 2.07 (5H, m), 2.30 (1H, dd, $J = 5.5, 9.4 \text{ Hz}$), 2.34 (3H, s), 2.51 (2H, t, $J = 7.0 \text{ Hz}$), 2.23 - 2.62 (1H, m), 2.65 (1H, dd, $J = 7.8, 9.0 \text{ Hz}$), 2.77 (2H, t, $J = 6.3 \text{ Hz}$), 4.03 (1H, ddd, $J = 2.0, 7.8, 9.8 \text{ Hz}$), 4.07 (1H, ddd, $J = 2.0, 7.0, 10.6 \text{ Hz}$), 4.68 (1H, tt, $J = 5.5, 7.0 \text{ Hz}$), 5.29 - 5.43 (4H, m).

$\text{MS (ESI}^+)$ m/z 548 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 548.5050 (0.7 mDa).

【0368】

(実施例 12)

炭酸 1 - メチルピロリジン - 3 - イル (9Z, 12Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - イル (例示化合物 2 - 64)

参考例 17 で得られた (19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - オール (0.150 g, 0.369 mmol) およびピリジン (0.184 g, 2.32 mmol) のトルエン (3.7 mL) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.0755 g, 0.254 mmol) のトルエン (0.55 mL) 溶液を 2 分間かけて添

加した。0 で20分間攪拌した後、室温に昇温し1時間攪拌し、再度0 に冷却した。1 - メチル - 3 - ピロリジノール (0.392 g, 3.87 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (99.9 mg, 50%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.89 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.22 - 1.40 (32H, m), 1.47 - 1.60 (4H, m), 1.92 (1H, ddd, $J = 2.7, 6.3, 7.4$, 13.7 Hz), 2.01 - 2.09 (4H, m), 2.28 (1H, dddd, $J = 6.3, 7.4, 7.8, 13.7$ Hz), 2.36 (3H, s), 2.41 (1H, ddd, $J = 6.3, 7.8, 9.0$ Hz), 2.67 (1H, dd, $J = 2.7, 10.9$ Hz), 2.73 (1H, ddd, $J = 6.3, 7.4, 9.0$ Hz), 2.77 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 2.82 (1H, dd, $J = 5.9, 10.9$ Hz), 4.67 (1H, tt, $J = 5.5, 7.0$ Hz), 5.08 (1H, ddt, $J = 5.9, 7.8, 2.7$ Hz), 5.28 - 5.43 (4H, m).

$\text{MS} (\text{ESI}^+)$ m/z 534 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS} (\text{ESI}^+)$ m/z 534.4891 (0.5 mDa)。

【0369】

(実施例13)

炭酸2 - (1 - メチルピロリジン - 2 - イル)エチル (9Z, 12Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - イル (例示化合物2 - 75)

参考例17で得られた (19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - オール (0.200 g, 0.492 mmol) およびピリジン (0.245 g, 3.10 mmol) のトルエン (5 mL) 溶液を、氷浴にて0 に冷却し、トリホスゲン (0.101 g, 0.339 mmol) のトルエン (0.74 mL) 溶液を2分間かけて添加した。0 で15分間攪拌した後、室温に昇温し1時間攪拌し、再度0 に冷却した。1 - メチル - 2 - ピロリジンメタノール (0.667 g, 5.16 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (98.5 mg, 36%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 0.89 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.22 - 1.40 (32H, m), 1.44 - 1.85 (8H, m), 1.92 - 2.18 (8H, m), 2.32 (3H, s), 2.77 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.06 (1H, ddd, $J = 2.3, 8.2, 8.6$ Hz), 4.11 - 4.26 (2H, m), 4.65 - 4.72 (1H, m), 5.29 - 5.43 (4H, m).

$\text{MS} (\text{ESI}^+)$ m/z 562 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS} (\text{ESI}^+)$ m/z 562.5203 (0.4 mDa)。

【0370】

(実施例14)

炭酸 (1 - メチルピペリジン - 4 - イル)メチル (9Z, 12Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - イル (例示化合物2 - 73)

参考例17で得られた (19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 11 - オール (0.200 g, 0.492 mmol) およびピリジン (0.245 g, 3.10 mmol) のトルエン (5 mL) 溶液を、氷浴にて0 に冷却し、トリホスゲン (0.101 g, 0.339 mmol) のトルエン (0.74 mL) 溶液を2分間かけて添加した。0 で15分間攪拌した後、室温に昇温し1時間攪拌し、再度0 に冷却した。4 - ヒドロキシメチル - 1 - メチルピペリジン (0.667 g, 5.16 mmol) を添加し、

室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(21.7 mg, 8%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, $J = 7.0\text{ Hz}$), 0.90 (3H, t, $J = 7.0\text{ Hz}$), 1.23 - 1.39 (28H, m), 1.49 - 1.61 (6H, m), 1.63 - 1.71 (1H, m), 1.74 (2H, d, $J = 14.1\text{ Hz}$), 1.91 (2H, t, $J = 11.7\text{ Hz}$), 2.00 - 2.03 (4H, m), 2.27 (3H, s), 2.77 (2H, t, $J = 6.6\text{ Hz}$), 2.86 (2H, d, $J = 11.7\text{ Hz}$), 3.98 (2H, d, $J = 6.6\text{ Hz}$), 4.64 - 4.71 (1H, m), 5.29 - 5.43 (4H, m).

$\text{MS (ESI}^+)$ m/z 562 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 562.5204 (0.5 mDa)。

【0371】

(参考例18)

(21Z, 24Z) - トリアコンタ - 21, 24 - ジエン - 13 - オール

参考例15で得られた(9Z, 12Z) - N - メトキシ - N - メチルオクタコサ - 9, 12 - ジエンアミド(0.50 g, 1.5 mmol)のテトラヒドロフラン(6.9 mL)溶液に、1規定臭化n - ドデシルマグネシウム ジエチルエーテル溶液(4.6 mL, 4.6 mmol)を3分間かけて滴下添加した後、室温にて6時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、想定中間体であるケトン体を含む混合物として得た(0.93 g)。このケトン体混合物のメタノール(4.6 mL)およびテトラヒドロフラン(4.6 mL)溶液に、水素化ホウ素ナトリウム(0.06 g, 1.5 mmol)を加えた後、室温で3時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去することにより、目的物を無色液体として得た(0.59 g, 89%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, $J = 6.8\text{ Hz}$), 0.90 (3H, t, $J = 6.8\text{ Hz}$), 1.22 - 1.48 (44H, m), 2.02 - 2.08 (4H, m), 2.77 (2H, t, $J = 6.8\text{ Hz}$), 3.55 - 3.62 (1H, m), 5.30 - 5.42 (4H, m)。

【0372】

(実施例15)

炭酸3 - (ジメチルアミノ)プロピル(21Z, 24Z) - トリアコンタ - 21, 24 - ジエン - 13 - イル(例示化合物1 - 112)

参考例18で得られた(21Z, 24Z) - トリアコンタ - 21, 24 - ジエン - 13 - オール(0.15 g, 0.35 mmol)およびピリジン(0.17 g, 2.2 mmol)のトルエン(3.4 mL)溶液を、氷浴にて0 に冷却し、トリホスゲン(0.07 g, 0.24 mmol)のトルエン(0.5 mL)溶液を1分間かけて添加した。0 で2時間攪拌した後、3 - ジメチルアミノ1 - プロパノール(0.37 g, 3.6 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(177 mg, 91%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.92 (6H, m), 1.21 - 1.40 (36H, m), 1.49 - 1.63 (4H, m), 1.84 (2H, t, $J = 6.6, 7.6\text{ Hz}$), 2.01 - 2.08 (4H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, $J = 7.6\text{ Hz}$), 2.78 (2H, t, $J = 6.6\text{ Hz}$), 4.18 (2H, t, $J = 6.6\text{ Hz}$), 4.65 - 4.72 (1H, m), 5.29

- 5.42 (4H, m).

MS (ESI+) m/z 564 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 564.5359 (0.3 mDa)。

【0373】

(参考例19)

(19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 3 - イン - 11 - オン

参考例15で得られた(9Z, 12Z) - N - メトキシ - N - メチル - オクタコサ - 9, 12 - ジエンアミド(1.00g, 3.09 mmol)のテトラヒドロフラン(6.2 mL)溶液に、0.5規定塩化(デシン - 7 - イニル)マグネシウム テトラヒドロフラン溶液(12.4 mL, 6.20 mmol)を3分間かけて滴下添加した後、室温にて6時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(1.03g, 83%)。

¹H - NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (3H, t, J = 7.1 Hz), 1.11 (3H, t, J = 7.3 Hz), 1.23 - 1.61 (24H, m), 2.01 - 2.08 (4H, m), 2.11 - 2.19 (4H, m), 2.36 - 2.41 (4H, m), 2.77 (2H, t, J = 6.8 Hz), 5.29 - 5.42 (4H, m)。

【0374】

(参考例20)

(19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 3 - イン - 11 - オール

参考例19で得られた(19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 3 - イン - 11 - オン(1.0g, 2.56 mmol)のメタノール(7.7 mL)およびテトラヒドロフラン(7.7 mL)溶液に、水素化ホウ素ナトリウム(0.097g, 2.6 mmol)を加えた後、室温で3時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.78g, 75%)。

¹H - NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (3H, t, J = 7.1 Hz), 1.11 (3H, t, J = 7.3 Hz), 1.24 - 1.52 (28H, m), 2.02 - 2.08 (4H, m), 2.11 - 2.19 (4H, m), 2.77 (2H, t, J = 6.8 Hz), 3.55 - 3.62 (1H, m), 5.30 - 5.42 (4H, m)。

【0375】

(実施例16)

炭酸3 - (ジメチルアミノ)プロピル(19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 3 - イン - 11 - イル(例示化合物1-99)

参考例20で得られた(19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 3 - イン - 11 - オール(0.15g, 0.37 mmol)およびピリジン(0.19g, 2.4 mmol)のトルエン(3.7 mL)溶液を、氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン(0.076g, 0.26 mmol)のトルエン(0.5 mL)溶液を1分間かけて添加した。0℃で2時間撹拌した後、3 - ジメチルアミノ1 - プロパノール(0.40g, 3.9 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(183mg, 93%)。

¹H - NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (3H, t, J = 6.6 Hz), 1.11 (3H, t, J = 7.3 Hz), 1.23 - 1.64 (28H, m), 1.85 (2H, tt, J = 6.6, 7.3 Hz), 2.01 - 2.08 (4H, m), 2.

1.0 - 2.19 (4H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, J = 7.3 Hz), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.18 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.64 - 4.71 (1H, m), 5.29 - 5.42 (4H, m).

MS (ESI+) m/z 532 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 532.4739 (0.9 mDa).

【0376】

(参考例21)

(3Z, 19Z, 22Z) - オクタコサ - 3, 19, 22 - トリエン - 11 - オール

水素ガス雰囲気下、酢酸ニッケル(II)四水和物(0.24g, 0.97mmol)にエタノール(12mL)を加え、水素化ホウ素ナトリウム(0.037g, 0.97mmol)のエタノール(6mL)溶液を添加した。室温で15分間攪拌した後エチレンジアミン(0.23g, 3.9mmol)を添加し、さらに15分間攪拌した。次いで参考例20で得られた(19Z, 22Z) - オクタコサ - 19, 22 - ジエン - 3 - イン - 11 - オール(0.39g, 0.97mmol)のエタノール(6mL)溶液を1分間かけて添加し、室温水素雰囲気下で5.5時間攪拌した。20%酢酸エチル-ヘキサン溶液で希釈し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.37g, 95%)。

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (3H, t, J = 7.1 Hz), 0.95 (3H, t, J = 7.3 Hz), 1.23 - 1.48 (28H, m), 1.99 - 2.08 (8H, m), 2.77 (2H, t, J = 6.8 Hz), 3.55 - 3.61 (1H, m), 5.29 - 5.42 (6H, m).

【0377】

(実施例17)

炭酸3 - (ジメチルアミノ)プロピル(3Z, 19Z, 22Z) - オクタコサ - 3, 19, 22 - トリエン - 11 - イル(例示化合物1-87)

参考例21で得られた(3Z, 19Z, 22Z) - オクタコサ - 3, 19, 22 - トリエン - 11 - オール(0.15g, 0.37mmol)およびピリジン(0.19g, 2.4mmol)のトルエン(3.7mL)溶液を、氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン(0.075g, 0.26mmol)のトルエン(0.5mL)溶液を1分間かけて添加した。0℃で2時間攪拌した後、3 - ジメチルアミノ1 - プロパノール(0.40g, 3.9mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(136mg, 69%)。

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (3H, t, J = 6.6 Hz), 0.95 (3H, t, J = 7.6 Hz), 1.22 - 1.40 (24H, m), 1.49 - 1.64 (4H, m), 1.84 (2H, t, J = 6.6, 7.3 Hz), 1.97 - 2.08 (8H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, J = 7.3 Hz), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.17 (2H, J = 6.6 Hz), 4.65 - 4.71 (1H, m), 5.27 - 5.43 (6H, m).

MS (ESI+) m/z 534 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 534.4891 (0.5 mDa).

【0378】

(実施例18)

炭酸4 - (ジメチルアミノ)ブチル(11Z, 14Z) - 2 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イル]イコサ - 11, 14 - ジエン - 1 - イル(例示化合物1-478)

参考例14で得られた(11Z, 14Z) - 2 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イル]イコサ - 11, 14 - ジエン - 1 - オール(0.15g, 0.28mmol)およびピリジン(0.14g, 1.8mmol)のトルエン(0.6m

L) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.06 g, 0.19 mmol) のトルエン (0.24 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 2 時間撹拌した後、10 に昇温し 30 分間撹拌し、再度 0 に冷却した。4 - ジメチルアミノ 1 - ブタノール (0.35 g, 2.9 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (80 mg, 42%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.86 - 0.92 (6 H, m), 1.20 - 1.40 (40 H, m), 1.50 - 1.59 (2 H, m), 1.63 - 1.74 (3 H, m), 2.01 - 2.09 (8 H, m), 2.21 (6 H, s), 2.28 (2 H, t, $J = 7.4$ Hz), 2.78 (4 H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.02 (2 H, d, $J = 5.9$ Hz), 4.14 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 5.29 - 5.43 (8 H, m).

MS (ESI+) m/z 686 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 686.6461 (1.0 mDa)。

【0379】

(参考例 22)

オクタコサン - 11 - オール

オクタデカノール (0.62 g) のテトラヒドロフラン (2.3 mL) 溶液に、1 規定臭化 *n* - デシルマグネシウム ジエチルエーテル溶液 (4.6 mL, 4.6 mmol) を加え、室温で 20 分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を白色ろう状固体として得た (0.34 g, 36%)。

【0380】

(実施例 19)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ) プロピルオクタコサン - 11 - イル (例示化合物 1 - 8)

参考例 22 得られたオクタコサン - 11 - オール (0.11 g, 0.27 mmol) およびピリジン (0.13 g, 1.7 mmol) のトルエン (2.7 mL) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.055 g, 0.18 mmol) のトルエン (0.40 mL) 溶液を 1 分間かけて添加した。0 で 15 分間撹拌した後、室温に昇温し 1 時間撹拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.29 g, 2.8 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (114 mg, 79%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6 H, m), 1.22 - 1.35 (46 H, m), 1.48 - 1.64 (4 H, m), 1.84 (2 H, t, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 2.22 (6 H, s), 2.36 (2 H, t, $J = 7.4$ Hz), 4.17 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.64 - 4.72 (1 H, m)

MS (ESI+) m/z 540 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 540.5344 (-1.2 mDa)。

【0381】

(参考例 23)

(Z) - N - メトキシ - N - メチルオクタデカ - 9 - エンアミド

オレイン酸 (10.3 g, 36.3 mmol) および、N, O - ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩 (7.08 g, 72.6 mmol) のジクロロメタン (250 mL) 溶液に、1 - ヒドロキシベンズイミダゾール水和物 (11.1 g, 72.6 mmol)、トリエチルアミン (7.34 g, 72.6 mmol)、1 - エチル - 3 - (3' - ジメチルアミ

10

20

30

40

50

ノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(13.9g, 72.6mmol)を加え、室温で終夜反応させた。水処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(12.1g, 99%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, $J = 7.1\text{Hz}$), 1.22 - 1.37 (20H, m), 1.63 (2H, quint, $J = 7.3\text{Hz}$), 1.97 - 2.04 (4H, m), 2.41 (2H, t, $J = 7.3\text{Hz}$), 3.18 (3H, s), 3.68 (3H, s), 5.31 - 5.38 (2H, m)。

【0382】

(参考例24)

10

(Z)-オクタコサ-19-エン-11-オン

参考例23で得られた(Z)-N-メトキシ-N-メチルオクタデカ-9-エンアミド(0.50g, 1.5mmol)のテトラヒドロフラン(7.7mL)溶液に、1規定臭化n-デシルマグネシウムテトラヒドロフラン溶液(3.1mL, 3.1mmol)を添加した後、室温にて1時間、次いで60℃で30分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、減圧下で揮発分を除去し、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.59g, 93%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.90 (6H, m), 1.20 - 1.36 (34H, m), 1.52 - 1.60 (4H, m), 1.98 - 2.04 (4H, m), 2.38 (4H, t, $J = 7.3\text{Hz}$), 5.32 - 5.38 (2H, m)。

20

【0383】

(参考例25)

(Z)-オクタコサ-19-エン-11-オール

参考例24で得られた(Z)-オクタコサ-19-エン-11-オン(0.59g, 1.4mmol)のメタノール(4.3mL)およびテトラヒドロフラン(4.3mL)溶液に、水素化ホウ素ナトリウム(0.054g, 1.4mmol)を加えた後、室温で60分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.45g, 77%)。

30

【0384】

(実施例20)

炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(19Z)-オクタコサ-19-エン-11-イル(例示化合物1-16)

参考例25で得られた(Z)-オクタコサ-19-エン-11-オール(0.45g, 1.1mmol)およびピリジン(0.55g, 6.9mmol)のトルエン(11mL)溶液を、氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン(0.23g, 6.9mmol)のトルエン(1.7mL)溶液を2分間かけて添加した。0℃で30分間撹拌した後、室温に昇温し1時間撹拌し、再度0℃に冷却した。3-ジメチルアミノ-1-プロパノール(1.2g, 12mmol)を添加し、室温で3時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(530mg, 89%)。

40

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (6H, t, $J = 6.8\text{Hz}$), 1.21 - 1.37 (38H, m), 1.49 - 1.62 (4H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.6, 7.6\text{Hz}$), 1.97 - 2.04 (4H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, $J = 7.6\text{Hz}$), 4.18 (2H, t, $J = 6.6$

50

H z) , 4 . 6 5 - 4 . 7 1 (1 H , m) , 5 . 3 2 - 5 . 3 7 (2 H , m) .

MS (ESI +) m / z 538 [M + H] ⁺

HRMS (ESI +) m / z 538 . 5193 (- 0 . 6 mDa) .

【 0385 】

(参考例 26)

オクタデカ - 9 , 12 , 15 - トリイン - 1 - オール

9 - デシン - 1 - オール (5 . 15 g , 33 . 4 mmol) および 1 - ブロモオクタ - 2 , 5 - ジイン (既知化合物 , 6 . 18 g , 33 . 4 mmol) の N , N - ジメチルホルムアミド (66 mL) 溶液に、ヨウ化ナトリウム (5 . 56 g , 37 . 1 mmol) 、炭酸カリウム (10 . 2 g , 74 . 1 mmol) 、ヨウ化銅 (I) (7 . 06 g , 37 . 1 mmol) を順に添加し、室温で終夜反応させた。セライトにより不溶物を除去し、飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶媒により抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (8 . 40 , 97 %) .

¹ H - NMR (500 MHz , CDCl₃) δ : . 12 (3 H , t , J = 7 . 6 Hz) , 1 . 24 - 1 . 42 (10 H , m) , 1 . 48 (2 H , tt , J = 7 . 1 , 7 . 6 Hz) , 1 . 57 (2 H , tt , J = 6 . 6 , 7 . 1 Hz) , 2 . 12 - 2 . 21 (4 H , m) , 3 . 14 (2 H , s) , 3 . 14 (2 H , s) , 3 . 64 (2 H , t , J = 6 . 6 Hz) .

【 0386 】

(参考例 27)

オクタデカ - 9 , 12 , 15 - トリイン酸

参考例 26 で得られたオクタデカ - 9 , 12 , 15 - トリイン - 1 - オール (8 . 40 g , 32 . 5 mmol) およびトリエチルアミン (16 . 4 g , 163 mmol) のジメチルスルホキシド (97 mL) 溶液に三酸化硫黄 - ピリジン (12 . 9 g , 81 . 3 mmol) を添加し、室温で3時間反応させた。水処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去し得られた褐色の液体を tert - ブチルアルコール (130 mL) および 2 - メチル - 2 - ブテン (18 mL) に溶解させ、リン酸二水素ナトリウム二水和物 (11 . 2 g , 71 . 5 mmol) および亜塩素酸ナトリウム (6 . 47 g , 71 . 5 mmol) の水 (130 mL) 溶液を5分間かけて滴下添加した後、室温で50分間反応させた。水で希釈し、ヘキサン - 酢酸エチル混合溶媒により抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色固体として得た (6 . 13 g , 69 %) .

¹ H - NMR (500 MHz , CDCl₃) δ : 1 . 12 (3 H , t , J = 7 . 6 Hz) , 1 . 27 - 1 . 41 (6 H , m) , 1 . 48 (2 H , tt , J = 7 . 1 , 7 . 3 Hz) , 1 . 64 (2 H , tt , J = 7 . 1 , 7 . 6 Hz) , 2 . 12 - 2 . 20 (4 H , m) , 2 . 35 (2 H , t , J = 7 . 6 Hz) , 3 . 14 (4 H , s) .

【 0387 】

(参考例 28)

N - メトキシ - N - メチルオクタデカ - 9 , 12 , 15 - トリインアミド

参考例 27 で得られたオクタデカ - 9 , 12 , 15 - トリイン酸 (5 . 13 g , 18 . 8 mmol) および、N , O - ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩 (3 . 67 g , 37 . 7 mmol) のジクロロメタン (132 mL) 溶液に、1 - ヒドロキシベンズイミダゾール水合物 (5 . 77 g , 37 . 7 mmol) 、トリエチルアミン (3 . 81 g , 37 . 7 mmol) 、1 - エチル - 3 - (3' - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩 (7 . 22 g , 37 . 7 mmol) を加え、室温で終夜反応させた。水処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物

を無色液体として得た (4 . 0 0 g , 6 7 %)。

^1H -NMR (5 0 0 MHz , CDCl_3) δ : 1 . 1 2 (3 H , t , $J = 7 . 6 \text{ Hz}$) , 1 . 2 9 - 1 . 4 1 (6 H , m) , 1 . 4 8 (2 H , tt , $J = 7 . 1 , 7 . 3 \text{ Hz}$) , 1 . 6 3 (2 H , quint , $J = 7 . 3 \text{ Hz}$) , 2 . 1 1 - 2 . 2 0 (4 H , m) , 2 . 4 1 (2 H , t , $J = 7 . 3 \text{ Hz}$) , 3 . 1 4 (4 H , s) , 3 . 1 8 (3 H , s) , 3 . 6 8 (3 H , s)。

【 0 3 8 8 】

(参考例 2 9)

オクタコサ - 1 9 , 2 2 , 2 5 - トリイン - 1 1 - オン

参考例 2 8 で得られた N - メトキシ - N - メチルオクタデカ - 9 , 1 2 , 1 5 - トリインアミド (1 . 0 0 g , 3 . 1 7 mmol) のテトラヒドロフラン (1 5 mL) 溶液に、1 規定臭化 n - デシルマグネシウム テトラヒドロフラン溶液 (6 . 3 4 mL , 6 . 3 4 mmol) を添加した後、室温にて 1 時間、次いで 6 0 で 3 0 分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、減圧下で揮発分を除去し、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0 . 4 0 g , 3 2 %)。

^1H -NMR (5 0 0 MHz , CDCl_3) δ : 0 . 8 8 (3 H , t , $J = 7 . 1 \text{ Hz}$) , 1 . 1 2 (3 H , t , $J = 7 . 6 \text{ Hz}$) , 1 . 2 0 - 1 . 3 9 (2 0 H , m) , 1 . 4 7 (2 H , tt , $J = 7 . 1 , 7 . 3 \text{ Hz}$) , 1 . 5 1 - 1 . 5 9 (4 H , m) , 2 . 1 2 - 2 . 2 0 (4 H , m) , 2 . 3 8 (4 H , t , $J = 7 . 6 \text{ Hz}$) , 3 . 1 4 (4 H , s)。

【 0 3 8 9 】

(参考例 3 0)

オクタコサ - 1 9 , 2 2 , 2 5 - トリイン - 1 1 - オール

参考例 2 9 で得られたオクタコサ - 1 9 , 2 2 , 2 5 - トリイン - 1 1 - オン (0 . 4 0 g , 1 . 0 mmol) のメタノール (3 . 0 mL) およびテトラヒドロフラン (3 . 0 mL) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0 . 0 3 8 g , 1 . 0 mmol) を加えた後、室温で 6 0 分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0 . 2 5 g , 6 2 %)。

^1H -NMR (5 0 0 MHz , CDCl_3) δ : 0 . 8 8 (3 H , t , $J = 7 . 1 \text{ Hz}$) , 1 . 1 2 (3 H , t , $J = 7 . 6 \text{ Hz}$) , 1 . 2 1 - 1 . 5 2 (3 0 H , m) , 2 . 1 2 - 2 . 2 0 (4 H , m) , 3 . 1 4 (2 H , s) , 3 . 1 4 (2 H , s) , 3 . 5 5 - 3 . 6 0 (1 H , m)。

【 0 3 9 0 】

(参考例 3 1)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ) プロピルオクタコサ - 1 9 , 2 2 , 2 5 - トリイン - 1 1 - イル

参考例 3 0 で得られたオクタコサ - 1 9 , 2 2 , 2 5 - トリイン - 1 1 - オール (0 . 2 5 g , 0 . 6 3 mmol) およびピリジン (0 . 3 1 g , 4 . 0 mmol) のトルエン (6 . 2 mL) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0 . 1 3 g , 0 . 4 3 mmol) のトルエン (0 . 9 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 2 0 分間攪拌した後、室温に昇温し 1 時間攪拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0 . 6 8 g , 6 . 6 mmol) を添加し、室温で 2 . 5 時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0 . 2 2 g , 6 6 %)。

^1H -NMR (5 0 0 MHz , CDCl_3) δ : 0 . 8 8 (3 H , t , $J = 7 . 1 \text{ Hz}$)

), 1.12 (3H, t, J = 7.6 Hz), 1.20 - 1.60 (30H, m), 1.84 (2H, tt, J = 6.6, 7.6 Hz), 2.11 - 2.20 (4H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, J = 7.6 Hz), 3.14 (4H, s), 4.18 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.65 - 4.71 (1H, m)。

【0391】

(実施例21)

炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(19Z, 22Z, 25Z)-オクタコサ-19, 22, 25-トリエン-11-イル(例示化合物1-164)

水素ガス雰囲気下、酢酸ニッケル(II)四水和物(0.104g, 0.417mmol)にエタノール(5.0mL)を加え、水素化ホウ素ナトリウム(0.015g, 0.417mmol)のエタノール(2.5mL)溶液を添加した。室温で15分間攪拌した後エチレンジアミン(0.100g, 1.67mmol)を添加し、さらに15分間攪拌した。次いで参考例31で得られた炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピルオクタコサ-19, 22, 25-トリエン-11-イル(0.220g, 0.417mmol)のエタノール(2.5mL)溶液を1分間かけて添加し、室温水素雰囲気下で終夜反応した。ヘキサン溶液で希釈し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た。

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ: 0.88 (3H, t, J = 6.8 Hz), 0.98 (3H, t, J = 7.6 Hz), 1.20 - 1.39 (26H, m), 1.49 - 1.62 (4H, m), 1.84 (2H, tt, J = 6.6, 7.3 Hz), 1.99 - 2.11 (4H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, J = 7.3 Hz), 2.78 - 2.83 (4H, m), 4.18 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.65 - 4.71 (1H, m), 5.28 - 5.43 (6H, m)。

MS(ESI+) m/z 534 [M+H]⁺

HRMS(ESI+) m/z 534.4885 (-0.1mDa)。

【0392】

(参考例32)

(9Z, 12R)-12-{[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}オクタデカ-9-エン酸メチル

リシノール酸メチル(16.7g, 53.4mmol)およびイミダゾール(7.28g, 107mmol)のN,N-ジメチルホルムアミド(53.4mL)溶液に、塩化tert-ブチル(ジメチル)シラン(12.1g, 80.2mmol)を2分間かけて添加した後、室温で終夜反応させた。水で処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(23.2g, 99%)。

¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ: 0.03 - 0.06 (6H, m), 0.86 - 0.90 (12H, m), 1.22 - 1.45 (18H, m), 1.62 (2H, tt, J = 6.8, 7.6 Hz), 2.01 (2H, q, J = 6.6 Hz), 2.18 (2H, t, J = 5.9 Hz), 2.30 (2H, t, J = 7.6 Hz), 3.65 (1H, quint, J = 5.9 Hz), 3.67 (3H, s), 5.33 - 5.45 (2H, m)。

【0393】

(参考例33)

(5R, 7Z, 24Z, 27R)-5, 27-ジヘキシル-2, 2, 3, 3, 29, 29, 30, 30-オクタメチル-4, 28-ジオキサ-3, 29-ジシラヘントリアコンタ-7, 24-ジエン-16-オン

参考例32で得られた(9Z, 12R)-12-{[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}オクタデカ-9-エン酸メチル(12g, 28.1mmol)のキシレン(15mL)溶液に、ヘキサンにて洗浄済みの水素化ナトリウム(1.37g, 64%,

36.6 mmol) のキシレン (5 mL) 懸濁液を 5 分間かけて添加した後、150 で 5.5 時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサンにより抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去し、油状物質を得た。この油状物質にテトラヒドロフラン (120 mL) および 5 規定水酸化ナトリウム水溶液 (28 mL) を加え、90 で 5.5 時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサンにより抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (7.24 g, 67%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.03 - 0.06 (12 H, m), 0.86 - 0.90 (24 H, m), 1.21 - 1.45 (36 H, m), 1.51 - 1.59 (4 H, m), 2.01 (4 H, q, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 2.18 (4 H, t, $J = 5.9 \text{ Hz}$), 2.38 (4 H, t, $J = 7.6 \text{ Hz}$), 3.65 (2 H, quint, $J = 5.9 \text{ Hz}$), 5.32 - 5.46 (4 H, m)。

【0394】

(参考例 34)

(5 R, 7 Z, 24 Z, 27 R) - 5, 27 - ジヘキシル - 2, 2, 3, 3, 29, 29, 30, 30 - オクタメチル - 4, 28 - ジオキサ - 3, 29 - ジシラヘントリアコンタ - 7, 24 - ジエン - 16 - オール

参考例 33 で得られた (5 R, 7 Z, 24 Z, 27 R) - 5, 27 - ジヘキシル - 2, 2, 3, 3, 29, 29, 30, 30 - オクタメチル - 4, 28 - ジオキサ - 3, 29 - ジシラヘントリアコンタ - 7, 24 - ジエン - 16 - オン (5.5 g, 7.2 mmol) のメタノール (22 mL) およびテトラヒドロフラン (22 mL) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0.27 g, 7.2 mmol) を 2 分間かけて添加した後、室温で 3 時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、減圧下で揮発分を除去し、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (5.0 g, 91%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.03 - 0.05 (12 H, m), 0.86 - 0.90 (24 H, m), 1.22 - 1.47 (44 H, m), 2.01 (4 H, q, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 2.18 (4 H, t, $J = 5.9 \text{ Hz}$), 3.55 - 3.61 (1 H, m), 3.65 (2 H, quint, $J = 5.9 \text{ Hz}$), 5.34 - 5.46 (4 H, m)。

【0395】

(参考例 35)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ) プロピル (5 R, 7 Z, 24 Z, 27 R) - 5, 27 - ジヘキシル - 2, 2, 3, 3, 29, 29, 30, 30 - オクタメチル - 4, 28 - ジオキサ - 3, 29 - ジシラヘントリアコンタ - 7, 24 - ジエン - 16 - イル

参考例 34 で得られた (5 R, 7 Z, 24 Z, 27 R) - 5, 27 - ジヘキシル - 2, 2, 3, 3, 29, 29, 30, 30 - オクタメチル - 4, 28 - ジオキサ - 3, 29 - ジシラヘントリアコンタ - 7, 24 - ジエン - 16 - オール (1.00 g, 1.31 mmol) およびピリジン (0.651 g, 8.23 mmol) のトルエン (13.1 mL) 溶液に、トリホスゲン (0.268 g, 0.690 mmol) のトルエン (1.96 mL) 溶液を 1 分間かけて添加した。室温で 2 時間攪拌した後、3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (1.42 g, 13.7 mmol) を添加し、室温で 3 時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (1.15 g, 98%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.03 - 0.05 (12 H, m), 0.88 (6 H, t, $J = 6.8 \text{ Hz}$), 0.89 (18 H, s), 1.21 - 1.46 (40 H, m), 1.49 - 1.62 (4 H, m), 1.84 (2 H, tt, $J = 6.8$

10

20

30

40

50

, 7.3 Hz), 2.01 (4 H, q, J = 6.6 Hz), 2.18 (4 H, t, J = 5.9 Hz), 2.22 (2 H, t, J = 7.3 Hz), 3.65 (2 H, quint, J = 5.9 Hz), 4.17 (2 H, t, J = 6.8 Hz), 4.65 - 4.71 (1 H, m), 5.33 - 5.46 (4 H, m)。

【0396】

(実施例22)

炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(7R, 9Z, 26Z, 29R)-7, 29-ジヒドロキシペンタトリアコンタ-9, 26-ジエン-18-イル(例示化合物1-308)

参考例35で得られた炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(5R, 7Z, 24Z, 27R)-5, 27-ジヘキシル-2, 2, 3, 3, 29, 29, 30, 30-オクタメチル-4, 28-ジオキサ-3, 29-ジシラヘントリアコンタ-7, 24-ジエン-16-イル(1.15 g, 1.29 mmol)に、1規定フッ化テトラn-ブチルアンモニウムテトラヒドロフラン溶液(19.3 mL, 19.3 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.56 g, 65%)。

¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 0.88 (6 H, t, J = 6.8 Hz), 1.23 - 1.38 (36 H, m), 1.40 - 1.50 (4 H, m), 1.50 - 1.62 (4 H, m), 1.84 (2 H, tt, J = 6.8, 7.3 Hz), 2.04 (4 H, q, J = 7.1 Hz), 2.21 (4 H, t, J = 7.1 Hz), 2.22 (6 H, s), 2.36 (2 H, t, J = 7.3 Hz), 3.57 - 3.64 (2 H, m), 4.17 (2 H, t, J = 6.8 Hz), 4.65 - 4.71 (1 H, m), 5.37 - 5.44 (1 H, m), 5.54 - 5.58 (1 H, m)。

【0397】

(実施例23)

二酢酸(7R, 9Z, 26Z, 29R)-18-({[3-(ジメチルアミノ)プロボキシ]カルボニル}オキシ)ペンタトリアコンタ-9, 26-ジエン-7, 29-ジイル(例示化合物1-233)

実施例22で得られた炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(7R, 9Z, 26Z, 29R)-7, 29-ジヒドロキシペンタトリアコンタ-9, 26-ジエン-18-イル(0.15 g, 0.23 mmol)およびピリジン(0.36 g, 4.5 mmol)のジクロロメタン(4.5 mL)溶液に、酢酸クロリド(0.18 g, 2.3 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(155 mg, 92%)。

¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 0.85 - 0.91 (6 H, m), 1.22 - 1.38 (40 H, m), 1.49 - 1.63 (8 H, m), 1.85 (2 H, tt, J = 6.6, 7.3 Hz), 1.98 - 2.05 (10 H, m), 2.22 (6 H, s), 2.24 - 2.33 (4 H, m), 2.36 (2 H, t, J = 7.3 Hz), 4.18 (2 H, t, J = 6.6 Hz), 4.65 - 4.71 (1 H, m), 4.87 (2 H, quint, J = 6.3 Hz), 5.29 - 5.36 (2 H, m), 5.44 - 5.50 (2 H, m)。

MS(ESI+) m/z 750 [M+H]⁺

HRMS(ESI+) m/z 750.6247 (-0.1 mDa)。

【0398】

(実施例24)

炭酸(7R, 9Z, 26Z, 29R)-7, 29-ジヘキシル-2, 5-ジオキサ-1, 6-ジオキサシクロノナコサ-9, 26-ジエン-18-イル3-(ジメチルアミノ)ブ

ロピル（例示化合物 1 - 319）

実施例 22 で得られた炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (7R, 9Z, 26Z, 29R) - 7, 29 - ジヒドロキシペンタトリアコンタ - 9, 26 - ジエン - 18 - イル (1.19 g, 1.72 mmol) およびピリジン (1.13 g, 14.3 mmol) のジクロロメタン (40 mL) 溶液に、こはく酸クロリド (0.186 g, 1.20 mmol) のジクロロメタン (13 mL) 溶液を 1.5 時間かけて滴下添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (20 mg, 1%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (6H, t, $J = 6.6$ Hz), 1.21 - 1.39 (40H, m), 1.51 - 1.63 (8H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.6, 7.3$ Hz), 1.98 - 2.07 (4H, m), 2.22 (6H, s), 2.28 (2H, t, $J = 7.1$ Hz), 2.32 (2H, t, $J = 7.3$ Hz), 2.36 (2H, t, $J = 7.6$ Hz), 2.60 (4H, s), 4.17 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.68 (1H, quint, $J = 6.1$ Hz), 4.86 - 4.92 (2H, m), 5.29 - 5.36 (2H, m), 5.43 - 5.50 (2H, m)。

$\text{MS} (\text{ESI}^+)$ m/z 748 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS} (\text{ESI}^+)$ m/z 748.6091 (0.0 mDa)。

【0399】

(参考例 36)

(11Z, 14Z) - N - メトキシ - N - メチルイコサ - 11, 14 - ジエンアミド

(11Z, 14Z) - イコサ - 11, 14 - ジエン酸 (Chem. Lett. 1998, 2, 175 記載、化合物 3, 4.45 g, 14.4 mmol) および、N, O - ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩 (2.87 g, 28.9 mmol) のジクロロメタン (71 mL) 溶液に、1 - ヒドロキシベンズイミダゾール水和物 (3.90 g, 28.9 mmol)、トリエチルアミン (2.95 g, 28.9 mmol)、1 - エチル - 3 - (3' - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩 (5.53 g, 28.9 mmol) を加え、室温で終夜反応させた。水処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (5.00 g, 99%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.24 - 1.40 (18H, m), 1.62 (2H, quint, $J = 7.4$ Hz), 2.02 - 2.07 (4H, m), 2.41 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 2.77 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.18 (3H, s), 3.68 (3H, s), 5.29 - 5.43 (4H, m)。

【0400】

(参考例 37)

(21Z, 24Z) - トリアコンタ - 21, 24 - ジエン - 11 - オール

参考例 36 で得られた (11Z, 14Z) - N - メトキシ - N - メチルイコサ - 11, 14 - ジエンアミド (0.50 g, 1.4 mmol) のテトラヒドロフラン (6.3 mL) 溶液に、1 規定臭化 n - デシルマグネシウム ジエチルエーテル溶液 (4.3 mL, 4.3 mmol) を 3 分間かけて滴下添加した後、室温にて 1.5 時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行い、得られた油状物質をメタノール (5.4 mL) およびテトラヒドロフラン (5.4 mL) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0.05 g, 1.3 mmol) を加えた後、室温で 30 分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルに

10

20

30

40

50

より抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去することにより、目的物を含む混合物として得た。

【0401】

(実施例25)

炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(21Z, 24Z)-トリアコンタ-21, 24-ジエン-11-イル(例示化合物1-444)

参考例37で得られた(21Z, 24Z)-トリアコンタ-21, 24-ジエン-11-オール(0.15g, 0.35mmol)およびピリジン(0.17g, 2.18mmol)のトルエン(0.7mL)溶液に、トリホスゲン(0.07g, 0.25mmol)のトルエン(0.29mL)溶液を2分間かけて添加した。室温で2時間攪拌した後、3-ジメチルアミノ1-プロパノール(0.37g, 3.6mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(100mg, 51%)。

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ : 0.85-0.92(6H, m), 1.21-1.40(36H, m), 1.49-1.61(4H, m), 1.85(2H, tt, $J=6.6, 7.6\text{Hz}$), 2.01-2.08(4H, m), 2.22(6H, s), 2.36(2H, t, $J=7.6\text{Hz}$), 2.77(2H, t, $J=6.6\text{Hz}$), 4.18(2H, t, $J=6.6\text{Hz}$), 4.65-4.72(1H, m), 5.29-5.42(4H, m)。

$\text{MS}(\text{ESI}^+)$ m/z 564 $[\text{M}+\text{H}]^+$

$\text{HRMS}(\text{ESI}^+)$ m/z 564.5352(-0.4mDa)。

【0402】

(実施例26)

炭酸(19Z, 22Z)-オクタコサ-19, 22-ジエン-11-イル 3-(ピロリジン-1-イル)プロピル(例示化合物1-77)

参考例17で得られた(19Z, 22Z)-オクタコサ-19, 22-ジエン-11-オール(0.200g, 0.492mmol)およびピリジン(0.245g, 3.10mmol)のトルエン(4.9mL)溶液を、氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン(0.101g, 0.339mmol)のトルエン(0.74mL)溶液を1分間かけて添加した。0℃で15分間攪拌した後、室温に昇温し1時間攪拌し、再度0℃に冷却した。3-(ピロリジン-1-イル)プロパン-1-オール(0.667g, 5.16mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(127mg, 46%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.88(3H, t, $J=6.7\text{Hz}$), 0.89(3H, t, $J=6.7\text{Hz}$), 1.20-1.40(32H, m), 1.48-1.64(4H, m), 1.74-1.81(4H, m), 1.90(2H, tt, $J=6.7, 7.4\text{Hz}$), 2.01-2.09(4H, m), 2.45-2.54(4H, m), 2.53(2H, t, $J=7.4\text{Hz}$), 2.77(2H, t, $J=6.7\text{Hz}$), 4.19(2H, t, $J=6.7\text{Hz}$), 4.70(1H, tt, $J=5.5, 7.0\text{Hz}$), 5.28-5.43(4H, m)。

$\text{MS}(\text{ESI}^+)$ m/z 562 $[\text{M}+\text{H}]^+$

$\text{HRMS}(\text{ESI}^+)$ m/z 562.5203(0.4mDa)。

【0403】

(参考例38)

(19Z, 22R)-22-{[tert-ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}オクタコサ-19-エン-11-オン

参考例 32 で得られた (9Z, 12R) - 12 - { [tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } オクタデカ - 9 - エン酸メチル (2.00 g, 4.69 mmol) およびウンデカン酸メチル (2.82 g, 14.1 mmol) のキシレン (20 mL) 溶液に、ヘキサンにて洗浄済みの水素化ナトリウム (0.879 g, 64%, 23.4 mmol) のキシレン (8 mL) 懸濁液を 5 分間かけて添加した後、150 で 6.5 時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン - 酢酸エチルにより抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去し、油状物質を得た。この油状物質にテトラヒドロフラン (94 mL) および 5 規定水酸化ナトリウム水溶液 (23 mL) を加え、90 で 5 時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサンにより抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を含む液体を得た (3.41 g, 不純物含む)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.03 - 0.05 (6H, m), 0.85 - 0.91 (15H, m), 1.21 - 1.44 (36H, m), 1.50 - 1.60 (4H, m), 1.97 - 2.04 (2H, m), 2.18 (2H, t, $J = 6.3$ Hz), 2.38 (4H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.61 - 3.68 (1H, m), 5.33 - 5.46 (2H, m)。

【0404】

(参考例 39)

(19Z, 22R) - 22 - { [tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } オクタコサ - 19 - エン - 11 - オール

参考例 38 で得られた (19Z, 22R) - 22 - { [tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } オクタコサ - 19 - エン - 11 - オンを含む混合物 (3.41 g) のメタノール (24 mL) およびテトラヒドロフラン (24 mL) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0.30 g, 8.0 mmol) を 2 分間かけて添加した後、室温で 1.5 時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、減圧下で揮発分を除去し、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を含む液体を得た (3.54 g, 不純物含む)。

【0405】

(参考例 40)

炭酸 (19Z, 22R) - 22 - { [tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } オクタコサ - 19 - エン - 11 イル 3 - (ジメチルアミノ) プロピル

参考例 39 で得られた (19Z, 22R) - 22 - { [tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } オクタコサ - 19 - エン - 11 - オールを含む混合物 (3.54 g) およびピリジン (4.00 g, 50.6 mmol) のトルエン (78.8 mL) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (1.62 g, 5.45 mmol) のトルエン (11.8 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 30 分間撹拌した後、室温に昇温し 1 時間撹拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (8.81 g, 85.4 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を含む液体を得た (2.58 g, 不純物含む)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.03 - 0.06 (6H, m), 0.85 - 0.91 (15H, m), 1.23 - 1.64 (40H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.7, 7.4$ Hz), 1.97 - 2.04 (2H, m), 2.15 - 2.20 (2H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.61 - 3.68 (1H, m), 4.17 (2H, t, $J = 6.7$ Hz), 4.69 (1H, tt, $J = 5.5, 7.0$ Hz), 5.32 - 5.46 (2H, m)。

【0406】

10

20

30

40

50

(実施例 27)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (19Z, 22R) - 22 - ヒドロキシオクタコサ - 19 - エン - 11 - イル (例示化合物 1 - 298)

参考例 40 で得られた炭酸 (19Z, 22R) - 22 - {[tert - ブチル (ジメチル) シリル]オキシ} オクタコサ - 19 - エン - 11 イル 3 - (ジメチルアミノ) プロピルを含む混合物 (2.58 g,) に、1 規定フッ化テトラ n - ブチルアンモニウム テトラヒドロフラン溶液 (23.2 mL, 23.2 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。水処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.500 g)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, $J = 6.7$ Hz), 0.89 (3H, t, $J = 6.7$ Hz), 1.20 - 1.38 (28H, m), 1.40 - 1.62 (8H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.7, 7.4$ Hz), 2.01 - 2.08 (2H, m), 2.18 - 2.23 (2H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.61 (1H, tt, $J = 5.3, 5.9$ Hz), 4.18 (2H, t, $J = 6.7$ Hz), 4.69 (1H, tt, $J = 5.5, 6.3$ Hz), 5.36 - 5.45 (1H, m), 5.52 - 5.60 (1H, m).
 $\text{MS (ESI}^+)$ m/z 554 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$
 $\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 554.5146 (-0.2 mDa).

【0407】

(実施例 28)

酢酸 (7R, 9Z) - 18 - ({[3 - (ジメチルアミノ)プロピルオキシ]カルボニル}オキシ) オクタコサ - 9 - エン - 7 - イル (例示化合物 1 - 212)

実施例 27 で得られた炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (19Z, 22R) - 22 - ヒドロキシオクタコサ - 19 - エン - 11 - イル (0.20 g, 0.36 mmol) およびピリジン (0.57 g, 7.2 mmol) のジクロロメタン (7.2 mL) 溶液に、酢酸クロリド (0.28 g, 3.6 mmol) を添加し、室温で 3 時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (42 mg, 20%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (3H, t, $J = 6.7$ Hz), 0.89 (3H, t, $J = 6.7$ Hz), 1.20 - 1.37 (32H, m), 1.48 - 1.61 (4H, m), 1.85 (2H, tt, $J = 6.7, 7.4$ Hz), 1.97 - 2.02 (2H, m), 2.03 (3H, s), 2.22 (6H, s), 2.28 (2H, dd, $J = 6.3, 7.0$ Hz), 2.36 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 4.18 (2H, t, $J = 6.7$ Hz), 4.69 (1H, tt, $J = 5.5, 6.3$ Hz), 4.87 (1H, quint, $J = 6.3$ Hz), 5.32 (1H, dt, $J = 11.0, 1.6, 7.0$ Hz), 5.47 (dt, $J = 11.0, 1.6, 7.0$ Hz).

$\text{MS (ESI}^+)$ m/z 596 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$

$\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 596.5269 (1.5 mDa).

【0408】

(参考例 41)

1, 15 - ビス[2 - ({2 - [(2 - エチルシクロプロピル)メチル]シクロプロピル}メチル)シクロプロピル]ペンタデカン - 8 - オン

8 - [2 - ({2 - [(2 - エチルシクロプロピル)メチル]シクロプロピル}メチル)シクロプロピル]オクタン酸メチル (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003, 13, 1037 記載、化合物 6 の中間体, 1.50 g, 4.48 mmol) のキシレン (6.0 mL) 溶液に、ヘキサンにて洗浄済みの水素化ナトリウム (0.219 g, 64%, 5.83 mmol) のキシレン (0.7 mL) 懸濁液を 2 分間かけて添加した

後、150 で5時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサンにより抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去し、油状物質を得た。この油状物質にテトラヒドロフラン(22.4 mL)および5規定水酸化ナトリウム水溶液(5.4 mL)を加え、90 で5時間反応させた。室温まで冷却後、水により処理し、ヘキサン-酢酸エチル混合溶液により抽出を行った。得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させ、溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.294 g, 23%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : (-0.32) - (-0.17) (6 H, m), 0.57 - 1.61 (60 H, m), 2.38 (4 H, t, $J = 7.4$ Hz)

10

。

【0409】

(参考例42)

1, 15 - ビス[2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] ペンタデカン - 8 - オール

参考例41で得られた1, 15 - ビス[2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] ペンタデカン - 8 - オン(0.29 g, 0.51 mmol)のメタノール(1.5 mL)およびテトラヒドロフラン(1.5 mL)溶液に、水素化ホウ素ナトリウム(0.019 g, 0.51 mmol)を加えた後、室温で90分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.23 g, 78%)。

20

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : (-0.32) - (-0.16) (6 H, m), 0.57 - 1.60 (64 H, m), 3.54 - 3.63 (1 H, m)。

【0410】

(実施例29)

炭酸1, 15 - ビス[2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] ペンタデカン - 8 - イル 3 - ジメチルアミノプロピル (例示化合物1-200)

30

参考例42で得られた1, 15 - ビス[2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] ペンタデカン - 8 - オール(0.13 g, 0.22 mmol)およびピリジン(0.11 g, 1.4 mmol)のトルエン(2.2 mL)溶液を、氷浴にて0 に冷却し、トリホスゲン(0.046 g, 0.15 mmol)のトルエン(0.34 mL)溶液を2分間かけて添加した溶液を、0 で20分間撹拌した後、室温に昇温し40分間撹拌し、再度0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール(0.24 g, 2.4 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(150 mg, 94%)。

40

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : (-0.32) - (-0.16) (6 H, m), 0.56 - 1.66 (64 H, m), 1.84 (2 H, tt, $J = 6.7, 7.4$ Hz), 2.22 (6 H, s), 2.36 (2 H, t, $J = 7.4$ Hz), 4.17 (2 H, t, $J = 6.7$ Hz), 4.70 (1 H, tt, $J = 5.5, 7.0$ Hz)。

MS (ESI+) m/z 710 $[M+H]^+$

HRMS (ESI+) m/z 710.6463 (1.2 mDa)。

【0411】

(参考例43)

8 - [2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] - N - メトキシ - N - メチルオクタンアミド

50

8 - [2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] オクタン酸メチル (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003, 13, 1037 記載、化合物 6, 3.00 g, 9.36 mmol) および、N, O - ジメチルヒドロキシルアミン塩酸塩 (1.83 g, 18.7 mmol) のジクロロメタン (65.5 mL) 溶液に、1 - ヒドロキシベンズイミダゾール水和物 (2.87 g, 18.7 mmol)、トリエチルアミン (1.89 g, 18.7 mmol)、1 - エチル - 3 - (3' - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド塩酸塩 (3.59 g, 18.7 mmol) を加え、室温で終夜反応させた。水処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (3.08 g, 91%)。

10

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : (- 0.32) - (- 0.17) (3 H, m), 0.57 - 1.56 (28 H, m), 1.57 - 1.67 (2 H, m), 2.41 (2 H, t, $J = 7.4 \text{ Hz}$), 3.18 (3 H, s), 3.68 (3 H, s)。

【 0 4 1 2 】

(参考例 4 4)

1 - [2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] オクタデカン - 8 - オン

参考例 4 3 で得られた 8 - [2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] - N - メトキシ - N - メチルオクタンアミド (2.00 g, 5.50 mmol) のテトラヒドロフラン (24.5 mL) 溶液を、水浴にて 15 に冷却し、1 規定臭化 n - デシルマグネシウム テトラヒドロフラン溶液 (8.25 mL, 8.25 mmol) を 15 分間かけて滴下添加した後、室温にて終夜反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (1.56 g, 64%)。

20

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : (- 0.32) - (- 0.17) (3 H, m), 0.57 - 1.62 (49 H, m), 2.38 (4 H, t, $J = 7.4 \text{ Hz}$)。

30

【 0 4 1 3 】

(参考例 4 5)

1 - [2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] オクタデカン - 8 - オール

参考例 4 4 で得られた 1 - [2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] オクタデカン - 8 - オン (1.56 g, 3.51 mmol) のメタノール (10.5 mL) およびテトラヒドロフラン (10.5 mL) 溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0.133 g, 3.51 mmol) を加えた後、室温で 90 分間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (1.50 g, 96%)。

40

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : (- 0.32) - (- 0.17) (3 H, m), 0.57 - 1.56 (53 H, m), 3.54 - 3.62 (1 H, m)。

【 0 4 1 4 】

(実施例 3 0)

炭酸 3 - ジメチルアミノプロピル 1 - [2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シクロプロピル } メチル) シクロプロピル] オクタデカン - 8 - イル (例示化合物 1 - 188)

参考例 4 5 で得られた 1 - [2 - ({ 2 - [(2 - エチルシクロプロピル) メチル] シ

50

クロプロピル}メチル)シクロプロピル]オクタデカン-8-オール(0.25 g, 0.56 mmol)およびピリジン(0.28 g, 3.5 mmol)のトルエン(5.6 mL)溶液を、氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン(0.12 g, 0.39 mmol)のトルエン(0.84 mL)溶液を2分間かけて添加した溶液を、0℃で20分間攪拌した後、室温に昇温し40分間攪拌し、再度0℃に冷却した。3-ジメチルアミノ-1-プロパノール(0.61 g, 5.9 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(155 mg, 48%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : (-0.32) - (-0.16) (3 H, m), 0.57 - 1.65 (53 H, m), 1.84 (2 H, tt, $J = 6.7, 7.4$ Hz), 2.22 (6 H, s), 2.36 (2 H, t, $J = 7.4$ Hz), 4.18 (2 H, t, $J = 6.7$ Hz), 4.67 (1 H, tt, $J = 5.5, 7.0$ Hz).
 $\text{MS (ESI}^+)$ m/z 576 [M+H] $^+$
 $\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 576.5367 (1.1 mDa).

【0415】

(実施例31) 2本鎖ポリヌクレオチドを封入した核酸脂質粒子の調製

ジステアロイルホスファチジルコリン(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine:以下DSPCと表記,NOF CORPORATION)、コレステロール(Cholesterol:以下Cholと表記,Sigma-Aldrich,Inc.)、実施例1、2、3、又は8に記載の化合物(LPとする)、及びN-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン(以下PEG-C-DMAと表記)を、DSPC:Chol:LP:PEG-C-DMA=20:48:30:2のモル比にて90%エタノール中、総脂質濃度25 mMになるように脂質溶液を調製した。

【0416】

国際公開第2010/001909号パンフレット実施例45及び実施例51に記載の記載のポリヌクレオチドCT-157:

HO-P(=O)(OH)-O-U^{m1}P-T^p-G^{m1}P-T^p-G^{m1}P-A^p-U^{m1}P-C^p-C^{m1}P-A^p-U^{m1}P-T^p-C^{m1}P-T^p-U^{m1}P-G^p-U^{m1}P-G^p-C^{m1}P-T^p-U^{m1}t-H(配列表の配列番号2)(ヒトβ-カテニン遺伝子(GenBank accession No.NM_001904.3)のヌクレオチド番号3139-3157に相補的な配列を含むポリヌクレオチド)

及び、ポリヌクレオチドCT-169:

HO-G^p-C^{m1}P-A^p-C^{m1}P-A^p-A^{m1}P-G^p-A^{m1}P-A^p-U^{m1}P-G^p-G^{m1}P-A^p-U^{m1}P-C^p-A^{m1}P-C^p-A^{m1}t-H(配列表の配列番号1)(ヒトβ-カテニン遺伝子(GenBank accession No.NM_001904.3)のヌクレオチド番号3139-3156の配列を含む。)

をDNA合成機を用いて合成し、300 pmolずつ1つのチューブに入れて、減圧下乾燥し、30 μLのsiRNA suspension buffer(QIAGEN)を加え、65℃、1分間加温した後、室温に5分間放置し、アニーリングさせ、10 μMの2本鎖ポリヌクレオチド溶液を得、その後クエン酸緩衝液(20 mM Citrate Buffer, pH 4.0)にて、1 mg/mLに調製して2本鎖ポリヌクレオチド溶液を得た。上記の脂質溶液と2本鎖ポリヌクレオチド溶液を37℃に加温し、各100 μLを混合し、続いて、クエン酸緩衝液(20 mM Citrate Buffer, 300 mM NaCl, pH 6.0)200 μLを添加し、37℃にて30分間インキュベーションすることにより、核酸脂質粒子の分散液を得た。核酸脂質粒子の分散液を約100 mLのリン酸緩衝液(pH 7.4)にて12-18時間透析(Float-A-Lyzer G2, MWCO:100 kD, Spectra/Por)することにより、エタノール除去及び中和による未封入の2本鎖ポリヌクレオチドの除去を行い、siRNAが封入さ

10

20

30

40

50

れた実施例 1、2、3、又は 8 に記載の化合物を含む核酸脂質粒子の精製された分散液を得た。対照検体として、参考例 2 に記載の化合物、及び、WO 2012/054365 に記載されている化合物 1 (Compound 1) を用いた。

【0417】

(実施例 32) 2 本鎖ポリヌクレオチド封入核酸脂質粒子の特性評価

実施例 31 で調製した核酸脂質粒子を含む分散液の特性評価を行った。それぞれの特性評価の方法について説明する。

【0418】

(1) 平均粒子径

リポソームの粒子径は、Zeta Potential / Particle Size r N I C O M P ^T M 380 Z L S (PARTICLE SIZING SYSTEMS) にて測定した。表中の平均粒子径は体積平均粒子径を表し、±以下は、偏差を表す。

10

【0419】

(2) 2 本鎖ポリヌクレオチドの封入率

2 本鎖ポリヌクレオチドの封入率は、Quant-iT RiboGreen RNA Assay kit (Invitrogen) を用い、添付文書に準じて測定した。すなわち、0.015% Triton X-100 界面活性剤存在下及び非存在下において、核酸脂質粒子の分散液中の 2 本鎖ポリヌクレオチドを定量し、次式により封入率を算出した。

20

$$\{ [\text{界面活性剤存在下における 2 本鎖ポリヌクレオチド量}] - [\text{界面活性剤非存在下における 2 本鎖ポリヌクレオチド量}] \} / [\text{界面活性剤存在下における 2 本鎖ポリヌクレオチド量}] \times 100 (\%)$$

(3) 2 本鎖ポリヌクレオチドと脂質の比率

核酸脂質粒子の分散液をアセトニトリル、クロロホルムと 1 : 1 : 1 の割合で混合し、15,000 rpm にて 2 分間遠心した後、上層の水層を回収し、2 本鎖ポリヌクレオチドを抽出した。試料中の 2 本鎖ポリヌクレオチド量をイオン交換クロマトグラフィーにて測定した (System: Agilent 1100 series, Column: TS K gel DEAE-2 SW (2.6 × 150 mm) (東ソー株式会社), Buffer A: 20% アセトニトリル, Buffer B: 20% アセトニトリル, 1.6 M ギ酸アンモニウム, Gradient (B%): 30 - 55% (0 - 20 min), Flow Rate: 1 mL/min, Temperature: 40, Detection: 260 nm)。

30

【0420】

核酸脂質粒子の分散液中のリン脂質量をリン脂質 C - テストワコー (和光純薬工業株式会社) を用い、添付文書に準じて測定した。すなわち、1% Triton X-100 界面活性剤存在下において、試料中のリン脂質を定量した。

【0421】

核酸脂質粒子の分散液中のコレステロール及び LP 量を逆相クロマトグラフィーにて測定した (System: Agilent 1100 series, Column: Chromolith Performance RP-18 endcapped 100-3 monolithic HPLC-column (Merck), Buffer A: 0.01% トリフルオロ酢酸, Buffer B: 0.01% トリフルオロ酢酸, メタノール, Gradient (B%): 87 - 92% (0 - 10 min), Flow Rate: 2 mL/min, Temperature: 50, Detection: 205 nm)。

40

【0422】

リン脂質量とリポソームを構成する脂質成分の組成比から、総脂質量を算出し、上述のポリヌクレオチド量及び総脂質量から、次式によりポリヌクレオチドと脂質の比率を算出した。

50

〔 2 本鎖ポリヌクレオチド濃度 〕 / 〔 総脂質濃度 〕 (w t / w t)

結果を表 3 に示した。

【 0 4 2 3 】

(表 3)

LP名	ポリヌクレオチド 封入率(%)	ポリヌクレオチドと脂質の比 siRNA/lipid(wt/wt)	平均粒子径(nm)
参考例 2	89.0	0.104	139 ± 50
実施例 1	94.3	0.109	183 ± 41
実施例 2	96.3	0.099	215 ± 70
実施例 3	98.6	0.099	187 ± 31

10

【 0 4 2 4 】

リン脂質量、コレステロール量、及び LP 量とリボソームを構成する脂質成分の組成比から、総脂質量を算出し、上述のポリヌクレオチド量及び総脂質量から、次式によりポリヌクレオチドと脂質の比率を算出した。

〔 2 本鎖ポリヌクレオチド濃度 〕 / 〔 総脂質濃度 〕 (w t / w t)

結果を表 4 に示した。

【 0 4 2 5 】

(表 4)

LP名	ポリヌクレオチド 封入率(%)	ポリヌクレオチドと脂質の比 siRNA/lipid(wt/wt)	平均粒子径(nm)
Compound 1	93.0	0.075	138 ± 24
実施例 8	96.4	0.072	157 ± 46

20

【 0 4 2 6 】

以上の結果より、2 本鎖ポリヌクレオチドが脂質粒子内に封入されており、それらの核酸脂質粒子は、約 1 0 0 n m から約 3 0 0 n m の平均粒子径を有していることが明らかとなった。

30

【 0 4 2 7 】

(試験例 1)

以下のように新規脂質を用いて調製した核酸脂質粒子によるヒト β - カテニン遺伝子発現抑制活性の強さを比較した。

【 0 4 2 8 】

(1) トランスフェクション

ヒト大腸癌 SW 4 8 0 細胞株 (ヒト大腸腺癌由来) を、1 0 % F e t a l b o v i n e s e r u m を含む R P M I 1 6 4 0 培地 (I n v i t r o g e n 社製) (培養培地) 中に 5 0 , 0 0 0 c e l l s / m L の濃度に調製した。そして、9 6 穴平底プレート (F a l c o n 社製) に 1 0 0 μ L ずつ播種し、3 7 、5 . 0 % 炭酸ガス下で 1 日間培養した。実施例 3 1 で調製した核酸脂質粒子の分散液を培地中の最終的な 2 本鎖ポリヌクレオチド濃度が、3 0 、3 . 0 、0 . 3 、及び 0 . 0 3 n M となるように培養培地にて希釈列を作製後、培養上清を除去した細胞に添加し、さらに 3 日間培養を継続した。各濃度に対して N = 3 で行った。

40

【 0 4 2 9 】

(2) リアルタイム P C R

トランスフェクションした細胞からリアルタイム P C R 測定用のライセートおよび c D N A は、T a q M a n (登録商標) F a s t - C e l l s - t o - C t k i t (A m b

50

ion社)を用いて、説明書の記載に従って調製した。ライセート調製時は、DNase Iを添加したLysis Solutionを用いた。リアルタイムPCR用のプローブは、ヒトβ-カテニン遺伝子用はTaqMan(登録商標)Gene Expression Assays(CTNNB1、FAM probe)(Hs00355045__m1、Applied Biosystems社製)、内部標準としてヒト-GAPDH遺伝子プローブを用いた(VIC probe、Hs99999905__m1、Applied Biosystems社製)。384穴PCRプレート(Applied Biosystems社製)1ウェルあたり、TaqMan(登録商標)Fast Advanced Master Mixを5μL、RNase-Free Waterを2μL、各遺伝子プローブを0.5μL、調製したcDNA溶液を2μL添加して総量を10μLとし、ViiaTM7 Real-time PCR system(Applied Biosystem社製)にセットし、以下の条件でPCRを実施した。リアルタイムPCRは、ライセートから調製したcDNAに対してN=4で実施した。

PCR初期活性化 95、20秒

PCR 95、1秒

62、20秒

このPCRサイクルは40回繰り返した。

【0430】

(3)リアルタイムPCR解析

定量解析はΔΔCt法で行った。各トランスフェクタントのヒトβ-カテニンとヒトGAPDHのCt値の差(ΔCt)から未処理細胞(=NC)のΔCtを差し引いた値(ΔΔCt)を求め、NCに対する相対値(RQ)は以下の式で算出した。

【0431】

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

RQ=1を阻害率0%、RQ=0を理論上の阻害率100%として、核酸脂質粒子のIC₅₀値を、GraphPad PRISM(GraphPad Software Inc.)を用いて算出した。その結果、表5に示すように、実施例1、2および3の化合物を含む核酸脂質粒子は、対照となる参考例2の脂質を含む核酸脂質粒子と比較して、強いβ-カテニン遺伝子発現の抑制活性を示した。よって、実施例1、2および3の化合物は、強い活性を示す核酸脂質粒子を調製するための有益な新規脂質であることが明らかとなった。

【0432】

(表5)

β-カテニン遺伝子発現 抑制活性 IC ₅₀ (nM)	
参考例2	>30
実施例1	3.5
実施例2	6.8
実施例3	0.44

【0433】

(試験例2)

以下のように新規脂質を用いて調製した核酸脂質粒子によるヒトβ-カテニン遺伝子発現抑制活性の強さを比較した。

【0434】

(1)トランスフェクション

ヒト肝臓癌HepG2細胞株(ヒト肝臓癌由来)を、10% Fetal bovine serumを含むDMEM培地(Invitrogen社製)(培養培地)中に50

10

20

30

40

50

000 cells/mLの濃度に調製した。そして、96穴平底プレート(Falco社製)に100μLずつ播種し、37℃、5.0%炭酸ガス下で1日間培養した。実施例31で調製した核酸脂質粒子を含む分散液を培地中の最終的な2本鎖ポリヌクレオチド濃度が、30、3、0.3、及び0.03nMとなるように培養培地にて希釈列を作製後、培養上清を除去した細胞に添加し、さらに3日間培養を継続した。各濃度に対してN = 3で行った。

【0435】

(2)リアルタイムPCR

トランスフェクションした細胞からリアルタイムPCR測定用のライセートおよびcDNAは、TaqMan(登録商標)Fast-Cells-to-Ct kit(Ambion社)を用いて、説明書の記載に従って調製した。ライセート調製時は、DNase Iを添加したLysis Solutionを用いた。リアルタイムPCR用のプローブは、ヒトβ-カテニン遺伝子用はTaqMan(登録商標)Gene Expression Assays(CTNNB1、FAM probe)(Hs00355045_m1、Applied Biosystems社製)、内部標準としてヒト-GAPDH遺伝子プローブを用いた(VIC probe、Hs99999905_m1、Applied Biosystems社製)。384穴PCRプレート(Applied Biosystems社製)1ウェルあたり、TaqMan(登録商標)Fast Advanced Master Mixを5μL、RNase-Free Waterを2μL、各遺伝子プローブを0.5μL、調製したcDNA溶液を2μL添加して総量を10μLとし、ViiATM7 Real-time PCR system(Applied Biosystem社製)にセットし、以下の条件でPCRを実施した。リアルタイムPCRは、ライセートから調製したcDNAに対してN = 4で実施した。

PCR初期活性化 95℃、20秒

PCR 95℃、1秒

62℃、20秒

このPCRサイクルは40回繰り返した。

【0436】

(3)リアルタイムPCR解析

定量解析はΔΔCt法で行った。各トランスフェクタントのヒトβ-カテニンとヒトGAPDHのCt値の差(ΔCt)から未処理細胞(=NC)のΔCtを差し引いた値(ΔΔCt)を求め、NCに対する相対値(RQ)は以下の式で算出した。

【0437】

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

RQ = 1を阻害率0%、RQ = 0を理論上の阻害率100%として、核酸脂質粒子のIC₅₀値を、GraphPad PRISM(GraphPad Software Inc.)を用いて算出した。その結果、表6に示すように、実施例1、2および3の化合物を含む核酸脂質粒子は、対照となる参考例2の脂質を含む核酸脂質粒子と比較して、強いβ-カテニン遺伝子発現の抑制活性を示した。よって、実施例1、2および3の化合物は、強い活性を示す核酸脂質粒子を調製するための有益な新規脂質であることが明らかとなった。

【0438】

(表6)

β-カテニン遺伝子発現 抑制活性 IC ₅₀ (nM)	
参考例2	>30
実施例1	0.38
実施例2	0.47

10

20

30

40

50

実施例 3

0.35

【0439】

(試験例3)

以下のように新規脂質を用いて調製した核酸脂質粒子によるヒトβ-カテニン遺伝子発現抑制活性の強さを比較した。

【0440】

(1) トランスフェクション

ヒト大腸癌SW480細胞株(ヒト大腸腺癌由来)を、10% Fetal bovine serumを含むRPMI1640培地(Invitrogen社製)(培養培地)中に50,000 cells/mLの濃度に調製した。そして、96穴平底プレート(Falcon社製)に100μLずつ播種し、37℃、5.0%炭酸ガス下で1日間培養した。実施例31で調製した核酸脂質粒子を含む分散液を培地中の最終的な2本鎖ポリヌクレオチド濃度が、30、3、0.3、及び0.03nMとなるように培養培地にて希釈列を作製後、培養上清を除去した細胞に添加し、さらに4時間培養を継続した。各濃度に対してN=3で行った。

【0441】

(2) リアルタイムPCR

トランスフェクションした細胞からリアルタイムPCR測定用のライセートおよびcDNAは、TaqMan(登録商標)Fast-Cells-to-Ct kit(Ambion社)を用いて、説明書の記載に従って調製した。ライセート調製時は、DNase Iを添加したLysis Solutionを用いた。リアルタイムPCR用のプローブは、ヒトβ-カテニン遺伝子用はTaqMan(登録商標)Gene Expression Assays(CTNNB1、FAM probe)(Hs00355045__m1、Applied Biosystems社製)、内部標準としてヒト-GAPDH遺伝子プローブを用いた(VIC probe、Hs99999905__m1、Applied Biosystems社製)。384穴PCRプレート(Applied Biosystems社製)1ウェルあたり、TaqMan(登録商標)Fast Advanced Master Mixを5μL、RNase-Free Waterを2μL、各遺伝子プローブを0.5μL、調製したcDNA溶液を2μL添加して総量を10μLとし、ViiATM7 Real-time PCR system(Applied Biosystem社製)にセットし、以下の条件でPCRを実施した。リアルタイムPCRは、ライセートから調製したcDNAに対してN=4で実施した。

PCR初期活性化 95℃、20秒

PCR 95℃、1秒

62℃、20秒

このPCRサイクルは40回繰り返した。

【0442】

(3) リアルタイムPCR解析

定量解析はΔΔCt法で行った。各トランスフェクタントのヒトβ-カテニンとヒトGAPDHのCt値の差(ΔCt)から未処理細胞(=NC)のΔCtを差し引いた値(ΔΔCt)を求め、NCに対する相対値(RQ)は以下の式で算出した。

【0443】

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

RQ=1を阻害率0%、RQ=0を理論上の阻害率100%として、核酸脂質粒子のIC₅₀値を、GraphPad PRISM(GraphPad Software Inc.)を用いて算出した。その結果、表7に示すように、実施例8の化合物を含む核酸脂質粒子は、対照となる脂質であるCompound 1を含む核酸脂質粒子と比較して、強いβ-カテニン遺伝子発現の抑制活性を示した。よって、実施例8の化合物は、強い活性を示す核酸脂質粒子を調製するための有益な新規脂質であることが明らかとなった。

【 0 4 4 4 】

(表 7)

β - カテニン遺伝子発現 抑制活性 IC ₅₀ (nM)	
Compound 1	>30
実施例 8	8.3

【 0 4 4 5 】

10

(試験例 4)

以下のように新規脂質を用いて調製した核酸脂質粒子によるヒトβ - カテニン遺伝子発現抑制活性の強さを比較した。

【 0 4 4 6 】

(1) トランスフェクション

ヒト子宮頸部癌 H e l l a 細胞株 (ヒト子宮頸部癌由来) を、10 % F e t a l b o v i n e s e r u m を含む D M E M 培地 (I n v i t r o g e n 社製) (培養培地) 中に 50000 c e l l s / m L の濃度に調製した。そして、96 穴平底プレート (F a l c o n 社製) に 100 μ L ずつ播種し、37 °C、5.0 % 炭酸ガス下で 1 日間培養した。実施例 31 で調製した核酸脂質粒子を含む分散液を培地中の最終的な 2 本鎖ポリヌクレオチド濃度が、30、3、0.3、及び 0.03 nM となるように培養培地にて希釈列を作製後、培養上清を除去した細胞に添加し、さらに 4 時間培養を継続した。各濃度に対して N = 3 で行った。

20

【 0 4 4 7 】

(2) リアルタイム P C R

トランスフェクションした細胞からリアルタイム P C R 測定用のライセートおよび c D N A は、T a q M a n (登録商標) F a s t - C e l l s - t o - C t k i t (A m b i o n 社) を用いて、説明書の記載に従って調製した。ライセート調製時は、D N a s e I を添加した L y s i s S o l u t i o n を用いた。リアルタイム P C R 用のプローブは、ヒトβ - カテニン遺伝子用は T a q M a n (登録商標) G e n e E x p r e s s i o n A s s a y s (C T N N B 1、F A M p r o b e) (H s 0 0 3 5 5 0 4 5 _ m 1、A p p l i e d B i o s y s t e m s 社製)、内部標準としてヒト - G A P D H 遺伝子プローブを用いた (V I C p r o b e、H s 9 9 9 9 9 9 0 5 _ m 1、A p p l i e d B i o s y s t e m s 社製)。384 穴 P C R プレート (A p p l i e d B i o s y s t e m s 社製) 1 ウェルあたり、T a q M a n (登録商標) F a s t A d v a n c e d M a s t e r M i x を 5 μ L、R N a s e - F r e e W a t e r を 2 μ L、各遺伝子プローブを 0.5 μ L、調製した c D N A 溶液を 2 μ L 添加して総量を 10 μ L とし、V i i A TM 7 R e a l - t i m e P C R s y s t e m (A p p l i e d B i o s y s t e m 社製) にセットし、以下の条件で P C R を実施した。リアルタイム P C R は、ライセートから調製した c D N A に対して N = 4 で実施した。

30

P C R 初期活性化 95 °C、20 秒

P C R 95 °C、1 秒

62 °C、20 秒

この P C R サイクルは 40 回繰り返した。

40

【 0 4 4 8 】

(3) リアルタイム P C R 解析

定量解析は Δ Δ C t 法で行った。各トランスフェクタントのヒトβ - カテニンとヒト G A P D H の C t 値の差 (Δ C t) から未処理細胞 (= N C) の Δ C t を差し引いた値 (Δ Δ C t) を求め、N C に対する相対値 (R Q) は以下の式で算出した。

【 0 4 4 9 】

50

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

RQ = 1を阻害率0%、RQ = 0を理論上の阻害率100%として、核酸脂質粒子のIC₅₀値を、GraphPad PRISM (GraphPad Software Inc.)を用いて算出した。その結果、表8に示すように、実施例8の化合物を含む核酸脂質粒子は、対照となる脂質であるCompound 1を含む核酸脂質粒子と比較して、強いβ-カテニン遺伝子発現の抑制活性を示した。よって、実施例8の化合物は、強い活性を示す核酸脂質粒子を調製するための有益な新規脂質であることが明らかとなった。

【0450】

(表8)

β-カテニン遺伝子発現 抑制活性 IC ₅₀ (nM)	
Compound 1	20
実施例 8	2.2

【0451】

(試験例5) Hep3B細胞(ヒト肝臓癌細胞)における実施例化合物の細胞増殖阻害活性の測定

培地としてMEM (Invitrogen社製)(10%ウシ胎仔血清(Hyclone社製)、1mM Sodium Pyruvate (Invitrogen社製)及び1xNon-essential amino acids (Invitrogen社製)を含有)を用いて、一定の密度でヒト肝臓癌細胞株Hep3B細胞を96ウェルプレートに配置(150μL/ウェル)し、次に37℃、5%CO₂で24時間培養する。最終濃度が0.01、0.03、0.1、0.3、1および3μMとなるように実施例31で調製した核酸脂質粒子を含む分散液を各ウェルに追加し、次に72時間(3日間)培養する。72時間(3日間)培養した後、MTTアッセイを用いて、実施例化合物の細胞増殖阻害活性を測定する。つまり、20μLのMTT溶液(リン酸緩衝生理食塩水(PBS)により5mg/mL)を各ウェルに追加し、37℃、5%CO₂で4時間培養する。培養上清を取り除いた後、DMSO(150μL)を各ウェルに追加し、5分間振動する。プレートの吸光度(540nm)を、プレートリーダー(SpectraMax Plus³⁸⁴、Molecular Devices Corporation製)によって測定する。化合物投与群の生存細胞数と未処理細胞群の生存細胞数の相対比率を決定し、その後細胞の増殖を50%阻害するIC₅₀濃度の計算を行う。

【0452】

(試験例6)実施例化合物のin vivo抗腫瘍試験

1週間の馴化飼育した後、1×10⁷個の培養したヒトHep3B細胞をヌードマウスの側腹部皮下に移植する。腫瘍移植約2週間後に、腫瘍体積を指標に群分けし、実施例31で調製した核酸脂質粒子を含む分散液(1又は3mg/kg等になるように投与)を週2回乃至3回マウス尾静脈内投与する。対照群にはPBSを投与する。腫瘍径の測定を行い、腫瘍体積の推移を観察する。

【0453】

in vivoノックダウン作用を検証する場合には、投与の翌日、担癌マウスから腫瘍塊を採材し、QIAzol Lysis Reagent (QIAGEN社製)及びクロロホルムを用いて核酸を抽出した後、RNeasy mini kit (QIAGEN社製)に添付されたプロトコールに従って全RNAを精製する。これを用いて標的分子のmRNAをTaqman PCRにより定量する。

【0454】

(実施例33) 2本鎖ポリヌクレオチドを封入した核酸脂質粒子の調製

ジステアロイルホスファチジルコリン(1,2-Distearoyl-sn-gly

10

20

30

40

50

c e r o - 3 - p h o s p h o c h o l i n e : 以下 D S P C と表記, N O F C O R P O R A T I O N)、コレステロール (C h o l e s t e r o l : 以下 C h o l と表記, S i g m a - A l d r i c h , I n c .)、実施例 8 に記載の化合物 (L P とする)、及び N - [メトキシ ポリ (エチレングリコール) 2 0 0 0] カルバモイル] - 1, 2 - ジミリスチルオキシプロピル - 3 - アミン (以下 P E G - C - D M A と表記) を、表 9 に記載のモル比にてエタノール中、総脂質濃度 2 6 . 8 m M になるように脂質溶液を調製した。

【 0 4 5 5 】

N a t u r e B i o t e c h n o l o g y (2 0 0 8) 2 6、5 6 1 - 5 6 9 に記載された 2 本鎖ポリヌクレオチド (s i F V I I : マウス F a c t o r V I I に対する s i R N A) を、3 0 % エタノールを含むクエン酸緩衝液 (1 0 m M C i t r a t e B u f f e r , p H 4 . 0) を用いて 1 m g / m L に調製して、2 本鎖ポリヌクレオチド溶液を得た。

【 0 4 5 6 】

上記の脂質溶液、2 本鎖ポリヌクレオチド溶液、及びクエン酸緩衝液 (2 0 m M C i t r a t e B u f f e r , p H 4 . 0) を 3 7 に加温した。脂質溶液とクエン酸緩衝液 (2 0 m M C i t r a t e B u f f e r , p H 4 . 0) の体積比が 3 : 7 となるように、クエン酸緩衝液に脂質溶液を滴下混合することで、リボソーム粗分散液を得た。続いて、L P 由来の窒素原子 (N) と 2 本鎖ポリヌクレオチド由来のリン原子 (P) の比率 (N / P) が 3 となるように、上記リボソーム粗分散液を 2 本鎖ポリヌクレオチド溶液に滴下混合し、3 7 にて 3 0 分間インキュベーションすることにより、核酸脂質粒子の分散液を得た。核酸脂質粒子の分散液を約 1 0 0 m L のリン酸緩衝液 (p H 7 . 4) にて 1 2 - 1 8 時間透析 (F l o a t - A - L y z e r G 2 , M W C O : 1 0 0 k D , S p e c t r a / P o r) することにより、エタノール除去及び中和による未封入の 2 本鎖ポリヌクレオチドの除去を行い、2 本鎖ポリヌクレオチド、表 9 に記載の脂質から成る核酸脂質粒子の精製された分散液を得た。

【 0 4 5 7 】

(表 9)

	D S P C	C h o l	L P	P E G - C - D M A
粒子 1	1 0	6 8	2 0	2
粒子 2	1 0	5 8	3 0	2
粒子 3	1 0	4 8	4 0	2
粒子 4	1 0	4 3	4 5	2
粒子 5	1 0	3 8	5 0	2
粒子 6	1 0	3 3	5 5	2
粒子 7	1 0	2 8	6 0	2
粒子 8	1 0	1 8	7 0	2
粒子 9	5 5	3 3	1 0	2
粒子 1 0	4 5	3 3	2 0	2
粒子 1 1	3 5	3 3	3 0	2
粒子 1 2	2 5	3 3	4 0	2
粒子 1 3	2 0	3 3	4 5	2
粒子 1 4	1 5	3 3	5 0	2
粒子 1 5	1 0	3 3	5 5	2
粒子 1 6	5	3 3	6 0	2
粒子 1 7	0	3 3	6 5	2
粒子 1 8	1 0	4 9 . 5	4 0	0 . 5
粒子 1 9	1 0	4 9	4 0	1
粒子 2 0	1 0	4 8 . 5	4 0	1 . 5

粒子 2 1	1 0	4 8	4 0	2
粒子 2 2	1 0	4 7 . 5	4 0	2 . 5
粒子 2 3	1 0	4 7	4 0	3
粒子 2 4	1 0	4 6 . 5	4 0	3 . 5
粒子 2 5	1 0	4 6	4 0	4
粒子 2 6	1 0	4 5	4 0	5
粒子 2 7	1 0	4 0	4 0	1 0

【 0 4 5 8 】

(実施例 3 4) 2 本鎖ポリヌクレオチド封入核酸脂質粒子の特性評価

10

実施例 3 3 で調製した核酸脂質粒子の分散液の特性評価を行った。実施例 3 2 に記載の方法にて特性評価を行い、実施例 3 3 に記載の核酸脂質粒子のポリヌクレオチド封入率、ポリヌクレオチドと脂質の重量比、及び平均粒子径を表 1 0、表 1 1、及び表 1 2 に示した。

【 0 4 5 9 】

(表 1 0)

	脂質組成 *	封入率 (%)	siRNA/lipid (wt/wt) **	粒子径 (nm)
粒子1	10/68/20/2	96	0.044	133 ± 23
粒子2	10/58/30/2	98	0.061	153 ± 46
粒子3	10/48/40/2	98	0.083	127 ± 20
粒子4	10/43/45/2	98	0.084	143 ± 41
粒子5	10/38/50/2	98	0.094	133 ± 27
粒子6	10/33/55/2	94	0.115	137 ± 10
粒子7	10/28/60/2	81	0.117	184 ± 39
粒子8	10/18/70/2	50	0.127	162 ± 31

20

* 脂質組成 : D S P C / C h o l / L P / P E G - C - D M A (モル比)

30

** s i R N A / l i p i d (w t / w t) : ポリヌクレオチドと脂質の重量比。

【 0 4 6 0 】

(表 1 1)

	脂質組成 *	封入率 (%)	siRNA/lipid (wt/wt) **	粒子径 (nm)
粒子9	55/33/10/2	93	0.014	193 ± 42
粒子10	45/33/20/2	93	0.022	206 ± 77
粒子11	35/33/30/2	90	0.055	203 ± 73
粒子12	25/33/40/2	93	0.084	177 ± 59
粒子13	20/33/45/2	92	0.093	109 ± 22
粒子14	15/33/50/2	92	0.073	111 ± 20
粒子15	10/33/55/2	95	0.111	119 ± 13
粒子16	5/33/60/2	95	0.136	135 ± 15
粒子17	0/33/65/2	91	0.160	124 ± 25

40

* 脂質組成 : D S P C / C h o l / L P / P E G - C - D M A (モル比)

** s i R N A / l i p i d (w t / w t) : ポリヌクレオチドと脂質の重量比。

【 0 4 6 1 】

50

(表 12)

	脂質組成 *	封入率 (%)	siRNA/lipid (wt/wt) **	粒子径 (nm)
粒子18	10/49.5/40/0.5	97	0.096	349 ± 222
粒子19	10/49/40/1	96	0.091	206 ± 54
粒子20	10/48.5/40/1.5	97	0.098	140 ± 54
粒子21	10/48/40/2	98	0.091	109 ± 36
粒子22	10/47.5/40/2.5	99	0.090	140 ± 19
粒子23	10/47/40/3	98	0.089	152 ± 27
粒子24	10/46.5/40/3.5	98	0.084	131 ± 52
粒子25	10/46/40/4	98	0.086	156 ± 66
粒子26	10/45/40/5	94	0.083	79 ± 27
粒子27	10/40/40/10	91	0.055	83 ± 47

* 脂質組成：D S P C / C h o l / L P / P E G - C - D M A (モル比)

** s i R N A / l i p i d (w t / w t) : ポリヌクレオチドと脂質の重量比。

【0462】

以上の結果より、2本鎖ポリヌクレオチドが脂質粒子内に封入されており、それらの核酸脂質粒子は、約80nmから約300nmの平均粒子径を有していることが明らかとなった。

【0463】

(試験例7) Factor VII (FVII) タンパク測定

Factor VII タンパク測定は、Nature Biotechnology (2010) 28, 172-176に記載された方法に従った。C57BL6/Jマウス(雄・9週齢)をランダムに群分け(n=4)した。実施例33で調製した核酸脂質粒子の分散液を0.3mg/kgになるように尾静脈注射した。投与1日後に尾静脈より約50μLの採血を行い、血漿を得た。得られた血漿を用いて、Biophen FVII assay kit (Aniara製)を使用し、添付されたプロトールに従ってFactor VII タンパク量を測定した。

【0464】

PBS投与群の各個体の血漿サンプルを等量ずつ集めたもののFVII量を100%として、各個体の血漿サンプルのFVII量の相対比率(%)を測定値(A)とした。PBS投与群の各個体の測定値からそれらの平均値(B)を求めた。各個体の測定値(A)の相対比率を式 $A/B \times 100(\%)$ から求め、各核酸脂質粒子投与群の相対比率の平均値を表13、表14、及び、表15に示した。その結果、表13、表14、及び、表15に示すように、実施例33で調製した粒子1乃至8、粒子12乃至17、粒子20乃至24、粒子26、及び粒子27である核酸脂質粒子は、強いFVII抑制活性を示した。よって、粒子1乃至8、粒子12乃至17、粒子20乃至24、粒子26、及び粒子27のような脂質組成を有する核酸脂質粒子は、遺伝子発現を抑制しうる核酸脂質粒子として有益であることが明らかとなった。

【0465】

(表13)

	相対的 FVII量 (%)
PBS	100
粒子1	36
粒子2	<10

10

20

30

40

50

粒子3	<10
粒子4	20
粒子5	<10
粒子6	<10
粒子7	<10
粒子8	<10

-----。

【 0 4 6 6 】

(表 1 4)

相対的 FVII 量 (%)

P B S	100
粒子10	活性なし
粒子11	活性なし
粒子12	79
粒子13	22
粒子14	<10
粒子15	26
粒子16	<10
粒子17	<10

-----。

【 0 4 6 7 】

(表 1 5)

相対的 FVII 量 (%)

P B S	100
粒子18	活性なし
粒子19	活性なし
粒子20	<10
粒子21	<10
粒子22	<10
粒子23	<10
粒子24	27
粒子26	28
粒子27	49

-----。

【 0 4 6 8 】

(参考例 4 6)

炭酸 3 - プロモプロピル (9 Z , 1 2 Z) - オクタコサ - 1 9 , 2 2 - ジエン - 1 1 - イ
ル

参考例 1 7 で得られた (1 9 Z , 2 2 Z) - オクタコサ - 1 9 , 2 2 - ジエン - 1 1 -
オール (0 . 5 5 g , 1 . 4 m m o l) およびピリジン (0 . 6 7 g , 8 . 5 m m o l)
のトルエン (1 4 m L) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0 . 2 8 g ,
0 . 9 3 m m o l) のトルエン (2 . 0 m L) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 1 5
分間攪拌した後、室温に昇温し 1 時間攪拌し、再度 0 に冷却した。3 - プロモ - 1 - プ
ロパノール (2 . 0 g , 1 4 m m o l) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナ
トリウム水溶液処理後、酢酸エチル - ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水
硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマ

10

20

30

40

50

トグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.32 g, 41%)。
 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6 H, m), 1.21 - 1.40 (32 H, m), 1.52 - 1.61 (4 H, m), 2.01 - 2.09 (4 H, m), 2.23 (2 H, quint, $J = 6.3 \text{ Hz}$), 2.77 (2 H, t, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 3.49 (2 H, t, $J = 6.3 \text{ Hz}$), 4.27 (2 H, t, $J = 6.3 \text{ Hz}$), 4.66 - 4.73 (1 H, m), 5.29 - 5.44 (4 H, m)。

【0469】

(実施例35)

炭酸3-(アゼチジン-1-イル)プロピル(9Z, 12Z)-オクタコサ-19, 22-ジエン-11-イル(例示化合物1-76)

参考例46で得られた炭酸3-ブモプロピル(9Z, 12Z)-オクタコサ-19, 22-ジエン-11-イル(0.16 g, 0.28 mmol)のテトラヒドロフラン(8.0 mL)溶液に、アゼチジン(0.40 g, 7.0 mmol)を加え、マイクロウェーブ照射下、120 で50分間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、酢酸エチル-ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(119 mg, 77%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.92 (6 H, m), 1.21 - 1.40 (32 H, m), 1.47 - 1.61 (4 H, m), 1.71 (2 H, tt, $J = 6.6, 7.4 \text{ Hz}$), 2.01 - 2.10 (m, 6 H), 2.46 (2 H, t, $J = 7.4 \text{ Hz}$), 2.77 (2 H, t, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 3.16 (4 H, t, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 4.15 (2 H, t, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 4.64 - 4.71 (1 H, m), 5.28 - 5.42 (4 H, m)。

MS (ESI+) m/z 548 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 548.5044 (0.1 mDa)。

【0470】

(実施例36)

炭酸(1-メチルピペリジン-3-イル)メチル(6Z, 9Z, 26Z, 29Z)-ペントタトリアコンタ-6, 9, 26, 29-テトラエン-18-イル(例示化合物2-102)

参考例4で得られた(6Z, 9Z, 26Z, 29Z)-ペントタトリアコンタ-6, 9, 26, 29-テトラエン-18-オール(0.22 g, 0.44 mmol)およびピリジン(0.22 g, 2.8 mmol)のトルエン(4.4 mL)溶液を、氷浴にて0 に冷却し、トリホスゲン(0.090 g, 0.30 mmol)のトルエン(0.66 mL)溶液を2分間かけて添加した。0 で15分間撹拌した後、室温に昇温し1時間撹拌し、再度0 に冷却した。(1-メチル-3-ピペリジル)メタノール(0.60 g, 4.6 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、酢酸エチル-ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(201 mg, 70%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (6 H, m), 0.92 - 1.04 (1 H, m), 1.21 - 1.40 (36 H, m), 1.48 - 1.78 (8 H, m), 1.85 - 1.94 (1 H, m), 1.96 - 2.10 (9 H, m), 2.26 (3 H, s), 2.77 (4 H, t, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 2.72 - 2.90 (2 H, m), 3.94 (1 H, dd, $J = 7.4, 10.6 \text{ Hz}$), 4.05 (1 H, dd, $J = 5.5, 10.6 \text{ Hz}$), 4.64 - 4.72 (1 H, m), 5.28 - 5.42 (8 H, m)。

MS (ESI+) m/z 656 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 656.5981 (-0.1 mDa)。

【0471】

10

20

30

40

50

(実施例 37)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (19Z, 22R) - 22 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ)オクタコサ - 19 - エン - 11 - イル (例示化合物 1 - 334)

実施例 27 で得られた炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (19Z, 22R) - 22 - ヒドロキシオクタコサ - 19 - エン - 11 - イル (0.21 g, 0.38 mmol) および p - トルエンスルホン酸一水和物 (0.079 g, 0.42 mmol) のジクロロメタン (3.8 mL) 溶液に、3, 4 - ジヒドロ - 2H - ピラン (0.16 g, 1.9 mmol) を加え、室温で 3 時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (210 mg, 87%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6H, m), 1.22 - 1.85 (48H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.7, 7.4$ Hz), 1.98 - 2.06 (2H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.44 - 3.52 (1H, m), 3.57 - 3.72 (1H, m), 3.87 - 3.97 (1H, m), 4.18 (2H, t, $J = 6.7$ Hz), 4.64 - 4.75 (2H, m), 5.32 - 5.50 (2H, m)。

MS (ESI+) m/z 638 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 638.5723 (1.6 mDa)。

【0472】

(参考例 47)

(19Z, 22R) - 22 - ヒドロキシオクタコサ - 19 - エン - 11 - オン

参考例 38 で得られた (19Z, 22R) - 22 - { [tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } オクタコサ - 19 - エン - 11 - オン (2.0 g, 3.7 mmol) に 1 M フッ化テトラ - n - ブチルアンモニウム テトラヒドロフラン溶液を加え、室温で 5 時間反応させた。水処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層をシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を含む液体を得た (0.66 g)。生成物はこれ以上の精製を行わず、そのまま次反応に用いた。

【0473】

(参考例 48)

酢酸 (7R, 9Z) - 18 - ヒドロキシオクタコサ - 9 - エン - 7 - イル

参考例 47 で得られた (19Z, 22R) - 22 - ヒドロキシオクタコサ - 19 - エン - 11 - オンを含む混合物 (0.33 g) およびピリジン (1.1 g, 14 mmol) のジクロロメタン (7.1 mL) 溶液に、塩化アセチル (0.56 g, 7.1 mmol) を 1 分間かけて滴下添加し、室温で 1 時間反応させた。水処理後抽出を行い、揮発分を減圧下除去することにより液体混合物を得た。この混合物を、テトラヒドロフラン (2.1 mL) およびメタノール (2.1 mL) に溶解させ、水素化ホウ素ナトリウム (0.054 g, 1.4 mmol) を加え、室温で 1 時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層をシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を含む液体を得た (0.33 g)。生成物はこれ以上の精製を行わず、そのまま次反応に用いた。

【0474】

(実施例 38)

酢酸 (7R, 9Z) - 18 - ({ [(1 - メチルピペリジン - 3 - イル) メトキシ] カルボニル } オキシ) オクタコサ - 9 - エン - 7 - イル (例示化合物 2 - 132)

参考例 48 で得られた酢酸 (7R, 9Z) - 18 - ヒドロキシオクタコサ - 9 - エン - 7 - イルを含む混合物 (0.33 g) およびピリジン (0.35 g, 4.5 mmol) のトルエン (7.1 mL) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.14 g, 0.49 mmol) のトルエン (1.1 mL) 溶液を 1 分間かけて添加した。0 で 10 分

10

20

30

40

50

間攪拌した後、室温に昇温し30分間攪拌し、再度0 に冷却した。(1-メチル-3-ピペリジル)メタノール(0.96g, 7.4mmol)を添加し、室温で90分間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(110mg)

。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.86 - 0.91 (6H, m), 0.93 - 1.05 (1H, m), 1.17 - 1.38 (36H, m), 1.48 - 1.78 (8H, m), 1.85 - 1.94 (1H, m), 1.96 - 2.07 (6H, m), 2.24 - 2.34 (5H, m), 2.74 (1H, d, $J = 10.5\text{Hz}$), 2.86 (1H, d, $J = 10.5\text{Hz}$), 3.95 (1H, ddd, $J = 2.7, 7.4, 10.2\text{Hz}$), 4.06 (1H, ddd, $J = 2.7, 5.9, 10.2\text{Hz}$), 4.64 - 4.71 (1H, m), 4.87 (1H, quint, $J = 6.3\text{Hz}$), 5.27 - 5.37 (1H, m), 5.43 - 5.51 (1H, m)。

$\text{MS}(\text{ESI}^+)$ m/z 622 $[\text{M} + \text{H}]^+$

$\text{HRMS}(\text{ESI}^+)$ m/z 622.5438 (2.8mDa)。

【0475】

(参考例49)

カブロン酸(7R, 9Z) - 18 - ヒドロキシオクタコサ - 9 - エン - 7 - イル

参考例47で得られた(19Z, 22R) - 22 - ヒドロキシオクタコサ - 19 - エン - 11 - オンを含む混合物(0.30g)およびピリジン(1.1g, 14mmol)のジクロロメタン(7.1mL)溶液に、無水カブロン酸(0.76g, 3.5mmol)を1分間かけて滴下添加し、4 - (ジメチルアミノ)ピリジン(0.01g)を加え、室温で90分間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後抽出を行い、揮発分を減圧下除去することにより液体混合物を得た。この混合物を、テトラヒドロフラン(2.1mL)およびメタノール(2.1mL)に溶解させ、水素化ホウ素ナトリウム(0.054g, 1.4mmol)を加え、室温で4時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層をシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を含む液体を得た(0.17g)。生成物はこれ以上の精製を行わず、そのまま次反応に用いた。

【0476】

(実施例39)

カブロン酸(7R, 9Z) - 18 - ({[3 - (ジメチルアミノ)プロピルオキシ]カルボニル} オキシ) オクタコサ - 9 - エン - 7 - イル (例示化合物1-255)

参考例49で得られたカブロン酸(7R, 9Z) - 18 - ヒドロキシオクタコサ - 9 - エン - 7 - イルを含む混合物(0.17g)およびピリジン(0.16g, 2.0mmol)のトルエン(3.3mL)溶液を、氷浴にて0 に冷却し、トリホスゲン(0.067g, 0.22mmol)のトルエン(0.49mL)溶液を1分間かけて添加した。0 で15分間攪拌した後、室温に昇温し45分間攪拌し、再度0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール(0.35g, 3.4mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(150mg)。

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.84 - 0.92 (9H, m), 1.20 - 1.38 (40H, m), 1.48 - 1.66 (8H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.6, 7.4\text{Hz}$), 1.97 - 2.04 (2H, m), 2.22 (6H, s), 2.27 (2H, t, $J = 7.4\text{Hz}$), 2.36 (2H, t, $J = 7.4\text{Hz}$), 4.18 (2H, t, $J = 6.6\text{Hz}$), 4.64 - 4.72 (1H, m), 4.88 (1H, quint, $J = 6.3\text{Hz}$), 5.27 - 5.37 (1H, m), 5.42 -

5 . 5 1 (1 H , m) .

MS (ESI+) m/z 652 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 652.5892 (1.2 mDa)。

【0477】

(実施例40)

炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(19Z, 22R)-22-(テトラヒドロフラン-2-イルオキシ)オクタコサ-19-エン-11-イル(例示化合物1-377)

実施例27で得られた炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(19Z, 22R)-22-ヒドロキシオクタコサ-19-エン-11-イル(0.055g, 0.099mmol)およびp-トルエンスルホン酸水和物(0.026g, 0.14mmol)のジクロロメタン(1.3mL)溶液に、2,3-ジヒドロフラン(0.044g, 0.63mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(33mg, 53%)。

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 0.82-0.88(6H, m), 1.20-1.62(48H, m), 1.74-2.05(8H, m), 2.21(6H, s), 2.33(2H, t, J=7.4Hz), 3.51-4.05(3H, m), 4.15(2H, t, J=6.7Hz), 4.62-4.70(1H, m), 5.28-5.46(3H, m)。

MS (ESI+) m/z 624 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 624.5574 (0.7 mDa)。

【0478】

(実施例41)

二プロピオン酸(7R, 9Z, 26Z, 29R)-18-({[3-(ジメチルアミノ)プロボキシ]カルボニル}オキシ)ペンタトリアコンタ-9, 26-ジエン-7, 29-ジイル

実施例22で得られた炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(7R, 9Z, 26Z, 29R)-7, 29-ジヒドロキシペンタトリアコンタ-9, 26-ジエン-18-イル(0.35g, 0.53mmol)およびピリジン(0.83g, 10.5mmol)のジクロロメタン(5.3mL)溶液に、プロピオン酸クロリド(0.49g, 5.3mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(260mg, 64%)。

¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ: 0.84-0.91(6H, m), 1.13(6H, t, J=7.4Hz), 1.22-1.39(36H, m), 1.48-1.61(8H, m), 1.84(2H, tt, J=6.6, 7.4Hz), 2.01(4H, dd, J=6.6, 7.0Hz), 2.22(6H, s), 2.30(4H, q, J=7.4Hz), 2.28-2.33(4H, m), 2.36(2H, t, J=7.4Hz), 4.18(2H, t, J=6.6Hz), 4.64-4.72(1H, m), 4.88(2H, tt, J=5.9, 6.6Hz), 5.33(2H, ttd, J=1.2, 7.0, 10.9Hz), 5.46(2H, ttd, J=1.2, 7.0, 10.9Hz)。

MS (ESI+) m/z 778 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 778.6555 (-0.6 mDa)。

【0479】

(参考例50)

(9Z, 12R)-オクタデカ-9-エン-1, 12-ジオール

水素化リチウムアルミニウム(3.87g, 102mmol)のテトラヒドロフラン(

235 mL) 溶液に、(9Z, 12R) - 12 - ヒドロキシオクタデカ - 9 - エン酸メチル (31.1 g, 78.4 mmol, 文献既知化合物 (J. Org. Chem., 2001, 66, 22, 7487 - 7495)) を50分間かけて滴下添加し、室温で1.5時間反応させた。水 (4 mL) で処理後、酢酸エチルを加え、固体成分をろ過することにより除去した。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (17.9 g, 62%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, $J = 6.6$ Hz), 1.21 - 1.87 (22H, m), 1.98 - 2.07 (2H, m), 2.20 - 2.40 (2H, m), 3.44 - 3.52 (1H, m), 3.58 - 3.71 (3H, m), 3.87 - 3.97 (1H, m), 4.64 - 4.74 (1H, m), 5.33 - 5.49 (2H, m)。

【0480】

(参考例51)

メタンスルホン酸 (9Z, 12R) - 12 - ヒドロキシオクタデカ - 9 - エン - 1 - イル
参考例50で得られた (9Z, 12R) - オクタデカ - 9 - エン - 1, 12 - ジオール (17.9 g, 48.6 mmol) およびトリエチルアミン (5.90 g, 58.3 mmol) のジクロロメタン (122 mL) 溶液を0 に冷却し、塩化メタンスルホン (6.68 g, 58.3 mmol) を5分間かけて滴下添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去することにより、目的物を含む黄色液体を得た。

【0481】

(参考例52)

(7R, 9Z) - 18 - ブロモオクタデカ - 9 - エン - 7 - オール

参考例51で得られたメタンスルホン酸 (9Z, 12R) - 12 - ヒドロキシオクタデカ - 9 - エン - 1 - イルを含む溶液 (21.6 g, 48.4 mmol, 理論量) のジエチルエーテル (145 mL) 溶液に、臭化マグネシウム - ジエチルエーテル錯体 (31.2 g, 121 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。氷水で処理後、ジエチルエーテルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、エタノール (100 mL) に溶解させ、2規定塩酸水溶液 (80 mL) を加え、室温で終夜撹拌した。揮発分を減圧下で留去し、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (14.1 g, 84%)。

【0482】

(参考例53)

2 - { [(7R, 9Z) - 18 - ブロモオクタデカ - 9 - エン - 7 - イル] オキシ } テトラヒドロ - 2H - ピラン

参考例52で得られた (7R, 9Z) - 18 - ブロモオクタデカ - 9 - エン - 7 - オール (14.1 g, 40.6 mmol) および p - トルエンスルホン酸水和物 (0.154 g, 0.81 mmol) のジクロロメタン (81.2 mL) 溶液に、3, 4 - ジヒドロ - 2H - ピラン (6.83 g, 81.2 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (15.1, 86%)。

【0483】

(参考例54)

(7R, 9Z, 28Z, 31R) - 7, 31 - ビス (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) ヘプタトリアコンタ - 9, 28 - ジエン - 19 - オール

乾燥させたマグネシウム (削り状, 0.42 g, 17.4 mmol) をテトラヒドロフ

10

20

30

40

50

ラン (3 . 0 m L) に浸し、 1 , 2 - ジブロモエタン (3 滴) を加え、激しく攪拌した。溶液が黒灰色に変化した後、参考例 5 3 で得られた 2 - { [(7 R , 9 Z) - 1 8 - ブロモオクタデカ - 9 - エン - 7 - イル] オキシ } テトラヒドロ - 2 H - ピラン (5 . 0 0 g , 1 1 . 6 m m o l) のテトラヒドロフラン (8 . 5 m L) 溶液を 1 時間かけて添加し、室温で 3 時間攪拌した。この溶液に蟻酸エチル (0 . 4 7 g , 5 . 7 9 m m o l) を添加し、室温で終夜反応させた。水処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、エタノール (2 5 m L) に溶解させ、5 規定水酸化ナトリウム水溶液 (5 m L) を加え、室温で 1 時間攪拌した。水により希釈した後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (2 . 1 0 g , 5 0 %)。

10

$^1\text{H-NMR}$ (4 0 0 M H z , C D C l ₃) δ : 0 . 8 5 - 0 . 9 1 (6 H , m) , 1 . 2 3 - 1 . 6 2 (5 2 H , m) , 1 . 6 6 - 1 . 8 9 (4 H , m) , 1 . 9 8 - 2 . 0 7 (4 H , m) , 2 . 2 0 - 2 . 4 1 (4 H , m) , 3 . 4 5 - 3 . 5 2 (2 H , m) , 3 . 5 4 - 3 . 7 1 (3 H , m) , 3 . 8 7 - 3 . 9 8 (2 H , m) , 4 . 6 4 - 4 . 7 5 (2 H , m) , 5 . 3 3 - 5 . 5 0 (4 H , m) 。

【 0 4 8 4 】

(参考例 5 5)

(7 R , 9 Z , 2 8 Z , 3 1 R) - 7 , 3 1 - ビス (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) ヘプタトリアコンタ - 9 , 2 8 - ジエン - 1 9 - イル 3 - (ジメチルアミノ) プロピル

20

参考例 5 4 で得られた (7 R , 9 Z , 2 8 Z , 3 1 R) - 7 , 3 1 - ビス (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) ヘプタトリアコンタ - 9 , 2 8 - ジエン - 1 9 - オール (1 . 0 0 g , 1 . 3 6 m m o l) およびピリジン (0 . 6 8 g , 8 . 6 m m o l) のトルエン (1 3 . 6 m L) 溶液を、氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0 . 2 7 9 g , 0 . 9 4 m m o l) のトルエン (2 . 0 5 m L) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 1 5 分間攪拌した後、室温に昇温し 1 . 5 時間攪拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (1 . 4 8 g , 1 4 . 3 m m o l) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (1 . 0 0 g , 8 5 %) 。

30

$^1\text{H-NMR}$ (4 0 0 M H z , C D C l ₃) δ : 0 . 8 5 - 0 . 9 1 (6 H , m) , 1 . 2 2 - 1 . 8 5 (5 6 H , m) , 1 . 7 9 - 1 . 8 8 (2 H , m) , 1 . 9 8 - 2 . 0 6 (4 H , m) , 2 . 2 0 - 2 . 3 8 (1 2 H , m) , 3 . 4 4 - 3 . 5 2 (2 H , m) , 3 . 5 8 - 3 . 7 1 (2 H , m) , 3 . 8 7 - 3 . 9 7 (2 H , m) , 4 . 1 8 (2 H , t , J = 6 . 7 H z) , 4 . 6 4 - 4 . 7 4 (3 H , m) , 5 . 3 2 - 5 . 4 9 (4 H , m) 。

【 0 4 8 5 】

(参考例 5 6)

40

炭酸 (7 R , 9 Z , 2 8 Z , 3 1 R) - 7 , 3 1 - ジヒドロキシヘプタトリアコンタ - 9 , 2 8 - ジエン - 1 9 - イル 3 - (ジメチルアミノ) プロピル

参考例 5 5 で得られた (7 R , 9 Z , 2 8 Z , 3 1 R) - 7 , 3 1 - ビス (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) ヘプタトリアコンタ - 9 , 2 8 - ジエン - 1 9 - イル 3 - (ジメチルアミノ) プロピル (1 . 0 0 g , 1 . 1 6 m m o l) のエタノール (1 1 . 6 m L) 溶液に、2 規定塩酸水溶液 (5 . 7 9 m L , 1 1 . 6 m m o l) を添加し、室温で 2 . 5 時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0 . 6 8 g , 8 4 %) 。

50

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6 H, m), 1.22 - 1.61 (48 H, m), 1.84 (2 H, tt, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 2.01 - 2.08 (4 H, m), 2.18 - 2.24 (10 H, m), 2.34 (2 H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.61 (2 H, quint, $J = 5.9$ Hz), 4.18 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.64 - 4.72 (1 H, m), 5.36 - 5.44 (2 H, m), 5.52 - 5.61 (2 H, m)。

【0486】

(実施例42)

二酢酸(7R, 9Z, 28Z, 31R) - 19 - ({[3 - (ジメチルアミノ)プロポキシ]カルボニル}オキシ)ヘプタトリアコンタ - 9, 28 - ジエン - 7, 31 - ジイル

10

参考例56で得られた炭酸(7R, 9Z, 28Z, 31R) - 7, 31 - ジヒドロキシヘプタトリアコンタ - 9, 28 - ジエン - 19 - イル 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (0.68 g, 0.98 mmol) およびピリジン (2.3 g, 29 mmol) のジクロロメタン (9.8 mL) 溶液に、酢酸クロリド (1.2 g, 15 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (523 mg, 69%)。

^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6 H, m), 1.20 - 1.38 (40 H, m), 1.48 - 1.61 (8 H, m), 1.85 (2 H, tt, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 1.98 - 2.08 (10 H, m), 2.22 (6 H, s), 2.29 (4 H, dt, $J = 6.3, 6.6$ Hz), 2.36 (2 H, t, $J = 7.4$ Hz), 4.18 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.64 - 4.72 (1 H, m), 4.87 (2 H, quint, $J = 6.3$ Hz), 5.36 (1 H, ttd, $J = 1.2, 6.6, 10.9$ Hz), 5.47 (1 H, ttd, $J = 1.2, 6.6, 10.9$ Hz)。

20

MS (ESI+) m/z 778 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 778.6557 (-0.4 mDa)。

【0487】

(参考例57)

(21Z, 24R) - 24 - {[tert - ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}トリアコンタ - 21 - エン - 13 - オン

30

参考例32で得られた(9Z, 12R) - 12 - {[tert - ブチル(ジメチル)シリル]オキシ} - N - メトキシ - N - メチルオクタデカ - 9 - エンアミド (0.80 g, 1.8 mmol) のジエチルエーテル (8.8 mL) 溶液に、1規定臭化n - ドデシルマグネシウム ジエチルエーテル溶液 (2.6 mL, 2.6 mmol) を1分間かけて滴下添加した後、室温にて終夜反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.55 g, 55%)。

40

【0488】

(参考例58)

(21Z, 24R) - 24 - ヒドロキシトリアコンタ - 21 - エン - 13 - オン

参考例57で得られた(21Z, 24R) - 24 - {[tert - ブチル(ジメチル)シリル]オキシ}トリアコンタ - 21 - エン - 13 - オン (0.55 g, 0.97 mmol) に、1規定フッ化テトラn - ブチルアンモニウム テトラヒドロフラン溶液 (4.9 mL, 4.9 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。水で処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.23 g, 52%)。

50

【0489】

(参考例59)

酢酸(7R, 9Z) - 18 - オキソトリアコンタ - 9 - エン - 7 - イル

参考例58で得られた(21Z, 24R) - 24 - ヒドロキシトリアコンタ - 21 - エン - 13 - オン(0.23g, 0.51mmol)およびピリジン(0.81g, 10mmol)のジクロロメタン(5.1mL)溶液に、酢酸クロリド(0.40g, 5.1mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.21g, 84%)。

10

【0490】

(参考例60)

酢酸(7R, 9Z) - 18 - ヒドロキシトリアコンタ - 9 - エン - 7 - イル

参考例59で得られた酢酸(7R, 9Z) - 18 - オキソトリアコンタ - 9 - エン - 7 - イルを(0.21g, 0.43mmol)のテトラヒドロフラン(1.3mL)およびメタノール(1.3mL)溶液に、水素化ホウ素ナトリウム(32mg, 0.85mmol)を添加し、室温で1時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去することにより、目的物を含む黄色液体を得た。

20

【0491】

(実施例43)

酢酸(7R, 9Z) - 18 - ({ [3 - (ジメチルアミノ)プロボキシ]カルボニル } オキシ)トリアコンタ - 9 - エン - 7 - イル

参考例60で得られた酢酸(7R, 9Z) - 18 - ヒドロキシトリアコンタ - 9 - エン - 7 - イルを含む溶液(0.21g, 0.42mmol, 理論量)およびピリジン(0.21g, 2.7mmol)のトルエン(4.2mL)溶液を、氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン(0.087g, 0.29mmol)のトルエン(0.64mL)溶液を2分間かけて添加した。0℃で15分間撹拌した後、室温に昇温し1.5時間撹拌し、再度0℃に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール(0.46g, 4.5mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(111mg, 42%)。

30

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6H, m), 1.23 - 1.35 (36H, m), 1.48 - 1.66 (6H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.6, 7.4\text{ Hz}$), 1.97 - 2.05 (2H, m), 2.03 (3H, s), 2.22 (3H, s), 2.25 - 2.32 (2H, m), 2.36 (2H, t, $J = 7.4\text{ Hz}$), 4.18 (2H, t, $J = 6.6\text{ Hz}$), 4.64 - 4.72 (1H, m), 4.86 (1H, quint, $J = 6.3\text{ Hz}$), 5.28 - 5.51 (2H, m)。

40

MS (ESI+) m/z 624 [M+H]⁺HRMS (ESI+) m/z 624.5566 (-0.1mDa)。

【0492】

(参考例61)

酪酸(7R, 9Z) - 18 - オキソトリアコンタ - 9 - エン - 7 - イル

参考例39で得られた(19Z, 22R) - 22 - ヒドロキシオクタコサ - 19 - エン - 11 - オン(0.34g, 0.80mmol)およびピリジン(1.3g, 16mmol)のジクロロメタン(8.0mL)溶液に、酪酸クロリド(0.86g, 8.0mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を

50

減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た（0.40 g, 100%）。

【0493】

（参考例62）

酪酸（7R, 9Z）- 18 - ヒドロキシオクタコサ - 9 - エン - 7 - イル

参考例61で得られた酪酸（7R, 9Z）- 18 - オキソトリアコンタ - 9 - エン - 7 - イルを（0.40 g, 0.81 mmol）のテトラヒドロフラン（2.4 mL）およびメタノール（2.4 mL）溶液に、水素化ホウ素ナトリウム（61 mg, 1.6 mmol）を添加し、室温で1時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去することにより、目的物を含む黄色液体を得た。

10

【0494】

（実施例44）

酪酸（7R, 9Z）- 18 - （{ [3 - （ジメチルアミノ）プロボキシ] カルボニル } オキシ）オクタコサ - 9 - エン - 7 - イル

参考例62で得られた酪酸（7R, 9Z）- 18 - ヒドロキシオクタコサ - 9 - エン - 7 - イルを含む溶液（0.40 g, 0.81 mmol, 理論量）およびピリジン（0.40 g, 5.1 mmol）のトルエン（8.1 mL）溶液を、氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン（0.17 g, 0.56 mmol）のトルエン（1.2 mL）溶液を2分間かけて添加した。0℃で15分間撹拌した後、室温に升温し1.5時間撹拌し、再度0℃に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール（0.88 g, 8.5 mmol）を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た（99 mg, 20%）。

20

$^1\text{H-NMR}$ （400 MHz, CDCl_3 ） δ : 0.85 - 0.90（6H, m）, 0.94（3H, t, $J = 7.4$ Hz）, 1.21 - 1.39（32H, m）, 1.47 - 1.62（6H, m）, 1.65（2H, sext, $J = 7.4$ Hz）, 1.84（2H, tt, $J = 6.6, 7.4$ Hz）, 2.01（2H, q, $J = 6.6$ Hz）, 2.22（6H, s）, 2.23 - 2.39（4H, m）, 4.18（2H, t, $J = 6.6$ Hz）, 4.64 - 4.72（1H, m）, 4.89（2H, quint, $J = 6.3$ Hz）, 5.28 - 5.50（2H, m）。

30

MS （ESI⁺） m/z 624 [M+H]⁺

HRMS （ESI⁺） m/z 624.5599（3.2 mDa）。

【0495】

（参考例63）

トリアコンタン - 11 - オール

イコサナール（0.64 g, 2.2 mmol）のジエチルエーテル（11 mL）溶液に、1規定臭化n - デシルマグネシウムジエチルエーテル溶液（3.2 mL, 3.2 mmol）を2分間かけて滴下添加した後、室温にて終夜反応させた。1規定塩酸水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た（0.37 g, 39%）。

40

$^1\text{H-NMR}$ （400 MHz, CDCl_3 ） δ : 0.89（6H, t, $J = 7.0$ ）, 1.20 - 1.33（50H, m）, 1.36 - 1.48（4H, m）, 3.54 - 3.62（1H, br）。

【0496】

（実施例45）

炭酸3 - （ジメチルアミノ）プロピル トリアコンタン - 11 - イル

参考例63で得られたトリアコンタン - 11 - オール（0.18 g, 0.41 mmol）

50

）およびピリジン（0.20 g, 2.6 mmol）のトルエン（4.1 mL）溶液に、トリホスゲン（0.084 g, 0.28 mmol）のトルエン（0.62 mL）溶液を2分間かけて添加した。室温で1時間撹拌した後、3-ジメチルアミノ-1-プロパノール（0.44 g, 4.3 mmol）を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た（185 mg, 79%）。

$^1\text{H-NMR}$ （400 MHz, CDCl_3 ） δ : 0.84 (6H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.16 - 1.32 (50H, m), 1.44 - 1.60 (4H, m), 1.82 (2H, tt, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 2.19 (6H, s), 2.32 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 4.14 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.61 - 4.68 (1H, m).

$\text{MS (ESI}^+)$ m/z 568 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$

$\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 568.5663 (-0.6 mDa)。

【0497】

（実施例46）

炭酸（1-メチルピペリジン-3-イル）メチル トリアコンタン-11-イル

参考例63で得られたトリアコンタン-11-オール（0.18 g, 0.41 mmol）およびピリジン（0.20 g, 2.6 mmol）のトルエン（4.1 mL）溶液に、トリホスゲン（0.084 g, 0.28 mmol）のトルエン（0.62 mL）溶液を2分間かけて添加した。室温で1時間撹拌した後、1-メチル-3-ピペリジンメタノール（0.56 g, 4.3 mmol）を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た（145 mg, 60%）。

$^1\text{H-NMR}$ （400 MHz, CDCl_3 ） δ : 0.89 (6H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.20 - 1.36 (50H, m), 1.48 - 1.77 (8H, m), 1.85 - 1.94 (1H, m), 1.95 - 2.07 (1H, m), 2.26 (3H, s), 2.75 (1H, d, $J = 10.9$ Hz), 2.86 (1H, d, $J = 10.9$ Hz), 3.94 (1H, dd, $J = 7.4, 10.9$ Hz), 4.06 (1H, dd, $J = 5.9, 10.9$ Hz), 4.64 - 4.71 (1H, m).

$\text{MS (ESI}^+)$ m/z 594 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$

$\text{HRMS (ESI}^+)$ m/z 594.5827 (0.2 mDa)。

【0498】

（参考例64）

（6Z, 9Z）-18-[2-（エテニルオキシ）エトキシ]オクタデカ-6, 9-ジエン

リノレイルアルコール（3.90 g, 14.6 mmol）、トシルビニルエチレングリコール（4.76 g, 16.1 mmol）および硫酸テトラブチルアンモニウム（1.24 g, 3.66 mmol）のトルエン（23.4 mL）溶液に、50%水酸化ナトリウム水溶液（11.5 mL）を添加し、室温で終夜反応させた。トシルビニルエチレングリコール（2.00 g, 6.76 mmol）を添加し、室温で5昼夜反応させた。水により希釈後、ジエチルエーテルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色液体として得た（2.44, 50%）。

$^1\text{H-NMR}$ （400 MHz, CDCl_3 ） δ : 0.89 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.25 - 1.40 (16H, m), 1.54 - 1.63 (2H, m), 2.01 - 2.08 (4H, m), 2.77 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.48 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.64 - 3.68 (2H, m), 3.81 - 3.85 (2H, m), 4.01 (1H, dd, $J = 2.0, 7.0$ Hz), 4.19 (1H, dd, $J = 2.0, 7.0$ Hz).

0, 14.1 Hz), 6.52 (1H, dd, J = 7.0, 14.1 Hz)。

【0499】

(参考例65)

2 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] エタノール
参考例64で得られた(6Z, 9Z) - 18 - [2 - (エテニルオキシ) エトキシ] オクタデカ - 6, 9 - ジエン(5.70 g, 17 mmol)のエタノール(34 mL)およびテトラヒドロフラン(34 mL)溶液に、1規定塩酸水溶液(17 mL, 17 mmol)を添加し、室温で1.5時間反応させた。水により希釈後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(2.00 g, 38%)。

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (3H, t, J = 7.0 Hz), 1.23 - 1.40 (16H, m), 1.51 - 1.63 (2H, m), 1.95 (1H, t, J = 6.3 Hz), 2.01 - 2.09 (4H, m), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 3.53 (2H, t, J = 4.3 Hz), 3.73 (2H, dt, J = 6.3, 4.3 Hz), 5.29 - 5.43 (4H, m)。

【0500】

(参考例66)

[(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] アセトアルデヒド

参考例65で得られた2 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] エタノール(1.00 g, 3.2 mmol)およびトリエチルアミン(1.63 g, 16.1 mmol)のジメチルスルホキシド(6.4 mL)溶液に、三酸化硫黄 - ピリジン錯体(1.54 g, 9.7 mmol)を添加し、室温で1.5時間反応させた。水により希釈後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色液体として得た(0.57 g, 57%)。

¹H - NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 1.11 (3H, t, J = 6.8 Hz), 1.25 - 1.41 (16H, m), 1.59 - 1.67 (2H, m), 2.02 - 2.08 (4H, m), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 3.53 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.06 (2H, s), 5.30 - 5.42 (4H, m), 9.74 - 9.75 (1H, m)。

【0501】

(参考例67)

(11Z, 14Z) - 1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - オール

参考例66で得られた[(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] アセトアルデヒド(1.27 g, 4.1 mmol)のジエチルエーテル(12.4 mL)溶液に、0.5規定臭化リノレイルマグネシウム(14 mL, 7.0 mmol)を添加し、室温で3時間、次いで60℃で3時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液で処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色液体として得た(0.48 g, 21%)。

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 0.89 (6H, t, J = 7.0 Hz), 1.23 - 1.46 (34H, m), 1.52 - 1.61 (4H, m), 2.01 - 2.08 (8H, m), 2.31 (1H, d, J = 3.1 Hz), 2.77 (4H, t, J = 6.6 Hz), 3.23 (1H, dd, J = 8.2, 9.4 Hz), 3.39 - 3.51 (3H, m), 3.72 - 3.81 (1H, m), 5.29 - 5.43 (8H, m)。

【0502】

10

20

30

40

50

(実施例 47)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (11Z, 14Z) - 1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - イル

参考例 67 で得られた (11Z, 14Z) - 1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - オール (0.27 g, 0.48 mmol) およびピリジン (0.24 g, 3.0 mmol) のトルエン (4.8 mL) 溶液を氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.099 g, 0.33 mmol) のトルエン (0.72 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 30 分間攪拌した後、室温に昇温し 1.5 時間攪拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.52 g, 5.1 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (330 mg, 24%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 - 0.94 (6H, m), 1.24 - 1.43 (34H, m), 1.52 - 1.67 (4H, m), 1.86 (2H, tt, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 1.96 - 2.11 (8H, m), 2.24 (6H, s), 2.38 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 2.79 (4H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.38 - 3.54 (4H, m), 4.21 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.82 - 4.89 (1H, m), 5.31 - 5.45 (8H, m)。

MS (ESI+) m/z 688 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 688.6269 (2.5 mDa)。

【0503】

(参考例 68)

10 - {2 - [(2 - ペンチルシクロプロピル)メチル]シクロプロピル} - 1 - [(8 - {2 - [(2 - ペンチルシクロプロピル)メチル]シクロプロピル}オクチル)オキシ]デカン - 2 - オール

0 に冷却した 1.1 規定ジエチル亜鉛ヘキサン溶液 (7.3 mL, 7.7 mmol) のジクロロメタン (12 mL) 溶液に、クロロヨードメタン (1.7 g, 9.6 mmol) を 10 分間かけて添加した後、参考例 R18 で得られた (11Z, 14Z) - 1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - オール (0.27 g, 0.48 mmol), クロロヨードメタン (1.0 g, 5.7 mmol) のジクロロメタン (7.0 mL) 溶液を 40 分間かけて添加し、室温で終夜反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液で処理後、ジクロロメタンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色液体として得た (0.29 g, 98%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : (-0.32) - (-0.24) (4H, m), 0.57 - 0.84 (12H, m), 0.85 - 0.92 (6H, m), 0.97 - 1.62 (50H, m), 2.31 (1H, d, $J = 3.1$ Hz), 3.23 (1H, dd, $J = 8.2, 9.4$ Hz), 3.39 - 3.52 (3H, m), 3.73 - 3.80 (1H, m)。

【0504】

(実施例 48)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル 10 - {2 - [(2 - ペンチルシクロプロピル)メチル]シクロプロピル} - 1 - [(8 - {2 - [(2 - ペンチルシクロプロピル)メチル]シクロプロピル}オクチル)オキシ]デカン - 2 - イル

参考例 68 で得られた 10 - {2 - [(2 - ペンチルシクロプロピル)メチル]シクロプロピル} - 1 - [(8 - {2 - [(2 - ペンチルシクロプロピル)メチル]シクロプロピル}オクチル)オキシ]デカン - 2 - オール (0.17 g, 0.28 mmol) および

ピリジン (0.14 g, 1.7 mmol) のトルエン (2.8 mL) 溶液を氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.056 g, 0.19 mmol) のトルエン (0.42 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 1 時間撹拌した後、室温に昇温し 1 時間撹拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.30 g, 2.9 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (135 mg, 66%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : (-0.34) - (-0.23) (4 H, m), 0.57 - 0.84 (12 H, m), 0.86 - 0.92 (6 H, m), 0.97 - 1.66 (50 H, m), 1.84 (2 H, tt, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 2.22 (6 H, s), 2.36 (2 H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.35 - 3.53 (4 H, m), 4.18 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.80 - 4.87 (1 H, m). MS (ESI+) m/z 744 [M+H]⁺. HRMS (ESI+) m/z 744.6876 (0.6 mDa).

【0505】

(参考例 69)

1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] イコサン - 2 - オール

参考例 66 で得られた [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] アセトアルデヒド (0.22 g, 0.71 mmol) のテトラヒドロフラン (2.9 mL) 溶液に、0.5 規定塩化オクタデシルマグネシウム (3.0 mL, 1.5 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液で処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色液体として得た (0.13 g, 31%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.92 (6 H, m), 1.20 - 1.62 (52 H, m), 2.01 - 2.08 (4 H, m), 2.31 (1 H, d, $J = 3.1$ Hz), 2.77 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.23 (1 H, dd, $J = 8.2, 9.4$ Hz), 3.39 - 3.55 (3 H, m), 3.73 - 3.80 (1 H, m), 5.29 - 5.42 (4 H, m).

【0506】

(実施例 49)

炭酸 3 - (ジメチルアミノプロピル) 1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] イコサン - 2 - イル

参考例 69 で得られた 1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] イコサン - 2 - オール (0.13 g, 0.22 mmol) およびピリジン (0.11 g, 1.4 mmol) のトルエン (2.2 mL) 溶液を氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.045 g, 0.15 mmol) のトルエン (0.33 mL) 溶液を 2 分間かけて添加した。0 で 40 分間撹拌した後、室温に昇温し 1 時間撹拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.24 g, 2.3 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (86 mg, 56%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6 H, m), 1.22 - 1.41 (48 H, m), 1.50 - 1.66 (4 H, m), 1.84 (2 H, tt, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 2.01 - 2.09 (4 H, m), 2.22 (6 H, s), 2.36 (2 H, t, $J = 7.4$ Hz), 2.77 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.35 - 3.53 (4 H, m), 4.18 (2 H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.80

10

20

30

40

50

- 4.86 (1H, m), 5.29 - 5.42 (4H, m).

MS (ESI+) m/z 692 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 692.6588 (3.1 mDa).

【0507】

(参考例70)

(11Z, 14Z) - 1 - (オクタデシルオキシ)イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - オール

オクタデカン - 1 - イルオキシアセトアルデヒド (0.25 g, 0.80 mmol) のテトラヒドロフラン (2.4 mL) 溶液に、0.5 規定臭化リノレイルマグネシウム (2.4 mL, 1.2 mmol) を添加し、室温で4時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液で処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色液体として得た (0.17 g, 38%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 0.88 - 0.94 (6H, m), 1.22 - 1.70 (52H, m), 2.04 - 2.11 (4H, m), 2.35 (1H, d, J = 3.1 Hz), 2.80 (2H, t, J = 6.6 Hz), 3.26 (1H, dd, J = 8.2, 9.4 Hz), 3.42 - 3.58 (3H, m), 3.75 - 3.83 (1H, m), 5.32 - 5.45 (4H, m).

【0508】

(実施例50)

炭酸3 - (ジメチルアミノプロピル) (11Z, 14Z) - 1 - (オクタデシルオキシ)イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - イル

参考例70で得られた(11Z, 14Z) - 1 - (オクタデシルオキシ)イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - オール (0.17 g, 0.30 mmol) およびピリジン (0.15 g, 1.9 mmol) のトルエン (3.0 mL) 溶液を氷浴にて0 に冷却し、トリホスゲン (0.062 g, 0.21 mmol) のトルエン (0.45 mL) 溶液を1分間かけて添加した。0 で30分間撹拌した後、室温に昇温し1時間撹拌し、再度0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.33 g, 3.2 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (53 mg, 25%).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 0.85 - 0.92 (6H, m), 1.21 - 1.40 (48H, m), 1.50 - 1.65 (4H, m), 1.84 (2H, tt, J = 6.6, 7.4 Hz), 2.01 - 2.09 (4H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, J = 7.4 Hz), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 3.35 - 3.53 (4H, m), 4.18 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.80 - 4.87 (1H, m), 5.29 - 5.42 (4H, m).

MS (ESI+) m/z 692 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 692.6578 (2.1 mDa).

【0509】

(参考例71)

(11Z, 14R) - 1 - (オクタデシルオキシ) - 14 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ)イコサ - 11 - エン - 2 - オール

乾燥させたマグネシウム (削り状, 0.48 g, 19.8 mmol) をテトラヒドロフラン (4.0 mL) に浸し、1, 2 - ジブプロモエタン (3滴) を加え、激しく撹拌した。溶液が黒灰色に変化した後、参考例53で得られた2 - {[(7R, 9Z) - 18 - ブロモオクタデカ - 9 - エン - 7 - イル] オキシ}テトラヒドロ - 2H - ピラン (5.70 g, 13.2 mmol) のテトラヒドロフラン (18.5 mL) 溶液を40分間かけて添加し、室温で3時間撹拌した。

【0510】

得られた Grignard 試薬溶液のうち 7.5 mL を、オクタデカン - 1 - イルオキシアセトアルデヒド (0.78 g, 2.5 mmol) のテトラヒドロフラン (7.5 mL) 溶液に添加し、室温で 6 時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液で処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.61 g, 37%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.89 (6H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.20 - 2.40 (64H, m), 3.23 (1H, dd, $J = 8.2, 9.4$ Hz), 3.39 - 3.56 (5H, m), 3.58 - 3.70 (1H, m), 3.73 - 3.81 (1H, m), 3.87 - 3.98 (1H, m), 4.64 - 4.74 (1H, m), 5.34 - 5.50 (2H, m)。

10

【0511】

(参考例 72)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (11Z, 14R) - 1 - (オクタデシルオキシ) - 14 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ)イコサ - 11 - エン - 2 - イル

参考例 71 で得られた (11Z, 14R) - 1 - (オクタデシルオキシ) - 14 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ)イコサ - 11 - エン - 2 - オール (0.61 g, 0.92 mmol) およびピリジン (0.46 g, 5.8 mmol) のトルエン (9.2 mL) 溶液を氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0.19 g, 0.63 mmol) のトルエン (1.4 mL) 溶液を 1 分間かけて添加した。0 で 15 分間攪拌した後、室温に升温し 1 時間攪拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.99 g, 9.6 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.41 g, 56%)。

20

【0512】

(参考例 73)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (11Z, 14R) - 14 - ヒドロキシ - 1 - (オクタデシルオキシ)イコサ - 11 - エン - 2 - イル

30

参考例 72 で得られた炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (11Z, 14R) - 1 - (オクタデシルオキシ) - 14 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ)イコサ - 11 - エン - 2 - イル (0.41 g, 0.52 mmol) のエタノール (5.2 mL) 溶液に、2 規定塩酸水溶液 (2.6 mL, 5.2 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.34 g, 92%)。

【0513】

40

(実施例 51)

酢酸 (7R, 9Z) - 19 - ({ [3 - (ジメチルアミノ)プロポキシ] カルボニル } オキシ) - 20 - (オクタデシルオキシ)イコサ - 9 - エン - 7 イル

参考例 73 で得られた炭酸 3 - (ジメチルアミノ)プロピル (11Z, 14R) - 14 - ヒドロキシ - 1 - (オクタデシルオキシ)イコサ - 11 - エン - 2 - イル (0.11 g, 0.16 mmol) およびピリジン (0.25 g, 3.1 mmol) のジクロロメタン (1.6 mL) 溶液に、酢酸クロリド (0.12 g, 1.6 mmol) を添加し、室温で 3 時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (7

50

5 mg, 64%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6H, m), 1.21 - 1.37 (50H, m), 1.50 - 1.66 (6H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.6, 7.4 \text{ Hz}$), 1.97 - 2.06 (5H, m), 2.22 (6H, s), 2.25 - 2.31 (2H, m), 2.36 (2H, t, $J = 7.4 \text{ Hz}$), 3.35 - 3.51 (4H, m), 4.18 (2H, t, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 4.79 - 4.91 (2H, m), 5.28 - 5.36 (1H, m), 5.43 - 5.51 (1H, m)

MS (ESI+) m/z 752 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 752.6775 (3.4 mDa)。

10

【0514】

(参考例74)

(11Z, 14R) - 1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] - 14 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) イコサ - 11 - エン - 2 - オール

乾燥させたマグネシウム (削り状, 0.24 g, 9.7 mmol) をテトラヒドロフラン (3.0 mL) に浸し、1, 2 - ジブロモエタン (4 滴) を加え、激しく攪拌した。溶液が黒灰色に変化した後、参考例53で得られた2 - {[(7R, 9Z) - 18 - プロモオクタデカ - 9 - エン - 7 - イル] オキシ} テトラヒドロ - 2H - ピラン (2.8 g, 6.5 mmol) のテトラヒドロフラン (18.5 mL) 溶液を40分間かけて添加し、室温で終夜攪拌した。

20

【0515】

得られたGrignard試薬溶液に、参考例66で得られた[(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] アセトアルデヒド (2.0 g, 6.5 mmol) を添加し、60℃で2時間反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液で処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.27 g, 6%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.92 (6H, m), 1.22 - 2.40 (54H, m), 2.77 (2H, t, $J = 6.6 \text{ Hz}$), 3.23 (1H, dd, $J = 8.2, 9.4 \text{ Hz}$), 3.39 - 3.56 (5H, m), 3.58 - 3.72 (1H, m), 3.72 - 3.81 (1H, m), 3.86 - 3.98 (1H, m), 4.64 - 4.74 (1H, m), 5.28 - 5.49 (6H, m)。

30

【0516】

(参考例75)

炭酸3 - (ジメチルアミノ) プロピル (11Z, 14R) - 1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] - 14 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) イコサ - 11 - エン - 2 - イル

参考例74で得られた(11Z, 14R) - 1 - [(9Z, 12Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] - 14 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) イコサ - 11 - エン - 2 - オール (0.27 g, 0.41 mmol) およびピリジン (0.20 g, 2.6 mmol) のトルエン (4.1 mL) 溶液を氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン (0.084 g, 0.28 mmol) のトルエン (0.61 mL) 溶液を2分間かけて添加した。0℃で15分間攪拌した後、室温に昇温し1時間攪拌し、再度0℃に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.44 g, 4.3 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.16 g, 48%)。

40

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.92 (6H, m), 1

50

. 23 - 1.88 (50H, m), 1.98 - 2.09 (8H, m), 2.22 (6H, m), 2.36 (2H, t, J = 7.4 Hz), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 3.35 - 3.52 (5H, m), 3.59 - 3.71 (1H, m), 3.87 - 3.97 (1H, m), 4.18 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.63 - 4.73 (1H, m), 4.80 - 4.87 (1H, m), 5.29 - 5.49 (6H, m)。

【0517】

(参考例76)

炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル (11Z, 14R) - 14-ヒドロキシ-1-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]イコサ-11-エン-2-イル

10

参考例75で得られた炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル (11Z, 14R) - 1-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]-14-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イルオキシ)イコサ-11-エン-2-イル(0.16g、0.20mmol)のエタノール(0.98mL)溶液に、2規定塩酸水溶液(0.49mL, 0.98mmol)を添加し、室温で3時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.08g, 60%)。

【0518】

(実施例52)

20

酢酸(7R, 9Z) - 19-({[3-(ジメチルアミノ)プロポキシ]カルボニル}オキシ) - 20-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]イコサ-9-エン-7-イル

参考例76で得られた炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル (11Z, 14R) - 14-ヒドロキシ-1-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]イコサ-11-エン-2-イル(0.08g、0.11mmol)およびピリジン(0.37g, 4.5mmol)のジクロロメタン(2.3mL)溶液に、酢酸クロリド(0.18g, 2.3mmol)を添加し、室温で3時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(53mg, 63%)。

30

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.92 (6H, m), 1.23 - 1.40 (36H, m), 1.50 - 1.64 (6H, m), 1.84 (2H, tt, J = 6.6, 7.4 Hz), 1.97 - 2.09 (9H, m), 2.22 (6H, s), 2.25 - 2.32 (2H, m), 2.36 (2H, t, J = 7.4 Hz), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 3.35 - 3.52 (4H, m), 4.18 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.80 - 4.91 (2H, m), 5.28 - 5.51 (6H, m)。

MS (ESI+) m/z 748 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 748.6489 (3.4mDa)。

40

【0519】

(参考例77)

2-{ [(9Z, 12R) - 12-(テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イルオキシ)オクタデカ-9-エン-1-イル]オキシ}エタノール

水素化ナトリウム(64%, 2.97g、79.2mmol)のN,N-ジメチルホルムアミド懸濁液に、エチレングリコール(5.25g、84.5mmol)を添加し、80℃で45分間撹拌した。参考例51で得られたメタンスルホン酸(9Z, 12R) - 12-ヒドロキシオクタデカ-9-エン-1-イル(11.8g、26.4mmol)を添加し、80℃で2時間反応させた。水により処理した後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリ

50

カゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (8 . 3 6 g , 7 7 %)。

$^1\text{H-NMR}$ (4 0 0 MHz , CDCl_3) δ : 0 . 8 8 (3 H , t , $J = 7 . 0 \text{ Hz}$) , 1 . 2 3 - 1 . 6 2 (2 6 H , m) , 1 . 6 6 - 1 . 7 5 (1 H , m) , 1 . 7 8 - 1 . 8 7 (1 H , m) , 1 . 9 7 - 2 . 0 7 (3 H , m) , 2 . 2 3 (1 H , t , $J = 6 . 3 \text{ Hz}$) , 2 . 2 6 - 2 . 4 1 (1 H , m) , 3 . 4 7 (2 H , t , $J = 6 . 6 \text{ Hz}$) , 3 . 5 3 (2 H , dd , $J = 3 . 1 , 5 . 1 \text{ Hz}$) , 3 . 5 8 - 3 . 7 2 (1 H , m) , 3 . 8 7 - 3 . 9 8 (1 H , m) , 4 . 6 4 - 4 . 7 4 (1 H , m) , 5 . 3 3 - 5 . 4 9 (2 H , m)。

【 0 5 2 0 】

10

(参考例 7 8)

{ [(9 Z , 1 2 R) - 1 2 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } アセトアルデヒド

参考例 7 7 で得られた 2 - { [(9 Z , 1 2 R) - 1 2 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } エタノール (5 . 3 6 g , 1 3 . 0 mmol) およびトリエチルアミン (6 . 5 7 g , 6 5 . 0 mmol) のジメチルスルホキシド (2 6 . 0 mL) 溶液に、三酸化硫黄 - ピリジン錯体 (5 . 1 7 g , 3 2 . 5 mmol) を添加し、室温で 2 . 5 時間反応させた。水により希釈後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色液体として得た (3 . 9 6 g , 7 4 %)。

20

$^1\text{H-NMR}$ (4 0 0 MHz , CDCl_3) δ : 0 . 8 8 (3 H , t , $J = 7 . 0 \text{ Hz}$) , 1 . 2 3 - 1 . 6 7 (2 6 H , m) , 1 . 6 6 - 1 . 7 5 (1 H , m) , 1 . 7 8 - 1 . 8 6 (1 H , m) , 1 . 9 8 - 2 . 0 7 (3 H , m) , 2 . 2 0 - 2 . 4 1 (2 H , m) , 3 . 4 4 - 3 . 5 4 (3 H , m) , 3 . 5 5 - 3 . 7 1 (1 H , m) , 3 . 8 7 - 3 . 9 7 (1 H , m) , 4 . 0 6 (2 H , s) , 4 . 6 4 - 4 . 7 4 (1 H , m) , 5 . 3 2 - 5 . 4 9 (2 H , m) , 9 . 7 5 (1 H , s)。

【 0 5 2 1 】

(参考例 7 9)

1 - { [(9 Z , 1 2 R) - 1 2 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサン - 2 - オール

30

参考例 7 8 で得られた { [(9 Z , 1 2 R) - 1 2 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } アセトアルデヒド (0 . 4 0 g , 0 . 9 7 mmol) のテトラヒドロフラン (2 . 9 mL) 溶液に、0 . 5 規定塩化オクタデシルマグネシウム (2 . 4 mL , 1 . 2 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液で処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色液体として得た (0 . 2 4 g , 3 7 %)。

【 0 5 2 2 】

40

(参考例 8 0)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ) プロピル 1 - { [(9 Z , 1 2 R) - 1 2 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサン - 2 - イル

参考例 7 9 で得られた 1 - { [(9 Z , 1 2 R) - 1 2 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサン - 2 - オール (0 . 2 4 g , 0 . 3 6 mmol) およびピリジン (0 . 1 8 g , 2 . 3 mmol) のトルエン (3 . 6 mL) 溶液を氷浴にて 0 に冷却し、トリホスゲン (0 . 0 7 4 g , 0 . 2 5 mmol) のトルエン (0 . 5 4 mL) 溶液を 1 分間かけて添加した。0 で 1 0 分間攪拌した後、室温に昇温し 1 時間攪拌し、再度 0 に冷却した。3 - ジメチルアミノ -

50

1 - プロパノール (0.39 g, 3.8 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.24 g, 84%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, $J = 7.0$ Hz), 1.21 - 1.75 (60H, m), 1.81 - 2.40 (8H, m), 2.22 (6H, s), 3.35 - 3.53 (5H, m), 3.58 - 3.72 (1H, m), 3.87 - 3.97 (1H, m), 4.18 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.64 - 4.73 (1H, m), 4.80 - 4.87 (1H, m), 5.32 - 5.49 (2H, m)。

【0523】

(参考例 81)

炭酸 3 - (ジメチルアミノ) プロピル 1 - { [(9Z, 12R) - 12 - ヒドロキシオクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサン - 2 - イル

参考例 80 で得られた炭酸 3 - (ジメチルアミノ) プロピル 1 - { [(9Z, 12R) - 12 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサン - 2 - イル (0.24 g, 0.30 mmol) のエタノール (3.0 mL) 溶液に、2 規定塩酸水溶液 (1.5 mL, 3.0 mmol) を添加し、室温で 2 時間反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.16 g, 76%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6H, m), 1.21 - 1.65 (54H, m), 1.84 (2H, dd, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 2.05 (2H, q, $J = 6.6$ Hz), 2.18 - 2.24 (2H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.35 - 3.52 (4H, m), 3.37 - 3.65 (1H, m), 4.18 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.83 (1H, quint, $J = 5.9$ Hz), 5.35 - 5.44 (1H, m), 5.52 - 5.61 (1H, m)。

【0524】

(実施例 53)

酢酸 (20, 23R) - 2 - メチル - 9 - オクタデシル - 7 - オキソ - 6, 8, 11 - トリオキサ - 2 - アザノナコサ - 20 - エン - 23 - イル

参考例 81 で得られた炭酸 3 - (ジメチルアミノ) プロピル 1 - { [(9Z, 12R) - 12 - ヒドロキシオクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサン - 2 - イル (0.16 g, 0.23 mmol) およびピリジン (0.36 g, 4.6 mmol) のジクロロメタン (2.3 mL) 溶液に、酢酸クロリド (0.18 g, 2.3 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (121 mg, 70%)。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.85 - 0.91 (6H, m), 1.22 - 1.38 (50H, m), 1.49 - 1.65 (6H, m), 1.84 (2H, tt, $J = 6.6, 7.4$ Hz), 1.97 - 2.06 (5H, m), 2.22 (6H, s), 2.25 - 2.32 (2H, m), 2.36 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 3.35 - 3.53 (4H, m), 4.18 (2H, t, $J = 6.6$ Hz), 4.79 - 4.91 (2H, m), 5.28 - 5.36 (1H, m), 5.43 - 5.51 (1H, m)。

MS (ESI+) m/z 752 [M+H]⁺

HRMS (ESI+) m/z 752.6802 (3.4 mDa)。

【0525】

(参考例82)

(11Z, 14Z) - 1 - { [(9Z, 12R) - 12 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - オール

参考例78で得られた { [(9Z, 12R) - 12 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } アセトアルデヒド (0.40 g, 0.97 mmol) のテトラヒドロフラン (2.9 mL) 溶液に、0.5 規定臭化リノレイルマグネシウム (2.9 mL, 1.5 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和塩化アンモニウム水溶液で処理後、酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を黄色液体として得た (0.37 g, 57%)。

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 0.85 - 0.92 (6H, m), 1.23 - 1.87 (48H, m), 1.98 - 2.40 (9H, m), 2.77 (2H, t, J = 6.6 Hz), 3.23 (1H, dd, J = 8.2, 9.4 Hz), 3.39 - 3.52 (4H, m), 3.58 - 3.71 (1H, m), 3.73 - 3.80 (1H, m), 3.87 - 3.97 (1H, m), 4.64 - 4.74 (1H, m), 5.29 - 5.49 (6H, m)。

【0526】

(参考例83)

炭酸3 - (ジメチルアミノ) プロピル (11Z, 14Z) - 1 - { [(9Z, 12R) - 12 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - イル

参考例82で得られた (11Z, 14Z) - 1 - { [(9Z, 12R) - 12 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - オール (0.37 g, 0.56 mmol) およびピリジン (0.28 g, 3.5 mmol) のトルエン (5.6 mL) 溶液を氷浴にて0℃に冷却し、トリホスゲン (0.11 g, 0.39 mmol) のトルエン (0.84 mL) 溶液を1分間かけて添加した。0℃で30分間攪拌した後、室温に昇温し1時間攪拌し、再度0℃に冷却した。3 - ジメチルアミノ - 1 - プロパノール (0.61 g, 5.9 mmol) を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た (0.33 g, 75%)。

¹H - NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 0.85 - 0.92 (6H, m), 1.23 - 1.75 (48H, m), 1.84 (2H, tt, J = 6.6, 7.4 Hz), 1.98 - 2.40 (8H, m), 2.22 (6H, s), 2.36 (2H, t, J = 7.4 Hz), 2.77 (2H, t, J = 6.3 Hz), 3.35 - 3.53 (5H, m), 3.58 - 3.71 (1H, m), 3.87 - 3.97 (1H, m), 4.18 (2H, t, J = 6.6 Hz), 4.64 - 4.74 (1H, m), 4.80 - 4.87 (1H, m), 5.29 - 5.48 (6H, m)。

【0527】

(参考例84)

炭酸3 - (ジメチルアミノ) プロピル (11Z, 14Z) - 1 - { [(9Z, 12R) - 12 - ヒドロキシオクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - イル

参考例83で得られた炭酸3 - (ジメチルアミノ) プロピル (11Z, 14Z) - 1 - { [(9Z, 12R) - 12 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) オクタデカ - 9 - エン - 1 - イル] オキシ } イコサ - 11, 14 - ジエン - 2 - イル (0.3

3 g、0.42 mmol)のエタノール(4.2 mL)溶液に、2規定塩酸水溶液(2.1 mL, 4.2 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサン-酢酸エチルにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.29 g, 98%)。

【0528】

(実施例54)

酢酸(20, 23 R)-2-メチル-9-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イル]-7-オキソ-6, 8, 11-トリオキサ-2-アザノナコサ-20-エン-23-イル

10

参考例84で得られた炭酸3-(ジメチルアミノ)プロピル(11Z, 14Z)-1-{[(9Z, 12R)-12-ヒドロキシオクタデカ-9-エン-1-イル]オキシ}イコサ-11, 14-ジエン-2-イル(0.51 g, 0.72 mmol)およびピリジン(1.1 g, 14 mmol)のジクロロメタン(7.2 mL)溶液に、酢酸クロリド(0.57 g, 7.2 mmol)を添加し、室温で終夜反応させた。飽和重炭酸ナトリウム水溶液処理後、ヘキサンにより抽出を行い、得られた有機層を無水硫酸マグネシウムにて乾燥させた。溶媒を減圧下で留去した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを行うことにより、目的物を無色液体として得た(0.42 g, 78%)。

¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 0.85-0.92(6H, m), 1.23-1.40(36H, m), 1.49-1.65(6H, m), 1.84(2H, tt, J=6.6, 7.4 Hz), 1.98-2.08(9H, m), 2.22(6H, s), 2.25-2.32(2H, m), 2.36(2H, t, J=7.4 Hz), 2.77(2H, t, J=6.6 Hz), 3.35-3.53(4H, m), 4.18(2H, t, J=6.6 Hz), 4.80-4.91(2H, m), 5.28-5.51(6H, m)。

20

MS(ESI+) m/z 748 [M+H]⁺

HRMS(ESI+) m/z 748.6476(2.1 mDa)。

【0529】

(実施例55) 2本鎖ポリヌクレオチド封入核酸脂質粒子の特性評価

実施例31と同様の方法にて、参考例2, 実施例41, 実施例42、又は、実施例43に記載の化合物を含む核酸脂質粒子の分散液を得た。得られた核酸脂質粒子を含む分散液について、以下の方法で特性評価を実施した。

30

【0530】

(1) 平均粒子径

リポソームの粒子径は、Zeta Potential / Particle Size r N I C O M P T M 3 8 0 Z L S (PARTICLE SIZING SYSTEMS)にて測定した。表中の平均粒子径は体積平均粒子径を表し、±以下は、偏差を表す。

【0531】

(2) 2本鎖ポリヌクレオチドの封入率

40

2本鎖ポリヌクレオチドの封入率は、Quant-iT RiboGreen RNA Assay kit (Invitrogen)を用い、添付文書に準じて測定した。すなわち、0.015% Triton X-100界面活性剤存在下及び非存在下において、核酸脂質粒子の分散液中の2本鎖ポリヌクレオチドを定量し、次式により封入率を算出した。

{[界面活性剤存在下における2本鎖ポリヌクレオチド量]-[界面活性剤非存在下における2本鎖ポリヌクレオチド量]} / [界面活性剤存在下における2本鎖ポリヌクレオチド量] × 100(%)

(3) 2本鎖ポリヌクレオチドと脂質の比率

核酸脂質粒子の分散液を5% Triton X-100界面活性剤存在下において、

50

試料中の２本鎖ポリヌクレオチド量をイオン交換クロマトグラフィーにて測定した（System: Agilent 1100 series, Column: DNA Pac PA 200 (4 × 250 mm) (サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社), Buffer A: 10 mM Tris, 25 mM 過塩素酸ナトリウム, 20 % エタノール, pH 7.0, Buffer B: 10 mM Tris, 250 mM 過塩素酸ナトリウム, 20 % エタノール, pH 7.0, Gradient (B %): 20 - 70 % (0 - 15 min), Flow Rate: 0.5 mL/min, Temperature: 40, Detection: 260 nm)。

【0532】

核酸脂質粒子の分散液中のリン脂質量をリン脂質 C - テストワコー（和光純薬工業株式会社）を用い、添付文書に準じて測定した。すなわち、1 % Triton X - 100 界面活性剤存在下において、試料中のリン脂質を定量した。

【0533】

核酸脂質粒子の分散液中のコレステロール及び LP 量を逆相クロマトグラフィーにて測定した（System: Agilent 1100 series, Column: Chromolith Performance RP - 18 endcapped 100 - 3 monolithic HPLC - column (Merck), Buffer A: 0.01 % トリフルオロ酢酸, Buffer B: 0.01 % トリフルオロ酢酸, メタノール, Gradient (B %): 82 - 92 % (0 - 10 min), Flow Rate: 2 mL/min, Temperature: 50, Detection: 205 nm)。

【0534】

リン脂質量、コレステロール量、及び LP 量とリポソームを構成する脂質成分の組成比から、総脂質量を算出し、上述のポリヌクレオチド量及び総脂質量から、次式によりポリヌクレオチドと脂質の比率を算出した。

$$[2 \text{ 本鎖ポリヌクレオチド濃度}] / [総脂質濃度] \quad (\text{wt} / \text{wt})$$

結果を表 16 に示した。

【0535】

(表 16)

LP 名	ポリヌクレオチド 封入率 (%)	ポリヌクレオチドと脂質の比 siRNA/lipid (wt/wt)	平均粒子径 (nm)
参考例 2	94	0.055	165 ± 11
実施例 4 1	97	0.101	158 ± 40
実施例 4 2	97	0.077	188 ± 45
実施例 4 3	97	0.075	174 ± 31

【0536】

以上の結果より、２本鎖ポリヌクレオチドが脂質粒子内に封入されており、それらの核酸脂質粒子は、約 100 nm から約 200 nm の平均粒子径を有していることが明らかとなった。

【0537】

(試験例 8)

試験例 3 と同様の操作で、新規脂質を用いて調製した核酸脂質粒子を SW 480 細胞に 50 nM、5 nM、0.5 nM 及び 0.05 nM で処理し、ヒト β - カテニン遺伝子発現抑制活性の強さを比較した。

【0538】

その結果、表 17 に示すように、実施例 4 1、4 2、及び、4 3 の化合物を含む核酸脂質粒子は、対照となる脂質である参考例 2 を含む核酸脂質粒子と比較して、強い β - カテ

ニン遺伝子発現の抑制活性を示した。よって、実施例 8 の化合物は、強い活性を示す核酸脂質粒子を調製するための有益な新規脂質であることが明らかとなった。

【 0 5 3 9 】

(表 1 7)

β - カテニン遺伝子発現 抑制活性 IC ₅₀ (nM)		
参考例 2	>50	
実施例 4 1	2.6	10
実施例 4 2	6.0	
実施例 4 3	24	

【 0 5 4 0 】

(実施例 5 6) 2 本鎖ポリヌクレオチド封入核酸脂質粒子の特性評価

ジステアロイルホスファチジルコリン (1 , 2 - D i s t e a r o y l - s n - g l y c e r o - 3 - p h o s p h o c h o l i n e : 以下 DSPC と表記 , N O F C O R P O R A T I O N) 、コレステロール (C h o l e s t e r o l : 以下 Chol と表記 , S i g m a - A l d r i c h , I n c .) 、実施例 2 3 又は 2 8 に記載の化合物 (LP とする) 、及び N - [メトキシ ポリ (エチレングリコール) 2 0 0 0] カルバモイル] - 1 , 2 - ジミリスチルオキシプロピル - 3 - アミン (以下 P E G - C - D M A と表記) を、 DSPC : C h o l : L P : P E G - C - D M A = 1 0 : 4 8 : 4 0 : 2 のモル比にてエタノール中、総脂質濃度 2 6 . 8 m M になるように脂質溶液を調製した。

【 0 5 4 1 】

N a t u r e B i o t e c h n o l o g y (2 0 0 8) 2 6 、 5 6 1 - 5 6 9 に記載された 2 本鎖ポリヌクレオチド (s i F V I I : マウス F a c t o r V I I に対する s i R N A) を、 3 0 % エタノールを含むクエン酸緩衝液 (1 0 m M C i t r a t e B u f f e r , p H 4 . 0) を用いて 1 m g / m L に調製して、 2 本鎖ポリヌクレオチド溶液を得た。

【 0 5 4 2 】

上記の脂質溶液、 2 本鎖ポリヌクレオチド溶液、及びクエン酸緩衝液 (2 0 m M C i t r a t e B u f f e r , p H 4 . 0) を 3 7 に加温した。脂質溶液とクエン酸緩衝液 (2 0 m M C i t r a t e B u f f e r , p H 4 . 0) の体積比が 3 : 7 となるように、クエン酸緩衝液に脂質溶液を滴下混合することで、リポソーム粗分散液を得た。続いて、 LP 由来の窒素原子 (N) と 2 本鎖ポリヌクレオチド由来のリン原子 (P) の比率 (N / P) が 3 となるように、上記リポソーム粗分散液を 2 本鎖ポリヌクレオチド溶液に滴下混合し、 3 7 にて 3 0 分間インキュベーションすることにより、核酸脂質粒子の分散液を得た。核酸脂質粒子の分散液を約 1 0 0 m L のリン酸緩衝液 (p H 7 . 4) にて 1 2 - 1 8 時間透析 (F l o a t - A - L y z e r G 2 , M W C O : 1 0 0 k D , S p e c t r a / P o r) することにより、エタノール除去及び中和による未封入の 2 本鎖ポリヌクレオチドの除去を行い、 2 本鎖ポリヌクレオチド、実施例 2 3 又は 2 8 に記載の化合物を含む核酸脂質粒子の精製された分散液を得た。

【 0 5 4 3 】

得られた核酸脂質粒子について、実施例 5 5 に記載の方法にて特性評価を行い、核酸脂質粒子のポリヌクレオチド封入率、ポリヌクレオチドと脂質の重量比、及び平均粒子径を表 1 8 に示した。

【 0 5 4 4 】

(表 1 8)

LP 名	ポリヌクレオチド	ポリヌクレオチドと脂質の比	平均粒子径 (nm)	
------	----------	---------------	------------	--

	封入率(%)	siRNA/lipid(wt/wt)	
実施例 2 3	99	0.076	219 ± 49
実施例 2 8	97	0.083	177 ± 36

【0545】

以上の結果より、2本鎖ポリヌクレオチドが脂質粒子内に封入されており、それらの核酸脂質粒子は、約100nmから約300nmの平均粒子径を有していることが明らかとなった。

【0546】

(試験例9) Factor VII (FVII) タンパク測定

試験例7と同様の操作で、新規脂質を用いて調製した核酸脂質粒子によるFactor VII タンパク発現抑制活性の強さを比較した。調製した核酸脂質粒子の分散液を0.1mg/kgになるように尾静脈注射した。投与1日後及び6日後に尾静脈より約50μLの採血を行い、血漿を得た。

【0547】

投与1日後及び6日後の結果、それぞれ表19に示した。その結果、実施例23及び24の化合物を含む核酸脂質粒子は、強いFVII抑制活性を示した。よって、実施例23及び28の化合物を含む核酸脂質粒子は、遺伝子発現を抑制する核酸脂質粒子として有益であることが明らかとなった。

【0548】

(表19)

	相対的 FVII量 (%)	
	1日後	6日後
PBS	100	100
実施例 2 3	21	32
実施例 2 8	45	57

【0549】

(実施例57) 2本鎖ポリヌクレオチド封入核酸脂質粒子の特性評価

ジパルミトイルホスファチジルコリン(1,2-Dipalmitoyl-sn-glycerol-3-phosphocholine:以下DPPCと表記,NOF CORPORATION)、コレステロール(Cholesterol:以下Cholと表記,Sigma-Aldrich,Inc.)、実施例19、45又は54に記載の化合物(LPとする)、及びN-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル-1,2-ジステアロイルオキシプロピル-3-アミン(以下PEG-C-DSAと表記)を、DPPC:Chol:LP:PEG-C-DSA=7:33.5:57:2.5のモル比にてエタノール中、総脂質濃度6.5mMになるように脂質溶液を調製した。

【0550】

Journal Clinical Investigation (2009) 119、661-673に記載された2本鎖ポリヌクレオチド(PLK1424-2/A:マウスPLK1に対するsiRNA)を、30%エタノールを含むクエン酸緩衝液(10mM Citrate Buffer, pH4.0)を用いて1mg/mLに調製して、2本鎖ポリヌクレオチド溶液を得た。

【0551】

上記の脂質溶液、2本鎖ポリヌクレオチド溶液、及びクエン酸緩衝液(20mM Citrate Buffer, pH4.0)を37℃に加熱した。脂質溶液とクエン酸緩衝液(20mM Citrate Buffer, pH4.0)の体積比が3:7となるよ

10

20

30

40

50

うに、クエン酸緩衝液に脂質溶液を滴下混合することで、リポソーム粗分散液を得た。続いて、LP由来の窒素原子(N)と2本鎖ポリヌクレオチド由来のリン原子(P)の比率(N/P)が3となるように、上記リポソーム粗分散液を2本鎖ポリヌクレオチド溶液に滴下混合し、37℃にて30分間インキュベーションすることにより、核酸脂質粒子の分散液を得た。核酸脂質粒子の分散液を約100mLのリン酸緩衝液(pH7.4)にて12-18時間透析(Float-A-Lyzer G2, MWCO: 100kD, Spectra/Por)することにより、エタノール除去及び中和による未封入の2本鎖ポリヌクレオチドの除去を行い、2本鎖ポリヌクレオチド、実施例19、45又は54に記載の化合物を含む核酸脂質粒子の精製された分散液を得た。

【0552】

得られた核酸脂質粒子について、実施例55に記載の方法にて特性評価を行い、核酸脂質粒子のポリヌクレオチド封入率、ポリヌクレオチドと脂質の重量比、及び平均粒子径を表20に示した。

【0553】

(表20)

LP名	ポリヌクレオチド 封入率(%)	ポリヌクレオチドと脂質の比 siRNA/lipid(wt/wt)	平均粒子径(nm)
実施例19	97	0.095	103 ± 16
実施例45	96	0.093	100 ± 27
実施例54	98	0.078	127 ± 29

【0554】

以上の結果より、2本鎖ポリヌクレオチドが脂質粒子内に封入されており、それらの核酸脂質粒子は、約50nmから約150nmの平均粒子径を有していることが明らかとなった。

【0555】

(試験例10)

ヌードマウス(CAnN.Cg-Foxn1[nu]/Cr1Cr1j[Foxn1nu/Foxn1nu])を8日間馴化飼育した後、マウス右側腹部皮下に培養したヒトHep3B細胞を(1×10⁷個/マウス)移植した。腫瘍移植19日後に、腫瘍体積を指標に群分けし、翌日、実施例57で調製した核酸脂質粒子を含む分散液(1mg/kg及び3mg/kgになるように投与)をマウス尾静脈内投与した。対照群にはPBSを投与した。核酸脂質粒子投与の翌日、担癌マウスから腫瘍塊を採材し、QIAzol Lysis Reagent(QIAGEN社製)及びクロロホルムを用いて核酸を抽出した後、QIAGEN RNeasy Plus Mini kit(QIAGEN社製)に添付されたプロトコールに従って全RNAを精製した。

【0556】

16μLの精製したRNAと4μLのSuperScript VIL0 Master mix(Life technologies社)を混合し、以下の条件でRT反応を行った。

RT反応	25	10min
	42	60min
	85	5min

リアルタイムPCR用のプローブとして、ヒトPLK-1遺伝子プローブはTaqMan(登録商標)Gene Expression Assays(PLK-1、FAM probe、Hs00153444_m1、Applied Biosystems社製)、内部標準としてのヒト-GAPDH遺伝子プローブはTaqMan(登録商標)Gene Expression Assays(VIC probe、Hs9999990

10

20

30

40

50

5 μ m1、Applied Biosystems社製）を用いた。384穴PCRプレート（Applied Biosystems社製）1ウェルあたり、TaqMan（登録商標）Fast Advanced Master Mixを5 μ L、RNase-Free Waterを2.66 μ L、各遺伝子プローブを0.17 μ L、調製したcDNA溶液を2 μ L添加して総量を10 μ Lとし、ViiATM7 Real-time PCR system（Applied Biosystem社製）にセットし、以下の条件でPCRを実施した。リアルタイムPCRは調製したcDNAに対してN = 4で実施した。

PCR 初期活性化 95、20秒

PCR 95、1秒

62、20秒

このPCRサイクルは40回繰り返した。

【0557】

定量解析は $\Delta\Delta Ct$ 法で行った。各核酸脂質粒子投与群のヒトPLK-1とヒトGAPDHのCt値の差（ ΔCt ）からPBS投与群の ΔCt を差し引いた値（ $\Delta\Delta Ct$ ）を求め、PBS投与群に対する相対値（RQ）、RQmax及びRQminは以下の式で算出した。

【0558】

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

RQmax = $2^{-95\% CI \text{ of } \Delta\Delta Ct}$ (95% CI of $\Delta\Delta Ct$: $\Delta\Delta Ct$ の95%信頼区間の最大値)

RQmin = $2^{-95\% CI \text{ of } \Delta\Delta Ct}$ (95% CI of $\Delta\Delta Ct$: $\Delta\Delta Ct$ の95%信頼区間の最小値)

(CI: confidence interval): 信頼区間)

結果を図5に示した。図中のerror barsは以下の式により算出した。

【0559】

+ error bars: RQmax - RQ、- error bars: RQ - RQmin)

その結果、図5に示すように、実施例19、45、及び、54の化合物を有する核酸脂質粒子は、腫瘍中で強いPLK-1発現抑制活性を示した。よって、実施例19、45、及び、54の化合物を有する核酸脂質粒子は、遺伝子発現を抑制しうる核酸脂質粒子として有益であることが明らかとなった。

【0560】

（実施例58） mRNAを封入した核酸脂質粒子の調製

ジステアロイルホスファチジルコリン（1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine: 以下DSPCと表記, NOF CORPORATION）、コレステロール（Cholesterol: 以下Cholと表記, Sigma-Aldrich, Inc.）、実施例8に記載の化合物（LPとする）、及びN-[メトキシポリ（エチレングリコール）2000]カルバモイル]-1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン（以下PEG-C-DMAと表記）を、DSPC: Chol: LP: PEG-C-DMA = 10:48:40:2のモル比にて、総脂質濃度10mMになるようにエタノールに溶解した。得られた脂質溶液をクエン酸緩衝液（20mM Citrate Buffer, pH4.0）に、体積比が脂質溶液:クエン酸緩衝液 = 3:7となるように滴下混合し、脂質粒子の粗分散液を得た。

【0561】

一方、mCherry mRNA(5meC、 Ψ)（以下、mCherry mRNAと表記、カタログ番号: L-6113、TriLink BioTechnologies, Inc.）または、Firefly Luciferase mRNA(5meC、 Ψ)（以下、FLuc mRNAと表記、カタログ番号: L-6107、TriLink BioTechnologies, Inc.）を、30%エタノールを含むクエン酸緩衝

10

20

30

40

50

液 (20 mM Citrate Buffer , pH 4 . 0) にて、0 . 1 mg / mL に調製した。

【 0 5 6 2 】

続いて、LPの分子数 (N) と mRNA 由来のリン原子数 (P) の比率 (N / P) が $N / P = 9 . 0$ のモル比となるように、上記の脂質粒子の粗分散液 790 μ L と mRNA 溶液 350 μ L を混合し、37 にて30分間インキュベーションすることにより、核酸脂質粒子の分散液を得た。核酸脂質粒子の分散液を約100 mL のリン酸緩衝液 (pH 7 . 4) にて12 - 18時間透析 (Float - A - Lyzer G2 , MWCO : 100 kD , Spectra / Por) することにより、エタノール除去を行い、mRNA が封入された実施例 8 に記載の化合物を含む核酸脂質粒子の精製された分散液を得た。

10

【 0 5 6 3 】

(実施例 5 9) mRNA 封入核酸脂質粒子の特性評価

実施例 5 8 で調製した核酸脂質粒子を含む分散液の特性評価を行った。それぞれの特性評価の方法について説明する。

【 0 5 6 4 】

(1) 平均粒子径

リポソームの粒子径は、Zeta Potential / Particle Size r N I C O M P T M 380 Z L S (P A R T I C L E S I Z I N G S Y S T E M S) にて測定した。表中の平均粒子径は体積平均粒子径を表し、 $\pm$ 以下は、偏差を表す。

【 0 5 6 5 】

20

(2) mRNA の封入率

mRNA の封入率は、Quant - i T R i b o G r e e n R N A A s s a y k i t (I n v i t r o g e n) を用い、添付文書に準じて測定した。

【 0 5 6 6 】

すなわち、0 . 0 1 5 % T r i t o n X - 1 0 0 界面活性剤存在下及び非存在下において、核酸脂質粒子の分散液中の mRNA を定量し、次式により封入率を算出した。

{ [界面活性剤存在下における mRNA 量] - [界面活性剤非存在下における mRNA 量] } / [界面活性剤存在下における mRNA 量] $\times 100$ (%)

(3) mRNA と脂質の比率

核酸脂質粒子の分散液中のリン脂質量をリン脂質 C - テストワコー (和光純薬工業株式会社) を用い、添付文書に準じて測定した。すなわち、1 % T r i t o n X - 1 0 0 界面活性剤存在下において、試料中のリン脂質を定量した。

30

【 0 5 6 7 】

核酸脂質粒子の分散液中のコレステロール及び LP 量を逆相クロマトグラフィーにて測定した (System : A g i l e n t 1100 series , Column : C h r o m o l i t h P e r f o r m a n c e R P - 1 8 e n d c a p p e d 100 - 3 m o n o l i t h i c H P L C - c o l u m n (M e r c k) , Buffer A : 0 . 0 1 % トリフルオロ酢酸 , Buffer B : 0 . 0 1 % トリフルオロ酢酸 , メタノール , Gradient (B %) : 82 - 92 % (0 - 10 min) , Flow Rate : 2 mL / min , Temperature : 50 , Detection : 205 nm) 。

40

【 0 5 6 8 】

リン脂質量、コレステロール量、及び LP 量とリポソームを構成する脂質成分の組成比から総脂質量を算出し、上述 (2) の「界面活性剤存在下における mRNA 量」から、次式により mRNA と脂質の比率を算出した。

[界面活性剤存在下における mRNA 濃度] / [総脂質濃度] (w t / w t)

結果を表 2 1 に示した。

【 0 5 6 9 】

(表 2 1)

50

m R N A	m R N A 封入率(%)	m R N A と脂質の比 mRNA/lipid(wt/wt)	平均粒子径(nm)
m C h e r r y	98	0.037	151 ± 71
F L u c	98	0.038	145 ± 56

【 0 5 7 0 】

以上の結果より、m R N A が脂質粒子内に封入されており、それらの核酸脂質粒子は、約 1 0 0 n m から約 2 0 0 n m の平均粒子径を有していることが明らかとなった。

【 0 5 7 1 】

(試 験 例 1 1)

以下のように、新規脂質を用いて調製した核酸脂質粒子による m C h e r r y の発現を測定した。

【 0 5 7 2 】

(1) トランスフェクション

ヒト肝細胞癌 H u H - 7 細胞株を、1 0 % F e t a l b o v i n e s e r u m を含む D M E M 培地 (I n v i t r o g e n 社製) (培養培地) 中に 1 0 , 0 0 0 c e l l s / m L の濃度に調製した。そして、9 6 穴平底プレート (F a l c o n 社製) に 1 0 0 μ L ずつ播種し、3 7 ° C 、5 . 0 % 炭酸ガス下で 1 日間培養した。実施例 5 8 で調製した核酸脂質粒子の分散液を培地中の最終的な m R N A 濃度が、2 . 0 、4 . 0 、及び 0 . 0 8 μ g / m L となるように培養培地にて希釈列を作製後、培養上清を除去した細胞に添加し、さらに培養を継続した。各濃度に対して N = 3 で行った。対照群は培養培地のみで培養した。

【 0 5 7 3 】

(2) m C h e r r y の蛍光観察

トランスフェクションの 1 日後に、上記の培養培地を除去し、1 0 N マイルドホルム (和光純薬工業株式会社) を 1 0 0 μ L ずつ添加し、室温、遮光下で 1 0 分間放置した。D P B S (D u l b e c c o ' s P B S 、 L i f e T e c h n o l o g i e s 社製) にて 1 0 N マイルドホルムを洗い流した後、D P B S にて 2 0 μ g / m L に調製した H o e c h s t 3 3 3 4 2 , t r i h y d r o c h l o r i d e , t r i h y d r a t e (I n v i t r o g e n 社製) を 5 0 μ L ずつ添加し、室温、遮光下で 1 時間放置した。D P B S に置換後、I N C e l l A n a l y z e r 6 0 0 0 (G E H e a l t h c a r e) にて、蛍光を観察した。測定条件を以下に示す。H o e c h s t ; 励起波長 : 4 0 5 n m , 検出波長 : 4 5 5 n m / 5 0 n m (フィルター中心波長 / バンド幅) 、m C h e r r y ; 励起波長 : 5 6 1 n m , 検出波長 : 6 0 5 n m / 5 2 n m (フィルター中心波長 / バンド幅) 。

【 0 5 7 4 】

その結果を図 6 に示す。図の上段は H o e c h s t により染色された核の画像を、下段は m C h e r r y の画像を示している。実施例 8 を有する核酸脂質粒子は、m C h e r r y の発現を促すことが明らかとなった。よって、実施例 8 の化合物を含む核酸脂質粒子は、m R N A の発現を促進しうる核酸脂質粒子として有益であることが明らかとなった。

【 0 5 7 5 】

(3) L u c i f e r a s e の発現量測定

トランスフェクションの 6 時間後に、L u c i f e r a s e r e p o r t e r G e n e A s s a y , h i g h s e n s i t i v i t y (R o c h e 社製) を用い、L u c i f e r a s e の発現量を、添付文書に準じて測定した。R e l a t i v e L u m i n e s c e n t U n i t s (R L U) の N = 3 の平均値を表 2 2 に示す。

【 0 5 7 6 】

(表 2 2)

10

20

30

40

50

mRNA濃度 ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	RLU (1×10^5)
0	0
0.08	0.7
0.4	2.7
2.0	3.7

【0577】

その結果、実施例8を有する核酸脂質粒子は、FLucの発現を促すことが明らかとなった。よって、実施例8の化合物を含む核酸脂質粒子は、mRNAの発現を促進する核酸脂質粒子として有益であることが明らかとなった。

10

【0578】

(実施例60) 2本鎖ポリヌクレオチドを封入した核酸脂質粒子の調製

ジステアロイルホスファチジルコリン(1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine:以下DSPCと表記,NOF CORPORATION)、コレステロール(Cholesterol:以下Cholと表記,Sigma-Aldrich,Inc.)、実施例8に記載の化合物(LPとする)、及びN-[メトキシポリ(エチレングリコール)2000]カルバモイル]-1,2-ジミリスチルオキシプロピル-3-アミン(以下PEG-C-DMAと表記)を、DSPC:Chol:LP:PEG-C-DMA=10:48:40:2のモル比にて、エタノール中、総脂質濃度26.8mMになるように脂質溶液を調製した。

20

【0579】

Nature Biotechnology(2008)26、561-569に記載された2本鎖ポリヌクレオチド(sifVII:マウスFactor VIIに対するsiRNA)を、30%エタノールを含むクエン酸緩衝液(10mM Citrate Buffer, pH4.0)を用いて1mg/mLに調製して、2本鎖ポリヌクレオチド溶液を得た。

【0580】

上記の脂質溶液、2本鎖ポリヌクレオチド溶液、及びクエン酸緩衝液(20mM Citrate Buffer, pH4.0)を37に加熱した。脂質溶液とクエン酸緩衝液(20mM Citrate Buffer, pH4.0)の体積比が3:7となるように、クエン酸緩衝液に脂質溶液を滴下混合することで、リポソーム粗分散液を得た。続いて、LPの分子数(N)と2本鎖ポリヌクレオチド由来のリン原子数(P)の比率(N/P)が表23に記載のモル比となるように、上記リポソーム粗分散液を2本鎖ポリヌクレオチド溶液に滴下混合し、37にて30分間インキュベーションすることにより、核酸脂質粒子の分散液を得た。核酸脂質粒子の分散液を約100mLのリン酸緩衝液(pH7.4)にて12-18時間透析(Float-A-Lyzer G2, MWCO:100kD, Spectra/Por)することにより、エタノール除去及び中和による未封入の2本鎖ポリヌクレオチドの除去を行い、2本鎖ポリヌクレオチド、実施例8に記載の脂質から成る核酸脂質粒子の精製された分散液を得た。

30

40

【0581】

(表23)

N/P比	
粒子28	2.0
粒子29	2.5
粒子30	3.0
粒子31	3.5
粒子32	4.0

50

粒子 3 3 4 . 5
 粒子 3 4 5 . 0
 粒子 3 5 6 . 0

【 0 5 8 2 】

(実施例 6 1) 2 本鎖ポリヌクレオチド封入核酸脂質粒子の特性評価

実施例 6 0 で調製した核酸脂質粒子の分散液の特性評価を行った。実施例 3 2 に記載の方法にて特性評価を行い、実施例 6 0 に記載の核酸脂質粒子のポリヌクレオチド封入率、ポリヌクレオチドと脂質の重量比、及び平均粒子径を表 2 4 に示した。

【 0 5 8 3 】

(表 2 4)

	N / P 比 *	封入率 (%)	siRNA/lipid (wt/wt) **	粒子径 (nm)
粒子 28	2.0	96	0.128	126 ± 40
粒子 29	2.5	97	0.099	134 ± 9
粒子 30	3.0	97	0.085	139 ± 50
粒子 31	3.5	98	0.066	147 ± 39
粒子 32	4.0	98	0.063	142 ± 43
粒子 33	4.5	98	0.057	141 ± 23
粒子 34	5.0	99	0.051	137 ± 26
粒子 35	6.0	99	0.037	151 ± 38

* N / P 比 : L P の分子数 (N) と 2 本鎖ポリヌクレオチド由来のリン原子数 (P) の比率

** s i R N A / l i p i d (w t / w t) : ポリヌクレオチドと脂質の重量比。

【 0 5 8 4 】

以上の結果より、2 本鎖ポリヌクレオチドが脂質粒子内に封入されており、それらの核酸脂質粒子は、約 1 0 0 n m から約 2 0 0 n m の平均粒子径を有していることが明らかとなった。

【 0 5 8 5 】

(試験例 1 2) F a c t o r V I I (F V I I) タンパク測定

F a c t o r V I I タンパク測定は、Nature Biotechnology (2 0 1 0) 2 8 , 1 7 2 - 1 7 6 に記載された方法に従った。C 5 7 B L 6 / J マウス (雄・9 週齢) をランダムに群分け (n = 4) した。実施例 6 0 で調製した核酸脂質粒子の分散液を 0 . 3 m g / k g になるように尾静脈注射した。投与 1 日後に尾静脈より約 5 0 μ L の採血を行い、血漿を得た。得られた血漿を用いて、B i o p h e n F V I I a s s a y k i t (A n i a r a 製) を使用し、添付されたプロトールに従って F a c t o r V I I タンパク量を測定した。

【 0 5 8 6 】

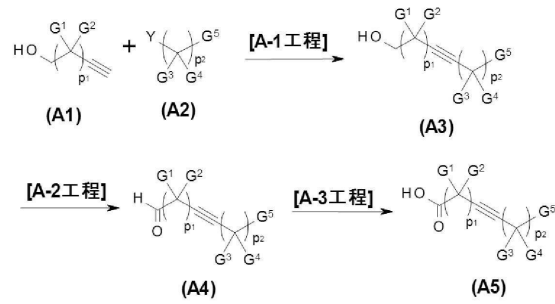
P B S 投与群の各個体の血漿サンプルを等量ずつ集めたものの F V I I 量を 1 0 0 % とし、各個体の血漿サンプルの F V I I 量の相対比率 (%) を測定値 (A) とした。P B S 投与群の各個体の測定値からそれらの平均値 (B) を求めた。各個体の測定値 (A) の相対比率を 式 $A / B \times 100 (\%)$ から求め、各核酸脂質粒子投与群の相対比率の平均値を表 2 5 に示した。その結果、表 2 5 に示すように、実施例 6 0 で調製した粒子 2 8 乃至 3 5 の核酸脂質粒子は、強い F V I I 抑制活性を示した。よって、粒子 2 8 乃至 3 5 のような脂質組成を有する核酸脂質粒子は、遺伝子発現を抑制しうる核酸脂質粒子として有益であることが明らかとなった。

【 0 5 8 7 】

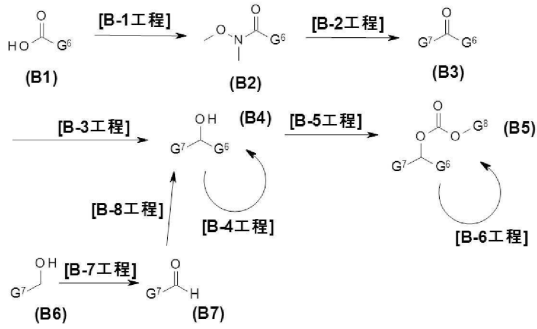
(表 25)

相対的FVII量(%)		
P B S	100	
粒子28	38	
粒子29	11	
粒子30	<10	
粒子31	<10	
粒子32	31	10
粒子33	<10	
粒子34	<10	
粒子35	<10	
-----。		
【産業上の利用可能性】		
【0588】		
本発明により、両親媒性脂質、ステロール類、脂質粒子形成の際の凝集を低減する脂質と組み合わせることで脂質粒子を形成する新規カチオン性脂質を提供することができた。		
【0589】		
また、本発明により、該カチオン性脂質を含む脂質粒子を提供することができた。		20
【0590】		
更に、本発明により、該脂質粒子に更に核酸が含まれる核酸脂質粒子を提供することができた。本発明の該核酸脂質粒子は医薬組成物となり得る。		
【配列表フリーテキスト】		
【0591】		
配列番号1：C T - 1 6 9		
配列番号2：C T - 1 5 7		
配列番号3：C T - 1 0 3		
配列番号4：C T - 2 9 2		
配列番号5：C T - 3 1 5		30
配列番号6：C T - 3 8 7		
配列番号7：C T - 4 5 4 のセンス鎖領域		
配列番号8：C T - 4 5 4 のアンチセンス鎖領域		
配列番号9：H S - 0 0 5 のセンス鎖領域		
配列番号10：H S - 0 0 5 のアンチセンス鎖領域		
配列番号11：H S - 0 0 6 のセンス鎖領域		
配列番号12：H S - 0 0 6 のアンチセンス鎖領域		
配列番号13：H S - 0 0 5 s のセンス鎖領域		
配列番号14：H S - 0 0 5 s のアンチセンス鎖領域		
配列番号15：H S - 0 0 6 s のセンス鎖領域		40
配列番号16：H S - 0 0 6 s のアンチセンス鎖領域		

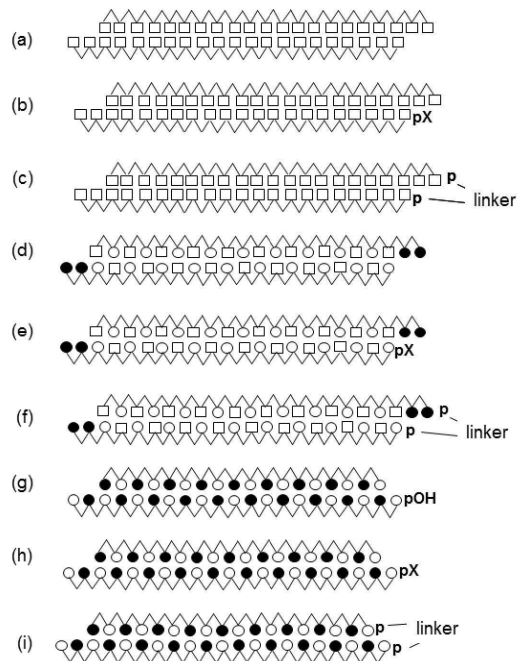
【 図 1 】



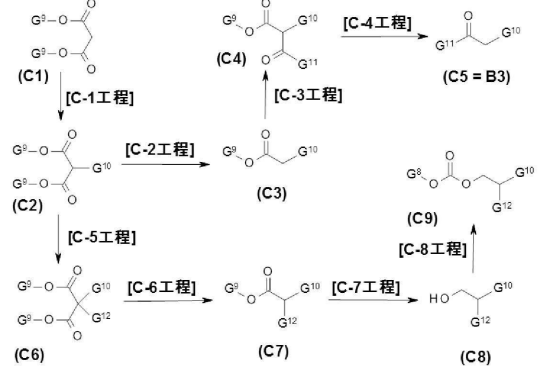
【 図 2 】



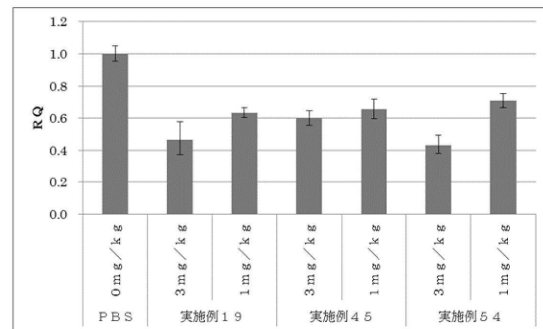
【 図 4 】



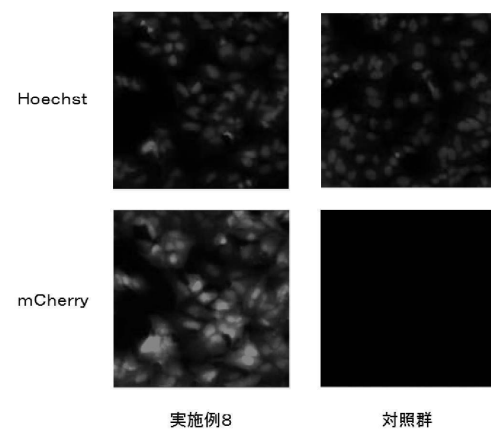
【 図 3 】



【 図 5 】



【 図 6 】



【配列表】

0006276763000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)	A 6 1 K 31/7088
A 6 1 K	31/713	(2006.01)	A 6 1 K 31/713
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P 1/16
A 6 1 P	7/06	(2006.01)	A 6 1 P 7/06
A 6 1 K	47/50	(2017.01)	A 6 1 K 47/50
A 6 1 K	9/127	(2006.01)	A 6 1 K 9/127
A 6 1 K	9/14	(2006.01)	A 6 1 K 9/14

- (72)発明者 小泉 誠
東京都品川区広町 1 丁目 2 番 5 8 号 第一三共株式会社内
- (72)発明者 大西 朗之
東京都品川区広町 1 丁目 2 番 5 8 号 第一三共株式会社内
- (72)発明者 丹羽 貴子
東京都品川区広町 1 丁目 2 番 5 8 号 第一三共株式会社内
- (72)発明者 田村 正和
東京都品川区広町 1 丁目 2 番 5 8 号 第一三共株式会社内
- (72)発明者 粕谷 裕司
東京都品川区広町 1 丁目 2 番 5 8 号 第一三共株式会社内

審査官 奥谷 暢子

- (56)参考文献 特表 2 0 1 2 - 5 0 8 2 6 3 (J P , A)
国際公開第 2 0 1 2 / 0 5 4 3 6 5 (WO , A 1)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 C 2 1 9 / 1 6
A 6 1 K 9 / 1 2 7
A 6 1 K 9 / 1 4
A 6 1 K 3 1 / 7 0 8 8
A 6 1 K 3 1 / 7 1 3
A 6 1 K 4 7 / 5 0
A 6 1 K 4 8 / 0 0
A 6 1 P 1 / 1 6
A 6 1 P 7 / 0 6
A 6 1 P 3 5 / 0 0
C 0 7 D 2 1 1 / 2 2
C 1 2 N 1 5 / 1 1 3
C 0 7 D 2 9 5 / 0 3
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)